



**OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE PRÉ-
TRATAMENTO DA PALHA DE CANA-
DE-AÇÚCAR POR EXTRUSÃO DE
ROSCA DUPLA**

Cid Fernandes de Castro Neto

Udson Petrillo Grasso Gomes

Projeto Final de Curso

Orientadores

Fabio Souza Toniolo

Raul Alves de Oliveira

Fevereiro de 2018

OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE PRÉ-TRATAMENTO DA PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR POR EXTRUSÃO DE ROSCA DUPLA

Cid Fernandes de Castro Neto

Udson Petrillo Grasso Gomes

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

Aprovado por:

Ricardo de Andrade Medronho, Ph.D.

Rodrigo Pires do Nascimento, D.Sc.

Luiz Felipe Barletta Ferreira

Orientado por:

Fabio Souza Toniolo, D.Sc.

Raul Alves de Oliveira, D.Sc.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil
Fevereiro de 2018

Neto, Cid Fernandes de Castro;
Gomes, Udson Petrillo Grasso

Otimização do Processo de Pré-tratamento da Palha de Cana-de-açúcar por Extrusão de Rosca Dupla/ Cid Fernandes de Castro Neto e Udson Petrillo Grasso Gomes. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2018.

(Projeto Final) – Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Escola de Química, 2018.

Orientadores: Fabio Souza Toniolo e Raul Alves de Oliveira

1. Etanol 2G. 2. Resíduos Lignocelulósicos. 3. Pré-tratamento 4. Extrusão. 5. Projeto Final. (Graduação – UFRJ/EQ). 6. Fabio Souza Toniolo I D.Sc. e Raul Alves de Oliveira I D.Sc.. Otimização do Processo de Pré-tratamento da Palha de Cana-de-açúcar por Extrusão de Rosca Dupla.

À nossa família, amigos e todos que nos ajudaram nessa trajetória.

AGRADECIMENTOS

Ao decorrer desses últimos meses, tivemos a oportunidade de trabalhar e conviver no dia-a-dia com excelentes pessoas, tanto no âmbito profissional quanto pessoal, que nos ajudaram enormemente para a conclusão deste trabalho. Gostaríamos de agradecer, em especial:

Primeiramente, aos nossos orientadores Prof. Fabio Souza Toniolo e Raul Alves de Oliveira, por serem sempre solícitos, com orientação clara e objetiva de todas as dificuldades que tivemos ao longo deste percurso, e também por sua confiança depositada em nós para a realização deste trabalho. Foram excelentes orientadores do início ao fim. Não poderíamos ter feito escolha melhor.

À Prof^a. Elba P. S. Bon, por ter nos deixado utilizar o Laboratório Bioetanol e todos os seus excelentes recursos, sempre a disposição para nossas pesquisas e experimentos. Nunca nos foi negado nada que precisássemos.

Individualmente, gostaríamos de agradecer:

- Cid:

Primeiramente, aos meus pais, Cid Fernandes de Castro Filho e Sandra Massa Fernandes de Castro, por terem se esforçado muito para serem os melhores pais que podem ser, por todo amor dado, por sempre terem me apoiado em todos os meus momentos difíceis e por me tornarem quem eu sou hoje. Sem vocês nada disso seria possível.

Aos meus amigos do Colégio pH, onde estudei praticamente a vida inteira, por terem me proporcionado os melhores momentos da minha vida e por continuarem presentes nela. Vocês são uma segunda família para mim.

Aos funcionários Fernanda, Leandro, Lucas, Ricardo, Rodrigo e Sharon, do Laboratório Bioetanol, pelo auxílio diário que me deram com minhas dúvidas e pela enorme paciência em compartilhar seus conhecimentos comigo.

Por último, mas não menos importante, a funcionária Mara do Laboratório Bioetanol, que todos os dias alegrava nossas manhãs com seu sorriso, simpatia e seu excelente café.

- Udson:

A meus pais, Ubirajara dos Santos Gomes e Rosa Maria Petrillo Grasso, por serem exemplos nos quais me inspiro, por sempre me apoiarem em todas as minhas escolhas, por todo sacrifício feito para me dar as condições de vida que vocês nunca tiveram e por todo amor nesses meus 25 anos. Esse trabalho é o símbolo de toda esperança e confiança depositada em mim por vocês.

A meu irmão, Ubirajara Petrillo Grasso Gomes, por toda ajuda e conselhos de irmão mais velho, apesar de muitas vezes fazer com que eu exerça esse papel.

Aos meus tios e primos, por exercerem muitas vezes papel de pais e irmãos, me auxiliando em momentos de dificuldade.

Aos meus amigos do Se Conseguir e do Pd, por esses quase 20 anos de amizade, tornando a minha caminhada mais suave e divertida desde a época do colégio.

Aos meus amigos do MTT e 1212, por terem me acolhido durante meu intercâmbio e fazer com que os 16 meses no Canadá tenham sido uns dos melhores da minha vida.

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

Otimização do Processo de Pré-tratamento da Palha de Cana-de-açúcar por Extrusão de Rosca Dupla

Cid Fernandes de Castro Neto

Udson Petrillo Grasso Gomes

Fevereiro, 2018

Orientadores: Prof. Fabio Souza Toniolo, D.Sc.

Raul Alves de Oliveira, D.Sc.

A grande dependência dos combustíveis fósseis unida à instabilidade política encontrada em alguns dos principais países produtores de petróleo e o aumento da poluição atmosférica nas grandes cidades reforçam e incentivam a necessidade de encontrar fontes de energia renovável que possam competir economicamente com os combustíveis fósseis e diminuir o consumo dos mesmos. Devido a esses fatores, pesquisas referentes ao desenvolvimento e otimização de tecnologias para produção de biocombustíveis vêm ganhando mais visibilidade nos últimos anos, entretanto essas pesquisas ainda encontram dificuldade em alguns setores, principalmente nos custos com matéria prima e problemas de eficiência do processo. Afim de superar essas barreiras foi estudada a produção de etanol a partir do uso de resíduos lignocelulósicos e eficácia das tecnologias desse processo produtivo. A produção de etanol de segunda geração consiste em quatro macro etapas, pré-tratamento, hidrólise, fermentação e destilação, sendo a primeira etapa a mais estudada atualmente, devido à sua influência nas etapas subsequentes e seu alto custo, chegando a representar cerca de um terço do custo total do processo. Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo analisar o potencial do uso de palha de cana-de-açúcar como matéria prima para produção de etanol, através da realização do pré-tratamento por extrusão e otimização dos parâmetros (temperatura e velocidade de rotação dos parafusos) desse processo, seguido da hidrólise enzimática da biomassa, avaliando a eficiência desses processos e a viabilidade econômica dos mesmos. O rendimento de conversão de celulose a glucose foi de cerca 80%, sendo possível gerar cerca de 146 litros de etanol por tonelada de palha de cana-de-açúcar. Apesar dos rendimentos satisfatórios, o processo ainda não se apresenta competitivo economicamente em comparação ao hidrotérmico, pré-tratamento utilizado na usina da GranBio, uma das únicas duas usinas de etanol de 2ª geração em funcionamento atualmente no Brasil.

Sumário

1. Introdução	1
2. Objetivo	5
2.1. Objetivo Geral	5
2.2. Objetivo Específico	5
3. Revisão Bibliográfica	6
3.1. Biomassa	6
3.1.1. Celulose	8
3.1.2. Hemicelulose	10
3.1.3. Lignina	11
3.2. Biorrefinaria e o Etanol de Segunda Geração (E2G)	13
3.3. Processo de Produção	19
3.3.1. Pré-Tratamento	20
3.3.1.1 Pré-Tratamento Químico.....	24
3.3.1.2 Pré-Tratamento Físico-Químico.....	25
3.3.1.3 Pré-Tratamento Biológico.....	26
3.3.1.4 Pré-Tratamento Físico	27
3.3.1.4.1 Pré-Tratamento Físico por Extrusão.....	27
3.3.2 Hidrólise Enzimática	29
3.3.3 Fermentação	31
3.3.4 Destilação	32
4. Metodologia Experimental	33
4.1. Caracterização da Biomassa.....	33
4.2. Processo de Extrusão	34
4.2.1. Configuração das Roscas.....	36
4.3. Dosagem Enzimática.....	38
4.3.1. Determinação da Atividade Enzimática (FPase)	39
4.4. Hidrólise Enzimática	40
4.5. Planejamento Experimental.....	41

4.5.1. Número Ótimo de Ciclos	41
4.5.2. Otimização de Temperatura e Velocidade de Rotação.....	42
5. Resultados e Discussão.....	45
5.1. Caracterização da Biomassa.....	45
5.2. Atividade Enzimática (FPase)	46
5.3. Hidrólise Enzimática e Número Ótimo de Ciclos	48
5.4. Avaliação do Efeito da Temperatura e Velocidade de Rotação no Pré- tratamento da Palha de Cana-de-açúcar	51
5.5. Consumo Energético.....	57
6. Análise Econômica Preliminar	58
7. Conclusão	63
8. Sugestões Futuras.....	65
9. Referências Bibliográficas	66

Lista de Figuras

Figura 1.1: Matriz energética global.....	01
Figura 1.2: Inventário de Emissões de Gases de Efeito Estufa de 1990 – 2015...	02
Figura 3.1: Esquema estrutural químico dos materiais lignocelulósicos presentes na madeira	06
Figura 3.2: Estrutura da celulose.....	08
Figura 3.3: Produtos gerados a partir da celulose	09
Figura 3.4: Monômeros que constituem a hemicelulose e suas respectivas estruturas químicas.	10
Figura 3.5: Produtos gerados a partir da hemicelulose	11
Figura 3.6: Produtos gerados a partir da lignina	12
Figura 3.7: Matérias primas e produtos das biorrefinarias de etanol	13
Figura 3.8: Produção de Etanol de primeira e segunda geração integradas	15
Figura 3.9: Produção Mundial de Etanol	16
Figura 3.10: Histórico de importação de etanol pelo Brasil	17
Figura 3.11: Projeção dos custos de produção das principais indústrias produtoras de E2G	18
Figura 3.12: Fluxograma simplificado do processo de produção de E2G	19
Figura 3.13: Estrutura da biomassa lignocelulósica antes e após a etapa de pré-tratamento	21
Figura 3.14: Configuração dos parafusos e seus subconjuntos	28
Figura 4.1: Extrusora de Rosca Dupla <i>Thermo Fisher Scientific Haake PolyLab OS</i>.....	34

Figura 4.2: Zonas de Alimentação, Aquecimento e Saída da Extrusora de Rosca Dupla (Vista Superior).....	35
Figura 4.3: Zonas de Alimentação, Aquecimento e Saída da Extrusora de Rosca Dupla (Vista Frontal)	35
Figura 4.4: Configuração da rosca dupla utilizada neste estudo.....	36
Figura 4.5: Zonas de Transporte e de Mistura do equipamento.....	37
Figura 4.6: Elemento Reverso dos parafusos.....	38
Figura 5.1: Ajuste estatístico por regressão linear da diluição em função da concentração de glucose (mg/0,5mL)	46
Figura 5.2: Perfil do Rendimento de Glucose durante a Hidrólise Enzimática em função do tempo para diferentes ciclos.....	49
Figura 5.3: Superfície de Resposta gerado a partir do <i>software</i> STATISTICA.....	53
Figura 5.4: Curva de contorno gerado a partir do <i>software</i> STATISTICA.....	54
Figura 5.5: Efeito Linear (L) e Quadrático (Q) das Variáveis Independentes no Rendimento de Glucose gerados pelo <i>software</i> STATISTICA.....	55
Figura 5.6: Diagrama de Pareto construído através da análise estatística para o rendimento (%) de hidrólise da palha de cana-de-açúcar.....	56

Lista de Tabelas

Tabela 3.1: Composição dos materiais lignocelulósicos mais utilizados na produção de etanol de segunda geração	07
Tabela 3.2: Principais tipos de pré-tratamento, seus efeitos na biomassa, vantagens e desvantagens.....	22
Tabela 4.1: Valores Reais Codificados para as Variáveis Independentes no processo de Otimização.....	43
Tabela 4.2: Valores Reais e Codificados para os 11 ensaios no processo de Otimização.....	43
Tabela 5.1: Caracterização química da palha de cana-de-açúcar.....	45
Tabela 5.2: Valores de Absorbâncias a 540 nm para Atividade FPase a diferentes diluições.....	46
Tabela 5.3: Rendimento de glucose, em porcentagem, em função do tempo para diferentes ciclos.....	48
Tabela 5.4: Resultado do Rendimento da Hidrólise Enzimática e Potência para os 11 ensaios da Otimização.....	52
Tabela 6.1: Preços das principais matérias primas utilizadas nos pré-tratamentos analisados.....	60
Tabela 6.2: Consumo anual de matérias primas de cada pré-tratamento e seus respectivos custos.....	60
Tabela 6.1: Investimento necessário para os pré-tratamentos analisados.....	62

1. Introdução

Os biocombustíveis vêm ganhando espaço e sendo alvo de mais e mais pesquisas, devido à maior conscientização ambiental e preocupação com as mudanças climáticas. O aquecimento global explicita a importância de uma mudança na matriz energética, uma vez que cerca de 85% dela teve origem em combustíveis fósseis, enquanto apenas 3,2% em energia renovável, de acordo com uma análise da British Petroleum em 2016, como pode ser observado na Figura 1.1.

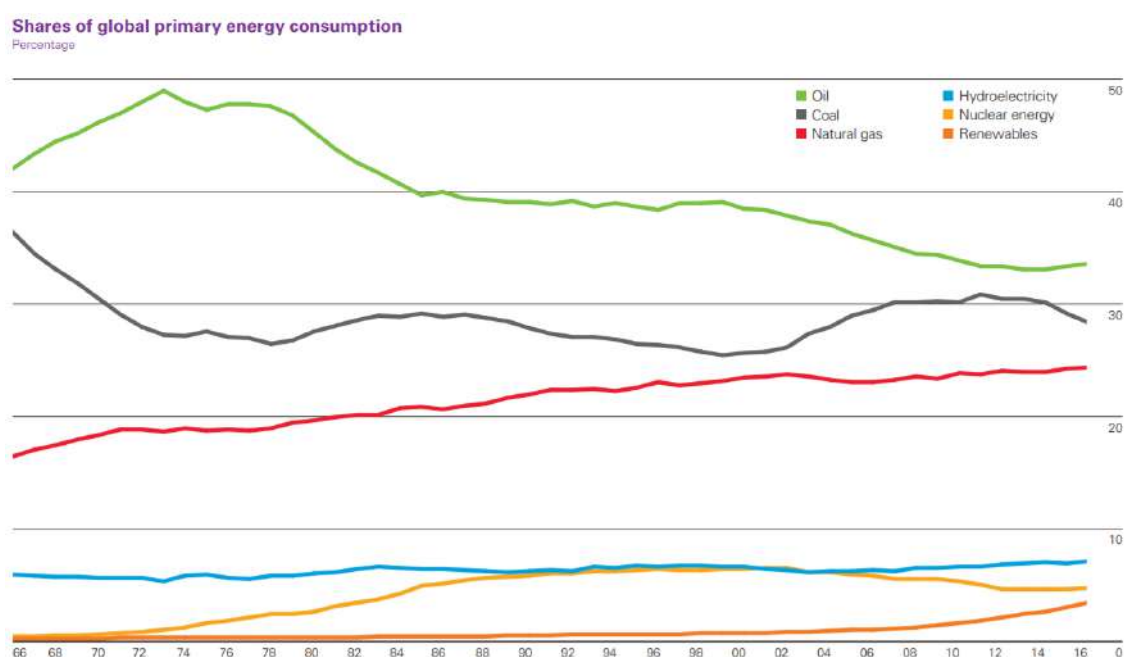


Figura 1.1 - Matriz energética global (British Petroleum, 2017)

Além disso, 77% da emissão de CO₂ nos Estados Unidos para a atmosfera teria sido proveniente da queima de combustíveis fósseis (Agência de Proteção Ambiental do Estados Unidos - EPA), as principais fontes de gases de efeito estufa estão explicitadas na Figura 1.2.

Emissão de gases causadores de efeito estufa nos EUA

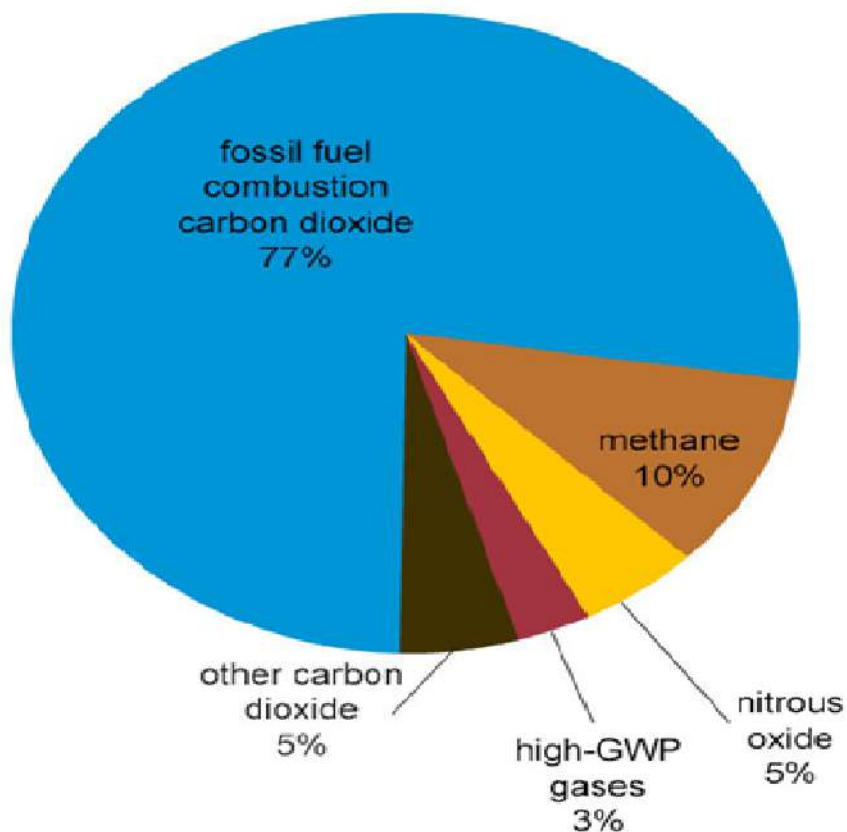


Figura 1.2 - Inventário de Emissões de Gases de Efeito Estufa de 1990 - 2015 (EPA, 2017)

Por outro lado, segundo a Agência Internacional de Energia, a utilização de etanol proveniente da cana-de-açúcar representa uma redução de emissão de 89% de gases responsáveis pelo efeito estufa, quando comparado à gasolina, fato que demonstra o grande potencial do uso de biomassa como fonte de energia, em especial a cana-de-açúcar.

Entretanto, a utilização desses compostos ainda não foi explorada em sua totalidade. Visando um melhor aproveitamento da biomassa e do seu potencial energético, criou-se o conceito de biorrefinaria, indústria que possui instalações parecidas com as de uma refinaria de petróleo, porém utilizando materiais lignocelulósicos como matéria-prima em substituição ao petróleo. (MORO, 2015; RODRIGUES, 2011; SOUZA, 2016).

Uma forma de otimizar a exploração do potencial energético da biomassa de cana-de-açúcar é o aproveitamento dos resíduos lignocelulósicos gerados na produção de etanol de primeira geração (E1G), tais como, bagaço e palha de cana-de-açúcar. Esse reaproveitamento faz parte do processo de produção de etanol de segunda geração (E2G), processo que oferece vantagens como proporcionar uma maior produção de etanol por área de plantio, evitando a expansão das áreas de cultivo e aumentando a sustentabilidade desse processo (LIEW *et al.*, 2013; MORO, 2015)

O processo de produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos (E2G) consiste em 4 etapas principais: pré-tratamento, hidrólise enzimática, fermentação e destilação. A existência das duas primeiras etapas é o que diferencia esse processo para o de primeira geração, que não só possui as etapas de fermentação e destilação, já que o processo produtivo de E1G utiliza diretamente a glucose ou amido que estão dispostos nas plantas alimentícias. Isso ocorre devido à estrutura química da biomassa ser composta por lignina, celulose e hemicelulose, sendo que a primeira atua como barreira que dificulta o acesso aos outros dois componentes, os quais representam a fonte de açúcar para o processo. O pré-tratamento é a etapa responsável por facilitar o acesso à celulose e hemicelulose durante a etapa de hidrólise, e realiza isso através da diminuição da cristalinidade da biomassa, enquanto é na hidrólise que se obtém açúcares fermentescíveis a partir de reações químicas promovidas na celulose e/ou hemicelulose. Uma vez que os açúcares foram obtidos, a fermentação realiza a conversão deles em etanol, e a destilação promove uma purificação do combustível (SANTOS, *et al.*, 2013; SOUZA, 2016; RAMOS, *et al.*, 2015).

A etapa do processo que recebe mais atenção e estudo é o pré-tratamento, pois ele é crucial na eficiência das etapas posteriores, além de representar cerca de um terço do custo total do processo (IBRAHIM, 2012). Diversas tecnologias foram desenvolvidas para essa etapa, diferindo entre si em relação ao princípio utilizado (físico, químico, biológico ou físico-químico) e ao efeito sobre a biomassa. Entre esses tipos de pré-tratamento, o físico tem sido bastante estudado por não usar químicos, não formar inibidores e não gerar efluentes, além de ser capaz de ser realizado de forma contínua (MOOD *et al.*, 2013). Entretanto, o processo físico ainda não possui uma eficiência tão elevada quanto alguns outros processos como o hidrotérmico, além de ter um consumo de energia muito elevado.

Dentre os pré-tratamentos físicos, a extrusão, frequentemente utilizada no processo de produção de polímeros e na indústria alimentícia, vem recebendo maior atenção ultimamente, nesse processo ocorre o cisalhamento da biomassa, o que promove a quebra da lignina e facilita o acesso à celulose e hemicelulose na etapa subsequente.

Portanto, este projeto de conclusão de curso visa contribuir com a área de produção de etanol de segunda geração por meio de uma avaliação de alguns parâmetros relevante do processo de pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar por extrusão que podem aumentar o rendimento em glucose, assim como um estudo de viabilidade econômica do processo.

