



Análise do Potencial da Gigoga para a Produção de Etanol de Segunda Geração via Rota Química

Carolina Mello Coutinho Fonseca

Marina Pinheiro Gomes

Projeto de Final de Curso

Orientadores

Prof^a. Yordanka Reyes Cruz, D.Sc.

Leonard Guimarães Carvalho, D.Sc.

Outubro de 2021

ANÁLISE DO POTENCIAL DA GIGOGA PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO VIA ROTA QUÍMICA

Carolina Mello Coutinho Fonseca

Marina Pinheiro Gomes

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenharia Química.

Aprovado por:

Adriana dos Anjos Silva, D.Sc.

Gisel Chenard Díaz, D.Sc.

Orientado por:

Yordanka Reyes Cruz, D.Sc.

Leonard Guimarães Carvalho, D.Sc.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil
Outubro de 2021

Fonseca, Carolina Mello Coutinho. e Gomes, Marina Pinheiro.

Análise do Potencial da Gigoga para a Produção de Etanol de Segunda Geração via Rota Química / Carolina Mello Coutinho Fonseca e Marina Pinheiro Gomes. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2021.

(Projeto de Final de Curso) – Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Escola de Química, 2021.

Orientadores: Yordanka Reyes Cruz e Leonard Guimarães Carvalho, D.Sc.

1. Etanol 2G. 2. Gigoga. 3. Lignocelulósicos. 4. Hidrólise. 5. Projeto Final de Curso (Graduação – UFRJ/EQ). 5. Yordanka Reyes Cruz I. D.Sc. e Leonard Guimarães Carvalho, D.Sc. Análise do Potencial da Gigoga para a Produção de Etanol de Segunda Geração via Rota Química.

*Dedicamos esse trabalho a todos os nossos familiares
e amigos que nos apoiaram e incentivaram durante
todo esse longo percurso.*

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a Deus, por nos ter dado a vida, nos capacitar, nos dar força e coragem e nos acompanhar até aqui, nos confortando nos momentos difíceis e nos iluminando sempre.

Aos nossos pais, Valeria, José Carlos, Maria Helena e Manuel, pelo amparo, por sempre nos apoiarem, nos entenderem, confiarem em nós e torcerem por nós, abdicando muitas vezes de suas próprias vontades para nos ajudar. Te amamos.

Aos nossos amigos, principalmente os de faculdade, por tornarem essa jornada mais prazerosa, pelos estudos em grupo e pela amizade e risadas.

Eu, Carolina, agradeço à Caroline Ramos por me fazer querer mais, por acreditar em mim e me incentivar nesse final de curso; ao João Gabriel Barbosa por me apoiar, me entender, torcer por mim e tornar tudo mais leve; e ao Thiago Porto, por ter sido importante nessa formação, por ter me incentivado, me apoiado e ter acreditado em mim.

Eu, Marina, agradeço principalmente à minha irmã Mayara, ao meu namorado Victor e às amigas Roberta e Pamella por me aguentarem tanto até aqui, por sempre aturarem meus surtos quando algo não ia bem, pela paciência, incentivo e força. Agradeço também à Thamires, Milena, Juliana e Lucas, presentes que a Universidade Rural me deu e que sempre me deram muita força, mesmo depois de eu ter ido para a UFRJ.

Nós também agradecemos uma à outra, pois estamos juntas desde do primeiro dia de faculdade até o último, sempre sendo companheiras e acolhedoras, apoiadoras uma da outra, confiantes e por sempre termos sido sustento uma para a outra.

À Prof. Yordanka Reyes Cruz e ao Leonard Guimarães Carvalho, pelos ensinamento, acolhida, pela atenção e pela confiança e crédito em nós, nos permitindo que chegássemos nesse ponto tão importante de nossa formação. À Caroline Silva pelo auxílio e disponibilidade em nos ajudar no laboratório.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para que chegássemos até aqui.

Resumo da Monografia apresentada à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenharia Química.

ANÁLISE DO POTENCIAL DA GIGOGA PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO VIA ROTA QUÍMICA

Carolina Mello Coutinho Fonseca

Marina Pinheiro Gomes

Outubro, 2021

Orientadores: Prof. Yordanka Reyes Cruz, D.Sc.

Leonard Guimarães Carvalho, D.Sc.

RESUMO

Atualmente discute-se muito sobre sustentabilidade e a urgência da preservação do meio ambiente para as gerações futuras, buscando-se, através de inúmeros estudos, alternativas que gerem um consumo consciente e limpo a nível mundial. No setor de combustíveis, essa busca não é diferente. O aumento do preço de combustíveis fósseis, a alta emissão de gases de efeito estufa, gerada pela queima desses combustíveis, e seu possível esgotamento, estão impulsionando pesquisas pela busca de novas tecnologias e fontes renováveis para a produção de biocombustíveis como o etanol, que já é produzido, mas com o aumento de sua demanda, estudos buscam novas alternativas para sua geração. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial de folhas e rizomas/raízes da Gigoga, disponibilizada pela hidrelétrica Engenheiro Souza Dias (Jupiá), como matéria-prima para produção de etanol de segunda geração, visto que a ocorrência de um excesso desta planta nas turbinas da hidrelétrica vem se tornando um problema. A Gigoga, mais conhecida como Aguapé, é uma planta macrófita aquática com teores de celulose e hemicelulose, e baixos teores de lignina, o que a configura como potencial substrato para a produção de etanol. No intuito de alcançar o objetivo principal, foi realizada a caracterização química da biomassa de Gigoga e a avaliação de uma rota tecnológica que visa a conversão química da biomassa em etanol de segunda geração. A rota proposta consta de quatro etapas: (a) hidrólise ácida da biomassa lignocelulósica triturada

para remoção do hidrolisado hemicelulósico; (b) tratamento básico para deslignificação da fração de celulignina; (c) hidrólise ácida da celulose para disponibilização dos açúcares; (d) fermentação dos hidrolisados hemicelulósico e celulósico. Após o processamento da biomassa, os resultados encontrados para as concentrações de etanol oriundas do hidrolisado hemicelulósico foram 6,47 g/L, 8,02 g/L e 8,76 g/L; já do hidrolisado celulósico foram 10,26 g/L, 11,48 g/L e 9,34 g/L, para as porcentagens de 25%, 50% e 75% de cada hidrolisado, respectivamente.

Palavras-Chave: Gigoga; Biomassa lignocelulósica; Etanol; Segunda geração; Rota química.

Sumário

1.	INTRODUÇÃO	1
1.1.	Justificativa.....	1
1.2.	Estrutura do trabalho	3
1.3.	Objetivos	4
1.3.1.	Objetivo Geral	4
1.3.2.	Objetivos Específicos	4
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1.	O etanol como fonte energética.....	4
2.2.	A Biomassa lignocelulósica e sua composição estrutural.....	5
2.2.1.	Celulose.....	6
2.2.2.	Hemicelulose.....	7
2.2.3.	Lignina	8
2.3.	A Gigoga	9
2.3.1.	Composição estrutural da Gigoga	10
2.4.	Processo de obtenção de etanol de segunda geração.....	12
2.4.1.	Pré Tratamento da biomassa lignocelulósica	12
2.4.2.	Deslignificação.....	13
2.4.3.	Processamento da celulose.....	13
2.4.4.	Fermentação do hidrolisado	14
2.4.4.1.	Fermentação do hidrolisado hemicelulósico.....	14
2.4.4.2.	Fermentação do hidrolisado celulósico	14
2.4.5.	Purificação do etanol.....	15
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1.	Matéria-prima.....	16
3.1.1.	Obtenção da biomassa da Gigoga	16
3.1.2.	Caracterização	16
3.2.	Produção de etanol de segunda geração.....	24
3.2.1.	Hidrólise ácida da biomassa lignocelulósica.....	24
3.2.2.	Deslignificação alcalina da celulignina.....	30
3.2.3.	Hidrólise ácida da celulose.....	34
3.2.4.	Fermentação dos hidrolisados hemicelulósico e celulósico.....	35
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45

4.1.	Caracterização da matéria-prima.....	45
4.2.	Produção de etanol de segunda geração	49
4.2.1.	Hidrólise ácida da biomassa lignocelulósica.....	49
4.2.2.	Deslignificação.....	49
4.2.3.	Hidrólise ácida da celulose.....	50
4.2.4.	Fermentação do hidrolisado hemicelulósico	52
4.2.5.	Fermentação dos hidrolisado celulósico	56
5.	CONCLUSÕES.....	60
6.	SUGESTÕES	62
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

Índice de Figuras

Figura 1.1: Consumo global final por fonte.....	1
Figura 2.1: Estrutura celular do material lignocelulósico.....	6
Figura 2.2: Estrutura da celulose.....	6
Figura 2.3: Cadeias lineares de polissacarídeos em microfibrilas de celulose.....	7
Figura 2.4: Estrutura típica da hemicelulose.....	7
Figura 2.5: Monômeros que constituem a hemicelulose e suas respectivas estruturas químicas.....	8
Figura 2.6: Estrutura da lignina.....	9
Figura 2.7: <i>Eichhornia crassipes</i> (Gigoga).....	10
Figura 2.8: Estrutura da Gigoga.....	11
Figura 2.9: Diagrama da rota química de obtenção do bioetanol 2G a partir de biomassa lignocelulósica.....	15
Figura 3.1: Biomassa de Gigoga triturada utilizada.....	16
Figura 3.2: Frascos com o meio para a caracterização da biomassa.....	17
Figura 3.3: Frascos para autoclavagem, contendo o meio para caracterização da matéria-prima.....	18
Figura 3.4: Frascos após a autoclavagem, contendo o meio para caracterização da matéria-prima.....	18
Figura 3.5: Filtração com membrana dos hidrolisados.....	19
Figura 3.6: Membranas com os resíduos retidos, antes da secagem.....	19
Figura 3.7: Membranas após secagem.....	20
Figura 3.8: Membranas após calcinação.....	20
Figura 3.9: Hidrolisados obtidos após filtragem por membrana.....	22
Figura 3.10: Filtração a vácuo dos hidrolisados neutralizados.....	22
Figura 3.11: Hidrolisados obtidos.....	23
Figura 3.12: GOD.....	23
Figura 3.13: Padrão utilizado no método do GOD.....	24
Figura 3.14: Biomassa a ser hidrolisada.....	25
Figura 3.15: Biomassa após sofrer hidrólise ácida em autoclave.....	25
Figura 3.16: Aparato para prensagem do hidrolisado.....	26
Figura 3.17: Sulfato de cálcio precipitado decorrente da neutralização do hidrolisado.....	27

Figura 3.18: Aparelhagem para filtração a vácuo do hidrolisado hemicelulósico...	27
Figura 3.19: Filtração a vácuo do hidrolisado hemicelulósico.....	28
Figura 3.20: Torta obtida pela prensagem do hidrolisado hemicelulósico.....	28
Figura 3.21: Lavagem da torta.....	29
Figura 3.22: Secagem da torta em estufa.....	30
Figura 3.23: Celulignina a sofrer hidrólise básica.....	31
Figura 3.24: Licor negro obtido na prensagem.....	32
Figura 3.25: Torta residual contendo celulose obtida na prensagem.....	32
Figura 3.26: Torta residual contendo celulose lavada.....	33
Figura 3.27: Torta residual contendo celulose seca.....	33
Figura 3.28: Hidrolisados obtidos após autoclavagem.....	34
Figura 3.29: Hidrolisado celulósico.....	35
Figura 3.30: Frascos contendo meio de cultivo para fermentação de 50% de hidrolisado hemicelulósico antes da autoclavagem.....	37
Figura 3.31: Meios de cultivo vedados para fermentação de 50% de hidrolisado hemicelulósico após autoclavagem.....	37
Figura 3.32: Levedura presente em fermento biológico fresco de panificação que será adicionada ao meio.....	38
Figura 3.33: Sistema de fermentação correspondente a 25% de hidrolisado celulósico.....	39
Figura 3.34: Sistema de fermentação correspondente a 50% de hidrolisado celulósico.....	39
Figura 3.35: Sistema de fermentação correspondente a 75% de hidrolisado celulósico.....	40
Figura 3.36: Sistema de fermentação correspondente a 25% de hidrolisado hemicelulósico.....	40
Figura 3.37: Sistema de fermentação correspondente a 50% de hidrolisado hemicelulósico.....	41
Figura 3.38: Sistema de fermentação correspondente a 75% de hidrolisado hemicelulósico.....	41
Figura 3.39: Aparelhagem completa do processo de fermentação.....	42
Figura 3.40: Fim da fermentação do sistema correspondente a 25% de hidrolisado celulósico.....	42

Figura 3.41: Fim da fermentação do sistema correspondente a 50% de hidrolisado celulósico.....	43
Figura 3.42: Fim da fermentação do sistema correspondente a 75% de hidrolisado celulósico.....	43
Figura 3.43: Fim da fermentação do sistema correspondente a 50% de hidrolisado hemicelulósico.....	44
Figura 3.44: Fim da fermentação do sistema correspondente a 75% de hidrolisado hemicelulósico.....	44

Índice de Tabelas

Tabela 2.1: Produção de biocombustíveis a partir da Gigoga.....	11
Tabela 3.1: Quantidade utilizada de cada reagente para 1L de solução de sais.....	36
Tabela 3.2: Quantidades correspondentes de água e hidrolisado para cada percentual de fermentação.....	38
Tabela 4.1: Absorbâncias das soluções padrões de glicose da Curva Padrão DNS.....	45
Tabela 4.2: Concentração de açúcares redutores totais.....	46
Tabela 4.3: Dados das massas das membranas utilizadas no processo de caracterização.....	47
Tabela 4.4: Concentração de glicose.....	47
Tabela 4.5: Composição química da Gigoga.....	48
Tabela 4.6: Composição da Gigoga de acordo com as referências consultadas.....	48
Tabela 4.7: Dados e resultados da hidrólise ácida da biomassa.....	49
Tabela 4.8: Concentração de açúcares totais do hidrolisado hemicelulósico.....	49
Tabela 4.9: Dados e resultados da deslignificação a 120°C.....	50
Tabela 4.10: Dados e resultados da deslignificação a 100°C.....	50
Tabela 4.11: Dados e resultados da hidrólise ácida da torta [2].....	50
Tabela 4.12: Dados e resultados da hidrólise ácida da torta [3].....	50
Tabela 4.13: Concentração de glicose do hidrolisado celulósico a 120°C.....	51
Tabela 4.14: Concentração de glicose do hidrolisado celulósico a 100°C.....	51
Tabela 4.15: Dados da fermentação de 25% de hidrolisado hemicelulósico.....	52
Tabela 4.16: Dados da fermentação de 50% de hidrolisado hemicelulósico.....	52
Tabela 4.17: Dados da fermentação de 75% de hidrolisado hemicelulósico.....	52
Tabela 4.18: Concentrações referentes à fermentação de 25% de hidrolisado hemicelulósico.....	53
Tabela 4.19: Concentrações referentes à fermentação de 50% de hidrolisado hemicelulósico.....	54
Tabela 4.20: Concentrações referentes à fermentação de 75% de hidrolisado hemicelulósico.....	55
Tabela 4.21: Concentração de açúcares redutores totais pelo método do DNS.....	56
Tabela 4.22: Dados da fermentação de 25% de hidrolisado celulósico.....	57
Tabela 4.23: Dados da fermentação de 50% de hidrolisado celulósico.....	57
Tabela 4.24: Dados da fermentação de 75% de hidrolisado celulósico.....	57

Tabela 4.25: Concentrações da fermentação de 25% de hidrolisado celulósico58

Tabela 4.26: Concentrações da fermentação de 50% de hidrolisado celulósico.....58

Tabela 4.27: Concentrações da fermentação de 75% de hidrolisado celulósico.....59

Índice de Gráficos

Gráfico 4.1: Curva padrão DNS: absorvância x concentração da solução de glicose pura.....	46
Gráfico 4.2: Curvas referentes à fermentação de 25% de hidrolisado hemicelulósico.....	54
Gráfico 4.3: Curvas referentes à fermentação de 50% de hidrolisado hemicelulósico.....	55
Gráfico 4.4: Curvas referentes à fermentação de 75% de hidrolisado hemicelulósico.....	55
Gráfico 4.5: Curvas referentes à fermentação de 25% de hidrolisado celulósico....	58
Gráfico 4.6: Curvas referentes à fermentação de 50% de hidrolisado celulósico....	59
Gráfico 4.7: Curvas referentes à fermentação de 75% de hidrolisado celulósico....	60

1. INTRODUÇÃO

1.1. Justificativa

A demanda global por eletricidade vem crescendo ao longo do tempo. Segundo a Energy Information Administration (EIA, 2020), até 2050 haverá um crescimento dessa demanda em 3,1% proveniente de indústrias de diversos setores. Muito por conta desse aumento vem pensando-se cada vez mais no tema sustentabilidade, pois a preocupação com o meio ambiente tem aumentado e a sociedade como um todo vem desenvolvendo iniciativas cada vez mais concretas para mitigar os impactos ambientais.

