



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**



THAMIRES INGRID DE ALMEIDA FREITAS

**ESTUDO DAS ETAPAS DE PRODUÇÃO DE ETANOL DE 2^a GERAÇÃO NO
BRASIL**

**UBERLÂNDIA- MG
2019**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



THAMIRES INGRID DE ALMEIDA FREITAS

**ESTUDO DAS ETAPAS DE PRODUÇÃO DE ETANOL DE 2^a GERAÇÃO NO
BRASIL**

Monografia de graduação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários para a aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso do curso de Engenharia Química

Orientadora: Larissa Nayhara Soares Santana
Falleiros

Uberlândia- MG
2019

ESTUDO DAS ETAPAS DE PRODUÇÃO DE ETANOL DE 2^a GERAÇÃO NO BRASIL

Monografia de graduação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários para a aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso do curso de Engenharia Química

Uberlândia, 12 de julho de 2019

Prof.^a. Dr.^a Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros
(Orientadora - FEQUI/UFU)

Prof. Dr. Eloízio Júlio Ribeiro
(FEQUI/UFU)

Msc. Frederico Alves Lima
(Doutorando PPGEQ/FEQUI/UFU)

*A toda minha família que, apesar da distância, sempre me apoiou e confiou no meu potencial.
Em especial aos meus pais Marli e Geraldo, ao meu irmão Caio e à minha avó Terezinha (in
memoriam), dedico.*

AGRADECIMENTOS

A Deus que me permitiu chegar onde estou, me fortaleceu quando eu não tinha mais forças e me deu o dom da fé quando estava desacreditada. Te agradeço, ó Pai, por me mostrar que os Seus planos são bem maiores que os meus.

Aos meus pais, Geraldo e Marli, pela confiança e apoio, por fazerem do meu sonho o de vocês, e por não medirem esforços para que eu tivesse todo conforto e carinho, mesmo distante de casa. Espero um dia poder retribuir tudo que nessa vida vocês me proporcionaram.

Ao meu irmão Caio pelo companheirismo ao longo de minha vida, pelas palavras de conforto e por todo auxílio durante a graduação.

A toda minha família , que sempre foi meu alicerce, a minha maior riqueza. Agradeço por estarem presentes em todos os momentos de minha vida. Vocês são o meu bem maior.

À minha avó Terezinha (in memoriam), pelo amor e ensinamentos que me foram dados, pelo exemplo de mulher guerreira e por sempre me incentivar a não desistir dos meus sonhos.

Aos amigos de longa data e aos que encontrei durante esta trajetória, pelo companheirismo, compreensão e confiança durante toda minha vida. Aos meus amigos Jaryllaine, Tácio e Victor, o meu muito obrigada pela força, companheirismo e momentos compartilhados durante a graduação.

À minha orientadora Larissa, que com muita paciência e dedicação me auxiliou no desenvolvimento deste trabalho, obrigada por todo apoio, compreensão e conhecimento a mim transmitido.

A todos que contribuíram diretamente, ou não, para a realização deste sonho.

RESUMO

Devido à grande produção de cana-de-açúcar e sua utilização na agroindústria sucroalcooleira, são gerados materiais como a palha e o bagaço da cana. Estes são amplamente utilizados para a geração de energia e produção de ração animal. Uma alternativa de reaproveitamento destes resíduos é sua utilização como fonte celulósica para a produção de Etanol de Segunda Geração (2G), visando a substituição de combustíveis fósseis. Através disso é possível agregar valor aos resíduos e, auxiliar na diminuição do impacto ambiental. O presente trabalho teve como objetivo, realizar uma revisão bibliográfica para descrever as etapas de produção de Etanol 2G. Ademais foi realizada busca dos métodos de produção das usinas sucroenergéticas brasileiras de Etanol 2G, Granbio e Raízen, e aplicações para a lignina resultante neste processo. A partir disso, tem-se que o pré-tratamento utilizado pelas usinas é a explosão a vapor, porém a Granbio utiliza principalmente palha de cana-de-açúcar como biomassa, enquanto a Raízen utiliza o bagaço da cana-de-açúcar como fonte celulósica. Além disso, ambas utilizam enzimas dinamarquesas para a etapa de hidrólise, e as leveduras empregadas para a conversão dos açúcares em etanol são importadas. A lignina pode ser aplicada em diferentes processos para a obtenção de produtos de maior valor agregado como termoplásticos, espumas, produtos cerâmicos, aditivos em concreto e fibras de carbono. Diante deste cenário, o Brasil possui um elevado potencial de aproveitamento de palha e bagaço de cana-de-açúcar através da utilização destes como matéria-prima para a produção Etanol de 2^a Geração.

Palavras-chave: Etanol de Segunda Geração. Biomassa Lignocelulósica. Fermentação.

ABSTRACT

Due to the large production of sugarcane and its use in the sugarcane agroindustry, materials such as straw and sugarcane bagasse are generated. These are widely used for power generation and animal feed production. An alternative for the reuse of these residues is their use as a cellulosic source for the production of Second Generation Ethanol (2G), aiming at the substitution of fossil fuels. Through this it is possible to add value to the waste and assist in reducing the environmental impact. The present work aimed to perform a literature review to describe the stages of production of 2G Ethanol. In addition, a search was made for the production methods of the Brazilian 2G Ethanol, Granbio and Raízen, and applications for the resulting lignin in this process. From this, the pretreatment used by sugar and alcohol plants is steam explosion, but Granbio mainly uses sugarcane straw as biomass, while Raízen uses sugarcane bagasse as its source cellulosic. In addition, both use Danish enzymes for the hydrolysis step, and yeasts used for converting sugars into ethanol are imported. Lignin can be applied in different processes to obtain higher added value products such as thermoplastics, foams, ceramic products, concrete additives and carbon fibers. Given this scenario, Brazil has a high potential for the use of sugarcane straw and bagasse through their use as raw material for the production of Second Generation Ethanol.

Palavras-chave: Second Generation Ethanol. Lignocellulosic Biomass. Fermentation.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1: Consumo de energia final para diferentes fontes no Brasil	1
Figura 2: Área total de cultivo de cana-de-açúcar para diferentes anos.....	2
Figura 3: Percentual de produção de Etanol Hidratado para diferentes regiões do Brasil	3
Figura 4: Etapas de produção do Etanol de Segunda Geração	4
Figura 5: Estruturas moleculares da glicose, celobiose e celulose	8
Figura 6: Conjunto de componentes que formam a hemicelulose	9
Figura 7: Radicais presentes na molécula de lignina: álcool coníferílico, sinapílico e cumarílico, respectivamente	9
Figura 8: Exemplo da estrutura molecular da lignina com as principais ligações: 5-5, β - β , β -O-4, α -O-4, β -5, β -1 e 4-O-5	10
Figura 9: Biomassa não pré-tratada e produtos da explosão a vapor do bagaço de cana-de-açúcar.....	21
Figura 10: Desconstrução da biomassa em termos de celulose, hemicelulose e lignina antes e após o pré-tratamento	25
Figura 11: Alterações no percentual de inibidores após destoxificação assumindo 100% de inibidores no pré-hidrolisado.....	27
Figura 12: Rendimento de etanol de diferentes leveduras para sete ciclos de fermentação a 42°C	33
Figura 13: Produção percentual de cana-de-açúcar para as safras de 2016/2017, 2017/2018, 2018/2019 para as regiões do Brasil.....	35
Tabela 1: Composição química parcial de alguns tipos de biomassa.....	7
Tabela 2: Dados operacionais e composição do resíduo de palha de arroz após pré-tratamento	14
Tabela 3: Comparação dos rendimentos de açúcar, cristalinidade, tempo de moagem e consumo energético para as biomassas.....	18
Tabela 4: Condições operacionais utilizadas e comparação da concentração de lignina e açúcares na biomassa após o pré-tratamento de explosão a vapor	22
Tabela 5: Condições operacionais para condução da hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar.	26
Tabela 6: Vantagens e desvantagens das diferentes formas de condução da fermentação	34
Tabela 7: Produção de cana-de-açúcar por safra para as regiões brasileiras	35

Tabela 8: Comparaçao entre o processo de produçao de etanol celulósico da GranBio e Raízen	38
Tabela 9: Diferentes propriedades físicas e aplicações para as fibras de carbono	41

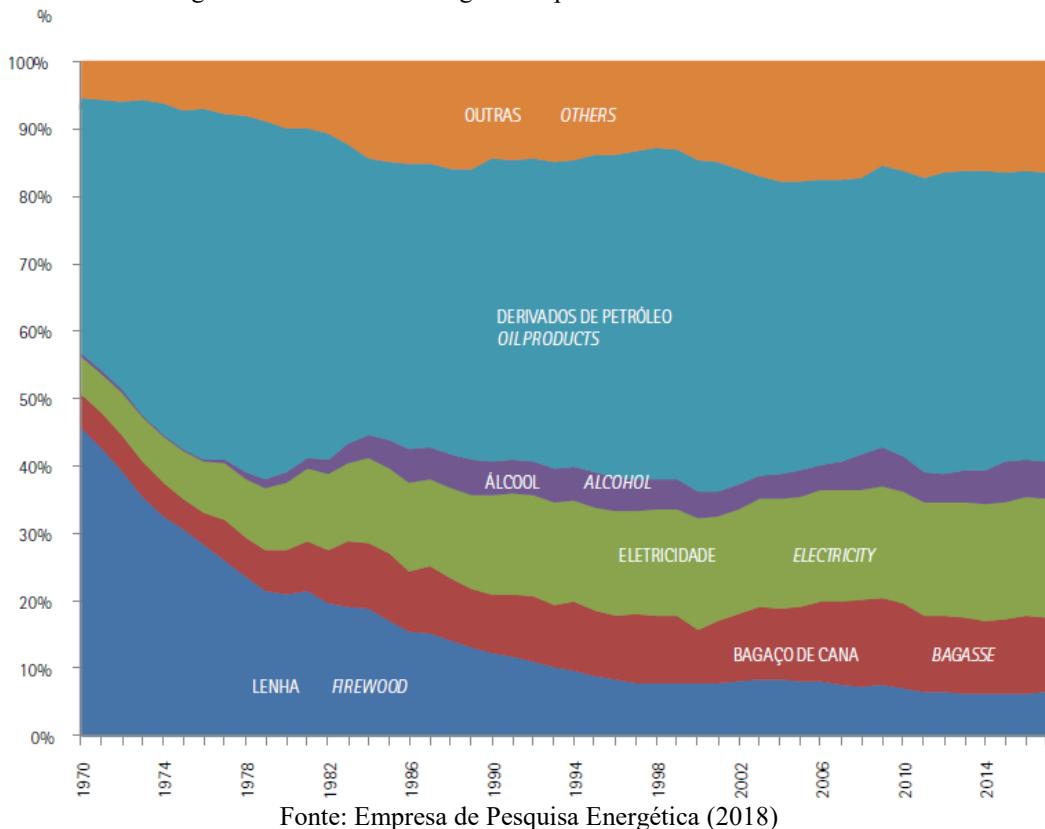
SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA.....	7
2.1.	Celulose.....	7
2.2.	Hemicelulose.....	8
2.3.	Lignina	9
3.	PRÉ-TRATAMENTO DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA.....	11
3.1.	Pré-Tratamento Químico.....	12
3.1.1.	Pré-tratamento ácido	12
3.1.2.	Pré-tratamento alcalino	15
3.1.3.	Pré-tratamento Organosolv.....	16
3.2.	Pré-tratamento Físico	17
3.2.1.	Moagem e Trituração	17
3.2.2.	Irradiação com microondas	19
3.3.	Pré-tratamento Físico-Químico	20
3.3.1.	Explosão a vapor	20
3.3.2.	AFEX	22
3.4.	Pré-tratamento biológico	23
4.	HIDRÓLISE.....	25
4.1.	Hidrólise Ácida	25
4.2.	Hidrólise Enzimática	28
5.	FERMENTAÇÃO.....	30
5.1.	Sacarificação e Fermentação realizadas separadamente (SHF)	31
5.2.	Sacarificação e Fermentação realizadas simultaneamente (SSF e SSCF).....	31
5.3.	Bioprocesso consolidado (CBP).....	33
6.	CENÁRIO NACIONAL DE PRODUÇÃO DE ETANOL 2G.....	35
7.	RECUPERAÇÃO E VALORIZAÇÃO DA LIGNINA.....	40
8.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

1. INTRODUÇÃO

O reaproveitamento de resíduos agroindustriais tem sido investigado no contexto de esforços globais para promover a substituição de matérias primas derivadas de combustíveis fósseis. De acordo com relatório emitido pela Empresa de Pesquisa Energética (2018), 57,1% da produção de energia primária brasileira é oriunda de fontes não renováveis. Associado a isso, tem-se um elevado consumo energético de derivados do petróleo, conforme representado na Figura 1.

Figura 1: Consumo de energia final para diferentes fontes no Brasil



Fonte: Empresa de Pesquisa Energética (2018)

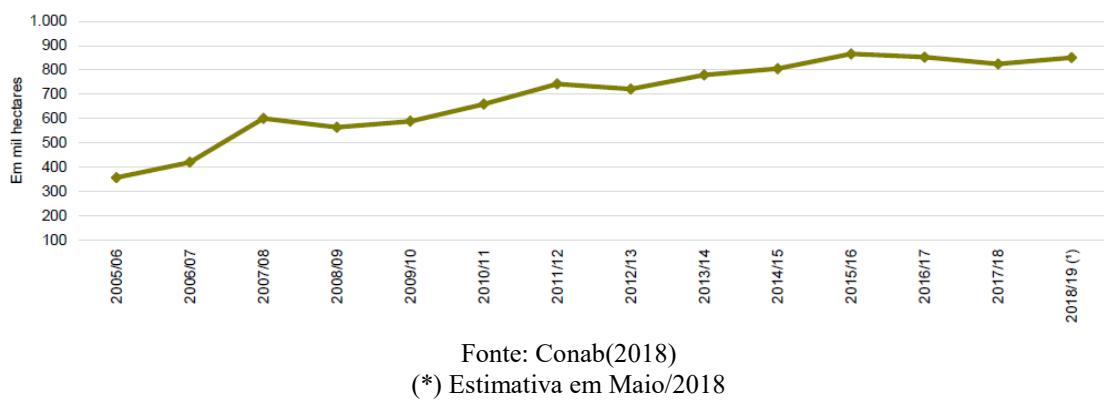
Diante destes fatores, surge a necessidade de busca por fontes alternativas de energia visando minimizar impactos negativos gerados ao meio ambiente. Uma alternativa é a substituição dos combustíveis obtidos a partir do petróleo pelos biocombustíveis, uma vez que auxiliam na diminuição de emissão de gases poluentes, devido à reabsorção de parte destes nos ciclos de crescimento das plantas (CRUZ, 2015).

A produção agrícola e agroindustrial representa enorme influência na economia brasileira, tendo como destaque produtos como a soja, o café e a cana-de-açúcar. A cana-de-açúcar é a principal material prima utilizada no setor sucroalcooleiro devido ao elevado teor de sacarose presente em seu caldo. O cultivo da cana-de-açúcar demanda uma enorme extensão de

áreas cultiváveis, bem como clima favorável para que sua maturação ocorra de maneira adequada. Devido ao clima diversificado e solos que proporcionam condições que favorecem o desenvolvimento de vegetais, o Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (CONAB, 2018).