2. Objetivo

2.1. Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo otimizar o processo de pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar por extrusão com rosca dupla utilizando o glicerol como aditivo a biomassa favorecendo assim a obtenção de altos rendimentos de hidrólise enzimática.

2.2. Objetivo Específico

- Avaliar o efeito do número de ciclos durante o pré-tratamento por extrusão;
- Avaliar as condições ótimas de temperatura e rotação do processo de pré-tratamento por extrusão;
- Avaliar o consumo energético durante os ensaios de pré-tratamento;
- Avaliar a viabilidade econômica do processo, comparando-a com outros processos de produção de etanol de segunda geração já existentes.

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Biomassa

A biomassa lignocelulósica é um recurso renovável derivado da parede celular vegetal cujos principais componentes são a celulose, a hemicelulose e a lignina, como pode ser visto na Figura 3.1. O completo potencial energético e tecnológico dessa matéria-prima ainda não é explorado pelo homem, em parte devido à formação de uma cadeia produtiva mundial baseada na produção de insumos pela indústria petroquímica, desenvolvida a partir do século XX. Outros fatores estão relacionados à natureza recalcitrante da biomassa e à dificuldade de modificar as propriedades de seus constituintes, tornando seu processamento dispendioso.

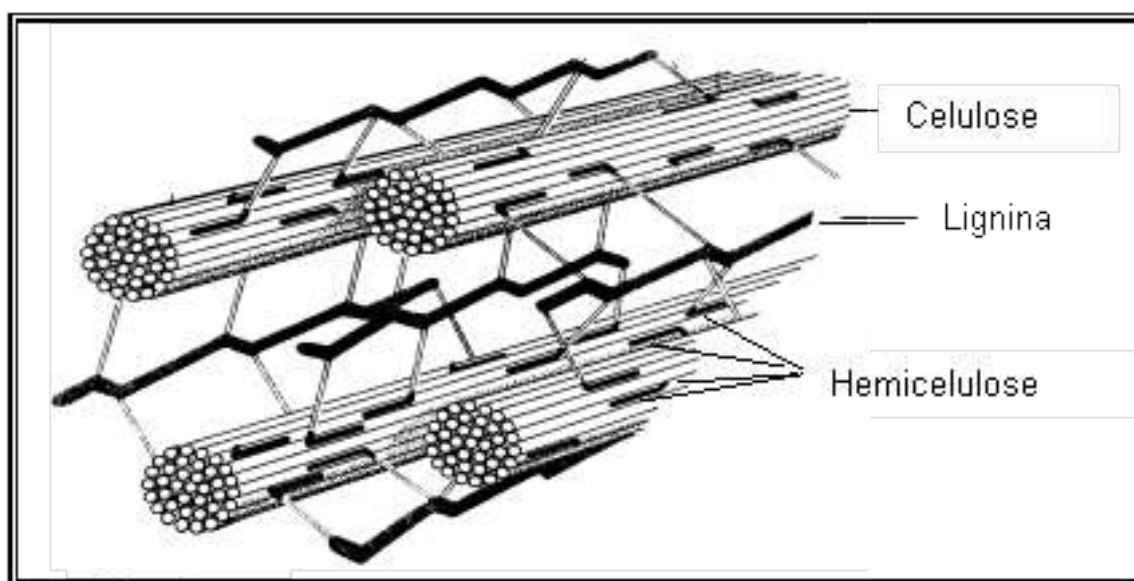


Figura 3.1 – Esquema estrutural químico dos materiais lignocelulósicos presentes na madeira.
(Adaptado de SHLESER, 1994)

Tipicamente, a distribuição dos componentes da biomassa varia entre 40-50% de celulose, 20-40% de hemicelulose e 18-35% de lignina, sendo que sua composição difere para cada tipo de biomassa (SANTOS *et al.*, 2012). As duas biomassas mais

usadas no Brasil na produção de E2G são a palha (40 a 44% de celulose, 30 a 32% de hemicelulose e 22 a 25% de lignina) e o bagaço de cana-de-açúcar (32 a 48% de celulose, 19 a 24% de hemicelulose e 23 a 32% de lignina). A Tabela 3.1 mostra a composição de algumas das principais biomassas lignocelulósicas: (SANTOS *et al.*, 2012)

Tabela 3. 1 - Composição dos materiais lignocelulósicos mais utilizados na produção de etanol de segunda geração (SANTOS et al., 2012)

Biomassa Lignocelósica	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
Palha de cana	40-44	30-32	22-25
Bagaço de cana	32-48	19-24	23-32
Madeira dura	43-47	25-35	16-24
Madeira mole	40-44	25-29	25-31
Talo de milho	35	25	35
Espiga de milho	45	35	15
Algodão	95	2	0,3
Palha de trigo	30	50	15
Sisal	73,1	14,2	11
Palha de arroz	43,3	26,4	16,3
FORAGEM de milho	38-40	28	7-21
Fibra de coco	36-43	0,15-0,25	41-45
Fibra de bananeira	60-65	6-8	5-10
Palha de cevada	31-45	27-38	14-19

A biomassa mais abundante no Brasil é a cana-de-açúcar, sendo o maior produtor dessa planta do mundo, devido ao clima ser favorável ao cultivo, além de ter uma vasta área disponível para cultivo. Na safra de 2016/2017 foram produzidos 657,18 milhões de toneladas de cana de açúcar no Brasil, e estima-se que esse valor possa chegar a 647,63 milhões de toneladas na safra de 2017/2018. A diminuição na safra é devido a uma redução da área de cultivo. Apesar disso, a queda na produção não será muito significativa devido a um aumento de 0,9% na produtividade (<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2017/04/safra-2017-2018-de-cana-de-acucar-deve-ser-de-647-milhoes-de-toneladas>).

Segundo SANTOS *et al* (2012), cerca de 140 kg de bagaço e 140 kg de palha em base seca são gerados para cada tonelada de cana de açúcar processada, o que pode significar cerca de 184 milhões de toneladas de resíduo de cana-de-açúcar.

Segundo QUINELATO (2016), apesar dos resíduos lignocelulósicos da cana-de-açúcar serem, em grande parte, direcionados para a cogeração de energia, ainda há um excedente que não é utilizado, o que gera problemas ambientais, como risco de incêndio, e sociais, visto que esse excedente fica estocado a céu aberto. Estima-se que somente 40% do bagaço gerado seja utilizado na cogeração de energia, o que permite que 60% desse resíduo lignocelulósico possa ser encaminhado para a geração de etanol de segunda geração (E2G). Caso esses 60% dos 184 milhões de toneladas fossem utilizadas na produção de E2G, seria possível gerar cerca de 20,5 bilhões de litros de etanol, se baseando no trabalho de SOARES e ROSSELL (2009), no qual mostrou que pode ser produzido 186 litros de etanol por tonelada de bagaço.

3.1.1. Celulose

A celulose é o polímero orgânico mais abundante na Terra e o principal constituinte da parede celular das plantas. Ela é um polímero linear composto por moléculas de glucose que formam ligações β -1,4 e pode conter até 15000 moléculas de glucose em uma única célula de celulose (SILVA, 2013a). Sua estrutura polimérica é demonstrada na Figura 3.2:

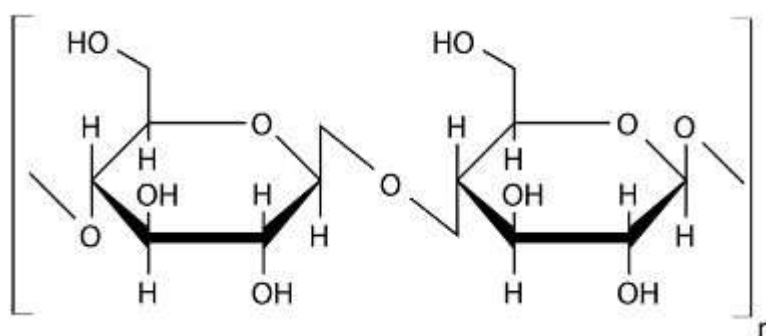


Figura 3. 1 - Estrutura da celulose

As ligações do tipo β -(1 \rightarrow 4) presentes na molécula de celulose são de difícil hidrólise, sendo capaz de ser exercido apenas por algumas bactérias e fungos. Além destas ligações, são encontradas forças de Van der Waals (ZHANG e LYND, 2004) e pontes de hidrogênio intra e intercadeia, as quais permitem a combinação de cadeias de celulose para formar cristais de celulose. Tamaña complexidade faz com que seja necessária a utilização de diferentes enzimas para que ocorra a hidrólise de forma eficiente (BORGES, 2012).

A hidrólise da celulose é responsável pela liberação de glicose, que serve como matéria prima para uma variedade de produtos, como etanol, ácido láctico e hidroximetilfurfural (HMF), e outros produtos derivados destes, como pode ser observado na Figura 3.3. Além disso, a celulose é utilizada na fabricação de papel.

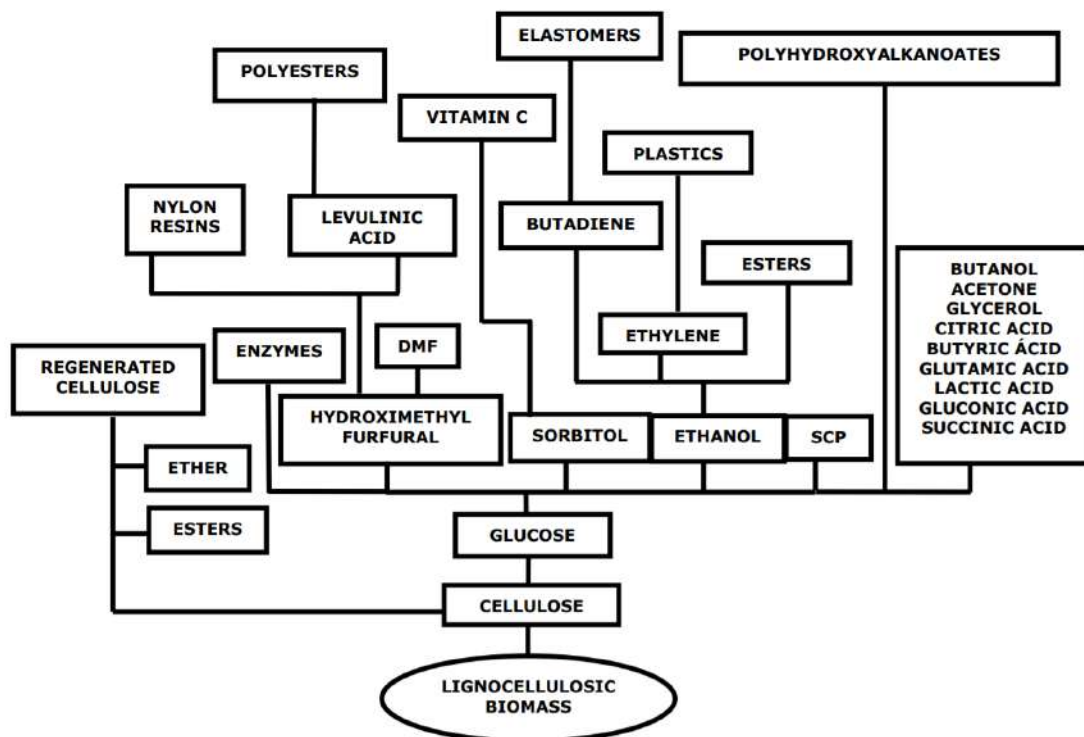


Figura 3.3 – Produtos gerados a partir da celulose (PEREIRA JR. et al., 2008)

3.1.2. Hemicelulose

A hemicelulose, também conhecida como polioses, consiste em uma mistura de polímeros, polissacarídeos de baixa massa, que estão fortemente ligados à celulose e à lignina nos tecidos vegetais. Diferente da celulose, que possui apenas uma unidade monomérica, as polioses contêm diversos açúcares diferentes, sendo xilose, manose, glucose, arabinose, galactose, ácido galactourônico e ácido glucourônico os principais açúcares constituintes da hemicelulose (SILVA, 2013a). Na Figura 3.4 podemos ver as estruturas dos principais componentes da hemicelulose e as ligações que eles realizam.

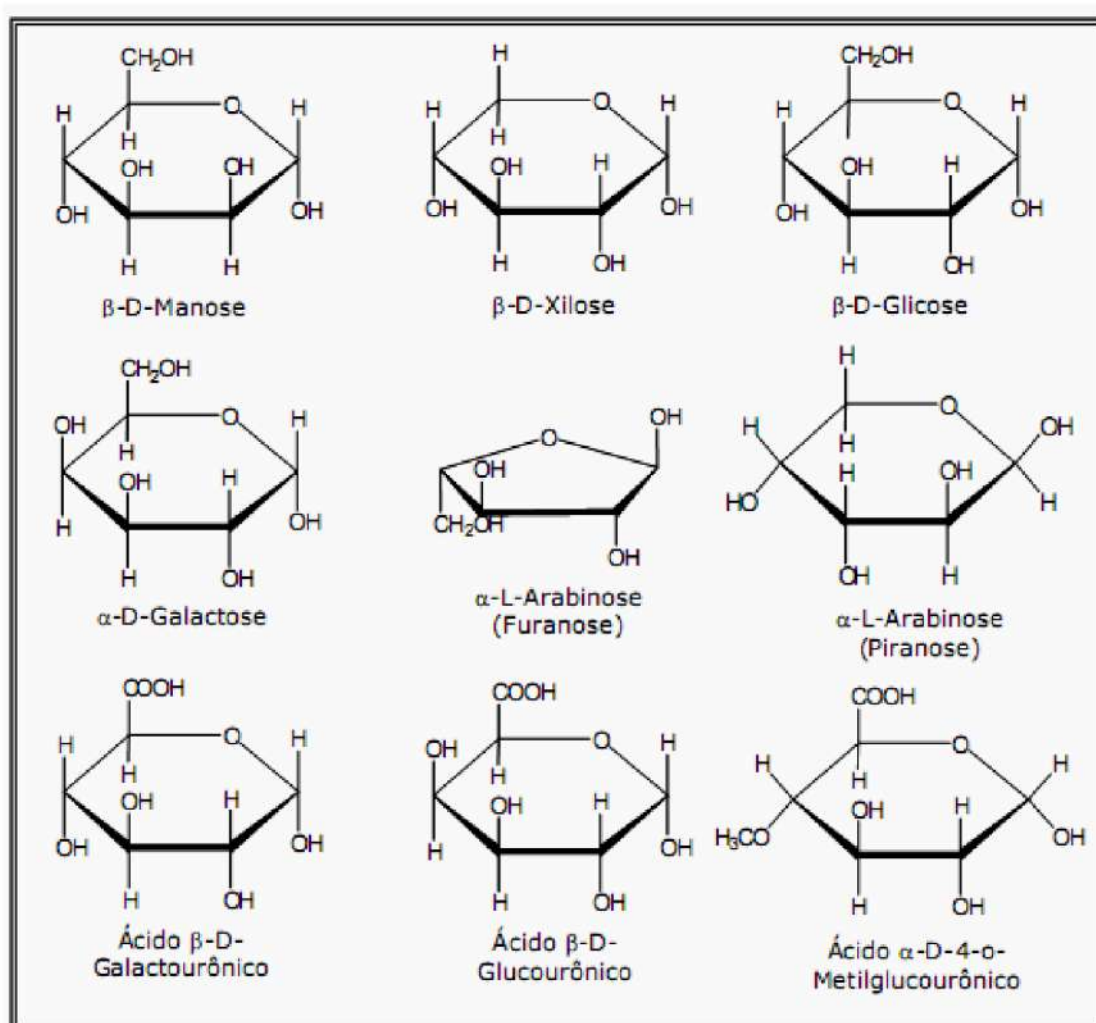


Figura 3.4 – Monômeros que constituem a hemicelulose e suas respectivas estruturas químicas. (D'ALMEIDA, 1988)

Além disso, a hemicelulose pode ser hidrolisada para produção de xilose, manose e açúcares. Este último pode, posteriormente, ser usado como matéria prima para produção de etanol, resinas, nylon e ácidos, conforme mostra o fluxograma abaixo:

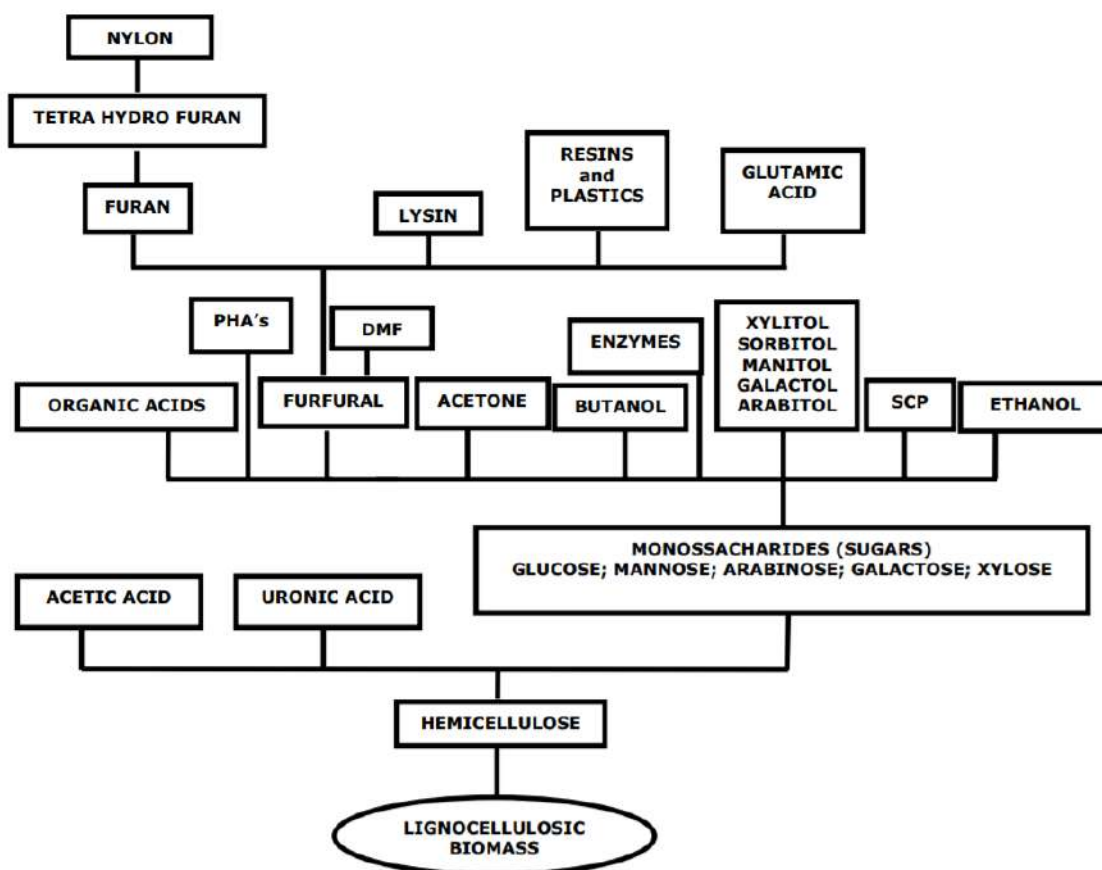


Figura 3.5 - Produtos gerados a partir da hemicelulose (PEREIRA JR. et al., 2008)

3.1.3. Lignina

A lignina é constituída por compostos aromáticos e está presente na parede celular das plantas, sendo responsável pela estrutura dos vegetais, além de ter um papel importante no transporte de água, nutrientes e metabólitos (KOMURA, 2015). Ela é de difícil extração sem sua degradação prévia, e diversos tipos de processos são capazes de degradá-la ou removê-la, como pré-tratamentos físicos (extrusão e moinhos de bolas), químicos (ácido concentrado ou diluído), físico químicos (explosão a vapor) e biológico, para citar apenas alguns (ALVES e MACRI, 2012).

Atualmente a lignina é utilizada como matéria prima para produção de diversos subprodutos da biorrefinaria. Os principais processos em que ela é submetida são os processos pirolíticos e oxidativos, além de ser usada para produção de resinas fenólicas. Ademais, seu emprego na produção de fibras de carbono tem sido bastante pesquisada, sendo essa uma aplicação mais nobre e que apresentaria um maior valor agregado (KOMURA, 2015). Na Figura 3.6 pode-se ver outras aplicações deste material além das supracitadas:

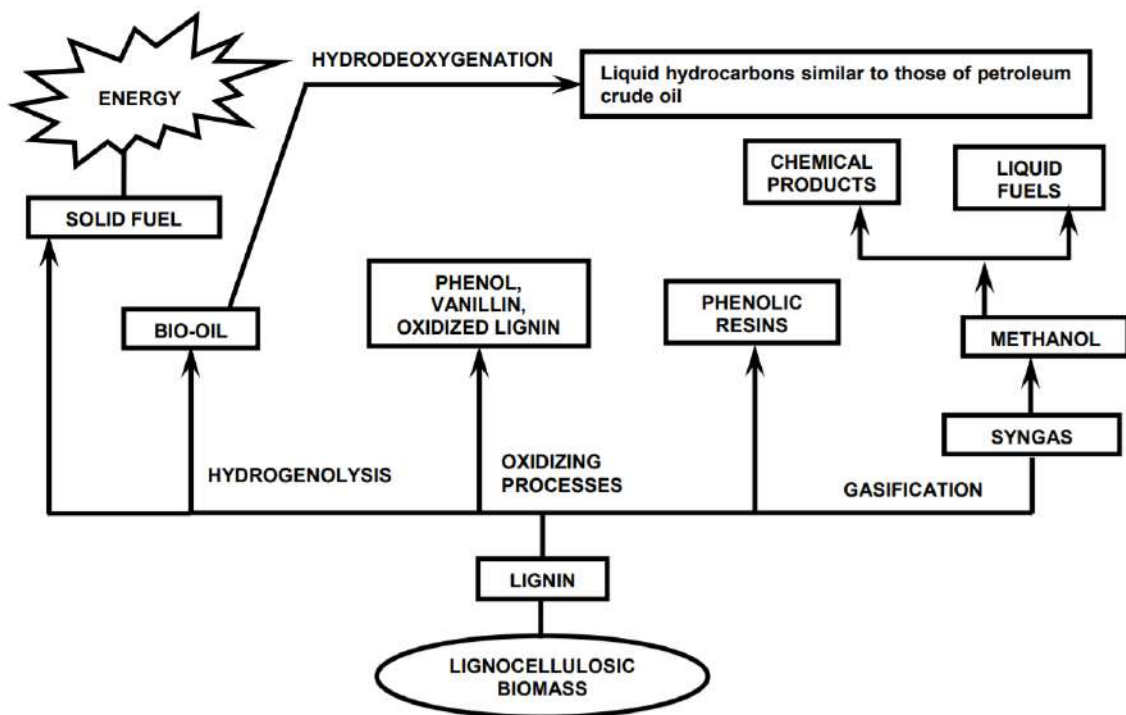


Figura 3.6 – Produtos gerados a partir da lignina (PEREIRA JR. et al., 2008)

3.2. Biorrefinaria e o Etanol de Segunda Geração (E2G)

O conceito de biorrefinaria tem sua origem no final da década de 90, como forma de criar uma independência dos combustíveis fósseis e seus derivados, utilizando biomassas como fonte renovável de produtos não alimentícios (MAITY, S., 2015). Existem várias definições para a biorrefinaria; a American National Renewable Energy Laboratory define as biorrefinarias como indústrias que integram equipamentos e processos de conversão de biomassa para produzir combustíveis, energia e produtos químicos. Já o Departamento de Energia dos Estados Unidos define as biorrefinarias como indústrias de processamento na qual a biomassa é convertida em um espectro de produtos de valor agregado.