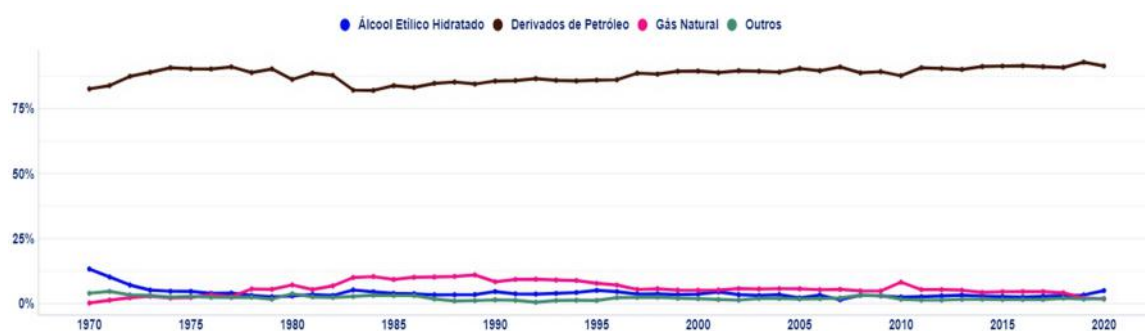
Estudos em torno de processos que facilitem o uso de matérias-primas ambientalmente amigáveis vêm aumentando gradativamente, principalmente em relação a descobertas de fontes renováveis variadas.

Levando em conta que a matriz energética brasileira é composta, prioritariamente, por fontes não renováveis como derivados do petróleo, carvão mineral e gás natural, essa busca por novas fontes de energia limpa é de extrema importância, pois entre os vários aspectos que prejudicam o meio ambiente estão as emissões de gases de efeito estufa na atmosfera, resultante da queima desses combustíveis fósseis.

Foi a partir dessa busca, juntamente com o aumento da demanda e das variações econômicas em relação ao petróleo, que se intensificaram os estudos e pesquisas relacionadas com biomassas, fazendo com que os biocombustíveis ganhassem espaço mundialmente, uma vez que é uma fonte energética renovável e sustentável.

De acordo com a EIA (2020), até 2050, 38% das fontes de energia podem se tornar renováveis, mesmo que ainda hoje dados desse estudo indiquem que mais de 80% da matriz energética de consumo global seja composta por fontes não renováveis, como mostra a Figura 1.1.

Figura 1.1: Consumo global final por fonte



Fonte: BEN Interativo (2020)

Como pode-se observar no gráfico, durante o ano de 2019, houve um crescente consumo de álcool etílico hidratado. De acordo com a União Nacional da Bioenergia (UDOP, 2020), segundo dados da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), nesse período, obteve-se um recorde no consumo de etanol no Brasil, na ordem de 32,8 bilhões de litros, isto é, 10,5% de crescimento em relação a 2018, sendo desse total, 22,5 bilhões de litros de álcool etílico hidratado.

Visto toda essa ascensão da utilização de biocombustíveis, principalmente do etanol proveniente da cana-de-açúcar, de acordo com (MANOCHIO, 2014), começou-se a pensar em outras biomassas vegetais com grande potencial para a produção de etanol, tais como: sacarídeas (cana-de-açúcar, beterraba e sorgo sacarino), amiláceas (milho, trigo, cevada e mandioca) e lignocelulósicas (serragem, bagaço de cana, palha de cana, entre outros).

A escolha entre essas biomassas depende muito de fatores relacionados à região onde será cultivada, entre eles, o clima, a qualidade do solo, as tecnologias disponíveis, o mercado de insumos, a disponibilidade de terras, etc.

Quanto às rotas de produção, elas são divididas em duas categorias: de primeira (1G) e segunda geração (2G). De acordo com (SANTANA,2013), as de primeira geração são produzidas diretamente de culturas ricas em sacarose e amido, plantadas propriamente para a produção de etanol; já as de segunda geração empregam biomassas residuais de composição lignocelulósica que, para serem utilizadas, passam por diversas etapas de tratamento que visam a disponibilização dos monossacarídeos fermentáveis.

Atualmente, a principal matéria-prima usada no Brasil na produção de etanol de primeira geração é a cana-de-açúcar, porém, com o aumento da demanda por biocombustíveis, biorrefinarias vêm realizando esforços para desenvolver e aplicar tecnologias voltadas para a produção de combustíveis de segunda geração, utilizando como matéria-prima a biomassa lignocelulósica.

Como citado anteriormente, várias biomassas apresentam composição lignocelulósica (formada por hemicelulose, lignina e celulose), destacando-se entre elas: madeira, resíduos agrícolas de cereais, bagaço de cana-de-açúcar e de sorgo sacarino, resíduos da indústria de papel e celulose, resíduos municipais, biomassas de plantas aquáticas, entre outras.

Segundo Santana (2013, p. 41),

Tendo em vista a natureza desses materiais e o recente desenvolvimento de atividades de pesquisa na área de biocombustíveis de segunda geração, as estatísticas sobre a sua disponibilidade é escassa. Entretanto, existem algumas informações disponíveis que proporcionam uma primeira quantificação, embora distante do que se percebe existir. Por exemplo, Dos Santos et al. (2011) estimam que “no Brasil a quantidade de resíduos lignocelulósicos gerada anualmente é de aproximadamente 350 milhões de toneladas”.

Nesse contexto, foi desenvolvido o presente trabalho que visa avaliar o potencial da biomassa de Gigoga, planta aquática retirada durante a limpeza e manutenção das turbinas da hidrelétrica Engenheiro Souza Dias (Jupia) – propriedade da CTG Brasil, localizada no rio Paraná entre as cidades de Andradina e Castilho (SP) e Três Lagoas (MS), como matéria-prima na produção de etanol de segunda geração. Obtendo-se um resultado positivo no estudo experimental com a rota de conversão química proposta, a empresa avaliará formas para integrar a produção de etanol ao processo produtivo atual.

Tendo em vista então a extensão do mercado de etanol e as inúmeras variedades de biomassa, a produção de etanol de segunda geração se torna uma crescente aposta para o futuro.

1.2. Estrutura do trabalho

O presente trabalho será organizado em 6 capítulos:

CAPÍTULO 1 – Introdução ao tema proposto, organização do texto e objetivos.

CAPÍTULO 2 – Revisão Bibliográfica: apresentação da fundamentação teórica deste trabalho.

CAPÍTULO 3 – Materiais e Métodos: descrição dos materiais e da metodologia utilizada no desenvolvimento desta análise.

CAPÍTULO 4 – Resultados e Discussão: apresentação dos resultados obtidos na etapa de experimentação e realização de uma análise técnica dos mesmos.

CAPÍTULO 5 – Conclusão: apresentação das considerações finais e resumo dos resultados obtidos neste trabalho de conclusão de curso.

CAPÍTULO 6 – Sugestões: recomendação de alterações que poderiam ser realizadas para a otimização da rota tecnológica proposta.

CAPÍTULO 7 – Referências Bibliográficas: apresentação das fontes de informações utilizadas no estudo realizado.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo Geral

- Avaliar o potencial da biomassa de Gigoga, planta aquática retirada durante a limpeza e manutenção das turbinas da hidrelétrica Engenheiro Souza Dias (Jupia) – propriedade da CTG Brasil, como matéria-prima na produção de etanol de segunda geração, utilizando uma rota tecnológica composta por processos químicos.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Estabelecer metodologia de preparo da matéria-prima;
- Identificação da composição química da matéria-prima;
- Testar a rota tecnológica de conversão química proposta para produzir etanol de segunda geração a partir da biomassa de Gigoga;
- Avaliar a fermentabilidade dos hidrolisados hemicelulósico e celulósico, utilizado a levedura *Saccharomyces cerevisiae*;
- Determinar a concentração de etanol produzido a partir dos hidrolisados hemicelulósico e celulósico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O etanol como fonte energética

Com a necessidade de desenvolver novas tecnologias para a produção de biocombustíveis, devido às adversidades provenientes do uso de combustíveis fósseis, a busca por novas fontes para a produção de etanol tem se mostrado uma das melhores alternativas em todo o mundo por ser uma fonte renovável de energia e reduzir as emissões de dióxido de carbono.

O etanol (ou álcool etílico) é produzido através da fermentação de açúcares ou por via sintética a partir de hidrocarbonetos não saturados, podendo ter como resultado o álcool hidratado ou anidro. Ambos são muito utilizados como reagentes e solventes na produção de produtos farmacêuticos, defensivos agrícolas e, principalmente, como combustível, sendo inclusive obrigatória sua adição de, no mínimo, 27% v/v na gasolina. (TEIXEIRA, 2019)

Utilizando a cana-de-açúcar, o Brasil se tornou o pioneiro na produção de etanol, já apresentando vantagens em tecnologias de produção. Porém, para garantir o abastecimento energético com o crescente aumento de sua demanda, se tornam necessárias áreas de plantio cada vez maiores, assim como uma otimização do processo de produção e aperfeiçoamento genético de microrganismos fermentadores. Frente a isso, estudos se aprofundam cada vez mais para analisar o potencial da reutilização de resíduos agrícolas, plantas e subprodutos agroindustriais para a obtenção de etanol de segunda geração, permitindo uma possível liderança do Brasil na agricultura de energia e no mercado de combustíveis sem a necessidade de ampliação de área desmatada e/ou de área reservada para cultivo de alimentos (TEIXEIRA, 2019).

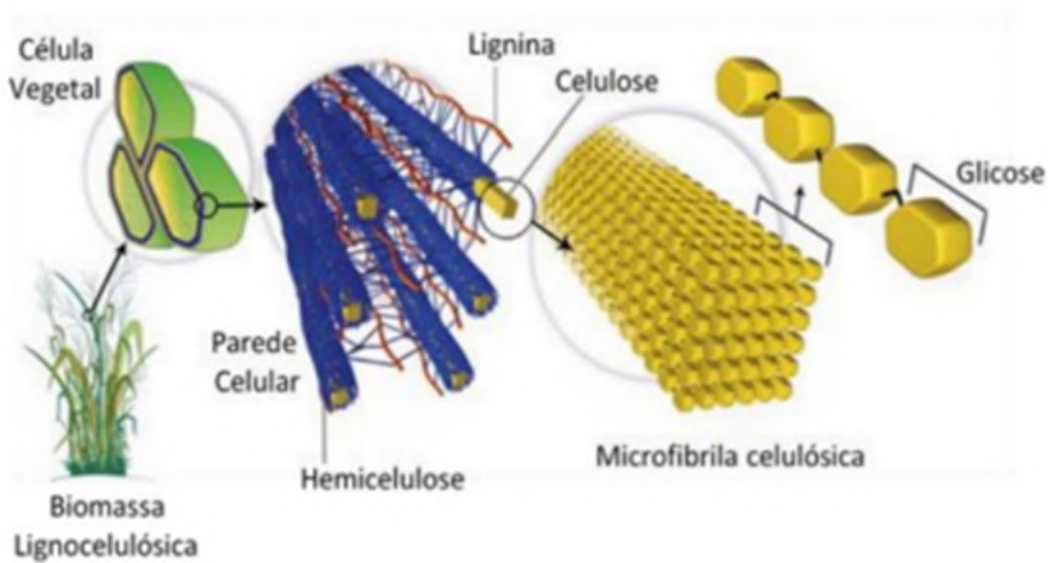
Esses estudos são muito recentes, mas vem contribuindo com resultados positivos a nível laboratorial para a produção de etanol a partir do bagaço e da palha da cana-de-açúcar, da madeira e de outras biomassas lignocelulósicas como a Gigoga.

De acordo com (TEIXEIRA, 2019), estima-se que, com as devidas etapas de pré-tratamento, hidrólise e fermentação, um bilhão de toneladas de biomassa lignocelulósica seca, contendo de 35-45% de celulose e 20-30% de hemicelulose, podem gerar 100 bilhões de litros de etanol 2G.

2.2. A Biomassa lignocelulósica e sua composição estrutural

O complexo lignocelulósico é composto por três estruturas fibrosas e rígidas: a celulose, a hemicelulose e a lignina, como pode-se observar na (Figura 2.1). Essas estruturas são em forma de cadeias de celulose envolvidas por lignina e hemicelulose, sendo a hemicelulose (mistura de polissacarídeos constituída por pentoses e hexoses) e a celulose (unidade repetitiva de glicose). Praticamente, 70% da massa seca desse complexo lignocelulósico pode ser transformada em etanol por meio da fermentação. Já a lignina é composta por álcoois aromáticos.

Figura 2.1: Estrutura celular do material lignocelulósico



Fonte: Adaptado de Mota et al. (2015)

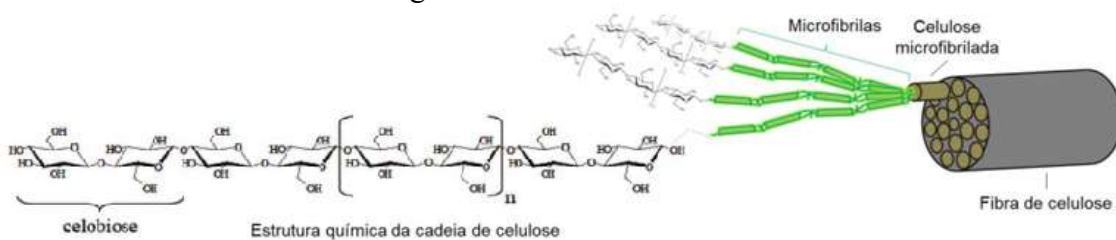
Segundo Santos (2018, p.15),

O tamanho e a forma da parede celular dos materiais lignocelulósicos variam de espécie para espécie, apresentando composição química de acordo com a biomassa analisada. Seus três componentes principais são distribuídos em quantidades diferentes. Em geral, a celulose se encontra em proporções maiores, cerca de 35-50%, seguida da hemicelulose, em torno de 20-35% e a lignina com 10- 25%.

2.2.1. Celulose

A celulose ($C_6H_{10}O_5$)_n (Figura 2.2) é um polímero linear de celobiose (dímero glicose-glicose que dá às células vegetais proteção, forma e suporte), cristalino, de alta massa molar e difícil de ser quebrado. Esse polissacarídeo orgânico é o mais abundante do planeta e é formado por uma longa cadeia de até 15.000 unidades de D-glicose através de ligações glicosídicas β-1,4 que, sob condições ácidas e altas temperaturas, se tornam fracas e podem se decompor, gerando a glicose. (SANTOS, 2018; BNDES e CGEE, 2008).

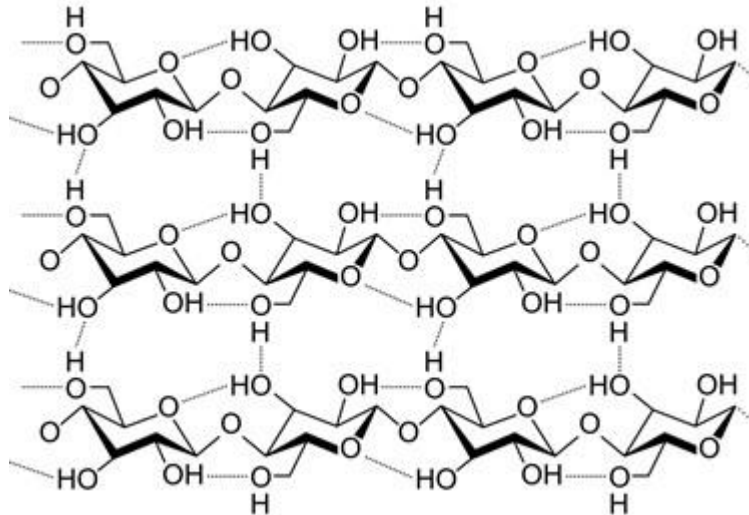
Figura 2.2: Estrutura da celulose



Fonte: Souza (2019, com adaptações)

A constante repetição de unidades de D-celbiose vão compoendo cadeias lineares e formando uma estrutura com ligações de hidrogênio (Figura 2.3), as quais deixam a parede celular mais resistente e impedem sua ruptura por solvente ou tratamentos físicos.

Figura 2.3: Cadeias lineares de polissacarídeos em microfibrilas de celulose

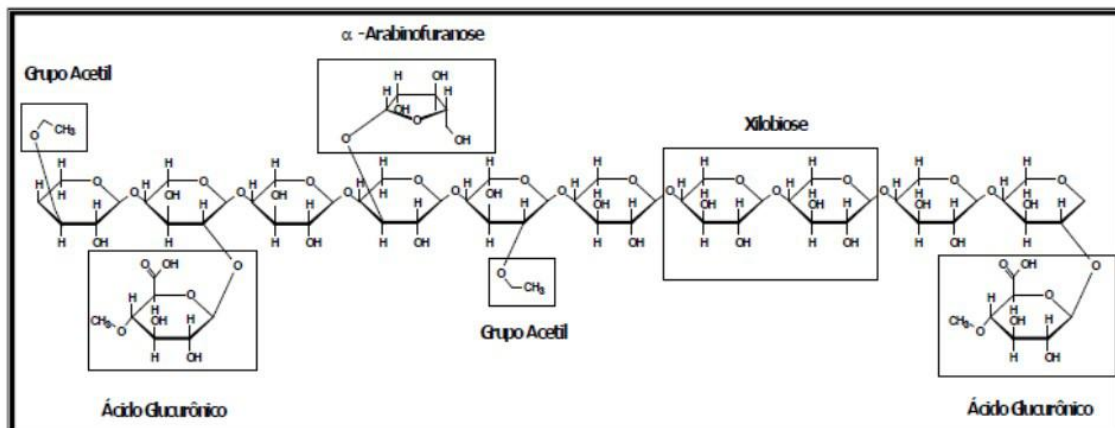


Fonte: Silva (2019).

