



Avaliação do Potencial dos Resíduos  
Lignocelulósicos da Indústria de Celulose para a  
Produção de Etanol de Segunda Geração via Rotas  
Químicas

Letícia dos Santos Viana

Projeto de Final de Curso

Orientadores

Prof. Yordanka Reyes Cruz, D.Sc

Gisel Chenard Díaz, D.Sc

Julho de 2017

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DOS RESÍDUOS  
LIGNOCELULÓSICOS DA INDÚSTRIA DE CELULOSE  
PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO  
VIA ROTAS QUÍMICAS**

*Leticia dos Santos Viana*

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

Aprovado por:

---

Adriana dos Anjos Silva, M.Sc

---

Leonard Guimarães Carvalho, D.Sc

---

Vinicius Rossa, D.Sc

Orientado por:

---

Yordanka Reyes Cruz, D.Sc

---

Gisel Chenard Díaz, D.Sc

Rio de Janeiro, RJ – Brasil  
Julho de 2017

Viana, Letícia dos Santos.

Avaliação do Potencial dos Resíduos Lignocelulósicos da Indústria de Celulose para a Produção de Etanol de Segunda Geração via Rotas Químicas / Letícia dos Santos Viana. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2017.

(Projeto Final) – Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Escola de Química, 2017.

Orientadores: Yordanka Reyes Cruz e Gisel Chenard Díaz

1. Etanol 2G. 2. Resíduos. 3. Lignocelulósicos. 4. Hidrólise. 5. Projeto Final. (Graduação – UFRJ/EQ). 5. Yordanka Reyes Cruz I. D.Sc e Gisel Chenard Díaz. I.D.Sc. Avaliação do Potencial dos Resíduos Lignocelulósicos da Indústria de Celulose para a Produção de Etanol de Segunda Geração via Rotas Químicas.

*Dedicatória*

*A minha avó materna, Galine, por sua importância em minha vida. Te amarei eternamente.*

*Entrega o teu caminho ao Senhor; confia nele, e Ele tudo fará.*

*(Salmos. 37:5)*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado a vida, por permitir que meus sonhos se realizassem, por ter me dado coragem de enfrentar as diversas dificuldades encontradas ao longo do caminho e por não me deixar desistir nunca.

A minha mãe, Silvely, por existir, ser meu suporte e minha fonte de inspiração, mesmo longe. Juntas, construímos castelos e vencemos dragões. Tudo isso é por você. Te amo.

Ao meu padrinho, João de Moraes Souza, por me amar incondicionalmente, por acreditar em meu potencial e sempre querer o meu bem.

Ao meu pai, Moacyr, por ser tão especial, por ser tão cuidadoso e por todo amor.

A minha tia, Selma, por ser minha fiel escudeira, desde que nasci. Eu te amo.

A minha madrinha, Regina, todo meu amor por ser mais que uma pessoa da família, por ser, sobretudo, uma amiga. Dinda, muito obrigada por tudo!

As minhas melhores amigas e irmãs de coração, Yasmin e Isabel, por serem quem vocês são em minha vida e por toda a paciência. Sem vocês, não estaria aqui. Todo amor e gratidão possíveis para ambas.

Ao Rodrigo E. Medronho, por todos os anos, por todo amor e carinho.

À Michelle, Marcia e Peter, por terem sido meu amparo no momento em que mais precisei. Minha eterna gratidão. Vocês são parte dessa conquista.

Ao Daniel Miranda, por ser um amigo único e ter me informado sobre o vestibular para a UFRJ. Um simples aviso que mudou completamente a minha vida.

As minhas amigas da Curiscada, em especial, Marina, Carollina e Anna Paula, por todos os momentos que vivemos. Vocês são maravilhosas. Amo vocês demais. Obrigada por tudo, sempre.

A minha afilhada, Lorena, por ser o presente mais especial que já recebi.

Ao Gustavo, por ser um amigo tão querido e me ajudar sempre.

À Gabi Jacarandá, minha amiga e irmã de alma. Eu te amo, sempre!

A Anahi e Laíz, por serem amigas incríveis e extremamente especiais desde o início dessa jornada. Todo carinho e amor a vocês, mesmo com todos os contratempos da vida!

Ao Victor Hugo, carinhosamente, Victeta, por ser esse ser iluminado que está comigo desde o primeiro dia de aula! Você é demais!

À Prof. Yordanka Reyes Cruz e à Gisel Cheznard Díaz, pela acolhida, pela atenção e por me auxiliarem nesse momento tão importante que é a minha formação profissional.

Aos amigos de trabalho, no BMA, pela receptividade, cuidados e aprendizado.

Aos amigos mais maravilhosos que alguém pode ter e eu tenho. Muito obrigada.

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

Resumo do Projeto Final apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Químico Industrial.

## **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DOS RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS DA INDÚSTRIA DE CELULOSE PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO VIA ROTAS QUÍMICAS**

Letícia dos Santos Viana

Julho, 2017

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

Gisel Chenard Díaz, D.Sc.

O progressivo esgotamento dos combustíveis de origem fóssil, os constantes aumentos nos preços dos mesmos e o aumento da poluição ambiental nas grandes cidades incentivam a busca por tecnologias de produção de energia proveniente de fontes renováveis que possibilitem a diminuição da dependência petrolífera e que atenuem os problemas ambientais resultantes do uso de combustíveis não renováveis. Pesquisas referentes ao desenvolvimento de novas tecnologias para produção de biocombustíveis têm sido investigadas. No entanto, sabe-se que praticamente 80% do custo de produção dos biocombustíveis é representado pelo custo da matéria-prima. De aí a importância de utilizar matérias-primas mais baratas, como os resíduos agroindustriais. Neste contexto, o presente trabalho objetivou avaliar o potencial dos resíduos lignocelulósicos, gerados pela indústria de produção de celulose, como matéria-prima para a produção de etanol de segunda geração, promovendo a valorização destes resíduos. No estudo, empregou-se uma concepção de processo em quatro etapas. Inicialmente realizou-se uma hidrólise ácida do resíduo lignocelulósico, sob condições brandas, para remoção da hemicelulose; seguida de uma etapa de deslignificação, através de uma hidrólise básica da fração de celulignina; logo depois uma hidrólise ácida da celulose, visando disponibilizar os monômeros (açúcares) para sua transformação através de processos de fermentação. Por se tratar de estudos de avaliação, não foram testadas condições otimizadas. Mesmo assim, os resultados encontrados para as concentrações de etanol oriundas do hidrolisado hemicelulósico, bem como do hidrolisado celulósico, foram bem significativos, sendo  $15,3 \text{ g.L}^{-1}$  e  $25,3 \text{ g.L}^{-1}$ , respectivamente, quando se parte da biomassa com maior rendimento (cavacos residuais). Diante dessas circunstâncias e, mesmo em escala de laboratório, seria possível a obtenção de 100 L de etanol para cada tonelada de cavacos residuais disponíveis.

## Sumário

1.	Introdução.....	1
1.1.	Justificativa.....	1
1.2.	Estrutura do trabalho.....	3
1.3.	Objetivos.....	3
1.3.1	Objetivo Geral.....	3
1.3.2.	Objetivos Específicos.....	4
2.	Revisão Bibliográfica.....	4
2.1.	Indústria de Celulose.....	5
2.2.	Madeira.....	6
2.2.1	Composição estrutural dos materiais lignocelulósicos.....	7
2.2.1.1	Celulose.....	8
2.2.1.2	Hemicelulose.....	10
2.2.1.3	Lignina.....	13
2.3.	Processos de obtenção de etanol de segunda geração.....	13
2.3.1.	Fracionamento da biomassa lignocelulósica.....	15
2.3.2.	Processamento da celulose.....	17
2.3.2.1.	Hidrólise enzimática da celulose.....	17
2.3.2.2	Hidrólise ácida da celulose.....	18
2.3.3.	Fermentação de hidrolisados hemicelulósicos.....	19
2.3.4.	Fermentação do hidrolisado celulósico.....	22
2.3.5.	Estratégias para a produção de etanol de segunda geração.....	24
3.	Materiais e Métodos.....	27
3.1.	Matéria-prima.....	27
3.1.1.	Depuração.....	27
3.1.2.	Caracterização.....	31
3.2.	Produção de etanol de segunda geração.....	32
3.2.1	Hidrólise ácida dos resíduos lignocelulósicos.....	34
3.2.2	Hidrólise alcalina da torta residual proveniente da hidrólise ácida da hemicelulose.....	39
3.2.3	Hidrólise ácida da celulose.....	41
3.2.4	Fermentação dos hidrolisados hemicelulósico e celulósico.....	42



3.2.5	Purificação do etanol .....	43
4.	Resultados e Discussão.....	44
4.1	Caracterização da matéria-prima .....	44
4.2	Produção de etanol de segunda geração.....	45
4.2.1	Hidrólise ácida dos resíduos lignocelulósicos .....	46
4.2.2	Hidrólise alcalina da celulignina .....	46
4.2.3	Hidrólise ácida de celulose .....	46
4.2.4	Fermentação dos hidrolisados hemicelulósico e celulósico .....	47
4.3	Dados para balanço de massa .....	52
5.	Conclusões.....	54
6.	Sugestões .....	55
7.	Referências Bibliográficas.....	55

## Índice de Figuras

<b>Figura 2.1:</b> Diagrama de blocos da composição da madeira. Fonte: Elaboração própria a partir de CHAGAS Jr (2016).....	7
<b>Figura 2.2:</b> Esquema estrutural químico dos materiais lignocelulósicos presentes na madeira. Fonte: Adaptado de SHLESER (1994).....	8
<b>Figura 2.3:</b> Fibras de celulose na parede das células vegetais. Fonte: Adaptado de MOOR <i>et al.</i> , (1998).....	9
<b>Figura 2.4:</b> Estrutura química simplificada da celulose. Fonte: MORAES (2005).....	9
<b>Figura 2.5:</b> Exemplos de produtos gerados a partir de glicose proveniente da celulose. Fonte: PEREIRA Jr. <i>et al.</i> (2008).....	10
<b>Figura 2.6:</b> Monômeros que constituem a hemicelulose e suas estruturas químicas. Fonte: D'ALMEIDA (1988).....	11
<b>Figura 2.7:</b> Estrutura típica da hemicelulose. Fonte: MUSSATO (2002).....	12
<b>Figura 2.8:</b> Fracionamento dos componentes lignocelulósicos. Fonte: Modificado de SCHUCHARDT, <i>et al.</i> (2001).....	16
<b>Figura 2.9:</b> Estruturas lignocelulósicas antes e após o pré-tratamento. Fonte: MOOD <i>et al.</i> , 2013 <i>apud</i> NETO, J.M.S; JÚNIOR, A.U.A.; LIMA, F.S.; ANJOS, D.A., 2015.....	17
<b>Figura 2.10:</b> Enzimas envolvidas para a produção de etanol de segunda geração. Fonte: MALBURG <i>et al.</i> , 1992.....	18
<b>Figura 2.11:</b> Reação global de conversão de D-xilose a etanol. Fonte: Modificado de CARVALHO, 2009.....	19
<b>Figura 2.12:</b> Metabolismo de D-xilose em Leveduras. Fonte: Modificado de PARAJÓ, 1998A.....	21
<b>Figura 2.13:</b> Via Glicolítica. Biossíntese de glicerol e conversão do piruvato a etanol. Fonte: Modificado de BARRE <i>et al.</i> , 2000.....	23
<b>Figura 2.14:</b> Concepções tecnológicas e integração de processos na produção de etanol de segunda geração: a plataforma bioquímica da biorrefinaria. Fonte: Modificado de PEREIRA Jr. <i>et al.</i> , 2008 <i>apud</i> Wingreen, 2003.....	26
<b>Figura 3.1:</b> Cavacos residuais provenientes da indústria de celulose – C <sub>R</sub> 01. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	28
<b>Figura 3.2:</b> Galhada residual provenientes da indústria de celulose – G <sub>R</sub> 01. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	28
<b>Figura 3.3:</b> Componente da galhada residual (G <sub>R</sub> 01) da indústria de celulose: cascas de troncos (C <sub>S</sub> ). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	29

<b>Figura 3.4:</b> Componente da galhada residual (G <sub>R01</sub> ) da indústria de celulose: folhas (F <sub>L</sub> ). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	29
<b>Figura 3.5:</b> Componente da galhada residual (G <sub>R01</sub> ) da indústria de celulose: cavacos depurados (C <sub>D01</sub> ). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	30
<b>Figura 3.6:</b> Cavacos residuais (C <sub>R01</sub> ) moídos. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	30
<b>Figura 3.7:</b> Galhada residual (G <sub>R01</sub> ) moída. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	31
<b>Figura 3.8:</b> Cavacos depurados (C <sub>D01</sub> ) moídos. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	31
<b>Figura 3.9:</b> Fluxograma da produção de etanol de segunda geração a partir dos cavacos residuais (C <sub>R01</sub> ), galhada residual (G <sub>R01</sub> ) e cavacos depurados (C <sub>D01</sub> ) via rotas químicas...	33
<b>Figura 3.10:</b> Galhada residual (G <sub>R01</sub> ) antes da hidrólise ácida da hemicelulose. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	34
<b>Figura 3.11:</b> Cavacos residuais (C <sub>R01</sub> ) antes da hidrólise ácida da hemicelulose. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	34
<b>Figura 3.12:</b> Cavacos depurados (C <sub>D01</sub> ) antes da hidrólise ácida da hemicelulose. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	35
<b>Figura 3.13:</b> Galhada residual (G <sub>R01</sub> ), Cavacos residuais (C <sub>R01</sub> ), Cavacos depurados (C <sub>D01</sub> ) depois da hidrólise ácida da hemicelulose. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	35
<b>Figura 3.14:</b> Hidrolisado hemicelulósico proveniente da hidrólise da hemicelulose contida na galhada residual (G <sub>R01</sub> ). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	36
<b>Figura 3.15:</b> Hidrolisado hemicelulósico proveniente da hidrólise da hemicelulose contida nos cavacos residuais (C <sub>R01</sub> ). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	37
<b>Figura 3.16:</b> Hidrolisado hemicelulósico proveniente da hidrólise da hemicelulose contida nos cavacos depurados (C <sub>D01</sub> ). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	37
<b>Figura 3.17:</b> Torta residual proveniente da hidrólise da hemicelulose contida na galhada residual (G <sub>R01</sub> ). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	38
<b>Figura 3.18:</b> Torta residual proveniente da hidrólise da hemicelulose contida nos cavacos residuais (C <sub>R01</sub> ). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	38
<b>Figura 3.19:</b> Torta residual proveniente da hidrólise da hemicelulose contida nos cavacos depurados (C <sub>D01</sub> ). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	39
<b>Figura 3.20:</b> Torta residual submetida ao tratamento térmico embebido em uma solução básica. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	40
<b>Figura 3.21:</b> Licor negro resultante da deslignificação com solução básica. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	40
<b>Figura 3.22:</b> Celulose resultante da hidrólise alcalina realizada na torta residual proveniente da hidrólise ácida da hemicelulose originária das amostras G <sub>R01</sub> , C <sub>D01</sub> e C <sub>R01</sub> , respectivamente. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	41

<b>Figura 3.23:</b> Biorreator New BrunswickBioFlo 310 ® utilizado para a fermentação dos hidrolisados. Fonte: LADEBIO (2017).....	43
<b>Figura 3.24:</b> Etanol gerado por destilação a partir do caldo fermentado proveniente da fermentação dos hidrolisados. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).....	44
<b>Figura 4.1:</b> Perfil cinético da fermentação do hidrolisado hemicelulósico: concentração de açúcares contida nos cavacos residuais (C <sub>R01</sub> ). Fonte: LADEBIO (2017).....	47
<b>Figura 4.2:</b> Perfil cinético da fermentação do hidrolisado hemicelulósico: concentração de açúcares contida na galhada residual (G <sub>R01</sub> ). Fonte: LADEBIO (2017).....	48
<b>Figura 4.3:</b> Perfil cinético da fermentação do hidrolisado hemicelulósico: concentração de açúcares contida nos cavacos depurados (C <sub>D01</sub> ). Fonte: LADEBIO (2015).....	48
<b>Figura 4.4:</b> Perfil cinético da fermentação do hidrolisado celulósico: concentração de glicose contida nos cavacos residuais (C <sub>R01</sub> ). Fonte: LADEBIO (2017).....	50
<b>Figura 4.5:</b> Perfil cinético da fermentação do hidrolisado celulósico: concentração de glicose contida na galhada residual (G <sub>R01</sub> ). Fonte: LADEBIO (2017).....	50
<b>Figura 4.6:</b> Perfil cinético da fermentação do hidrolisado celulósico: concentração de glicose contida nos cavacos depurados (C <sub>D01</sub> ). Fonte: LADEBIO (2017).....	51

# 1. Introdução

## 1.1. Justificativa

A busca pelo desenvolvimento sustentável vem motivando as indústrias dos mais diversos setores, a introduzir e realizar, na prática, métodos que possibilitem a utilização de matérias-primas ecologicamente viáveis nos inúmeros processos aos quais possam ser aplicadas, principalmente, no que se diz respeito ao descobrimento de novas fontes alternativas de energia, assim como ao aperfeiçoamento destas.

A matriz energética mundial ainda é fortemente inclinada para as fontes de carbono fóssil, com participação total de 80%, sendo 36% de petróleo, 23% de carvão mineral e 21% de gás natural (JARDINE, 2009).

Em substituição ao petróleo, o mercado dispõe de gás natural e carvão mineral, os quais apresentam reservas significativas a nível mundial. No entanto, segundo Schuchardt & Ribeiro (2001, p. 247), “eles são de difícil transformação em matéria-prima para a indústria química e não iriam resolver o outro grande problema relacionado com o petróleo: o impacto ambiental devido à formação de CO<sub>2</sub> e gases sulfurados na sua queima ou transformação”.

É notória e crescente a movimentação que está associada às mudanças para substituir e/ou complementar o uso majoritário do petróleo, bem como de seus derivados, como originários energéticos, tendo como finalidade: a redução dos danos causados ao meio ambiente, bem como uma maneira de fuga ao aumento do preço desse recurso natural não renovável e, ainda, o progresso vinculado ao aprimoramento das tecnologias já estabelecidas, que sejam condizentes com os aspectos financeiros, sociais e ambientais (PEREIRA Jr. *et al.*, 2008).

Nesse contexto, surgem os biocombustíveis como opção de modificação ao emprego dos combustíveis fósseis amplamente difundidos (gás natural veicular, gasolina e diesel) e como tentativa de diminuir a emissão de gases de efeito estufa. Os biocombustíveis tem sua origem no material biológico, ou seja, são oriundos de fontes vegetais, podem ser produzidos a partir de diferentes tipos de matérias-primas, sendo elas: oleaginosas, sacarídeas, amiláceas e lignocelulósicas, e são classificados como de primeira geração ou de segunda geração (ANP, 2014).