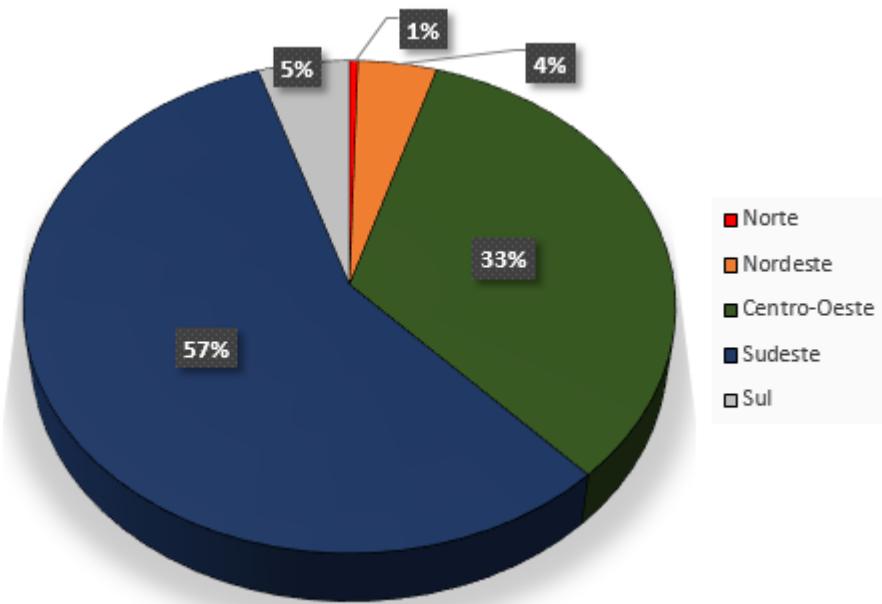
De acordo com o monitoramento agrícola realizado pela Conab (2018) tem-se uma estimativa de produção de 635,51 milhões de toneladas de cana-de-açúcar para a safra de 2018/2019, em uma área de aproximadamente 8,7 milhões de hectares no Brasil. Deste valor, aproximadamente 412,4 milhões de toneladas de cana serão produzidas na região sudeste do país. A área total de cultivo está estimada em 851,3 mil hectares para o Estado de Minas Gerais, valor este que apresentou um aumento de aproximadamente 3% em relação ao ano de 2017/2018 devido a projetos de expansão e renovação que foram desenvolvidos no estado. A evolução da área colhida em Minas Gerais pode ser visualizada na Figura 2.

Figura 2: Área total de cultivo de cana-de-açúcar para diferentes anos



A maior parte da cana-de-açúcar produzida no país é utilizada na produção de açúcar e Etanol de Primeira Geração. Segundo a Conab (2018), a Região Sudeste é considerada maior produtora nacional de açúcar, sendo responsável por 74,1% do açúcar produzido no Brasil, sendo São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Goiás, os estados que lideram esta produção. A Região Sudeste também lidera a produção de etanol hidratado, como pode ser visto na Figura 3.

Figura 3: Percentual de produção de Etanol Hidratado para diferentes regiões do Brasil



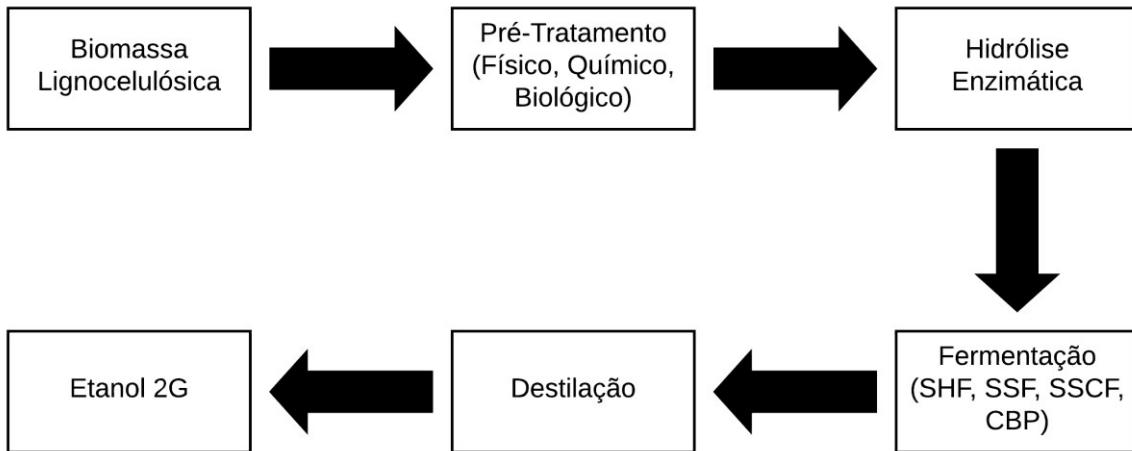
Fonte: Adaptado de Conab (2018)

O Etanol de Primeira Geração, ou Etanol 1G, é obtido por matérias-primas que são constituídas por açúcares simples, presentes no caldo da cana-de-açúcar. O caldo da cana-de-açúcar é utilizado como fonte de sacarose para produção de diferentes tipos de açúcares, e na produção do Etanol de Primeira Geração.

Dentre os resíduos gerados na produção de Etanol 1G tem-se a palha, obtida na etapa do preparo da cana, e o bagaço da cana de açúcar, proveniente da extração do caldo. Estes materiais podem ser empregados na alimentação animal, na geração de vapor para produção de energia e na produção de Etanol de Segunda Geração (RABELO, 2007; OGATA, 2013) .

As etapas da produção do Etanol de Segunda Geração, também chamado de Etanol 2G, podem ser visualizadas na Figura 4.

Figura 4: Etapas de produção do Etanol de Segunda Geração



Fonte: Autoria própria

O Etanol 2G, é obtido a partir de resíduos ricos em celulose, um polissacarídeo indiretamente fermentescível e, para que os açúcares presentes no resíduo sejam acessíveis, é necessário realizar um pré-tratamento do material. Este baseia-se na desestruturação do tecido vegetal para que as fibras de celulose fiquem acessíveis na etapa posterior (GUILHERME, 2014).

Posteriormente, é realizada a hidrólise, etapa responsável pela quebra da celulose em moléculas menores, as hexoses e pentoses, através da utilização de á enzimas como as celulases e hemicelulases ou (ALVIRA, 2010). A partir do momento em que as frações de hexoses e pentoses são liberadas, é possível realizar a fermentação, caracterizada pela conversão dos açúcares em etanol.

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é a mais empregada no processo de fermentação do mosto para obtenção do Etanol 1G nas usinas brasileiras. Esta não é capaz de fermentar uma fração dos açúcares presentes no bagaço da cana de açúcar e na palha, as pentoses. A fermentação dos açúcares pode ser realizada simultaneamente com a sacarificação, empregando microrganismos capazes de fermentar hexoses e pentoses, ou separadamente com diferentes microrganismos com capacidade de fermentar cada fração isoladamente (ANDRADE, 2014; SANTOS et al., 2010).

Para realizar a escolha adequada destas leveduras, deve-se levar em consideração não só a capacidade de converter os açúcares em álcool, mas a faixa de temperatura e pH suportada pela levedura, as necessidades nutricionais, resistência ao substrato, resistência ao etanol dentre outros fatores que são extremamente importantes na condução da fermentação.

Atualmente, das seis usinas que produzem Etanol 2G comercialmente, duas estão

localizadas no Brasil, sendo as brasileiras as únicas a utilizarem o bagaço e a palha da cana-de-açúcar como matéria-prima (BNDES, 2016).

Diante disso, nota-se que o Brasil possui vantagens que o qualificam a liderar a agricultura e o mercado de biocombustíveis em nível mundial. Além disso, é possível observar que o estado de Minas Gerais, estado no qual está localizada a Universidade Federal de Uberlândia, apresenta números importantes para a agroindústria brasileira, principalmente na produção de cana-de-açúcar e de etanol.

Associado à elevada produção de etanol no país, torna-se evidente o grande volume de biomassa produzido, de acordo com Santos (2013), para cada tonelada de cana processada são gerados cerca de 140 kg de palha e 140 kg de bagaço em base seca. Isto posto, há uma possibilidade de aumento na produção de etanol no Brasil por hectare de cana-de-açúcar plantada, sem que haja expansão da área de cultivo, o que contribui de maneira positiva para a economia do país. Isso agrega valor à elevada quantidade de biomassa produzida nas agroindústrias sucroenergéticas e auxiliar no desenvolvimento da tecnologia para produção de Etanol 2G.

OBJETIVOS

Objetivo Geral: Devido ao potencial de produção de cana-de-açúcar e etanol no Brasil, o presente trabalho possui como objetivo principal realizar uma revisão bibliográfica para descrever as diferentes etapas empregadas na produção de Etanol 2G.

Objetivos Específicos:

- Apresentar a composição da biomassa lignocelulósica;
- Descrever os principais tipos de pré-tratamento da biomassa destacando suas vantagens e desvantagens;
- Descrever a hidrólise ácida, formação de subprodutos e destoxificação do xarope;
- Discorrer sobre como ocorre a hidrólise enzimática e quais os microrganismos são utilizados nesse processo;
- Descrever as diferentes formas de condução da etapa de fermentação;
- Apresentar os métodos de produção utilizados para produção de Etanol 2G nas usinas brasileiras.
- Indicar aplicações para a lignina resultante do processo.

2. BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA

A biomassa é um material orgânico de origem animal, vegetal ou de microrganismos que possui o potencial de ser transformado em energia devido a sua composição química. A energia obtida a partir da biomassa corresponde a 10% da energia renovável total em nível mundial. Devido a isso, é uma das fontes mais promissoras para substituição dos derivados do petróleo e, consequentemente, redução da emissão de gases do efeito estufa (KHAN et al., 2009; HUBER et al., 2006; SALDARRIAGA et al., 2016).

A biomassa lignocelulósica é formada principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, sendo que a proporção de cada um desses compostos é diferente para cada tipo de biomassa, conforme Tabela 1.

Tabela 1: Composição química parcial de alguns tipos de biomassa

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

Fonte: GROSSI (2015)

2.1.Celulose

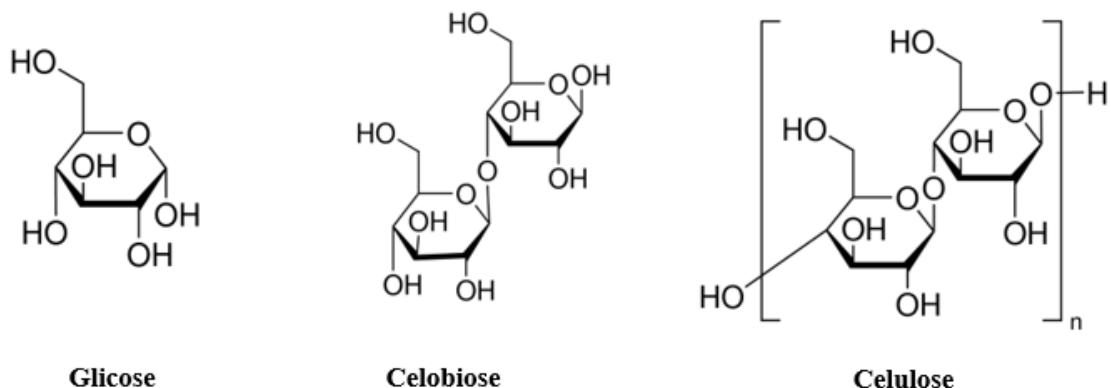
A celulose, normalmente, é o composto em maior proporção na biomassa lignocelulósica. É um polissacarídeo formado por cadeias longas de glicose unidas entre si por ligações β -1,4-glicosídicas. Esta unidade repetitiva é chamada celobiose e possui seis grupamentos hidroxila com ligações de hidrogênio inter e intramoleculares (BROWN, 2011 apud OLIVEIRA, Tiago, 2015; GROSSI, 2015).

A celulose possui um alto peso molecular, é composta por fibras, insolúvel em água possui uma região cristalina, devido ao arranjo altamente ordenado das moléculas, e uma região

amorfa, onde há uma menor orientação das moléculas (MOHAN et al., 2006 apud OLIVEIRA, Tiago, 2015; FERREIRA, 2010 apud SANTOS, 2011).

De acordo com Lehninger et al. (2006), a celulose confere características como rigidez e resistência, o que dificulta a ruptura da membrana plasmática. As estruturas moleculares da glicose, celobiose e celulose podem ser visualizadas na Figura 5.

Figura 5: Estruturas moleculares da glicose, celobiose e celulose



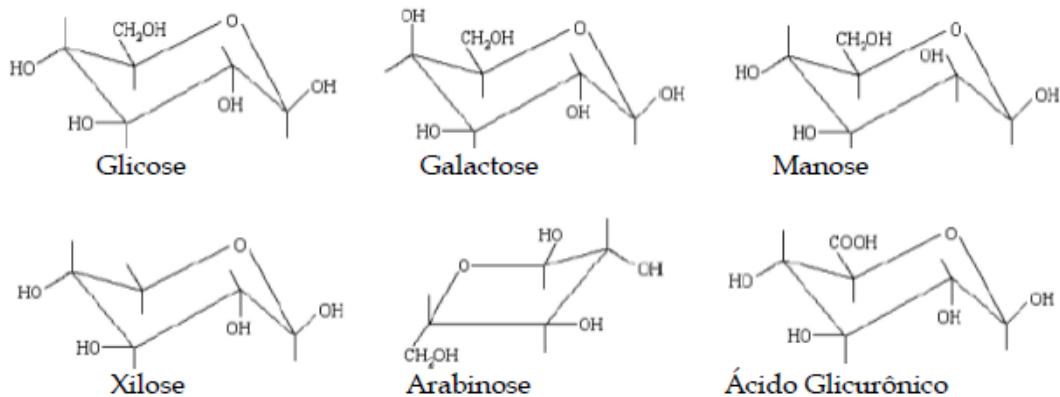
Fonte: Adaptado de Sigma-Aldrich (2019)

2.2. Hemicelulose

A hemicelulose é um polímero heterogêneo composto por pentoses e hexoses como xilose, manose, glicose, arabinose, galactose, ácido glucurônico e ácido metilglucourônico (SANTOS, 2013).

Diferentemente da celulose, a hemicelulose possui baixo peso molecular, cadeias mais curtas e não possui arranjo ordenado das moléculas. Devido a característica amorfia da molécula, as hemiceluloses apresentam maior susceptibilidade à hidrólise ácida, pois oferecem uma maior acessibilidade aos ácidos minerais comumente utilizados como catalisadores (SANTOS et al., 2012; MOHAN et al., 2006 apud OLIVEIRA, Tiago, 2015). A estrutura molecular das moléculas que compõem a hemicelulose pode ser visualizada na Figura 6.

Figura 6: Conjunto de componentes que formam a hemicelulose

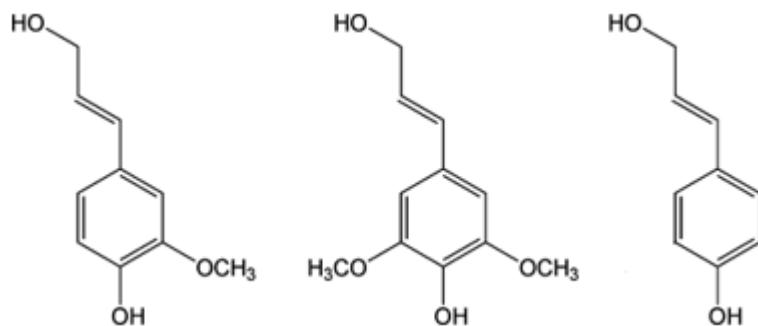


Fonte: Figueiredo (2011)

2.3. Lignina

A lignina é uma macromolécula obtida a partir da polimerização entre radicais de unidades fenil-propano, composto pelos álcoois coniferílico, sinapílico e *p*-cumárico, conforme Figura 7. Trata-se de uma molécula com elevado número de ligações cruzadas, amorfa, hidrofóbica e aromática (SILVA, 2013).