2.2.2. Hemicelulose

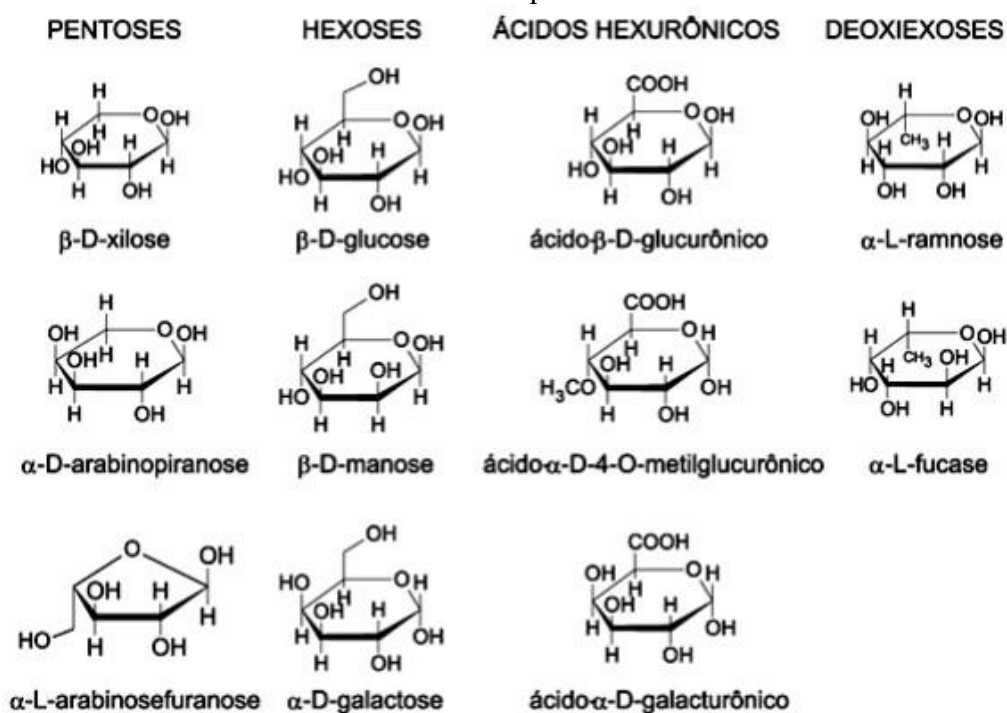
A fração hemicelulósica (Figura 2.4) é uma macromolécula constituída por uma mistura de polissacarídeos de baixa massa molar que forma uma cadeia principal de xilose (com ligações β-1,4) e cadeias ramificadas de açúcares, podendo ser eles os monômeros: β-D-xilose, β-D-glicose, β-D-manose, α-D-arabinopirranose, α-D-galactose, ácido β-D-glucurônico, ácido α-D-galacturônico, ácido α-D-4-O-metilglucurônico, α-L-fucose, entre outros. A (Figura 2.5) ilustra a estrutura de cada um desses monossacarídeos (BNDES e CGEE, 2008).

Figura 2.4: Estrutura típica da hemicelulose.



Fonte: MUSSATO (2002)

Figura 2.5: Monômeros que constituem a hemicelulose e suas respectivas estruturas químicas



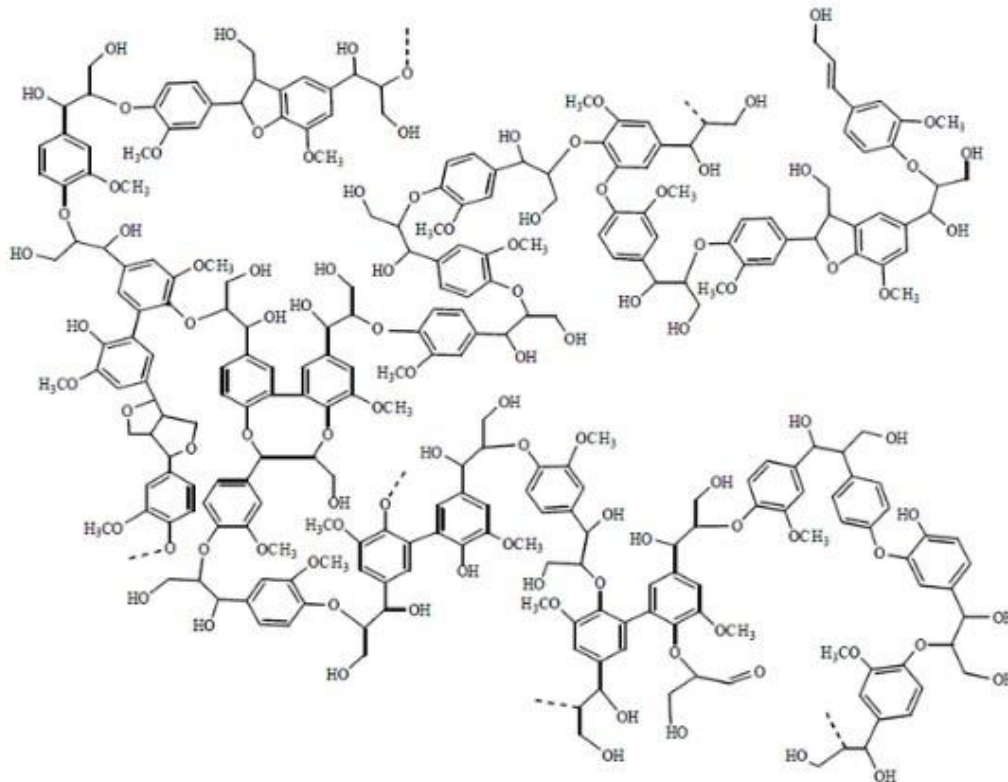
Fonte: Huebra (2016)

De acordo com (BNDES e CGEE, 2008), a hemicelulose é muito mais suscetível à hidrólise química quando comparada à celulose, isso porque sua estrutura não contém regiões cristalinas, logo as fibras têm menor resistência à solvatação. Porém, mesmo tendo esse ponto como “facilitador”, o processo de fermentação das pentoses (cinco carbonos) não é tão simples e desenvolvido quanto a fermentação da glicose.

2.2.3. Lignina

A lignina é uma substância que provém da polimerização do álcool cumárico, álcool coniferílico e álcool sinapílico (Figura 2.6). Ela não está relacionada a moléculas simples de açúcar, sua importância vem por ela ser responsável em atribuir rigidez à parede celular dos vegetais, gerando mais resistência ao impacto (SANTOS, 2018; BNDES e CGEE, 2008).

Figura 2.6: Estrutura da lignina



Fonte: Souto (2015)

A fração de lignina se entrelaça com a hemicelulose por ligações entre o fenilpropano e frações de resíduos de arabinopirranose e ácido glucurônico. Apesar da lignina ter potencial para produzir diversos produtos, atualmente os estudos são mais focados na sua utilização como fonte de energia para processos, gerando para eles uma autossuficiência (VIANA, 2017; BNDES e CGEE, 2008).

2.3. A Gigoga

A *Eichhornia crassipes*, conhecida popularmente como Gigoga ou Aguapé (Figura 2.7), é uma macrófita aquática flutuante, originária da região amazônica, com alta capacidade de colonização e de formação de superpopulações, sendo sua taxa de crescimento de 80,3 ton/ha/ano, valor tão elevado que acaba gerando impacto negativo no desenvolvimento de plantas e microrganismos do ambiente vizinho.

Figura 2.7: *Eichhornia crassipes* (Gigoga)



Fonte: Cruz, 2009

De acordo com (TEIXEIRA et al., 2019), essas altas colonizações de Gigoga reduzem a concentração de oxigênio dissolvido na água, influenciando negativamente na economia pesqueira, além de favorecerem a proliferação de insetos transmissores de doenças, reduzirem o fluxo de água em canais, represas e rios e levarem a elevadas perdas de água por evapotranspiração. Outro impacto negativo muito importante, principalmente para esse trabalho, é que a alta taxa de crescimento dessa planta gera seu acúmulo em reservatórios de usinas hidrelétricas, atrapalhando diretamente o funcionamento de turbinas.

Entre as alternativas de controle populacional da Gigoga, tem-se o controle biológico (aumentando-se a pressão de inimigos naturais), o controle químico (promovendo-se a morte da planta) e o controle mecânico (removendo-as de corpo hídrico) que é o mais comum e foi o procedimento seguido pela empresa que forneceu matéria-prima para esta pesquisa, gerando um grande volume a biomassa para ser analisada.

Segundo Teixeira et al. (2019, p.4),

A biomassa residual pode ser utilizada para diversas finalidades. Exemplos disso são seu uso como fertilizante, alimento animal e para a produção de biocombustíveis, além de fonte de energia, na forma briquetes ou biogás. No setor de biocombustível, essa biomassa pode ser utilizada como matéria-prima para a produção de etanol de segunda geração.

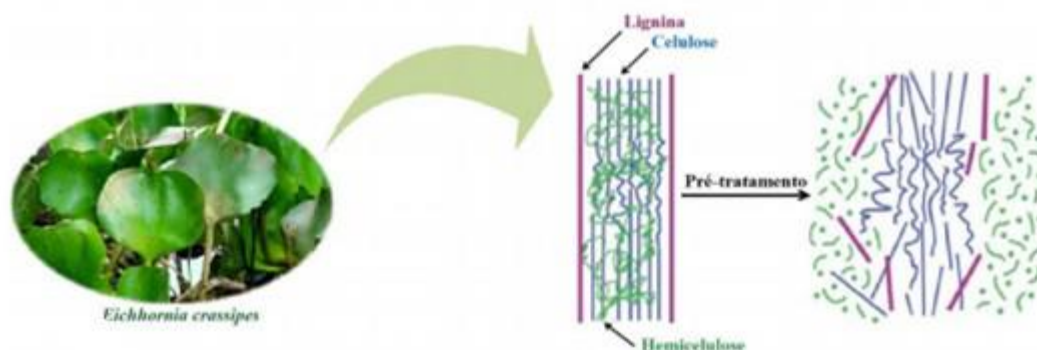
2.3.1. Composição estrutural da Gigoga

A gigoga se apresenta como uma fonte de biomassa promissora para a produção de etanol 2G, pois, como já citado, apresenta rápido crescimento e, além disso, é muito

resistente a variações de níveis de nutrientes, temperatura e pH; também não compete com a produção de alimentos; não necessita de plantio, portanto não modifica o uso da terra; apresenta baixo custo; sua extração beneficia o ecossistema; entre outros.

Quando seca, segundo a caracterização química típica da biomassa da Gigoga, possui 25% de celulose, 35% de hemicelulose e 10% de lignina (Figura 2.8) (TEIXEIRA et al., 2019).

Figura 2.8: Estrutura da gigoga



Fonte: Teixeira et al. (2019, com adaptações).

A biomassa estudada tem, além da produção de diversos biocombustíveis (Tabela 2.1), outras utilidades interessantes que geram valor agregado, como por exemplo: a síntese de enzimas (celulase, β -glicosidase, xylanase) e a produção de xantogenato de celulose, ácido levulínico, ácido shikímico - polímero superabsorvente, xilitol, compostagem e fertilização de solos e alimento para animais.

Tabela 2.1: Produção de biocombustíveis a partir da Gigoga.

Produto	Microrganismo
Bioetanol	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Bioetanol	<i>Zymomonas mobilis</i>
Bioetanol	<i>Pichia stipites</i>
Bioetanol	<i>Candida shehatae</i>
Bioetanol	<i>Clostridium thermocellum</i>
Bioetanol	<i>Candida intermedia</i> NRRL Y-981
Biogás	Consórcio de microrganismos
Biohidrogênio	<i>Clostridium diolis</i> C32-KKU
Biobutanol	<i>Clostridium beijerinckii</i>
Biopolímero	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Fibra de Carbono	-
Biofertilizante	-
Briquetes de combustível	-
Combustível de alto valor calorífico	-

Fonte: Teixeira (2019)

2.4. Processo de obtenção de etanol de segunda geração

O complexo lignocelulósico é composto por cadeias de celulose envolvidas por hemicelulose e lignina. Sendo a celulose (unidade repetitiva de glicose) e a hemicelulose (mistura de polissacarídeos constituída por pentoses e hexoses) transformadas em etanol por meio da fermentação. Para isso, é necessário o fracionamento desse complexo e a desestruturação do polissacarídeo em açúcares mais simples para que a levedura consiga metabolizar o açúcar, sendo convertido em etanol.

A rota química para a síntese de bioetanol de segunda geração pode ser dividida nas 5 seguintes etapas: o pré tratamento da matéria-prima lignocelulósica, que separa primeiro a lignina e a celulose (celulignina) da hemicelulose; uma hidrólise para a separação da celulose da lignina; a hidrólise da celulose; a fermentação e a destilação do fermentado; sendo esta última etapa não realizada neste trabalho.

Temos então as seguintes etapas do processo com suas respectivas opções de rotas:

2.4.1. Pré Tratamento da biomassa lignocelulósica

A primeira etapa de síntese é o fracionamento da biomassa lignocelulósica através do seu pré-tratamento. Nessa etapa, o objetivo é realizar a despolimerização e dissolução da fração hemicelulósica para a corrente líquida, tendo então a hemicelulose fermentável separada da celulignina em forma sólida

De acordo com (SANTOS *et al.*, 2012) existem dois tipos de pré-tratamento para essa desestruturação do complexo lignocelulósico, removendo a hemicelulose: o químico e o combinado.

O pré-tratamento químico consiste em uma pré hidrólise ácida, utilizando-se ácido diluído como catalisador no processo de solubilização, dentre eles pode-se citar os ácidos sulfúrico, clorídrico, fosfórico, fluorídrico e nítrico; já o pré-tratamento combinado consiste no contato direto da biomassa, em um ambiente fechado, com o vapor saturado à alta pressão durante um determinado tempo, funcionando como um reator, seguido de uma descompressão rápida, gerando a explosão a vapor. (TEIXEIRA, 2019).

Espera-se que um bom pré-tratamento gere altos rendimentos e taxas de hidrólise, sem acarretar a geração de inibidores da fermentação, tendo baixo custo e baixo consumo de energia, não apresentando perda de carboidratos ou degradação da biomassa, e recuperando a lignina.

2.4.2. Deslignificação

Esta etapa é realizada no intuito de remover a fração de lignina presente na torta residual da hidrólise da hemicelulose, proveniente pelo pré-tratamento, permitindo uma maior acessibilidade às fibras de celulose para que haja o aumento da conversão deste polissacarídeo em glicose.

A partir da celulignina, a celulose pode ser separada por meio da deslignificação, que consiste na dissolução da lignina com álcalis (hidrólise básica) ou solventes orgânicos. Entretanto, a utilização de solventes orgânicos no processo de deslignificação necessita-se ainda adicionar uma etapa de desintoxicação do açúcar. A lignina também pode ser separada através da hidrólise da celulose com ácidos minerais fortes a altas temperaturas. Porém, esse fracionamento não é recomendado ser feito por hidrólise ácida, pois gera substâncias com alta toxicidade. (VIANA, 2017)

2.4.3. Processamento da celulose

Com o fracionamento da biomassa, temos então a celulose livre para o ataque de enzimas ou produtos químicos afim de gerar a glicose para a fermentação.

A etapa para esse processo da formação de açúcares pode ser realizada a partir de uma sacarificação enzimática ou por hidrólise ácida.

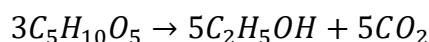
A sacarificação enzimática se utiliza de um complexo de celulasas para atacar a celulose: as endoglucanases (EnG), para clivar ligações internas da fibra celulósica; as exoglucanases (ExG), para atuar na região externa da celulose; e as β -glicosidases (BG), para hidrolisar oligossacarídeos solúveis em glicose (KUMAR et al., 2016).

Já a hidrólise ácida para a quebra das moléculas de celulose se dá de forma semelhante à citada no item 2.4.1, sendo o catalisador ácido utilizado nesse tipo de hidrólise menos diluído para proporcionar um inchamento adequado da região cristalina da celulose e sob maior pressão e temperatura.

2.4.4. Fermentação do hidrolisado

2.4.4.1. Fermentação do hidrolisado hemicelulósico

Admitindo que o hidrolisado hemicelulósico é constituído apenas pela pentose xilose (carboidrato com 5 átomos de carbono), a sua fermentação pode ser representada pela seguinte reação, onde a levedura metaboliza o açúcar produzindo etanol e dióxido de carbono.



A conversão de xilose em etanol se dá na proporção de 3 moles de xilose produzindo 5 moles de etanol. Com a massa molar de cada espécie tem-se que a conversão máxima teórica do processo de fermentação hemicelulósica é de 0,51 g de etanol e 0,49 g de dióxido de carbono por cada 1,00 g de xilose, conforme equações abaixo. Porém essa conversão não é totalmente atingida, alcançando na fermentação um rendimento por volta de 50%.

$$\frac{\text{Massa de etanol}}{1g \text{ de xilose}} = \frac{5 * \text{Massa molar de etanol}}{3 * \text{Massa molar de xilose}}$$

$$\frac{\text{Massa de etanol}}{1g \text{ de xilose}} = \frac{5 * 46,07}{3 * 150,13} = 0,511g$$

$$\frac{\text{Massa de } CO_2}{1g \text{ de xilose}} = \frac{5 * \text{Massa molar de } CO_2}{3 * \text{Massa molar de xilose}}$$

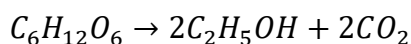
$$\frac{\text{Massa de } CO_2}{1g \text{ de xilose}} = \frac{5 * 44,01}{3 * 150,13} = 0,489g$$

A fermentação da hemicelulose pode ser feita pela levedura *Scheffersomyces stipitis* a 30°C, uma levedura mais eficiente para essa fermentação por conseguir consumir a pentose presente na estrutura.

2.4.4.2. Fermentação do hidrolisado celulósico

A glicose, vinda da hidrólise da celulose, é uma hexose (carboidrato com seis átomos de carbono), açúcar mais comum metabolizado por microrganismos como combustível para a produção de etanol (TEIXEIRA, 2019).