Os biocombustíveis de primeira geração são produzidos diretamente da matéria-prima, plantada especificamente para atender a finalidade da produção desse tipo de combustível, enquanto os biocombustíveis de segunda geração são provenientes de resíduos dessas matérias-primas usadas na produção de biocombustíveis de primeira geração. Para que sejam aproveitados esses resíduos devem passar por etapas de tratamento que disponibilizem os açúcares que serão fermentados.

O Brasil se enquadra em um cenário em que já é realidade a aplicação dos biocombustíveis de primeira e segunda geração e, constantemente, são realizados projetos visando o progresso quanto à produção e aplicação destes.

Dentre os biocombustíveis mais estudados na atualidade destaca-se o etanol de segunda geração, produzido a partir de resíduos, geralmente agroindustriais, de composição lignocelulósica. O bagaço de cana, sabugo de milho, palha de arroz e resíduos de madeira são algumas das matérias-primas utilizadas em sua produção (CARVALHO, 2009).

Atualmente, o Brasil produz cerca de 30 bilhões de litros de etanol, por ano, a partir da cana-de-açúcar (CONAB, 2016). Estimativas apontam que até 2020 o Brasil precisará de 100 novas usinas para conseguir dobrar a produção de etanol e atender a demanda crescente do combustível, no caso de serem cumpridas as metas dos países que tem políticas que determinaram a mistura do etanol na gasolina. Além disso, a necessidade de terras aumentaria para 33 milhões de hectares de cana-de-açúcar plantada (ARAUJO, 2013).

Diante do exposto anteriormente, a produção de etanol de segunda geração se apresenta como uma tecnologia promissória para cumprir com o programa de expansão do mercado de etanol no Brasil, pois não depende da produção de alimentos para sua industrialização e nem da expansão da área plantada com cana-de-açúcar ou outras matérias-primas sacarídeas ou amiláceas, e sim do reaproveitamento de resíduos.

Nesse cenário, a empresa Fibria, formada pela fusão das empresas Votorantim Celulose e Papel (VCP) e Aracruz Celulose, interessou-se em valorizar alguns resíduos da produção de celulose, tais como: cascas, galhadas e cavacos residuais, diversificando as aplicações destes resíduos que atualmente são queimados em caldeiras para geração de vapor. Como parte deste programa, avaliou-se neste trabalho o potencial desses resíduos lignocelulósicos para produzir etanol de segunda geração, utilizando uma rota tecnológica

composta por processos químicos. Sendo este um diferencial em relação às rotas descritas na literatura que combinam processos químicos e enzimáticos.

## **1.2. Estrutura do trabalho**

O presente trabalho será organizado em sete capítulos. Uma breve descrição dos assuntos tratados em cada capítulo é apresentada a seguir.

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

CAPÍTULO 2 – Revisão Bibliográfica: apresentando a fundamentação teórica deste trabalho, conforme literatura consultada;

CAPÍTULO 3 – Materiais e Métodos: descrevendo os materiais e a metodologia utilizada no desenvolvimento desta pesquisa;

CAPÍTULO 4 – Resultados e Discussão: mostrando os resultados obtidos na etapa de experimentação e realizando uma análise técnica dos mesmos. Adicionalmente, são fornecidos dados resumidos para a realização do balanço de massa e energia da rota tecnológica avaliada neste trabalho para produção de etanol 2G;

CAPÍTULO 5 – Conclusões: apresentando as considerações finais e sumarizando os resultados obtidos neste projeto final de curso;

CAPÍTULO 6 – Sugestões: recomendando futuros estudos que poderiam ser realizados com o objetivo de otimizar as condições operacionais da rota tecnológica proposta.

CAPÍTULO 7 – Referências Bibliográficas: resumindo as fontes das informações utilizadas no estudo realizado.

## **1.3. Objetivos**

### **1.3.1 Objetivo Geral**

- Avaliar o potencial dos resíduos lignocelulósicos (galhadas e cavacos residuais), gerados pela empresa Fibria na produção de celulose, como matéria-prima para a

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;
- Testar a rota tecnológica proposta para produzir etanol de segunda geração a partir dos resíduos lignocelulósicos (cavacos e galhadas residuais), gerados na produção de celulose;
- Extrair a fração hemicelulósica a partir da hidrólise ácida do material lignocelulósico;
- Avaliar a fermentabilidade do hidrolisado hemicelulósico, utilizando a levedura *Pichia stipitis*;
- Determinar a concentração de etanol no hidrolisado hemicelulósico;
- Quantificar o rendimento da fração de lignina separada na etapa de deslignificação da celulignina;
- Hidrolizar a fração celulósica para produção de açúcares;
- Avaliar a fermentabilidade do hidrolisado celulósico, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*;
- Determinar a concentração de etanol no hidrolisado celulósico.

## **2. Revisão Bibliográfica**

Neste capítulo será apresentada a fundamentação teórica deste trabalho, conforme literatura consultada.



## **2.1. Indústria de Celulose**

As primeiras matérias-primas usadas na fabricação de celulose em escala industrial foram as madeiras do pinheiro e do abeto das florestas das zonas frias do norte da Europa e América do Norte; o videiro, a faia e o choupo preto nos Estados Unidos e Europa; o pinheiro no Chile e Nova Zelândia; e o eucalipto no Brasil, Espanha, Portugal, Chile e África do Sul. Praticamente qualquer árvore pode ser utilizada para produzir celulose. Cada espécie produz fibras de celulose com características específicas, o que confere ao papel propriedades especiais (SILVA, 2010).

Atualmente, a produção de celulose baseia-se principalmente em florestas plantadas, embora alguns países asiáticos, europeus e a América do Norte, ainda utilizem florestas nativas. O Brasil utiliza essencialmente espécies de eucalipto de florestas plantadas, localizadas principalmente nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santos, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Bahia, Pará e Maranhão (SILVA, 2010).

O eucalipto oferece diversas vantagens em comparação a outras espécies florestais utilizadas no mundo para a produção de celulose, inclusive as nativas. Graças ao clima favorável do Brasil e ao avanço alcançado em pesquisa e tecnologia florestal, o eucalipto apresenta o menor ciclo de crescimento quando comparado com outras árvores, podendo ser colhido em apenas 7 anos visando a produção de celulose, quando atinge até 35 metros de altura. Também é utilizado para extração de óleos essenciais com os quais são fabricados produtos de limpeza, alimentícios, perfumes e remédios. E com a madeira, tradicionalmente, são produzidas tábuas, sarrafos, lambris, ripas, vigas e postes, entre outros (SILVA, 2010).

Para a produção de papel utiliza-se como matéria-prima a pasta de celulose, que por sua vez é produzida a partir da madeira. As etapas da produção de madeira constituem-se basicamente na produção de mudas e no plantio destas, que pode ser mecanizado, manual ou semi mecanizado. Em seguida, as árvores são colhidas para que a madeira seja disponibilizada para a produção de celulose. A produção de celulose constitui-se de quatro etapas: picagem, polpação, branqueamento e secagem e ao longo desse processo produtivo são gerados vários resíduos (ARACRUZ, 2009).

## 2.2. Madeira

Dentre os principais resíduos da indústria de celulose, destacam-se os resíduos da madeira, fundamentalmente de eucalipto, provenientes do descascamento e picagem das toras e do peneiramento dos cavacos. No contexto brasileiro, estima-se que por cada 100 toneladas de celulose produzida são geradas 48 toneladas de resíduos lignocelulósicos (PEDRAZZI, 2005).

Os principais componentes desta biomassa são: carbono, hidrogênio, oxigênio e, em menores quantidades, nitrogênio. Outros elementos estão dispostos em pequenas quantidades, por exemplo, cálcio, potássio e magnésio, sob a forma de minerais. Em menores proporções, e dependendo da origem do vegetal, também podem ser encontrados resinas, ácidos graxos, fenóis, taninos e compostos nitrogenados (NEUREITER *et al.*, 2002).

Considerando a composição química, pode-se dizer que não há diferenças significativas na composição química da madeira proveniente de diferentes espécies vegetais. (CHAGAS Jr., 2016). A partir da análise da composição química elementar de inúmeros tipos de madeira, foi revelada a composição média desta biomassa, conforme mostrado a seguir:

*Tabela 2.1: Composição química elementar da madeira. Fonte: Elaboração própria a partir de CHAGAS Jr. (2016).*

<b>Elemento</b>	<b>%</b>
<b>Carbono</b>	49 – 50
<b>Oxigênio</b>	44 – 45
<b>Hidrogênio</b>	~ 6
<b>Nitrogênio</b>	0,1 – 1

Já em relação à composição estrutural da madeira, existem dois tipos de classificação: composição estrutural e composição não estrutural. A composição estrutural é associada às macromoléculas, que são as responsáveis pela formação da parede celular, assim como pela maioria de suas propriedades. Para que haja a remoção eficiente dos compostos estruturais presentes na madeira, é necessário que sejam realizados procedimentos químicos e/ou mecânicos, com alto gasto de energia.

A composição não estrutural envolve os compostos que apresentam baixo peso molecular, os quais estão presentes em pequenas quantidades na madeira e que requerem a utilização de solventes com a polaridade adequada para sua remoção. Essas características fazem com que os componentes não estruturais sejam considerados, muitas vezes, como se fossem aditivos da madeira. Os extrativos e as cinzas são retratados como exemplos de tais compostos.

Uma representação, por diagrama de blocos, da composição da madeira é apresentada na Figura 2.1.

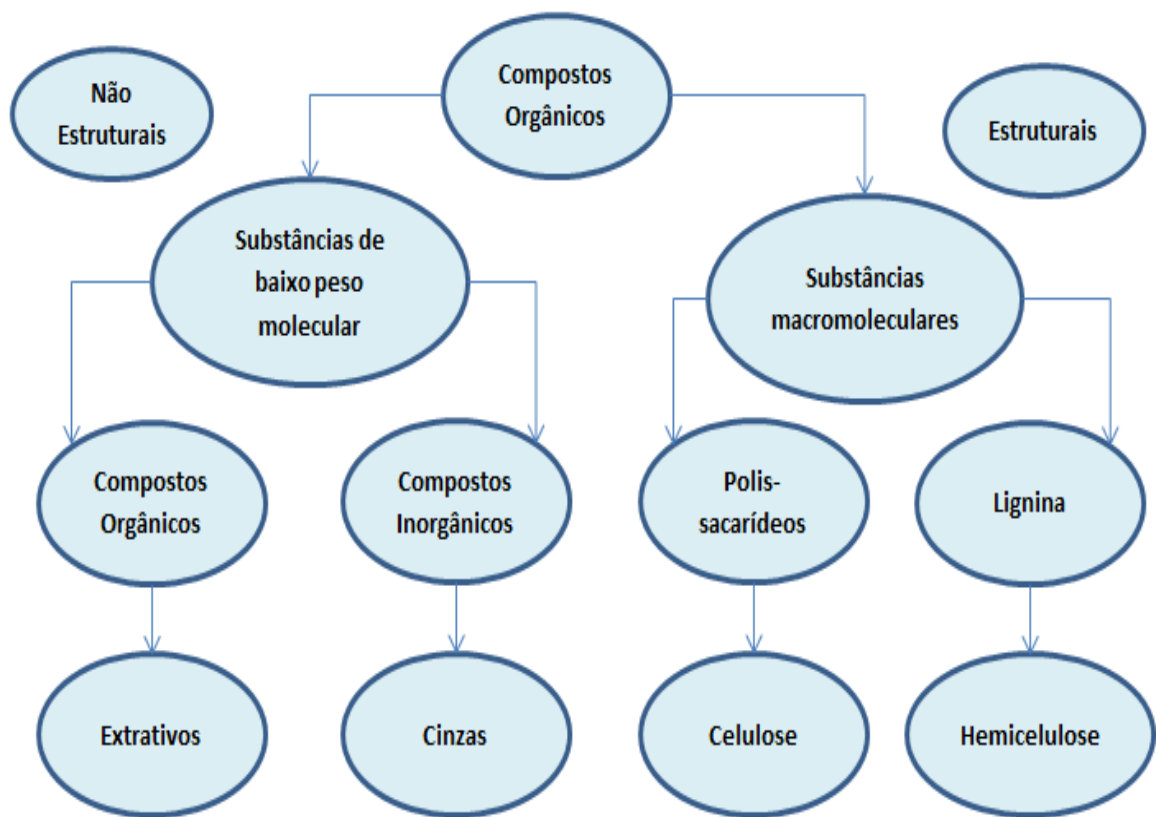
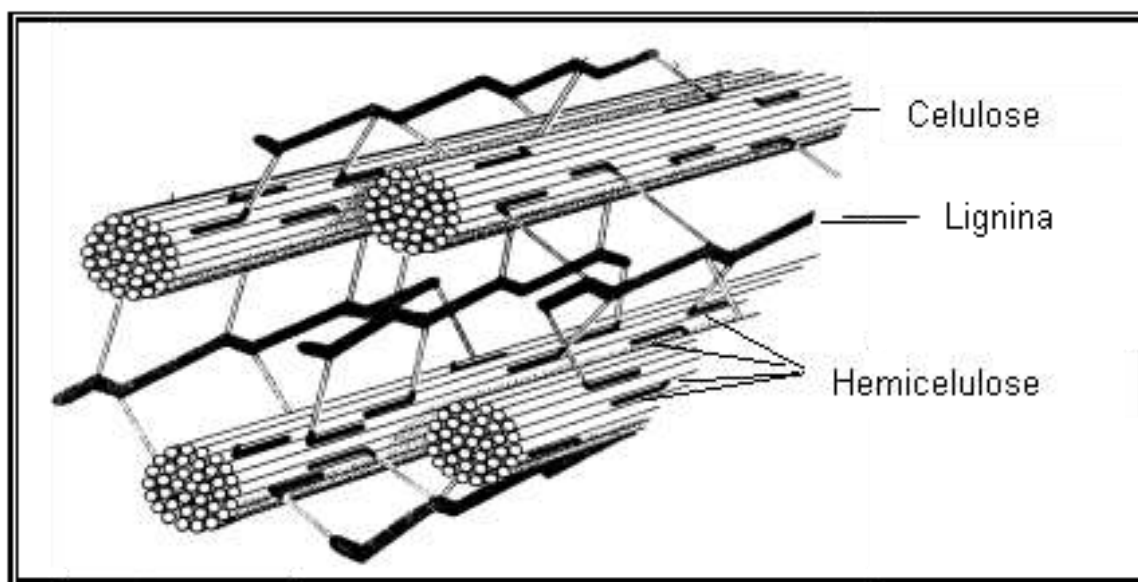


Figura 2.1: Diagrama de blocos da composição da madeira. Fonte: Elaboração própria a partir de CHAGAS Jr. (2016).

### 2.2.1 Composição estrutural dos materiais lignocelulósicos

A composição estrutural dos materiais lignocelulósicos baseia-se em três tipos de estruturas, que geralmente apresentam a característica de serem fibrosas e duras. As referidas estruturas compreendem a celulose e a hemicelulose, polissacarídeos existentes na natureza, que representam cerca de 70% da massa seca dos materiais lignocelulósicos. A terceira

estrutura é a lignina, que também é uma macromolécula, que contém álcool aromático em sua configuração. A lignina encontra-se localizada entre a celulose e a hemicelulose, que são entremeados pela mesma. Entre as moléculas de hemicelulose e celulose, ocorrem interações de hidrogênio enquanto que entre estas moléculas e a lignina, ocorrem ligações covalentes. Tais estruturas estão representadas na Figura 2.2 (LEE, 1997).



*Figura 2.2: Esquema estrutural químico dos materiais lignocelulósicos presentes na madeira.  
Fonte: Adaptado de SHLESER (1994).*

### **2.2.1.1 Celulose**

A celulose é um homopolissacarídeo, ou seja, um carboidrato composto por apenas um tipo de açúcar, que apresenta um conteúdo de até 15000 unidades de  $\beta$ -D-glicose, unidas por ligações glicosídicas  $\beta(1-4)$  entre os carbonos presentes em sua estrutura e, também por ligações de hidrogênio intramoleculares e intermoleculares entre as unidades de glicose. Por meio dessa configuração, tem origem um polímero, com a característica principal de ser linear (Figura 2.3 e Figura 2.4) (ARANTES & SADDLER, 2010; PANDEY, 2000; LEE, 1997).

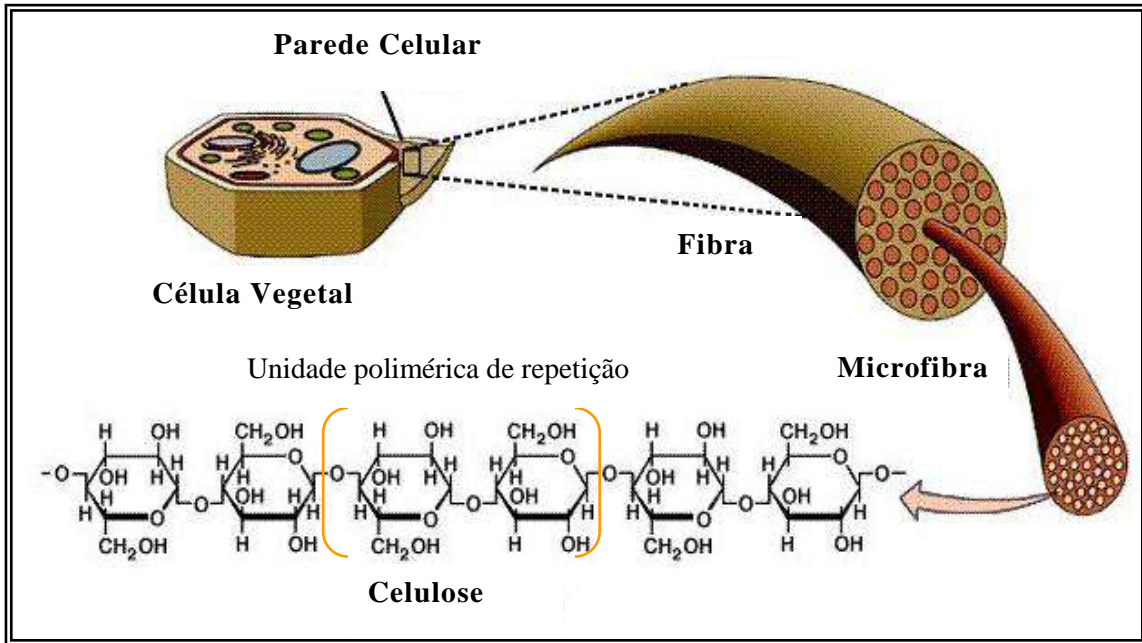


Figura 2.3: Fibras de celulose na parede das células vegetais. Fonte: Adaptado de MOOR et al., (1998).