As biorrefinarias têm um futuro promissor, por ser uma alternativa ambientalmente mais favorável do que as refinarias de petróleo, ao mesmo tempo que as questões ambientais vêm recebendo mais atenção nos últimos anos, principalmente em relação ao aquecimento global, efeito que está estritamente interligado aos gases emitidos na queima dos combustíveis fósseis. Além da vantagem de ser uma fonte de produtos e energia mais limpa e sustentável, o desenvolvimento das biorrefinarias economicamente competitivas faria com que o mercado ficasse menos dependente da flutuação do preço do petróleo, algo vantajoso levando em consideração a grande instabilidade política que se encontram alguns países que possuem as principais reservas de petróleo (SOUSA *et al.*, 2012). A Figura 3.7 apresenta alguns exemplos de matérias primas que são utilizadas, bem como os principais produtos que podem ser obtidos nessas indústrias, como lubrificantes, combustíveis, solventes, polímeros, resinas, nylon, aglutinante natural, entre outros.

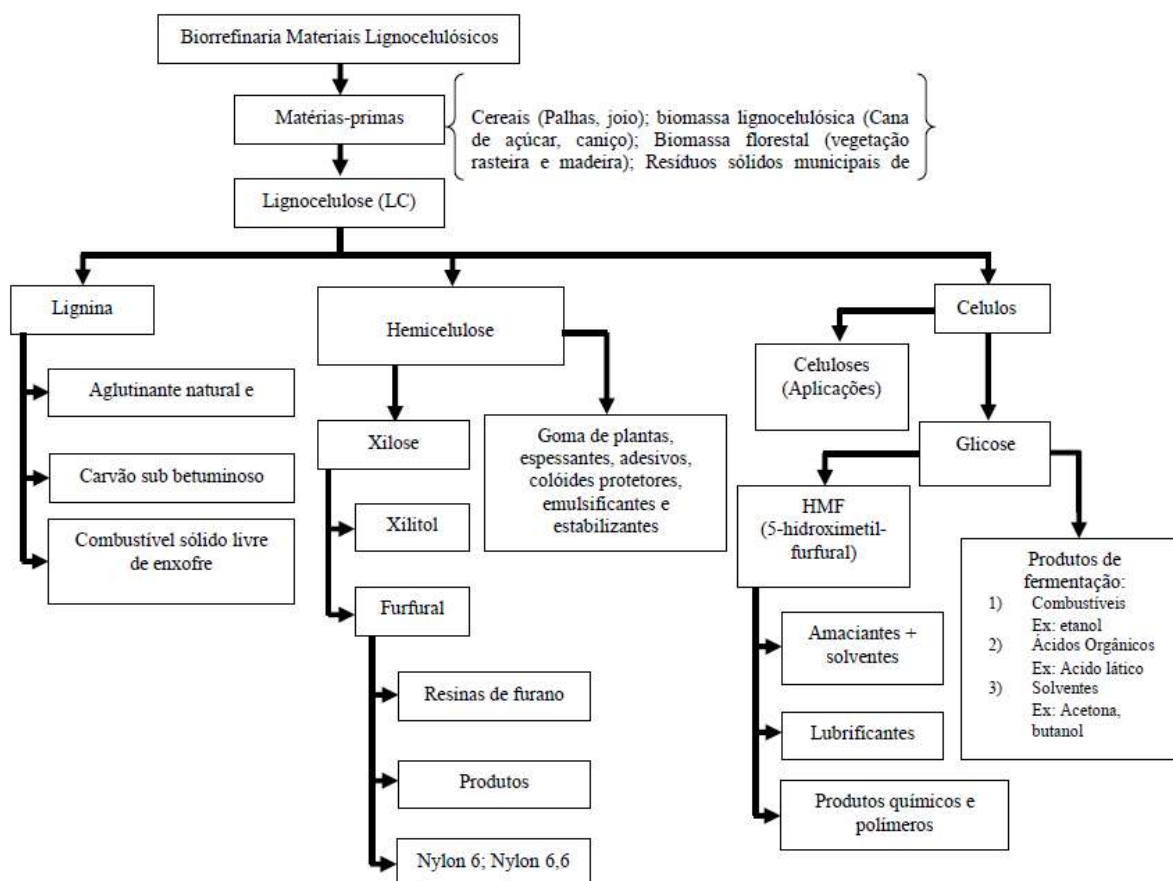


Figura 3. 2 - Matérias primas e produtos das biorrefinarias de etanol (Adaptado de ALVIM et al., 2014)

O Brasil apresenta grandes perspectivas na implementação de biorrefinarias relacionadas à cultura da cana-de-açúcar. A biomassa lignocelulósica oriunda da cana-de-açúcar (bagaço e palha), gerada após o processamento dessa planta para obtenção do etanol de primeira geração, pode ser convertida em biomateriais e/ou energia. Esse processo pode ocorrer de forma integrada, podendo assim, aumentar o valor econômico, reduzindo o desperdício e se tornando um importante instrumento de mitigação de gases de efeito estufa.

Os principais desafios encontrados por essas indústrias atualmente são a coleta e transporte da biomassa. Caso a biorrefinaria não esteja localizada perto da fonte de biomassa, o seu transporte e coleta podem representar um grande custo, visto que é o material lignocelulósico é pouco denso, então a grande quantidade de matéria prima necessária pode fazer com que sejam necessários carregamentos muito volumosos, o que pode representar um grande custo (MAITY, S., 2015).

A biorrefinaria de primeira geração utiliza grãos comestíveis de matéria-prima, como cana-de-açúcar, milho, beterraba, entre outros. Já a de segunda é baseada na utilização de resíduos lignocelulósicos, como a palha e o bagaço de cana-de-açúcar (BASTOS, 2012). A integração delas faria com que as matérias-primas da biorrefinaria de segunda geração, que são os resíduos da tradicional (como palha e bagaço de cana-de-açúcar) já estejam na indústria, não precisando assim gastar com transporte e/ou compra dela. Além disso, diminuiria os custos de infraestrutura e, possivelmente, reduziria também o uso de enzimas (DIAS *et al.*, 2014). Esses fatos tornam a integração entre primeira e segunda geração de fundamental importância para viabilidade econômica do etanol de segunda geração. O fluxograma exposto na Figura 3.8 descreve resumidamente como seria uma produção de etanol integrada (1G e 2G) a partir da cana-de-açúcar.

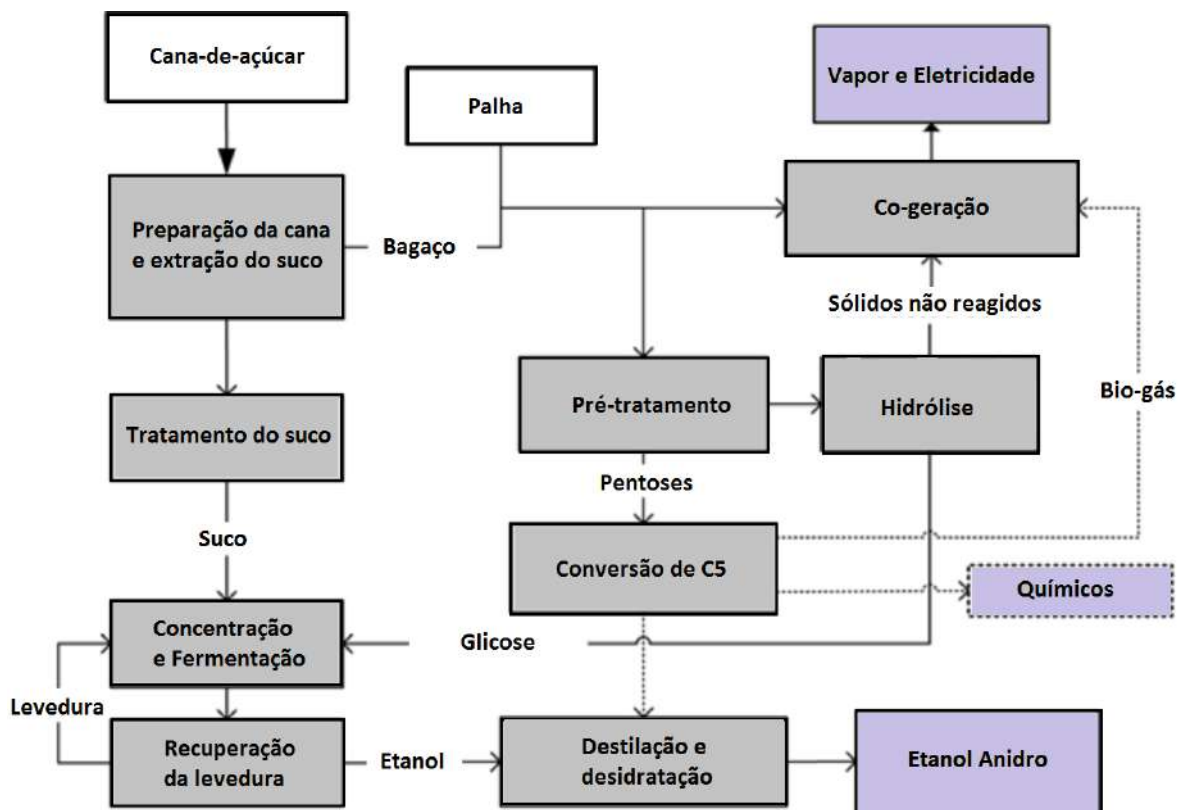


Figura 3. 3 – Produção de Etanol de primeira e segunda geração integradas (adaptado de DIAS et al., 2014)

Como foi visto anteriormente, um dos potenciais produtos das biorrefinarias é o etanol de segunda geração (E2G). Sua produção vem crescendo no Brasil ao passar dos anos também pela abundância desse material no território nacional.

A qualidade do E2G produzido depende predominantemente da sua rota de produção, que é composta pelas seguintes etapas: pré-tratamento, com objetivo de romper a estrutura lignocelulósica da biomassa; hidrólise enzimática, para quebrar os polímeros em unidades monoméricas fermentáveis; fermentação e destilação. (FITZPATRICK, M. *et al.*, 2010; HENDRIKS and ZEEMAN, 2009; MOSIER, N. *et al.*, 2005, ADITIYA, H. *et al.*, 2016).

A produção de etanol vem crescendo nos últimos anos, aumentando de 82,6 bilhões de litros em 2012 para 100,6 bilhões de litros em 2016, um acréscimo de 18 bilhões, que representa 22,8%, em 4 anos. Os principais produtores são EUA, Brasil, Europa, China e Canadá, nessa ordem, os dois primeiros juntos representaram 85% da produção global em 2016, como pode ser visto na Figura 3.9:

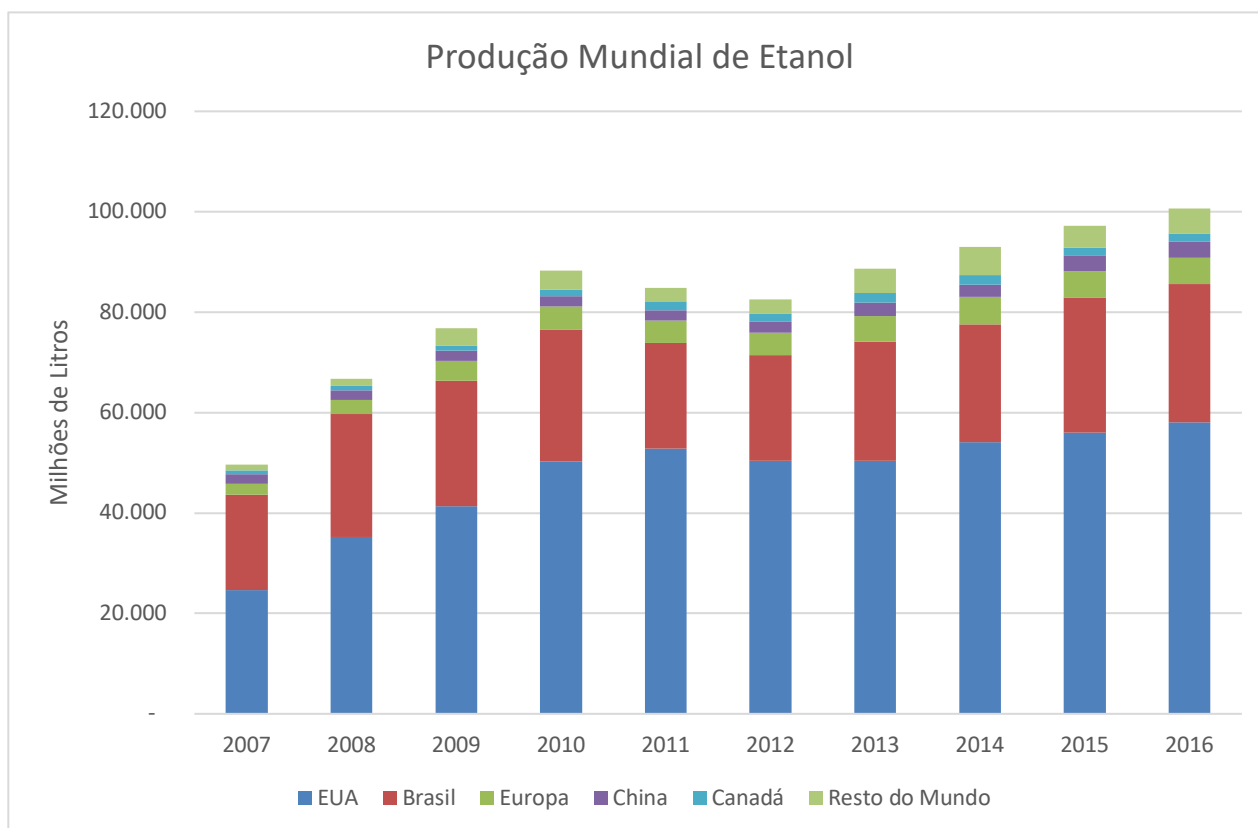


Figura 3.9 – Produção Mundial de Etanol (adaptado de Renewable Fuels Association)

Assim como o etanol, o E2G também tem perspectiva de ascensão em sua produção, entretanto estima-se que apenas em 2026 a produção brasileira será significativa, algo em torno de 635 milhões de litros (Novacana, 2017). Esse valor é bem diferente da produção planejada pelo governo brasileiro, que gira em torno de 2,5 bilhões de litros em 2030, essa diferença se dá ao fato de diversas usinas terem seu projeto cancelado e as que já estão em funcionamento encontrarem dificuldades técnicas (Novacana, 2017). Entretanto, segundo SOUZA, *et al.* (2018), a supressão do gene das plantas relacionado à dureza da parede celular pode significar um aumento de 40 - 60% na eficiência da hidrólise da biomassa, algo que pode modificar esse cenário pessimista citado anteriormente.

Apesar de o Brasil ser o segundo maior produtor de etanol, como vimos acima, o país ainda necessita importar etanol para suprir sua demanda. A importação está aumentando ano após ano desde 2013, tendo seu ápice em 2017, quando houve a importação de mais de 1,8 milhões de metros cúbicos de etanol, como pode ser visto na Figura 3.10. Esse fato demonstra que ainda há espaço no mercado brasileiro para evolução da indústria de etanol, e consequentemente de bioetanol (E1G e E2G).

Histórico da importação brasileira de etanol

Total de etanol importado pelo Brasil em cada ano (valores em m³)

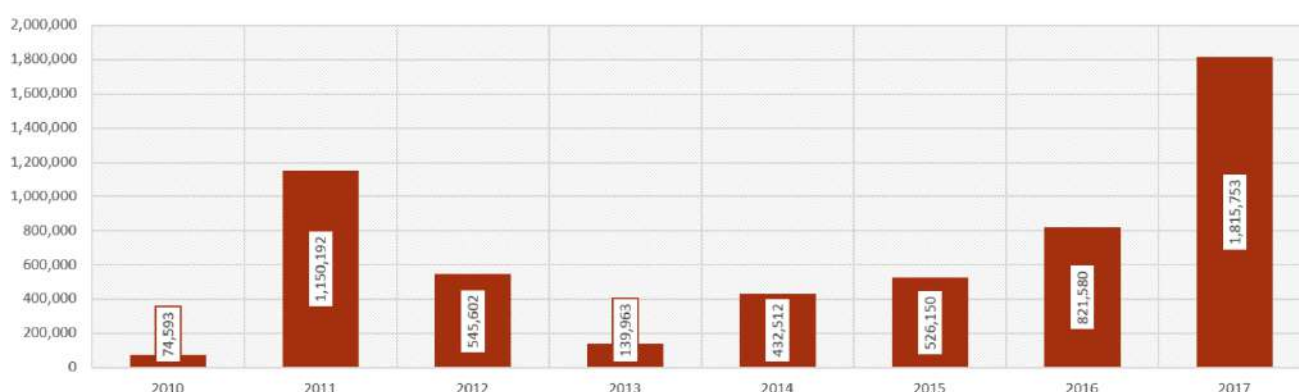


Figura 3. 4 – Histórico de importação de etanol pelo Brasil (Novacana)

Atualmente no Brasil temos duas plantas produtoras de E2G em operação (Raízen e GranBio). Ambas utilizam resíduos lignocelulósicos de cana-de-açúcar como matéria-prima para produção de etanol de segunda geração, no entanto diferente quanto ao tipo de pré-tratamento deste resíduo, a GranBio utiliza o processo hidrotérmico, enquanto a Raízen o processo de explosão a vapor, que serão abordados no decorrer desse trabalho.

Segundo o site de pesquisas Lux Research Inc., a GranBio e a Raízen estavam projetadas para terem o menor custo de produção de E2G entre as maiores produtoras em 2016, como pode ser observado na Figura 3.11 (enquanto a Raízen está projetada para produzir um galão de etanol a U\$ 2,17, a Abengoa gastaria U\$ 4,55), isso mostra o potencial da cana-de-açúcar como matéria-prima, visto que essas são as únicas duas indústrias que utilizam essa planta como fonte de açúcares. Entretanto, como foi citado acima, elas se encontram em dificuldades técnicas atrapalhando suas rentabilidades.

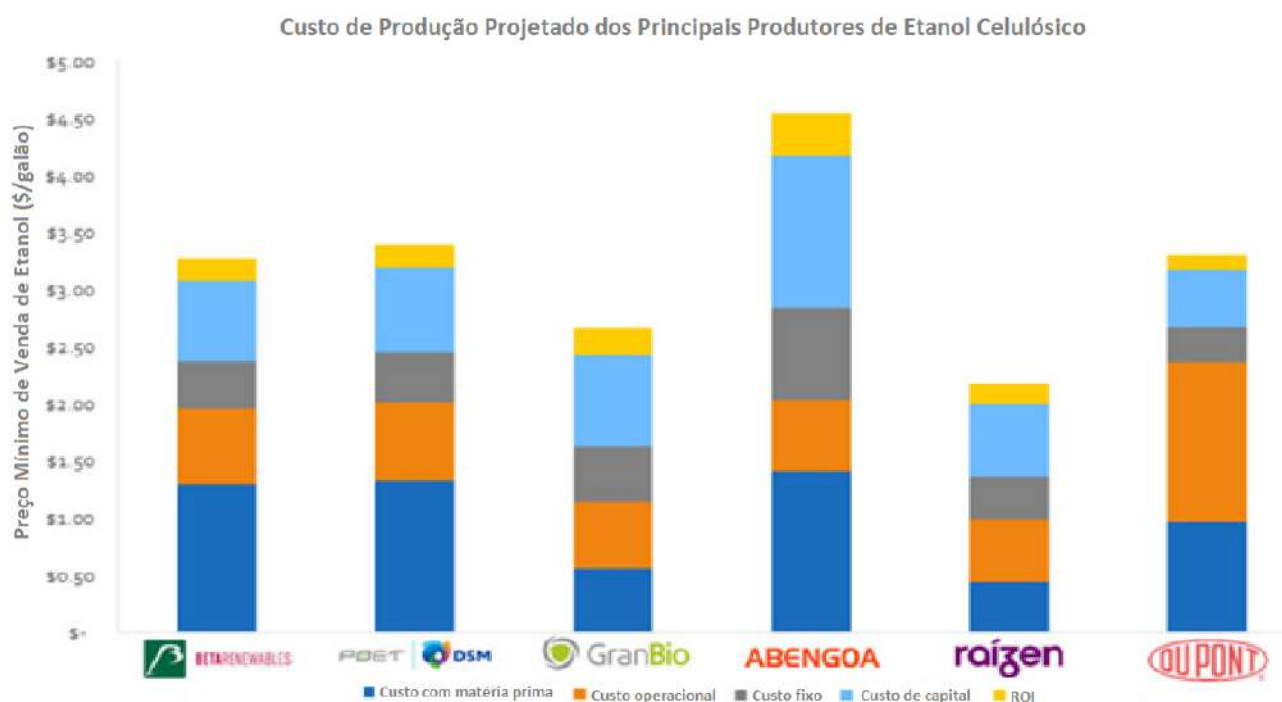


Figura 3. 5 – Projeção dos custos de produção das principais indústrias produtoras de E2G (Lux. Research Inc.)