Na fermentação do hidrolisado celulósico tem-se a glicose sendo consumida pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*, produzindo etanol e gás carbônico, a temperatura de 37°C. A reação é representada a seguir.



Nesse processo, cada mol de glicose produz dois moles de etanol. Teoricamente, a conversão é de 0,51 g de etanol e 0,49 g de gás carbônico para cada grama de glicose metabolizada.

$$\frac{\text{Massa de etanol}}{1\text{g de glicose}} = \frac{2 * \text{Massa molar de etanol}}{\text{Massa molar de glicose}}$$

$$\frac{\text{Massa de etanol}}{1\text{g de glicose}} = \frac{2 * 46,07}{180,156} = 0,511\text{g}$$

$$\frac{\text{Massa de CO}_2}{1\text{g de glicose}} = \frac{2 * \text{Massa molar de CO}_2}{\text{Massa molar de glicose}}$$

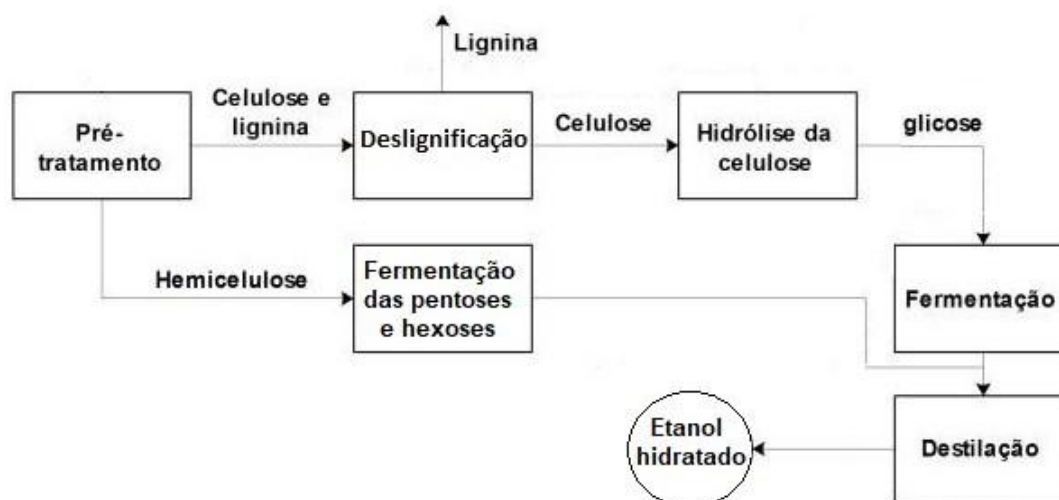
$$\frac{\text{Massa de CO}_2}{1\text{g de glicose}} = \frac{2 * 44,01}{180,156} = 0,489\text{g}$$

2.4.5. Purificação do etanol

A última etapa é a recuperação do álcool hidratado por meio da destilação simples do fermentado das pentoses e das hexoses. A fim de se obter o álcool anidro, com grau de pureza a partir de 99,2%, é ainda necessário desidratar o álcool hidratado, seja por meio de destilação extrativa, operando com ciclo-hexano, seja por peneiras moleculares. Dessa forma, tem-se um álcool com concentração final de 99,7°GL.

Sendo assim, após a revisão bibliográfica realizada, todas as etapas são representadas no diagrama a seguir:

Figura 2.9: Diagrama da rota química de obtenção do bioetanol 2G a partir de biomassa lignocelulósica



Fonte: Adaptado por Carpio (2018)

3. MATERIAIS E MÉTODOS

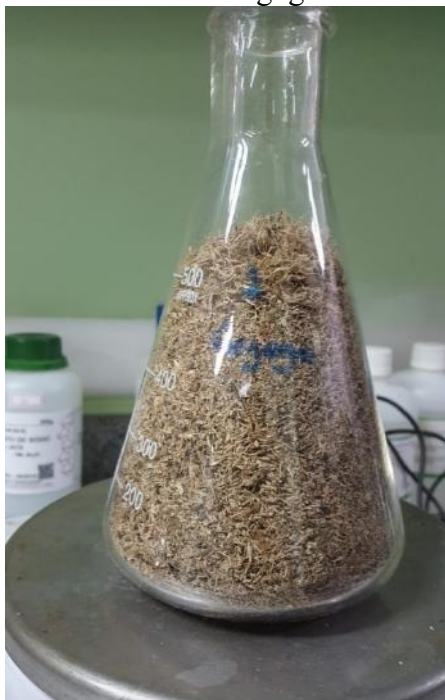
3.1. Matéria-prima

3.1.1. Obtenção da biomassa da Gigoga

A biomassa lignocelulósica foi disponibilizada pela hidrelétrica Engenheiro Souza Dias (Jupia) – propriedade da CTG Brasil, localizada no rio Paraná entre as cidades de Andradina e Castilho (SP) e Três Lagoas (MS), para ser utilizada como matéria-prima para produção de etanol de segunda geração, visto que a ocorrência de um excesso desta planta nas turbinas da hidrelétrica vem se tornando um problema.

A matéria-prima foi entregue para a análise já na forma triturada (Figura 3.1).

Figura 3.1: Biomassa de Gigoga triturada utilizada



Fonte: O autor (2021)

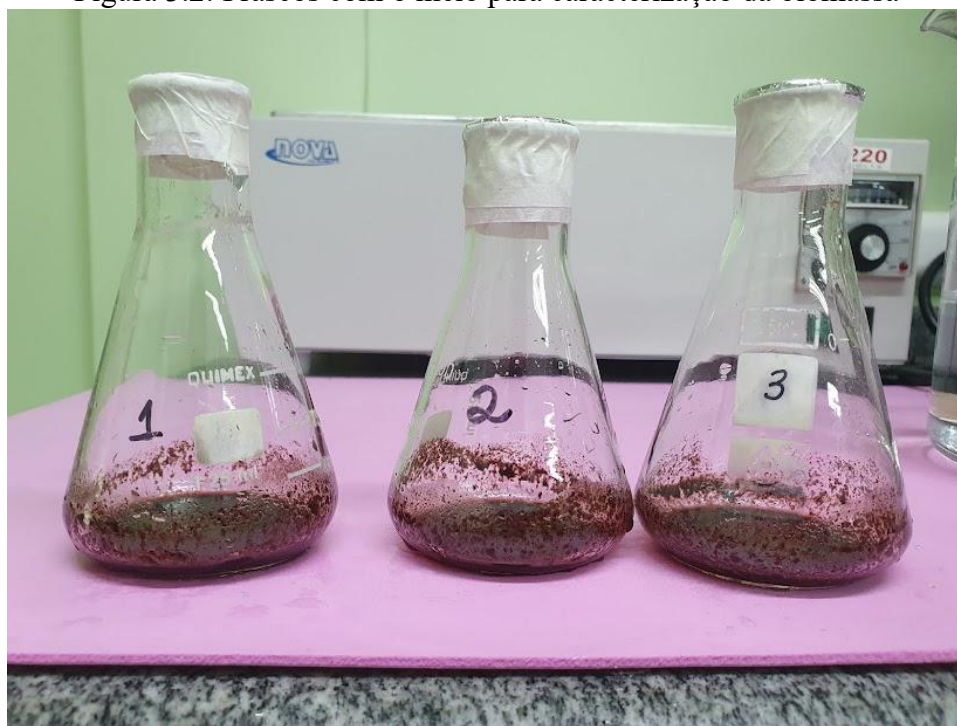
3.1.2. Caracterização

A biomassa de Gigoga foi caracterizada para determinar a quantidade de hemicelulose e celulose presente na sua composição.

Em triplicata foram pesadas 200 mg de biomassa de Gigoga triturada bem fina em forma de pó, as quais foram transferidas para Erlenmeyers de 120 ml. Foram adicionados 3 ml de ácido sulfúrico 72% a cada amostra e agitadas até homogeneização.

Foi realizado um aquecimento em banho maria a 30°C por uma hora, agitando-se os frascos a cada 10 minutos (Figura 3.2). Em seguida, adicionaram-se a cada meio 84 ml de água destilada, diluindo o ácido para 4% (Figura 3.3). Os frascos foram vedados e autoclavados por uma hora a 121°C, 1 atm (Figura 3.4) para tratamento térmico. Os hidrolisados obtidos foram filtrados em membranas previamente calcinadas a 575°C por 1 hora e pesadas (Figura 3.5). Removido cada hidrolisado, o resíduo retido nas membranas foi lavado com água destilada e seco a 100°C por 24 horas em estufa (Figura 3.6 e 3.7). Após secagem, as membranas foram novamente pesadas e calcinadas em mufla a 550°C por 5 horas. Após resfriar, pesaram-se novamente (Figura 3.8) (VERVERIS, 2007).

Figura 3.2: Frascos com o meio para caracterização da biomassa



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.3: Frascos para autoclavagem, contendo o meio para caracterização da matéria-prima



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.4: Frascos após a autoclavagem, contendo o meio para caracterização da matéria-prima



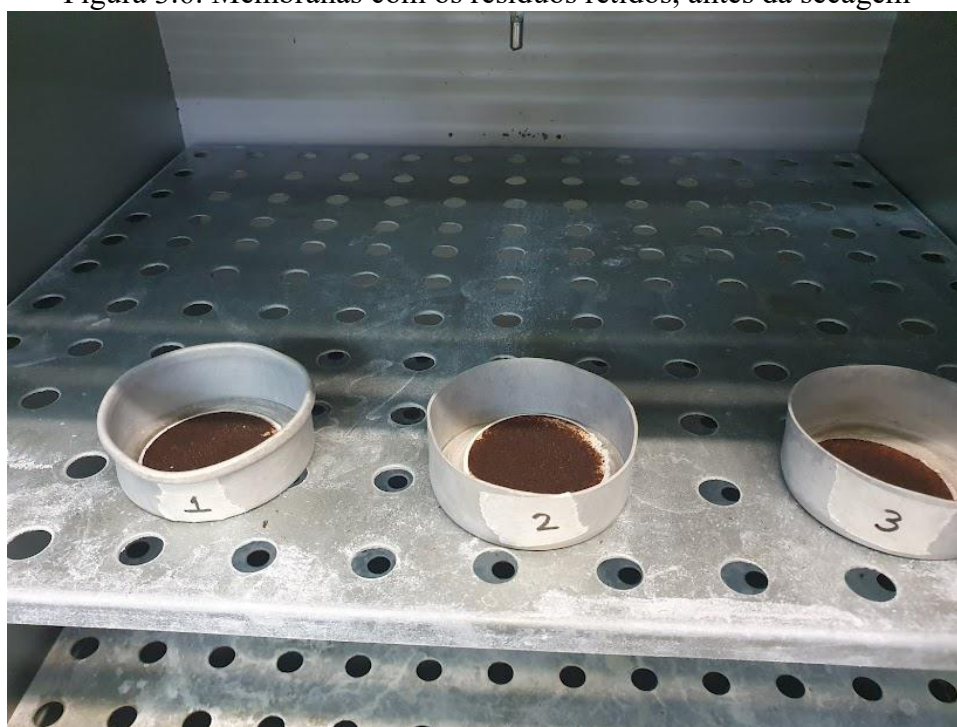
Fonte: O autor (2021)

Figura 3.5: Filtração com membrana dos hidrolisados



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.6: Membranas com os resíduos retidos, antes da secagem



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.7: Membranas após secagem



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.8: Membranas após calcinação



Fonte: O autor (2021)

O hidrolisado obtido (Figura 3.9) foi neutralizado com hidróxido de cálcio entre o pH 5-6 e em seguida filtrou-se a vácuo em papel de filtro, com auxílio do funil de Buchner lavando o precipitado com água (Figura 3.10). O hidrolisado foi avolumado com água em balão volumétrico de 200 ml (Figura 3.11). Determinou-se a concentração

de glicose e açúcares redutores totais de acordo com os métodos enzimáticos de glicose oxidase (GOD) e o método de determinação de açúcares redutores totais (DNS), respectivamente, conforme descrito a seguir.

Para o método do DNS adicionaram-se 200 μ L da amostra e 600 μ L do DNS em um tubo Falcon e aqueceu-se em banho maria a 100 °C por 5 minutos. Posteriormente, esperou-se atingir a temperatura ambiente e adicionaram-se 3 ml de água destilada. Foi feito o branco nas mesmas condições, substituindo a amostra por água destilada. Ao fim, foi lida a absorbância no espectrofotômetro UV-VIS a 540 nm (Miller, 1959).

O preparo do DNS consistiu-se em dissolver 10,6 g de ácido 3,5 dinitrosalissílico e 19,8 g de NaOH em 1416 mL de água destilada. Em seguida foram adicionadas 306 g de Rochelle salt (tartarato de sódio e potássio), 7,6 mL de fenol aquecido a 50 °C e 8,3 g de metabissulfito de sódio. Conservou-se em frasco âmbar a temperatura ambiente. Foi preparada uma curva padrão com solução de glicose nas concentrações de 0,1 a 1 g/L conforme o procedimento.

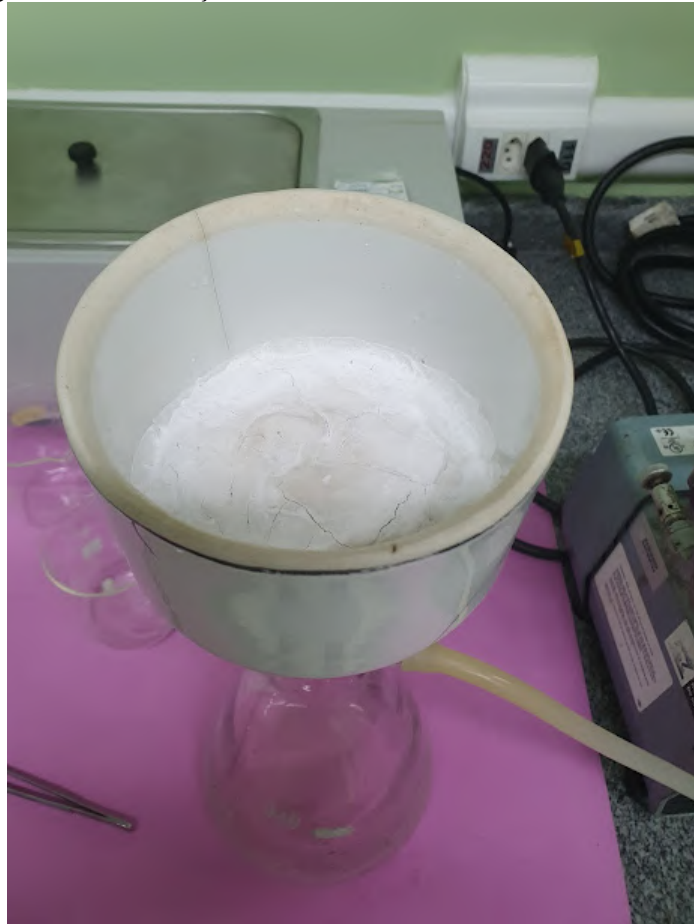
Para o método do GOD: adicionaram-se 20 μ L da amostra e 2 ml de GOD (Figura 3.12) em um tubo Falcon. Aqueceu-se a mistura em banho a 37 °C por 15 minutos. Posteriormente, depois de atingir a temperatura ambiente, adicionaram-se 2 ml de água destilada e seguidamente as absorbâncias das amostras foram lidas no espectrofotômetro a 505 nm. O branco e o padrão foram feitos nas mesmas condições, substituindo a amostra por água destilada e pelo padrão (Figura 3.13), respectivamente (kit enzimático Bioclin).

Figura 3.9: Hidrolisados obtidos após filtração por membrana



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.10: Filtração a vácuo dos hidrolisados neutralizados



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.11: Hidrolisados obtidos



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.12: GOD



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.13: Padrão utilizado no método do GOD



Fonte: O autor (2021)

3.2. Produção de etanol de segunda geração

A rota química escolhida para a produção de etanol parte da biomassa triturada e é composta pelas seguintes etapas: hidrólise ácida da biomassa lignocelulósica; tratamento alcalino de deslignificação da fração de celulignina resultante da etapa anterior, hidrólise ácida da celulose e fermentação dos hidrolisados hemicelulósicos e celulósicos. Assim, tem-se uma tecnologia que inova o conceito da produção de etanol de segunda geração empregando somente tratamentos químicos.

3.2.1. Hidrólise ácida da biomassa lignocelulósica

Para a hidrólise da hemicelulose, utilizou-se uma solução de 0,8% m/m de ácido sulfúrico em relação à massa seca de biomassa, tendo a vista o teor de umidade da biomassa de gigoga de 16,38%. A solução preparada foi borrifada sobre a biomassa triturada, sendo a proporção líquido/biomassa seca de 4:1. O sólido umedecido foi depositado em frascos tipo Erlenmeyer de 500 ml, tampado com papel de alumínio e fita crepe (Figura 3.14) e submetido ao tratamento térmico em autoclave à temperatura de 120°C e pressão de 1 atm, durante 30 minutos (Figura 3.15) (VIANA, 2017).