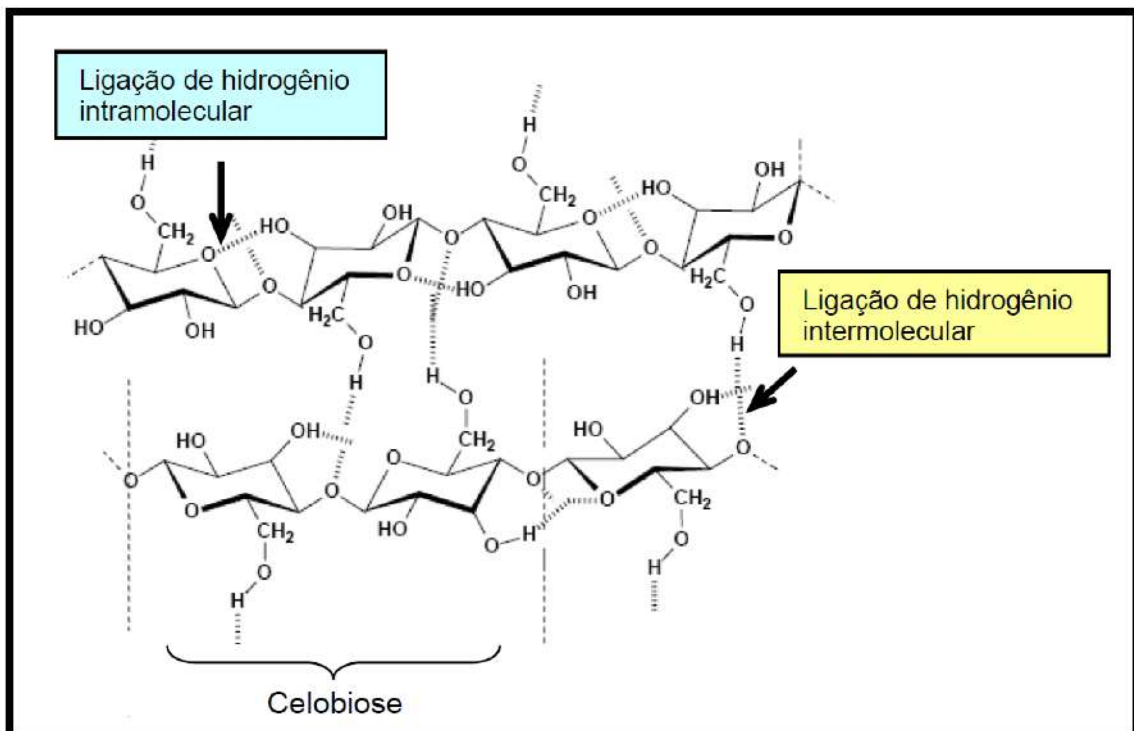


Figura 2.4: Estrutura química simplificada da celulose. Fonte: MORAES (2005).



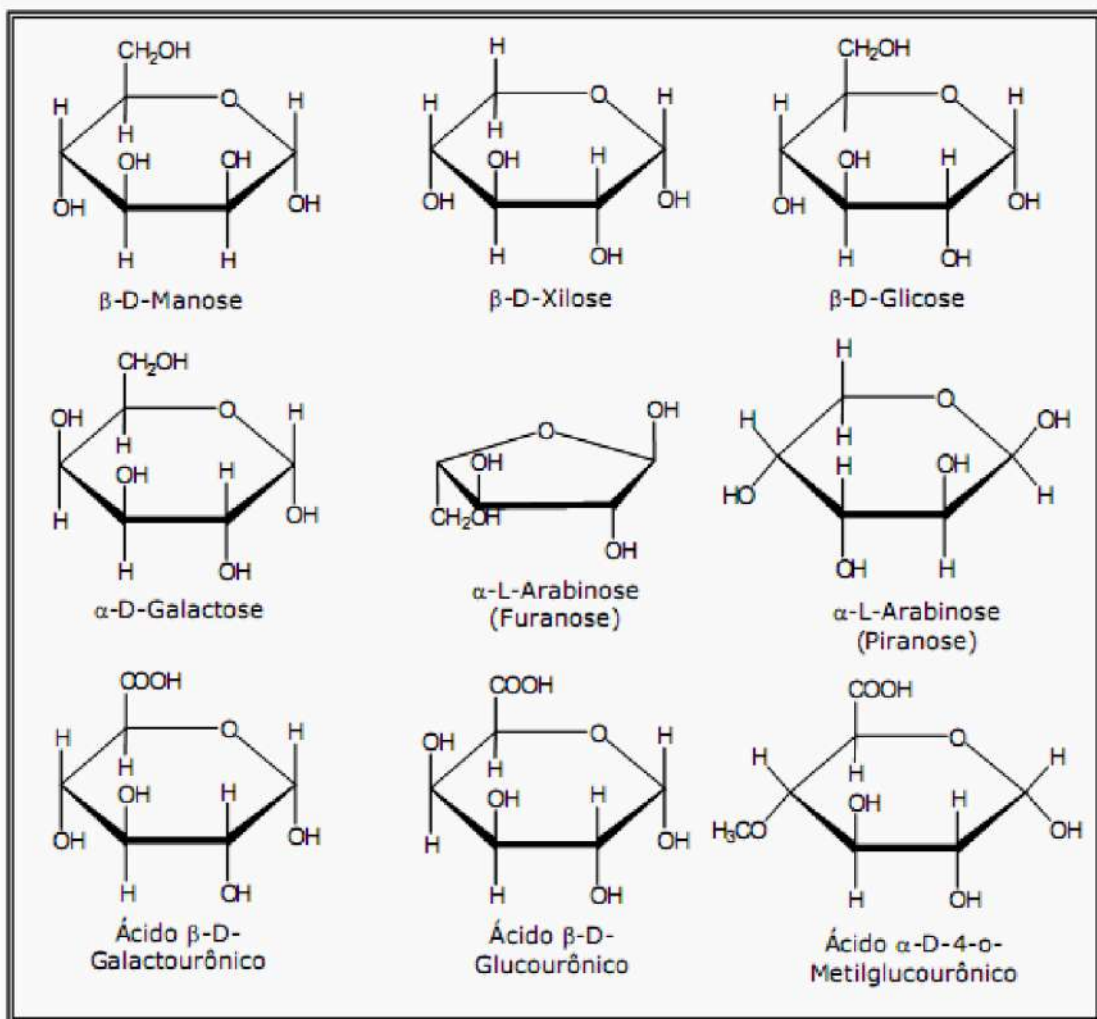


Figura 2.6: Monômeros que constituem a hemicelulose e suas respectivas estruturas químicas. Fonte: D'ALMEIDA (1988).

Outra característica importante é baseada no fato de que a hemicelulose (Figura 2.7) é mais suscetível ao ataque via hidrólise química, por não conter regiões cristalinas em sua estrutura, diferente do que ocorre com a celulose, a qual apresenta regiões em sua macromolécula que são altamente cristalinas. Em relação à hidrólise química da hemicelulose, tal reação ocorre em condições mais brandas, visto que as fibras geralmente têm maior resistência à solvatação na região cristalina, o que explica tal vulnerabilidade à ocorrência da hidrólise na hemicelulose.

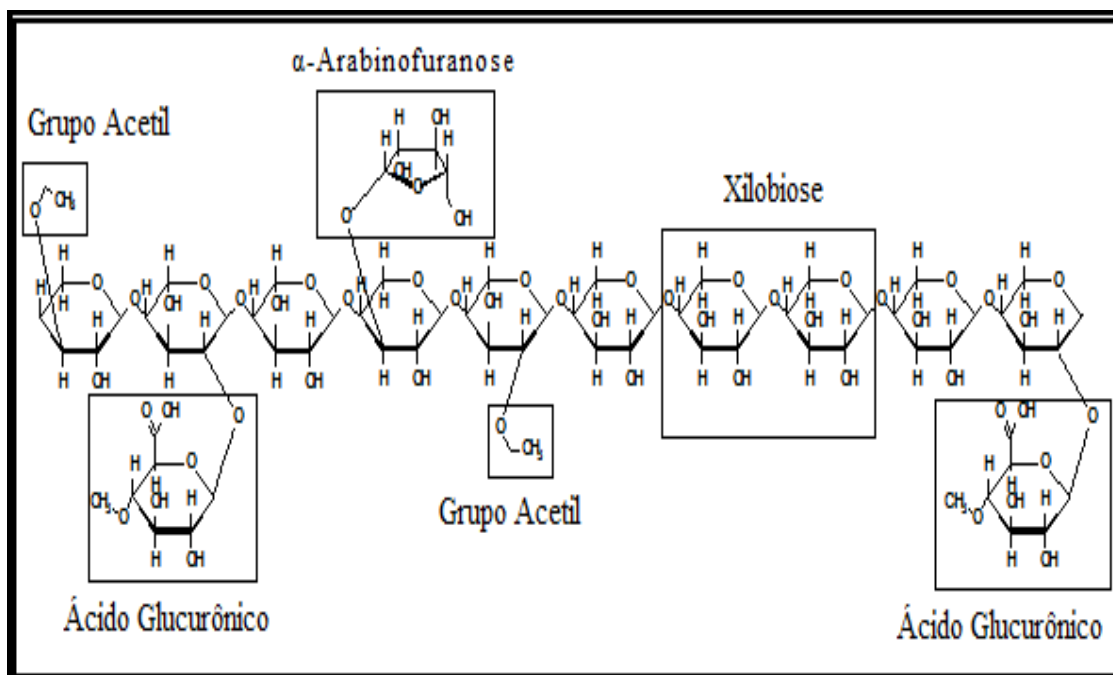


Figura 2.7: Estrutura típica da hemicelulose. Fonte: MUSSATO (2002).

A tabela apresentada a seguir descreve, de modo resumido, as principais características destes polissacarídeos, auxiliando na diferenciação da hemicelulose e da celulose em termos de conceitos estruturais:

Tabela 2.2: Diferenças entre hemicelulose e celulose. Fonte: PEREIRA Jr., 2008

CELULOSE	HEMICELULOSE
Unidades de glicose unidas entre si	Unidades de diferentes pentoses e hexoses ligadas entre si
Alto grau de polimerização (1000 a 15000 unidades de glicose)	Baixo grau de polimerização (60 a 300 unidades de açúcares)
Forma arranjo fibroso	Não forma arranjo fibroso
Apresenta regiões amorfas e cristalinas	Apresenta somente regiões amorfas
É atacada lentamente por ácido inorgânico diluído a quente	É atacada rapidamente por ácido inorgânico diluído a quente
É insolúvel em álcalis	É solúvel em álcalis



### **2.2.1.3 Lignina**

A lignina é uma substância química que não está associada apenas às moléculas de açúcar simples. Tal macromolécula tem sua origem na polimerização de três monômeros diferentes: álcool cumárico, álcool coniferílico e álcool sinapílico (CARAMEZ, 1999; LEMOS, 2001). Ela se entrelaça com a hemicelulose por meio de ligações químicas entre as unidades de fenilpropano já existentes em sua própria estrutura e entre os resíduos dos compostos de arabinose e ácido glucurônico, a fim de formarem uma matriz que envolve as fibras de celulose (D'ALMEIDA, 1988).

De acordo com Lemos (2001), é válido notar que sua importância está vinculada ao fato de que a lignina é responsável por atribuir a característica rígida à parede celular dos vegetais, bem como a resistência ao impacto (*apud* CARVALHO, 2009, p. 22). Sabe-se que existe certa dificuldade no acesso à celulose durante o processo de hidrólise. Tal dificuldade está intimamente vinculada à presença de lignina na forma estrutural da madeira. (*apud* SILVA, 2010, p. 11).

## **2.3. Processos de obtenção de etanol de segunda geração**

A composição estrutural dos resíduos de madeira, gerados na produção de celulose, permite sua aplicação na produção de etanol de segunda geração, ácidos (acético, por exemplo) e produtos químicos em geral, de tal modo, que tais resíduos passam a assumir o papel de matéria-prima para o desenvolvimento de outros produtos (PEREIRA Jr. *et al.*, 2008).

No Brasil, a produção de biocombustíveis como o etanol, se dá majoritariamente por meio da atividade via primeira geração, utilizando a cana-de-açúcar. Porém, ao redor do mundo, diversas rotas tecnológicas estão sendo estudadas a fim de produzir etanol de segunda geração, aspecto que engloba a valorização de resíduos lignocelulósicos, a diminuição do impacto ambiental provocado por uma incorreta disposição destes resíduos e o aumento no volume de produção de biocombustíveis (BNDES, 2008).

A atual conjuntura das pesquisas científicas, está voltada para a otimização de processos biotecnológicos, possibilitando a produção de etanol de segunda geração a partir de

resíduos lignocelulósicos como: palha e o sabugo de milho, bagaço de cana-de-açúcar, palha de arroz, bem como resíduos de madeira da indústria de celulose. Sendo estes últimos a matéria-prima avaliada no presente projeto de final de curso (VÁSQUEZ *et al.*, 2007).

A tabela a seguir reporta a composição estrutural de diversos tipos de biomassas com potencial para serem utilizadas na produção de etanol de segunda geração:

*Tabela 2.3: Exemplos de biomassas lignocelulósicas com potencial para produzir etanol de segunda geração e seus respectivos teores de celulose, hemicelulose e lignina. Fonte: TAMANINI & HAULI, 2004; CANETTIERI et al., 2001); MUSSATO & ROBERTO, 2002.*

<b>Material lignocelulósico</b>	<b>Celulose (%)</b>	<b>Hemicelulose (%)</b>	<b>Lignina (%)</b>
Farelo de cevada	23,0	32,7	24,4
Sabugo de milho	31,7	34,7	20,3
Folhas de milho	37,6	34,5	12,6
Bagaço de cana	40,2	26,4	25,2
Palha de arroz	43,5	22,0	17,2
Palha de trigo	33,8	31,8	20,1
Palha de sorgo	34,0	44,0	20,0
Casca de aveia	30,5	28,6	23,1
<i>Eucalyptus grandis</i>	40,2	15,7	26,9
<i>Eucalyptus globulus</i>	46,3	17,1	22,9

Analisando os dados da Tabela 2.3 é possível verificar que o material lignocelulósico do *Eucalyptus* possui elevado teor de celulose, similar ao bagaço de cana e à palha de arroz. O interesse específico nesta fração deve-se à presença de monômeros de glicose na composição deste polissacarídeo, ou seja, açúcares que podem ser fermentados para produzir etanol.

Já os percentuais de hemicelulose, fonte de outros açúcares, fundamentalmente do tipo pentoses (com 5 átomos de carbono), não é tão expressiva como no caso da palha de sorgo. No entanto, os valores de lignina são muito próximos em todas as biomassas.

A fim de tornar possível o emprego destes materiais como recursos para a produção de etanol, segundo a plataforma bioquímica, faz-se necessária a separação e disponibilização dos principais componentes. Para esta separação, é essencial um estágio de pré-tratamento, visando à desestruturação do complexo lignocelulósico. Um pré-tratamento pode ser realizado

através de processos físicos, físico-químicos, químicos e biológicos, e ser associado ou seguido da hidrólise dos polissacarídeos (hemicelulose e celulose) em suas unidades monoméricas (pentoses e hexoses). Seu alvo baseia-se na remoção da hemicelulose e da lignina, e, também, na diminuição do nível de cristalinidade da celulose, presente na amostra sob avaliação, permitindo que a mesma seja mais facilmente hidrolisada (*apud* SILVA, 2010).

### **2.3.1. Fracionamento da biomassa lignocelulósica**

A função do pré-tratamento é a quebra de forma seletiva das ligações que unem as macromoléculas para que haja a separação das frações lignocelulósicas. Depois dessa etapa, a matéria-prima fica nas condições ideais para que enzimas e/ou microorganismos atuem nas etapas seguintes (PALMQVIST & HAHN-HÄGERDAL 2000a, ADSUL *et al.*, *apud* CARVALHO, 2009, p. 27 e 28).

Os pré-tratamentos mais adequados para a desestruturação e/ ou desorganização do complexo lignocelulósico são: a pré-hidrólise ou explosão por vapor, com a quase completa despolimerização e dissolução da fração hemicelulósica. A partir do material residual (celulose e lignina), a celulose pode ser separada, por meio da dissolução da lignina com álcalis ou solventes orgânicos (deslignificação). Neste caso, o material residual é o componente celulósico com digestibilidade aumentada para a hidrólise enzimática; a lignina também pode ser separada através da hidrólise da celulignina com ácidos minerais fortes (concentrados ou diluídos) a altas temperaturas. A última alternativa vem sendo abandonada, uma vez que substâncias tóxicas podem ser geradas durante o processo hidrolítico.

A Figura 2.8 mostra um esquema simplificado para o fracionamento dos principais componentes de materiais lignocelulósicos.

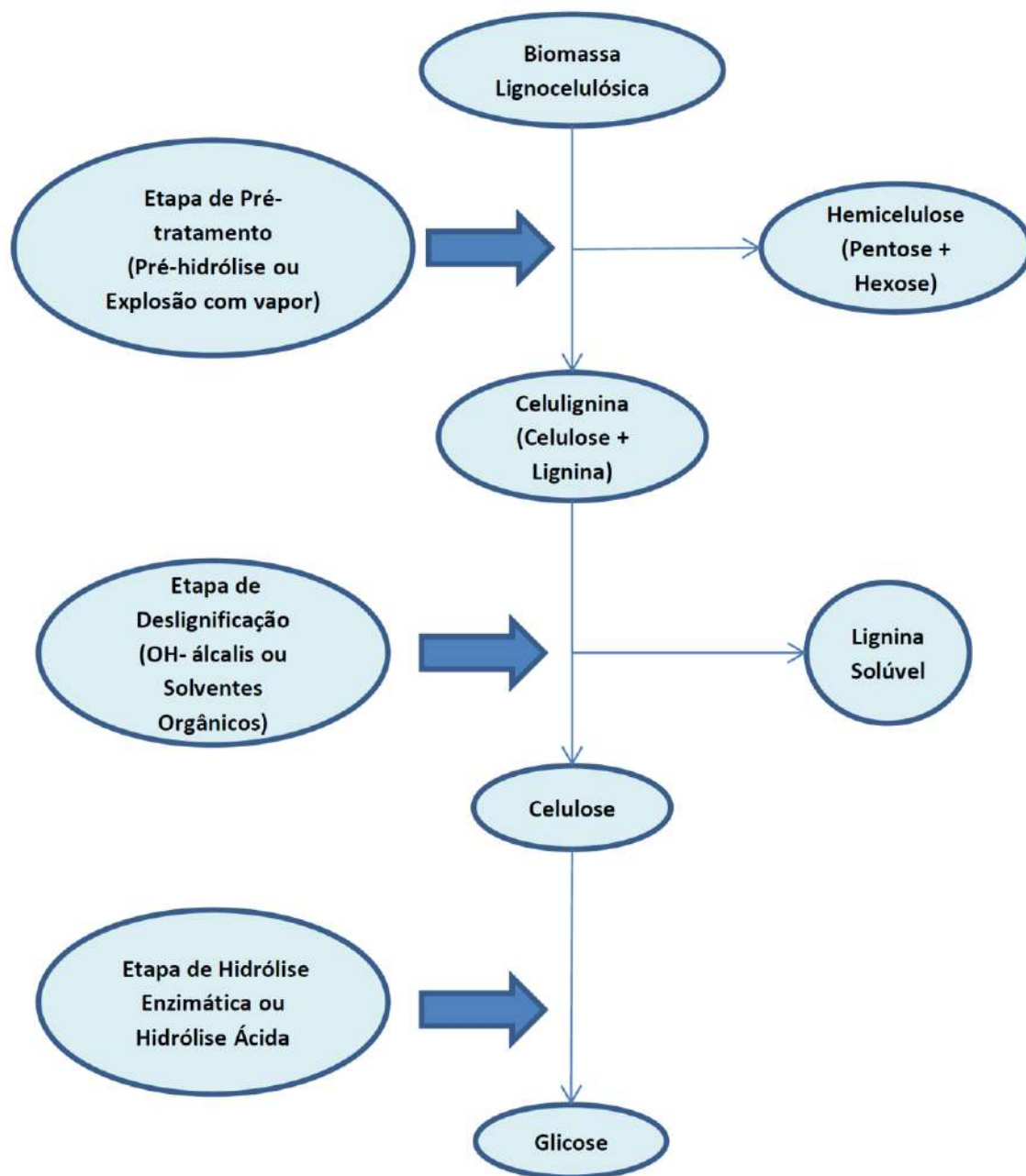


Figura 2.8: Fracionamento dos componentes lignocelulósicos. Fonte: Modificado de SCHUCHARDT, et al. 2001

A Figura 2.9 revela o resultado obtido ao pré-tratar uma biomassa lignocelulósica, cujo objetivo, conforme mencionado, é a separação das frações.