3.3. Processo de Produção

O processo de produção de E2G consiste em 4 etapas, sendo elas as seguintes: pré-tratamento, hidrólise, fermentação e destilação. A etapa de pré-tratamento tem a função de facilitar o acesso da enzima à celulose na etapa seguinte, hidrólise. É a etapa mais estudada atualmente, por possuir grande influência nas etapas subsequentes. Sendo a eficácia do pré-tratamento medida pelo rendimento de conversão de celulose à glucose durante a hidrólise; e por ser uma das etapas mais custosas do processo e com maior campo para evolução, estima-se que o pré-tratamento é responsável por 33% do custo total do processo produtivo (IBRAHIM, 2012). Por esses motivos, o presente trabalho dará ênfase à esta etapa em específico.

A hidrólise é a etapa responsável por quebrar a celulose em seus monômeros, de glucose, e pode ser feita de duas maneiras: através do uso de ácido como catalisador ou enzimaticamente, sendo este último o mais usado. É na fermentação que a glucose é transformada em etanol, essa etapa pode ser realizada separadamente (processo SHF, *separated hydrolysis and fermentation*) ou simultaneamente com a anterior (processo SSF, *simultaneous saccharification and fermentation*) de forma integrada, através da mistura da biomassa lignocelulósica, enzima (que irá realizar a hidrólise) e levedura (responsável pela fermentação). Já a destilação aumenta a pureza do etanol, deixando-o próprio para comercialização (SOUSA, 2011; STENBERG et al., 2000; SUN e CHIENG, 2002).

Resíduos gerados no processo, como lignina, podem ser utilizados na geração de energia, podendo ser consumida ao longo do processo, ou ser exportada (PEIREIRA, 2008). O fluxograma do processo citado se encontra abaixo.

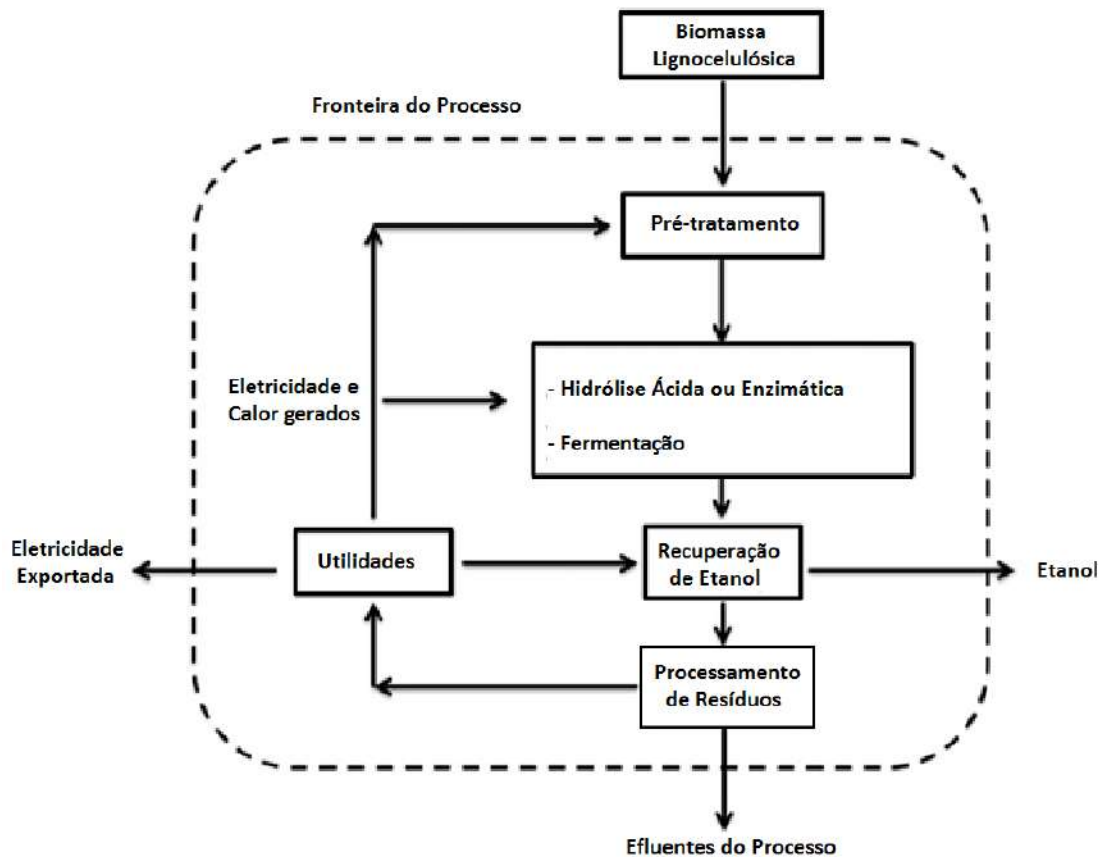


Figura 3.12 – Fluxograma simplificado do processo de produção de E2G (adaptado de KOUTINAS et al, 2014)

3.3.1. Pré-Tratamento

Os materiais lignocelulósicos possuem uma estrutura altamente cristalina, o que limita o acesso da enzima à celulose e hemicelulose na etapa de hidrólise enzimática, fazendo com que o rendimento dessa etapa seja menor do que 20%, caso não seja realizada a etapa de pré-tratamento. Dependendo do tipo de pré-tratamento, diferentes efeitos podem ser observados na biomassa pré-tratada, como:

- Remoção parcial ou quase total da lignina
- Rompimento da estrutura da lignina e de suas ligações com o restante da biomassa
- Redistribuição da lignina
- Remoção parcial ou quase total da hemicelulose
- Redução da cristalinidade da celulose

- Redução do grau de polimerização da celulose
- Aumento da porosidade e da área superficial

Dependendo do pré-tratamento aplicado ao material lignocelulósico o rendimento da hidrólise pode alcançar valores superiores a 90% (OGEDA e PETRA, 2010). A Figura 3.13 ilustra um esquema que representa o complexo lignocelulósico antes e depois de um pré-tratamento.

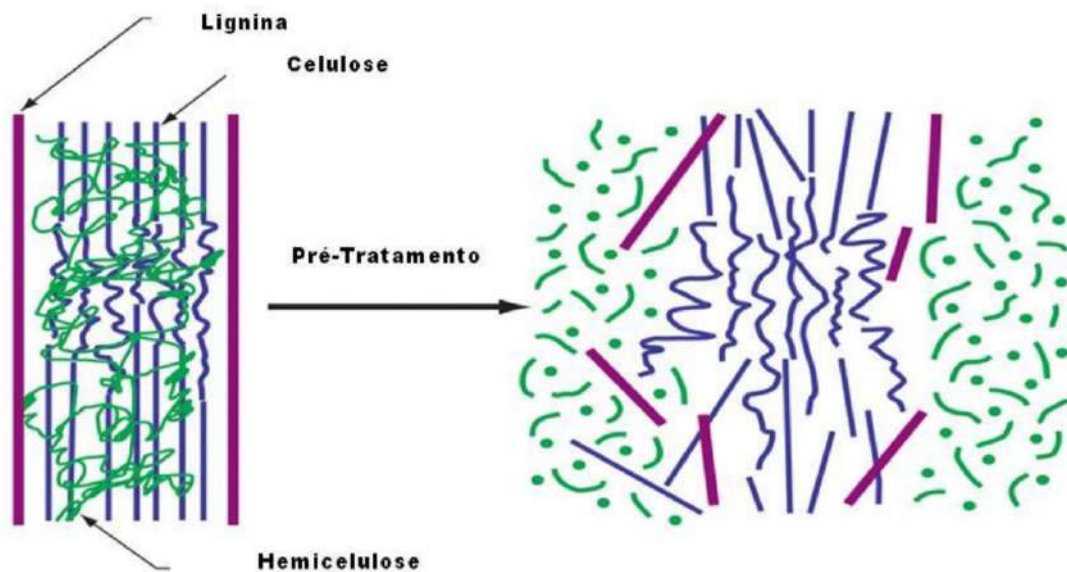


Figura 3. 6 – Estrutura da biomassa lignocelulósica antes e após a etapa de pré-tratamento (US Department of Energy Genome Programs)

Diferentes tipos de pré-tratamentos foram desenvolvidos, variando em princípios, rendimentos e efeitos e a escolha do método depende da biomassa a ser utilizada. Existem quatro classificações de pré tratamento: químico, físico, físico-químico e biológico (MORO, 2015).

Cada tipo de pré-tratamento possui suas vantagens e desvantagens, além de diferentes efeitos nos componentes da biomassa (celulose, hemicelulose e lignina). Por exemplo, os tratamentos físicos envolvem redução de tamanho de partícula e diminuição da cristalinidade através de técnicas de trituração e moagem. Melhorias nos resultados de hidrólise enzimática podem ser observadas pela redução da cristalinidade dos materiais tratados, devido a uma melhoria das propriedades de transferência de

massa pela redução do tamanho de partícula e aumento de tamanho dos poros. No entanto esse tipo de pré-tratamento requer alto gasto energético.

Já o pré-tratamento por explosão a vapor, é uma das técnicas de tratamento hidrotérmico mais empregadas para a biomassa lignocelulósica. Neste tratamento a biomassa é submetida a vapor sob pressão por um período de tempo que pode variar de segundos a minutos e ao final o do tempo de tratamento o reator é despressurizado rapidamente. Este tratamento combina forças mecânicas e químicas com o objetivo de hidrolisar os grupamentos acetilas presentes na hemicelulose (auto-hidrólise) promovendo a formação de ácido acético; além disso, a água pode atuar como ácido a altas temperaturas. Os efeitos mecânicos são causados pela rápida descompressão que provoca a separação das fibras. Em associação com a parcial hidrólise da hemicelulose e sua solubilização, a lignina é redistribuída e uma pequena parte é removida do material. A tabela abaixo apresenta algumas vantagens e desvantagens e a atuação de cada componente da biomassa dado o tipo de pré-tratamento:

Tabela 3.2 – Principais tipos de pré-tratamento, seus efeitos na biomassa, vantagens e desvantagens (adaptado de SANTOS et al., 2012)

Pré-tratamento	Procedimento	Característica Composicionais			Vantagens	Desvantagens
		Celulose	Hemicelulose	Lignina		
Físico	Moinho de bolas	Intensiva diminuição do grau de cristalinidade	Não remove	Não remove	Redução de cristalinidade	Alto consumo de energia
Químico	Ácido diluído	Pouca despolimerização	80-100% de remoção	Pouca remoção, mas ocorre mudança de estrutura	Condições médias, alta produção de xilose	Difícil recuperação do ácido, corrosivo e relativamente custoso
	Hidróxido de sódio	Inchação significativa	Considerável solubilidade	Considerável solubilização >50%	Remoção efetiva de ésteres	Reagente caro, recuperação alcalina
	ARP	Menor que 5% de despolimerização	~50% de solubilidade	~70% de solubilização	Efetiva deslignificação	Recuperação alcalina, relativamente caro
	Hidróxido de cálcio	Pouca despolimerização	Significativa solubilização	Solubilização parcial (~40%)	Efetiva remoção de lignina e acetil, baixo custo	Menor efetividade devido à pouca solubilidade da cal
	Ozonólise	Não foi observada despolimerização	Pequena solubilização	Solubilização acima de 70%	Efetiva deslignificação em condições suaves	Caro, necessidade de ozônio
	Organosolv	Considerável inchaço	Significativo, quase completo	Significativo, pode ser quase completa	Alta produção de xilose, efetiva deslignificação	Recuperação de solvente cara
Biológico	Biológico	20-30% de despolimerização	Acima de 80% de solubilização	~40% de deslignificação	Baixo recuperamento de energia, efetiva deslignificação	Perda de celulose, baixa taxa de hidrólise
Combinado	Explosão a vapor	Pouca despolimerização	80-100% de remoção	Pouca remoção, mas ocorre mudança da estrutura	Energia eficiente, nenhum custo de reciclagem	Degradação da xilana como produto inibitório
	AFEX	Diminuição do grau de cristalinidade	Acima de 60% de solubilização	10-20% de solubilização	Menor perda de xilanas, não formação de inibidores	Recuperação de amônia, não é efetivo para alta concentração de lignina

É importante frisar que não existe um tipo de pré-tratamento que seja melhor do que os outros em absoluto; a escolha do pré-tratamento a ser empregado depende do tipo de biomassa que seu processo utiliza (MORO, 2015). Por exemplo, para uma biomassa com alta teor de sólidos, o pré-tratamento físico apresenta consumo de água mais baixo (SILVA, *et al.*, 2013b), enquanto a explosão a vapor não é recomendada para produtos com altas concentrações de xilana e o AFEX (Ammonia Fiber Explosion) para biomassa com alta concentração de lignina (SANTOS *et al.*, 2012).

3.3.1.1 Pré-Tratamento Químico

É o tipo de pré-tratamento em que são adicionados agentes químicos, como por exemplo ácidos, bases e/ou solventes orgânicos, com objetivo de se remover a hemicelulose e lignina da biomassa facilitando o acesso das enzimas à celulose. Existem diversos tipos de pré-tratamento químico, como: alcalino, ácido diluído, ácido concentrado, ozonólise, organosolvente e ARP (Ammonia Recycled Percolation), sendo o segundo o mais utilizado, por empresas como Abengoa, Poet-DSM e Biogazol.

Apesar deste tipo de pré-tratamento apresentar uma eficácia muito grande, os resíduos químicos, como compostos fenólicos, ácidos alifáticos e aldeídos de furano, íons inorgânicos, entre outros, produzidos no processo têm caráter inibitório à fermentação (JONSSON *et al.*, 2013). Apesar de existirem métodos para mitigar os efeitos inibitórios, como utilizar aditivos químicos (bases e agentes redutores) e realizar um tratamento térmico ou enzimático, eles exigem um investimento mais significativo, além de reduzir o teor de açúcar, o que é prejudicial ao rendimento do processo (JONSSON *et al.*, 2013). Em adição aos problemas gerados pela formação de inibidores, há maior dificuldade com a manutenção de aparelhos e a necessidade de recursos para o tratamento de efluentes, devido à utilização de um ácido.

3.3.1.2 Pré-Tratamento Físico-Químico

Nesta classe estão inclusos a combinação dos pré-tratamentos físico e químico, como por exemplo AFEX (Ammonia Fiber Explosion) e explosão à vapor (ou hidrotérmico), sendo esse último o mais promissor (GALBE e ZACCHI, 2010).

A explosão à vapor consiste na utilização de água em condições de alta temperatura e pressão. Durante o processo, o vapor d'água penetra na biomassa e sofre condensação. Após a rápida descompressão, a água gera explosões dentro das fibras da biomassa, e por estar em equilíbrio com o vapor a alta pressão, ela evapora rapidamente. As explosões causam degradação das fibras, desestruturando-as, e facilitando o acesso à celulose (SAAD, 2010).

Esse processo não utiliza produtos químicos, o que representa uma vantagem no viés ambiental em relação ao pré-tratamento químico. Todavia, consegue-se solubilizar grande parte da hemicelulose, fazendo com que o rendimento seja mais elevado que alguns outros pré-tratamentos (SANTOS *et al.*, 2013). Como principal desvantagem, tem-se a formação de inibidores, derivados da degradação da xilana (parte da hemicelulose), devido à alta temperatura do processo. Esse método tem sido considerado promissor, e bastante estudado por diversas empresas, inclusive a Iogen, empresa situada em Ottawa, Canadá, que vendeu a tecnologia para a Raízen para ser implementada em suas plantas.

Já o pré-tratamento hidrotérmico consiste em manter a água na fase líquida em altas temperaturas (180 – 240 °C) através da pressurização, isso faz com que a água tenha sua força iônica aumentada e seja capaz de penetrar na parede celular da biomassa, hidratar a celulose e solubilizar a hemicelulose, removendo-a. Esse efeito é capaz de melhorar a digestibilidade enzimática do resíduo lignocelulósico (ROGALINSKI *et al.*, 2008; SILVA, 2009; MOSIER, *et al.*, 2005). O processo hidrotérmico promove uma modificação na composição química da biomassa, e segundo SANTOS *et al.* (2013), a palha de cana-de-açúcar que antes do processo apresentava uma composição de 45,3% de celulose, 31,51% de hemicelulose e 17,6% de lignina, após ser submetida ao pré-tratamento, a biomassa apresentou 56,39% de celulose, 2,54% de hemicelulose e 33,68% de lignina.

O método combinado a ser escolhido deve considerar a biomassa e as características da mesma, a eficiência nessa escolha será primordial para o sucesso e, consequentemente, viabilidade econômica do seu processo (SANTOS *et al.*, 2013).

3.3.1.3 Pré-Tratamento Biológico

Trata-se de um tipo de pré-tratamento que envolve a utilização de enzimas e de microrganismos para a remoção da lignina e redução da intensidade de polimerização da celulose e hemicelulose. (SANTOS *et al.*, 2013).

Esse pré-tratamento é realizado majoritariamente por fungos, e a efetividade desse processo varia de acordo com a biomassa e fungo, foi notado que cada tipo de biomassa apresenta diferentes resultados para cada microrganismo específico (MOOD, *et al.*, 2013). Foi constatado que enquanto *Aspergillus niger* e *Aspergillus awamori* mostraram maior eficiência para o pré-tratamento de palha de arroz e trigo, *Ceriporiopsis subvermispota* (PATEL, *et al.*, 2007; WAN e LI, 2010).

Apesar de consumir pouca energia, ter pouco impacto ambiental e não utilizar químicos, o pré-tratamento biológico não se apresenta competitivo comercialmente, devido à necessidade de uma vasta área, ao longo tempo de processo e ao rígido monitoramento do crescimento dos microrganismos que se apresenta crucial para o processo (MOOD, *et al.*, 2013).

3.3.1.4 Pré-Tratamento Físico

Este tipo de pré-tratamento surgiu como uma alternativa ao uso excessivo de ácidos/bases no pré-tratamento químico, tentando contrapor as suas principais desvantagens. Os principais exemplos deste tratamento encontrados na literatura são: moagem de discos, moagem de bolas, micro-ondas e extrusão. (MOOD *et al.*, 2013). Este último é o método que será discutido neste trabalho.

O mecanismo de atuação do pré-tratamento físico se baseia no cisalhamento das partículas por meio de fortes interações mecânicas, reduzindo a cristalinidade e aumentando a área superficial dos resíduos lignocelulósicos, e conseqüentemente, aumentando a eficiência da ação da enzima na etapa de hidrólise.

Os pré-tratamentos físicos, como um todo, têm como principais vantagens a não formação de produtos inibitórios nem de efluentes, fazendo com que se economize com a dispensa de processo de tratamento e disposição dos resíduos gerados, além de possivelmente possuir rendimento de hidrólise mais elevado devido à ausência de inibidores. Já entre as desvantagens, o consumo energético elevado é uma barreira econômica encontrada pelos pré-tratamento físicos.

3.3.1.4.1 Pré-Tratamento Físico por Extrusão

Inicialmente, as extrusoras foram desenvolvidas para o processamento de polímeros e matérias-primas nas indústrias de alimentos. O equipamento consiste em um cilindro com um ou dois parafusos (roscas) rotatórios que comprimem e carregam o material continuamente de uma porta de alimentação até uma saída. O cilindro é dividido em segmentos, o que permite que a temperatura seja controlada ao longo do comprimento, além de permitir a alimentação de aditivos por portas posicionadas em pontos selecionados.

Uma extrusora pode ter muitas funções, tais como amassar, homogeneizar e promover o cisalhamento. Os diferentes tipos de elementos que compõem a rosca de extrusão, tanto de transporte (diretos ou reversos) ou mistura, podem ser dispostos em

diferentes combinações de forma a promover a homogeneização, o cisalhamento e alongar o tempo de retenção. A possibilidade de alterar a configuração das roscas faz com que o processo de extrusão seja bastante flexível.

Foi observado por MORO (2015), que a configuração dos parafusos tem extrema influência na efetividade da extrusão como pré-tratamento, isso devido ao fato de a aplicação do elemento reverso promover um maior tempo de residência da biomassa na zona de mistura, segmento do parafuso que promove o cisalhamento. Na Figura 3.14 explicita-se a configuração dos parafusos, evidenciando as funções dos subconjuntos dos parafusos.

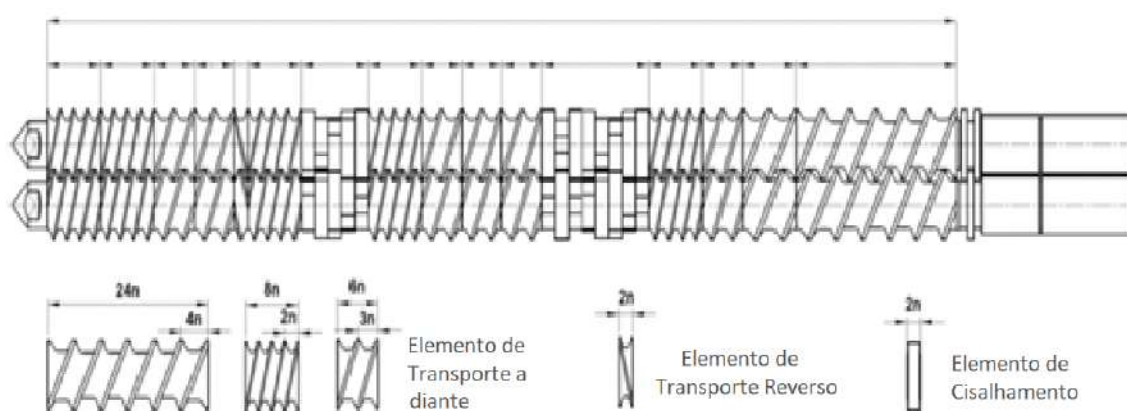


Figura 3. 7 – Configuração dos parafusos e seus subconjuntos (adaptado de SILVA et al., 2013b)

Nos últimos anos, as extrusoras têm sido utilizadas em pesquisas para o pré-tratamento da biomassa. Seu mecanismo promove o cisalhamento da biomassa através dos parafusos, facilitando o acesso à celulose na etapa de hidrólise. Além da ação mecânica, também ocorre o aquecimento da biomassa, que auxilia nesse processo (MOOD et al, 2013).

