



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE ENERGIAS ALTERNATIVAS E RENOVÁVEIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENERGIAS RENOVÁVEIS



HABILA YUSUF THOMAS

**TRATAMENTO DE RESÍDUO DA AGAVE SISALANA PARA A
PRODUÇÃO DO BIOETANOL**

João Pessoa - PB
Fevereiro – 2020

HABILA YUSUF THOMAS

**TRATAMENTO DO RESÍDUO DA AGAVE SISALANA PARA A PRODUÇÃO DO
BIOETANOL**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal da Paraíba,
como cumprimento final das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Energias Renováveis
do Centro de Energias Alternativas e
Renováveis, área de concentração
em Energias Renováveis, para a
obtenção do título de Mestre.

Orientadora
Prof.^a Dr.^a Marta Célia Dantas Silva

**João Pessoa - PB
Fevereiro - 2020**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

T454t Thomas, Habila Yusuf.

TRATAMENTO DO RESÍDUO DA AGAVE SISALANA PARA PRODUÇÃO
DO BIOETANOL / Habila Yusuf Thomas. - João Pessoa,
2020.

82 f.

Orientação: Marta Célia Dantas Silva.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CEAR.

1. Biomassa. 2. Hidrólise Ácida. I. Marta Célia Dantas
Silva. II. Título.

UFPB/BC

**TRATAMENTO DO RESÍDUO DA AGAVE SISALANA PARA A PRODUÇÃO DO
BIOETANOL**

HABILA YUSUF THOMAS

Defesa Aprovada em 05/02/2020.



Prof.ª Dr.ª Marta Célia Dantas Silva
Orientadora
(CEAR/UFPB)



Prof.ª Dr.ª Kelly Cristiane Gomes da Silva
(CEAR/UFPB)
Examinador Interno



Dr. Flavio Luiz Honorato da Silva
(DEQ/UFPB)
Examinador Externo

**João Pessoa - PB
Fevereiro - 2020**

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho a minha mãe, Lydia Yusuf Thomas,
obrigado pela educação e orientação, graças a elas me
tornei o homem que a senhora sempre desejou.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, a minha família amigas e amigas que me acompanharam nesta jornada até o fim.

Agradeço a Izanilde Barbosa da Silva, a minha amiga e colega de estudos desde o início do mestrado.

Agradeço imensamente o Senhor Luiz Postimo da Silva, que me acolheu na fazenda Gruta Funda, agradeço pelo fornecimento do bagaço de sisal e por me aceitar na sua fazenda, este trabalho seria impossível sem a ajuda do senhor, que Deus lhe abençoe.

Agradeço a professora Dr.^a Marta Celia Dantas Silva, pela paciência, orientação e apoio desde o início deste trabalho até o final, que Deus lhe abençoe em dobro.

Agradeço aos técnicos do laboratório de físico químicos, CTDR técnicos do laboratório de engenharia química UFPB, e a professora Dr.^a Sharline Florentino de Melo Santos do Departamento de Engenharia Química pelo apoio que me estendeu.

Agradeço à Professora Dr.^a Joelda Dantas pela ajuda e correções que fez ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço ao CAPES, o Governo Brasileiro e a UFPB pela oportunidade de estudar e aprender nesta instituição excelente.

RESUMO

A produção de biocombustíveis a partir de fontes renováveis, sustentáveis e economicamente viáveis destacam-se desde as últimas décadas devido à problemas ambientais, reserva finita de combustíveis fósseis e poluição ambiental. Esta pesquisa visou avaliar a viabilidade técnica da produção de bioetanol a partir de resíduos de *Agave sisalana*. Os resíduos desta cultura são fontes de polissacarídeos e açúcares quando pré-tratados pela técnica de hidrólise. Para a obtenção dos açúcares fermentáveis, foi realizado o pré-tratamento desta biomassa por hidrólise ácida. O programa de análise experimental, ESTATISTICA 7.0 foi utilizado para analisar o planejamento experimental favorável para a hidrólise ácida do resíduo sólido, e Análise de Variância (ANOVA), para o estudo da superfície de resposta. Os resultados do pré-tratamento e hidrólise foram considerados significativos em sua quantidade de açúcares fermentáveis e açúcares totais após a hidrólise, com medidas de 23g/L e 35g/L, respectivamente. A concentração de ácido é uma variável significativa para melhorar a eficiência das variáveis de resposta que são os açúcares redutores pelo planejamento experimental, contribuindo assim, para a otimização de um processo que possibilita o aumento dos açúcares redutores e favoreceu a eficiência da fermentação em 50% em comparação a matéria prima não hidrolisada. As análises de caracterização físico-química do bagaço e resíduo líquido foram realizadas por base seca, umidade, cinzas, poder calorífico, análise termogravimétrica, peneiramento, e análise de açúcares redutores e totais por DNS, análise de sólidos solúveis voláteis, DRX e pH. A hidrólise aumentou a quantidade de açúcares fermentáveis com percentagem de conversão do bagaço em açúcares de 50%. O processo de fermentação alcoólica, ocorreu com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, com um rendimento de 88% em relação a conversão dos açúcares em bioetanol.