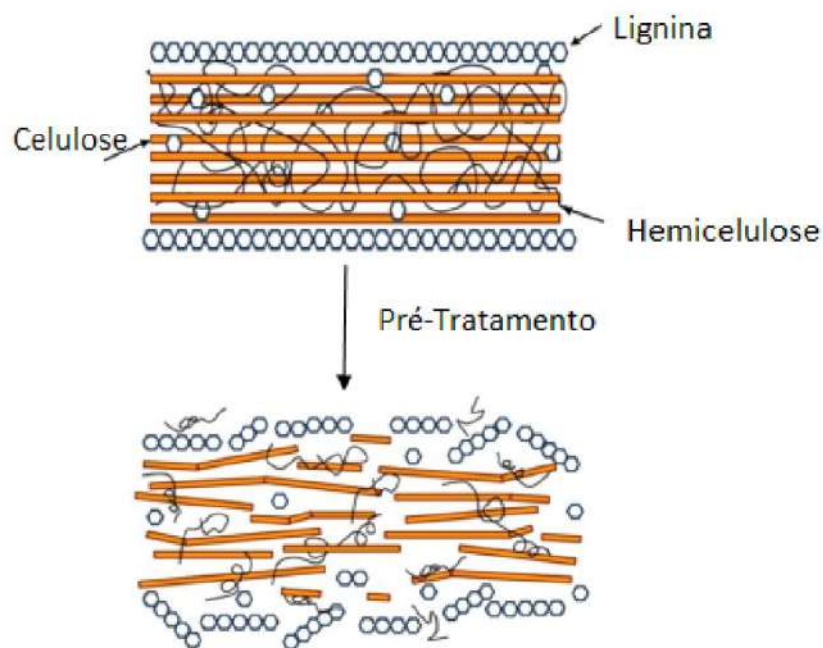


Figura 2.9: Estruturas lignocelulósicas antes e após o pré-tratamento. Fonte: MOOD et al, 2013 apud NETO, J.M.S; JÚNIOR, A.U.A.; LIMA, F.S.; ANJOS, D.A., 2015.

### 2.3.2. Processamento da celulose

Para o aproveitamento da fração celulósica é necessária a clivagem da ligação  $\beta(1,4)$ -glicosídica da molécula de celulose. Com isto, podem ser produzidas moléculas, com menor número de unidades monoméricas, afetando as propriedades físico-químicas do meio, pois ao começar a hidrólise enzimática, a celulose é segmentada em celudextrinas de máximo 6 unidades de glicose. Estes polissacarídeos ao serem solubilizados fazem com que a densidade e a viscosidade da fase líquida variem, influenciando os fenômenos de transferência de massa. Entre os diferentes tipos de hidrólise distinguem-se a enzimática e a química. (CARVALHO, 2009).

#### 2.3.2.1. Hidrólise enzimática da celulose

Na etapa de hidrólise enzimática da celulose utilizam-se as enzimas celulases, classificadas em três grupos: (1) Endoglucanases, que clivam ligações internas da fibra celulósica; (2) Exoglucanases, que atuam progressivamente nas extremidades reductoras e não-

reduzindo a celulose libertando pequenos oligossacarídeos de celulose; e (3)  $\beta$ -glucosidases, que hidrolisam oligossacarídeos solúveis a glicose (LYND *et al.*, 2002). Exoglucanases e  $\beta$ -glucosidases são reportadas por sofrerem inibição por seus produtos de hidrólise (AWAFO *et al.*, 1998). A Figura 2.10 esquematiza a atuação dessas enzimas sobre a celulose.

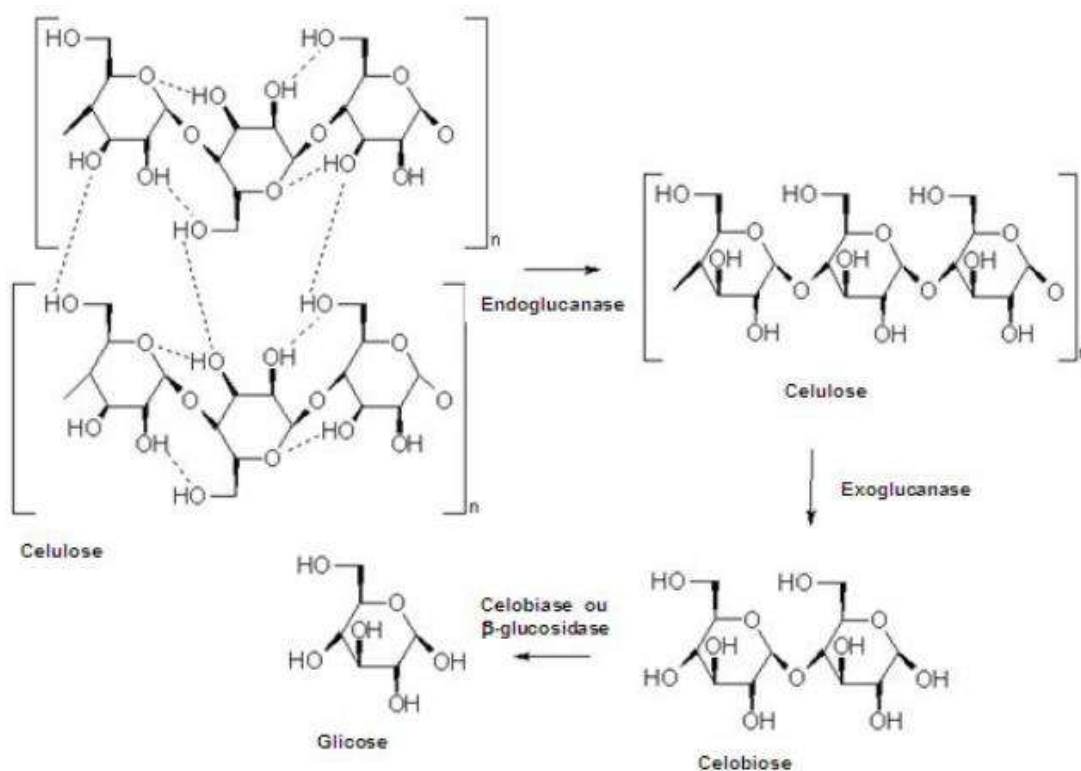


Figura 2.10: Enzimas envolvidas para a produção de etanol de segunda geração. Fonte: MALBURG *et al.*, 1992.

É válido pontuar que a hidrólise enzimática vem sendo amplamente empregada e é considerada um processo promissor no ramo da produção de etanol, devido ao fato de que acontece sob condições de pressão atmosférica e temperaturas moderadas. Tal método não forma subprodutos indesejáveis, no entanto, o principal entrave vinculado a sua prática deve-se ao preço das enzimas específicas ser bem elevado (RODRIGUES, 2009 *apud* SILVA, F.V., 2009).

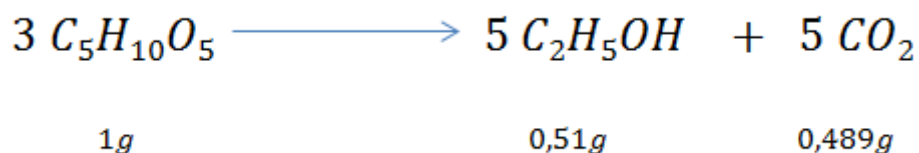
### 2.3.2.2 Hidrólise ácida da celulose

Esta estratégia tecnológica difere da concepção dos processos enzimáticos. Neste caso, são utilizados catalisadores ácidos para hidrolisar o polissacarídeo de celulose, transformando

os monômeros de açúcar em açúcares solúveis, que a partir de então, tornam-se fermentáveis. As condições experimentais são mais severas que as utilizadas no pré-tratamento inicial do resíduo lignocelulósico, quando o interesse era separar a fração hemicelulósica (CARVALHO, 2009). É considerado como um procedimento versátil, visto que pode ser efetuado sob altas temperaturas e baixas concentrações de ácido ou sob temperaturas menores e elevadas concentrações de ácido (TAHERZADEH *et al.*, 2008).

### 2.3.3. Fermentação de hidrolisados hemicelulósicos

A conversão estequiométrica de xilose em etanol, esboçada na Figura 2.11, indica que para cada 3 moles de xilose podem se produzir como máximo teórico 5 moles de etanol, acompanhado do desprendimento do mesmo número de moles de CO<sub>2</sub>. Em outras palavras, o rendimento máximo teórico do processo é de 0,51 g de etanol por cada 1,00 g de xilose. Na realidade, este rendimento não pode ser alcançado porque parte do substrato é desviado para o crescimento e manutenção da célula e para formação de outros subprodutos intrínsecos ao metabolismo (CARVALHO, 2009).



*Figura 2.11: Reação global de conversão de D-xilose a etanol Fonte: Modificado de Carvalho, 2009.*

No caso de leveduras, a primeira reação do metabolismo da D-xilose (Figura 2.12) é a redução da D-xilose em xilitol, catalisada pela enzima xilose reductase (XR) dependente de coenzimas NADPH ou NADH, segundo a linhagem. O xilitol pode ser, posteriormente, oxidado a D-xilulose pela ação da enzima xilitol desidrogenase (XDH) que requer a coenzima NAD<sup>+</sup>. Subseqüentemente, a fosforilação até D-xilulose-5- fosfato é catalisada pela enzima xilulose quinase com o consumo de ATP (CARVALHO, 2009).

Através da via Embden-Meyerhoff-Parnas, o gliceraldeído-3-fosfato e a frutose- 6- fosfato são convertidos em piruvato, com geração de NADPH necessário em outras etapas

metabólicas. Em condições anaeróbias, ou de baixa oxigenação, o piruvato é convertido em etanol através da catálise com duas enzimas (piruvato decarboxilase e álcool desidrogenase) e a reoxidação de NADH. Em condições de aerobiose o piruvato é oxidado através do ciclo dos ácidos tricarboxílicos (Krebs) na cadeia respiratória (fosforilação oxidativa) (BRITO, 2000; BRÜINENBERG et al., 1984).



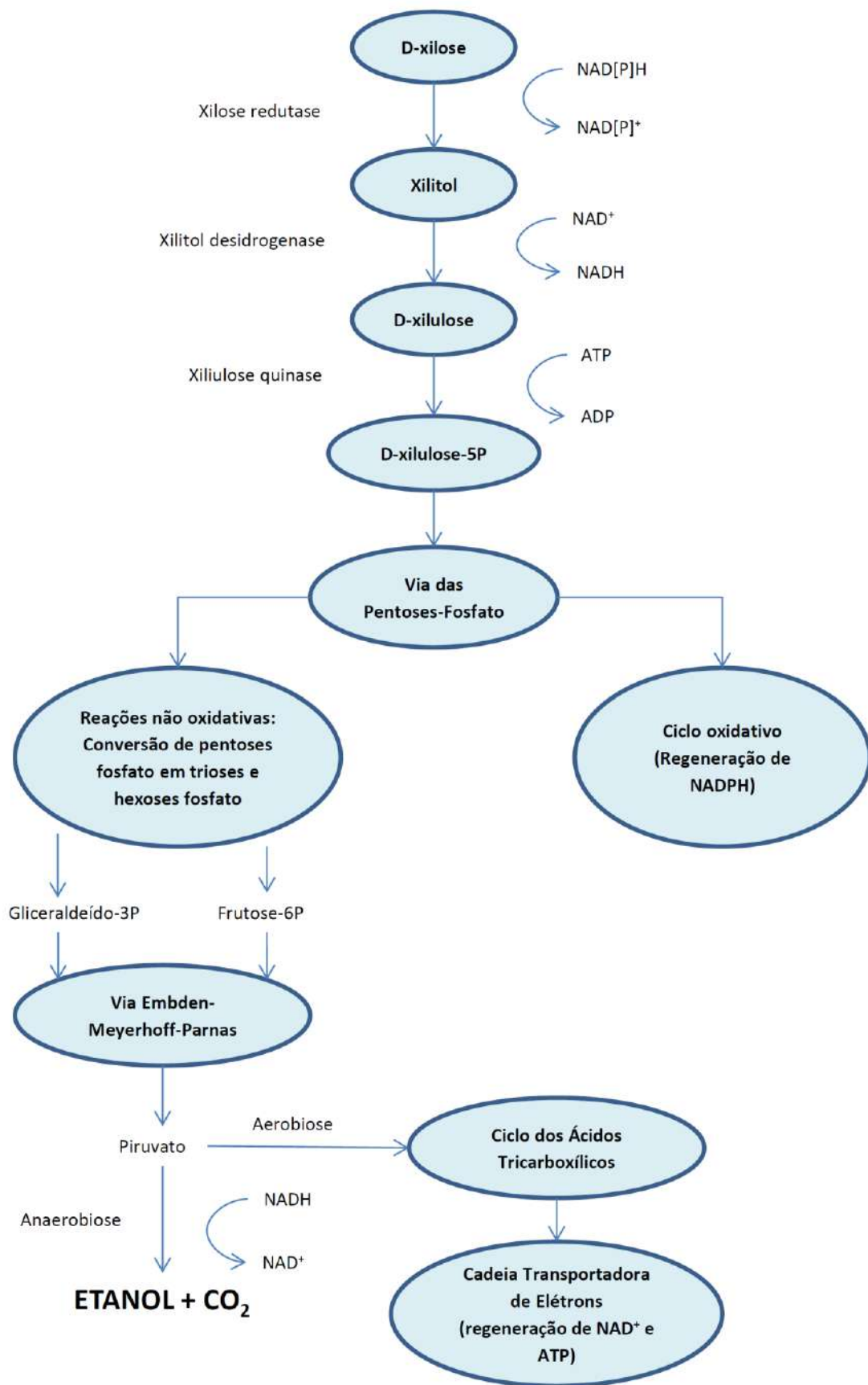
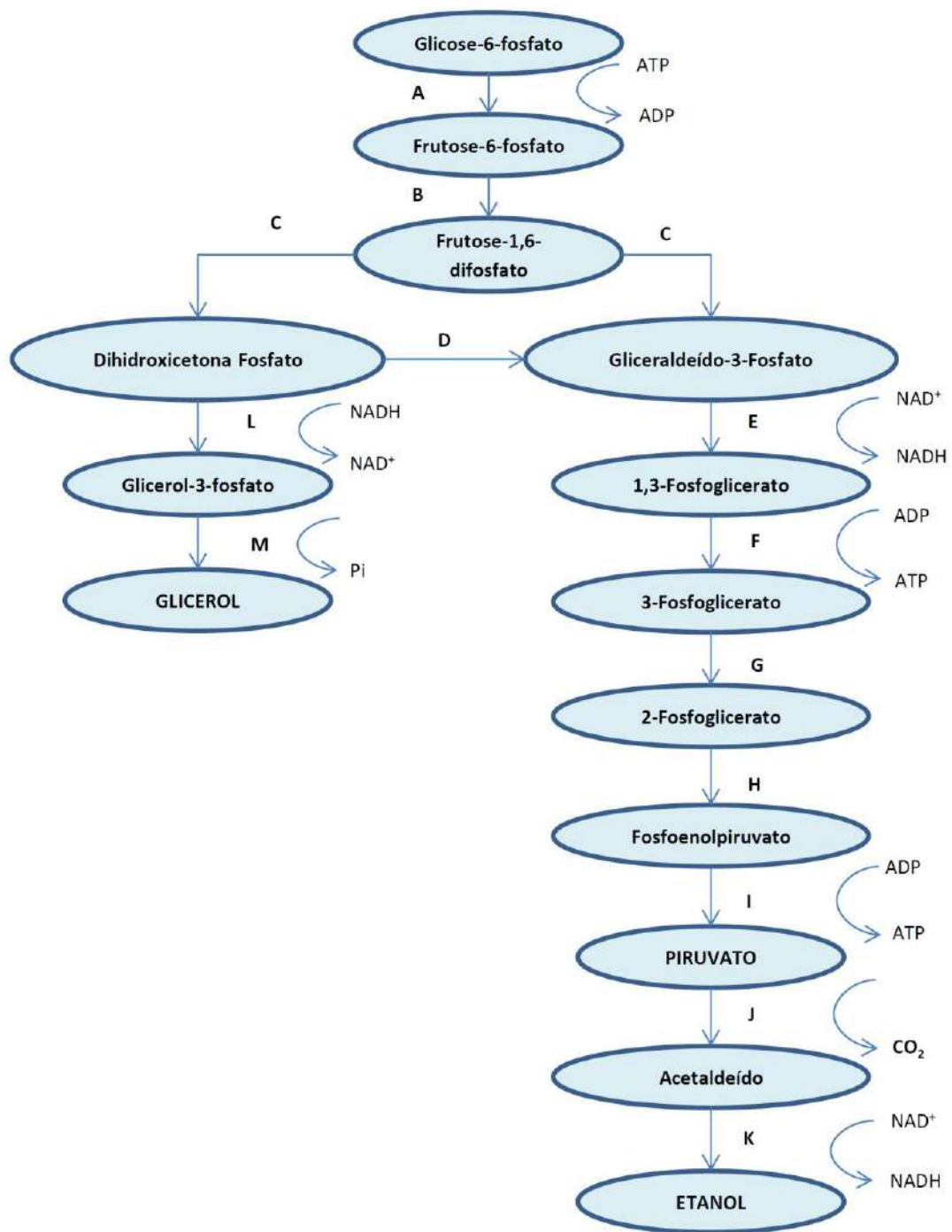


Figura 2.12: Metabolismo de D-xilose em Leveduras Fonte: Modificado de PARAJÓ, 1998A.