A extrusão possui diversas vantagens e desvantagens em relação aos outros tipos de pré-tratamento, tanto os físicos como os demais. Entre as vantagens, temos que a extrusão, por ser um processo contínuo, possui uma maior facilidade de produção em larga escala, em comparação com os outros, que são em batelada (LEE *et al.*, 2010). Além disso, por ser um pré-tratamento unicamente físico, a extrusão não gera nenhum inibidor para as etapas seguintes, como é o caso do pré-tratamento químico. Outra vantagem da extrusão é a não geração de efluentes, o que gera uma economia ao

dispensar a necessidade de tratamento e disposição dos mesmos (MOOD *et al.*, 2013). Em relação aos outros pré-tratamentos físicos, a extrusora consome, em média, menos energia que os outros equipamentos utilizam para pré-tratamento (SILVA, 2013a).

A extrusão pode ser combinada com o pré-tratamento químico, isso proporciona uma economia no consumo de água, por possibilitar com facilidade o pré-tratamento de biomassa com alto teor de sólidos (SILVA, 2013a). Entretanto, essa combinação faz com que seja necessário um tratamento dos efluentes gerados, apesar de o volume ser menor do que seria sem a presença da extrusão.

Entre as principais desvantagens da extrusão se encontra a necessidade de utilização de um aditivo afim de dar maior fluidez à biomassa evitando o entupimento e degradação da mesma, e melhorando o transporte e rendimento das etapas seguintes (SILVA, 2013a). Os aditivos mais estudados são etilenoglicol, dimetilsulfóxido e glicerol, por terem afinidade com a celulose e não interferirem na hidrólise da mesma (LEE *et al.*, 2009). Entretanto, o uso do aditivo representa um acréscimo no custo do processo, podendo fazer com que a extrusão seja uma técnica ainda inviável economicamente. Dentre esses supracitados, segundo MORO (2015), o glicerol foi o que demonstrou melhor custo benefício, por não possuir um preço muito elevado e proporcionar uma fluidez satisfatória à biomassa. Pesquisas com novos aditivos mais baratos e que não prejudiquem a biomassa e as etapas seguintes poderiam proporcionar grandes avanços no processo de extrusão e torná-lo economicamente mais vantajoso.

3.3.2 Hidrólise Enzimática

Após a etapa de pré-tratamento, ocorre a hidrólise enzimática dos polissacarídeos contidos nos materiais lignocelulósicos em monômeros de açúcares fermentescíveis. A partir da hidrólise de hemicelulose obtém-se os monômeros de arabinose e xilose, enquanto da celulose resulta em monômeros de glucose (OGEDA e PETRI, 2010).

Existem dois principais tipos de hidrólises, a ácida e a enzimática. Apesar de a primeira ser eficiente e apresentar baixos custos, ela gera inibidores das etapas

subsequentes, além de passíveis ambientais, e combinando esses fatos com os grandes rendimentos da hidrólise enzimática em condições mais brandas de temperatura e pressão, entende-se o motivo da sacarificação enzimática ser a mais utilizada e estudada (PEREIRA, *et al.*, 2015). Um grande desafio da hidrólise enzimática, porém, são os altos custos das celulases utilizadas, e mais estudos buscando formas de reduzir os custos relacionados a esse material são necessários.

O rendimento da hidrólise está diretamente ligado à efetividade do pré-tratamento, visto que essa etapa preliminar tem como função facilitar o acesso à celulose e hemicelulose, e quanto mais fácil é esse acesso, melhor será o rendimento da hidrólise. Logo, alguns fatores que influenciam a efetividade da hidrólise são o aumento da porosidade e da área superficial da lignocelulose, e a cristalinidade da celulose (PEREIRA, *et al.*, 2015). Além disso, alguns pré-tratamentos, como o ácido, podem gerar inibidores às celulases, sendo um dos fatores que podem reduzir o rendimento da hidrólise enzimática.

As enzimas são um grupo de substâncias orgânicas constituídas de proteínas que são capazes de catalisar reações químicas, viabilizando-as ou reduzindo o tempo de duração dessas reações. As enzimas capazes de realizar a hidrólise enzimática da celulose são as celulases, na verdade, para que a hidrólise enzimática seja possível, é necessária a atuação de forma conjunta de três conjuntos de celulases: as endoglucanases, as exoglucanases e as β -glicosidases (SILVA, 2010; LYND *et al.*, 2002).

Cada grupo tem uma função específica no processo de hidrólise, enquanto as endoglucanases clivam as ligações internas da região amorfa da celulose, o que provoca a liberação de oligossacarídeos com terminações redutores e não redutores livres, as exoglucanases são responsáveis pela hidrólise dessas terminações em moléculas de celobiose, por fim, essa celobiose e oligossacarídeos pequenos (grau de polimerização menor que 7) são hidrolisados a glucose pelas β -glucosidases (SILVA, 2010; WILSON, 2009; TEERI, 1997; WILSON, 2011).

3.3.3 Fermentação

A fermentação consiste na transformação de açúcares em etanol, gás carbônico, ésteres e alguns ácidos, através de reações bioquímicas (LEHNINGER, *et al.*, 2000). Os principais açúcares fermentáveis encontrados na biomassa lignocelulósica são a glicose e a xilose, oriundas da celulose e da hemicelulose, respectivamente (LIN e TANAKA, 2005).

Enquanto a fermentação da glicose é vastamente conhecida e estudada, o que faz com que já se tenha descoberto sua eficiência quando realizada pela *S. cerevisiae*, a fermentação da xilose é mais desafiadora, pois apenas algumas poucas leveduras são capazes de realizar a fermentação de forma eficiente (LIN e TANAKA, 2005).

Esta etapa do processo pode ser realizada de duas maneiras distintas, separadamente (processo SHF, *separated hydrolysis and fermentation*) ou simultaneamente com a anterior (processo SSF, *simultaneous saccharification and fermentation*), de forma integrada, através da mistura da biomassa, enzima (que irá realizar a hidrólise) e levedura (responsável pela fermentação).

O processo SSF deve ser altamente controlado devido aos grandes efeitos que uma pequena variação de temperatura pode causar na eficiência dessa etapa, pois a temperatura ótima para o processo de sacarificação é na faixa dos 50°C, enquanto a da fermentação é de 30°C (OLSSON, *et al.* 2005); OLOFSSON *et al.*, 2008; SOUZA, 2011). A adoção do SSF garante uma redução de custo em equipamentos do processo, por precisar de apenas um reator para realizar as duas etapas. Além disso, é possível obter taxas de hidrólises mais altas, devido à redução do efeito de inibição do produto, tendo em vista que a levedura consome rapidamente os açúcares que foram gerados (SOUZA, 2011).

3.3.4 Destilação

O etanol proveniente da etapa de fermentação precisa sofrer um processamento para remover a água contida na solução, gerando, assim, um etanol de alta qualidade, também conhecido como etanol anidro. Nessa etapa o etanol passa de cerca de 95,6% de pureza para, aproximadamente, 99,6% (Novacana).

O etanol anidro possui diversas aplicabilidades, sendo usado nas indústrias farmacêuticas, na fabricação de tinta, vernizes, solventes, entre outros produtos, além de ser usado como combustível substituto da gasolina ou misturado à gasolina para barateá-la e reduzir a emissão de poluentes.

Segundo KUMAR, *et al.* (2010), esse processo pode ser realizado de diversas formas, como destilação por adsorção, destilação azeotrópica, desidratação química, destilação por difusão, destilação extrativa, destilação por membrana e destilação a vácuo. Eles diferem entre si em relação à tecnologia empregada e à energia necessária para produção do etanol anidro, sendo que a destilação extrativa possui o menor consumo de energia dentre as técnicas estudadas (KUMAR, *et al.*, 2010).

Portanto, resumindo as informações apresentadas nesta seção, notamos que a produção de E2G vem crescendo gradualmente durante os últimos anos e o governo brasileiro tem uma meta bastante ambiciosa de produzir 2,5 bilhões de litros por ano em 2030. No entanto, ainda se encontram dificuldades em relação à sua viabilidade econômica, devido ao alto custo do processo, principalmente o pré-tratamento, que pode chegar a um terço do custo total de produção, e de produção de enzimas que necessitam de altos investimentos.

Uma possibilidade de pré-tratamento que vem ganhando mais espaço nos últimos anos é o pré-tratamento físico por extrusão. Esse processo possui vantagens por ser um processo contínuo, facilitando sua extrapolação para escala industrial, além de não gerar efluentes; entretanto sua viabilidade econômica ainda é incerta devido aos grandes custos energéticos do processo e os custos gerados pela necessidade de utilização de um aditivo para dar fluidez à biomassa.

4. Metodologia Experimental

4.1. Caracterização da Biomassa

A caracterização da biomassa é feita para determinar e mensurar todos os compostos presentes em quantidades expressivas na mesma, que usualmente são celulose, hemicelulose, lignina, cinzas e extrativos. Ela é imprescindível para o cálculo do rendimento da hidrólise enzimática, e, conseqüentemente, da eficiência do modelo de pré-tratamento por extrusão.

O procedimento de caracterização da composição química foi feito a partir do documento *Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass*, descrito por SLUITER *et al.*, (2011), detalhado a seguir. Primeiramente, as amostras de palha *in natura* foram previamente moídas e peneiradas, e, em seguida, foram secas a 40 °C em uma estufa a vácuo até atingirem teor de umidade inferior a 10%. As amostras secas, aproximadamente 300 mg, foram hidrolisadas com H₂SO₄ 72% (~4,92 g) a 30 °C por 1 h, sob agitação, seguido de uma diluição pela adição de água destilada (84 mL), para uma concentração final de ácido de 4%. As misturas foram autoclavadas a 121 °C por 1 h, resfriadas e filtradas em um filtro de fibra de vidro (Whatman GF/A 47 mm, Whatman International Ltd., Inglaterra), utilizando uma bomba a vácuo. A fração sólida obtida foi seca a 105 °C e utilizada para a determinação gravimétrica da lignina insolúvel e cinzas insolúveis em ácido. Uma amostra do líquido recuperado como filtrado (20 mL) foi neutralizada com CaCO₃, filtrada por filtros com 0,2 µm de poro e analisada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para determinar as concentrações dos açúcares monoméricos. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2. Processo de Extrusão

O processo de extrusão ocorreu dentro do Laboratório Bioetanol, situado na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), sob a supervisão da Prof^a. Elba P. S. Bon. Ele foi realizado na Extrusora de Rosca Dupla Paralela (*Thermo Fisher Scientific Haake PolyLab OS*), que é constituída pelos sistemas Rheomex PTW 16/25 OS e RheoDrive 7 OS agrupados, como indica a Figura 4.1. Sua configuração de rosca dupla dispõe de um comprimento (L) de 400 mm e um diâmetro (D) de 16 mm, apresentando assim uma razão de comprimento/diâmetro (L/D) de 25:1.



Figura 4.1 – Extrusora de Rosca Dupla *Thermo Fisher Scientific Haake PolyLab OS*

Além disso, a extrusora também possui seis diferentes zonas de aquecimento (Figura 4.2), em que é possível controlar individualmente a temperatura de cada zona. A velocidade de rotação das roscas e a vazão de alimentação também podem ser reguladas pelo software PolySoft OS, proveniente da própria marca do equipamento.

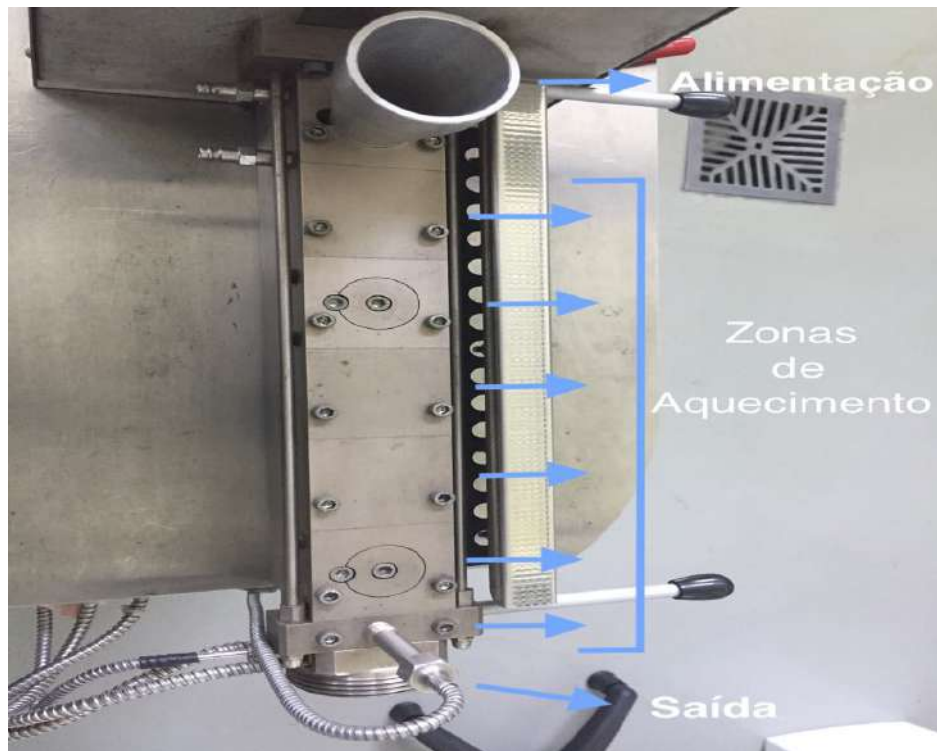


Figura 4.2 – Zonas de Alimentação, Aquecimento e Saída da Extrusora de Rosca Dupla (Vista Superior)



Figura 4.3 – Zonas de Alimentação, Aquecimento e Saída da Extrusora de Rosca Dupla (Vista Frontal)

No entanto, a alimentação no processo de extrusão foi feita de forma manual, tentando sempre utilizar uma vazão constante, para manter todo o cilindro da extrusora preenchido com biomassa. Foram processados 20 g de palha de cana-de-açúcar com glicerol como aditivo, a uma proporção de 1:0,53, para melhorar a fluidez dentro do equipamento. Sendo assim, foi utilizado um total de 30,6 g de material a ser tratado.

4.2.1. Configuração das Roscas

Os parafusos da extrusora são compostos por diversas roscas que, como pode ser observado nas Figuras 4.4 e 4.5, possuem diferentes formatos, cada uma com uma função, o que pode levar a diversas combinações possíveis. Os parafusos são divididos em zonas de transporte, onde ocorre apenas o transporte da biomassa; e zonas de mistura, onde ocorre o cisalhamento da biomassa.



Figura 4.4 – Configuração da rosca dupla utilizada neste estudo

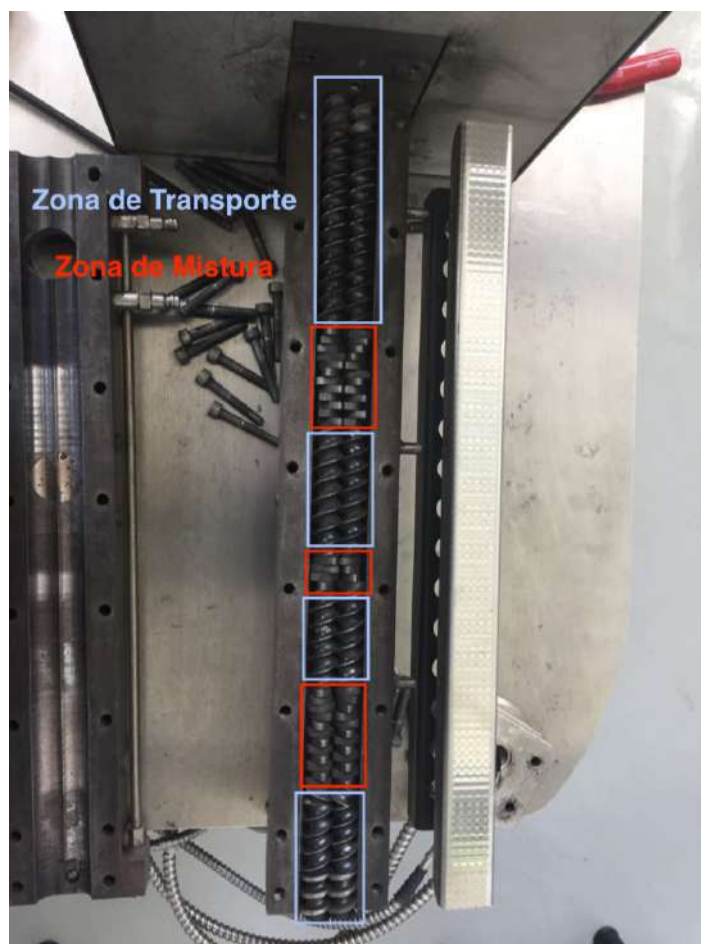


Figura 4.5 – Zonas de Transporte e de Mistura do equipamento

A zona de mistura apresenta apenas um tipo de rosca, enquanto a zona de transporte apresenta dois: um em que a rotação é feita no sentido da rotação da rosca, e um outro, chamado de elemento reverso (Figura 4.6), em que a rotação é no sentido contrário ao da rotação da rosca. Com isso, o elemento reverso promove um transporte do material no sentido contrário da alimentação, aumentando o tempo de residência na extrusora, o cisalhamento da biomassa e, conseqüentemente, o rendimento do processo. Estudos anteriores MORO (2015) mostraram que a introdução do elemento reverso foi o fator que mais afetou positivamente o rendimento do processo, quando comparado com temperatura e velocidade de rotação. Por este motivo, o elemento reverso é foco de estudo no presente trabalho.

Para esse trabalho, foi utilizada a conformação de roscas provenientes da tese feita MORO (2015) (Figuras 4.4 e 4.5), em que há a presença do elemento reverso, variando a temperatura e rotação afim de otimizar estes parâmetros.

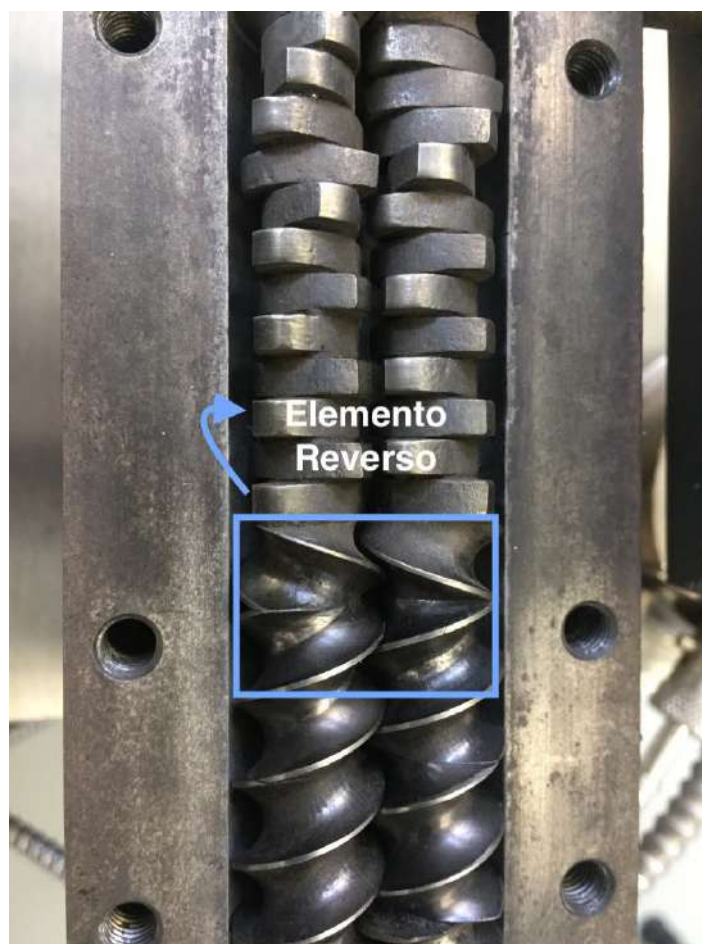


Figura 4.6 – Elemento Reverso dos parafusos

4.3. Dosagem Enzimática

Foi quantificada a atividade enzimática de FPase da enzima comercial Acremonium Cellulase (Meiji Seika Co, Japão) com objetivo determinar a massa de enzima a ser utilizada na etapa de hidrólise enzimática, utilizando uma carga enzimática de 15 FPU/g. Para a dosagem da concentração dos açúcares redutores liberados durante as reações enzimática, foi utilizada a metodologia DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) (MILLER, 1959).

4.3.1. Determinação da Atividade Enzimática (FPase)

A atividade de papel de filtro (FPase - Filter paper activity) foi determinada de acordo com a metodologia padrão descrita pela IUPAC e expressa em FPU/mL (GHOSE, 1987). O método baseia-se na dosagem da concentração de açúcares redutores liberados durante a degradação de uma fita de papel de filtro. O meio reacional constituiu-se de 0,5 mL do extrato enzimático (diluído em tampão citrato de sódio 50 mmol/L, pH 4,8, quando necessário), 1,0 mL de tampão citrato de sódio 50 mmol/L, pH 4,8 e uma tira de papel de filtro Whatman no 1 medindo 1,0 cm X 6,0 cm (aproximadamente 50 mg). A mistura reacional foi incubada a 50° C, durante 60 minutos. A reação foi interrompida pela adição de 3,0 mL de DNS, fervida por 5 min e resfriada em banho de gelo. Para a determinação da concentração de açúcares redutores pelo método do DNS, 0,2 mL da mistura resultante após a adição de DNS foram adicionados a cubetas descartáveis contendo 2,5 mL de água destilada e a absorbância da mistura foi lida a 540 nm. Para a determinação da concentração de açúcares, uma curva padrão de glucose foi construída de acordo com o recomendado por Ghose (1987).

É importante ressaltar que para a obtenção de resultados comparativos, as preparações enzimáticas precisam ser dosadas com base em níveis equivalentes de conversão. Na metodologia da IUPAC foi determinado um valor padrão para se calcular unidades de papel de filtro (FPU), correspondente a liberação de 2,0 mg de açúcares redutores a partir de 50 mg da fita de papel de filtro (~4% de conversão) em 60 minutos. Como a concentração de açúcares redutores não é uma função linear da quantidade de enzima na mistura reacional, a unidade de FPU pode ser definida somente nessa faixa de conversão. O procedimento, então, tem o objetivo de encontrar o fator de diluição da enzima original que resulte em 4% de conversão em 60 minutos de reação. O cálculo da atividade (em FPU/mL) da enzima deve ser feito com base na diluição requerida para obter a conversão estabelecida (ou em termos práticos, achar duas diluições, uma que catalise um pouco menos de 4% de conversão e outra um pouco mais, sendo possível achar a diluição exata por interpolação com certa precisão).