Palavras-chave: Biomassa, Hidrólise ácida, Fermentação, Destilação, Bioetanol.

ABSTRACT

The production of biofuels from renewable, sustainable and economically viable sources has stood out since the last decades due to environmental problems, finite reserve of fossil fuels and environmental pollution. This research aimed to evaluate the technical viability of bioethanol production from *Agave sisalana* residues. The residues of this culture are sources of polysaccharides and sugars when pre-treated by the hydrolysis technique. In order to obtain fermentable sugars, this biomass was pre-treated by acid hydrolysis. The experimental analysis program, ESTATISTICA 7.0 was used to analyze the favorable experimental design for acid hydrolysis of solid waste, and Analysis of Variance (ANOVA), for the study of the response surface. The results of the pre-treatment and hydrolysis were considered significant in terms of the amount of fermentable sugars and total sugars after hydrolysis, with measures of 23g / L and 35g / L, respectively. The acid concentration is a significant variable to improve the efficiency of the response variables that are reducing sugars through experimental planning, thus contributing to the optimization of a process that allows the increase in reducing sugars and favored the efficiency of fermentation by 50% compared to non-hydrolyzed raw material. The analyzes of physico-chemical characterization of bagasse and liquid residue were carried out by dry basis, moisture, ash, calorific value, thermogravimetric analysis, sieving, and analysis of reducing and total sugars by DNS, analysis of volatile soluble solids, XRD and pH. Hydrolysis increased the amount of fermentable sugars with a percentage of bagasse conversion to 50% sugars. The alcoholic fermentation process took place with the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, with a yield of 88% in relation to the conversion of sugars into bioethanol

Keywords: Biomass, Acid hydrolysis, Fermentation, Distillation, Bioethanol.

LISTA DE SIGLAS

AOAC.....	Association of Official Agricultural Chemists
AR.....	Açúcares Redutores
ART.....	Açúcares redutores totais
SSS.....	Sólidos solúveis suspensos
FINL.....	Amostra <i>in-natura</i> com inóculo;
FHNB.....	Amostra sem inóculo, hidrolisada e neutralizada com NaOH
FHINCH.....	Amostra hidrolisada, com inóculo e neutralizada com Ca(OH)_2
FHNCH.....	Amostra hidrolisada sem inóculo e neutralizada com Ca(OH)_2
FHCA.....	Amostra hidrolisada e tratada com carvão ativado
FMINd.....	Amostra com adição de melaço industrial
DNS.....	Ácido 3,5-dinitrosalicílico.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etapas do desfibramento da Agave sisalana.	24
Figura 2. Etapas do desenvolvimento do trabalho.....	28
Figura 3. Curva de TG e DTG do bagaço gerado do desfibramento da Agave Sisalana	41
Figura 4. Difratoograma da difração de Raio-X.....	43
Figura 5. Curva de calibração.....	45
Figura 6. Gráfico de Pareto para as variáveis dependentes.	48
Figura 7. Superfície de resposta para a variável AR (Açúcares redutores).....	50
Figura 8. Superfície montada em 2D para açúcares redutores	52
Figura 9. Previsão do modelo do planejamento experimental.....	52
Figura 10. Diagrama de Pareto para liberação de açúcares redutores totais	53
Figura 11. Superfície de resposta para açúcares redutores totais (ART).....	55
Figura 12. Superfície de resposta em 2D para açúcares redutores totais	56
Figura 13. Valores experimentais observados e sua aproximação ao modelo teórico.	56
Figura 14. Curva de açúcares totais em relação ao tempo no processo fermentativo	58
Figura 15. Gráfico da análise do resíduo de agave fermentado <i>in-natura</i> neutralizado com Hidróxido de cálcio	59
Figura 16. Gráfico da análise do resíduo fermentado com inoculo neutralizado com Hidróxido de sódio.....	60
Figura 17. Gráfico da análise do resíduo sem inoculo neutralizado com hidróxido de cálcio ..	60
Figura 18. Gráfico da análise do resíduo fermentado e tratado com carvão ativado.	61
Figura 19. Gráfico da análise do resíduo fermentado com adição de melaço de cana de açúcar e neutralizado com NaOH.	62
Figura 20. Gráfico da análise resíduo fermentado tratado com carvão ativado com melaço...	62
Figura 21. Curva de calibração para todos os ensaios de cinética de crescimento da biomassa.	63
Figura 25. Produção estimada de bioetanol a partir do resíduo de sisal.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Planejamento de experimentos <i>design 2²</i>	34
Tabela 2. Composição química do resíduo líquido das variedades de agave.....	39
Tabela 3. Composição química do bagaço do Agave.....	40
Tabela 4. Poder calorífico da biomassa.	41
Tabela 5. Peneiramento do resíduo do Agave sisalana.	42
Tabela 6. SSS inicial e final da reação de hidrólise ácida.	44
Tabela 7. Açúcares redutores para amostra <i>in natura</i> sem hidrólise.....	46
Tabela 8. Açúcares redutores e absorbância das amostras hidrolisadas.....	46
Tabela 9. Açúcares redutores e absorbância das amostras hidrolisadas.....	47
Tabela 10. Quantificação dos açúcares do Planejamento Experimental.	47
Tabela 11. Coeficientes de regressão para o planejamento experimental de açúcares redutores.	49
Tabela 12. Parâmetros estatísticos do planejamento de experimentos.....	54
Tabela 13. Perímetros para cálculo da eficiência da fermentação.....	65
Tabela 14. Produtividade e rendimento das fermentações.	66