#### **2.3.4. Fermentação do hidrolisado celulósico**

A glicólise (Figura 2.13) é uma via central e quase universal do catabolismo da glicose. Na glicólise, uma molécula de glicose é degradada em uma série de reações catalisadas por enzimas para produzir duas moléculas de piruvato. Aliás, todas as enzimas da glicólise de muitos organismos já foram cuidadosamente purificadas, estudadas e tiveram suas estruturas tridimensionais determinadas a partir de estudos cristalográficos com raios-X. Durante as reações seqüenciais, parte da energia livre da glicose é conservada na forma de ATP. O processo da glicólise difere de uma espécie para outra apenas em detalhes de sua regulação e no destino subsequente do piruvato formado. Os princípios termodinâmicos e os tipos de mecanismos reguladores glicolíticos são encontrados em todas as vias do metabolismo celular (CARVALHO, 2009).



Enzimas - A: Fosfoglicose Isomerase; B: Fosfofrutoquinase; C: Aldolase; D: Triose Fosfato Isomerase; E: Gliceraldeído 3-fosfato Desidrogenase; F: Fosfatoglicerato Quinase; G: Fosfoglicerase Mutase; H: Enolase; I: Quinase Pirúvica; J: Piruvato Descaboxilase; K: Desidrogenase Alcoólica; L: Glicerol-3-fosfato Desidrogenase; M:  $\alpha$ -glicerofosfatase.

Figura 2.13: Via glicolítica, Biossíntese de glicerol e conversão do piruvato a etanol. Fonte: Modificado de BARRE et al., 2000

A glicose é uma molécula com seis átomos de carbono e sua divisão em duas moléculas de piruvato, cada uma com três átomos de carbono, ocorre em uma seqüência de 10 etapas durante o metabolismo celular. Nessas reações, a glicose é inicialmente fosforilada no grupo hidroxila do C-6 (carbono 6). A D-glicose-6-fosfato assim formada é convertida em frutose-6-fosfato, a qual é novamente fosforilada, desta vez em C-1, para produzir D-frutose-1,6-difosfato (como todos os derivados dos açúcares que ocorrem na via glicolítica são isômeros D, omitiu-se a designação D, exceto quando precisa-se enfatizar a estereoquímica). O ATP é a molécula que proporciona o fosfato nas duas fosforilações. A seguir, a frutose-1,6-difosfato é quebrada para produzir duas moléculas com três carbonos cada, a diidroxiacetona-fosfato e o gliceraldeído-3-fosfato. Este é o passo em que ocorre a quebra ("lisis") que dá nome ao processo. A diidroxiacetona-fosfato é isomerizada em uma segunda molécula de gliceraldeído-3-fosfato e com isso termina a primeira fase da glicólise. Note que duas moléculas de ATP precisam ser inseridas para ativar, ou iniciar, a molécula de glicose para a sua quebra em duas partes com três carbonos (CARVALHO, 2009).

O ganho energético provém subsequente a fase da glicólise. Cada molécula de gliceraldeído-3-fosfato é oxidada e fosforilada por fosfato inorgânico (não pelo ATP) para formar 1,3-difosfoglicerato. A liberação de energia ocorre quando as duas moléculas de 1,3-difosfoglicerato são convertidas em duas moléculas de piruvato. A maior parte dessa energia é conservada pela fosforilação acoplada de quatro moléculas de ADP para ATP. Em resumo, são obtidas duas moléculas de ATP por molécula de glicose empregada, uma vez que foram inserido 2 ATP na fase inicial da glicose. Alguns microorganismos em anaerobiose produzem etanol através da fermentação alcoólica utilizando o piruvato formado na via glicolítica (CARVALHO, 2009).

### **2.3.5. Estratégias para a produção de etanol de segunda geração**

A transformação dos materiais lignocelulósicos para a produção de etanol vem sendo estudada sob diferentes estratégias de processamento. Devido à presença de diferentes açúcares, muitas vezes se faz necessário o multiprocessamento, ou seja, o emprego de enzimas simultaneamente à ação de micro-organismos. Ou mesmo a utilização de diferentes micro-organismos em etapas sucessivas, ou de micro-organismos recombinantes de maneira a se aproveitar eficientemente os açúcares (substratos) disponíveis. Neste sentido, quatro

estratégias são concebidas, cada uma com diferente estágio de desenvolvimento, que serão descritas a seguir e resumidas na Figura 2.14.

- **Hidrólise e Fermentação Separadas (SHF):** a hidrólise da hemicelulose e celulose e a subsequente fermentação de pentoses e glicose, respectivamente, são realizadas em reatores diferentes. Nesse processo as etapas de hidrólise e fermentação são conduzidas em suas condições ótimas, porém, apresenta a desvantagem do acúmulo de açúcares resultantes da hidrólise enzimática, causando inibição às enzimas, e redução na conversão final a glicose (CASTRO E PEREIRA Jr, 2010);

- **Sacarificação e Fermentação Simultânea (SSF):** como o nome indica, a hidrólise da celulose e a fermentação da glicose são realizadas no mesmo reator. No entanto, a fermentação das pentoses continua sendo processada em reator separado. O processo SSF contribui com menor custo de investimento da planta (projeto), visto que nele são agrupadas duas etapas em um mesmo equipamento. Nessa forma de condução, as enzimas são menos suscetíveis à inibição pelos produtos de hidrólise, pois a glicose liberada é simultaneamente fermentada. A manutenção de uma baixa concentração de glicose no meio também favorece o equilíbrio das demais reações de hidrólise, no sentido de formação de mais produto, além de reduzir riscos com contaminação no sistema, na medida em que a concentração de açúcar é mantida em níveis muito baixos (ibid);

- **Sacarificação e Cofermentação Simultânea (SSCF):** representa um aumento da integração em relação ao processo SSF, já que a fermentação das pentoses e da glicose ocorre no mesmo reator. Este processo consolida a hidrólise da celulose e da xilana, produzindo glicose e xilose, respectivamente, com a fermentação direta. Isto reduz o número de reatores envolvidos e evita problemas de inibição do produto associado com as enzimas (HAMELINCK *et al.*,2005). No entanto, investimentos são necessários para a construção de micro-organismos recombinantes capazes de fermentar ambos os açúcares, já que não há registros de micro-organismos naturalmente ocorrentes capazes de fermentar eficientemente pentoses e hexoses;

- **Bioprocessamento Consolidado (CBP):** o máximo de integração é atingido com essa rota, na qual todas as operações de caráter biológico, inclusive a produção de enzimas são realizados simultaneamente. No Bioprocessamento consolidado, todas as enzimas requeridas e a fermentação ocorrem em um único reator. A aplicação do CBP não

implica nenhum capital ou custo operacional na produção de enzimas (ibid), distinguindo-o das demais concepções.

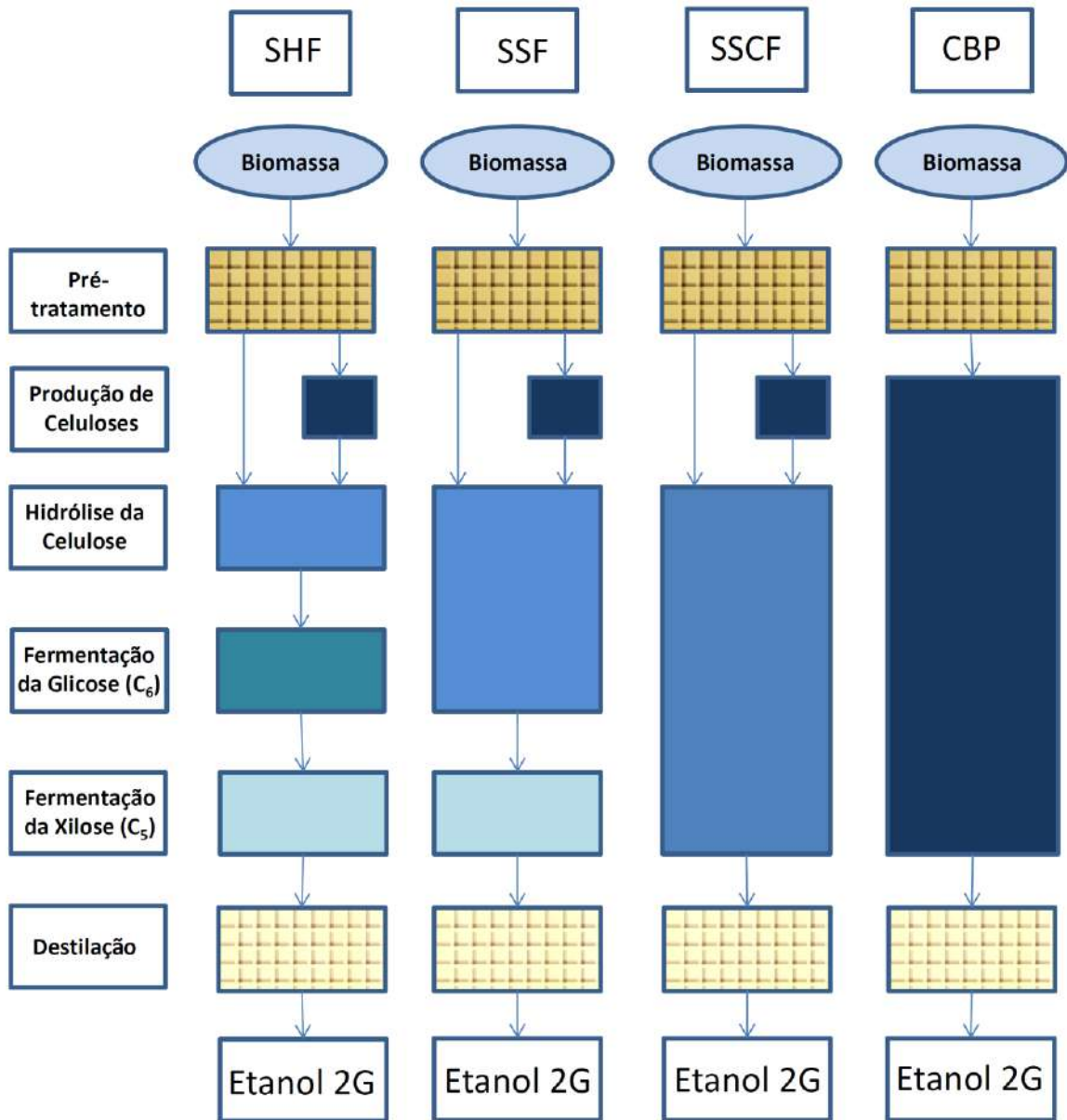


Figura 2.14: Concepções tecnológicas e integração de processos na produção de etanol de segunda geração: a plataforma bioquímica da biorrefinaria. Fonte: Modificado de PEREIRA Jr.; et al., 2008 apud WINGREN, 2003

### **3. Materiais e Métodos**

Neste capítulo serão apresentados os materiais e metodologia utilizada no desenvolvimento desta pesquisa. A maior parte dos experimentos foi desenvolvida no Laboratório de Tecnologias Verdes – GreenTec e os estudos de fermentação dos açúcares no Laboratório de Desenvolvimento de Bioprocessos (LADEBIO), ambos localizados na Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (EQ-UFRJ).

#### **3.1. Matéria-prima**

As matérias-primas utilizadas nesta pesquisa são os resíduos da indústria de celulose, especificamente, resíduos de madeira do híbrido de *Eucaliptus grandis* com *E. urophylla*, provenientes do descascamento e picagem das toras e do peneiramento dos cavacos.

É válido realçar que esse híbrido é proveniente do programa de estudos que vem sendo realizado desde 2015 pela Fibria, juntamente com representantes de universidades e organizações não governamentais, em busca de organismos com modificações genéticas, incluindo espécies de eucaliptos.

Para este estudo, foram gentilmente cedidas pela empresa Fibria, antiga VCP, duas biomassas: uma formada por cavacos residuais e outra pela galhada residual, codificadas como C<sub>R</sub>01 e G<sub>R</sub>01, respectivamente. Após o recebimento das biomassas, determinou-se o teor de umidade em ambas as amostras e posteriormente foram secas em estufa à 70°C por 8 (oito) horas para evitar a degradação durante a estocagem. Ambas as amostras apresentaram teor de umidade inicial de 24,8% e 32,1%, respectivamente, medidos por um determinador de umidade por infravermelho.

##### **3.1.1. Depuração**

Na amostra C<sub>R</sub>01 observou-se uma coloração e uma textura própria de madeiras duras, como mostrado na Figura 3.1 abaixo. Enquanto a G<sub>R</sub>01 apresentou diferente coloração e textura, devido a sua composição mista, contendo principalmente cavacos, folhas e cascas de troncos, como mostrado na Figura 3.2.



*Figura 3.1: Cavacos residuais provenientes da indústria de celulose – C<sub>R</sub>01. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*



*Figura 3.2: Galhada residual proveniente da indústria de celulose – G<sub>R</sub>01. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*

Devido aos diferentes componentes da galhada, foi realizada uma depuração de parte da mesma a fim de separar as cascas (Figura 3.3) e as folhas (Figura 3.4) dos cavacos denominados de cavacos depurados e codificados como C<sub>D</sub>01 (Figura 3.5).





*Figura 3.3: Componente da galhada residual ( $G_{R01}$ ) da indústria de celulose: cascas de troncos. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*



*Figura 3.4: Componente da galhada residual ( $G_{R01}$ ) da indústria de celulose: folhas. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*



*Figura 3.5: Componente da galhada residual (G<sub>R01</sub>) da indústria de celulose: cavacos depurados (C<sub>D01</sub>). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*

Este procedimento teve como objetivo comparar o potencial dos cavacos residuais (C<sub>R01</sub>) e cavacos depurados (C<sub>D01</sub>) com o potencial da galhada residual (G<sub>R01</sub>).

Os materiais C<sub>R01</sub>, G<sub>R01</sub> e C<sub>D01</sub> foram submetidos à moagem visando o melhor aproveitamento dos resíduos lignocelulósicos, uma vez que a presença de partículas de diferentes tamanhos dificulta a ação do ácido aplicado na extração dos açúcares da fração hemicelulósica e, analogamente, pode também dificultar a atuação deste reagente durante a hidrólise da celulose.

Os resíduos moídos (Figuras 3.6, 3.7 e 3.8) apresentaram um tamanho médio de partícula de 1,15 mm, com uma distribuição granulométrica centrada nas frações entre 2,36 – 1,0 mm e 1,0 – 0,5 mm (39,7% e 40,7%, respectivamente), tamanho rotineiramente utilizado para outros materiais lignocelulósicos.



*Figura 3.6: Cavacos residuais (C<sub>R01</sub>) moídos. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*



*Figura 3.7: Galhada residual (G<sub>R</sub>01) moída. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*



*Figura 3.8: Cavacos depurados (C<sub>D</sub>01) moídos. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*

### **3.1.2. Caracterização**

#### **Teor de umidade**

O teor de umidade inicial de ambas amostras de biomassa (C<sub>R</sub>01 e G<sub>R</sub>01) foi determinado através de método termogravimétrico, usando estufa para secagem, em uma temperatura de  $103 \pm 2$  °C, até conseguir peso constante.

#### **Poder calorífico**

Após a adequação dos resíduos lignocelulósicos por meio da moagem, os mesmos foram submetidos à análise de poder calorífico.

O poder calorífico expressa a quantidade de calor produzido durante o processo de combustão, nas unidades (cal/g, kcal/kg ou kJ/kg), considerando-se seu estado anidro (0% de umidade) (CANTIZANI, 2013).

O poder calorífico das amostras C<sub>R</sub>01, G<sub>R</sub>01 e C<sub>D</sub>01 foi determinado pelo método da bomba calorimétrica e suas determinações foram realizadas no Laboratório de Física Aplicada do Departamento de Física e Biofísica da UNESP de Botucatu-SP, segundo norma ABNT NBR 8693, e pelo manual de operações do calorímetro PARR 1201.

### **3.2. Produção de etanol de segunda geração**

Visando o melhor aproveitamento dos resíduos através da produção de etanol de segunda geração a partir das amostras, C<sub>R</sub>01, G<sub>R</sub>01 e C<sub>D</sub>01 foram submetidas às etapas experimentais apresentadas no fluxograma da Figura 3.9.

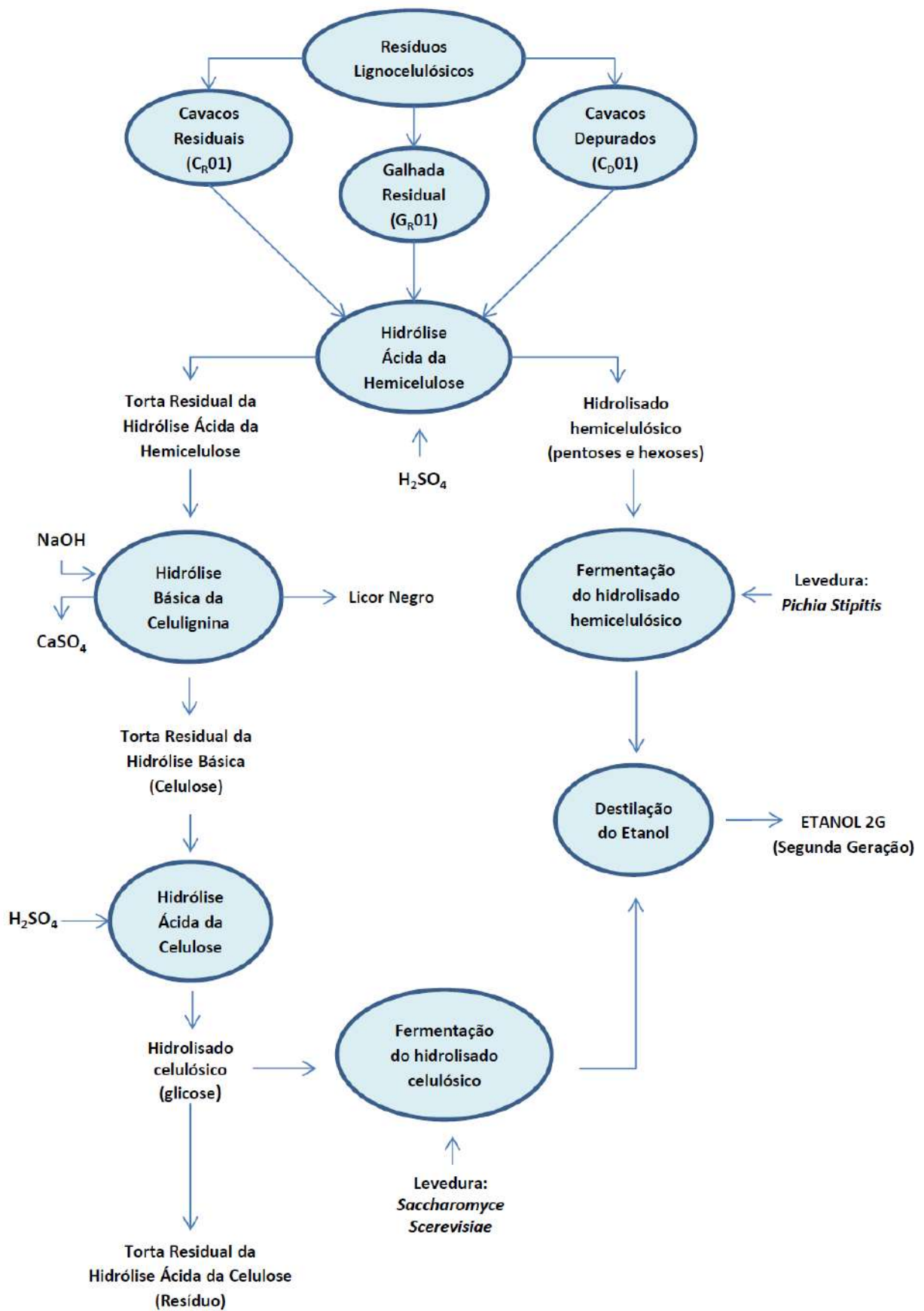


Figura 3.9: Fluxograma da produção de etanol de segunda geração a partir dos cavacos residuais (C<sub>R</sub>01), galhada residual (G<sub>R</sub>01) e cavacos depurados (C<sub>D</sub>01) via rotas químicas.