4.4. Hidrólise Enzimática

Após a etapa de extrusão descrita no item 4.2, as amostras foram submetidas à lavagem com água destilada com intuito de remover todo o glicerol presente e, posteriormente, foram secas a temperatura ambiente por aproximadamente 24h. Foram utilizados em torno de 5 L de água para lavar todo o material tratado de cada ensaio. Apesar do material não ter sido pesado após o fim do processo de extrusão, uma parcela da biomassa e do glicerol ficaram retidos dentro da extrusora. Logo, o volume de água utilizado na lavagem não representa o necessário para o total de material tratado, mas sim uma grande parte dele.

Em seguida, já com as biomassas secas, a hidrólise foi conduzida utilizando uma concentração de 5% em massa de biomassa com uma solução enzimática contendo 15 FPU da enzima comercial Acremonium Cellulase (Meiji Seika Co, Japão) e tampão citrato de sódio 50 mmol/L e pH 4,8.

As condições utilizadas durante a hidrólise foram de 50 °C e pH 4,8, uma vez que SADDLER e GREGG, 1998, confirmaram que a melhor faixa para realizar uma hidrólise enzimática com as características específicas da nossa enzima ocorre entre 45 e 55 °C e pH entre 4 e 5. A agitação foi mantida constante a 200 rpm e também foi utilizado azida de sódio para evitar contaminação.

Durante a hidrólise, foram coletados pontos em tempos pré-determinados (0, 3, 6, 9, 24, 48h) com a finalidade de construir um gráfico do perfil da hidrólise, em que o eixo das ordenadas é a porcentagem do rendimento de glucose e o eixo das abcissas, o tempo. Todos os pontos coletados na hidrólise enzimática foram feitos em triplicata.

Para o cálculo do rendimento da reação, foi utilizada a equação a seguir:

$$\eta (\%) = \frac{[Glucose] \times [f \text{ glucose}]}{[Biomassa \text{ in natura}] \times [f \text{ Celulose na biomassa}]} \times 100$$

onde:

- η : é o rendimento de glucose, já em porcentagem;
- [Glucose]: é a concentração de glucose medida nos pontos coletados durante a hidrólise;
- [f glucose]: é o fator de conversão, em massa, de celulose em glucose obtido pela estequiometria da reação química. Este fator corresponde ao valor de 0,9;
- [Biomassa *in natura*]: é a concentração da biomassa *in natura*;
- [f Celulose na biomassa]: é a fração de celulose contida na biomassa *in natura* previamente determinada durante a etapa descrita no item 4.1.

As leituras da concentração de glucose ([Glucose]) durante a etapa de hidrólise foram feitas através do equipamento Bioanalisador (YSI 2700 SELECT Biochemistry Analyzer).

4.5. Planejamento Experimental

Como parte fundamental deste projeto, foi feito um planejamento experimental com propósito de otimizar as condições operacionais do pré-tratamento físico por extrusão de rosca dupla na presença do elemento reverso.

Também será avaliado o consumo energético do equipamento para a discussão preliminar de sua viabilidade econômica.

4.5.1. Número Ótimo de Ciclos

O primeiro passo para a otimização do pré-tratamento é verificar a influência do número de ciclos no processo nas condições previstas por MORO (2015), que foram 85 °C e 85 rpm. Sabe-se que o aumento do número de ciclos fornece acréscimos ao rendimento de glucose, porém há um limite em que este aumento chega a ser

desprezível. Entretanto, como seus estudos foram feitos em uma outra configuração de roscas, este presente trabalho avaliará se a mudança na configuração dos parafusos resultará em uma quantidade diferentes no número de ciclos, podendo diminuir o tempo que a biomassa será submetida ao pré-tratamento.

Desta forma, foram realizados quantos ciclos fossem necessários, para tempos pré-determinados no item 4.4, até que o aumento do rendimento em glucose se tornasse insignificante.

4.5.2. Otimização de Temperatura e Velocidade de Rotação

Após os experimentos do item 4.5.1., foi realizado um planejamento experimental com o intuito de avaliar o efeito da temperatura e velocidade de rotação (variáveis independentes) sobre o rendimento em glucose. Para tal, foi utilizado a metodologia de Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) com fatorial 2^k . Além deste, foram incluídos 4 ensaios nas condições axiais e 3 repetições no ponto central, este último para viabilizar o cálculo de resíduos, e, conseqüentemente, o erro padrão, totalizando 11 ensaios. Os valores adotados para a codificação das condições foram retirados de RODRIGUES e IEMMA (2009), onde os máximos e mínimos são denominados por $\pm \alpha$ e são definidos da seguinte maneira:

$$\alpha = \pm (2k)^{1/4} , \text{ sendo } \alpha \text{ os valores codificados para otimização}$$

$k = 2$, sendo k o número de variáveis independentes (temperatura e velocidade de rotação)

Portanto:

$$\alpha = \pm 1,41$$

Assim, foi possível montar uma matriz que pode ser observada nas Tabelas 4.1 e 4.2, que relaciona os valores reais e os valores codificados. As variáveis independentes

de temperatura e velocidade de rotação foram avaliadas na mesma faixa de valores utilizadas por MORO (2015).

Em seguida, os 11 ensaios provenientes do DCC foram conduzidos a hidrólise enzimática como descrito no item 4.4, dessa vez apenas no tempo de 24h. As diferentes condições para cada ensaio podem ser observadas na Tabela 4.2.

Tabela 4.1 – Valores Reais Codificados para as Variáveis Independentes no processo de Otimização

Variáveis Independentes	-1,41	-1	0	1	1,41
Temperatura (°C)	30	46	85	124	140
Velocidade de Rotação (rpm)	20	39	85	131	150

Tabela 4.2 – Valores Reais e Codificados para os 11 ensaios no processo de Otimização

Ensaio	Variáveis Independentes			
	Valores Codificados		Valores Reais	
	Temperatura	Rotação	Temperatura (°C)	Rotação (rpm)
1	-1	-1	46	39
2	1	-1	124	39
3	-1	1	46	131
4	1	1	124	131
5	-1,41	0	30	85
6	1,41	0	140	85
7	0	-1,41	85	20
8	0	1,41	85	150
9	0	0	85	85
10	0	0	85	85
11	0	0	85	85

Os resultados foram analisados utilizando o *software* STATISTICA versão 7.0, em que foram geradas superfícies de resposta e curva de contorno. Elas permitem uma melhor visualização da influência das variáveis independentes e também uma predição de uma equação que forneça o maior rendimento teórico possível, de acordo com os parâmetros fornecidos. As variáveis dependentes obtidas pelo STATISTICA foram: corrente elétrica (A), potência (W) do equipamento e rendimento da hidrólise enzimática.

Por último, foi avaliado o coeficiente de determinação R^2 da equação fornecida pelo *software*; e também, através do diagrama de Pareto, quais parâmetros fornecem uma real relevância ao rendimento do processo e para uma probabilidade de significância (*p-valor*) de 5%.

5. Resultados e Discussão

5.1. Caracterização da Biomassa

Como descrito na seção 4.1, foi realizada a caracterização da palha de cana-de-açúcar *in natura* e o resultado pode ser observado na tabela abaixo.

Tabela 5.1 – Caracterização química da palha de cana-de-açúcar

Composição da Palha de Cana-de-Açúcar Tratada		
Componente	Média (%)	Desvio Padrão (%)
Celulose	31,2	0,08
Hemicelulose	26,1	0,04
Lignina	29,7	0,30
Cinzas	7,0	0,20
Extrativos	5,9	0,55

O resultado da caracterização, em especial a composição de celulose, é fundamental para o cálculo do rendimento da hidrólise enzimática, descrito no item 4.4.

Além disso, comparando esses resultados com a Tabela 3.1, mesmo sabendo que a composição da biomassa lignocelulósica depende de vários fatores externos como clima, localização geográfica e tipo de solo, pode-se observar que a palha utilizada neste estudo se encontra com teor de celulose e hemicelulose abaixo do normal encontrado na literatura (40-44% e 30-32%, respectivamente), enquanto o teor da lignina está um pouco acima da faixa (20-25%).

5.2. Atividade Enzimática (FPase)

Implementando a metodologia descrita no item 4.3.1 e realizando os experimentos em triplicata, obteve-se a seguinte tabela:

Tabela 5.3 – Valores de Absorbâncias a 540 nm para Atividade FPase a diferentes diluições

Valores de Absorbância a 540 nm						Fator DNS: 0,1196
Diluição (x)	Branco da Enzima	ABS 1	ABS 2	ABS 3	Média ABS	Concentração de Glucose (mg/0,5 mL)
2	0,014	0,314	0,326	0,364	0,321	2,68
4	0	0,192	0,266	0,191	0,216	1,81
6	0	0,098	0,133	0,094	0,108	0,91

Onde a Média ABS é a média dos valores em triplicata das absorbâncias diminuída do valor da absorbância do branco da enzima; e a coluna correspondente a concentração de glucose (mg/0,5 mL) é calculada a partir da divisão entre a Média ABS e o Fator DNS.

A partir desses destes valores é possível determinar, por regressão linear, uma equação que descreva a diluição em função da concentração de glucose (mg/0,5 mL). Os resultados podem ser analisados na Figura 5.1.

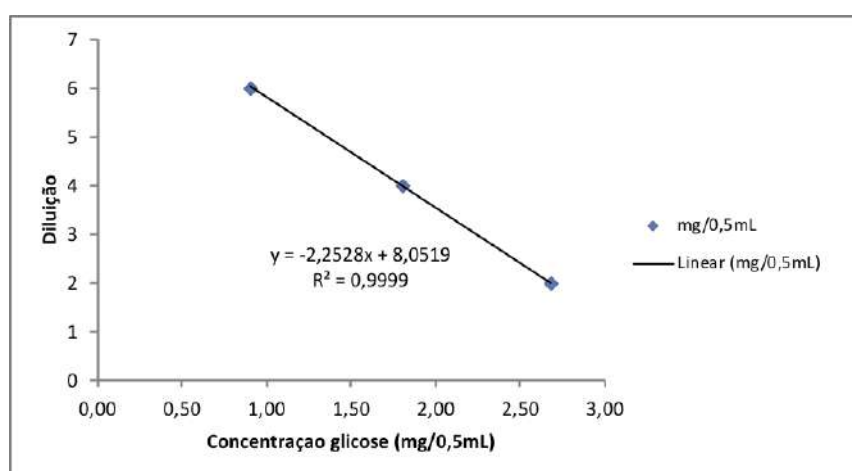


Figura 5.1 – Ajuste estatístico por regressão linear da diluição em função da concentração de glucose (mg/0,5mL)

Portanto, como pode-se observar, a equação que melhor representa a diluição em função da concentração de glucose é:

$$Y = -2,2528 X + 8,0519$$

onde Y representa a Diluição e X a Concentração de Glucose.

Também pode-se destacar no gráfico o alto valor de coeficiente de determinação (R^2), indicando que houve um ótimo ajustamento do modelo estatístico aos dados experimentais.

Como o objetivo é encontrar a diluição em 2 mg/0,5 mL, basta substituir na equação, obtendo:

$$\text{Diluição: } 3,55$$

Com a diluição, é possível determinar a atividade enzimática por volume (FPU/mL); basta multiplicar o valor da diluição por 0,37. Assim, obteve-se:

$$\text{Atividade: } 1,31 \text{ FPU/mL}$$

O valor de 0,37 é resultado da conversão de 2,0 mg de glucose em μ moles de glucose ($2000\mu\text{g} / 180 \mu\text{g}/\mu\text{mol}$), dividido pelo volume da enzima utilizado no ensaio (0.5 mL) e pelo tempo de incubação (60 minutos).

Transformando em unidade de massa, basta dividir pela concentração de biomassa utilizada (0,005 g/mL). Deste modo:

$$\text{Atividade: } 262 \text{ FPU/g}$$

Assim, visto que 15 FPU é a carga enzimática para 1g de biomassa e já que será utilizado 1,25g na etapa de hidrólise, isto corresponde a 18,75 FPU.

Por último, para determinar a massa de enzima a ser utilizada, basta realizar uma simples regra de três. Deste modo:

$$1 \text{ g ----- } 262 \text{ FPU}$$

$$m \text{ ----- } 18,75 \text{ FPU}$$

$$m = 0,072 \text{ g}$$

Logo, a massa de enzima a ser utilizada na etapa de hidrólise enzimática é de 0,072 g.

5.3. Hidrólise Enzimática e Número Ótimo de Ciclos

Seguindo a metodologia descrita no item 4.4, foram obtidos perfis da hidrólise enzimática em função do tempo para diferentes ciclos de extrusão nas condições de MORO (2015) (85 °C e 85 RPM) com o propósito de analisar até que ponto o número de ciclos era relevante para o processo e quando a hidrólise enzimática pode ser interrompida. Os resultados podem ser observados na Tabela 5.3, construída a partir do apêndice A e utilizando a equação explicitada no item 4.4 para o obter o valor em forma de rendimento, enquanto a Figura 5.2 mostra o perfil do rendimento ao longo do tempo.

Tabela 5.3 – Rendimento de glicose, em porcentagem, em função do tempo para diferentes ciclos

Rendimento (%) da Hidrólise Enzimática ao longo do tempo para diferentes ciclos						
Ciclos / t (h)	0h	3h	6h	9h	24h	48h
0	0	27,8 ± 2,3	30,1 ± 1,0	31,5 ± 0,9	35,3 ± 1,3	39,2 ± 1,9
1	0	30,4 ± 1,7	34,7 ± 1,8	36,4 ± 1,3	40,0 ± 0,2	44,8 ± 2,7
2	0	34,9 ± 1,5	39,3 ± 1,1	40,3 ± 2,2	44,9 ± 2,1	49,1 ± 1,9
3	0	35,3 ± 1,7	38,9 ± 3,1	44,8 ± 3,6	51,0 ± 2,5	51,1 ± 1,0
4	0	39,9 ± 4,0	44,2 ± 4,6	49,5 ± 5,5	57,3 ± 2,5	57,2 ± 3,1
5	0	42,1 ± 2,3	46,6 ± 2,0	51,9 ± 2,1	59,4 ± 2,0	59,3 ± 2,6
6	0	45,9 ± 1,0	49,0 ± 2,6	53,3 ± 4,0	63,4 ± 2,5	64,9 ± 2,6
7	0	45,4 ± 1,0	50,3 ± 2,1	54,8 ± 1,2	63,6 ± 2,0	64,0 ± 2,5

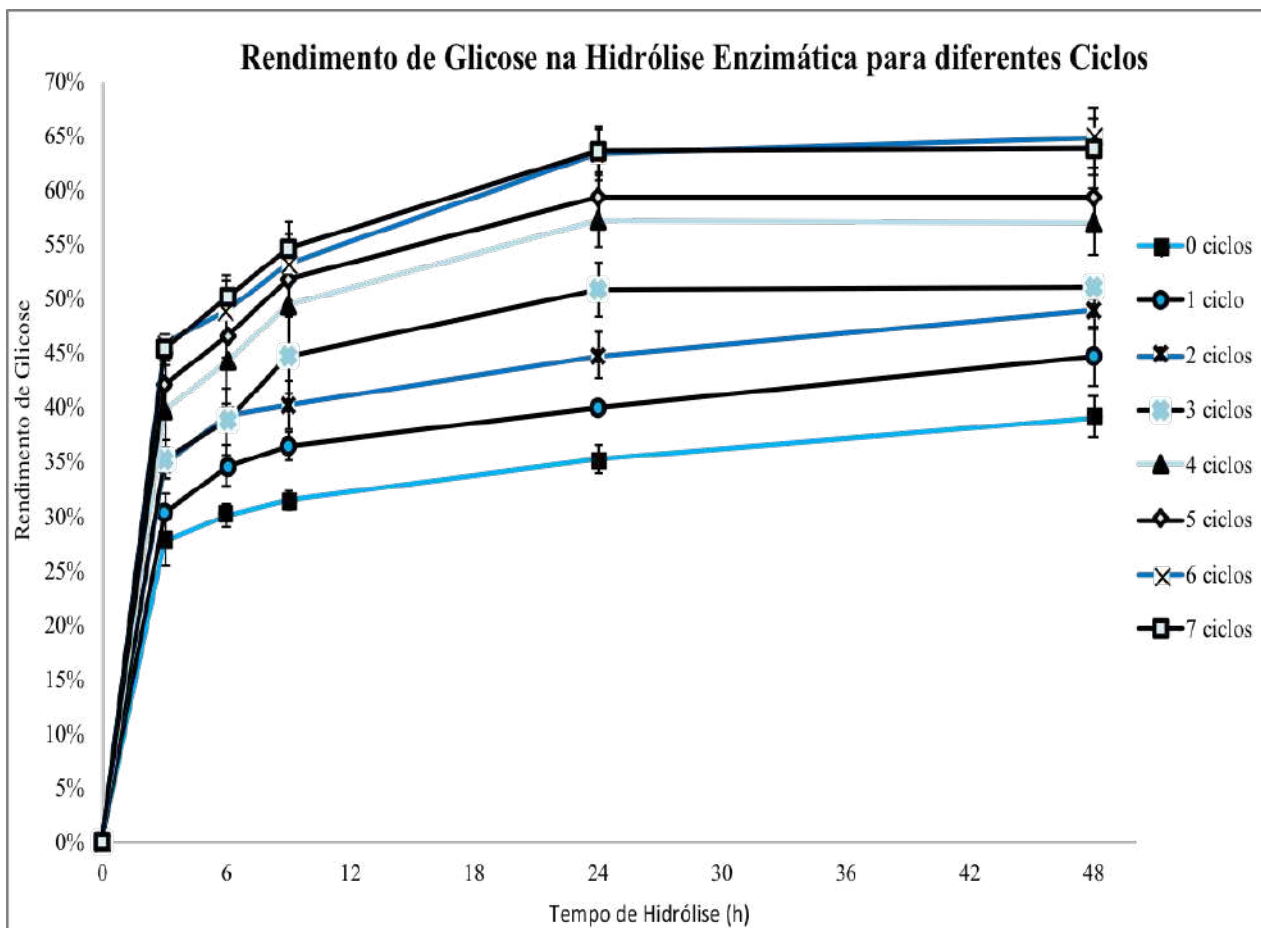


Figura 5.2 – Perfil do Rendimento de Glucose durante a Hidrólise Enzimática em função do tempo para diferentes ciclos

Antes de analisar os resultados, é relevante destacar que, durante a metodologia descrita no item 4.4, o glicerol foi removido apenas para se ter uma precisão maior da massa de biomassa que será utilizada, pois não se pode afirmar que a mistura entre a biomassa e o aditivo antes do processo se dava de forma completamente homogênea, e também pelo fato de parte do aditivo ficar retido nas paredes do equipamento durante o processo de extrusão. Estudos anteriores (LEE *et al.*, 2009) já comprovaram que a presença do glicerol não interfere na eficiência da hidrólise enzimática.

Os resultados obtidos tanto na Tabelas 5.4 como no gráfico do perfil (Figura 5.2) mostram que o aumento no número de ciclos causa, de fato, um incremento no rendimento da hidrólise, pois eles aumentam o tempo de residência que a biomassa permanece na extrusora. Nota-se também que, a partir do 7º ciclo, mesmo considerando o desvio padrão, não há um aumento significativo no rendimento, sendo então o número ótimo de ciclos o 6º. Como MORO (2015) havia determinado que foram necessários 7

ciclos sem o elemento reverso, este sendo um forte auxiliador no aumento do rendimento, esperava-se que o número de ciclos utilizando este elemento fosse menor ou igual ao obtido em sua tese sem a presença do mesmo.

Comparando estes resultados com aqueles obtidos por MORO (2015), é possível constatar que a incorporação do elemento reverso reduziu, para uma mesma eficiência, um ciclo no processo de pré-tratamento, o que por si só já diminui o custo do tratamento pelo fato de reduzir o consumo energético total.

Além disso, estes resultados podem determinar o comprimento ideal a ser utilizado por uma extrusora industrial, uma vez que cada ciclo representa mais um passe pelo equipamento. Neste caso, como o comprimento (L) da extrusora utilizada foi de 400 mm e cada ciclo representa um passe a mais no equipamento, uma extrusora industrial, para obter a mesma eficiência, deverá ter 7 vezes o comprimento utilizado, ou seja, 2,8m. Já o tamanho do diâmetro (D) é proporcional a vazão a ser utilizada no processo.

A Figura 5.2 também mostra que, de forma geral, não há um aumento expressivo de rendimento de 24 para 72h para a maioria dos experimentos. Em alguns dos ensaios realizados (ciclos 4 e 5) o rendimento até caiu levemente. O motivo mais provável para tal fato é uma possível contaminação, mesmo tendo sido utilizada azida, que acabou criando um ambiente favorável à proliferação de bactérias que consomem glucose. Portanto, o tempo ótimo que fornece a melhor relação entre a quantidade de glucose em função do tempo para a hidrólise enzimática é 24h.

Apesar de ter sido escolhido como tempo ótimo de hidrólise 24h, os resultados obtidos em 9h também são interessantes e poderiam ter sido escolhidos. Levando em consideração o custo energético, manter a hidrólise por uma diferença de 15h (de 9 a 24h) poderia não ser vantajoso do ponto de vista econômico para obter um acréscimo de 9% no rendimento, no caso do ciclo 6. Caso fosse escolhido o período de 9h, poderia ter sido escolhido o ciclo 5, ou até mesmo o 4, pois comparando seus rendimentos, não há uma diferença significativa. Como não foi possível avaliar o consumo energético do equipamento que realizava a hidrólise enzimática, o tempo ótimo de hidrólise foi mantido em 24h.

A partir desta análise, e levando-se em consideração esses dois principais fatores (nº de ciclos e tempo total de hidrólise), foi possível atestar que a condição operacional ótima para as condições propostas por MORO (2015) (85 °C e 85 rpm) utilizando o elemento reverso são 6 ciclos totais de extrusão, e hidrólise enzimática durante 24h. Sendo assim, a etapa subsequente, que será discutida no próximo item, será otimizar a temperatura e rotação do processo utilizando 6 ciclos e 24h de hidrólise.