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 Reação da fermentação alcoólica.....	26
Equação 2 Teor de cinzas	30
Equação 3 Teor de umidade	30
Equação 4 Rendimento de fermentação	36
Equação 5 Produtividade	36
Equação 6 Rendimento em massa de células	37
Equação 7 Rendimento de conversão de extrato	37
Equação 8 Rendimento de conversão de substrato	37
Equação 9 Açúcares redutores.....	50
Equação 10 Açúcares totais.....	55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
1.1 Objetivo Geral.....	16
1.2 Objetivos Específicos	16
2.1 Energias Renováveis.....	17
2.2 Bioetanol no Brasil	18
2.3 Bioetanol de Segunda Geração	20
2.4 Panorama Geral da Cultura do Sisal	23
2.4.1 Pré-tratamento e Hidrólise Ácida.....	24
2.4.2 Quantificação de Açúcares pelo Método DNS	25
2.4.3 Fermentação Alcoólica.....	26
3 METODOLOGIA.....	28
3.1 Fluxograma Representativo da Metodologia Desenvolvida.....	28
3.2 Coleta da Matéria-Prima	29
3.3 Caracterização Físico-Química.....	29
3.3.1. Secagem e peneiramento	29
3.3.2 Determinação de cinzas.....	29
3.3.3 Teor de umidade do bagaço da agave sisalana.....	30
3.3.4 Poder calorífico	31
3.3.5 Análise Termogravimétrica.....	31
3.4 Sólidos solúveis totais (SSS)	31
3.4.1 Açúcares Redutores (AR) e Açúcares Totais (ART)	31
3.4.2 Cinética do Processo Fermentativo	32
3.5 - Difração de Raios-X (DRX)	33
3.6 – Planejamento Experimental	33
3.6.1 Pré-Tratamento e Hidrólise Ácida.....	34
3.7 Fermentações Alcoólicas	34
3.7.1 Teor Alcoólico do Vinho.....	35
3.7.2 Concentração de Biomassa (g L^{-1})	35
3.7.3 Rendimento da Fermentação	36
3.7.4 Produtividade das Fermentações	36

3.7.5 Rendimento em massa celular ($Y_{x/s}$)	36
3.7.6 Rendimento em produto ($Y_{p/s}$).....	37
3.8. Processo de Destilação.....	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 – Caracterizações Físico-Química	39
4.1.2 Composição Química do Resíduo Líquido e Sólido do Agave.....	39
4.2 Poder calorífico	40
4.3 Análise Termogravimétrica	41
4.4 Preparação da amostra	42
4.5 DRX.....	43
4.6 Análises dos Sólidos Solúveis Suspensos (SSS) do Hidrolisado	44
4.6.1 Quantificação por DNS	45
4.6.2 Gráfico de Pareto.....	48
5.-FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA.....	58
5.1.- Análise de consumo de açúcares no processo fermentativo.....	58
5.1.1. Resíduo de agave fermentado <i>in-natura</i> neutralizado com hidróxido de cálcio.....	59
5.1.2 -Resíduo fermentado com inóculo neutralizado com Hidróxido de cálcio	59
5.1.3. - Resíduo sem inóculo neutralizado com hidróxido de cálcio	60
5.1.4 Resíduo fermentado e tratado com carvão ativado	61
5.1.5 Resíduo fermentado com adição de melaço de cana de açúcar.....	61
5.1.6 Resíduo fermentado tratado com carvão ativado com melaço.....	62
6. -CINÉTICA DO PROCESSO FERMENTATIVO	63
7. Estimativa da Viabilidade Econômica da Produção de Etanol a partir do Resíduo de Agave	67
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	70
10. TRABALHOS FUTUROS	71
11. REFERÊNCIAS	72

1 INTRODUÇÃO

De acordo com o relatório da produção mundial de energia do ano de 2019, tem havido um aumento constante na demanda mundial de energia, carvão mineral e consumo de petróleo, o que implica diretamente um aumento nas emissões de dióxido de carbono e poluição do ar (GLOBAL, 2019), em média, houve um aumento de 2,9% de gasto energético em comparação ao ano de 2018. No Brasil em 2019, o setor de energia foi responsável pela emissão de 423,5 milhões de toneladas de dióxido de carbono equivalente (CO₂e), que correspondeu a 19% do total anual de emissões.

Já o setor de processos industriais e uso de produtos foi responsável por 4% das emissões brasileiras, o que equivale a 95,6 milhões de toneladas de CO₂e, o segmento de transportes foi o maior emissor dentro dos setores analisados sendo responsável pela emissão de 39% do total (ANGELO, 2018; BRASIL, 2019). Diante desta problemática, vem a preocupação de buscar novas alternativas de produção de energia limpa e renovável que seja menos poluente e mais sustentável do que as fontes convencionais que dominam a matriz energética mundial (CORBIN et al., 2018). Especialmente nos países emergentes como o Brasil, as inovações com foco nessa abordagem podem contribuir significativamente para uma melhor correlação entre sociedade, meio ambiente e economia.