### 3.2.1 Hidrólise ácida dos resíduos lignocelulósicos

O pré-tratamento dos resíduos lignocelulósicos ( $C_{R01}$ ,  $G_{R01}$  e  $C_{D01}$ ) se iniciou com a extração e disponibilização dos açúcares que compõem a fração hemicelulósica, e foi realizado um tratamento ácido com 1 (um) quilo de resíduo moído.

Os resíduos, apresentando  $4,8 \pm 0,8\%$  de umidade, foram misturados com uma solução diluída de ácido sulfúrico, preparada com 0,8% m/m de  $H_2SO_4$  em relação à massa seca de biomassa. A relação sólido:líquido usada foi de 1:4. Para garantir uma melhor distribuição da solução na biomassa utilizou-se um pulverizador na aplicação. O sólido umedecido foi depositado em frascos tipo Erlenmeyers (Figura 3.10, 3.11 e 3.12) e submetido ao tratamento térmico em autoclave à temperatura de  $120^\circ C$  durante 30 minutos.



*Figura 3.10: Galhada residual ( $G_{R01}$ ) antes da hidrólise ácida da hemicelulose. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*



*Figura 3.11: Cavacos residuais ( $C_{R01}$ ) antes da hidrólise ácida da hemicelulose. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*



*Figura 3.12: Cavacos depurados (C<sub>D</sub>01) antes da hidrólise ácida da hemicelulose. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*

Após esse tratamento, os resíduos apresentaram uma cor avermelhada, causada pela presença de compostos gerados a partir da lignina e taninos presentes no material, liberados durante o processo (Figura 3.13).



*Figura 3.13: Galhada residual (G<sub>R</sub>01), Cavacos residuais (C<sub>R</sub>01), Cavacos depurados (C<sub>D</sub>01) depois da hidrólise ácida da hemicelulose. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*

Em seguida, o material proveniente da hidrólise ácida da hemicelulose foi submetido à prensagem para a separação das fases (hidrolisado hemicelulósico e torta residual). Esta etapa foi realizada utilizando uma prensa hidráulica do LADEBIO.

O hidrolisado (Figura 3.14, 3.15 e 3.16), fase líquida, teve seu pH ajustado 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, que foram posteriormente separados por filtração. A concentração de açúcares fermentáveis (xilose e glicose) solubilizados no hidrolisado, foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em cromatógrafo “Waters” (Sistema de bombeamento modelo 510, injetor Rheodyne, detector de índice de refração modelo 410), acoplado a uma coluna de troca catiônica Aminex HPX-87P, fabricada pelo Bio-Rad.

Cabe destacar que as condições utilizadas na hidrólise da hemicelulose são as comumente empregadas para qualquer outro tipo de material lignocelulósico, como o bagaço de cana-de-açúcar, sendo possível a obtenção de hidrolisados hemicelulósicos com maiores teores de açúcares através da otimização desta etapa.



*Figura 3.14: Hidrolisado hemicelulósico proveniente da hidrólise da hemicelulose contida na galhada residual (GR01). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*





*Figura 3.15: Hidrolisado hemicelulósico proveniente da hidrólise da hemicelulose contida nos cavacos residuais (C<sub>R</sub>01). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*



*Figura 3.16: Hidrolisado hemicelulósico proveniente da hidrólise da hemicelulose contida nos cavacos depurados (C<sub>D</sub>01). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*

O hidrolisado hemicelulósico de C<sub>R</sub>01, G<sub>R</sub>01 e C<sub>D</sub>01 foi posteriormente submetido à fermentação alcoólica.

As respectivas tortas residuais (Figura 3.17, 3.18 e 3.19), ricas em celulose e lignina foram lavadas até seu pH ser ajustado para o valor de 6,0 e, depois, foram secas em estufa à 70 °C para posteriormente serem submetidas à hidrólise alcalina.



*Figura 3.17: Torta residual proveniente da hidrólise da hemicelulose contida na galhada residual (G<sub>R</sub>01). Laboratório GreenTec (2016).*



*Figura 3.18: Torta residual proveniente da hidrólise da hemicelulose contida nos cavacos residual (C<sub>R</sub>01). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*



*Figura 3.19: Torta residual proveniente da hidrólise da hemicelulose contida nos cavacos depurados (CD01). Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*

### **3.2.2 Hidrólise alcalina da torta residual proveniente da hidrólise ácida da hemicelulose**

Esta etapa foi então realizada no intuito de remover a fração de lignina presente na torta residual da hidrólise da hemicelulose, para permitir uma maior acessibilidade às fibras de celulose, aumentando a conversão deste polissacarídeo em glicose.

Com isso, as tortas residuais foram submetidas a um tratamento térmico embebidas em uma solução diluída de hidróxido de sódio, preparada com 1,0% m/m de NaOH, em relação à massa seca da torta residual. A relação sólido:líquido usada foi de 1:20. As tortas com álcalis foram depositadas em frascos tipo Erlenmeyers e submetidos ao tratamento térmico em autoclave à temperatura de 60°C durante 30 minutos (Figura 3.20).



*Figura 3.20: Torta residual submetida ao tratamento térmico embebido em uma solução básica. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*

Após o processo de deslignificação, foi feita a separação da fase líquida (Figura 3.21), denominada de licor negro, e da fase sólida.



*Figura 3.21: Licor negro resultante da deslignificação com solução básica. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*

A fase sólida, rica em celulose, ainda contém lignina e, por isso, foi lavada até seu pH ser ajustado a um valor de 5,0 e, posteriormente, seca em estufa à 70 °C. A celulose resultante deste procedimento (Figura 3.22) foi levada à etapa de hidrólise ácida da celulose.



*Figura 3.22: Celulose resultante da hidrólise alcalina realizada na torta residual proveniente da hidrólise ácida da hemicelulose originária das amostras GR01, CD01 e CR01, respectivamente. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*

### **3.2.3 Hidrólise ácida da celulose**

Considerando que grande parte da hemicelulose e da lignina foi removida das biomassas residuais (CR01, GR01 e CD01) após os dois tratamentos (ácido e alcalino), pressupõe-se que a celulose esteja acessível ao ataque do agente químico, o qual disponibilizaria a glicose (fermentável) em solução. Comumente, utiliza-se enzima, denominada de celulasas, para catalisar esta reação. Entretanto, a presente tecnologia inova o conceito da produção de etanol de segunda geração empregando somente tratamentos químicos.

Dessa forma, a celulose resultante da hidrólise alcalina foi submetida a uma segunda hidrólise ácida. Para a hidrólise ácida deste polissacarídeo, as fases sólidas, ricas em celulose, foram misturadas com uma solução de ácido sulfúrico, preparada com 2% m/m de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em relação à massa seca de biomassa. A relação sólido:líquido usada foi de 1:4 e o sólido umedecido foi depositado em frascos tipo Erlenmeyers e submetido ao tratamento térmico em autoclave à temperatura de 120 °C durante 30 minutos.

Após esse tratamento, separou-se, por prensagem em prensa hidráulica, a fase líquida, (hidrolisado celulósico) da fase sólida, que é o resíduo do processo. O hidrolisado celulósico teve seu pH ajustado até o valor de 6,0, pela adição de hidróxido de cálcio. Posteriormente, determinou-se a concentração de glicose solubilizada no hidrolisado celulósico de CR01,

Gr01 e Cd01, usando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em cromatógrafo “Waters” (Sistema de bombeamento modelo 510, injetor Rheodyne, detector de índice de refração modelo 410), acoplado a uma coluna de troca catiônica Aminex HPX-87P, fabricada pelo Bio-Rad.

O hidrolisado celulósico, contendo glicose, foi direcionado à etapa de fermentação.

### **3.2.4 Fermentação dos hidrolisados hemicelulósico e celulósico**

Para avaliar o potencial da produção de etanol, a partir do hidrolisado hemicelulósico extraído de cada biomassa (Cr01, Gr01 e Cd01) através de um tratamento ácido, foram realizadas três fermentações utilizando a levedura flocculante *Pichiastipitis*, fermentadora de pentoses e hexoses.

O uso da levedura citada leva a resultados bem significativos em termos de conversão de xilose e glicose em etanol (NIGAM, 2001 *apud* CARVALHO, 2009, p. 44).

As fermentações foram conduzidas em um biorreator instrumentado (New BrunswickBioFlo 310 ®) (Figura 3.23), localizado no LADEBIO. Os processos foram controlados automaticamente a uma temperatura em 30 °C, agitação de 300 rpm, uma relação de aeração de 0,03vvm e pH = 6,0 mediante a adição de NaOH (2M) ou de HCl (2M), utilizando em todos os casos uma concentração celular inicial próxima aos 10 g.L<sup>-1</sup>. As concentrações de açúcares e etanol das amostras, coletadas em intervalos regulares, foram determinadas por HPLC, enquanto a concentração celular foi obtida por espectrofotometria. O monitoramento dos parâmetros antes mencionados, durante a fermentação dos hidrolisados hemicelulósicos, permitiu identificar o perfil cinético de cada fermentação, apresentados no capítulo de resultados.



Figura 3.23: Biorreator New Brunswick BioFlo 310<sup>®</sup> utilizado para a fermentação dos hidrolisados. Fonte: LADEBIO (2017).

O potencial da produção de etanol utilizando o hidrolisado celulósico, ou seja, o hidrolisado obtido a partir da despolimerização da celulose obtida de cada biomassa (CR01, GR01 e CD01), também foi avaliado.

As fermentações do hidrolisado foram realizadas em biorreator instrumentado (Figura 3.24) nas mesmas condições empregadas nas fermentações dos hidrolisados hemicelulósicos, diferenciando-se apenas na levedura utilizada que, neste caso, foi a *Saccharomyces cerevisiae*, fermentadora de glicose apenas. As amostras coletadas em intervalos de tempo apropriados foram analisadas em HPLC para determinar a concentração de açúcares e etanol e em espectrofotômetros para a quantificação das células. O monitoramento dos parâmetros antes mencionados durante a fermentação dos hidrolisados celulósicos, permitiu identificar o perfil cinético de cada fermentação, apresentados no capítulo de resultados.

### 3.2.5 Purificação do etanol

Após as fermentações, os caldos fermentados foram misturados e submetidos à destilação visando à obtenção do etanol purificado, como pode ser visualizado na Figura 3.24.



*Figura 3.24: Etanol gerado por destilação a partir do caldo fermentado proveniente da fermentação dos hidrolisados. Fonte: Laboratório GreenTec (2016).*

## **4. Resultados e Discussão**

### **4.1 Caracterização da matéria-prima**

Conforme mencionado no capítulo anterior, foram cedidas pela empresa Fibria duas biomassas: uma formada por cavacos residuais e outra pela galhada residual, codificadas como CR01 e GR01. As amostras apresentaram teor de umidade inicial de 24,8% e 32,1%, respectivamente.

Devido aos diferentes componentes presentes na galhada residual (GR01), esta amostra passou por uma etapa de depuração, a fim de separar as cascas (Figura 3.3) e as folhas (Figura 3.4) dos cavacos, denominados (CD01) com o da galhada (GR01), esta última formada pela mistura de cascas, folhas e cavacos residuais.

Após depuração e adequação dos resíduos lignocelulósicos determinou-se o poder calorífico dos mesmos. Os resultados são apresentados na Tabela 4.1



Tabela 4.1: Poder calorífico das amostras C<sub>R</sub>01, G<sub>R</sub>01 e C<sub>D</sub>01.

Amostra	Poder Calorífico (kJ.kg <sup>-1</sup> )
C <sub>R</sub> 01	17.192
G <sub>R</sub> 01	17.220
C <sub>D</sub> 01	17.317

Estes valores encontrados foram superiores ao poder calorífico de outros resíduos lignocelulósicos, como a palha de milho (14.923 kJ.kg<sup>-1</sup>), a casca de arroz (16.140 kJ.kg<sup>-1</sup>) (SANTOS, 2014) e bem próximo ao do bagaço de cana (17.330 kJ.kg<sup>-1</sup>) (SANTOS, 2014). Destaca-se o potencial destes resíduos como combustível para uso em caldeiras.

## 4.2 Produção de etanol de segunda geração

Neste estudo avaliou-se o potencial dos resíduos lignocelulósicos, anteriormente descritos para produzir etanol de segunda geração. Para isso, seguiu-se a estratégia SHF (Hidrólise e Fermentação Separadas), utilizando processos químicos tanto nas etapas de pré-tratamento, quanto na etapa de despolimerização da celulose.

A conversão dos resíduos dividiu-se em quatro etapas:

- Hidrólise ácida dos resíduos lignocelulósicos;
- Deslignificação ou hidrólise alcalina da celullignina;
- Hidrólise ácida da celulose;
- Fermentação dos hidrolisados hemicelulósico e celulósico.

A seguir serão descritos os principais resultados obtidos em cada etapa.

### **4.2.1 Hidrólise ácida dos resíduos lignocelulósicos**

Nesta etapa, separou-se o hidrolisado hemicelulósico, rico em açúcares fermentáveis (xilose e glicose) da fração de celulignina.

A concentração de açúcares fermentáveis (xilose e glicose), solubilizados no hidrolisado hemicelulósico, determinada por (HPLC), foi de aproximadamente 32 g.L<sup>-1</sup>, 25 g.L<sup>-1</sup> e 33 g.L<sup>-1</sup> para C<sub>R</sub>01, G<sub>R</sub>01 e C<sub>D</sub>01, respectivamente.

### **4.2.2 Hidrólise alcalina da celulignina**

O objetivo fundamental deste processo é a deslignificação da fração de celulignina, deixando a celulose vulnerável para a despolimerização, através de hidrólise ácida, sendo liberados os monômeros de glicose.

Este experimento permitiu a seguinte quantificação: para cada quilo de resíduo lignocelulósico submetido à hidrólise ácida da hemicelulose e, em seguida, à hidrólise alcalina da lignina são produzidos  $98 \pm 8,3$  mL de licor negro com poder calorífico igual a  $4.340 \pm 65,2$  kJ.kg<sup>-1</sup>, com densidade igual à 0,843 g.mL<sup>-1</sup>. Acredita-se que o poder calorífico do licor negro pode ser aumentado consideravelmente através da otimização da hidrólise alcalina, visando a máxima remoção da lignina e, conseqüentemente, a obtenção de um licor negro com maior valor agregado.

### **4.2.3 Hidrólise ácida de celulose**

Através da despolimerização da celulose, usando hidrólise ácida, é produzido o hidrolisado celulósico, rico em glicose.

A concentração de glicose solubilizada no hidrolisado celulósico de C<sub>R</sub>01, G<sub>R</sub>01 e C<sub>D</sub>01, determinada por HPLC, foi de aproximadamente 36 g.L<sup>-1</sup>, 22 g.L<sup>-1</sup> e 39 g.L<sup>-1</sup>, respectivamente.

## 4.2.4 Fermentação dos hidrolisados hemicelulósico e celulósico

### Hidrolisado hemicelulósico

O perfil cinético das três fermentações, conduzidas a partir do hidrolisado hemicelulósico é apresentado nas Figuras 4.1, 4.2 e 4.3. Devido às condições utilizadas, foi observada pouca variação na concentração das células, indicando como o metabolismo da levedura foi direcionado para a produção de etanol, sem perda da viabilidade das células.

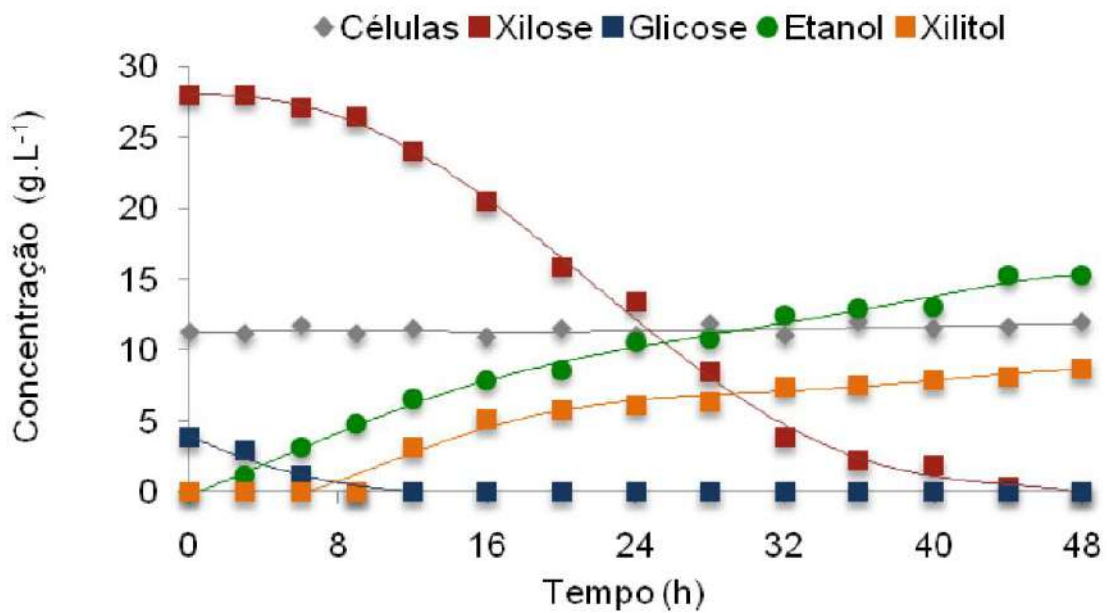


Figura 4.1: Perfil cinético da fermentação do hidrolisado hemicelulósico: concentração de açúcares contida nos cavacos residuais (C<sub>R01</sub>). Fonte: LADEBIO (2017).