5.4. Avaliação do Efeito da Temperatura e Velocidade de Rotação no Pré-tratamento da Palha de Cana-de-açúcar

As variáveis temperatura e velocidade de rotação foram avaliadas na mesma faixa de valores utilizadas por MORO (2015), ou seja, a temperatura variando entre 30 e 140 °C e a velocidade de rotação entre 20 e 150 rpm. Dessa forma, sabendo que os valores mínimos e máximos codificados são, respectivamente, -1,41 e +1,41, foi possível obter, por uma simples interpolação, uma tabela com os valores codificados (Tabela 4.1).

As hidrólises enzimáticas foram feitas nas mesmas condições descritas no item 4.4, porém desta vez os pontos foram coletados apenas em 24h, como foi discutido no item 5.3. Além disso, foi utilizado um multímetro para medir a corrente elétrica durante o processo de extrusão e determinar sua potência para discussão da viabilidade econômica deste tipo de pré-tratamento. Os resultados dos experimentos podem ser observados na Tabela 5.4.

Tabela 5.4 – Resultado do Rendimento da Hidrólise Enzimática e Potência para os 11 ensaios da Otimização

Tabela de Ensaios para Otimização						
Dados Experimentais – 24h de Hidrólise						
		Variáveis Independentes		Variáveis Dependentes		
Ensaios		T (°C)	Rotação (rpm)	i méd (A)	Potência (W)	η (%)
Fatorial	1	46	39	1,8	685,9	47,2
	2	124	39	2,8	1066,9	71,0
	3	46	131	1,7	647,8	48,0
	4	124	131	3,2	1219,4	73,8
Axial	5	30	85	1,8	685,9	48,4
	6	140	85	3,4	1295,6	74,7
	7	85	20	1,8	685,9	52,1
	8	85	150	2,7	1028,8	62,8
Central	9	85	85	2,6	990,7	67,8
	10	85	85	2,6	990,7	65,2
	11	85	85	2,6	990,7	65,0

Os resultados da Tabela 5.4 mostram que a temperatura por si só possui uma grande relevância para o rendimento total, visto que os maiores rendimentos (ensaios 2, 4 e 6) foram os de maior temperatura, enquanto os menores rendimentos (ensaios 1, 3 e 5) foram realizados a temperaturas mais baixas. Já a velocidade de rotação não aparenta, a princípio, ter uma grande influência sobre o rendimento total, uma vez que a diferença percentual do rendimento entre os ensaios 2 e 4, realizados a uma mesma temperatura, foi menor do que 3%, enquanto a diferença na velocidade de rotação entre eles foi bem expressiva; 39 rpm para o ensaio 2 e 131 rpm para o ensaio 4.

Diferentemente dos resultados obtidos por MORO (2015), em que a temperatura e rotação não tiveram tanto impacto sobre o rendimento, o processo de extrusão com a presença do elemento reverso apresentou dependência com a temperatura do cilindro, e essa relação será discutida a seguir com o uso do *software* STATISTICA.

Além disso, também foi possível observar uma forte relação linear entre a temperatura e a potência gerada. Seu cálculo foi feito a partir da multiplicação do valor da corrente máxima obtido pelo multímetro multiplicado pela voltagem do aparelho (220 V) e por último por $\sqrt{3}$, pois o sistema é trifásico. Este resultado também será útil posteriormente, para o estudo preliminar da viabilidade econômica deste processo a nível industrial.

A partir dos resultados obtidos na Tabela 5.4, foi gerado uma superfície de resposta, e, a partir dela, uma superfície de contorno, para auxiliar na otimização do processo. Elas podem ser observadas nas Figuras 5.3 e 5.4.

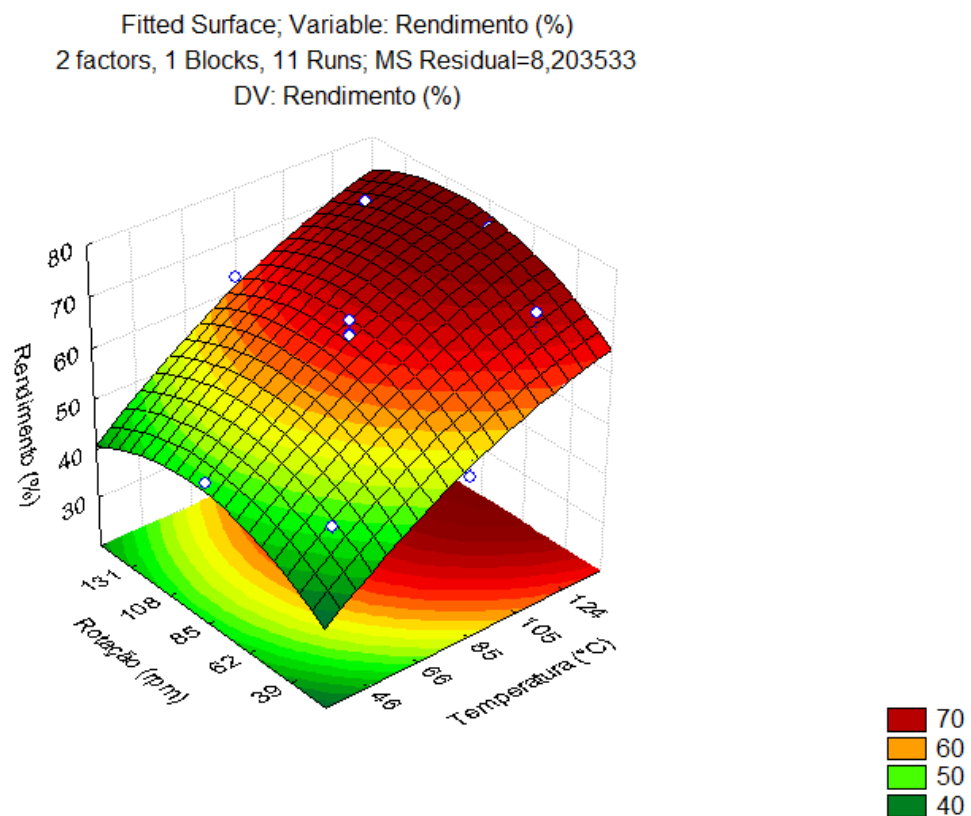


Figura 5.3 – Superfície de Resposta gerado a partir do *software* STATISTICA

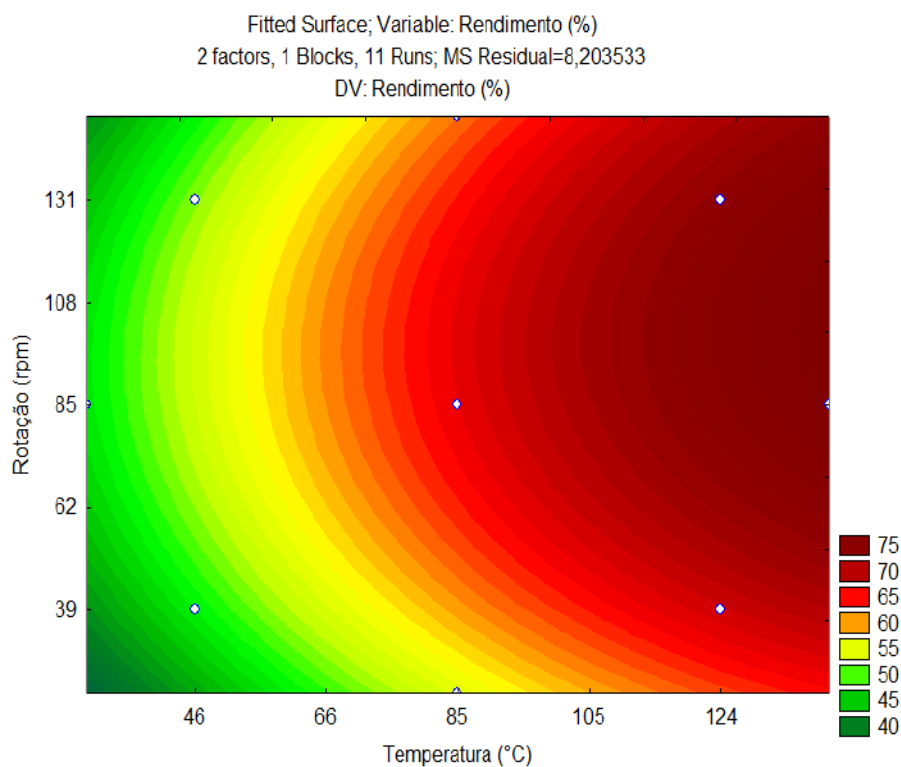


Figura 5.4 – Curva de contorno gerado a partir do *software* STATISTICA

Nas Figuras 5.3 e 5.4, é possível observar que, independente da velocidade de rotação, os maiores valores de rendimento estão atrelados aos maiores valores de temperatura. Valores mais baixos de temperatura forneceram rendimentos extremamente baixos, chegando a menos de 50%.

Outro item que pode ser observado é a escala de cores utilizada na Figura 5.4. Pode-se rapidamente fazer uma análise visual qualitativa e constatar que o melhor rendimento dentro do espaço amostral abordado foi 140 °C e velocidade de rotação entre 100 e 120 rpm.

Além dos gráficos, os dados experimentais analisados pelo STATISTICA também fornecem uma análise quantitativa do modelo. A Figura 5.5, retirada do *software*, mostra, em vermelho, todos os coeficientes relevantes para uma equação que relacione os valores lineares (L) e quadráticos (Q) de temperatura e velocidade de rotação, e, em preto, todos os valores que tem pouca influência na mesma.

Effect Estimates; Var.:Rendimento (%); R-sqr=.96368; Adj.:92736 (Spreadsheet média)										
2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=8,203533										
DV: Rendimento (%)										
Factor	Effect	Std.Err.	t(5)	p	-95, % Cnf.Limt	+95, % Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95, % Cnf.Limt	+95, % Cnf.Limt
Mean/Interc.	65,99123	1,653616	39,90722	0,000000	61,7405	70,24198	65,99123	1,653616	61,74047	70,24198
(1)Temperatura (°C)(L)	21,73130	2,028301	10,71404	0,000123	16,5174	26,94521	10,86565	1,014151	8,25869	13,47261
Temperatura (°C)(Q)	-4,18048	2,420291	-1,72726	0,144701	-10,4020	2,04108	-2,09024	1,210146	-5,20102	1,02054
(2)Rotação (rpm)(L)	4,70929	2,028301	2,32179	0,067902	-0,5046	9,92320	2,35464	1,014151	-0,25231	4,96160
Rotação (rpm)(Q)	-8,31005	2,420291	-3,43349	0,018565	-14,5316	-2,08849	-4,15503	1,210146	-7,26580	-1,04425
1L by 2L	0,98000	2,864181	0,34216	0,746146	-6,3826	8,34261	0,49000	1,432091	-3,19131	4,17131

Figura 5.5 - Efeito Linear (L) e Quadrático (Q) das Variáveis Independentes no Rendimento de Glucose gerados pelo software STATISTICA

A partir da Figura 5.5, foi possível obter a equação que representa o modelo matemático na forma codificada, onde T representa a temperatura e R a velocidade de rotação.

$$\eta (\%) = -2,09024 \times T^2 + 10,86565 \times T - 4,15503 \times R^2 + 2,35464 \times R + 65,99123$$

$$(R^2 = 0,96368)$$

Para obter os valores ótimos codificados de T e R, basta derivar parcialmente a equação e igualar a zero. Logo:

$$T = + 2,65 \quad ; \quad R = + 0,44$$

Como o valor ótimo de temperatura extrapolou a faixa utilizada (-1,41 a +1,41), não é possível afirmar que este realmente seja o melhor valor, uma vez que, a diferentes intervalos, a superfície de resposta pode mudar, e, conseqüentemente, mudar a equação fornecida. Portanto, o melhor valor que pode ser afirmado para T é +1,41.

Sendo assim:

$$T_{\text{ótimo}} = + 1,41 \quad ; \quad R_{\text{ótimo}} = + 0,44$$

Em valores reais:

$$T_{\text{ótimo}} = 140 \text{ }^{\circ}\text{C} \quad ; \quad R_{\text{ótimo}} = 105 \text{ rpm}$$

Analisando o diagrama de Pareto (Figura 5.6), somente o termo linear da temperatura e o termo quadrático da rotação foram significativo para uma significância de 5% ($p = 0,05$). Portanto, caso haja necessidade de simplificar o modelo, as outras variáveis podem ser removidas da equação que fornece o rendimento do processo.

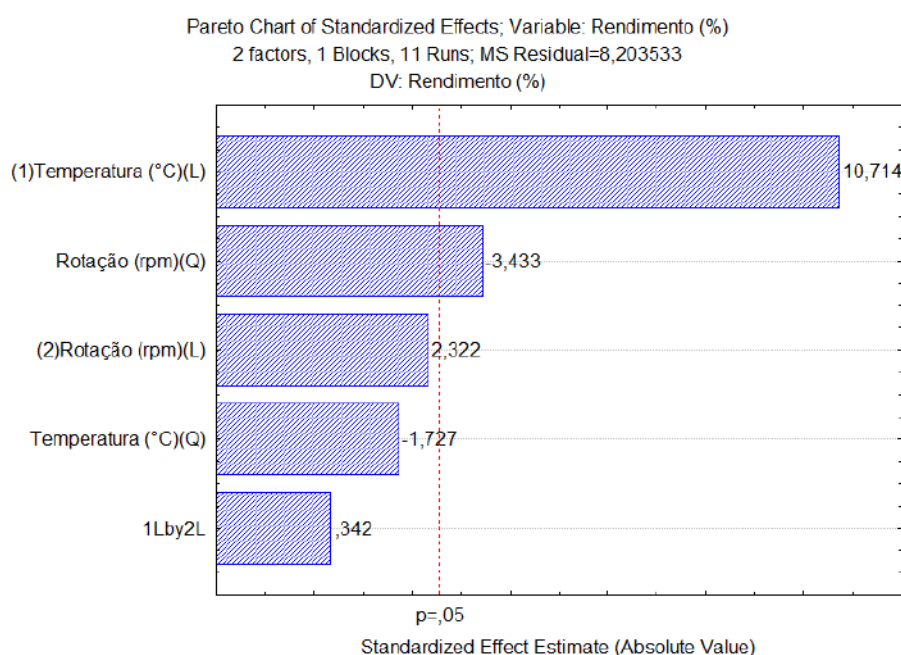


Figura 5.6 – Diagrama de Pareto construído através da análise estatística para o rendimento (%) de hidrólise da palha de cana-de-açúcar

Com os valores ótimos de temperatura (T) e velocidade de rotação (R) obtidos, respectivamente, 140 °C e 105 rpm, substituindo na equação, na forma de valor codificado (+ 1,41 e + 0,44), obtêm-se

$$\eta_{\text{máx}} (\%) = 78$$

Por último, vale ressaltar que, como a melhor temperatura obtida foi o ponto máximo da faixa escolhida, é possível que uma temperatura superior a 140 °C forneça

um rendimento ainda maior. Entretanto, essa condição operacional do processo pode acabar culminando em queima do material, inviabilizando o processo. Também não foi possível, por problemas operacionais, validar este modelo experimental.

5.5. Consumo Energético

Assim como foi feito no item 5.4, os valores de temperatura e rotação também podem ser utilizados para determinar, por interpolação, o custo energético do pré-tratamento. Pode-se observar na Tabela 5.4, principalmente comparando os ensaios 5 e 6, que os valores medidos de corrente elétrica, e, conseqüentemente, da potência gerada, dependem praticamente apenas da temperatura. Portanto, utilizou-se somente a temperatura para realizar a interpolação. Deste modo, o valor da potência, nas condições ótimas, é:

$$Pot = 1295,6 W$$

Como o tempo de residência medido foi de aproximadamente 5,2 min e foram necessários 6 ciclos (7 passes) pela extrusora, isso nos dá um tempo de residência total de 36,4 minutos, ou 2184 segundos. Além disso, como descrito no item 5.3, foram utilizados 30,6g de material tratado (20g de biomassa e 10,6 de glicerol), e assim pode-se obter a vazão mássica, em g/s. Sendo assim:

$$\dot{m} = 0,014 g/s$$

Por fim, pode-se então obter o quanto de energia é necessária para o processo por massa de material tratado. Para isso, basta dividir a potência, em kW, pela vazão, em g/s, fornecendo o custo energético, em kJ, por grama de material. Desta forma:

$$E_c = 92,5 kJ/g$$

Este valor de consumo energético por massa de material tratado será útil para a discussão da viabilidade econômica deste tipo de pré-tratamento.

6. Análise Econômica Preliminar

Uma vez que foram explicitadas as vantagens do processo físico por extrusão além dos promissores resultados experimentais descritos nesse trabalho, foi realizada uma análise econômica preliminar para discutir e evidenciar a possível viabilidade de aplicação industrial desse processo. Para tal análise foi realizada uma comparação entre a pré-tratamento por extrusão e o hidrotérmico, sendo este último utilizado pela GranBio, a única produtora de E2G a partir de palha de cana-de-açúcar em escala industrial instaladas no Brasil. Vale ressaltar que não foi encontrado nenhum outro trabalho na literatura que fizesse um estudo de viabilidade econômica do uso da extrusão para pré-tratamento de resíduos da cana-de-açúcar em escala industrial. Analisou-se os custos com a matéria prima, energia, água e aditivo (no caso da extrusão), assim como os custos fixos e variáveis e dos equipamentos.

Para isso, foram utilizados os resultados encontrados nos experimentos realizados (composição da biomassa, rendimento da hidrólise e consumo energético) e foi extrapolado para a escala industrial para comparar os custos com os do processo atualmente aplicado.

A GranBio tem uma capacidade produtiva de 82 milhões de litros de E2G por ano, foi realizado um cálculo estequiométrico para estimar quanto de biomassa seria necessário, considerando um rendimento teórico de 100%:

$$1 \text{ tonelada de palha} - 312,3 \text{ kg de celulose (1)}$$

$$312,3 \text{ kg de celulose} - 281,07 \text{ kg de glucose (2)}$$

$$281,07 \text{ kg de glucose} - 143,34 \text{ kg de etanol (3)}$$

$$143,34 \text{ kg de etanol} - 181,44 \text{ Litros de etanol (4)}$$

(1) Baseado na composição da biomassa, descrito no item 5.1

(2) Fator de conversão de celulose para glucose: $0,9 \frac{\text{g glucose}}{\text{g celulose}}$

(3) Rendimento teórico estequiométrico de glucose para etanol: $0,51 \frac{g \text{ etanol}}{g \text{ glucose}}$

(COLOMBI *et al.*, 2017)

(4) Densidade do etanol = 0,79 kg/L (PERRY e GREEN, 2008)

Assim, se 1 tonelada de palha é capaz de produzir 181,44 litros de etanol, para produzir 82 milhões de litros seriam necessárias 451940 toneladas de palha processada anualmente, o que significa 1238 toneladas diárias.

A partir desse valor teórico foi calculado a quantidade de palha necessária levando em conta o rendimento de 80,5% do pré-tratamento por extrusão, encontrado na otimização dos experimentos descrita no item 64, desse modo é necessário processar 1538 toneladas de palha diariamente. Já para o pré-tratamento hidrotérmico, é necessário utilizar 1407 toneladas diariamente, visto que o processo hidrotérmico possui uma eficiência de 88% (LIU e WYMAN, 2005).

No estudo no qual LIU e WYMAN (2005) obtiveram essa eficiência citada acima, foi utilizado 90 mL de água para cada 6,5 grama de biomassa, o que significaria um consumo anual de 7.110.944 toneladas de água. Já o consumo energético, calculado no item 5.5, para a extrusão foi de 92,5 kJ/g, ao converter para Quilowatt-hora foi encontrado um gasto energético de 0,0227 Kwh por grama de biomassa, ou seja, 22.700 Kwh por tonelada de palha. Entretanto, ao fazer um scale-up, baseado no trabalho de SPALDING e CHATTERJEE (2018) de scale-up energético para extrusora de dupla rosca, foi observada uma redução para 2,39 Kwh por tonelada de resíduo lignocelulósico processado, já para o hidrotérmico foi considerado um consumo de 1,77 Kwh por tonelada de biomassa tratada (PANARO, 2016).

Na tabela 6.1 abaixo foram explicitados os preços das principais matérias primas utilizadas nos processos de pré-tratamento que estão sendo analisados:

Tabela 6.1 - Preços das principais matérias primas utilizadas nos pré-tratamentos analisados

Matéria Prima	Preço (R\$)
Biomassa (R\$/ton) ¹	129,00
Água Tratada (R\$/ton) ²	20,97
Energia (R\$/Kwh) ³	0,315
Glicerol (R\$/ton) ¹¹	864,00

Fontes: ¹ - Ethanol Producer; ² -Companhia de Saneamento de Alagoas; ³ - Aberdee; ¹¹ - Aliceweb

A partir dos dados expostos acima, foi confeccionada a Tabela 6.2, que representa o consumo anual dessas matérias primas e seus respectivos custos.

Tabela 6.2 - Consumo anual de matérias primas de cada pré-tratamento e seus respectivos custos

USINA GRANBIO				
Pré-tratamento	Extrusão		Hidrotérmico	
	Consumo anual	Custo anual	Consumo anual	Custo anual
Palha de cana-de-açúcar (ton)	561.416,15	R\$ 72.422.683,23	513.488,64	R\$ 66.240.034,09
Água Tratada (ton)	-	-	7.110.944,06	R\$ 149.116.496,87
Energia (Kwh)	1.3397.43,08	R\$ 422.019,07	906.875,45	R\$ 285.665,77
Aditivos (ton)	297.550,56	R\$ 257.083.682,98	-	-
Total	-	R\$ 329.928.385,28	-	R\$ 215.652.458,09

A partir dessa análise preliminar foi possível constatar que o custo de processo do pré-tratamento por extrusão foi superior ao valor gasto no pré-tratamento hidrotérmico, cerca de 50% maior, o que demonstra que a extrusão ainda não é uma

opção de pré-tratamento economicamente viável. Como foi explicitado anteriormente, o consumo de glicerol representa o principal gasto desse processo, cerca de 78% do custo total. Entretanto, deve-se considerar que o glicerol utilizado no experimentos e na análise acima possui uma pureza bastante elevada, recomenda-se realizar experimentos com o glicerol gerado como subproduto na produção de biodiesel, e analisar a efetividade da extrusão utilizando esse aditivo. Vale ressaltar que para a análise econômica utilizou-se o preço do glicerol encontrado no Aliceweb (R\$ 864 por tonelada), que é consideravelmente inferior ao do glicerol usado em laboratório (R\$ 2000 por tonelada) (MFRURAL). Caso o rendimento da hidrólise não sofra grandes reduções, a extrusão pode representar uma tecnologia mais competitiva industrialmente, pois o uso desse glicerol representaria uma grande redução nos custos do processo, visto que o seu preço é inferior ao glicerol utilizado. Além de existir a possibilidade de geração de biodiesel, e consequentemente glicerol, na própria biorrefinaria. Ademais, a energia gasta no pré-tratamento por extrusão também se mostrou superior ao do processo hidrotérmico, representando acréscimo de custo de aproximadamente 47%.