Considerando um panorama mundial, impedir que o aquecimento global varie acima de 1,5 °C exigirá atingir 80% de energia com zero emissões até 2030 e 100% até 2050, e muito disso deve ser alcançado através do aumento do uso de energia renovável (JACOBSON et al., 2019). Segundo Guarda et al. (2020), o aumento da temperatura externa resulta em maior consumo de energia para manter a qualidade térmica interna. Tem-se que países como China, Dinamarca e Alemanha são líderes em relação a energia renovável. Os pesquisadores Vakulchuk, Overland e Cholten (2020) reportaram que as energias renováveis têm muitas vantagens sobre os combustíveis fósseis para segurança e paz internacionais. De acordo com Sanderink (2020) uma transição global para energia renovável é essencial para um futuro sustentável, e é necessária uma política global eficaz para tornar isso possível. No entanto, conforme esses autores a governança global de energia renovável é ainda frequentemente considerada fragmentada e ineficaz.

Assim, a associação de tecnologias inovadoras desenvolvidas em diferentes instituições e empresas em todo mundo devem primar pela busca por formas eficientes de preservação do

meio ambiente, de maneira vinculada às vantagens organizacionais, pois isto suprirá a necessidade existente de interconectividade através das fronteiras. Dentro desse contexto, tem-se que os biocombustíveis oriundos da biomassa são potenciais alternativas para mitigar os efeitos nocivos causados pelos combustíveis fósseis. A biomassa lignocelulósica, por exemplo, vem sendo efetivamente estudada e utilizada para fins energéticos por meios diferentes de desenvolvimento e tecnologias, e como resultado, o setor está focado no desenvolvimento de abordagens alternativas para melhorar a eficiência dos processos que podem atender à crescente demanda e reduzir custos (SILVA et al., 2020; HUANG e LO, 2020; AMORIM, 2019; BRAZIL et al., 2019), pois os resíduos lignocelulósicos são fontes potenciais de energia limpa, de forma que se tem gerado um ambiente adequado para empresas de desenvolvimento de e inovação em energia renovável.

Matérias-primas lignocelulósicas podem ser usadas para produzir ou fazer parte da produção de biocombustíveis, como o bioetanol (TORO. S et al., 2019; SADHUKHAN et al., 2019; JING et al., 2019) as quais tem alcançado um desempenho considerável para aplicações nesse campo, e isto tem sido essencial para alcançar reivindicações regulatórias, propiciando consideravelmente um valor agregado aos resíduos da biomassa.

O bioetanol é um dos biocombustíveis mais utilizados no Brasil e no mundo inteiro. O Brasil se destaca como um dos maiores produtores e consumidores de biocombustível no mundo, portanto diminuindo a liberação de CO₂ na atmosfera e no meio ambiente, consequentemente diminuindo a poluição e degradação do meio ambiente (HO, NGO e GUO, 2014; CGEE, 2009). O bioetanol produzido no Brasil em 2016 foi aproximadamente 30 milhões de m³, em 2017 e 2018 essa quantidade reduziu para 27 milhões de m³ e se manteve constante nos dois anos. Em 2019, esse número foi elevado para 32 milhões de m³.

Matérias-primas oriundas da biomassa, como o sisal, podem contribuir positivamente nos processos de produção do bioetanol. O sisal é cultivado principalmente para a utilização das suas fibras que compõem aproximadamente 5% desta planta. A Agave produz folhas maduras a partir do terceiro ano do cultivo e é capaz de produzir as folhas por um período de 10 e 15 anos para a Agave sisalana natural e a híbrido, respectivamente. A fibra do sisal tem propriedades desejáveis como alta resistência mecânica à torção e tração (CAMPOS et al., 2011). A região Nordeste se destaca no Brasil e no mundo inteiro como um dos maiores produtores de fibra de sisal, e, muitas famílias e pequenos agricultores, dependem desta cultura como meio de obtenção de renda. Para o cultivo desta planta, não há exigências de cuidados intensivos e nem de chuvas abundantes; logo, a sua importância para o Nordeste brasileiro não pode ser subestimada (GRANDE, 2008).

Na primeira década dos anos 2000, importantes investimentos produtivos foram feitos por empresas de petróleo, energia e produtos químicos na produção de bioetanol no Brasil; no entanto, esse setor não demonstrou níveis de investimento em inovação (para o bioetanol de primeira ou segunda geração) compatível com os desafios de fazer do bioetanol uma *commodity* global, uma vez que mesmo considerando as políticas recentes no Brasil em relação ao bioetanol celulósico, os resultados alcançados estão longe de serem sustentáveis (SALES-FILHO et al., 2017).

Então, com base nestas considerações, se alicerça e justifica a relevância desse presente trabalho de Dissertação, que por sua vez visou utilizar os resíduos líquidos e sólidos do sisal para produção de bioetanol através do pré-tratamento ácido dos resíduos originados do processo de desfibramento da agave sisalana.