Figura 7: Radicais presentes na molécula de lignina: álcool coniferílico, sinapílico e cumálico, respectivamente



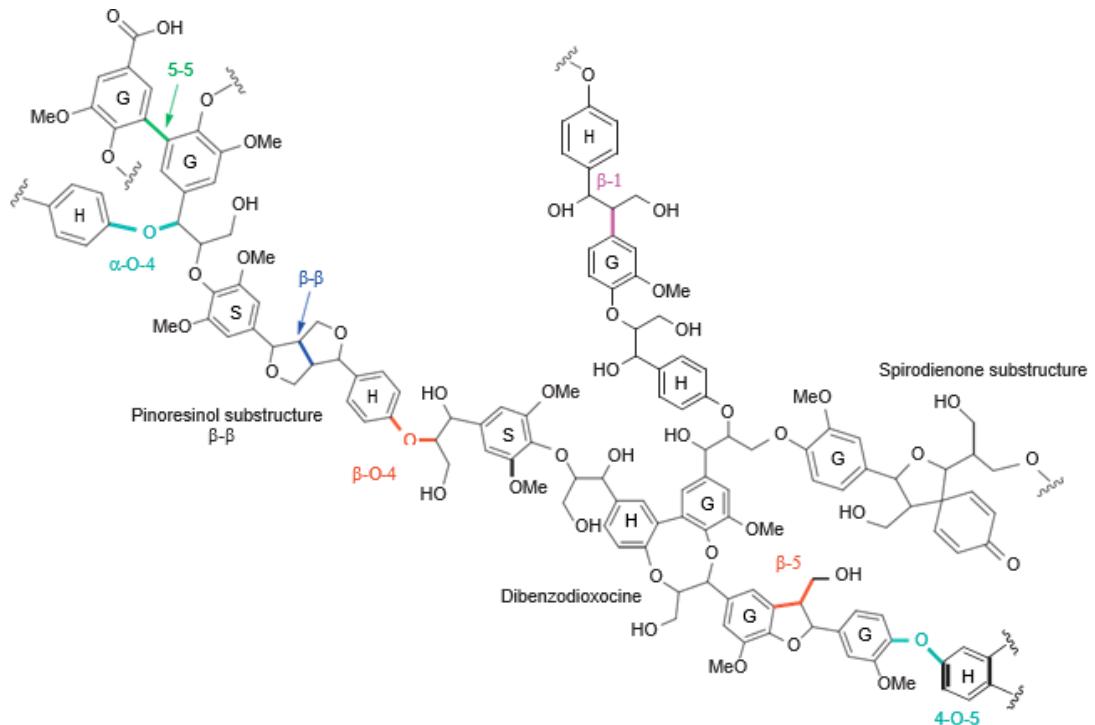
Fonte: Bussemaker e Zhang. (2013)

A presença da lignina em um material evita a aglomeração de componentes fibrosos, e age contra a destruição das fibras celulósicas pelos microrganismos. Por esse motivo, os processos fermentativos são inibidos e/ou dificultados pela liberação de compostos derivados da lignina (MOHAN et al., 2006 apud OLIVEIRA, Tiago, 2015; BETANCUR e PEREIRA JR, 2010; SILVA, 2009).

A estrutura da lignina, ao contrário da celulose, possui estrutura complexa dependente do processo de extração e separação, assim como da fonte de obtenção, além disso, as unidades

são repetidas de maneira irregular (TAIZ e ZEIGER, 2002; BUSSEMAKER et al., 2013). A Figura 8, apresenta um exemplo da estrutura da lignina.

Figura 8: Exemplo da estrutura molecular da lignina com as principais ligações: 5-5, β - β , β -O-4, α -O-4, β -5, β -1 e 4-O-5



Fonte: Bussemaker et al. (2013)

3. PRÉ-TRATAMENTO DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA

O pré-tratamento da biomassa é a primeira etapa para a produção de Etanol 2G. Esta etapa consiste em alterar a estrutura da biomassa lignocelulósica através do aumento da área superficial do material. Com isso, o acesso das enzimas responsáveis por liberar os açúcares fermentescíveis é facilitado.

A modificação estrutural da biomassa pode ser realizada pela deslignificação dos resíduos lignocelulósicos, da diminuição do grau de polimerização e da cristalinidade da celulose (CORTEZ et al., 2008). Dessa forma, nota-se a importância da condução adequada deste processo, uma vez que, se bem conduzido, esta etapa poderá reduzir os custos associados às etapas subsequentes. Os materiais lignocelulósicos podem ser submetidos a diferentes tipos de pré-tratamento, sendo estes através de métodos químicos, físicos e/ou biológicos.

Segundo Santiago e Rodrigues (2017), para a obtenção de um tratamento eficaz da biomassa, algumas características são levadas em considerações como:

- Volume de resíduos produzidos;
- Investimento inicial;
- Custos operacionais;
- Rendimento de produtos obtidos nas etapas posteriores;
- Simplicidade operacional;
- Atributos ambientais;
- Quantidade de consumo de insumos químicos;
- Gasto energético;
- Quantidade de produtos que ocasionam a degradação dos açúcares como ácido acético, furfural e compostos fenólicos;
- Facilidade na recuperação da lignina e compostos que apresentam um alto valor agregado;
- Preservação da cadeia celulósica.

3.1. Pré-Tratamento Químico

O pré-tratamento químico pode ser realizado utilizando diferentes mecanismos de ação. Cada tipo altera de forma específica a estrutura do material lignocelulósico. Este tipo de pré-tratamento é caracterizado pela utilização de ácidos, bases e/ou solventes orgânicos (SILVA, 2016).

3.1.1. *Pré-tratamento ácido*

O pré-tratamento ácido consiste em dispor a biomassa em contato direto com ácidos, diluídos ou concentrados, em diferentes temperaturas e intervalos de tempo, visando a formação de glicose a partir da quebra das moléculas de hemicelulose. No Brasil, os ácidos mais empregados são: o ácido sulfúrico, H_2SO_4 , ácido clorídrico, HCl , e o ácido nítrico, HNO_3 . Sendo a escolha das condições operacionais dependente do tipo de pré-tratamento e do tipo de biomassa utilizado (OLIVEIRA, Fernanda, 2015; AGUIAR, 2017).

Durante o pré-tratamento com ácidos, diferentes reações são ocasionadas, sendo que, de acordo com o tipo de ácido utilizado, tem-se uma maior remoção da hemicelulose e da celulose. Normalmente são utilizadas duas condições: ácidos diluídos submetidos a temperaturas elevadas (aproximadamente 200 °C) ou ácidos concentrados submetidos à baixas temperaturas (inferiores à 100°C) (TAHERZADEH e KARIMI, 2008).

A utilização de ácidos diluídos (inferiores a 1%) resulta em uma despolimerização mais lenta da hemicelulose, e um inchamento limitado da celulose. Apesar disso, a solubilização da hemicelulose é superior à da celulose devido a sua maior acessibilidade aos ácidos minerais, podendo gerar cerca de 85% de glicose em condições operacionais que geram baixa conversão de glicose a partir da celulose (ARAÚJO et al., 2013). A lignina, por sua vez, não é despolimerizada, mas apresenta mudança significativa em sua estrutura.

Devido à conversão mais lenta das moléculas de celulose em hexoses, este processo emprega temperaturas elevadas para acelerar a hidrólise do material. Com isso, há um maior custo energético e tendência de degradação dos açúcares formados e da lignina solúvel, resultando na formação de produtos secundários indesejados como o ácido fórmico, ácido acético, furfural, 5-hidroximetilfurfural e fenóis (MORAIS, 2010).

Por esse motivo, torna-se extremamente importante o controle minucioso do tempo de hidrólise para minimizar a degradação dos açúcares presentes no meio. Ainda assim, a hidrólise ácida com ácidos diluídos, normalmente, apresenta uma maior viabilidade devido ao menor

custo associado à matéria prima, bem como a menor susceptibilidade de corrosão nos equipamentos e o emprego de tempos de reação baixos (MOOD et al., 2013).

A utilização de ácidos de alta concentração (30 a 70%) possui como vantagem o elevado inchamento da celulose com consequente ruptura desta, resultando em alto rendimento de glicose, mesmo em temperaturas amenas. Apesar disso, tem-se elevação de custos devido a necessidade de empregar equipamentos com ligas resistentes à corrosão, assim como tecnologias de recuperação do ácido, o que diminui o interesse comercial por esta técnica (TAHERZADEH e KARIMI, 2008; MOOD et al., 2013).

HSU et al. (2010) realizaram o pré tratamento de palha de arroz com a utilização de ácido diluído. Primeiramente as amostras foram devidamente secas e submetidas à determinação de seus constituintes, sendo 36,6% de glicose, 16,1% de xilose, 14,9% de lignina e o restante de cinzas. Em seguida, as amostras da palha de arroz foram submetidas a um pré-tratamento utilizando ácido diluído (ácido sulfúrico 0,5-1% p/p) em intervalos de tempos que variaram de 1 a 5 minutos e temperaturas de 160°C a 190°C, a depender do fator de gravidade (CSF).

O fator de severidade combinado (CSF) é uma variável que leva em consideração a concentração de ácido, o tempo e a temperatura de reação e é dada pela Equação 1.

$$CSF = \log \left\{ t \cdot \exp \left[\frac{T_H - T_R}{14,75} \right] \right\} - pH \quad (1)$$

Sendo: t = tempo de reação

T_R = temperatura de referência (100°C)

T_H = temperatura de reação

pH = acidez da solução aquosa

Após a realização do pré-tratamento, o material pré hidrolisado foi submetido à análise por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) para determinação das concentrações de glicose, xilose, ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural (HMF).

A Tabela 2 apresenta a composição do resíduo sólido pré-tratado (CMPT) e a composição da fração líquida ou pré-hidrosilada (CMPH).

Tabela 2: Dados operacionais e composição do resíduo de palha de arroz após pré-tratamento

Amostra	Temperatura (°C)	H ₂ SO ₄ (%)	Tempo (min)	CSF	CMPT (%)			CMPH (g/100g de palha de arroz)		CMPH (g/L)		
					Glicose	Xilose	Lignina	Glicose	Xilose	Ácido acético	HMF	Furfural
1		1	2,5	1,5	57,4	4,9	18,7	2,31	12,9	1,3	0,1	0,3
2		1	5	1,8	58,3	5,1	19,6	4,01	14,4	1,3	0,1	0,9
3	160	1	10	2,1	55,9	1,5	17,7	4,30	13,6	1,3	0,1	1,5
4		1	15	2,3	57,2	1,1	19,9	5,10	13,3	1,8	0,2	1,9
5		1	25	2,5	57,3	0,9	21,9	5,95	11,7	1,9	0,3	2,5
6		0,7	1	1,5	56,8	4,7	17,7	2,45	12,2	1,0	0,1	0,6
7	180	1	1	1,7	59,3	1,9	21,3	4,89	14,4	1,6	0,2	1,6
8		1	2	2,0	58,0	1,6	19,9	5,46	14,1	1,5	0,2	1,9
9		1	4	2,3	57,4	1,2	22,1	6,31	11,4	1,7	0,3	2,7
10		0,5	1	1,7	57,7	5,0	18,6	2,85	10,0	1,0	0,1	1,0
11		0,8	1	1,9	53,3	2,7	22,8	6,64	9,16	2,0	0,6	3,6
12	190	0,8	2	2,2	53,5	1,8	25,7	8,32	11,1	2,0	0,5	3,2
13		0,8	3	2,3	53,6	1,2	23,6	7,08	10,3	1,9	0,3	3,0
14		0,8	4	2,6	46,4	0,7	31,0	8,52	8,88	2,0	0,7	3,2

Fonte: Adaptado de Hsu et al. (2010)

A partir dos resultados obtidos foi possível visualizar que para o material sólido, com CSF superior a 2,0, um baixo teor de xilose foi observado- variou de 0,7 a 1,8%- o que indica um elevado grau de hidrólise da xilose no pré-tratamento. Além disso, o maior teor de glicose quantificado foi de 59,3% para a temperatura de 180°C com CSF de 1,7. Esse teor diminuiu para 46,4% quando a condição foi alterada para temperatura de 190°C e severidade de 2,6.

Em relação à lignina, é possível observar que sua composição no material pré-tratado foi elevada, variando de 17,7 a 31%, o que mostra que o pré-tratamento não foi capaz de remover eficientemente a lignina que se encontrava no composto lignocelulósico, confirmando a maior eficiência de remoção da hemicelulose através da utilização de ácidos.

Associado a isso, a fração líquida apresentou compostos como ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural em maior proporção em condições mais severas, confirmando a tendência de degradação dos açúcares formados em produtos secundários quando o processo é conduzido sob maiores temperaturas e tempo de reação.

3.1.2. Pré-tratamento alcalino

No pré-tratamento alcalino a biomassa é submetida a ação de agentes oxidantes através da adição de compostos responsáveis por promover a quebra, principalmente, da lignina presente no material.

Os compostos alcalinos provocam a clivagem de ligações éter presentes nas unidades de fenilpropano da lignina (QUINELATO, 2016) aumentando a porosidade do material. Além disso, ocorre a descristalização da celulose e solubilização parcial da hemicelulose (BRODEUR et al., 2011) ambas em menor intensidade que no pré-tratamento ácido.

Normalmente utiliza-se como substâncias oxidantes o peróxido de hidrogênio, H₂O₂, o hidróxido de sódio, NaOH e o hidróxido de potássio, KOH. O processo é conduzido a temperaturas amenas, com baixa formação de produtos inibidores da fermentação (QUINELATO, 2016). Em contrapartida, o tempo de reação deste pré-tratamento pode ser longo a depender da concentração da base utilizada, assim como da temperatura na qual a reação é conduzida (XU e CHENG, 2011). A dissolução da lignina depende das condições operacionais adotadas no processo.

Sun et al. (1995) avaliaram os efeitos do pré-tratamento alcalino de palha de trigo utilizando hidróxido de sódio (NaOH) em diferentes temperaturas, tempos e concentrações de solução alcalina. As condições ótimas foram obtidas empregando NaOH a 1,5% a 20°C por 144 horas, o que resultou na liberação de 60% de lignina e 80% de hemicelulose.

Rabelo (2007) realizou estudo para determinar condições ótimas de tempo, temperatura e concentração de H₂O₂ no pré-tratamento de bagaço da cana-de-açúcar baseado no rendimento de açúcares redutores totais e liberação de glicose após a hidrólise alcalina. O pré-tratamento conduzido a 25°C com concentração de aproximadamente 7,36% de peróxido de hidrogênio por 1 hora foi o que apresentou maiores concentrações de ART e glicose.

3.1.3. Pré-tratamento Organosolv

Este tipo de pré-tratamento é caracterizado pela adição de um solvente orgânico, água e catalisadores, ácidos ou bases (MOOD et al., 2013), que possibilitam a utilização de temperaturas mais baixas no processo. O aquecimento da biomassa resulta na quebra das moléculas de lignina e hemicelulose do material lignocelulósico. A celulose apresenta um inchaço significativo pós-tratamento.

Metanol, etanol, acetona e outros solventes podem ser empregados neste processo (SARKAR et al., 2012). A escolha do melhor solvente envolve características como custo e facilidade de recuperação, em outras palavras, características como o ponto de ebulação, inflamabilidade e volatilidade, devem ser investigados.

A recuperação dos solventes é necessária, não só para a redução de custos, mas também pelo fato da presença destes compostos causar inibição no crescimento microbiano e prejudicar a fermentação (SUN e CHENG, 2002). Apesar da necessidade de reciclo dos solventes aumentar, de certa forma, o custo de operação, este pré-tratamento é caracterizado pela recuperação da lignina ao final do processo. As condições operacionais do pré-tratamento em questão estão diretamente relacionadas às características estruturais da lignina após o processo (ALVIRA et al., 2010).

Uma dificuldade apresentada no processo de extração da lignina é sua precipitação e deposição sobre as fibras de celulose quando a temperatura de reação é diminuída. Devido a isso, pode ser necessário adicionar uma etapa de lavagem das fibras. Em geral, a lignina proveniente desta etapa possui alta pureza, diferente das ligninas obtidas por processos, como Kraft e lignosulfonatos que possui enxofre em sua composição (WOLF, 2011; SILVA, 2017; LEITE, 2016).