Outro ponto relacionado ao uso de glicerol que deve ser considerado é a viabilidade de uma lavagem da biomassa e uma posterior recuperação do etanol. Caso seja possível, esse reaproveitamento pode significar grandes economias no processo ao economizar com os gastos com o glicerol.

Nessa análise econômica, foi observado que para a GranBio o principal custo está em seu consumo de água, que é classificado como custo operacional, esse resultado vai de acordo com o estudo realizado pela Lux Research Inc., previamente explicitado na Figura 3.11, que demonstra que, diferentemente das outras indústrias, que a GranBio tem seus custos operacionais superiores ao custo ligado à biomassa (feedstock costs).

Além da análise de custos operacionais e de matéria-prima, realizou-se um estudo para investigar os investimentos necessários com equipamentos e instalações da planta. Tal avaliação foi baseada no trabalho de SAPEKIE E RENSHAW (1983) e demonstrou que os custos de capital da extrusora foram 8,4% superiores aos necessários no processo hidrotérmico, como pode ser visto na Tabela 6.3.

Tabela 6. 2 – Investimento necessário para os pré-tratamentos analisados

Pré-tratamento	Extrusão	Hidrotérmico
Custo do Equipamento (CE)	R\$ 3.127.905,00 ¹	R\$ 2.630.000,00 ²
Outros Investimentos Fixos	R\$ 1.939.301,10	R\$ 1.630.600,00
Investimento Fixo (IF)	R\$ 5.067.206,10	R\$ 4.260.600,00
Investimento Variável (30% CE)	R\$ 938.371,50	R\$ 789.000,00
Investimento Capital (IF + IV)	R\$ 6.005.577,60	R\$ 5.538,780,00
Capital de Giro (15% IC)	R\$ 900.836,64	R\$ 830.817,00
Investimento Total	R\$ 6.906.414,24	R\$ 6.369.597,00

Fonte: ¹: https://www.alibaba.com/product-detail/cheap-price-SJSZ-55-110-WPC_60699509718.html?spm=a2700.7724838.2017115.207.41cdc489DWgNAV; ²: (PANARO, 2016)

Ao apresentar tanto um custo operacional, custo com a matéria-prima e um custo de investimento superior ao hidrotérmico, comprovou-se que a extrusão ainda não se apresenta competitiva economicamente.

7. Conclusão

A influência do número de ciclos, temperatura do cilindro e velocidade de rotação foram avaliadas para a palha de cana-de-açúcar pelo processo de pré-tratamento físico de extrusão com rosca dupla com a presença do elemento reverso, utilizando glicerol como aditivo a uma proporção estabelecida de 0,53 g de glicerol a cada 1g de palha. O processo de extrusão tem como mecanismo de ação o cisalhamento da biomassa, rompendo a rígida barreira criada pela lignina, facilitando o acesso enzimático a celulose, proporcionando uma maior conversão da mesma à glucose.

Foi observado que, a partir do 6º ciclo de extrusão, não houve um ganho expressivo no rendimento de glucose, sendo assim possível obter o tamanho ideal do equipamento, que neste caso foi de 2,8m, para uma vazão de 0,014 g/s.

Além disso, as análises do planejamento experimental com o *software* STATISTICA apuraram a influência da temperatura e velocidade de rotação para uma extrusão de 6 ciclos com o elemento reverso, sendo o primeiro demasiadamente mais significativo para o processo. Foi obtido, como resultado otimizado, uma temperatura elevada (140°C) e uma velocidade de rotação intermediária (105 rpm). Foi possível também determinar uma equação que fornecesse o maior rendimento possível para o processo (80,5%) com um elevado coeficiente de determinação (0,96368).

Apesar de ter apresentado bons resultados, a faixa de temperatura utilizada para a estatística não se mostrou ampla o suficiente, portanto pode ser possível que se consiga trabalhar a uma temperatura ligeiramente elevada do que o ótimo encontrado, otimizando ainda mais o processo. Entretanto, essa recomendação deve ser levada com máxima cautela, pois trabalhar com uma temperatura extremamente elevada pode ocasionar a queima do material e gerar um grande prejuízo ao processo.

Ademais, a análise econômica preliminar explicitou que o processo de extrusão não se apresenta competitivo em comparação ao hidrotérmico, mesmo nas condições otimizadas feitas no planejamento experimental. Os principais motivos são a necessidade de um aditivo, maior consumo energético, menor rendimento de conversão a glucose e maior necessidade de investimentos devido ao alto custo de equipamento.

Portanto, a extrusão se mostrou como um excelente tipo de pré-tratamento, conseguindo converter aproximadamente 80% da glucose a etanol. Esse alto rendimento, que ainda pode ser melhorado, pode torná-la competitiva a nível de mercado com outros pré-tratamentos já utilizados, caso seus custos energéticos e com aditivos sejam reduzidos.

8. Sugestões Futuras

- Estudar diferentes configurações e/ou designs para as roscas dos parafusos, podendo ser acrescentado mais elementos reversos a extrusora, visto que este é um dos fatores que tem maior impacto no rendimento da hidrólise enzimática.
- Investigar possíveis novos aditivos e suas melhores proporções, com a finalidade de reduzir o custo do processo e aumentar a fluidez da biomassa. Apesar do glicerol ter sido o melhor aditivo encontrado até então, ele representa um grande custo no processo de forma geral.
- Estudar a viabilidade econômica para o tratamento da recuperação de aditivos, também objetivando reduzir custos do processo.
- Aprofundar o estudo sobre o escalonamento do processo de extrusão, principalmente visando reduzir seu consumo energético.

9. Referências Bibliográficas

ADITIYA, H. B., MAHLIA, T. M. I., CHONG, W. T., NUR, H., SEBAYANG, A. H., Second generation bioethanol production: a critical review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 66, p. 631-653, 2016

AGÊNCIA INTERNACIONAL DE ENERGIA,
<https://www.iea.org/topics/renewables/bioenergy/>, visitado em 14/01/2018

ALIBABA, https://www.alibaba.com/product-detail/cheap-price-SJSZ-55-110-WPC_60699509718.html?spm=a2700.7724838.2017115.207.41cdc489DWgNAV,
acessado em 8/01/2018

ALICEWEB, <http://aliceweb.mdic.gov.br//consulta-ncm/>, acessado em 10/01/2018

ALVES, J. M. B., MACRI, R. C. V., Etanol de segunda geração: estudo de materiais lignocelulósicos e aplicações da lignina, FATEC, 2013

ALVIM, J. C., ALVIM, F. A. L. S., SALES, V. H. G., OLIVEIRA, E. M., SALES, P. V. G., COSTA, A. C. R., Biorrefinarias: Conceitos, classificação, matérias primas e produtos, *Journal of bionergy and food Science*, v. 1, n.3, p. 61-77, 2014

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENERGIA ELÉTRICA,
<http://www.abradee.com.br/setor-de-distribuicao/tarifas-de-energia/tarifas-de-energia>, acessado em 17/01/2018

BASTOS, V. D., 2012, Biorrefinarias, biocombustíveis e química renovável: revolução tecnológica e financiamento, *Jornal do BNDES* vol. 38, p. 85-138, 2012

BORGES, J. C., Obtenção de nanofibras via hidrólise enzimática de polpa de eucalipto por celulases de *Aspergillus niger* e produção de biomassa extracelular por fungo isolado de cacau. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, 2012

BRITISH PETROLEUM,
<https://www.bp.com/content/dam/bp/en/corporate/pdf/energy-economics/statistical-review-2017/bp-statistical-review-of-world-energy-2017-full-report.pdf>, acessado em 20/01/2018

COLOMBI, B. L., ORTIZ, M. A., ZANONI, P. R. S., MAGALHÃES, W. L. E., TAVARES, L. B. B., Efeito de compostos inibidores na bioconversão de glicose em etanol por levedura *Saccharomyces cerevisiae*, *ENGEVISTA*, v.19, n.2, p.339-352, 2017.

COMPANHIA DE SANEAMENTO DE ALAGOAS, encontrado em
<http://casal.al.gov.br/estrutura-tarifaria/>, acessado em 17/01/2012

D'ALMEIDA, M. L. O., Composição Química dos Materiais Lignocelulósicos *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, 1988.

DIAS, M. O. S., CAVALETT, O., FILHO, R. M., BONOMI, A., Integrated First and Second Generation Ethanol Production from Sugarcane, *Chemical Engineering Transaction*, v. 37, p. 445-450, 2014

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, <https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/202632/avancos-tecnologicos-na-producao-de-bio-oleo-gas-de-sintese-hidrogenio-e-etanol-a-partir-de-biomassa-florestal>, visitado 15/10/2017.

ETHANOL PRODUCER, <http://ethanolproducer.com/articles/13085/lux-cellulosic-ethanol-price-hinges-on-feedstock-cost>, acessado 12/01/2018

GALBE, M.; ZACCHI, G. Produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos. In: CORTEZ, L. A. B. (Coord.). Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade. São Paulo: Blucher, p. 697-750, 2010

GOVERNO BRASILEIRO, <http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2017/04/safra-2017-2018-de-cana-de-acucar-deve-ser-de-647-milhoes-de-toneladas>, visitado 26/01/2018.

FitzPatrick, M., Champagne, P., Cunningham, M.F., Whitney, R.A., A biorefinery processing perspective: treatment of lignocellulosic materials for the production of value-added products. *Bioresour. Technol.* vol. 101, p. 8915–8922, 2010

HENDRIKS, A. T. e ZEEMAN, G., Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass, *Bioresour. Technol.* vol. 100, p. 10-18, 2009

IBRAHIM, H. A., Pretreatment of straw for bioethanol production, *Energy Procedia*, vol. 14, p. 542-551, 2012

JONSSON, L. J., ALRIKSSON, B., NILVEBRANT, N., Bioconversion of lignocellulose: inhibitors and detoxification”, *Biotechnology for biofuels*, 2013, <https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/1754-6834-6-16>, acessado em 11/11/17

KOMURA, R. K., Investigação dos métodos de separação, uso e aplicação da lignina proveniente da biomassa lignocelulósica, Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Mecânica) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2015.

KOUTINAS, A. A., VLYSIDIS, A., PLEISSNER, D., KOPSAHELIS, N., GARCIA, I. L., KOOKOS, I. K., PAPANIKOLAOU, S., KWAN, T. H., LIN, C. S. K., Valorization of industrial waste and by-product streams via fermentation for the production of chemicals and biopolymers, *Chemical Society Reviews*, v. 43, p. 2587-2627, 2014

KUMAR, S., SINGH, N. and PRASAD, R., “Anhydrous ethanol: A renewable source of energy”. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14, p. 1830-1844, 2010.

LEE, S., TERAMOTO, Y., ENDO, T., Enhancement of enzymatic accessibility by fibrillation of woody biomass using batch-type kneader with twin-screw elements, *Bioresource Technology* v. 101, p. 769–774, 2010

LEE, SEUNG-HAWN.; TERAMOTO, Y.; ENDO, T., Enzymatic saccharification of woody biomass micro/nanofibrillated by continuous extrusion process I – Effect of additives with cellulose affinity. *Bioresource Technology*, v. 100, p. 275-279, 2009

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de bioquímica. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 2000.

LIEW, W. H., HASSIM, M. H., D. K. S, Review of evolution and sustainability assessment of biofuel production, *6th International Conference on Process Systems Engineering*, p. 930–935, Kuala Lumpur, Malaysia, 2013.

LIN, Y., TANAKA, S., Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects, *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 69, p. 627-642, 2005

LIU, C. e WYMAN, C. E., Partial flow of compressed-hot water through corn stover to enhance hemicellulose sugar recovery and enzymatic digestibility of cellulose”, *Bioresource Technology*, v.95, p.1978-1985, 2005

LUX. RESEARCH INC., http://media.marketwire.com/attachments/201602/MOD-27161_PR_Graphic_AF_2_23_16.jpg, visitado em 14/01/2017

LYND, L. R., WEINER, P. J. W., ZYL, W. H. V. Z., PRETORIUS, I., Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 66, p. 506-577, 2002

MAITY, S., Opportunities, recent trends and challenges of integrated biorefinery: Part II, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.43, p. 1446-1466

MFRURAL, <http://www.mfrural.com.br/detalhe/glicerol-204524.aspx>, visitado em 17/12/2017

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

MORO, M. K., Pré-tratamento da biomassa de cana-de-açúcar por extrusão com dupla-rosca, Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2015

MOSIER, N., S., HENDRICKSON, R., BREWER, M., HO, N., SEDLAK, M., DRESHEL, R., WELCH, G., DIEN, B. S., ADEN, A., LADISCH, M., R., Industrial scale-up of pH-controlled liquid hot water pretreatment of corn fiber for fuel ethanol production, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.125, p.77-97, 2005

OGEDA, T. L., PETRI, D. F. S., Hidrólise enzimática de biomassa, *Química Nova*, vol. 33(7), p. 1549-1558, 2010

OLOFSSON, K., BERTILSSON, M., LIDÉN, G., A short review on SSF – an interesting process for ethanol production from lignocellulosic feedstocks, *Biotechnology for Biofuels*, 1(1), p. 7, 2008

OLSSON, L., JORGENSEN, H., KROGH, K. B. R., ROCA, C., Bioethanol production from lignocellulosic material. In: polysaccharides structural diversity and functional versatility. S. Dimitriu (ed), Marcel Dekker, New York, p. 957-993, 2005

PANARO, M. S., Impacto no pré-tratamento por moinho de bolas na produção de etanol de segunda geração, Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Bioprocessos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2016

PATEL S. J., ONKARAPPA, R., SHOBHA, K. S., Comparative study of ethanol production from microbial pretreated agricultural residues, *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, v. 11, p. 137-141, 2007

PEREIRA, L. G., DIAS, M. O. S., MARIANO, A. P., BONOMI, A., Economic and environmental assessment of n-butanol production in an integrated first and second generation sugarcane biorefinery: fermentative versus catalytic routes, *Applied Energy*, vol. 160, p. 120-131, 2015

PERRY, R. H. e GREEN, D. E., Perry's chemical Engineers' handbook, 8 ed., The McGraw-Hill Companies Inc., 2008

QUINELATO, C., Métodos de extração da lignina do bagaço da cana-de-açúcar da região noroeste do estado de São Paulo, Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2016

RAMOS, L. P. et al. Enzymatic hydrolysis of steam-exploded sugarcane bagasse using high total solids and low enzyme loadings. *Bioresource Technol*, v. 175, p. 195-202, 2015.

RENEWABLE FUELS ASSOCIATION,
<http://www.ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/#1454098996479-8715d404-e546>, visitado em 14/01/2018

REVISTA NOVACANA, <https://www.novacana.com/n/etanol/2-geracao-celulose/10-anos-producao-etanol-celulosico-superar-160817/>, visitado em 14/01/2018;
<https://www.novacana.com/data/teste-a-plataforma/>, visitado em 14/01/2018;
<https://www.novacana.com/etanol/anidro-hidratado-diferencas/>, acessado em 20/09/2017;
<https://www.novacana.com/etanol/beneficios/>, acessado em 22/01/2018

RODRIGUES, M. I., IEMMA, A. F., *Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos*

RODRIGUES, J. A. R. Do engenho à biorrefinaria. A usina de açúcar como empreendimento industrial para a geração de produtos bioquímicos e biocombustíveis. *Química Nova*, v.34, n. 7, p. 1242-1254, 2011.

ROGALINSKI, T., INGRAM, T., BRUNNER, G., Hydrolysis of lignocellulosic biomass in water under elevated temperatures and pressures. *Journal of Supercritical Fluids*, v.47 p.54– 63, 2008

SAAD, M. B. W., Avaliação técnica e econômica preliminar da produção de etanol via hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2010

SANTOS, F. A., QUEIRÓZ, J. H., COLODETTE, J. L., FERNANDES, S. A., GUIMARÃES, V. M., REZENDE, S. T., Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol, *Química Nova*, v. 35, n. 5, p. 1004-1010, 2012

SANTOS F. A. et al. Otimização do pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar visando à produção de etanol celulósico. *Quim. Nova*, v.37, 56-62, 2013.

SAPEKIE, S. F., e T. A. RENSHAW. Economics of drying concentration. In: *Engineering and Food V.2*, edição: BRIAN M. McKENNA, 927-937. London, 1983.

SCHUCHARDT, U., RIBEIRO, M. L., GONÇALVES, A. R., 2001, “A Indústria Petroquímica no próximo século: como substituir o petróleo como matéria-prima?”, *Química Nova*, v. 24, p. 247-251.

SHLESER, R., Ethanol production in Hawaii: processes, feedstocks and current economic feasibility of fuel grade ethanol production in Hawaii, 2004. Disponível em:
www.hawaii.gov/dbedt/info/energy/transportation/ethanol/studies/ethanol94.pdf.
Acessado em: 05/10/2017.

SILVA, A. S., “Pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com líquidos iônicos: efeito na desestruturação da parede celular e na eficiência da hidrólise enzimática”, Dissertação (Doutorado em Ciências - Bioquímica) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2013a

SILVA, A. S., TEIXEIRA, R. S. S., MOUTTA, R. O., LEITÃO, V. S. F., BARROS, R. R. O., FERRARA, M. A., BON, E. P. S., Sugarcane and woody biomass pretreatments for ethanol production, *Sustainable Degradation of Lignocellulosic Biomass – Techniques, Application and Commercialization*, Chapter 3, 2013b

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

SILVA, V. F. N., Estudos de pré-tratamento e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapas no processo de obtenção de etanol celulósico, Dissertação de Mestrado (Biotecnologia Industrial), Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2009

SOARES, P. A., ROSSELL, C. E. V., Conversão da celulose pela tecnologia organosolv, vol.3 São Paulo, Editora USP, 2009

SOUSA, P. N., SCUR, G., SOUZA, R. C., Panorama da cadeia produtiva do etanol no Brasil: gargalos e porosições para seu desenvolvimento, *Gestão de Produção, Operações e Sistemas*, ano 7, n. 3, p. 145-159, 2012

SOUZA, C. J. A., Produção de etanol por sacarificação e fermentação simultâneas do bagaço de cana-de-açúcar utilizando levedura termotolerantes, Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, 2011

SOUZA, R. B. A., Estudo do pré-tratamento hidrotérmico e hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar, Dissertação (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de São Carlos, 2016

SOUZA, W. R., MARTINS, P. K., FREEMAN, J., PELLNY, T. K., MICHAELSON, L. V., SAMPAIO, B. L., VINECKY, F., RIBEIRO, A. P., CUNHA, B. A. D. B., KOBAYASHI, A. K., OLIVEIRA, P. A., CAMPANHA, R. B., PACHECO, T. F., MARTARELLO, D. C. I., MARCHIOSI, R., FILHO, O. F., SANTOS, W. D., TRAMONTINA, R., SQUINA, F. M., CENTENO, D. C., GASPAR, M., BRAGA, M. R., TINÉ, M. A. S., RALPH, J., MITCHELL, R. A. C., MOLINARI, H. B. C., “Suppression of a single BAHD gene in *Setaria viridis* causes large, stable decreases in cell wall feruloylation and increases biomass digestibility”, *New Phytologist*, 2018

STENBERG, K., BOLLÓK, M., RÉCZEY, K., GALBE, M., ZACCHI, G., Effect of substrate and celullase concentration on simultaneous saccharification and

fermentation of steam-pretreated softwood for ethanol production, *Biotechnology and Bioenergy*, v.68, p. 205-210, 2000

SPALDING, M. A. e CHATTERJEE, A. M., Handbook of industrial polyethylene and technology, 1 ed. Hoboken, John Wiley & Sons, Inc., 2018

SUN, Y., CHENG, J., Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review, *Bioresource technology*, v.83, p. 1-111, 2002

TEERI, T. T., Crystalline cellulose degradation: new insight into the function of cellobiohydrolases”, *Tibtech*, v. 15, p. 160-167, 1997

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY,
https://www.eia.gov/energyexplained/index.cfm?page=environment_where_ghg_come_from, visitado em 23/01/2018

US DEPARTMENT OF ENERGY GENOME PROGRAMS,
https://public.ornl.gov/site/gallery/originals/Pretreatment_-_original.jpg, visitado em 12/01/2017

WAN C, LI Y., Microbial pretreatment of corn stover with *Ceriporiopsis subvermispora* for enzymatic hydrolysis and ethanol production. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 6398-6403, 2010

WILSON, B. D., Cellulases and biofuels, *Current Opinion in Biotechnology*, v. 20, p. 295-299, 2009

WILSON, B. D., Microbial diversity of cellulose hydrolysis, *Current Opinion in Microbiology*, v. 14, p. 259-263, 2011

ZHANG, Y. H., LYND, L. R., Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: noncomplexed cellulase systems, *Biotechnology Bioeng.*, 88(7), p.797-824, 2004

APÊNDICE

Apêndice A - Concentração de glicose, em g/L, em função do tempo para diferentes ciclos de extrusão

Dados Experimentais de Glicose em g/L ao longo do tempo para diferentes ciclos						
Ciclos / t (h)	0h	3h	6h	9h	24h	48h
0	0,00	4,83	5,23	5,47	6,12	6,79
1	0,00	5,28	6,02	6,32	6,94	7,77
2	0,00	6,06	6,83	6,99	7,78	8,52
3	0,08	6,20	6,82	7,86	8,92	8,94
4	0,07	6,99	7,74	8,66	10,00	9,98
5	0,07	7,37	8,16	9,08	10,38	10,38
6	0,08	8,04	8,58	9,32	11,08	11,34
7	0	7,88	8,72	9,50	11,04	11,10