1.1 Objetivo Geral

- ❖ Estudar a viabilidade técnica da produção de bioetanol a partir do resíduo líquido e sólido do *Agave sisalana*.

1.2 Objetivos Específicos

- ❖ Realizar o pré-tratamento do resíduo gerado no processo de desfibramento da Agave sisalana;
- ❖ Avaliar hidrólise ácida do bagaço da agave sisalana;
- ❖ Avaliar as melhores condições do pré-tratamento por planejamento experimental com ferramenta ANOVA e programa Estatístico 7.0;
- ❖ Obter os açúcares fermentáveis por fermentação;
- ❖ Acompanhar a cinética da fermentação alcoólica;
- ❖ Obter o bioetanol por processo de destilação;

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Energias Renováveis

O termo energia renovável refere-se às fontes de energia que se regeneram espontaneamente após serem reutilizadas com ciclo de renovação considerada infinita. Energia renovável significa energia a partir do sol, vento, hidrelétrica ou biomassa sólida, biocombustíveis líquidos ou gasosos que são predominantemente produzidos a partir de biomassa. Conforme Ram, Aghahosseini e Breyer (2020), além de reduzir os impactos negativos do setor de energia no meio ambiente, as tecnologias de geração de energia renovável estão criando novas riquezas e se tornando importantes geradoras de emprego e renda para o século XXI. A criação de empregos durante a transição energética global é um aspecto importante a ser explorado, que pode ter implicações políticas em todo o mundo. Assim, relataram que uma transição global de energia terá um impacto geral positivo na estabilidade e crescimento futuros das economias em todo o mundo.

Ademais, em vista das estimativas da necessidade de transição global para as chamadas energias limpas, inúmeros estudos estão sendo repercutidos, e como resultados se têm importantíssimas informações para os formuladores de políticas, pois direcionam o grau de flexibilidade nas opções de mitigação dos sérios danos ambientais já presentes e futuros.

No que diz respeito aos biocombustíveis, em geral, estes oferecem muitos benefícios, incluindo sustentabilidade, redução de emissões de gases de efeito estufa e segurança do abastecimento. Uma variedade de combustíveis pode ser produzida a partir de recursos de biomassa, incluindo combustíveis líquidos: etanol, metanol, biodiesel do processo de Fischer-Tropsch e combustíveis gasosos, como hidrogênio e metano. Biocombustíveis são usados principalmente em veículos, mas também podem ser usados em motores de combustão ou células a combustível para geração de eletricidade (ADVANCED ETHANOL COUNCIL, 2013).

Os biocombustíveis podem ser facilmente derivados das espécies agrícolas mais importantes chamado de bioetanol da primeira geração a partir da cana-de-açúcar, trigo, cevada, milho, colza, soja, girassol e beterraba sacarina; e este fato tem implicações econômicas, técnicas e sociais relevantes (BARBANERA et al., 2018).

Na matriz energética mundial, a energia produzida a partir da biomassa aumentou de 10,7% em 2015 para 18,2% em 2016, tendo um acréscimo de 43,9% em comparação ao ano anterior. Este aumento já se manifestou na estagnação da emissão de CO₂ na atmosfera terrestre,

em 36,5 bilhões de toneladas no ano de 2015 e de 36,7 bilhões de toneladas em 2016 mostrando a efetividade do uso de energia oriunda da fonte renovável (OLIVIER et al., 2016).

A energia da biomassa é obtida através de tecnologias de conversão de biomassa em biocombustíveis tais como combustão, pirólise, gaseificação e fermentação gerando biocombustíveis em forma de sólido, líquido e gasoso (HO, NGO e GUO, 2014).

A vantagem mais importante de usar líquido como combustível, é que eles podem ser facilmente bombeados e também podem ser manuseados com facilidade. Esta é a principal razão pela qual quase todos os veículos usam forma líquida de combustíveis para fins de combustão. Para outras formas de aplicações que não sejam de transporte, existem alternativas de combustível de biomassa sólida como a madeira. Essas aplicações não relacionadas ao transporte podem utilizar esses combustíveis sólidos de biomassa, já que podem suportar facilmente a baixa densidade de potência da combustão externa. (VIRGÍNIO e SILVA et al., 2018).

Estudos evidenciam que os biocombustíveis reduzem a emissão dos gases de efeito estufa. Eles também podem ser vistos como uma forma de segurança energética que é uma alternativa de combustíveis fósseis com disponibilidade limitada. O uso de biocombustíveis se expandiu em todo o mundo. Alguns dos principais produtores e usuários de biogás são a Ásia, a Europa e os Estados Unidos. Teoricamente, o biocombustível pode ser facilmente produzido através de qualquer fonte de carbono; tornando as plantas fotossintéticas o material comumente usado para produção. Quase todos os tipos de materiais derivados das plantas são usados para a produção de biogás. Um dos maiores problemas que está sendo enfrentado pelos pesquisadores da área, é como converter a energia da biomassa no combustível líquido (KRISTENSEN, FELBY e JØRGENSEN, 2009).