Amiri et al. (2014) pré-trataram a palha de arroz utilizando etanol aquoso (75 % v/v) como solvente orgânico e ácido sulfúrico como catalisador. As temperaturas empregadas foram de 150 e 180 °C e o tempo de reação de 30 e 60 min. A condição mais severa, 180°C e 60 min, resultou em 60% de remoção de lignina. Quando o tempo foi reduzido para 30 min, a remoção

de lignina passou a ser 56%. A condução do pré-tratamento na temperatura de 150°C com tempos de 30 min e 60 min, resultou na remoção de 41% e 45% de lignina, respectivamente. Diante disso, conclui-se que, neste trabalho, o aumento da temperatura e do tempo de reação resultou em um aumento na remoção de lignina do material.

3.2. Pré-tratamento Físico

Neste tipo de pré-tratamento são utilizadas tecnologias que resultam no aumento da área superficial do material a partir das propriedades físicas.

3.2.1. *Moagem e Trituração*

Pode ser realizado em diferentes equipamentos como moinho de bolas, moinho de rolo duplo, moinho de pressão, moinho de martelo (RABELO, 2010). Consiste na introdução da biomassa em equipamentos que vão, mecanicamente, diminuir o tamanho das partículas a depender do tipo de equipamento utilizado. (SUN e CHENG, 2002).

Através deste mecanismo, haverá uma alteração na estrutura do material com modificação no grau de cristalinidade, o que pode favorecer a hidrólise enzimática posterior. A maior desvantagem é o gasto energético associado ao processo (MOOD et al., 2013).

Em estudo realizado por Silva et al. (2010) foi possível avaliar a eficácia da utilização do moinho de bolas (BM) e do moinho de discos úmidos (WDM) no pré-tratamento de bagaço e palha de cana-de-açúcar. A Tabela 3 mostra os resultados obtidos para as diferentes condições operacionais após a realização do pré-tratamento.

Tabela 3: Comparação dos rendimentos de açúcar, cristalinidade, tempo de moagem e consumo energético para as biomassas

Amostra	% do valor teórico					Tempo de moagem (min)	Consumo energético (MJ/ kg de biomassa)
	Glicose	Xilose	Arabinose	Cristalinidade			
Bagaço <2 mm	22,0 ± 1,0	16,0 ± 1,0	41,4 ± 5,8	0,38	–	–	–
Bagaço BM30 min	61,7 ± 1,3	57,1 ± 0,4	88,2 ± 3,2	0,06	30,0	–	–
Bagaço BM60 min	78,7 ± 0,4	72,1 ± 0,3	99,8 ± 1,1	0,00	60,0	–	–
Bagaço BM90 min	83,6 ± 0,2	76,5 ± 0,2	105,3 ± 6,4	0,00	90,0	–	–
Bagaço BM120 min	83,3 ± 0,2	77,2 ± 0,3	108,2 ± 7,4	0,00	120,0	–	–
Bagaço WDM10	31,5 ± 1,7	22,3 ± 1,2	42,9 ± 0,7	0,36	37,4	10,6	
Bagaço WDM15	34,5 ± 0,8	25,1 ± 0,6	43,4 ± 1,1	0,33	82,0	25,1	
Bagaço WDM20	49,3 ± 0,1	36,7 ± 0,2	48,9 ± 0,3	0,28	143,2	48,0	
PCA<2 mm	23,5 ± 0,4	14,0 ± 0,8	53,7 ± 3,6	0,30	–	–	–
PCA BM30 min	44,6 ± 1,6	27,1 ± 0,8	71,0 ± 0,5	0,23	30,0	–	–
PCA BM60 min	63,6 ± 1,7	45,0 ± 0,7	86,2 ± 1,6	0,08	60,0	–	–
PCA BM90 min	77,6 ± 1,3	56,8 ± 1,0	100,6 ± 1,6	0,00	90,0	–	–
PCA BM120 min	82,1 ± 0,9	61,7 ± 0,8	102,9 ± 1,7	0,00	120,0	–	–
PCA WDM10	56,1 ± 0,5	33,6 ± 0,4	64,1 ± 1,3	0,29	69,4	14,8	
PCA WDM15	57,0 ± 0,5	35,6 ± 0,7	64,0 ± 1,5	0,26	123,0	27,5	
PCA WDM20	68,0 ± 0,1	44,9 ± 0,3	70,5 ± 1,2	0,21	167,2	39,6	

Fonte: Adaptado Silva et al. (2010)

A partir da Tabela 3 é possível notar que, com a utilização de moinho de bolas, o aumento no tempo de moagem do bagaço e da palha da cana-de-açúcar foram vantajosos até o tempo de 60 e 90 minutos, respectivamente. Após atingir tais tempos, o aumento no teor de açúcares não foi significativo. Avaliando o teor de glicose para as duas biomassas, é possível verificar que foi necessário um tempo superior de moagem para a palha da cana-de-açúcar para obter um teor de glicose similar ao do bagaço. Mesmo com o tempo de moagem superior ao do bagaço, a xilose presente na palha da cana de açúcar após 90 minutos foi aproximadamente 21% inferior ao do bagaço.

Em relação à utilização de moinhos de discos úmidos, nota-se um aumento da composição dos açúcares com um aumento do número de ciclos de operação. Portanto, o maior rendimento obtido de glicose para o bagaço e palha foram 49,3% e 68%, respectivamente. A xilose, por sua vez, apresentou composição de 36,7 para o bagaço e 44,9% para a palha.

Quando observado as condições com menor número de ciclos, é possível observar que para o bagaço de cana-de-açúcar (Bagaço WDM10), esta condição resultou em um baixo rendimento de glicose quando comparado ao material não pré-tratado. Por outro lado, a palha da cana-de-açúcar (PCA WDM10), mesmo submetida a um menor número de ciclos, apresentou um aumento significativo no teor de glicose quando comparado a biomassa sem pré-tratamento.

A cristalinidade das biomassas diminuiu com o aumento do tempo para o moinho de bolas, e com o aumento de ciclos para o moinho de discos úmidos. Porém, ao comparar os índices de cristalinidade para os diferentes métodos da mesma biomassa, como por exemplo PCA BM60 min e PCA WDM20, nota-se que mesmo com índice de cristalinidade superior, a PCA WDM20 liberou uma maior teor de glicose.

Apesar disso, os autores afirmaram que, de maneira geral, o aumento no número de ciclos foi eficiente na diminuição do tamanho das partículas da biomassa, assim como da espessura das fibras, o que resultou no aumento da área superficial para a etapa de hidrólise enzimática. É importante observar que neste pré-tratamento há um maior gasto energético, com consequente aumento do custo de processamento.

3.2.2. Irradiação com microondas

A biomassa lignocelulósica pode ser submetida a ondas eletromagnéticas que são responsáveis por aumentar a colisão molecular do material. Como vantagens, este processo apresenta um baixo tempo de processamento do material, elevada uniformidade e seletividade

assim como um consumo inferior ao método de explosão a vapor, por exemplo. Normalmente, este método é associado a outro tipo de pré-tratamento como o alcalino para aumentar o teor de açúcares no processo de hidrólise enzimática (MOOD et al., 2013; CHENG et al., 2011).

3.3. Pré-tratamento Físico-Químico

Neste pré-tratamento, ocorre o aumento da área superficial do material lignocelulósico, diminuição da cristalinidade e do nível de polimerização celulósica. Para isso, o processo que tem sido mais empregado é a explosão a vapor (PITARELO, 2013).

3.3.1. Explosão a vapor

O pré-tratamento da biomassa utilizando a técnica de explosão a vapor consiste na alimentação de duas correntes a um reator: uma corrente é composta pelo material lignocelulósico, enquanto a outra é constituída apenas de vapor d'água saturado proveniente de um gerador de vapor. O reator em questão é submetido a elevadas condições de temperatura e pressão, que normalmente variam entre 160-270°C e 20-50 bar (MOOD et al., 2013; PITARELO, 2013; JACQUET et al., 2015), respectivamente.

A biomassa lignocelulósica permanece dentro do reator por um período que, normalmente, varia de 2 a 30 minutos. Durante esse tempo, ocorre a penetração e condensação das moléculas de vapor d'água na estrutura do material. Além disso, nessa etapa, inicia-se o processo de hidrólise das moléculas, em especial das hemiceluloses, e alteração estrutural da celulose e lignina, que são insolúveis em água (PITARELO, 2013; SHIRKAVAND et al., 2016).

Os grupos acetila que compõem as hemiceluloses, sofrem hidrólise devido às condições operacionais e liberam diferentes componentes ácidos. O meio ácido pode ser considerado favorável pelo fato de acelerar a quebra de ligações presentes na biomassa o que, consequentemente, resulta no aumento da porosidade e área superficial do material. Entretanto, a depender do tempo de reação, subprodutos como hidroximetilfurfural, furfural, ácido levulínico, podem ser formados após a hidrólise ácida da hemicelulose e celulose, o que dificultará a etapa de fermentação devido a necessidade de adição de uma etapa de separação para de evitar a inibição na fermentação (MOOD et al., 2013; PITARELO, 2013).

Após o tempo de residência especificado, o reator é submetido a uma despressurização repentina. As moléculas de água que se encontravam condensadas no material são evaporadas

instantaneamente (TOMÉ, 2014), gerando uma explosão que enfraquece a biomassa através da desagregação e alteração da estrutura das fibras, podendo até mesmo rompê-las (SAAD, 2010).

A recuperação da lignina após esta etapa é de grande interesse, já que se trata da matéria prima para a produção de compostos com propriedades adesivas e adsorventes: os lignossulfonatos. Além disso, a lignina pode ser utilizada para a produção de fibras de carbono, produtos cerâmicos, biocompósitos e como dispersantes (ALBUQUERQUE, 2016; LEITÃO et al., 2016; KOMURA, 2015).

A separação usualmente é realizada adicionando-se uma etapa de acetosolv, após à explosão a vapor. Fragmentos sólidos e uma fração líquida são formados e podem ser separados através de diferentes operações unitárias, como a filtração (LEITÃO et al., 2016). A lignina e a celulose, modificadas estruturalmente, compõem a fração sólida, também chamada de fibra. O licor negro, que representa a fração líquida, é formada, majoritariamente, por hemicelulose e por uma fração de lignina solubilizada ao meio. A Figura 9 ilustra a fibra antes e após a explosão a vapor e o licor negro.

Figura 9: Biomassa não pré-tratada e produtos da explosão a vapor do bagaço de cana-de-açúcar.



Fonte: Adaptado de Albuquerque (2016)

A) Fibra do bagaço de cana-de-açúcar moído B) Unidade experimental de explosão a vapor C) Fibra do bagaço de cana-de-açúcar explodida e liofilizada D) Licor obtido após o pré-tratamento.

Albuquerque (2016) utilizou bagaço da cana-de açúcar moído para avaliar o efeito da temperatura e do tempo de explosão de vapor no rendimento de lignina acetosolv extraída. O material hidrolisado foi filtrado utilizando tecido nylon, resultando em uma fração líquida (licor), e uma fração sólida (fibra). A fibra obtida após a explosão a vapor foi caracterizada e os resultados estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4: Condições operacionais utilizadas e comparação da concentração de lignina e açúcares na biomassa após o pré-tratamento de explosão a vapor

Experimento	Explosão a vapor		Lignina (%)	Concentração de açúcares (g/L)
	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)		
1	180	4	25,61	1,39
2	240	4	35,39	39,21
3	180	16	24,34	1,97
4	240	16	41,84	7,30

Fonte: Adaptado de Albuquerque (2016)

A partir da Tabela 4 é possível verificar que a temperatura e o tempo empregado na explosão a vapor influenciaram diretamente no percentual de lignina. Albuquerque (2016) afirma que o aumento da temperatura do processo resultou no aumento no teor de lignina. Em relação ao tempo, notou-se uma diminuição expressiva na concentração de açúcares no experimento 4, quando comparado ao experimento 2. Essa diminuição, segundo a autora, pode estar relacionada à degradação dos açúcares em furfural e hidroximetilfurfural.

Diante do exposto, o processo de pré-tratamento através de explosão a vapor possui vantagens como menores custos de investimento, maior eficiência energética e menor impacto ambiental, produtos químicos menos perigosos. A presença de produtos inibidores da fermentação é a principal desvantagem deste método (PITARELO, 2013; ASSUMPÇÃO, 2015).

3.3.2. AFEX

O AFEX é um pré-tratamento que se assemelha à explosão a vapor, porém, neste caso, o vapor saturado d'água é substituído pela utilização da amônia líquida. A biomassa entra em contato com a amônia líquida (5 a 15%) dentro do reator, que está submetido a elevadas pressões (17,2 a 20,6 bar) e temperaturas intermediárias (60 a 120°C) (NETO, 2009). Após um tempo de reação, de até 30 minutos, o sistema é submetido a uma brusca descompressão, acompanhada de uma diminuição da temperatura. Esse efeito atua mudando a estrutura da biomassa.

A baixa temperatura de ebulação da amônia resulta em algumas diferenças entre o

processo AFEX e explosão a vapor. Primeiramente, tem-se como vantagem não haver a formação de produtos inibidores da fermentação, visto que a condição de temperatura deste processo é insuficiente para que haja a solubilização das hemiceluloses. Associado a isso, tem-se a formação apenas de um material sólido. Finalmente, o processo possui desvantagens como o elevado custo da amônia e baixo desempenho quando a biomassa utilizada apresenta um elevado teor de lignina (NETO, 2009; MOOD et al., 2013).

Lau et al. (2009) realizaram um estudo com palha de milho no rendimento de açúcares após a hidrólise enzimática utilizando o pré-tratamento AFEX e pré-tratamento com ácido diluído, ambos feitos em duplicata: uma situação na qual eram empregadas hemicelulases e celulases e outra na qual não utilizava-se enzimas. Os autores verificaram um aumento no rendimento de glicose para ambas amostras pré-tratadas. Além disso, o mesmo afirmou que a utilização de hemicelulases e celulases não apresentou mudança significativa no rendimento dos açúcares quando pré-tratado com ácido fraco. Os autores afirmaram que o material submetido ao AFEX, apresentou melhor fermentabilidade.

3.4. Pré-tratamento biológico

Neste tipo de pré-tratamento, são utilizados microrganismos para deslignificar a biomassa e reduzir o grau de polimerização da hemicelulose e da celulose (AGUIAR, 2017). Os microrganismos mais utilizados para converter a biomassa lignocelulósica em compostos mais susceptíveis à hidrólise enzimática são os fungos. Estes são responsáveis por secretarem enzimas que formam moléculas menores a partir de polímeros.

A escolha adequada do fungo é de extrema importância visto que cada espécie é responsável por excretar enzimas que degradam majoritariamente um tipo de macromolécula. A classe de fungos *Basidiomycetes* apresentaram maiores eficiências na degradação de polímeros e podem ser divididos em diferentes grupos. Os fungos de podridão parda, ou *brown-rot fungi*, são responsáveis por degradar apenas moléculas de celulose. Os de podridão branca, ou *white-rot fungi*, degradam celulose, hemicelulose e lignina através da liberação de enzimas extracelulares hidrolíticas como a celulase e hemicelulase; e/ou oxidativas como lignina-peroxidase, manganês-peroxidase e a lacase (CORREIA et al., 2011; SHARMA e ARORA, 2015; KIRK e CULLEN 1998 apud CARVALHO et al., 2009).

A lignina-peroxidase é uma glicoproteína descoberta no ano de 1984 em culturas de *Phanerochaete chrysosporium*. Esta é produzida pelo fungo devido a falta de nutrientes, possui

em torno de 30% de açúcar, ferro como grupo prostético e necessidade de H₂O₂ no meio para o desempenho de sua função. O pH ótimo desta enzima é de aproximadamente 3,0. (CORREIA et al., 2011; MENEZES e BARRETO, 2015)

A manganês-peroxidase também é uma glicoproteína que é sintetizada simultaneamente com a lignina peroxidase a partir de alguns tipos de fungos basidiomicetos. Ela possui Ferro Protoporfirínico IX como grupo prostético e é dependente da presença Mn²⁺ e de peróxido de hidrogênio no meio (CORREIA et al., 2011; MENEZES e BARRETO, 2015).