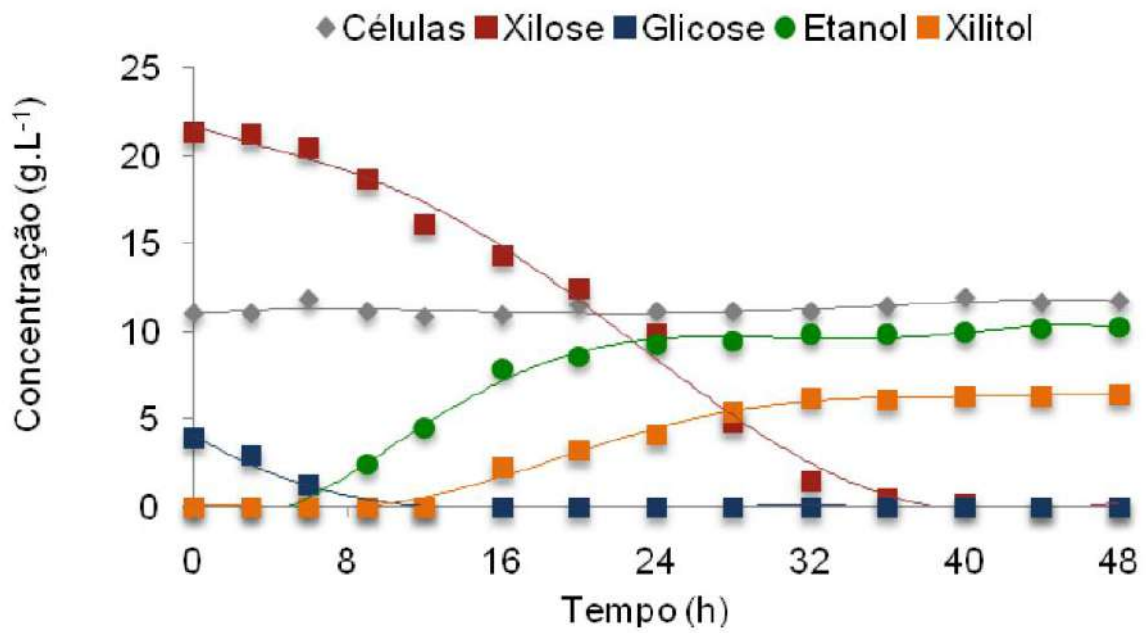


Figura 4.2: Perfil cinético da fermentação do hidrolisado hemicelulósico: concentração de açúcares contida na galhada residual ( $G_{R01}$ ). Fonte: LADEBIO (2017).

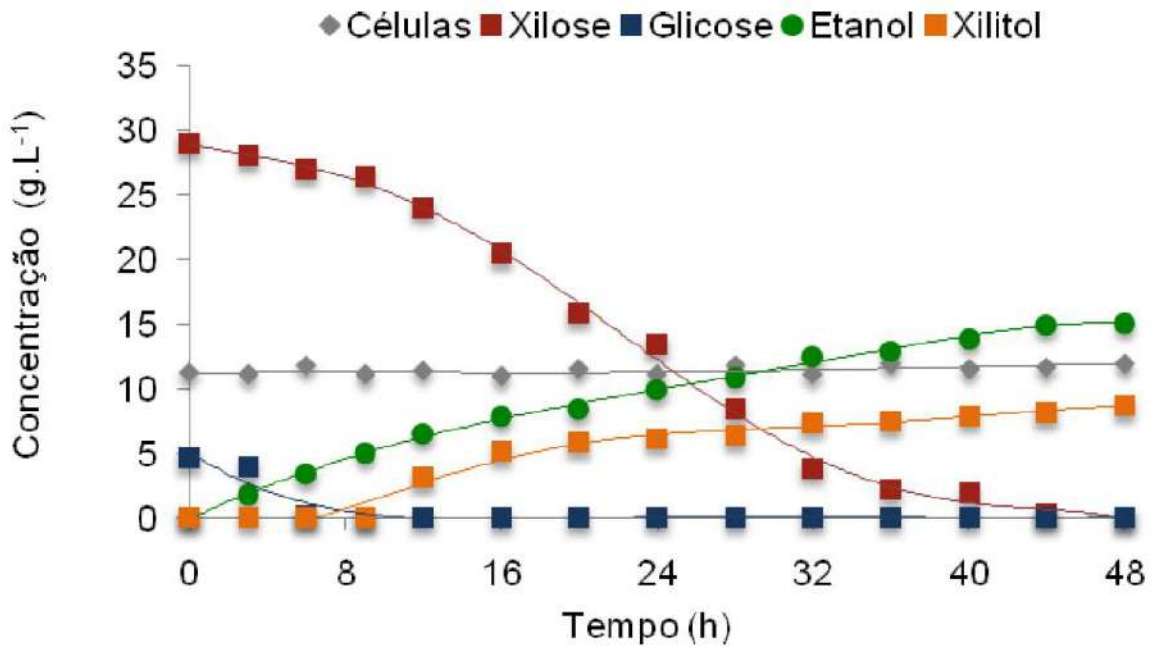


Figura 4.3: Perfil cinético da fermentação do hidrolisado hemicelulósico: concentração de açúcares contida nos cavacos depurados ( $C_{b01}$ ). Fonte: LADEBIO (2017).

No que diz respeito à concentração de açúcares fermentáveis, pode se observar um consumo total da glicose nas primeiras horas de fermentação, de forma simultânea ao consumo de xilose, esgotada em até 48 horas.

Devido às condições utilizadas e considerando os gráficos ilustrados acima, foi observada pouca variação na concentração das células, indicando que o metabolismo da levedura foi bem direcionado para a produção de etanol, sem perda da viabilidade das células.

A produção de etanol atingiu  $15,3 \text{ g.L}^{-1}$ ,  $10,2 \text{ g.L}^{-1}$  e  $15,1 \text{ g.L}^{-1}$ , com a fermentação dos hidrolisados hemicelulósicos de C<sub>R</sub>01, G<sub>R</sub>01 e C<sub>D</sub>01, respectivamente. Como pode ser observado, a galhada residual conferiu uma concentração de etanol inferior àquela obtida com os cavacos residuais e depurados, sendo que estes apresentaram resultados bastante similares. Tais resultados são facilmente compreendidos, uma vez que a galhada é composta por diferentes frações (cascas, folhas e cavacos) que proporcionam um teor de hemicelulose total menor e, conseqüentemente, também confere uma concentração de etanol, mas, não proporcional.

Todavia, vale ressaltar que as condições empregadas não estão otimizadas para nenhuma das três biomassas avaliadas, podendo-se ainda melhorar os resultados e realizar uma comparação com maior repetitividade.

### **Hidrolisado celulósico**

O perfil cinético das três fermentações, conduzidas a partir do hidrolisado celulósico, também é apresentado nas Figuras 4.4, 4.5 e 4.6.

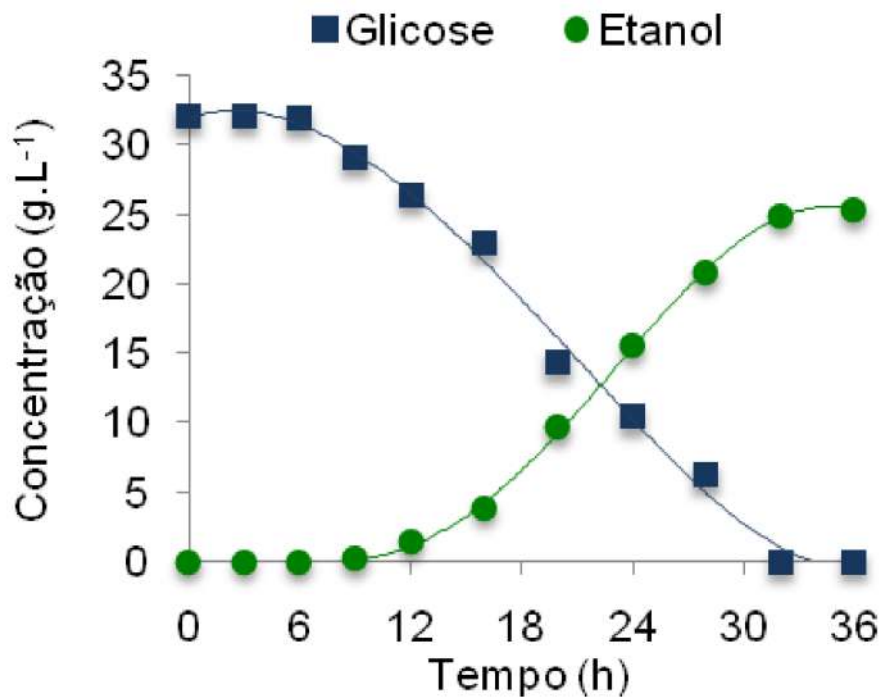


Figura 4.4: Perfil cinético da fermentação do hidrolisado celulósico: concentração de glicose contida nos cavacos residuais (C<sub>R</sub>01). Fonte: LADEBIO (2017).

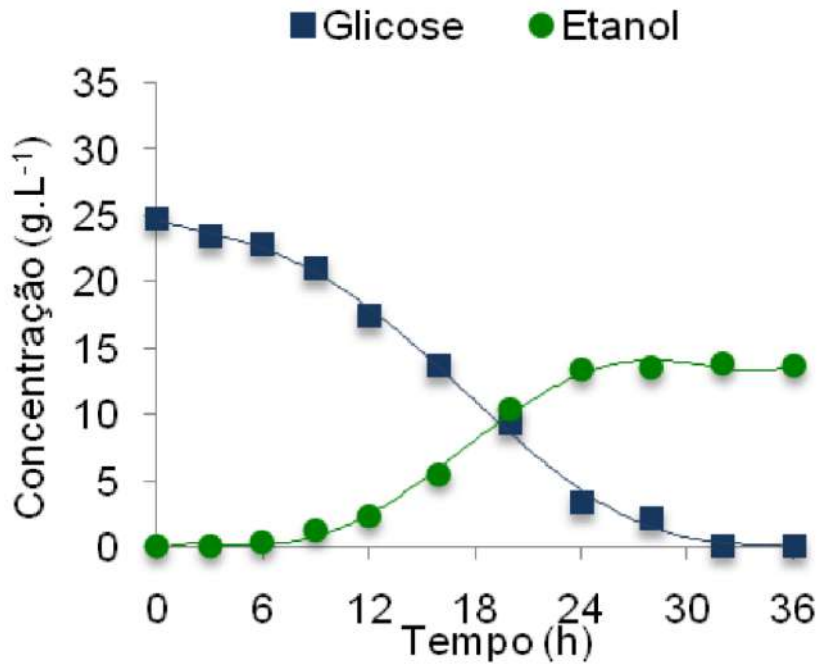


Figura 4.5: Perfil cinético da fermentação do hidrolisado celulósico: concentração de glicose contida na galhada residual (G<sub>R</sub>01). Fonte: LADEBIO (2017).

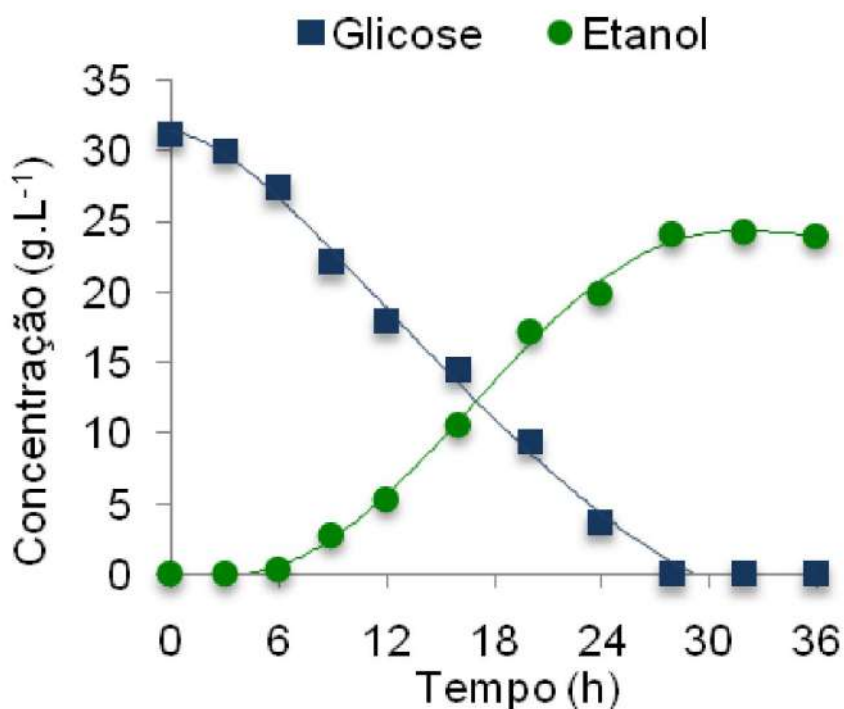


Figura 4.6: Perfil cinético da fermentação do hidrolisado celulósico: concentração de glicose contida nos cavacos depurados (C<sub>D01</sub>). Fonte: LADEBIO (2017).

A produção de etanol atingiu 25,3 g.L<sup>-1</sup>, 13,7 g.L<sup>-1</sup>, 24,0 g.L<sup>-1</sup>, com a fermentação do hidrolisado celulósico C<sub>R01</sub>, G<sub>R01</sub> e C<sub>D01</sub>, respectivamente. Neste caso, a galhada residual também conferiu uma concentração de etanol reduzida em relação àquela obtida com os cavacos residuais e depurados, por razões anteriormente discutidas.

Assim como para as outras etapas, foi realizado apenas um teste de fermentação do hidrolisado celulósico, não tendo como determinar se o máximo foi obtido, uma vez que as condições empregadas foram aquelas reportadas para outras biomassas residuais, como o bagaço de cana.

A Tabela 4.2 resume os resultados da produção de etanol, a partir da fermentação dos hidrolisados hemicelulósicos e celulósicos, provenientes dos resíduos lignocelulósicos avaliados:

Tabela 4.2: Produção de etanol, em termos de concentração, a partir dos hidrolisados hemicelulósicos e celulósicos provenientes das amostras C<sub>R01</sub>, G<sub>R01</sub> e C<sub>D01</sub>.

<b>Amostra</b>	<b>Etanol (Hemicelulósico) em g.L<sup>-1</sup></b>	<b>Etanol (Celulósico) em g.L<sup>-1</sup></b>
<b>CR01</b>	15,3	25,3
<b>GR01</b>	10,2	13,7
<b>CD01</b>	15,1	24,0

Nota-se, então, que o maior teor de etanol produzido foi de 25,3 g.L<sup>-1</sup>, considerando o hidrolisado celulósico e 15,3 g.L<sup>-1</sup>, a partir do hidrolisado hemicelulósico.

Vazques *et al.* (2007) realizaram um estudo em que foi alcançado 30 g.L<sup>-1</sup> de etanol a partir do bagaço de cana após 10h de fermentação. De acordo com os estudos de Santos (2014), foi revelado o valor de 9,3 g.L<sup>-1</sup> de etanol, sob condições de pré-tratamento ácido utilizando a palha de milho. Nos estudos de Ferro (2014) foi reportada a produção de etanol a partir do fruto da *Terminalia catappa Linn* com teor de 14,27 g.L<sup>-1</sup>, também ao ser realizado um pré-tratamento ácido. Já Carvalho (2016) encontrou concentração de etanol de 22,4 g.L<sup>-1</sup> ao utilizar o bagaço de dendê (*Elaeis guinaeensis*) utilizando o pré-tratamento ácido.

Portanto, mesmo em condições não otimizadas, a produção de etanol revelada neste trabalho teve resultados compatíveis com a literatura e a biomassa lignocelulósica proveniente da indústria de celulose porta-se como um promissor produtor de etanol de segunda geração.

### **4.3 Dados para balanço de massa**

Para finalizar, na Tabela 4.3 são apresentados alguns dados que foram levantados com o objetivo de facilitar a realização, em trabalhos futuros, de um balanço de massa e energia do processo, necessário para avaliar a viabilidade econômica da rota tecnológica utilizada para produzir etanol de segunda geração a partir dos cavacos residuais. Ainda que, conforme foi mencionado na discussão deste trabalho, as condições experimentais utilizadas não foram otimizadas.



Tabela 4.3: Dados relevantes para a possível realização de um balanço de massa e energia do processo.