Em relação ao etanol, tem-se que o de origem lignocelulósica tem sido proposto como uma alternativa verde aos combustíveis fósseis por muitas décadas. No entanto, a comercialização de etanol lignocelulósico enfrenta grandes obstáculos, incluindo pré-tratamento, liberação eficiente de açúcar e fermentação. No entanto, a solução das necessidades de energia não é apenas uma solução tecnológica, é também fato que a interligação de vários fatores precisa ser avaliada além do desenvolvimento da tecnologia (TOOR et al., 2020).

2.2 Bioetanol no Brasil

Um fator crítico que controla o desenvolvimento socioeconômico de qualquer nação é a "energia". Com o esgotamento dos combustíveis fósseis, há uma mudança de foco nas biorrefinarias lignocelulósicas. Estas biorrefinarias facilitam a geração de biocombustíveis e produtos de valor agregado, por exemplo, açúcar, bioetanol (KUMAR et al., 2020).

A nação brasileira é detentora da mais longa história de sucesso no que diz respeito aos biocombustíveis, especialmente o bioetanol, porém, devido à ausência de um sistema tributário favorável, o bioetanol se mantém mais caro que a gasolina. No entanto, no Brasil, o futuro do setor de bioetanol depende, a princípio, de sua capacidade de inovar em seus esforços para produzir etanol celulósico e também das políticas implementadas recentemente, como é o caso do RenovaBio (DONATO. P. D, et al, 2018).

Assim, várias pesquisas são direcionadas para propor uma configuração ideal de uma rede de bioetanol, como o estudo dos autores Kostin et al. (2018) que apresentaram uma abordagem matemática para otimizar e planejar as cadeias brasileiras de fornecimento de bioetanol, abrangendo fatores como os locais das instalações de produção e armazenamento, sua capacidade de política de expansão, a tecnologia selecionada para fabricação e armazenamento de materiais e os fluxos de todas as matérias-primas e produtos finais envolvidos no processo. O modelo desses autores levou em consideração sete tecnologias de produção diferentes, dois tipos de armazéns dos combustíveis, três tipos de modos de transporte e sete opções de exportação, cujos dados foram obtidos a partir das práticas industriais brasileiras.

Maćzyńska et al. (2019) reportaram que no Brasil, a participação da energia renovável no consumo total de energia é de 42%, tornando-a líder mundial no uso de energia proveniente de fontes renováveis de energia. 18% da energia utilizada é a bioenergia da cana (bioetanol). Atualmente, a maior parte dessa produção está sendo consumida pelo mercado interno, onde o álcool etílico está sendo vendido como combustível etanol puro ou adicionado à gasolina.

No Brasil, o bioetanol é produzido por fermentação de sacarose da cana-de-açúcar utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* em um processo de batelada que opera com alta densidade de células de levedura (15 a 25% do peso em g/L) e alta concentração de açúcar (18 a 22% do açúcar total). Diversos esforços da pesquisa têm sido empregados para melhorar a eficiência desse processo através do isolamento de leveduras que melhor se adaptam às condições de fermentação tais como pH de 4,5, temperatura de 30°C e agitação a 200rpm por minuto (SOUZA et al., 2018).

A produção de bioetanol usando matéria-prima de primeira geração é uma tecnologia comprovada e bem estabelecida, com alta produtividade e rendimento de bioetanol, mas o

processo é identificado com as questões do debate de alimentos para combustível e com alto impacto ambiental da taxa de uso da terra. Desta forma, surge como uma excelente proposta, o bioetanol de segunda geração, que inclusive pode ter o seu processo de produção integrado às instalações de produção de bioetanol de primeira geração. Esse modelo de produção já comprovada, tem o potencial de aproveitar o efeito sinérgico que podem maximizar os benefícios técnicos, econômicos e ambientais do processo integrado de primeira e segunda geração (AYODELE, ALSAFFAR e MUSTAPA, 2020).

2.3 Bioetanol de Segunda Geração

Em conformidade com Donato et al. (2019) as crescentes preocupações sobre o impacto do bioetanol de primeira geração na cadeia alimentar e na biodiversidade mudaram o foco da pesquisa para as tecnologias de bioetanol de segunda geração (2G). Hidalgo-Reyes et al. (2013) reportaram que os biocombustíveis de segunda geração são conhecidos como biocombustíveis avançados, a diferença entre os biocombustíveis de primeira e de segunda geração, é o fato de que as matérias-primas utilizadas na produção de biocombustíveis da segunda geração, geralmente não são culturas alimentares ou de destino alimentar. A única vez que as culturas alimentares podem agir como biocombustíveis da segunda geração, é apenas se eles já cumpriram o seu propósito alimentar, na forma de resíduos ou dejetos.

Os biocombustíveis da segunda geração são derivados de fontes não alimentícias, a tecnologia usada para convertê-los em biocombustíveis é diversa. Isso não significa que os biocombustíveis de segunda geração não possam ser queimados diretamente como a biomassa. De fato, vários biocombustíveis de segunda geração, como o capim elefante, são cultivados especificamente para atuar como biomassa direta (BELTRÁN, 2013).