A lacase, por sua vez, é uma glicoproteína formada, em geral, por quatro átomos de cobre no sítio ativo, que não dependem da presença de peróxido de hidrogênio no meio para desempenhar sua atividade catalítica. Apesar disso, a lacase pode ser sintetizada por diferentes microrganismos como fungos, bactérias, plantas e insetos. Devido a isso, possuem uma ampla faixa de pH (2 a 10) e temperatura ótima (40 a 65°C) (CORREIA et al., 2011; MENEZES e BARRETO, 2015).

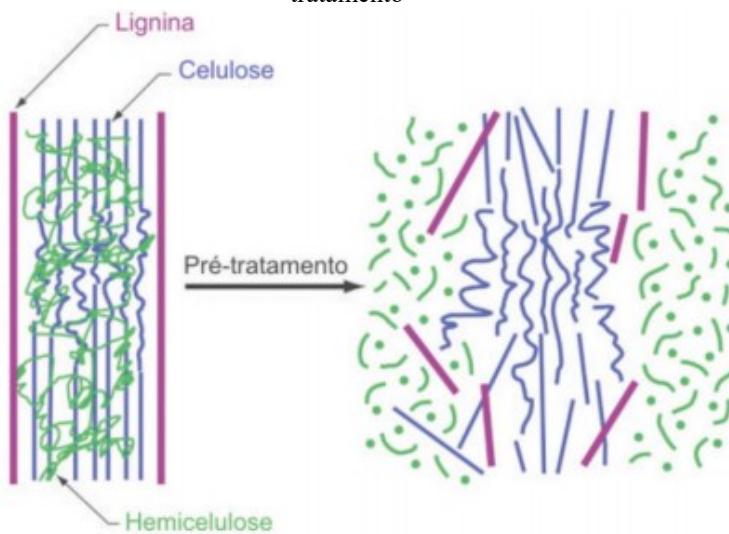
Dentre os diversos basidiomicetos, estudos indicaram um destaque para fungos *Phanerochaete chrysosporium* devido a características específicas como potencial de crescimento bem como de degradação da biomassa (MOOD et al., 2013; PRASAD et al., 2007). As enzimas celulases e hemicelulases serão tratadas no Capítulo 4.

Este método possui como principais vantagens o baixo custo operacional, devido a menor gasto energético, já que os processos são conduzidos em condições amenas de temperatura e pressão e ausência de necessidade de produtos químicos. Por outro lado, tem-se uma necessidade de monitoramento minucioso do crescimento dos microrganismos, assim como baixas taxas de hidrólise e, consequentemente, tempos prolongados de pré-tratamento (MOOD et al., 2013).

4. HIDRÓLISE

Após a realização do pré-tratamento, a biomassa lignocelulósica possui uma maior área superficial, bem como um menor teor de lignina e hemicelulose se comparada à biomassa inicial, resultando numa maior exposição das moléculas de celulose, conforme Figura 10.

Figura 10: Desconstrução da biomassa em termos de celulose, hemicelulose e lignina antes e após o pré-tratamento



Fonte: Santos et al. (2012)

Devido a estas condições, o material possui uma maior susceptibilidade à hidrólise, propriamente dita. Neste contexto, serão apresentados a hidrólise ácida e hidrólise enzimática.

4.1. Hidrólise Ácida

O princípio da hidrólise ácida consiste na quebra da celulose devido a ação de ácidos concentrados ou diluídos e é similar ao do pré-tratamento ácido já mencionado neste trabalho. O ácido utilizado será responsável por quebrar as ligações que ainda estão presentes nas moléculas de celulose, com o intuito de formação de um açúcar diretamente fermentescível, a glicose (SANTOS, 2013).

A biomassa lignocelulósica tem sido submetida à hidrólise em dois estágios: no primeiro estágio utiliza-se ácido diluído que hidrolisa, em condições amenas, as moléculas de hemicelulose. Já na segunda etapa, emprega-se ácido concentrado para hidrolisar a celulose residual (KUMAR et al., 2015; KIM et al., 2005).

A presença do ácido no meio reacional pode desencadear a quebra de outras moléculas,

resultando em produtos secundários indesejados: derivados de furano, derivados de fenol, ácidos carboxílicos, dentre outros (BEHERA et al., 2014). Assim como no pré-tratamento ácido, a escolha do ácido terá relação direta com a quantidade de açúcar fermentescível obtido, assim como de subprodutos indesejados.

Em trabalho desenvolvido por Kumar et al. (2015), empregou-se ácido sulfúrico diluído e concentrado para a hidrolisar o bagaço de cana-de-açúcar. Diferentes condições operacionais foram adotadas e estão listadas na Tabela 5.

Tabela 5: Condições operacionais para condução da hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar

Estágio	Ácido	Concentração (% p/p)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Proporção (Sólido:Líquido)
1 ^a	H ₂ SO ₄	1,8% a 5,4%	121	120	1:10
1B	H ₂ SO ₄	2% a 10%	100	90	1:8 - 1:4
2	H ₂ SO ₄	18% a 40%	80	90	1:4

Fonte: Adaptado de Kumar et al. (2015)

O primeiro estágio da hidrólise foi, inicialmente, realizado conforme condições do Estágio 1A, descritas na Tabela 5. Após conduzir a hidrólise nestas condições foi verificado uma concentração de furfural superior a 1g/L. Devido a isso, foram adicionadas outras condições de temperatura, tempo e proporções de sólido:líquido (Estágio 1B), mostrado na Tabela 5, para selecionar melhores condições operacionais.

De acordo com os autores, o ensaio que resultou em melhor recuperação dos açúcares foi a hidrólise do bagaço empregando ácido sulfúrico na concentração de 8%, proporção de sólido:líquido de 1:4 a 100 °C no primeiro estágio, associado a ácido sulfúrico a 40% com proporção de 1:4 a 80 °C no segundo estágio. Além disso, a associação destas condições resultou numa recuperação de aproximadamente 88% dos açúcares teóricos, com baixo teor de produtos secundários como o furfural e hidroximetilfurfural.

Devido a formação de produtos secundários indesejados durante a hidrólise ácida, é imprensável a retirada destes visto que, alguns agem como inibidores da fermentação. O processo de destoxificação é caracterizado pela remoção dos subprodutos que podem dificultar a conversão dos açúcares em etanol na etapa de fermentação. Existem diferentes métodos de destoxificação e a escolha deste está diretamente relacionada ao tipo de microrganismo que será utilizado na fermentação e também ao tipo de hidrolisado (FERREIRA, 2016).

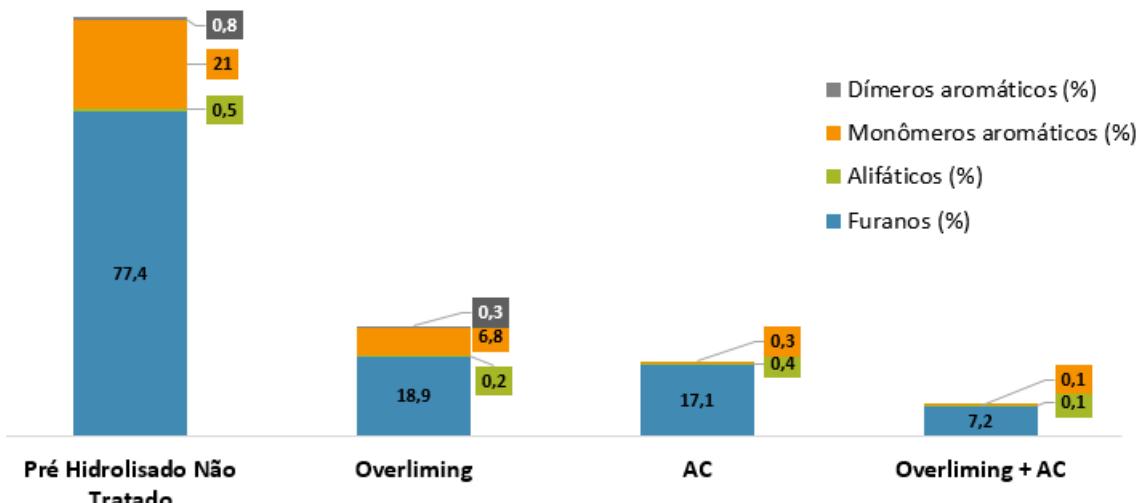
Um processo amplamente utilizado para a destoxificação de xaropes com ácido sulfúrico é a técnica de “overliming”. Esta consiste na alteração do pH do hidrolisado através

da adição de uma base, levando a formação de compostos com baixa solubilidade que são precipitados. Como benefícios tem-se a remoção de fenóis, precipitação de íons de metais pesados e conversão de furfural em outros produtos. Apesar disso, essa técnica não apresentou elevada eficiência na remoção de ácido acético (FERREIRA, 2016; AGUIAR, 2017).

Uma maneira alternativa de remoção de produtos indesejados do xarope é através da adsorção. Neste processo ocorre a retenção dos compostos inibitórios numa superfície porosa devido à ação de forças intermoleculares. O carvão ativado vem sido amplamente utilizado, por ser um adsorvente com elevada área superficial porosa, termoestabilidade e baixa reatividade com ácidos. Além disso, estudos que utilizaram a técnica de adsorção por carvão ativado apresentaram uma melhor eficiência de remoção do ácido acético, se comparada à técnica de overliming (FOO e HAMEED, 2010; FERREIRA, 2016; CADORNA et al., 2010; CHANDEL et al., 2007).

Zhang et al. (2018) desenvolveram estudo para avaliar da técnica de overliming, carvão ativado e a associação de ambas para a destoxificação. O material foi analisado e os compostos classificados em grupos, antes de ser submetido à hidrólise pelos diferentes métodos, de acordo com o tempo de retenção: derivados de furano e alifáticos, monômeros aromáticos e dímeros aromáticos. A Figura 11 apresenta o percentual destes grupos no material não tratado e após ser submetido à técnica de overliming, adsorção por carvão ativado (AC) e associação entre overliming e adsorção por carvão ativado.

Figura 11: Alterações no percentual de inibidores após destoxificação assumindo 100% de inibidores no pré-hidrolisado



Fonte: Adaptado de Zhang et al. (2018)

É possível observar que a associação das técnicas resultou em um percentual menor de

inibidores quando comparado ao pré hidrolisado não tratado, o que demonstra que há uma sinergia entre as técnicas, para este caso.

4.2. Hidrólise Enzimática

Nesta etapa, são empregadas diferentes enzimas, as hemicelulases e celulases, que são responsáveis por realizar a quebra dos polissacarídeos em monossacarídeos. As hemicelulases e as celulases podem ser obtidas a partir de microrganismos como fungos do gênero *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Humicola* (CASTRO e PEREIRA, 2010).

Devido ao baixo grau de polimerização, bem como a ausência de regiões cristalinas, a hemicelulose possui maior susceptibilidade à hidrólise que a celulose. Contudo, diante da sua estrutura variável e ramificações, enzimas específicas devem ser empregadas para que haja uma degradação completa (SANTOS, 2014).

As hemicelulases são enzimas que removem fragmentos de hemicelulose que ainda encontram-se depositadas sobre as fibras de celulose. Ao serem empregadas, tais enzimas auxiliam no aumento da eficiência do processo visto que aumentam, ainda mais, o acesso das celulases às moléculas de celulose (ALVIRA, 2010). As enzimas que clivam as ligações da hemicelulose podem ser divididas em endo-enzimas e exo-enzimas.

As endo-enzimas clivam as ligações que se encontram na região interna da macromolécula e as exo-enzimas produzem monossacarídeos a partir dos oligossacarídeos presentes na região mais externa da molécula (BRIENZO, 2010). São exemplos de hemicelulases as xilanases, mananases, β -xilosidase, β -mannosidases, α -arabinofuranosidases, α -galactosidases, acetil xilano esterase, feruloil esterases, p-cumaril-esterases e α -glicuronidase (SILVA, 2016).

As celulases, por sua vez, são enzimas que hidrolisam as ligações presentes na molécula de celulose, liberando diferentes açúcares que são diretamente fermentescíveis. Estas são específicas para diferentes regiões da molécula e podem ser divididas em três grupos: as endoglucanases, exoglucanases e β -glicosidases (CASTRO e PEREIRA, 2010).

As endoglucanases são responsáveis por iniciar a hidrólise da celulose, solubilizando-a rapidamente. Elas atuam aleatoriamente na região interna, preferencialmente na região amorfa da molécula, promovendo a formação de oligômeros. Diante disso, formam-se novas extremidades, com cadeias que possuem terminais redutores e não redutores. As exoglucanases agem sob a região cristalina, através das novas extremidades, produzindo partículas de celobiose e/ou glicose. Por fim, as β -glicosidases liberam glicose a partir da clivagem das

celobioses e oligossacarídeos solúveis presentes no meio (CASTRO e PEREIRA, 2010; SILVA, 2016; SARKAR et al., 2012).

A ação dos três grupos enzimáticos simultaneamente resulta em um maior rendimento de açúcares se comparado à ação isolada dos grupos. Este efeito é chamado sinergismo e pode ser definido como o aumento da atividade obtido pela mistura de enzimas comparada com a soma das atividades das enzimas individuais (AL-ZUHAIR, 2008; SUAREZ, 2014; CASTRO e PEREIRA, 2010; BHAT e BHAT, 1997).

A hidrólise enzimática possui como vantagens a condução do processo em condições menos severas- as condições ótimas para celulases estão entre 40 e 50 °C para temperatura e pH entre 4 e 5 (NEVES et al., 2007) e para a xilanase temperaturas entre 30-40°C e pH entre 4,0 a 7,0 (COSTA, 2017). Além disso, há uma baixa formação de subprodutos inibitórios da fermentação devido à alta especificidade das enzimas, o que resulta na redução de custos de separação e em aumento da eficiência da fermentação. Como desvantagem, tem-se a necessidade de um pré-tratamento e uma taxa de hidrólise lenta, se comparada a outros tipos de hidrólise (SUAREZ, 2014; SARKAR et al., 2012; PEREIRA, 2013).

5. FERMENTAÇÃO

A fermentação é um processo que ocorre na presença de microrganismos que produzem etanol a partir da utilização de açúcares diretamente fermentescíveis como substrato. Na produção de Etanol 2G, a etapa de fermentação é dificultada devido a presença de diferentes tipos açúcares: as hexoses e as pentoses.

As hexoses são os carboidratos que possuem seis carbonos em sua estrutura, como a glicose, manose e galactose. Estes também estão presentes no mosto utilizado para obtenção de Etanol 1G e são facilmente fermentescíveis. As pentoses, por sua vez, são açúcares formados por cinco carbonos como a xilose e a arabinose. Estes estão presentes apenas no mosto utilizado para obtenção do Etanol 2G, e possuem fermentação com maior grau de dificuldade, se comparado às hexoses.

Devido à presença dos dois tipos de açúcares no mosto a ser fermentado, torna-se imprescindível a escolha de microrganismos que sejam capazes de fermentar as hexoses, as pentoses ou ambas. Para um método de produção de etanol comercialmente viável, um microrganismo ideal seria aquele que apresentasse um elevado consumo do substrato, alto rendimento de etanol e produtividade, que suportasse elevadas concentrações de etanol, elevadas temperaturas, variações de pH e a presença de subprodutos inibitórios produzidos no pré-tratamento da biomassa (SARKAR et al., 2012).

Os microrganismos mais utilizados são leveduras. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é mais empregada para promover a fermentação alcóolica (SANTOS et al., 2010). A ampla utilização está diretamente associada à resistência ao etanol, velocidade de consumo de substrato e a resistência aos inibidores (CANILHA et al., 2012; LIN e TANAKA, 2006) . Apesar disso, esse tipo de levedura viabiliza apenas a fermentação de hexoses, visto que não possui genes capazes de assimilar as pentoses (HECTOR et al., 2011). Como produtos majoritários da fermentação alcóolica tem-se etanol e gás carbônico. Porém glicerol, ácidos succínico, acético, pirúvico e outros compostos podem ser gerados de acordo com as condições operacionais. A formação desses produtos secundários pode ser benéfica para a adaptação e sobrevivência da levedura. Além disso, outros microrganismos como *Escherichia coli*, *Zymomonas mobilis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia stipitis* e *Candida brassicae* também podem ser empregados para fermentação (SILVA et al., 2005; SANTOS, 2012; NIGAM, 2001; ZAFAR e OWAIS, 2006; SPINDLER et al., 1988).