Figura 3.14: Biomassa a ser hidrolisada



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.15: Biomassa após sofrer hidrólise ácida em autoclave

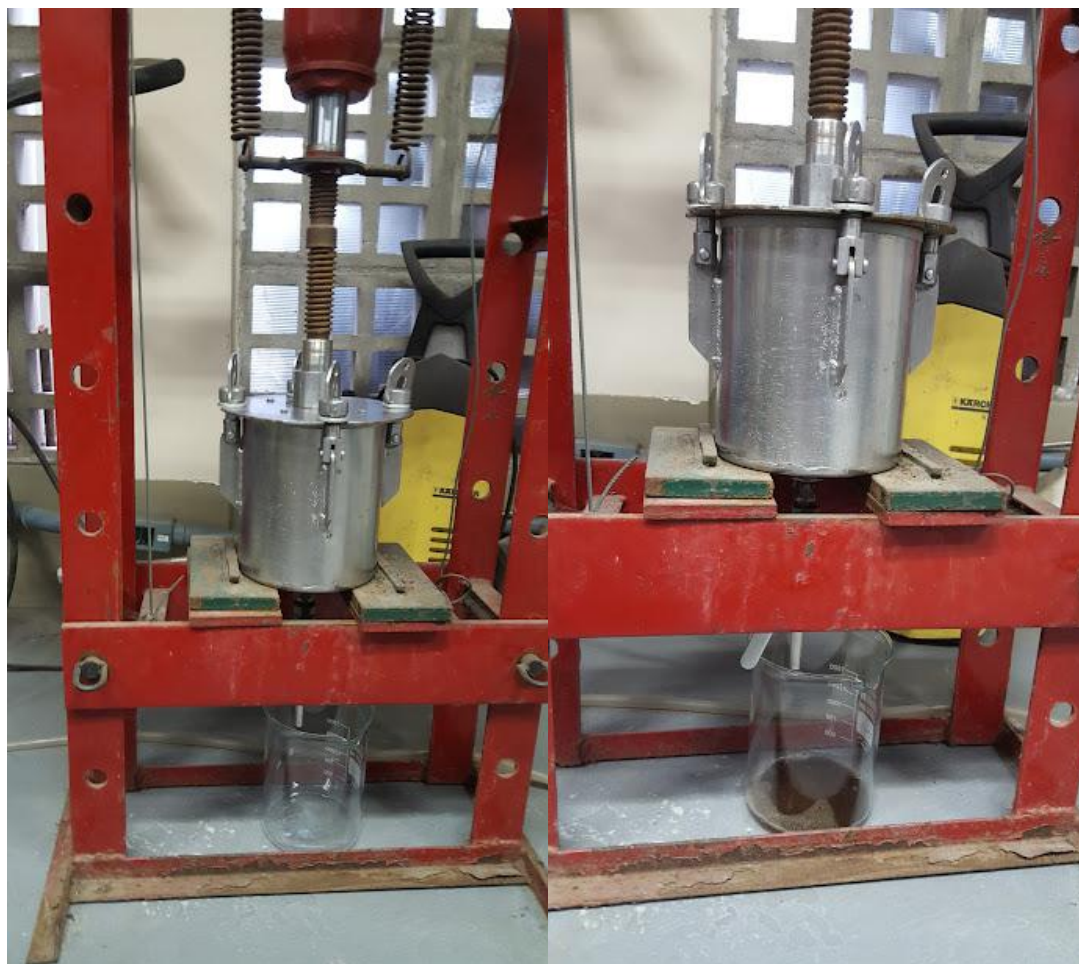


Fonte: O autor (2021)

Após esse tratamento, os resíduos apresentaram uma cor marrom mais escura, causada pela presença de compostos gerados a partir da lignina e taninos presentes no material, liberados durante o processo (Figura 3.15).

Em seguida, o material proveniente da hidrólise ácida da hemicelulose foi submetido a prensagem para a separação da fase líquida, hidrolisado hemicelulósico, da fase sólida, torta residual (celulignina). Esta etapa foi realizada utilizando uma prensa hidráulica do LADEBIO/EQ/UFRJ a uma pressão entre 5 a 6 toneladas (Figura 3.16).

Figura 3.16: Aparato para prensagem do hidrolisado



Fonte: O autor (2021)

Ajustou-se o pH do hidrolisado hemicelulósico de 5 até o valor de 6,0 pela adição de hidróxido de cálcio, permitindo assim a precipitação dos íons sulfato na forma de sulfato de cálcio (Figura 3.17), que foram posteriormente separados por filtração a vácuo (Figura 3.18 e 3.19). O hidrolisado final então obtido foi conservado em frasco âmbar na geladeira para ser posteriormente submetido à fermentação alcoólica.

Figura 3.17: Sulfato de cálcio precipitado decorrente da neutralização do hidrolisado



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.18: Aparelhagem para filtração a vácuo do hidrolisado hemicelulósico



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.19: Filtração a vácuo do hidrolisado hemicelulósico



Fonte: O autor (2021)

A torta residual composta de celulignina (Figura 3.20) foi lavada com água com o auxílio de uma peneira até o pH da água de lavagem atingir a neutralidade e ficar transparente (Figura 3.21). Após lavagem, a torta úmida foi seca em estufa a 105°C para posteriormente ser submetida à deslignificação alcalina (Figura 3.22).

Figura 3.20: Torta obtida pela prensagem do hidrolisado hemicelulósico



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.21: Lavagem da torta



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.22: Secagem da torta em estufa



Fonte: O autor (2021)

3.2.2. Deslignificação alcalina da celulignina

A torta residual seca, obtida no item 3.2.1, foi submetida ao processo de deslignificação usando uma solução de hidróxido de sódio 1% m/m de NaOH em relação à massa seca de torta. Sendo a relação sólido/líquido de 1:20. A torta com álcalis foi depositada em frascos tipo Erlenmeyer, vedado com papel de alumínio e fita crepe, e autoclavada (Figura 3.23). Uma parte da torta sofreu a solubilização da lignina a uma temperatura de 120°C a 1 atm por 30 minutos e o restante da torta contendo celulignina foi autoclavada a 100°C e 0,5atm por 30 minutos, alterando o rendimento de cada hidrólise pela modificação das condições. (VIANA, 2017)

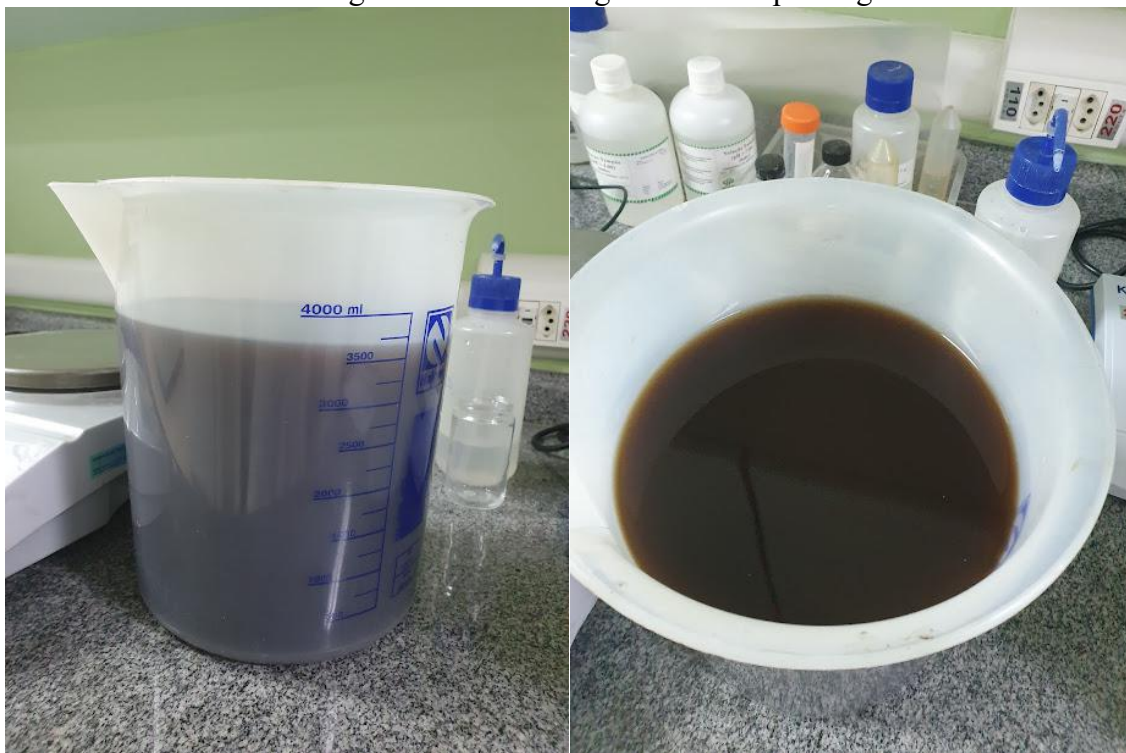
Figura 3.23: Celulignina a sofrer hidrólise básica



Fonte: O autor (2021)

O produto do tratamento foi prensado a 6 toneladas de pressão, separando a fase líquida (licor negro) da fase sólida (torta). O licor negro possuindo pH 7 (Figura 3.24) contém a lignina dissolvida, a qual foi conservada e congelada. A torta residual (Figura 3.25) obtida pela prensagem contém a celulose e foi lavada e secada em estufa a 105°C (Figuras 3.26 e 3.27).

Figura 3.24: Licor negro obtido na prensagem



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.25: Torta residual contendo celulose obtida na prensagem



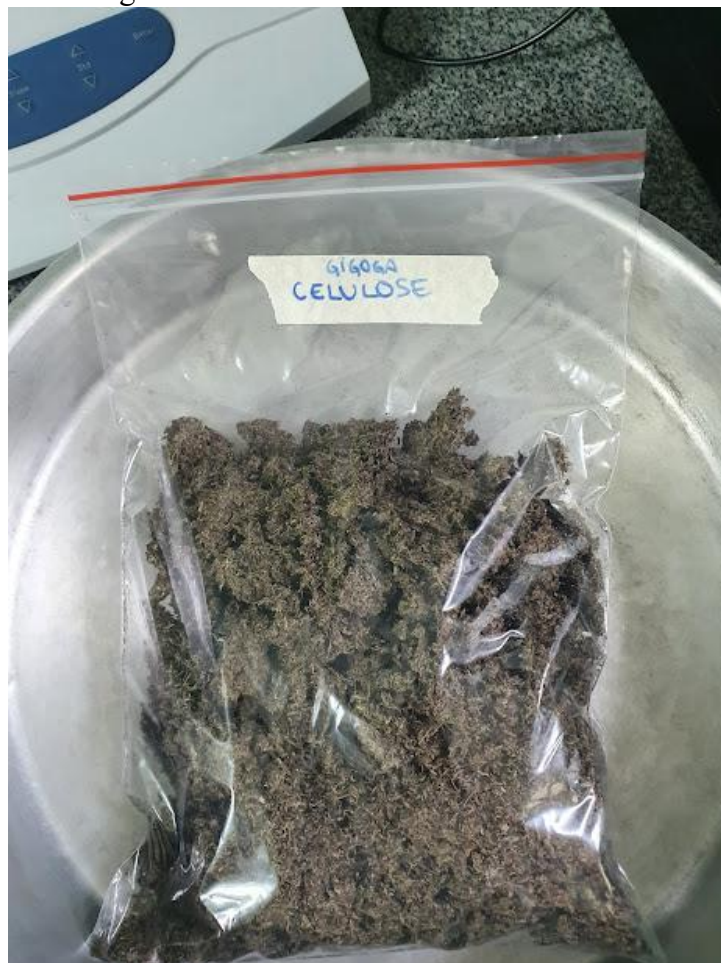
Fonte: O autor (2021)

Figura 3.26: Torta residual contendo celulose lavada



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.27: Torta residual contendo celulose seca



Fonte: O autor (2021)

3.2.3. Hidrólise ácida da celulose

Considerando que a hemicelulose e a lignina foram removidas da biomassa residual obtida após os dois tratamentos anteriores (ácido e alcalino), pressupõe-se que a celulose esteja acessível ao ataque do agente químico, o qual disponibilizará a glicose em solução.

Dessa forma, a torta resultante da hidrólise alcalina conforme item 3.2.2, foi submetida a uma hidrólise ácida. Para a hidrólise ácida deste polissacarídeo, a torta, rica em celulose, foi misturada com uma solução de ácido sulfúrico, preparada com 2% m/m de H_2SO_4 em relação à massa seca de torta. A relação líquido/sólido utilizada foi de 4:1. O sólido umedecido foi depositado em frascos tipo Erlenmeyer e submetido ao tratamento térmico em autoclave a 120 °C e 1 atm durante 30 minutos (Figura 3.28).

Após esse tratamento, separou-se, por prensagem em prensa hidráulica a 6 toneladas de pressão, a fase líquida (o hidrolisado celulósico (Figura 3.29)), da fase sólida (a torta residual final), a qual é descartada. O hidrolisado celulósico teve seu pH ajustado de 4 até o valor de 6, pela adição de hidróxido de cálcio. Após neutralização, filtrou-se o hidrolisado para remoção do sulfato de cálcio formado, obtendo-se o hidrolisado final, o qual é conservado em frasco âmbar na geladeira. (VIANA, 2017)

Figura 3.28: Hidrolisados obtidos após autoclavagem



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.29: Hidrolisado celulósico



Fonte: O autor (2021)

3.2.4. Fermentação dos hidrolisados hemicelulósico e celulósico

Para avaliar o potencial da produção de etanol, a partir dos hidrolisados hemicelulósico e celulósico, foram realizados estudos de fermentabilidade.

A análise da fermentabilidade foi realizada por meio da progressão do hidrolisado de modo a fazer a aclimatação, ou seja, foi realizada a fermentação contendo 25% de hidrolisado, 50% de hidrolisado e posteriormente 75% de hidrolisado.

Inicialmente foi proposto que o processo de fermentação do hidrolisado celulósico fosse realizado com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e do hemicelulósico com a *Scheffersomyces stipitis*, devido à composição química de cada hidrolisado. Porém, como não houve sucesso na ativação da levedura *Scheffersomyces stipitis*, foi proposto analisar a fermentação dos dois hidrolisados com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Dessa forma, a fermentação dos hidrolisados foi realizada de acordo com a seguinte metodologia: preparação do meio em Erlenmeyer de 250 ml; autoclavagem dos meios de cultivo vedados; adição do microrganismo e hidrolisado na capela de fluxo

laminar; amostragem dos meios; montagem da aparelhagem com a vidraria fermentômetro e fermentação em shaker a 37°C (CARVALHO,2009).

O meio reacional preparado foi uma solução de 160 ml contendo: 1,6 gramas de extrato de levedura (10g/L), 0,2 g de ureia (1,25 g/L), 0,18 g de fosfato de potássio (1,1 g/L) e 6,4 ml da solução de sais (40g/L). Para preparação de uma solução de sais de 1 litro, adicionaram-se as quantidades de cada reagente de acordo com a tabela 3.1 e, posteriormente, avolumou-se a um balão de 1 litro com água destilada (CARVALHO, 2009).

Tabela 3.1: Quantidade utilizada de cada reagente para 1 L de solução de sais

Componente	Peso (g)
MgSO ₄ .7H ₂ O	12,51
CaCl ₂ .2H ₂ O	1,25
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,90
MnSO ₄ .H ₂ O	0,19
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,0251
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,30
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,0256
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,0349
H ₃ BO ₃	0,0499
KI	0,0094
Al ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O	0,0124
Ácido cítrico	12,50

Em seguida, adicionou-se a quantidade adequada de água destilada de acordo com o percentual de hidrolisado e vedou-se cada frasco com rolha de gaze e algodão, tapando com alumínio e fita crepe. Depois de preparada e vedada, a solução é autoclavada a 120°C, 1 atm por 20 minutos (Figuras 3.30 e 3.31) para esterilização do meio. Posteriormente, atingida a temperatura ambiente e em capela de fluxo laminar, para manter o ambiente estéril, adicionaram-se 3,2 gramas da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (8g/L) presente em fermento biológico fresco de panificação (Figura 3.32), tendo em vista que o fermento possui 60% de umidade, e adicionou-se também o volume de hidrolisado correspondente, avolumando os Erlenmeyers contendo o meio até 160 ml. Ainda em fluxo laminar, retirou-se uma amostra de 2 ml de cada meio e em seguida vedou-se a boca das vidrarias com os fermentômetros, os quais foram preenchidos com uma solução de ácido clorídrico até atingir o bulbo do equipamento. O objetivo da utilização da vidraria fermentômetro em cada meio é impedir a entrada de ar, influenciando no peso da aparelhagem, e a solução ácida presente solubiliza o

dióxido de carbono emitido pela reação de fermentação na forma de carbonato. As amostras de 2 ml foram centrifugadas e o sobrenadante obtido foi separado e congelado para uma posterior análise.

Figura 3.30: Frascos contendo meio de cultivo para fermentação de 50% de hidrolisado hemicelulósico antes da autoclavagem



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.31: Meios de cultivo vedados para fermentação de 50% de hidrolisado hemicelulósico após autoclavagem



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.32: Levedura presente em fermento biológico fresco de panificação que será adicionada ao meio



Fonte: O autor (2021)

As quantidades de hidrolisado e água são apresentadas na Tabela 3.2.

Tabela 3.2: Quantidades correspondentes de água e hidrolisado para cada percentual de fermentação.