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de bioetanol, usando a cana-de-açúcar como principal matéria-prima de primeira geração. No entanto, as limitações geográficas e a preocupação com a escassez de alimentos, intensificam as pesquisas por fontes alternativas advindas da biomassa, uma vez a demanda por bioetanol aumenta consideravelmente. Levaram a procurar fontes alternativas de biomassa, uma vez que a demanda por bioetanol aumenta continuamente. Os lignocelulósicos (segunda geração) podem representar uma oportunidade valiosa para o crescimento do setor de biorrefinarias etanólicas, o que estimula os esforços de diferentes centros de pesquisa brasileiros e resultou em duas plantas industriais com várias dificuldades para validar essa tecnologia em larga escala. Assim, governo, instituições e

pesquisadores estão tentando aplicar o conceito de biorrefinaria para reduzir custos de produção e adaptar as usinas existentes para operar simultaneamente a primeira e a segunda geração de etanol. A terceira geração (micro e macroalgas) é estudada, mas sem perspectivas de exploração em larga escala (ABUD e SILVA, 2019).

Várias técnicas de pré-tratamento já foram investigadas e categorizadas em métodos físicos, químicos, físico-químicos e biológicos de matérias-primas lignocelulósicas. Existem muitas tecnologias de pré-tratamento atualmente disponíveis para desconstrução e fracionamento da biomassa lignocelulósica para o desenvolvimento de biorrefinaria baseada em matéria-prima lignocelulósica (KUMAR et al., 2020). Processos de sacarificação e fermentação simultâneas de resíduos de biomassa indicaram a possibilidade do conceito de biorrefinaria ser capaz de produzir bioetanol (ASTOLFI et al., 2020). De acordo com Ayodele, Alsaffar e Mustapa (2020), a produção de bioetanol a partir de matérias-primas de segunda geração, que são principalmente biomassa lignocelulósica, oferece oportunidades para um biocombustível mais limpo e de baixo carbono, que pode servir como uma alternativa ao combustível fóssil. No entanto, os autores também reportaram que uma grande barreira é o alto custo de produção devido às tecnologias caras de pré-tratamento.

Frente a este cenário, surgem tecnologias recentes, como biorrefinarias de ponto único, bioprocessamento combinado e sistemas de bioenergia com captura de carbono, as quais são promissoras. No entanto, essas tecnologias têm um nível mais baixo de prontidão tecnológica, o que implica que são necessários esforços adicionais antes de serem avaliados quanto à disponibilidade comercial (TOOR et al., 2019). Até o momento para melhorar a produção de bioetanol, os pesquisadores usaram principalmente estratégias de engenharia genética/metabólica e de otimização de meios/processos usando principalmente *Saccharomyces* como sistema modelo. No entanto, essas estratégias mostraram apenas sucesso limitado (DAKAL e DHABHAI, 2019).

Desta maneira, diversos processos biológicos e químicos já foram adaptados para a produção de biocombustível a partir de matérias-primas de segunda geração. Para qualificar a matéria-prima de segunda geração, a fonte não deve ser adequada para consumo humano. Não é um requisito que a matéria-prima seja cultivada em terras não agrícolas, mas geralmente é desnecessário dizer que uma matéria-prima de segunda geração deve crescer no que é conhecido como terra marginal. Uma grande vantagem da utilização da biomassa de segunda geração é que a matéria-prima não exige grande quantidade de água ou fertilizantes para crescer (NIGAM e SINGH, 2011).

Assim, conforme Souza et al. (2018), na última década a composição fermentativa do substrato para produzir o etanol foi bastante modificada, uma vez que novas culturas de cana foram desenvolvidas. O uso de melaço em vez de suco de cana, aumentou, e também devido a proibição da queima da cana antes da colheita. Como consequência, essas cepas anteriormente isoladas estão sendo substituídas por novas leveduras silvestres na maioria das usinas de etanol. Esses autores relataram que nesse novo cenário, o isolamento de novas leveduras mais satisfatoriamente adaptadas e com características fermentativas aprimoradas ainda é um grande desafio.

Neste sentido, a produção do 2G-bioetanol depende de matéria-prima da biomassa que poderia fornecer uma geração de energia mais sustentável sem comprometer a segurança alimentar e o meio ambiente. De fato, esse processo de produção explora culturas não-alimentares, resíduos de culturas alimentares, resíduos de indústrias à base de madeira ou de alimentos, como lascas de madeira, peles ou polpas da prensagem de frutas, respectivamente. No entanto, o processo industrial de produção de 2G-bioetanol ainda está engatinhando; assim, o futuro e a sustentabilidade do 2G-bioetanol dependem fortemente do desenvolvimento e otimização da tecnologia (DONATO et al., 2019).

Autores como Zao et al. (2020) quando estudaram 2G-bioetanol produzido a partir de resíduo da biomassa, apontaram que a substituição de combustíveis fósseis por bioetanol proporcionaria economia na maioria das categorias de impacto, assim como a energia recuperada dos resíduos, enquanto a produção de enzimas tem uma carga significativa. O tratamento e a descarga de efluentes dos resíduos líquidos podem constituir uma carga significativa para o meio ambiente. Quanto as tecnologias de produção esses autores reportaram que com base nas probabilidades cumulativas de desempenho ambiental geral, juntamente com a quantidade produzida de bioetanol, a priorização de tecnologias para desenvolvimento adicional deve ser a seguinte: tecnologias de explosão de vapor e baseadas em amônia como as prioridades mais altas, com aproximadamente 100% e 40% de probabilidade de obter economia em impactos não tóxicos e tóxicos, respectivamente; as tecnologias ácido, alcalina e fungos como prioridades médias e as tecnologias à base de solvente e água quente líquida têm as prioridades mais baixas.