A fermentação alcóolica pode ser realizada de diferentes maneiras: Sacarificação e Fermentação realizadas separadamente (SHF), Fermentação e Sacarificação de forma

Simultânea (SSF), Sacarificação e Co-fermentação simultânea (SSCF) e Bioprocesso consolidado (CPB) (DANQUAH et al., 2011).

5.1. Sacarificação e Fermentação realizadas separadamente (SHF)

A fermentação e sacarificação quando realizadas separadamente (SHF), é caracterizada pela formação de enzimas, hidrólise da biomassa, fermentação das hexoses e pentoses em reatores distintos, ou seja, os processos ocorrem individualmente (LYND et al., 2002; CANILHA et al., 2012).

A realização independente desses processos viabiliza a realização em condições ótimas para ambos, ou seja, mesmo que as enzimas utilizadas na hidrólise e as leveduras utilizadas para fermentação tenham faixas de temperatura e pH ótimos diferentes, a atividade destes microrganismos não será prejudicada. Em muitos trabalhos da literatura são empregados temperaturas entre 45-50 °C para a hidrólise já que esta faixa de temperatura favorece a ação das enzimas (RODRIGUES, 2014).

Entretanto, o processo pode ser limitado devido à inibição das celobiohidrolases e das β -Glicosidases através dos respectivos produtos de hidrólise, celobioses e glicoses (SOUZA, 2016; NAKAJIMA et al., 2012; SILVA, 2016).

5.2. Sacarificação e Fermentação realizadas simultaneamente (SSF e SSCF)

Os processos de hidrólise enzimática e fermentação podem ser conduzidos simultaneamente em um mesmo reator de duas maneiras diferentes. A Fermentação e Sacarificação de forma Simultânea (SSF), a fermentação é realizada em um mesmo reator simultaneamente com a hidrólise da celulose, ou seja, somente as hexoses são convertidas a etanol e as pentoses são hidrolisadas e fermentadas em outro reator, por um microrganismo diferente (ANDRADE, 2014; AGUIAR, 2017).

Já na Sacarificação e Co-fermentação simultânea (SSCF), a hidrólise ocorre simultaneamente com a fermentação das hexoses e pentoses, sendo necessário o emprego de um microrganismo capaz de fermentar as pentoses e as hexoses (DANQUAH et al., 2011).

A principal vantagem desses processos é a menor susceptibilidade de inibição enzimática pela glicose. Isso acontece pois a partir do momento em que as moléculas de glicose são formadas, as leveduras presentes no reator as consomem, convertendo-as em etanol. Em consequência disso, tem-se um aumento da taxa global de conversão de celulose em etanol e,

consequentemente, do rendimento (SOUZA, 2011). Além disso, tem-se como vantagem a redução de custos operacionais, uma vez que o processo é conduzido em apenas um reator, redução do tempo total do processo e menor susceptibilidade de contaminação por outros microrganismos devido à presença de etanol no reator.

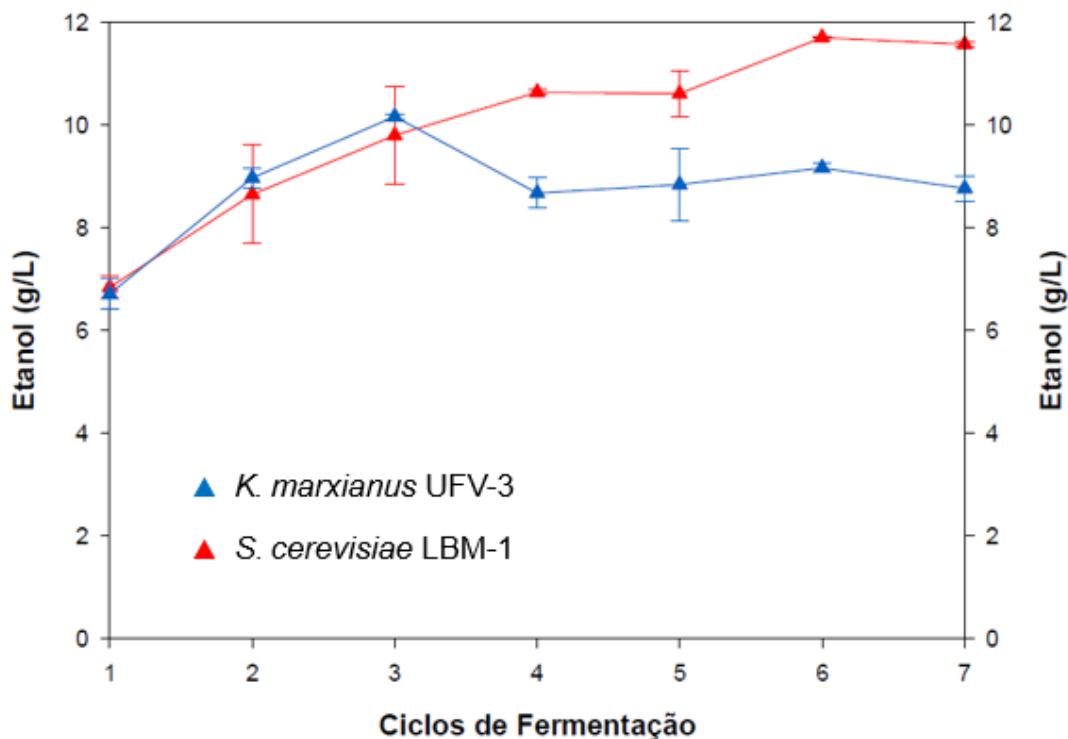
Uma desvantagem, no caso da sacarificação e co-fermentação simultânea, é a elevação do custo de investimento devido à utilização de leveduras obtidas a partir do melhoramento genético de linhagens recombinantes, que são capazes de fermentar tanto as hexoses quanto as pentoses. Associado a isso, elevadas concentrações de etanol no meio podem inibir a conversão de glicose em etanol. Ademais, as condições operacionais podem resultar numa diminuição da eficiência da hidrólise enzimática, visto que a faixa de operação ótima para as enzimas e leveduras, na maioria das vezes, é distinta.

Diante disso torna-se extremamente importante a determinação de temperatura, pH e velocidade de agitação que favoreçam a atividade das enzimas e das leveduras nos processos em que a ação dos microrganismos é simultânea. A temperatura de condução desse processo, normalmente, é inferior ao processo SHF. Uma forma de evitar este problema é empregando enzimas termotolerantes ao processo (SPINDLER et al., 1988).

Souza (2011) empregou duas cepas de leveduras selvagens termotolerantes na produção de etanol pelo método SSF: *S. cerevisiae LBM-1* e *K. marxianus UFV-3*, ambas obtidas no Laboratório de Fisiologia de Microrganismos da Universidade Federal de Viçosa. Para avaliar a atividade das leveduras, o bagaço de cana-de-açúcar foi submetido, inicialmente a um pré-tratamento ácido/básico. Em seguida foi realizado um ensaio de sacarificação e fermentação simultâneas para cada levedura a 37 e 42 °C, e outro ensaio nas mesmas condições com a diferença de uma pré-hidrólise da biomassa a 50°C. A partir disso, foi possível avaliar a atividade das leveduras.

De acordo com o autor, os rendimentos para as temperaturas de 37 e 42°C foram similares para ambas leveduras. Além disso, a adição da etapa de pré-hidrólise resultou em um aumento do rendimento de glicose. Foi feita a análise de rendimento da fermentação após ciclos de fermentação e, conforme mostra a Figura 12, a cepa de *S. cerevisiae LBM-1* permaneceu um maior número de ciclos sem diminuição do rendimento de etanol.

Figura 12: Rendimento de etanol de diferentes leveduras para sete ciclos de fermentação a 42°C



Fonte: Adaptado de Souza (2011)

5.3. Bioprocesso consolidado (CBP)

No bioprocesso consolidado (CBP) a produção das enzimas, a sacarificação e a fermentação das pentoses e hexoses, ocorrem simultaneamente em um mesmo reator. O microrganismo produzido no reator é o responsável por realizar a hidrólise e a fermentação das pentoses e hexoses. A obtenção dessas enzimas pode ser feita a partir da modificação de microrganismos que já possuem potencial fermentador ou alto potencial de produção de celulases e xilanases (LYND et al., 2005).

A grande vantagem desse processo está no potencial de redução de custos associados a obtenção de microrganismos para a realização da hidrólise e fermentação do material lignocelulósico. Lynd et al. (2005) estimaram através de estudo uma redução de aproximadamente 23% no custo de obtenção de etanol com uso da tecnologia CBP se comparado a utilização da estratégia SSCF (produzindo celulase). Apesar disso, os microrganismos modificados ainda não possuem níveis desejados de produção de etanol e celulases, simultaneamente (LYND et al., 2002).

A Tabela 6 apresenta as principais vantagens e desvantagens das diferentes formas de condução da hidrólise e da fermentação.

Tabela 6: Vantagens e desvantagens das diferentes formas de condução da fermentação

Tipo	Vantagens	Desvantagens
SHF	Hidrólise e Fermentação conduzidas em condições ótimas	Efeitos inibitórios Maior contaminação
	Baixa quantidade de enzima alimentada	Dificuldade na determinação da condição ótima para ambos os processos
SSF	Elevado rendimento de etanol Minimização do risco de contaminação	Dificuldade no controle do processo
	Menor custo	Elevada carga enzimática
SSCF	Tempo de processamento curto Elevado rendimento de etanol	Dificuldade na determinação da condição ótima para ambos os processos
	Minimização do risco de contaminação	Falta de microrganismos adequados
CBP	Energeticamente eficiente	Dificuldade no controle do processo

Fonte: Adaptado de Danquah et al. (2011)

6. CENÁRIO NACIONAL DE PRODUÇÃO DE ETANOL 2G

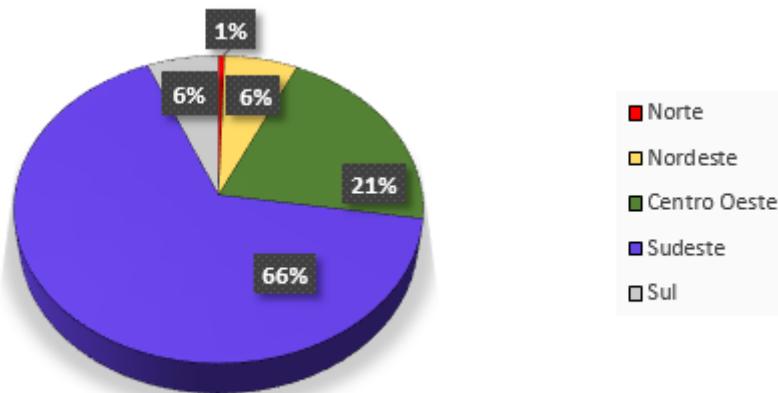
Atualmente, o Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar do mundo (UNICA, 2019) sendo esta a principal matéria prima para a produção de Etanol 1G. A Tabela 7 apresenta a produção por região para diferentes safras e a Figura 13 a produção percentual por região.

Tabela 7: Produção de cana-de-açúcar por safra para as regiões brasileiras

Região	2016/2017 (mil toneladas)	2017/2018 (mil toneladas)	2018/2019 (mil toneladas)
Norte	3.266	3.464	3.291
Nordeste	41.438	41.342	44.416
Centro Oeste	134.264	133.696	136.855
Sudeste	432.410	425.471	400.589
Sul	40.463	37.092	35.681
Total	651.841	641.066	620.832

Fonte: Adaptado de Unica (2019)

Figura 13: Produção percentual de cana-de-açúcar para as safras de 2016/2017, 2017/2018, 2018/2019 para as regiões do Brasil



Fonte: Adaptado de Unica (2019)

Os Estados Unidos desenvolveram tecnologias para a produção de etanol a partir de matéria prima a qual não possui açúcares diretamente fermentescíveis, o milho. Diante disso, despertou-se o interesse pela produção de etanol a partir da utilização do bagaço e da palha de cana de açúcar, bem como outros tipos de biomassa que necessitam de um pré-tratamento para a realização da etapa de fermentação.

O CTC, Centro de Tecnologia Canavieira, tem grande participação no desenvolvimento de tecnologias para a produção de etanol no Brasil. A participação iniciou-se com um programa

de melhoramento genético que trouxe como resultado o lançamento da sua primeira variedade de cana-de-açúcar no ano de 1983 (CTC, 2019).

Além disso, contribuiu com melhorias no processamento da colheita da cana-de-açúcar no ano de 1995. A partir de 2004, tornou-se uma instituição sem fins lucrativos. Em 2012, em parceria com a Embrapa, o CTC iniciou o estudo para desenvolvimento de levedura nacional capaz de hidrolisar a pentoses. Já em 2014, foi finalizada a construção da planta semi industrial de Etanol 2G em parceria com a usina de São Manoel- SP, tendo como matéria prima o bagaço e a palha da cana-de-açúcar excedente do processo de co-geração de energia das usinas de Etanol 1G (CTC, 2019).

Para o processamento do material, utiliza-se um pré-tratamento físico, explosão a vapor com a utilização de catalisadores, seguida de hidrólise enzimática do material. Em parceria realizada com a Novozymes, foi possível reduzir a quantidade de enzimas empregadas no processo pelo desenvolvimento de um conjunto de enzimas para a produção de Etanol 2G. Ainda em 2014, foi construído o laboratório de biotecnologia industrial na cidade de Piracicaba-SP (CORRÊA, 2014; LORENZI, 2018).

Em entrevista dada à Revista Pesquisa FAPESP em dezembro de 2018, o diretor de negócios de etanol celulósico afirmou que o caminho para o desenvolvimento da tecnologia de obtenção de Etanol 2G tem sido mais longo que o previsto por especialista (REVISTA FAPESP, 2018).

A empresa GranBio foi a primeira planta em escala comercial de etanol celulósico do Hemisfério Sul. Foi criada em 2011 e possui sede em São Paulo-SP, porém a produção de Etanol 2G foi iniciada em 2014, na usina BioFlex 1, localizada em São Miguel dos Campos-AL, com investimento inicial de 350 milhões de reais (GRANBIO, 2019; LORENZI, 2018).

A palha de cana-de-açúcar é a principal matéria prima utilizada para produção de Etanol 2G e lignina na unidade localizada no nordeste do país. O pré-tratamento é feito através de explosão a vapor licenciado pela BetaRenewables. As enzimas utilizadas no processo também são da Novozymes, porém a empresa não tem participação no desenvolvimento destas. Apesar disso, a empresa investe em desenvolvimento de leveduras com capacidade de desenvolver a fermentação de hexoses e pentoses, em laboratórios localizados em Campinas, em parceria com a Unicamp (CORRÊA, 2014; SOARES, 2016; LORENZI, 2018).

Ainda assim, a empresa utiliza levedura da empresa holandesa Royal DSM para a produção do biocombustível. A usina possui capacidade de produção de 82 milhões de litros de Etanol 2G anual, porém sua capacidade operacional nunca foi atingida. Em 2016, devido a complicações no pré-tratamento da biomassa, a produção de etanol celulósico foi interrompida

pela segunda vez, a previsão de retomada da produção era para o final de janeiro de 2019, porém dados recentes de produção não foram encontrados na literatura (CORRÊA, 2014; SOARES, 2016; LORENZI, 2018).

A Raízen, outra empresa brasileira, foi fundada em 2011 a partir da junção de negócios das empresas Shell e Cosan, com investimento de 232 milhões de reais. Está entre as líderes em moagem de cana, produção de etanol e distribuição de combustíveis (RAÍZEN, 2019). Sua localização é na cidade de Piracicaba- SP, mas possui atuação em todos os estados brasileiros.