25% de hidrolisado		50% de hidrolisado		75% hidrolisado	
Hidrolisado (ml)	Água (ml)	Hidrolisado (ml)	Água (ml)	Hidrolisado (ml)	Água (ml)
40	113,6	80	73,6	120	33,6

Cada sistema de fermentação, montado previamente na capela de fluxo laminar (Erlenmeyers com fermentômetros), foi pesado e colocado no shaker para dar início ao processo de fermentação (Figuras 3.33 a 3.38). O shaker foi ajustado para manter a temperatura em 37°C e 200 rpm de agitação (Figura 3.39). (CARVALHO,2009)

Figura 3.33: Sistema de fermentação correspondente a 25% de hidrolisado celulósico



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.34: Sistema de fermentação correspondente a 50% de hidrolisado celulósico



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.35: Sistema de fermentação correspondente a 75% de hidrolisado celulósico



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.36: Sistema de fermentação correspondente a 25% de hidrolisado hemicelulósico



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.37: Sistema de fermentação correspondente a 50% de hidrolisado hemicelulósico



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.38: Sistema de fermentação correspondente a 75% de hidrolisado hemicelulósico



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.39: Aparelhagem completa do processo de fermentação



Fonte: O autor (2021)

Os sistemas de fermentação foram pesados duas vezes ao dia, até atingir peso constante, evidenciando o fim da fermentação pelo consumo total da glicose presente nos hidrolisados. Isso aconteceu em média em um período de 3 a 5 dias. A massa dos sistemas diminuiu durante o andamento da fermentação devido ao desprendimento de CO_2 proveniente da reação de consumo de glicose e produção de etanol (Figura 3.40 a 3.44).

Figura 3.40: Fim da fermentação do sistema correspondente a 25% de hidrolisado celulósico



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.41: Fim da fermentação do sistema correspondente a 50% de hidrolisado celulósico



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.42: Fim da fermentação do sistema correspondente a 75% de hidrolisado celulósico



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.43: Fim da fermentação do sistema correspondente a 50% de hidrolisado hemicelulósico



Fonte: O autor (2021)

Figura 3.44: Fim da fermentação do sistema correspondente a 75% de hidrolisado hemicelulósico



Fonte: O autor (2021)

Ao final de cada fermentação, uma amostra de 2 ml foi retirada do meio fermentado, centrifugada e o sobrenadante obtido teve sua absorbância lida no

espectrofotômetro conforme descrito no item 3.1.1, sendo que, para o hidrolisado hemicelulósico, usou-se o método do DNS e para o hidrolisado celulósico, o do GOD.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

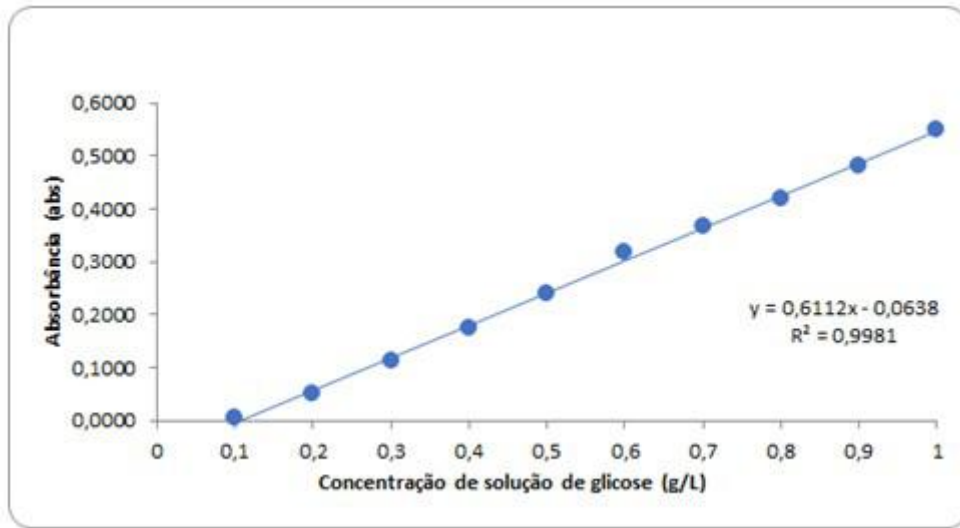
4.1. Caracterização da matéria-prima

Para determinar os resultados da caracterização da biomassa de *Gigoga* é necessária a análise de açúcares redutores totais (DNS). Para isso, construiu-se primeiramente uma curva padrão com o DNS preparado. Dessa forma, preparou-se uma solução de glicose pura e foi variando a sua concentração nas amostras de 0,1 a 1,0 g/L. Em seguida, realizou-se a leitura dessas amostras no espectrofotômetro a 540 nm. As absorbâncias das amostras padrão são apresentadas na Tabela 4.1. Os resultados obtidos foram plotados no Gráfico 4.1.

Tabela 4.1: Absorbâncias das soluções padrões de glicose da Curva Padrão DNS

Concentração (g/L)	Absorbância (abs)			Média (abs)
	1	2	3	
0,1	0,007	0,008	0,006	0,0070
0,2	0,057	0,045	0,052	0,0513
0,3	0,105	0,117	0,115	0,1123
0,4	0,168	0,187	0,174	0,1763
0,5	0,247	0,234	0,239	0,2400
0,6	0,321	0,315	0,321	0,3190
0,7	0,366	0,362	0,373	0,3670
0,8	0,437	0,414	0,406	0,4190
0,9	0,489	0,475	0,476	0,4800
1,0	0,564	0,534	0,556	0,5513

Gráfico 4.1: Curva padrão DNS: absorvância x concentração da solução de glicose pura



Pela equação da reta (Equação 4.1), encontrada a partir dos pontos da curva padrão, é possível relacionar a absorvância (abs) e a concentração de açúcar (C) da seguinte forma:

$$abs = 0,6112 * C - 0,0638 \text{ (Equação 4.1)}$$

$$C = \frac{abs + 0,0638}{0,6112}$$

Realizando o procedimento de caracterização das amostras da biomassa utilizada e aplicando os resultados na equação 4.1, obtiveram-se as seguintes concentrações de açúcar presente na biomassa a partir das absorvâncias encontradas (Tabela 4.2).

Tabela 4.2: Concentração de açúcares redutores totais

Amostra	Absorvância (abs)			Média (abs)	Concentração (g/L)
	1	2	3		
1	0,077	0,071	0,076	0,075	0,23
2	0,097	0,098	0,095	0,097	0,26
3	0,083	0,081	0,082	0,082	0,24

Ao longo do procedimento de caracterização realizaram-se medições de massas em diversas etapas para uma posterior análise, tais quais: a massa da amostra seca inicialmente adicionada ao frasco tipo Erlenmeyer (m); a massa inicial das membranas calcinadas (W_0); a massa das membranas com resíduo após secagem (W_1); a massa das membranas com resíduo após calcinação, tendo a massa de cinzas (W_2) (Tabela 4.3).

Tabela 4.3: Dados das massas das membranas utilizadas no processo de caracterização

Amostra	Massa amostra seca (g)	W ₀ (g)	W ₁ (g)	W ₂ (g)
1	0,20	18,3513	18,4190	18,3766
2	0,20	15,8672	15,9212	15,8904
3	0,20	15,4413	15,5153	15,4709

Realizou-se também a leitura a 505 nm das amostras, sendo calculada a concentração de glicose presente (Tabela 4.4). A concentração de glicose foi calculada levando em conta as absorvâncias do padrão, sendo a razão entre a absorvância da amostra pela média das absorvâncias da triplicata do padrão (Equação 4.2).

$$C = \frac{\text{abs amostra}}{\text{média abs dos padrões}} \quad (\text{Equação 4.2})$$

Tabela 4.4: Concentração de glicose

Amostra	Absorvância (abs)			Média (abs)	Concentração (g/L)
	1	2	3		
1	0,020	0,020	0,020	0,020	0,13
2	0,036	0,030	0,027	0,031	0,20
3	0,025	0,019	0,024	0,023	0,15
Padrão	0,144	0,158	0,152	0,151	1,00

Sabendo-se que o rendimento teórico da sacarificação da glicose é de 96% e da sacarificação da hemicelulose é de 93%, os seguintes cálculos foram realizados para a determinação de cada teor (Tabela 4.5) (VERVERIS, 2007), onde:

A = Massa molar do polímero glicose (g/mol)

B = Massa molar do monômero glicose (g/mol)

C₁ = Concentração de glicose (g/L)

C₂ = Concentração de açúcares redutores (g/L)

D = Volume total do meio (L)

E = Massa molar do polímero xilose (g/mol)

F = Massa molar do monômero xilose (g/mol)

$$\text{Celulose} \left(\% \frac{m}{m} \right) = \frac{A}{0,96 \cdot B} * C_1 * \left(\frac{D}{m} \right) * 100$$

$$Celulose \left(\% \frac{m}{m} \right) = \frac{162}{0,96} * C_1 * \left(\frac{0,2}{0,2} \right) * 100$$

$$Hemicelulose \left(\% \frac{m}{m} \right) = \frac{E}{0,93} * (C_1 - C_2) * \left(\frac{D}{m} \right) * 100$$

$$Hemicelulose \left(\% \frac{m}{m} \right) = \frac{132}{0,93} * (C_1 - C_2) * \left(\frac{0,2}{0,2} \right) * 100$$

$$Cinzas \left(\% \frac{m}{m} \right) = (W_0 - W_2) * \left(\frac{100}{m} \right)$$

$$Lignina \left(\% \frac{m}{m} \right) = 100 - \left(Cel. \left(\% \frac{m}{m} \right) + Hemicel. \left(\% \frac{m}{m} \right) + Cinzas \left(\% \frac{m}{m} \right) \right)$$

Tabela 4.5: Composição química da Gigoga

Amostra	Hemicelulose (%m/m)	Celulose (%m/m)	Lignina (%m/m)	Cinzas (%m/m)
1	8,93	12,39	66,03	12,65
2	5,46	19,20	63,74	11,60
3	8,40	14,04	62,76	14,80
Média	7,60	15,21	64,17	13,02

Os teores de hemicelulose e celulose encontrados foram baixos em comparação com os encontrados na literatura (Tabela 4.6). Segundo a caracterização química típica, a biomassa de Gigoga possui em média 25% de celulose, 35% de hemicelulose, 10% de lignina e 25% de cinzas.

Tabela 4.6: Composição da gigoga de acordo com as referências consultadas

Referência	Hemicelulose (%m/m)	Celulose (%m/m)	Lignina (%m/m)
Gunnarsson e Petersen (2007)	33,40	19,50	9,30
Reales-Alfaro et al (2013)	27,33	31,67	4,40
Teixeira (2019)	28,61	32,50	7,46

Sabe-se que para atingir a porcentagem típica de cada componente da caracterização, a concentração de açúcares redutores totais esperada seria por volta de 0,65 g/L e obteve-se 0,24 g/L e a concentração de glicose esperada seria por volta de 0,27 g/L e obteve-se 0,16 g/L.

Portanto, os resultados obtidos sugerem que as condições e metodologias utilizadas na caracterização não foram eficientes para atingir a composição típica da

Gigoga. A etapa de caracterização deveria representar os valores máximos possíveis de açúcares a serem extraídos da biomassa, pois é a etapa otimizada do processo, obtendo-se teores esperados para essa matéria-prima.

4.2. Produção de etanol de segunda geração

4.2.1. Hidrólise ácida da biomassa lignocelulósica

A extração da hemicelulose foi realizada em 10 frascos tipo Erlenmeyer partindo de 502,19 g de matéria-prima. Obtiveram-se 950 ml de hidrolisado hemicelulósico (Tabela 4.7) e sua absorvância foi lida a 540 nm (Tabela 4.8).

Tabela 4.7: Dados e resultados da hidrólise ácida da biomassa.

Insumos	Quantidade
Biomassa (g)	502,19
H ₂ SO ₄ PA (g)	3,62
Solução de ácido (g)	1679,73
Hidrolisado pós prensa (g)	1018,65
Hidrolisado final obtido (g)	986,78
Hidrolisado final obtido (ml)	950
Torta residual pós prensa(g)	988,85
Torta residual seca [1] (g)	572,73

Tabela 4.8: Concentração de açúcares totais do hidrolisado hemicelulósico

Amostra	Absorvância (abs)			Média (abs)	Concentração (g/L)
	1	2	3		
Hidrolisado	0,261	0,237	0,235	0,244	0,504

A partir do resultado da concentração de açúcares redutores totais, obtido na caracterização da biomassa (0,24 g/L), é possível concluir que o procedimento seguido na rota tecnológica proposta para extração do hidrolisado hemicelulósico foi mais eficiente que o procedimento da própria caracterização, obtendo-se uma concentração de 0,504 g/L. Isso indica uma otimização das condições do método, alcançando um valor mais próximo ao esperado para a biomassa de Gigoga que é de 0,65 g/L.

4.2.2. Deslignificação

A primeira porção de torta [1], proveniente da hidrólise anterior, submeteu-se à extração da lignina a 120°C sendo dividida em 11 frascos tipo Erlenmeyer (Tabela 4.9). Já a extração no restante da torta [1] foi realizada em 12 frascos a 100°C (Tabela 4.10).

Tabela 4.9: Dados e resultados da deslignificação a 120°C

Insumos	Quantidade
Torta [1] (g)	275
NaOH PA (g)	3,40975
Solução alcalina (g)	5500
Licor negro pós prensa (g)	3583,64
Torta residual pós prensa(g)	519,26
Torta residual seca [2] (g)	192,53

Tabela 4.10: Dados e resultados da deslignificação a 100°C

Insumos	Quantidade
Torta [1] (g)	243,25
NaOH PA (g)	3,6631
Solução alcalina (g)	4800
Licor negro pós prensa (g)	4521,16
Torta residual pós prensa(g)	383,15
Torta residual seca [3] (g)	167,74

4.2.3. Hidrólise ácida da celulose

A extração da glicose contida na torta [2], proveniente da deslignificação a 120°C, realizou-se em 7 frascos tipo Erlenmeyer. Os dados e resultados da hidrólise estão apresentados na Tabela 4.11. Já os dados e resultados da hidrólise ácida da torta [3] contendo celulose, oriunda da deslignificação a 100°C, são apresentados na Tabela 4.12 e foi realizada em 6 frascos.

Tabela 4.11: Dados e resultados da hidrólise ácida da torta [2]

Insumos	Quantidade
Torta [2] (g)	191,06
H ₂ SO ₄ PA (g)	3,97
Solução de ácido (g)	766,92
Hidrolisado pós prensa (g)	1018,65
Hidrolisado celulósico (g)	986,78
Hidrolisado celulósico (ml)	500
Torta residual final (g)	337,5

Tabela 4.12: Dados e resultados da hidrólise ácida da torta [3]

Insumos	Quantidade
Torta [3] (g)	166,58
H ₂ SO ₄ PA (g)	3,48
Solução de ácido (g)	672,24
Hidrolisado pós prensa (g)	447,18
Hidrolisado celulósico (ml)	420
Torta residual final (g)	329,48

Calculou-se a concentração de glicose dos hidrolisados celulósicos a partir das absorvâncias lidas a 505 nm nas amostras correspondentes (Tabela 4.13 e 4.14).

Tabela 4.13: Concentração de glicose do hidrolisado celulósico 120°C

Amostra	Absorvância (abs)			Média (abs)	Concentração (g/L)
	1	2	3		
Padrão	0,139	0,137	0,137	0,138	1,000
Hidrolisado	0,023	0,024	0,022	0,023	0,167

Tabela 4.14: Concentração de glicose do hidrolisado celulósico 100°C

Amostra	Absorvância (abs)			Média (abs)	Concentração (g/L)
	1	2	3		
Padrão	0,144	0,158	0,172	0,158	1,000
Hidrolisado	0,016	0,015	0,012	0,014	0,091

Observa-se a forte influência da temperatura da etapa de deslignificação no hidrolisado celulósico. A concentração de glicose no hidrolisado, cuja etapa de deslignificação foi realizada a 120°C, é quase o dobro do valor da concentração de glicose do hidrolisado realizado a 100°C.

A concentração de glicose esperada era de aproximadamente 0,27 g/L, segundo os teores típicos reportados para a Gigoga, porém, o valor obtido a partir da torta deslignificada a 120°C foi de 0,167 g/L, similar ao valor identificado na caracterização da biomassa (0,16 g/L).

Cabe destacar que as condições utilizadas nos processos de extração dos hidrolisados a partir da biomassa da Gigoga, foram as condições otimizadas encontradas para extração a partir do resíduo de madeira, com base em VIANA, 2017. Dessa forma, por ter sido baseado em uma metodologia para uma biomassa terrestre, os resultados obtidos não foram os esperados, porém, pela otimização das etapas e do método de extração dos hidrolisados, será possível a obtenção de hidrolisados com maiores teores de açúcares fermentáveis. Assim como na caracterização, a metodologia foi a comumente empregadas para qualquer outro tipo de material lignocelulósico, como o bagaço de cana-de-açúcar.

4.2.4. Fermentação do hidrolisado hemicelulósico

Os meios 1 a 3 referem-se à fermentação em triplicata correspondente a 25% de hidrolisado, os meios 4 a 6 a 50% e os meios 7 a 9 a 75% de hidrolisado. As pesagens realizadas ao longo da fermentação e a massa de dióxido de carbono desprendido, cujo valor é determinado a partir da diferença entre a massa do sistema de fermentação ao longo do tempo e sua massa inicial, são apresentadas nas Tabelas 4.15, 4.16 e 4.17.