<b>Consumo Específico de Reagentes e Insumos</b>	
<b>Ácido Sulfúrico</b>	0,25 m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> de etanol
<b>Hidróxido de Sódio</b>	120 kg/m <sup>3</sup> de etanol
<b>Levedura</b>	150 kg/m <sup>3</sup> de etanol
<b>Biomassa Seca*</b>	1 tonelada/100 L de etanol
<b>Custo dos Insumos</b>	
<b>Ácido Sulfúrico</b>	R\$ 800/m <sup>3</sup>
<b>Hidróxido de Sódio</b>	R\$ 1000/kg
<b>Levedura</b>	R\$ 1,50/kg
<b>Processo de Conversão</b>	
<b>Considerando a produção de 1 litro de etanol</b>	
<b>Resíduo Sólido</b>	2 kg
<b>Resíduo Líquido (Licor Negro)</b>	1 L
<b>Dados dos Insumos e Produtos</b>	
<b>Umidade da Biomassa (entrada)</b>	25 %
<b>Umidade da Biomassa (após a secagem)</b>	4,8 %
<b>Poder calorífico Inferior da Biomassa</b>	17.192 kJ/kg
<b>Poder calorífico do Licor Negro</b>	4.340 kJ/kg
<b>Densidade do Licor Negro</b>	843 kg/m <sup>3</sup>
<b>Poder Calorífico do Resíduo Sólido</b>	3.400 kJ/kg
<b>Umidade do Resíduo Sólido</b>	35 %
<b>Poder Calorífico do Etanol</b>	36.800 kJ/kg
<b>Densidade do Etanol</b>	789 kg/m <sup>3</sup>

## 5. Conclusões

- ✓ Definiu-se uma metodologia para o preparo da matéria-prima em duas etapas: depuração e moagem, visando o melhor aproveitamento dos resíduos lignocelulósicos;
- ✓ Foi possível extrair a fração hemicelulósica a partir da hidrólise ácida dos resíduos hemicelulósicos avaliados;
- ✓ A concentração de açúcares fermentáveis, xilose e glicose, solubilizados no hidrolisado hemicelulósico foi de, aproximadamente, 32 g.L<sup>-1</sup>, 25 g.L<sup>-1</sup> e 33 g.L<sup>-1</sup> para C<sub>R</sub>01, G<sub>R</sub>01 e C<sub>D</sub>01, respectivamente;
- ✓ A produção de etanol atingiu 15,3 g.L<sup>-1</sup>, 10,2 g.L<sup>-1</sup> e 15,1 g.L<sup>-1</sup> com a fermentação do hidrolisado hemicelulósico de C<sub>R</sub>01, G<sub>R</sub>01 e C<sub>D</sub>01, respectivamente;
- ✓ Para cada quilo de resíduo submetido à hidrólise ácida da hemicelulose e, em seguida, à hidrólise alcalina da lignina, são produzidos 98 ± 8,3 mL de licor negro;
- ✓ A hidrólise ácida mostrou-se eficiente na despolimerização da celulose, produzindo-se um hidrolisado rico em glicose;
- ✓ A concentração de glicose solubilizada no hidrolisado celulósico de C<sub>R</sub>01, G<sub>R</sub>01 e C<sub>D</sub>01 foi de, aproximadamente 36 g.L<sup>-1</sup>, 22 g.L<sup>-1</sup> e 39 g.L<sup>-1</sup>, respectivamente;
- ✓ A produção de etanol atingiu 25,3 g.L<sup>-1</sup>, 13,7 g.L<sup>-1</sup> e 24,0 g.L<sup>-1</sup> com a fermentação do hidrolisado celulósico de C<sub>R</sub>01, G<sub>R</sub>01 e C<sub>D</sub>01, respectivamente;
- ✓ Considerando os resultados obtidos e contabilizando o etanol produzido a partir dos hidrolisados hemicelulósicos e celulósicos, pode-se concluir que os cavacos residuais, a galhada residual e os cavacos depurados apresentaram grande potencial para a produção de etanol por via química;
- ✓ Uma vez que somente os cavacos residuais e a galhada residual são, de fato, as biomassas disponíveis para aproveitamento, desconsidera-se o uso dos cavacos depurados, com os quais foi possível concluir que os mesmos constituem a fração mais valiosa da galhada, com tanto potencial quanto os cavacos residuais;

✓ Contudo, é possível obter, em condições não otimizadas e em escala de laboratório, um total de **100L de etanol por cada tonelada de cavacos residuais e 68L por cada tonelada de gálhada processados**, tudo isso sob as condições avaliadas neste trabalho.

## 6. Sugestões

✓ Realizar planejamentos sequenciais a fim de otimizar o processo e determinar as melhores condições operacionais.

## 7. Referências Bibliográficas

ADSUL, M.G.; GHULE, J.E.; SHAIKH, H.; SINGH, R.; BASTAWDE, K.B.; GOKHALE, D.V & VARMA, A.J. (2005) Enzymatic hydrolysis of delignified bagasse polysaccharides. Carbohydrate Polymers, v. 62, p. 6-10.

AGÊNCIA EMBRAPA DE INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA – AGEITEC. Árvore do Conhecimento: Agroenergia. Disponível em: <[www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fbl123vn102wx5eo0sa wqe3djg2152.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fbl123vn102wx5eo0sa wqe3djg2152.html)>. Acesso em: 21 de jun. 2017 às 15:54h.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS – ANP. Produção e fornecimento de biocombustíveis. Disponível em: <[www.anp.gov.br/wwwanp/producao-de-biocombustiveis](http://www.anp.gov.br/wwwanp/producao-de-biocombustiveis)>. Acesso em: 25 mar. 2017 às 13:32h.

ARACRUZ. (2009). Produção de celulose. Disponível em: [www.aracruz.com.br](http://www.aracruz.com.br). Acesso em 06 de jul. 2017 às 23:11h.

ARAUJO, G.J.F., et al. O etanol de segunda geração e sua importância estratégica ante o cenário energético internacional contemporâneo. Periódico eletrônico. IX Fórum Ambiental da Alta Paulista, v. 9, Nº 5, 2013.

AWAFO, V.A.; CHAHAL, D.S.; SIMPSON, B. K. Optimization of ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 60868) and *Pichia stipitis* Y-7124: A response surface model for simultaneous hydrolysis and fermentation of wheat straw. Journal of Food Biotechnology, v. 22, p. 49-97, 1998.

BARRE, P.; BLONDIN, B.; DEQUIN, S.; FEUILLAT, M.; SABLAYROLLES, J.M.; SALMON, J.M. La levadura de fermentación alcohólica. In: FLANZY, C. Enología: fundamentos científicos e tecnológicos. Madrid: Mundi-Prensa e AMV, p. 274-315, 2000.

BNDES – Banco Nacional do Desenvolvimento Econômico e Social (2008). Bioetanol de cana-de-açúcar. Energia para o desenvolvimento sustentável. Rio de Janeiro, 316p.

BRITO, F. (2000). Bioprodução de etanol de hidrolisado de bagaço de cana utilizando diferentes formas de operação do bioprocessamento. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Brasil.

BRUINENBERG, P.M.; DE BOT, P.H.M.; VAN DIJKEN, P.; SHEFFERS W.A. (1984). NADH Linked Aldose Reductase: the key to anaerobic Alcoholic Fermentation of Xylose by Yeast. Applied Microbiology and Biotechnology, v.19, p. 256-260.

CANETTIERI, E.V.; SILVA, J.B.A.E.; FELIPE, M.G.A. (2001). Application of factorial design to the study of xylitol production from eucalyptus hemicellulosic hydrolysate. Applied Biochemistry and Biotechnology, v.90, p.159-168.

CANTIZANI, PATRÍCIA APARECIDA PEREIRA<sup>1</sup> ; MORELLI, ANDRÉ LUIZ; RIZZATTO, RAFAEL LEDA; SANTIAGO, FRANCISCO LUIZ SANCHEZ. Estudo Comparativo do Poder Calorífico da Biomassa Adquirida de Terceiros com a Casca de Eucalyptus Descartada nas Florestas Para Geração de Energia Térmica e Elétrica. Revista Científica FACOL/ISEOL, P. 240-251, 2013.

CARAMEZ, M. (1999) Produção de Endoxilanasas Termoestáveis por *Termomyces lanuginosus* IOC-4145 em Meio Semi-Sólido. Dissertação de Tese de Mestrado. Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

CARVALHO, L. G. *Produção de Biocombustíveis a partir da biomassa de dendê (Elaeis guinaeensis)*. 2009. 83 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2009.

CARVALHO, L. G. *Produção de Biocombustíveis a partir do resíduo da indústria de dendê (Elaeis guinaeensis)*. 2016. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2016.

CASTRO, A. M.; PEREIRA, N. J. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. Química Nova, v.33, p. 181-188, 2010.

CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS - CGEE. Química verde no Brasil 2010-2030. Brasília, 2010. 434 p.

CHAGAS Jr., C.A. Notas de Aula: Mineralogia Industrial, Energética e Ambiental (EQI071). Escola de Química/UFRJ. Rio de Janeiro. 2016.

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Levantamentos de Safra. Acompanhamento da safra brasileira 2015/2016. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_04\\_14\\_09\\_06\\_31\\_boletim\\_cana\\_portugues\\_-\\_4o\\_lev\\_-\\_15-16.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_04_14_09_06_31_boletim_cana_portugues_-_4o_lev_-_15-16.pdf)>. Acesso em 02 jul. 2017 às 22:41h.

DELGENES, J.P.; MOLETTA, R. & NAVARRO, J.M. (1988) Continuous production of ethanol from a glucose, xylose and arabinose mixture by a flocculant strain of *Pichia stipitis*. *Biotechnology Letter*, v. 10, n. 10, p.752-730.

D'ALMEIDA, M. L. O. (1988) Composição Química dos Materiais Lignocelulósicos. In: *Celulose e Papel, Tecnologia de Fabricação da Pasta Celulósica*. Brasil, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S. A. (IPT). 2ª Edição, v. 1, Capítulo III, p. 45-106.

ECONOMIA EM DIA. Bradesco | Economia em dia. Destaques Setoriais. Disponível em: <<https://www.economiaemdia.com.br/vgn-ext-templating/v/index.js?vgnextoid=7ad77c4d987e4310VgnVCM100000882810acRCRD&vgnextfmt=default>>. Acesso em 27 jun. 2017 às 17:33h.

ECONOMIA EM DIA. Bradesco | Economia em dia. Informações Setoriais: Papel e Celulose. Disponível em: <[https://www.economiaemdia.com.br/EconomiaEmDia/pdf/infset\\_papel\\_e\\_celulose.pdf](https://www.economiaemdia.com.br/EconomiaEmDia/pdf/infset_papel_e_celulose.pdf)>. Acesso em 23 jun. 2017 às 06:32h.

ESPAENET. PatentSearch: ResultList. Disponível em: <[https://worldwide.espacenet.com/searchResults?submitted=true&locale=en\\_EP&DB=EPOD OC&ST=advanced&TI=acid+hydrolysis+and+ethanol&AB=acid+hydrolysis+and+ethanol&PN=&AP=&PR=&PD=&PA=&IN=&CPC=&IC=&Submit=Search](https://worldwide.espacenet.com/searchResults?submitted=true&locale=en_EP&DB=EPOD OC&ST=advanced&TI=acid+hydrolysis+and+ethanol&AB=acid+hydrolysis+and+ethanol&PN=&AP=&PR=&PD=&PA=&IN=&CPC=&IC=&Submit=Search)>. Acesso em 28 jun. 2017 às 14:12h.

FERRO, A.M.S. dos S. P. *Estudo de pré-tratamento ácido do fruto da Terminalia catappa Linn para produção de etanol de segunda geração*. 2016. 49 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Energia da Biomassa) – Universidade Federal de Alagoas. Programa de Pós Graduação em Energia da Biomassa. Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2016.

FIBRIA. Cadeia de Valor. Processo de Produção. Disponível em: <<http://www.fibria.com.br/r2016/pt/processo-de-producao.html>>. Acesso em 06 jun. 2017 às 07:45h.

FIBRIA. Cadeia de Valor. Organismos Geneticamente Modificados. Disponível em: <<http://www.fibria.com.br/r2016/pt/organismos-geneticamente-modificados-ogm.html>>. Acesso em 29 jun. 2017 às 01:50h.

FONSECA, E.F. (2003) Estudos para a otimização da produção enzimática de sorbitol e ácido glicônico. Tese de Doutorado. PEQ/COPPE. Universidade Federal de Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. Brasil.

HAHN-HAGERDAL, B.; NILVEBRANT, N.O.; PALMQVIST, E.; JONSSON, L.J.(1998). Detoxification of wood hydrolysates with lacasse and peroxidase from white-rot fungus *Trametes vesrocolor*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.49, p. 691-697.

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

JARDINE, J. G. Indicações de aspecto tecnológico sobre o bioetanol de matéria-prima amilácea. Campinas, SP: Embrapa Informática Agropecuária, 2009. 23 p. (Documentos/Embrapa Informática Agropecuária; 94).

LEE, J. (1997). Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *Journal of Biotechnology*, v. 56, p. 1-24.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de Bioquímica*. 3ª. ed. São Paulo: Sarvier, 839 p. 2000.

LEMOES, J.L.S. (2001). Estudo da produção de xilanases por *Aspergillus awamori* em bagaço de cana. Tese de Doutorado. Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

LYND, L.R.; ZYL, W.H.V.; McBRIDE, J.E.; LASER, M. Consolidated bioprocessing of cellulosic biomass: na update. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 16, n. 5, p. 506-577. 2005.

LYND, L. R. *et al.* Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology. *Microbiology and molecular biology reviews*, New York, v. 66, n. 3, p. 506-577, 2002.

MALBURG, JR., L. M.; LEE, J. M. T.; FORSBERG, C.W. Degradation of cellulose and hemicelluloses by rumen microorganisms. In: *Microbial degradation of natural products*, 1992.

MAPA – Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2010). Secretaria de Produção e Agroenergia. Departamento da cana-de-açúcar e Agroenergia. Produção brasileira de etanol. Disponível em [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). Acesso em 23 jun. 2017 às 20:02h.

MOOD, S. H.; GOLFESHAN, A. H.; TABATABAEI M.; JOUZANI, G. S.; NAJAFI, G.H; GHOLAMI, M.; ARDJMAND, M. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. V. 27, p.77-93, 2013.

MOORE, R.; CLARK, D.; VODOPICH, D. (1998) *Botany Visual Resource Library*. The McGraw-Hill Companies, Inc. United States of America.

MUSSATO, S.I. & ROBERTO, C.I. (2002) Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolyzates for use in fermentative processes: a review. *Bioresource Technology*, v. 98, p. 49-58.

NETO, J.M.S.; JÚNIOR, A.U.A.; LIMA, F.S.; ANJOS, D.A.; “Potencial de Fibra Lignocelulósicas para a Produção de Etanol de Segunda Geração”, p. 1038-1047. In: *Anais do V Encontro Regional de Química & IV Encontro Nacional de Química [BlucherChemistryProceedings]*. São Paulo: Blucher, 2015.

NEUREITER, M.; DANNER, H.; THOMASSER, C.; SAIDI, B.; BRAUN, R. (2002). Dilute-acid hydrolysis of sugarcane bagasse at varying conditions. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 98, p. 49-58.

NIGAM, J.N. (2001). Ethanol production from hardwood spent sulfite liquor using an adapted strain of *Pichia stipitis*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, v. 26, p. 145-150.

OGATA, B. H. *Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial de uso em biorrefinarias*. 2013. 108 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba. 2013.

OLSSON, L.; SOERENDEN, H.R.; DAM, B.P.; CHRISTENSEN, H.; KROGH, K.M.; MEYER, A.S. Separate and simultaneous enzymatic hydrolysis and fermentation of wheat hemicellulose with recombinant xylose utilizing *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 129-132, p. 117-129, 2006.

PALMQVIST, E. & HAHN-HÄGERDAL, B. (2000a) Fermentation of Lignocellulosic Hydrolysates. I: Inhibition and Detoxification. *Bioresource Technology*, v. 74, p. 17-24.

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; NIGAM, P.E. & SOCCOL, V.T. (2000) Biotechnological Potential of Agro-industrial Residues I: Sugarcane Bagasse. *Bioresource Technology*, vol. 74, n. 1, p. 69-80.

PARAJÓ, J.C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J.M. (1998A). Biotechnological Production of xilitol. Part 1: interest of xilitol and fundamentals of its biosynthesis. *Bioresource Technology*, v. 65, n. 3, p. 191-201.

PARAJÓ, J.C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J.M. Biotechnological production of xylitol. Part 2: operation in culture media madewith comercial sugars. *Bioresource Technology*, Essex, v. 65, p. 203-212, 1998.

PEDRAZZI, C. (2005). Qualidade de chapas de partículas de madeira aglomerada fabricadas com resíduos de uma indústria de celulose. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria, UFSM.

PEREIRA Jr., N.; COUTO, M.A.P.G.; SANTA ANNA, L.M.M. (2008). Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and the context of biorefinery. In *Series on Biotechnology*, Ed. Amiga Digital UFRJ, Rio de Janeiro, v.2, 45 p.

PEREIRA, Jr., N. *et al.* A indústria brasileira do etanol: origem e perspectivas. *Diálogos e Ciência*, v. 6, p. 91-104, 2008.

PORTAL BRASIL. Infraestrutura: País revoluciona o uso e a produção de biocombustível. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/infraestrutura/2011/12/pais-revoluciona-o-uso-e-a-producao-de-biocombustivel>>. Acesso em 12 jun. 2017 às 19:05h.

SANTOS, M. S. R. 2014. Estudo de pré - tratamentos de palha e sabugo de milho visando a produção de etanol 2G. 75p. Dissertação de mestrado – UFAL, Maceió - AL.

SCHUCHARDT, U. & RIBEIRO, M.L.; GONÇALVES, A.R. *A indústria petroquímica no próximo século: como substituir o petróleo como matéria-prima?*. *Química Nova*, v. 24, n. 2, p. 247-251, 2001.

SHLESER, R. (1994) Ethanol production in Hawaii: processes, feedstocks and current economic feasibility of fuel grade ethanol production in Hawaii. Disponível em: <[www.hawaii.gov/dbedt/info/energy/transportation/ethanol/studies/ethanol94.pdf](http://www.hawaii.gov/dbedt/info/energy/transportation/ethanol/studies/ethanol94.pdf)>. Acesso em: 05 abr. 2017 às 18:58.

SILVA, C.F.L. *et al.* Potential of giant (Arundo donax L.) for second generation ethanol production – Electronic journal of biotechnology, Centro de Engenharia, Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, 2015.

SILVA, F.V, Revista Liberato, Panorama e perspectivas do etanol lignocelulósico. Novo Hamburgo, v. 13, n. 20, p. 01-XX, jul-dez. 2012.

SILVA, N. L. C. *Produção de Bioetanol de segunda geração a partir de biomassa residual da indústria de celulose*. 2010. 109 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2010.

SILVA, N.L.C.; BETANCUR, G.J.V.; VASQUEZ, M.P.; GOMES, E.B.; PEREIRA Jr. (2011). Ethanol production from residual wood chips of cellulose industry: acid pretreatment investigation, hemicellulosic hydrolysate fermentation, and remaining solid fraction fermentation by SSF process. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.163, p. 928-936.

SUN, Y. & CHENG, J.J. (2005). Dilute acid pretreatment of rye straw and Bermuda grass for ethanol production. *Bioresource Technology*, v. 96, p. 1599-1606.

SUN, Y. & CHENG, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, v. 83, n. 1, p. 1-11.

TAHERZADEH, M.J. & KARIMI, K. (2008). Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 9, pp. 1621-1651.

TAMANINI, C. & HAULY, M.C.O. (2004). Resíduos agroindustriais para a produção biotecnológica de xilitol. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 25, n. 4, p. 315-330.

VÁSQUEZ, M.P.; DA SILVA, J. N. C.; DE SOUZA Jr., M.B.; PEREIRA Jr., N. (2007). Enzymatic hydrolysis optimization to ethanol production by Simultaneous Saccharification and Fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 137-140, issued 12.

VIEIRA, R. C.; ANTUNES, D. P. C.; SILVA, M. C. S.; ALMEIDA, R. M. R. G.; "ESTUDO DO PROCESSO DE HIDROLISE DE RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS DO MILHO PARA PRODUÇÃO DE BIOETANOL", p. 790-797. In: Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química - COBEQ 2014 [= BlucherChemicalEngineeringProceedings, v.1, n.2]. São Paulo: Blucher, 2015.

WINGREN, A.; GALBE, M.; ZACCHI, G. Techno-economic evaluation of producing ethanol from softwood: Comparison of SSF and SHF and identification of Bottlenecks. *Biotechnology Progress*, n. 19, p. 1109-1117, 2003.



ZHANG, J. & SMITH, K.R. (2007). Household air pollution from coal and biomass fuels in China: Measurements, health impacts, and interventions. *Environ Health Perspect*, v. 115, n.6, p. 848-855.