Em relatório anual publicado pela empresa, referente a 2017/2018, foi relatada produção de 12 milhões de litros de Etanol 2G. O processo desenvolvido pela usina brasileira utiliza apenas bagaço de cana como biomassa, pré-tratamento físico através da explosão a vapor e hidrólise enzimática com utilização de enzimas da Novozymes. A levedura utilizada para fermentação é capaz de fermentar as frações de pentoses e hexoses simultaneamente (LORENZI, 2018; RAÍZEN, 2019). A Tabela 8 apresenta a comparação entre os processos desenvolvidos nas duas usinas brasileiras.

Tabela 8: Comparação entre o processo de produção de etanol celulósico da GranBio e Raízen

Empresa	GranBio	Raízen
Capacidade inicial da planta (milhões L/ano)	82	40
Tipo	Comercial	Comercial
Localização	São Miguel dos Campos- AL	Piracicaba-SP
Custo de investimento (milhões de reais)	350	232
Financiamento BNDES (milhões de reais)	880	207
Hidrólise (Enzimas)	Novozymes- Dinamarquesa	Novozymes- Dinamarquesa
Fermentação (Leveduras)	Pentoses e Hexoses (DSM- Holandesa)	Pentoses e Hexoses (Iogen - Canadense)
Pré- Tratamento	Explosão a vapor	Explosão a vapor
Matéria Prima	Palha da cana-de-açúcar (principal)	Bagaço da cana-de-açúcar

Fonte: Adaptado de Lorenzi (2018)

Em relação ao custo de produção de Etanol 2G no Brasil, Lorenzi (2018) afirma:

[...] apesar de seus benefícios, produzir bioeletricidade também envolve questões ainda abertas que requerem esforços dos governos e investimentos das usinas, assim como o etanol celulósico. Ao contrário da maior parte do mundo, o etanol de segunda geração no Brasil não vem para substituir o de primeira geração ou tornar a produção de etanol mais competitivo, mas sim para complementá-lo, posto que o Brasil produz o etanol de primeira geração mais barato do mundo. Enquanto na maior parte do mundo produzir etanol é mais caro do que produzir gasolina e as políticas de incentivo ao uso de etanol são mais ambientais do que econômicas, o Brasil é uma das únicas exceções em que produzir etanol pode ser mais barato que a gasolina. Por isso, enquanto países como os EUA e França querem um etanol de segunda geração a preços competitivos, no Brasil esse etanol será mais caro que o de primeira geração no médio prazo.

Diante de tal afirmação nota-se que diferentes processos devem estar associados à produção de Etanol 2G para que esta passe a ser viável a curto prazo. Uma alternativa

interessante é a recuperação e processamento da lignina visando produtos de maior valor agregado.

7. RECUPERAÇÃO E VALORIZAÇÃO DA LIGNINA

Atualmente, a lignina é obtida como subproduto em diferentes processos industriais, como na indústria de papel e celulose e na produção de Etanol 2G. Devido ao seu elevado poder calorífico a lignina tem sido aplicada, principalmente, como fonte de energia para combustão. Levando em consideração que a produção de lignina em diversos setores é muito maior que o necessário para manter as usinas energeticamente, uma fração da lignina produzida poderia ser transformada em produtos de maior valor agregado (FOSTON et al., 2013; RAGAUSKAS et al., 2014; KOMURA, 2015)

Em relatório publicado, a Suzano Papel e Celulose, empresa brasileira, anunciou em 2015 o investimento de 70 milhões de reais para o desenvolvimento da primeira planta industrial de lignina e seus derivados da América do Sul, na Unidade Limeira localizada no Estado de São Paulo. Anteriormente, toda lignina produzida era utilizada como fonte combustível para geração de energia (SUZANO, 2019; DCI, 2015).

Em entrevista dada ao site Diário Comércio Indústria & Serviços, o diretor executivo de operações da Suzano afirmou que a geração de energia seria diminuída em 2 MW/h por tonelada de lignina extraída, porém, a comercialização do produto retornaria o triplo do valor obtido pela comercialização da energia elétrica produzida. A capacidade de produção estimada foi de 20 mil toneladas por ano e tinha como previsão o start-up da planta em 2018, porém dados mais recentes da unidade não foram encontrados. Diante disso, nota-se que a lignina possui um elevado potencial como precursora de produtos de alto valor agregado (SUZANO, 2019; DCI, 2015).

Para a utilização da lignina como matéria-prima para produtos de maior valor agregado, primeiramente, é necessário que seja feita sua recuperação. Esse componente pode ser recuperado logo após o pré-tratamento, ou após a fermentação dos açúcares. A composição da lignina recuperada está diretamente relacionada à biomassa de origem, ao pré-tratamento no qual a biomassa lignocelulósica foi submetida e na forma de recuperação empregada. Após sua recuperação, diferentes processos podem ser utilizados para sua valorização, catalíticos ou não, como a pirólise, solvólise, conversão hidrotérmica e hidroconversão (JOFFRES et al., 2013).

Diversos autores desenvolveram trabalhos para estudo de valorização da lignina para aplicação em elastômeros termoplásticos, espumas e membranas poliméricas, produtos cerâmicos, aditivos em concreto, uso em baterias, formulação de vernizes e tintas, nutrição de animais, resinas de fenol, agentes de flotação, condicionadores de solos e dispersantes, entre

outros (JOFFRES et al., 2013; RAGAUSKAS et al., 2014; KOMURA, 2015; LORA e GLASSER, 2002).

As fibras de carbono usualmente são derivadas de poliacrilonitrila (PAN) e possuem um custo elevado, diante disso a produção das fibras a partir de lignina torna-se uma alternativa interessante. As fibras de carbono possuem características únicas e possuem diversas aplicações em diferentes ramos, conforme descrito na Tabela 9. Este material tem sido amplamente estudado para substituição de aço estrutural com o intuito de obtenção de veículos mais leves (SOUTO et al., 2015).

Tabela 9: Diferentes propriedades físicas e aplicações para as fibras de carbono

Propriedades Físicas	Aplicação
Força, resistência específica, peso leve	Aeronáutica: asas, superfícies de controle; automotivo: molas, cabos de pneus; artigos esportivos: esquis, raquetes de tênis
Elevada estabilidade dimensional, baixo coeficiente de expansão térmica, e baixa abrasão	Mísseis, freios de aeronaves, aeroespacial antena e estruturas de apoio, telescópios grandes, bancos ópticos, guias de onda para estável de alta frequência (GHz) quadros de medição de precisão
Bom amortecimento de vibrações, força e tenacidade	Equipamentos de áudio, alto-falantes, bobinas, braços de coleta, instrumentos musicais, braços robóticos
Condutividade elétrica	Capuzes de automóveis, carcaças e bases para equipamentos eletrônicos, pincéis, papéis e plásticos condutores, eletrodos, elementos de aquecimento, cabos supercondutores
Filtros biológicos	Filtros de sangue, dispositivos protéticos, cirúrgicos e equipamentos de raios X, implantes, tendão/ligamento reparação
Resistência à fadiga, autolubrificação, alto amortecimento	Máquinas têxteis, engenharia geral, os rolamentos de alta tensão, os volantes
Inércia química, resistência à corrosão	Indústria química; campo nuclear; válvulas, selos, juntas e componentes de bombas em plantas de processos
Propriedades eletromagnéticas	Anéis geradores de contenção grandes, equipamentos radiológicos

Fonte: Souto et al. (2015)

Para produzir fibras de carbono a partir da lignina, inicialmente a lignina deve ser recuperada e, em seguida, submetida a um processo de extrusão que a transforme em fibras. Posteriormente, estas devem passar por um processo de termoestabilização oxidativa para evitar

o encolhimento e derretimento do material. Finalmente, as fibras precisam ser pirolisadas a altas temperaturas e carbonizadas (FOSTON et al., 2013; SOUTO et al., 2015; RAGAUSKAS et al., 2014).

Atualmente, as fibras de carbono derivadas da lignina apresentam um menor grau de organização estrutural e, consequente, propriedades físicas inferiores ao das fibras derivadas do petróleo. Diante disso, torna-se necessário o desenvolvimento e melhoramento das etapas que envolvem a lignina para a produção de fibras de carbono. Segundo Ragaukas et al. (2014), fibras de carbono com maior grau de organização podem ser obtidos através de modificações químicas na estrutura da lignina, com um menor número de ligações reativas ou através de estratégias inovadoras de biossíntese.

Diante desse cenário, nota-se a grande importância do desenvolvimento de tecnologias de recuperação e processamento da lignina proveniente da produção de Etanol 2G no Brasil, para que esta se torne ainda mais viável economicamente e ambientalmente.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através do trabalho realizado, é possível afirmar que há um elevado potencial de utilização de bagaço de cana-de-açúcar e palha de cana-de-açúcar como biomassa para a produção de etanol celulósico, visto que o Brasil apresenta números expressivos na produção de cana-de-açúcar.

Foi possível notar que o rendimento de etanol celulósico, depende fortemente da escolha do pré-tratamento, assim como do ácido utilizado na hidrólise ácida, das enzimas a serem utilizadas na hidrólise enzimática e das leveduras utilizadas para a fermentação. Dessa forma, é de grande importância o desenvolvimento de estudos que avaliem condições ótimas para este processamento.

Por fim, foi verificada a necessidade de desenvolvimento de projetos que viabilizem ainda mais a produção de Etanol 2G no Brasil para que impactos ao meio ambiente sejam minimizados, e que toda a fração da biomassa possa ser convertida em produtos com maior valor agregado, fator que irá contribuir na redução do volume de resíduos gerado no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, H. R. R. **Produção de etanol de segunda geração.** 2017. 85 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.
- ALBUQUERQUE, M. E. P. **Avaliação da utilização do processo de explosão a vapor como Pré-Tratamento para extração de lignina Acetosolv do bagaço de cana-de-açúcar.** 2016. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.
- ALVIRA, P; TOMAS-PEJO, E; BALLESTEROS, M; NEGRO, M. J. **Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review.** *Bioresource Technology*. v. 101, n. 13, p. 4851-4861, 2010.
- AL-ZUHAIR, S. The effect of crystallinity of cellulose on the rate of reducing sugars production by heterogeneous enzymatic hydrolysis, **Bioresource Technol**, v. 99, p. 4078, 2008.
- AMIRI, H.; KARIMI, K.; ZILOUEI, H. Organosolv pretreatment of rice straw for efficient acetone, butanol, and ethanol production. **Bioresource technology**, v. 152, p. 450-456, 2014.
- ANDRADE, L. F. **Produção de etanol de segunda geração.** 2014. 26 f. Monografia (para obtenção do grau de Especialista em Microbiologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.
- ARAÚJO, C. R.; GARRIDO, C. V. S.; SANTOS, J. M. G .M.; LEAL, S. C .S.; CAMPOS, L. M. A. **Estudo das rotas de hidrólise química e biológica para a produção de etanol de segunda geração a partir de resíduos lignocelulósicos.** XII SEPA - Seminário Estudantil de Produção Acadêmica, UNIFACS, 2013. Disponível em: <http://www.revistas.unifacs.br/index.php/sepa>.
- ASSUMPÇÃO, S. M. N. **Pré-tratamento químico combinado do bagaço da cana visando a produção de etanol de segunda geração.** 2015. 99f. Tese (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.
- BEHERA, S.; ARORA, R.; NANDHAGOPAL, N.; KUMAR, S. Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, p. 91-106, 2014.
- BETANCUR, G. J. V.; PEREIRA JR, N. Sugar cane bagasse as feedstock for second generation ethanol production: Part I: Diluted acid pretreatment optimization. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 3, p. 10-11, 2010.
- BHAT, M. K.; BHAT, S. Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications. **Biotechnology advances**, v. 15, n. 3-4, p. 583-620, 1997.
- BNDES, BANCO NACIONAL DO DESENVOLVIMENTO. **Etanol 2G: inovação em biocombustíveis.** Disponível em: <https://www.bnDES.gov.br/wps/portal/site/home/conhecimento/noticias/noticia/etanol-2g-inovacao-biocombustiveis>. Acesso em: 14 de junho de 2019.

BRIENZO, M. Extração da hemicelulose do bagaço de cana-de-açúcar para produção de xilo-oligossacarídeos. 2010. 137 f. Tese (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Lorena, 2010.

BRODEUR,G.; YAU, E.; BADAL, K.; COLLIER, J.; RAMACHANDRAN, K. B.; RAMAKRISHNAN, S. Chemical and Physicochemical Pretreatment of Lignocellulosic Biomass: A Review. **Enzyme Research**, p.1-17, 2011.

BUSSEMAKER, M. J.; ZHANG, D. Effect of ultrasound on lignocellulosic biomass as a pretreatment for biorefinery and biofuel applications. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 52, n. 10, p. 3563-3580, 2013.

CANILHA, L.; CHANDEL, A. K.; MILESSI, T.S.S.; Antunes, F. A. F.; Freitas, W. L. C.; FELIPE, M.G.A.; SILVA, S.S. Bioconversion of sugarcane biomass into ethanol: an overview about composition, pretreatment methods, detoxification of hydrolysates, enzymatic saccharification, and ethanol fermentation. **BioMed Research International**, v. 2012, 2012.

CARDONA, C. A.; QUINTERO, J. A.; PAZ, I. C. Production of bioethanol from sugarcane bagasse: status and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4754-4766, 2010.

CARVALHO, W.; CANILHA, L.; FERRAZ, A.; MILAGRES, A. M. F. Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 1-5, 2009.

CASTRO, A. M.; PEREIRA JR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.

CHANDEL, A. K.; KAPOOR, R. K.; SINGH, A.; KUHAD, R. C. Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production by *Candida shehatae* NCIM 3501. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 10, p. 1947-1950, 2007.

CHENG, J.; SU, H.; ZHOU, J.; SONG, W.; CEN, K. Microwave-assisted alkali pretreatment of rice straw to promote enzymatic hydrolysis and hydrogen production in dark-and photo-fermentation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 3, p. 2093-2101, 2011.

CONAB, COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira**. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar/item/download/22956_506e8f00170422c62a452d3e319a6d6f. Acesso em 13 de junho de 2019.

CORRÊA, C. B. **Parcerias estratégicas tecnológicas em projetos de etanol celulósico: oportunidades e desafios para as firmas nacionais**. 2014. 121 f.. Tese (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014).

CORREIA, D. D. S.; SANTOS, F. D. R.; SOARES, L. D. B.; CORREIA, M. Enzimas oxidativas microbianas envolvidas na biodegradação da lignocelulose: produção, características bioquímicas e importância biotecnológica. **Embrapa Agrobiologia-Dокументos**, 2011.

CORTEZ, L. A. B.; LORA, E. E. S.; OLIVARES GÓMEZ, E. S. **Biomassa para energia**. – Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2008. 736p.

COSTA, G. B. M. D. **Produção e caracterização de Xilanases obtidas por fermentação em estado sólido.** 2017. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

CRUZ, M. L. **Avaliação das condições de processo na resistência da levedura ao teor final de etanol na fermentação alcoólica.** 2015. 85 f. Tese (Mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.

CTC – Centro de Tecnologia Canavieira. Disponível em: <http://ctc.com.br/institucional/nossa-historia/>. Acesso em: 18 de junho de 2019.

DANQUAH, M.; LIU, B.; HARUN, R. Analysis of process configurations for bioethanol production from microalgal biomass. **Progress in Biomass and Bioenergy Production.** IntechOpen, 2011.

DCI- Diário Comércio Indústria & Serviços. Disponível em: <https://www.dci.com.br/industria/suzano-investe-em-extrac-o-de-lignina-para-produc-o-de-resinas-e-borrachas-1.591415>. Acesso em 15 de junho de 2019.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA (EPE). **Balanço Energético Nacional 2018: Ano base 2017** Disponível em: http://epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-bertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-303/topicos-19/BEN2018_Int.pdf. Acesso em: 13 de junho de 2019.