Tabela 4.15: Dados da fermentação de 25 % de hidrolisado hemicelulósico

Tempo (horas)	Meio 1 (g)	CO₂ emitido (g)	Meio 2 (g)	CO₂ emitido (g)	Meio 3 (g)	CO₂ emitido (g)
0	395,00	0,00	398,90	0,00	411,31	0,00
3	394,97	0,03	398,87	0,03	411,28	0,03
24	394,91	0,09	398,81	0,09	411,23	0,08
27	394,89	0,11	398,78	0,12	411,22	0,09
48	394,85	0,15	398,73	0,17	411,18	0,13
51	394,82	0,18	398,73	0,17	411,18	0,13
72	394,75	0,25	398,68	0,22	411,10	0,21
75	394,75	0,25	398,67	0,23	411,10	0,21

Tabela 4.16: Dados da fermentação de 50 % de hidrolisado hemicelulósico

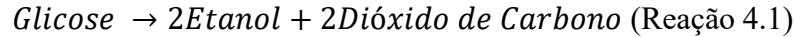
Tempo (horas)	Meio 4 (g)	CO₂ emitido (g)	Meio 5 (g)	CO₂ emitido (g)	Meio 6 (g)	CO₂ emitido (g)
0	392,55	0,00	363,06	0,00	356,19	0,00
3	392,52	0,03	362,93	0,13	356,14	0,05
24	392,46	0,09	362,90	0,16	356,09	0,10
27	392,44	0,11	362,87	0,19	356,07	0,12
48	392,38	0,17	362,80	0,26	356,02	0,17
51	392,38	0,17	362,79	0,27	356,01	0,18
72	392,32	0,23	362,76	0,30	355,98	0,21
75	392,32	0,23	362,76	0,30	355,98	0,21

Tabela 4.17: Dados da fermentação de 75 % de hidrolisado hemicelulósico

Tempo (horas)	Meio 7 (g)	CO₂ emitido (g)	Meio 8 (g)	CO₂ emitido (g)	Meio 9 (g)	CO₂ emitido (g)
0	377,48	0,00	418,54	0,00	400,26	0,00
3	377,37	0,11	418,44	0,10	400,21	0,05
24	377,25	0,23	418,25	0,29	400,05	0,21
27	377,24	0,24	418,24	0,30	400,00	0,26
48	377,17	0,31	418,14	0,40	399,90	0,36
51	377,14	0,34	418,14	0,40	399,84	0,42

Calculou-se então a média da quantidade de dióxido de carbono desprendido dos três meios ao longo do tempo e, sendo o volume total do meio igual a 160 mL, calculou-

se a concentração de CO₂ emitida acumulada (g/L). Calculou-se também a concentração de glicose reagida equivalente acumulada (C₃) ao longo do tempo, de acordo com a reação de fermentação (Reação 1), assim como a concentração de etanol formado acumulado (C₄).



$$C_3 = \frac{CO_2 \text{ emitido acumulado} * MM_{glicose} * 1000}{2 * MM_{CO_2}} * 160$$

$$C_3 \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{CO_2 \text{ emitido acumulado} (g) * 180 \left(\frac{g}{mol} \right) * 1000 \left(\frac{mL}{L} \right)}{2 * 44 \left(\frac{g}{mol} \right)} * 160 \text{ mL}$$

$$C_4 = \frac{CO_2 \text{ emitido acumulado} * 2 * MM_{etanol} * 1000}{2 * MM_{CO}} * 160$$

$$C_4 \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{CO_2 \text{ emitido acumulado} (g) * 46 \left(\frac{g}{mol} \right) * 1000 \left(\frac{mL}{L} \right)}{44 \left(\frac{g}{mol} \right)} * 160 \text{ mL}$$

Onde MM = Massa Molar

As concentrações de glicose acumulada ao longo do tempo foram subtraídas do total acumulado para determinar a concentração de glicose consumida pela levedura. Apresentam-se os resultados encontrados nas Tabelas 4.18, 4.19 e 4.20. As curvas das concentrações respectivas foram plotadas nos Gráficos 4.2, 4.3, 4.4 e 4.5.

Tabela 4.18: Concentrações referentes à fermentação de 25 % de hidrolisado hemicelulósico

Tempo (horas)	Dióxido de carbono emitido acumulado (g/L)	Glicose a ser consumida (g/L)	Etanol formado acumulado (g/L)
0	0,00	12,66	0,00
3	0,19	12,27	0,20
24	0,73	11,16	0,76
27	1,40	9,80	1,46
48	2,33	7,88	2,44
51	3,33	5,84	3,48
72	4,75	2,94	4,97
75	6,19	0,00	6,47

Gráfico 4.2: Curvas referentes à fermentação de 25% de hidrolisado hemicelulósico

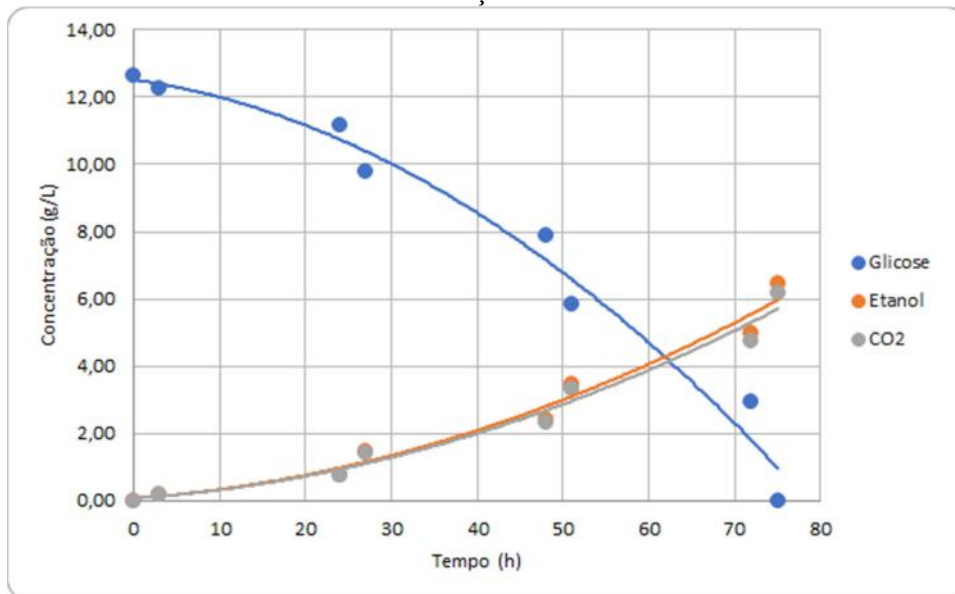


Tabela 4.19: Concentrações referentes à fermentação de 50 % de hidrolisado hemicelulósico

Tempo (horas)	Dióxido de carbono emitido acumulado (g/L)	Glicose a ser consumida (g/L)	Etanol formado acumulado (g/L)
0	0,00	15,68	0,00
3	0,44	14,79	0,46
24	1,17	13,30	1,22
27	2,04	11,51	2,13
48	3,29	8,95	3,44
51	4,58	6,31	4,79
72	6,13	3,15	6,40
75	7,67	0,00	8,02

Gráfico 4.3: Curvas referentes à fermentação de 50% de hidrolisado hemicelulósico

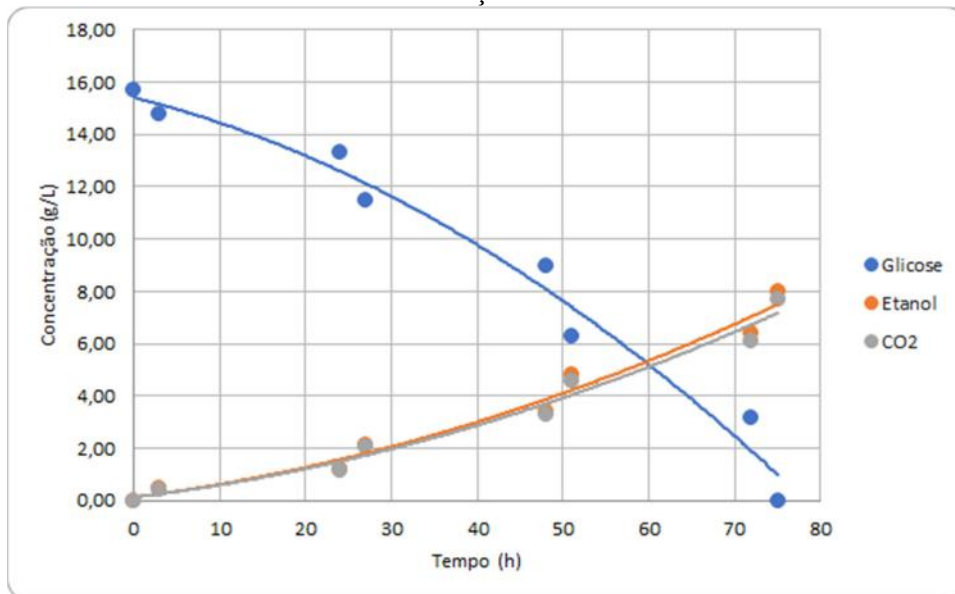
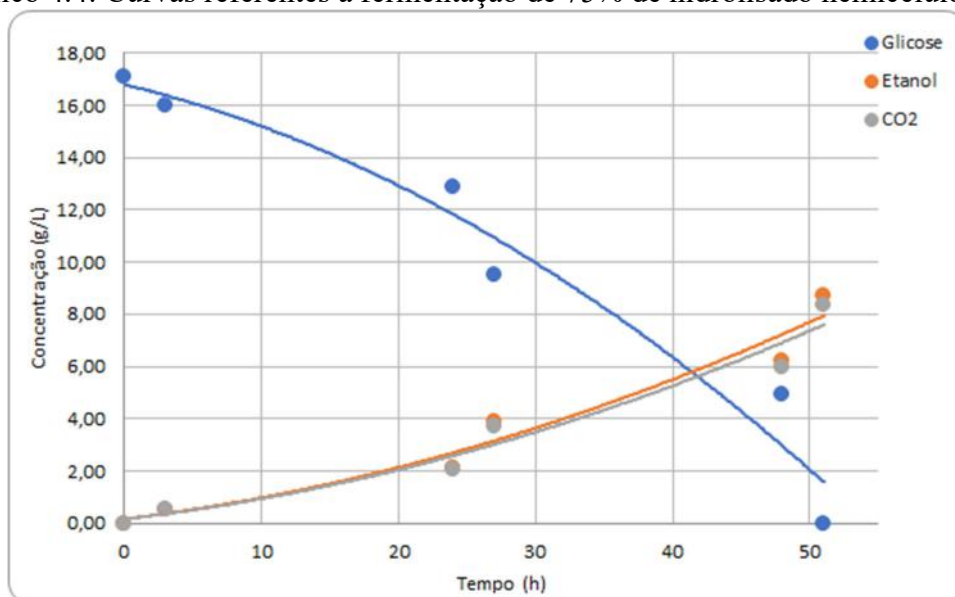


Tabela 4.20: Concentrações referentes à fermentação de 75 % de hidrolisado hemicelulósico

Tempo (horas)	Dióxido de carbono emitido acumulado (g/L)	Glicose a ser consumida (g/L)	Etanol formado acumulado (g/L)
0	0,00	17,13	0,00
3	0,54	16,02	0,57
24	2,06	12,91	2,16
27	3,73	9,50	3,90
48	5,96	4,94	6,23
51	8,38	0,00	8,76

Gráfico 4.4: Curvas referentes à fermentação de 75% de hidrolisado hemicelulósico



Realizou-se também a leitura a 540 nm das amostras retiradas de todos os meios fermentativos, sendo calculada a concentração de açúcares redutores totais de cada meio (Tabela 4.21).

Tabela 4.21: Concentração de açúcares redutores totais pelo método do DNS

Tempo	Amostra	Absorbância (abs)			Média (abs)	Concentração (g/L)	Média (g/L)
		1	2	3			
Inicial	1	0,032	0,034	0,030	0,032	0,157	
Inicial	2	0,031	0,035	0,041	0,036	0,163	0,161
Inicial	3	0,040	0,036	0,032	0,036	0,163	
Final	1	0,021	0,016	0,018	0,018	0,134	
Final	2	0,015	0,015	0,013	0,014	0,128	0,134
Final	3	0,023	0,019	0,021	0,021	0,139	
Inicial	4	0,045	0,040	0,042	0,042	0,174	
Inicial	5	0,044	0,040	0,043	0,042	0,174	0,173
Inicial	6	0,038	0,044	0,040	0,041	0,171	
Final	4	0,022	0,021	0,022	0,022	0,140	
Final	5	0,030	0,027	0,024	0,027	0,149	0,144
Final	6	0,024	0,023	0,024	0,024	0,143	
Inicial	7	0,058	0,054	0,050	0,054	0,193	
Inicial	8	0,046	0,046	0,053	0,048	0,183	0,191
Inicial	9	0,058	0,057	0,057	0,057	0,198	
Final	7	0,051	0,052	0,043	0,049	0,184	
Final	8	0,047	0,049	0,045	0,047	0,181	0,187
Final	9	0,056	0,055	0,056	0,056	0,195	

Observa-se nos Gráficos 4.2, 4.3 e 4.4 e nas Tabelas 4.18, 4.19 e 4.20 que os açúcares disponíveis no meio foram metabolizados pela levedura, produzindo CO₂ e etanol. Pela análise do método do DNS (Tabela 4.21) temos que a concentração de açúcar inicial de cada meio vai aumentando conforme aumento da porcentagem de hidrolisado, assim como é evidenciado nos Gráficos 4.2, 4.3 e 4.4. Observa-se uma redução da concentração de açúcar de 16,8% tanto para o meio com 25 % de hidrolisado quanto para o de 50%. Já para a fermentação com 75% de hidrolisado hemicelulósico temos uma redução de 2,09%, sugerindo que a levedura reduz seu metabolismo com o aumento de açúcar no meio, podendo ter a formação de etanol como inibidor.

4.2.5. Fermentação dos hidrolisado celulósico

As pesagens realizadas ao longo das fermentações e a massa de dióxido de carbono desprendido em cada uma delas são apresentadas nas Tabelas 4.22, 4.23 e 4.24,

sendo os meios 1 a 3 referentes à fermentação em triplicata correspondente a 25% de hidrolisado celulósico, os meios 4 a 6 a 50% e os meios 7 a 9 a 75% de hidrolisado.

Tabela 4.22: Dados da fermentação de 25 % de hidrolisado celulósico

Tempo (horas)	Meio 1 (g)	CO₂ emitido (g)	Meio 2 (g)	CO₂ emitido (g)	Meio 3 (g)	CO₂ emitido (g)
0	387,77	0,00	398,16	0,00	350,6	0,00
3	387,76	0,01	398,13	0,03	350,58	0,02
24	387,68	0,09	398,05	0,11	350,56	0,04
27	387,65	0,12	398,01	0,15	350,50	0,10
48	387,60	0,17	397,98	0,18	350,49	0,11
51	387,59	0,18	397,97	0,19	350,47	0,13
72	387,54	0,23	397,92	0,24	350,39	0,21
75	387,52	0,25	397,91	0,25	350,39	0,21
96	387,46	0,31	397,89	0,27	350,34	0,26
99	387,46	0,31	397,88	0,28	350,34	0,26

Tabela 4.23: Dados da fermentação de 50 % de hidrolisado celulósico

Tempo (horas)	Meio 4 (g)	CO₂ emitido (g)	Meio 5 (g)	CO₂ emitido (g)	Meio 6 (g)	CO₂ emitido (g)
0	393,21	0,00	359,22	0,00	408,59	0,00
3	393,18	0,03	359,18	0,04	408,56	0,03
24	393,10	0,11	359,10	0,12	408,50	0,09
27	393,07	0,14	359,01	0,21	408,47	0,12
48	392,96	0,25	358,81	0,41	408,32	0,27
51	392,95	0,26	358,79	0,43	408,31	0,28
72	392,86	0,35	358,76	0,46	408,18	0,41
75	392,85	0,36	358,73	0,49	408,18	0,41

Tabela 4.24: Dados da fermentação de 75 % de hidrolisado celulósico

Tempo (horas)	Meio 7 (g)	CO₂ emitido (g)	Meio 8 (g)	CO₂ emitido (g)	Meio 9 (g)	CO₂ emitido (g)
0	370,81	0,00	379,07	0,00	414,78	0,00
3	370,78	0,03	379,05	0,02	414,78	0,00
24	370,68	0,13	378,95	0,12	414,65	0,13
27	370,68	0,13	378,94	0,13	414,64	0,14
48	370,58	0,23	378,82	0,25	414,50	0,28
51	370,57	0,24	378,81	0,26	414,50	0,28
72	370,53	0,28	378,76	0,31	414,44	0,34
75	370,51	0,30	378,72	0,35	414,44	0,34

As concentrações de CO₂ emitido, de glicose a ser consumida e de etanol formado acumulado foram calculados pela mesma metodologia do item 4.2.5 e são apresentados nas Tabelas 4.25, 4.26 e 4.27. Nos Gráficos 4.5, 4.6 e 4.7 têm-se as concentrações respectivas plotadas.