FERREIRA, A. D. **Produção eficiente de etanol 2G a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana de açúcar: otimizando condições de cultivo e operacionais.** 2016. 153 f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, 2016.

FIGUEIREDO, A. L. **Pirólise termoquímica de pós da fibra de coco seco em um reator de cilindro rotativo para produção de bio-óleo.** 2011. 113 f. Tese (Mestrado) - . Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. Detoxification of pesticide waste via activated carbon adsorption process. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, n. 1-3, p. 1-11, 2010.

FOSTON, M.; NUNNERY, G. A.; MENG, X.; SUN, Q.; BAKER, F. S.; RAGAUSKAS, A. NMR a critical tool to study the production of carbon fiber from lignin. **Carbon**, v. 52, p. 65-73, 2013.

GRANBIO- Tecnologia e Inovação em bioenergia. Disponível em: <http://www.granbio.com.br/conteudos/biocombustiveis/>. Acesso em: 18 de junho de 2019.

GROSSI, E.C. **Produção de etanol de segunda geração a partir de um derivado de celulose.** 2015. 75 f. Tese (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

GUILHERME, A. A. **Estudo experimental e modelagem do processo de sacarificação e fermentação simultânea utilizando bagaço de cana-de-açúcar para produção de etanol.** 2014. 258 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

HECTOR, R. E.; MERTENS, J. A.; BOWMAN, M. J.; NICHOLS, N. N.; COTTA, M. A.; HUGHES, S. R.; *Saccharomyces cerevisiae* engineered for xylose metabolism requires gluconeogenesis and the oxidative branch of the pentose phosphate pathway for aerobic xylose assimilation. **Yeast**, v. 28, n. 9, p. 645-660, 2011.

HSU, T. C.; GUO, G. L.; CHEN, W. H.; HWANG, W. S. Effect of dilute acid pretreatment of rice straw on structural properties and enzymatic hydrolysis. **Bioresource technology**, v. 101, n. 13, p. 4907-4913, 2010.

HUBER, G.W.; IBORRA, S.; CORMA, A. Synthesis of transportation fuels from biomass: chemistry, catalysts, and engineering. **Chemical reviews**. v. 106, n. 9, p. 4044-4098, 2006.

JACQUET, N; MANIET, G; VANDERGHEM, C; DELVIGNE, F; RICHEL, A. Application of steam explosion as pretreatment on lignocellulosic material: a review. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 54, n. 10, p. 2593-2598, 2015.

JOFFRES, B.; LAURENTI, D.; CHARON, N.; DAUDIN, A.; QUIGNARD, A.; GEANTET, C. Thermochemical conversion of lignin for fuels and chemicals: A review. **Oil & Gas Science and Technology–Revue d’IFP Energies nouvelles**, v. 68, n. 4, p. 753-763, 2013.

KHAN, A. A.; DE JONG, W.; JANSENS, P. J.; SPLIETHOFF, H. Biomass combustion in fluidized bed boilers: Potential problems and remedies. **Fuel Processing Technology**. v. 90, n. 1, p. 21–50, 2009.

KIM, K. H.; TUCKER, M.; NGUYEN, Q. Conversion of bark-rich biomass mixture into fermentable sugar by two-stage dilute acid-catalyzed hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 11, p. 1249-1255, 2005.

KOMURA, R. K. **Investigação dos métodos de separação, uso e aplicação da Lignina proveniente da biomassa lignocelulósica**. 2015. 50 f. Trabalho de Conclusão de Curso-Universidade Estadual Paulista, Guaratinguetá, 2015.

KUMAR, S.; DHEERAN, P.; SINGH, S. P.; MISHRA, I. M.; ADHIKARI, D. K. Kinetic studies of two-stage sulphuric acid hydrolysis of sugarcane bagasse. **Renewable Energy**, v. 83, p. 850-858, 2015.

LAU, M. W.; GUNAWAN, C.; DALE, B. E. The impacts of pretreatment on the fermentability of pretreated lignocellulosic biomass: a comparative evaluation between ammonia fiber expansion and dilute acid pretreatment. **Biotechnology for biofuels**, v. 2, n. 1, p. 30, 2009.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios de bioquímica**. São Paulo, SP: Editora Sarvier, 2006. 1202p.

LEITÃO, R. C.; PINHEIRO, F. G. C.; SOARES, A. K. L.; ALBUQUERQUE, M. E. P.; NETO, F. P. M.; VALE, M. do S.; SOUZA FILHO, M. S. M.; ROSA, M. F.; SANTAELLA, S. T. Pré tratamento do bagaço da cana-de-açúcar por explosão a vapor visando à extração de lignina pelo processo acetosolv. **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2016.

LEITE, R. F. **Fracionamento de lignina de bagaço de cana, caracterização e eletrofiação**. 2016. 126 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

- LIN, Y.; TANAKA, S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 69, n. 6, p. 627–642, 2006.
- LORA, J. H.; GLASSER, W. G. Recent industrial applications of lignin: a sustainable alternative to nonrenewable materials. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 10, n. 1-2, p. 39-48, 2002.
- LORENZI, B. R. **Etanol de Segunda Geração no Brasil: política e translações**. 2018. 186 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2018.
- LYND, L. R.; WEIMER, P. J.; VAN ZYL, W. H.; PRETORIUS, I. S. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v. 66, n. 3, p. 506-577, 2002.
- LYND, L.R.; ZYL, W. H. V.; McBRIDE, J. E.; LASER, M. Consolidated bioprocessing of cellulosic biomass: an update. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 16. n. 5, p. 577-583, 2005.
- MENEZES, C.; BARRETO, A. R. Biodegradação de resíduos lignocelulósicos por fungos basidiomicetos: Caracterização dos resíduos e estudo do complexo enzimático fúngico. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 1365-1391, 2015.
- 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.
- MORAIS, A. P. S. **Estudo do pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar e caracterização físico-química**. 2010. 47 f. Tese (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.
- NAKAJIMA, M.; YAMASHITA, T.; TAKAHASHI, M.; NAKANO, Y.; TAKEDA, T. Identification, cloning, and characterization of b-glucosidase from Ustilago esculenta. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 93, n. 5, p. 1989–1998, 2012.
- NETO, O. B. **Integração das principais tecnologias de obtenção de etanol através do processamento de celulose (2^a geração) nas atuais usinas de processamento de cana-de-açúcar (1^a geração)**. 137 f. 2009. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- NEVES, M. A.; KIMURA, T.; SHIMIZU, N.; NAKAJIMA, M. State of the art and future trends of bioethanol production. **Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology**, v. 1, n. 1, p. 1-14, 2007.
- NIGAM, J. N. Development of xylose-fermenting yeast *Pichia stipitis* for ethanol production through adaptation on hardwood hemicellulose acid prehydrolysate. **Journal of applied microbiology**, v. 90, n. 2, p. 208-215, 2001.
- OGATA, B. H. **Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial de uso em biorrefinarias**. 2013. 108 f. Tese (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

OLIVEIRA, Fernanda.C. Oxidação de lignina proveniente de resíduos lignocelulósicos agroindustriais para obtenção de compostos químicos aromáticos de maior valor agregado. 2015. 199 f. Tese (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Lorena, 2015.

OLIVEIRA, Tiago. J. P. Pirólise rápida de casca de soja: desenvolvimento do reator de leito fluidizado, análise do bio-óleo produzido e do vapor obtido na pirólise analítica. 2015. 179 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.

PEREIRA, D. G. S. Rendimentos da hidrólise enzimática e fermentação alcoólica de capim-elefante, capim-andropogon, capim-mombaça e bagaço de cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração. 2013. 52 f. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

PITARELO, A.P. - Produção de etanol celulósico a partir do bagaço de cana pré-tratado por explosão a vapor. 2013. 162 f. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

PRASAD, S.; SINGH, A.; JOSHI, H. C. Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 50, n. 1, p. 1-39, 2007.

QUINELATO, C. Métodos de extração da lignina do bagaço da cana-de-açúcar do noroeste do estado de São Paulo. 2016. 95 f. Tese (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2016

RABELO, S. C. Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar. 2007. 150 f. Tese (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

RABELO, S. C. Avaliação e otimização de pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração. 2010. 414 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

RAGAUSKAS, A. J.; BECKHAM, G. T.; BIDDY, M. J.; CHANDRA, R.; CHEN, F.; DAVIS, M. F.; LANGAN, P. Lignin valorization: improving lignin processing in the biorefinery. **Science**, v. 344, n. 6185, p. 1246843, 2014.

RAÍZEN, Relatório anual 2017/2018. Disponível em: <https://www.raizen.com.br/sustentabilidade/transparencia#relatorio-anual>. Acesso em: 18 de junho de 2019.

REVISTA FAPESP. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/2018/06/18/obstaculos-no-caminho/>. Acesso em: 18 de junho de 2019.

RODRIGUES, T. H. S. R. Estudo comparativo da produção de etanol por processos de SHF (fermentação e hidrólise separadas) e SSF(fermentação e hidrólise simultâneas) de bagaço de caju (*Anacardium occidentale L.*). 2014. 93 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

SAAD, M. B. W. Avaliação técnica e econômica preliminar da produção de etanol via hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar. 2010. 138 f. Tese (Mestrado), Universidade de São Paulo, Lorena, 2010.

- SALDARRIAGA, J. F.; AGUADO, R.; ALTZIBAR, H.; ATXUTEGI, A.; BILBAO, J.; OLAZAR, M. Minimum spouting velocity for conical spouted beds of vegetable waste biomasses. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 60, p. 509-519. 2016.
- SANTIAGO, B. L. S.; RODRIGUES, F. A. Processamento de biomassa lignocelulósica para produção de etanol: uma revisão. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 03, n. 07, p. 1011-1022, 2017.
- SANTOS, D. S. **Produção de etanol de segunda geração por Zymomonas mobilis naturalmente ocorrente e recombinante, empregando biomassa lignocelulósica**. 2012. 218 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.
- 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. R. S. **Produção e caracterização de celulases e hemicelulases por linhagens fúngicas mesófilas isoladas do cerrado sul-mato-grossense**. 2014. 69 f. Tese (Mestrado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2014.
- SANTOS, F.A. **Avaliação do pré-tratamento hidrotérmico de palhas de cana-de-açúcar para produção de etanol de Segunda Geração**. 2013. 94 f. Tese (Título de Doctor Scientiae) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.
- SANTOS, J. D.; SOUTO-MAIOR, A. M.; GOUVEIA, E. R.; MARTIN, C. Comparação entre processos em SHF e em SSF de bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol por *Saccharomyces cerevisiae*. **Química Nova**, v. 33, p. 904-908, 2010.
- SANTOS, K. G. D. **Aspectos fundamentais da pirólise de biomassa em leito de jorro: fluidodinâmica e cinética do processo**. 2011. 140 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.
- SARKAR, N.; GHOSH, S. K.; BANNERJEE, S.; AIKAT, K.. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. **Renewable Energy**, v. 37, n. 1, p. 19-27, 2012.
- SHARMA, R. K.; ARORA, D. S. Fungal degradation of lignocellulosic residues: an aspect of improved nutritive quality. Critical reviews in **microbiology**, v. 41, n. 1, p. 52-60, 2015.
- SHIRKAVAND, E.; BAROUTIAN, S.; GAPES, D. J.; YOUNG, B. R. Combination of fungal and physicochemical processes for lignocellulosic biomass pretreatment - a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 54, p. 217-234, 2016.
- SIGMA-ALDRICH – Analytical, Life Science, Chemistry and Materials Science. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/g8270?lang=pt®ion=BR/>. Acesso em: 02 de agosto de 2019.
- SILVA, A. S. A.; INOUE, H.; Endo, T.; YANO, S.; BON, E. P. Milling pretreatment of sugarcane bagasse and straw for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. **Bioresource technology**, v. 101, n. 19, p. 7402-7409, 2010.
- SILVA, C. V. **Caracterização do bio-óleo produzido por pirólise rápida do bagaço de cana-de-açúcar**. 2013. 90 f. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

- SILVA, G. P. D.; ARAÚJO, E. F. D.; SILVA, D. O.; GUIMARÃES, W. V. Ethanolic fermentation of sucrose, sugarcane juice and molasses by *Escherichia coli* strain KO11 and *Klebsiella oxytoca* strain **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, n. 4, p. 395-404, 2005.
- SILVA, J. A. **Catálise enzimática na produção de etanol de segunda geração**. 2016. 23 f. Trabalho de Conclusão de Curso- Universidade Federal de São João Del-Rei, São João Del-Rei, 2016.
- SILVA, P. H. F. **Fracionamento da biomassa lignocelulósica pelo processo organosolv**. 2017. 148 f. Tese (Mestrado) - Universidade de Brasília, Brasília, 2017.
- SILVA, V. F. N. **Estudos de pré-tratamento e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapas no processo de obtenção de etanol celulósico**. 2009. 116 f. Tese (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Lorena, 2009.
- SOARES, G. A. **O Avanço das Tecnologias de Segunda Geração e Seus Impactos na Indústria do Etanol**. 2016. 177 f. Tese (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.
- SOUTO, F.; CALADO, V.; JUNIOR, N. P. Fibras de carbono a partir de lignina: uma revisão da literatura. **Revista Matéria**, v. 20, n. 1, p. 100-114, 2015.
- SOUZA, C. J. A. **Produção de etanol por sacarificação e fermentação simultâneas do bagaço de cana-de-açúcar utilizando leveduras termotolerantes**. 2011. 48 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.
- SOUZA, R. B. A. **Estudo do pré-tratamento hidrotérmico e hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar**. 2016. 106 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2016.
- SPINDLER, D. D., WYMAN, C. E., MOHAGHEGHI, A.; GROHMANN, K. Thermotolerant yeast for simultaneous saccharification and fermentation of cellulose to ethanol. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 17, n. 1-3, p. 279-293, 1988.
- SUAREZ, C. A. G. **Otimização da produção de etanol 2G a partir de hexoses e pentoses**. 2014. 165 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.
- SUN, R. C.; LAWATHER, J. M.; BANKS; W.B. Influence of alkaline pretreatments on the cell-wall components of wheat-straw. **Industrial Crops and Products**, v. 4, n. 2, p. 127-145, 1995.
- SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource technology**, v. 83, n. 1, p. 1-11, 2002.
- SUZANO - Relatório de Sustentabilidade 2017. Disponível em: <http://www.suzano.com.br/relatoriodesustentabilidade2017/>. Acesso em: 15 de junho de 2019.
- TAHERZADEH, M.; KARIMI, K. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. **International journal of molecular sciences**, v. 9, n. 9, p. 1621-1651, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 3^a ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland – MA, 2002. Disponível em: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/PlantPhysiologyTaiz2002.pdf>. Acesso em: 06 de junho de 2019.

TOMÉ, J. A. T. R. **Desenvolvimento do pré-tratamento por explosão com vapor da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração via hidrólise enzimática**. 2014. 113 f. Tese (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

UNICA – União da Indústria de Cana-de-Açúcar. Disponível em: <http://unicadata.com.br/historico-de-producao-e-moagem.php?idMn=31&tipoHistorico=2>. Acesso em: 18 de junho de 2019

WOLF, L. D. **Pré-tratamento organossolve do bagaço de cana-deaçúcar para a produção de etanol e obtenção de xiloooligômeros**. 2011. 148 f. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

XU, J.; CHENG, J.J. Pretreatment of switchgrass for sugar production with the combination of sodium hydroxide and lime. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 4, p. 3861-3868, 2011.

ZAFAR, S.; OWAIS, M. Ethanol production from crude whey by Kluyveromyces marxianus. **Biochemical engineering journal**, v. 27, n. 3, p. 295-298, 2006.

ZHANG, Y.; XIA, C.; LU, M.; TU, M. Effect of overliming and activated carbon detoxification on inhibitors removal and butanol fermentation of poplar prehydrolysates. **Biotechnology for Biofuels**, v. 11, n. 1, p. 178, 2018.