Tabela 4.25: Concentrações da fermentação de 25 % de hidrolisado celulósico

Tempo (horas)	Dióxido de carbono emitido acumulado (g/L)	Glicose a ser consumida (g/L)	Etanol formado acumulado (g/L)
0	0,00	20,07	0,00
3	0,13	19,82	0,13
24	0,63	18,79	0,65
27	1,40	17,22	1,46
48	2,35	15,26	2,46
51	3,40	13,13	3,55
72	4,81	10,23	5,03
75	6,29	7,20	6,58
96	8,04	3,62	8,41
99	9,81	0,00	10,26

Gráfico 4.5: Curvas referentes à fermentação de 25% de hidrolisado celulósico

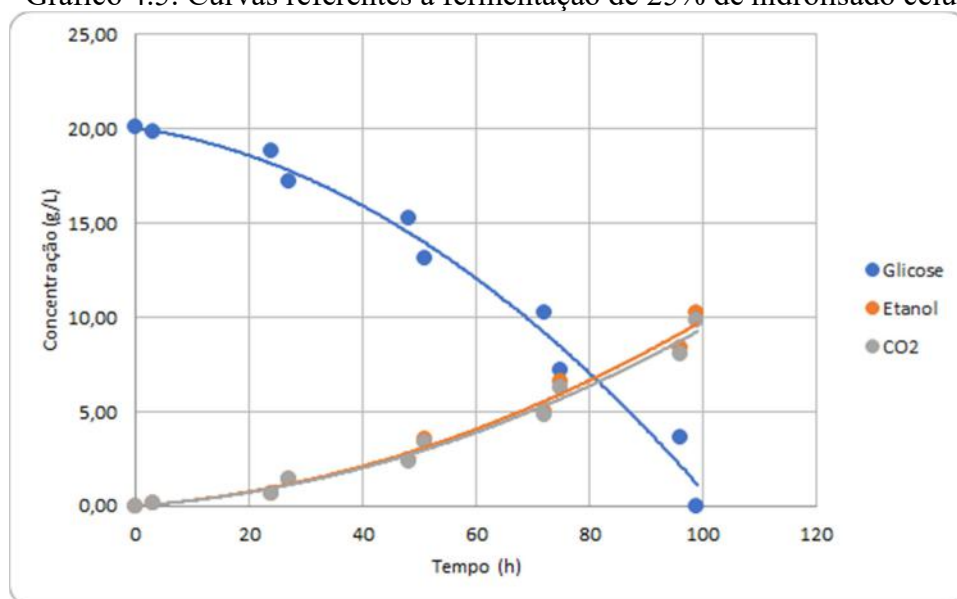


Tabela 4.26: Concentrações da fermentação de 50 % de hidrolisado celulósico

Tempo (horas)	Dióxido de carbono emitido acumulado (g/L)	Glicose a ser consumida (g/L)	Etanol formado acumulado (g/L)
0	0,00	22,46	0,00
3	0,21	22,03	0,22
24	0,87	20,67	0,91
27	1,85	18,66	1,94
48	3,79	14,70	3,96
51	5,81	10,57	6,08
72	8,35	5,37	8,73
75	10,98	0,00	11,48

Gráfico 4.6: Curvas referentes à fermentação de 50% de hidrolisado celulósico

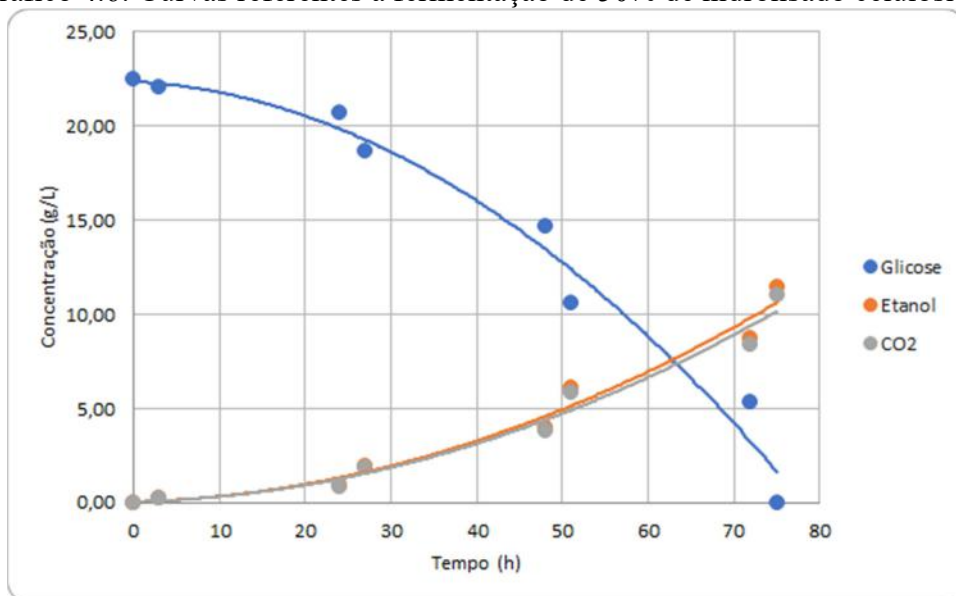
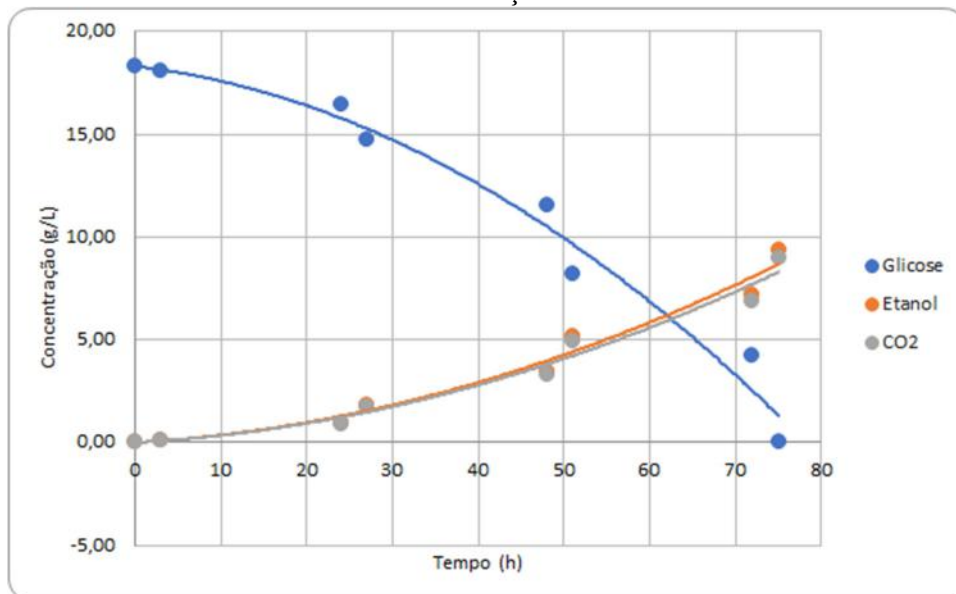


Tabela 4.27: Concentrações da fermentação de 75% de hidrolisado celulósico

Tempo (horas)	Dióxido de carbono emitido acumulado (g/L)	Glicose a ser consumida (g/L)	Etanol formado acumulado (g/L)
0	0,00	18,28	0,00
3	0,10	18,07	0,11
24	0,90	16,45	0,94
27	1,73	14,70	1,81
48	3,31	11,51	3,46
51	4,94	8,18	5,16
72	6,87	4,22	7,19
75	8,94	0,00	9,34

Gráfico 4.7: Curvas referentes à fermentação de 75% de hidrolisado celulósico



Observam-se resultados coerentes com o esperado, havendo consumo de glicose e produção de CO_2 e etanol. Observa-se também o aumento da concentração inicial de glicose em cada meio de acordo com o percentual de hidrolisado utilizado. Esperava-se que a concentração de glicose do meio contendo 75% de hidrolisado fosse superior aos outros dois meios fermentativos, porém isso não ocorreu, pois, a fermentação de 75% foi preparada com o hidrolisado cuja etapa de deslignificação foi realizada a 100°C , onde se teve uma extração de glicose bem inferior.

5. CONCLUSÕES

A caracterização química da Gigoga (*Eichhornia crassipes*) gerou como resultados os valores de 7,6% de hemicelulose, 15,21% de celulose e 64,17% de lignina. Os teores de carboidratos foram muito baixos, fazendo com que o teor de lignina fosse elevado, demonstrando um comportamento não esperado. A obtenção desses resultados pode ter sido influenciada pelo emprego de ácido mais diluído do que o necessário na etapa de hidrólise, fazendo com que não houvesse uma despolimerização eficiente. Além disso, durante o processo de caracterização, parte da fração celulósica pode ter sido degradada.

A etapa de pré-tratamento é crucial para a definição da composição da biomassa que será levada para as próximas etapas. Obteve-se como resultado do pré-tratamento, a partir de 502,19 g de biomassa, 950 mL de hidrolisado hemicelulósico e 572,73 g de celulignina, cuja concentração de açúcares redutores totais obtida foi de 0,504 g/L, sendo seu valor de referência igual a 0,605 g/L.

No fracionamento da celulose, partindo-se de 191,06 g de torta proveniente da deslignificação a 120°C, obtiveram-se 500 mL de hidrolisado celulósico com concentração de glicose de 0,167 g/L e, a partir de 166,58 g de torta gerada pela deslignificação a 100°C, 420 mL com concentração de glicose de 0,091 g/L, evidenciando forte influência da temperatura nesta etapa. A fim de se obter taxas significativas de conversão da celulose à glicose de forma rápida e utilizando ácidos diluídos, foi preciso o auxílio da pressão e da temperatura. Porém, os baixos resultados podem ter sido obtidos justamente por esses fatores, isso é, os ácidos podem ter sido muito diluídos e a temperatura utilizada poderia ter sido melhor ajustada, sendo assim os cristais de celulose estariam mais acessíveis, diminuindo a degradação de açúcares e aumentando o rendimento da hidrólise e da fermentação.

Para o hidrolisado hemicelulósico, na proporção de 25%, a fermentação foi realizada durante 4 dias consumindo 12,66 g/L de glicose e formando 6,47 g/L de etanol; na proporção de 50% de hidrolisado, fermentaram-se 15,68 g/L de glicose produzindo 8,02 g/L de etanol em 4 dias; e na proporção de 75%, em 3 dias, houve a conversão de 17,13 g/L de glicose a 8,76 g/L de etanol. Em relação ao hidrolisado celulósico temos que para o meio com 25%, em 5 dias, fermentaram-se 20,07 g/L de glicose formando 10,26 g/L de etanol; para 50% converteram-se 22,46 g/L de glicose em 11,48 g/L de etanol em 4 dias; e para 75% de hidrolisado consumiram-se 18,28 g/L de glicose formando 9,34 g/L de etanol. Os resultados da fermentação foram bem satisfatórios, apresentando uma conversão média de 50%.

A matéria-prima estudada apresenta grande potencial para a geração de etanol de segunda geração, porém nas condições testadas os resultados obtidos pela extração não foram tão eficientes, fazendo-se necessária uma otimização no processo, principalmente nas etapas de pré-tratamento e hidrólise. Um planejamento experimental pode ser estabelecido para avaliar os efeitos da temperatura no rendimento e na pureza dos hidrolisados formados. Assim como, a concentração do agente químico usado nas hidrólises.

Também é importante concluir que, considerando o alto volume de Gíoga produzido anualmente em reservatórios aquíferos, sua biomassa apresentar esse potencial e ter esse aproveitamento, faz com que ela se torne uma alternativa favorável para minimizar os problemas ambientais e econômicos causados pelo seu excesso nos rios brasileiros.

6. SUGESTÕES

- Realizar planejamento experimental variando temperatura e concentração do agente químico usado nas etapas de hidrólises ácidas para melhores extrações.
- Realizar a fermentação do hidrolisado hemicelulósico com a levedura *Scheffersomyces stipitis* para melhores resultados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 BEN Interativo. Rio de Janeiro, [2020]. Disponível em: <http://shinyepe.brazilsouth.cloudapp.azure.com:3838/ben/>. Acesso em: 08 de Setembro de 2021.
- 2 BNDES e CGEE. Bioetanol de Cana-de-açúcar. Energia para o desenvolvimento sustentável. Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: (2008) BNDES & CGEE, Bioetanol de Cana-De-Açúcar para o Desenvolvimento Sustentavel | PDF | Biocombustível | Cana de Açúcar (scribd.com). Acesso em: 15 de setembro de 2021.
- 3 CARPIO, R.R., et al. Modelagem, simulação e otimização de uma biorrefinaria integrada para a produção de etanol de primeira e segunda geração. p 2, 2018.
- 4 CARVALHO, L.G. Produção de biocombustíveis a partir da biomassa de dendê. Dissertação de mestrado, Programa de tecnologia de processos químicos e bioquímicos, da Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 2009.

- 5 CRUJZ, Montezuma. Planta da Amazônia é arma poderosa contra poluição. 2009, Disponível em: <https://guiadapesca.wordpress.com/2009/09/08/planta-da-amazonia-e-arma-poderosa-contra-poluicao/>.
- 6 EIA. Annual energy outlook 2020 with projections to 2050. US Energy Information Administration. 2020. Disponível em: <https://www.eia.gov/outlooks/aeo/pdf/AEO2020%20Full%20Report.pdf>. Acesso em: 08 de Setembro de 2021.
- 7 GUNNARSSON, C.C. and Petersen, C.M. Water Hyacinths as a Resource in Agriculture and Energy Production: A Literature Review. Waste Management. 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2005.12.011>
- 8 HUEBRA, Lorena da Silva. Avaliação da utilização da casca de café para a produção de um derivado celulósico. São Mateus, 2016. Disponível em: [avaliacao_da_utilizacao_da_casca_de_cafe_para_a_producao_de_um_derivado_celulosico_lorena_huebra.pdf](#) (ufes.br). Acesso em: 15 de setembro de 2021.
- 9 KUMAR, M., SINGH, P., SUKLA, L.B. Addition of expansin to cellulase enhanced bioethanol production. Process Biochemistry 51 2097–2103.2016.
- 10 MANOCHIO, Carolina. Produção de bioetanol de cana-de-açúcar, milho e beterraba: uma comparação dos indicadores tecnológicos, ambientais e econômicos. Poços de Caldas, 2014. Disponível em: https://www.unifal-mg.edu.br/engenhariaquimica/system/files/imce/TCC_2014_1/Carolina%20Manochio.pdf. Acesso em: 13 de Setembro de 2021.
- 11 MILLER, G.L. Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugars. Analytical Chemistry, v. 31, n. 3, p. 426-428. 1959.
- 12 MOTA, F. A. S. *et.al.* Pirólise da biomassa lignocelulósica: uma revisão. Revista GEINTEC. Vol. 5/n. 4/ p.2511-2525. São Cristóvão – SE, 2015.

- 13 MUSSATO, I.S. & ROBERTO, I.C, 2002. Produção biotecnológica de xilitol a partir da palha de arroz. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento. v. 28, p. 24-39. 2002.
- 14 REALES-ALFARO, Juan-Guillermo et al. ACID HYDROLYSIS OF WATER HYACINTH TO OBTAIN FERMENTABLE SUGARS. C.T.F Cienc. Tecnol. Futuro. 2013. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0122-53832013000100008&lng=en&nrm=iso&tlng=pt
- 15 SANTANA, Carlos. *et al.* Biomassa para Química Verde. Embrapa Agroenergia Brasília, 2013. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/222509/1/Biomassa-para-Qui769mica-Verde-Embrapa-2013.pdf>. Acesso em: 13 de Setembro de 2021.
- 16 SANTOS, Adriana Maria dos. Caracterização química da biomassa: Potencial da palha da cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração. Rio Largo, 2018. Disponível em: <http://www.repositorio.ufal.br/bitstream/riufal/3510/1/Caracteriza%20da%20biomassa%20potencial%20da%20palha%20da%20cana-de-a%20%C3%A7%C3%BACAR%20para%20a%20produ%20de%20etanol%20de%20segunda%20gera%20%C3%A7%C3%A3o.pdf>. Acesso em: 15 de setembro de 2021.
- 17 SANTOS, Fernando. A et al. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. Quimica nova, v. 35, n. 5, p. 1004–1010, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/39pFr9k5VPS9hqhs4yTjdbr/>. Acesso em: 31 de maio de 2021.

- 18 SILVA, André Gonçalves da. Celulose. 2019. Disponível em: Mestresabe.com: Celulose. Acesso em: 15 de setembro de 2021.
- 19 SOUTO, Felipe. *et al.* Fibras de carbono a partir de lignina: uma revisão da literatura. Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/276119356_Fibras_de_carbono_a_partir_de_lignina_uma_revisao_da_literatura. Acesso em: 16 de setembro de 2021.
- 20 SOUZA, João Pedro Bessa de. Produção e caracterização de celulose bacteriana em cultivo estático e agitado. Fortaleza, 2019. Disponível em: 2019_tcc_jpbsouza.pdf (ufc.br). Acesso em: 15 de setembro de 2021.
- 21 TEIXEIRA, D. A. *et al.* Produção de Etanol de Segunda Geração a Partir de Aguapé: Uma Revisão. Revista Virtual de Química: 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Alexandre-Santos-47/publication/330715545_Producao_de_etanol_de_segunda_geracao_a_partir_de_aguape_uma_revisao/links/5c50909a92851c22a398c83e/Producao-de-etanol-de-segunda-geracao-a-partir-de-aguape-uma-revisao.pdf. Acesso em: 30 de maio de 2021.
- 22 TEIXEIRA, Daniel de Azevedo. Produção de etanol de segunda geração a partir de aguapé (*Eichhornia crassipes*). Teófilo Otoni, 2019. Disponível em: http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/bitstream/1/2343/1/daniel_azevedo_teixeira.pdf. Acesso em: 30 de maio de 2021.
- 23 UDOP. São Paulo [2020]. Disponível em: <https://www.udop.com.br/noticia/2020/02/04/etanol-registra-recorde-historico-de-consumo-no-brasil.html> . Acesso em: 08 de Setembro de 2021.
- 24 VERVERIS, C.; Georghiou, K.; Danielidis, D.; Hatzinikolaou, D.G.; Santas, P.; Santas, R.; Corleti, V. Cellulose, hemicelluloses, lignin and ash content of some

organic materials and their suitability for use as paper pulp supplements.

Bioresource Technology, 98: 296–301, 2007.

- 25 VIANA, Leticia dos Santos. Avaliação do Potencial dos Resíduos Lignocelulósicos da Indústria de Celulose para a Produção de Etanol de Segunda Geração via Rotas Químicas. Rio de Janeiro, 2017. Disponibilizado pela orientadora Yordanka Reyes Cruz.