Segundo Lacerda, Zambon e Frollini (2013) entre os diferentes pré-tratamentos químicos, sabe-se que o pré-tratamento ácido separa pentoses e hexoses, enquanto o pré-tratamento alcalino (mercerização) separa lignina da biomassa lignocelulósica. Noutro estudo, estes autores relataram que uma característica importante que envolve a hidrólise ácida da biomassa é a possibilidade de utilizar diferentes ácidos, porque o único requisito para a reação

ocorrer é a presença de uma fonte de prótons no meio reacional (LACERDA, ZAMBON e FROLLINI 2015).

Nesse contexto, o estudo e o desenvolvimento de processos limpos, tecnologias e novas matérias-primas residuais (como a sisalana, objeto desse trabalho) que ofereçam as vantagens de serem mais sustentáveis e com as características adequadas para produzir ou fazer parte da produção de bioetanol no Brasil, são de grande importância e pertinência.

2.4 Panorama Geral da Cultura do Sisal

O sisal é uma planta fibrosa que se acredita ser indígena e originária do sul da América, das ilhas do Caribe e da costa sul dos EUA, tendo o Brasil e a Tanzânia como produtores líderes mundiais. Esta planta leva em média de 2 a 3 anos para atingir a maturidade plena; com produção variando de 200 a 300 folhas por planta, com vida útil de 15 anos (MARTÍNEZ-TORRES et al., 2011). O sisal pertence à classe de planta *monocotiledônea*, série *Liliflorea* da família *Agavaceae*, subfamília *Agavoidea*, gênero *Agave* e subgênero *Euagave*. O gênero *Agave* compreende aproximadamente 300 espécies nativas das zonas tropicais e subtropicais das Américas do Norte e do Sul. Das folhas do sisal, aproveitam-se 3 a 5% do seu peso em fibras

A folha é composta por aproximadamente 87,25% de líquido, 8% de matéria seca 4% de fibra e 0,75% de cutícula (MIELENZ et al., 2015). Os autores Kendall et al. (2015) relataram que a planta do sisal é composta por aproximadamente 69% de suco líquido e 31% de bagaço úmido, que em 85% de água e compostos solúveis, 7% de bagaço seco e 8% sólidos solúveis totais. Conforme Rijal et al. (2016)

O sisal e os seus resíduos são utilizados para várias aplicações em centros de pesquisa e indústrias locais em todo o mundo (KLERK et al., 2020; YORSENG et al., 2020; YANG, et al., 2018; TAN et al., 2018; LACERDA, ZAMBON e FROLLINI, 2013), mas é principalmente reconhecida pela produção de fibras de folhas de sisal que são muito fortes e resistentes, (NIGAM e SINGH, 2011).. A planta é constituída por duas partes importantes, a folha onde se extrai as fibras e o bulbo chamado piña, onde se obtém o suco utilizado para produção de Tequilana na espécie do *Agave Tequilana* típica de México (NÚÑEZ, RODRÍGUEZ e KHANNA, 2011).

A Figura 1 resume as etapas do desfibramento da *Agave sisalana* e os resíduos gerados.

Figura 1. Etapas do desfibramento da Agave sisalana.



Fonte: THOMAS. H.Y, 2018.

A colheita das folhas maduras é realizada manualmente com o auxílio de facas, o corte é feito na base da folha para aproveitar o máximo da folha e obter a fibra de melhor qualidade (MIELENZ et al., 2015). O equipamento utilizado para separar e retirar as fibras da folha, é um rotor raspador munido de lâminas afiadas e de acionamento mecânico movido por um gerador a diesel. Esse equipamento é denominado “motor de agave” ou “máquina paraibana” e é a principal desfibradora dos campos de sisal. Duas pessoas podem operar a máquina ao mesmo tempo, simultaneamente inserindo as folhas e retirando apenas as fibras por folha e o bagaço junto com o resíduo líquido, sai pela parte de baixo da máquina. As fibras são secadas após serem separadas da folha, o bagaço e o resíduo líquido são separados da fibra e deixados no ambiente sem perspectivas de aproveitamento (GUPTA e SRIVASTAVA, 2014).

2.4.1 Pré-tratamento e Hidrólise Ácida

Em relação aos processos de pré-tratamento, tem-se vários métodos para a conversão de biomassa celulósica em açúcares simples relatados na literatura. No que concerne aos resíduos do sisal (suco e bagaço), condições de pré-tratamento, tipos de pré-tratamento e testes do potencial do resíduo para eficiência em bioetanol são elaborados. Por exemplo, cita-se o trabalho dos autores Corbin et al. (2015), em que obtiveram uma eficiência de conversão do

resíduo de sisal (resíduo líquido e bagaço) para obtenção de açúcares fermentáveis de 60% no pré-tratamento de suco de folhas de agave. Para Rios-González et al. (2017) a maior eficiência obtida foi de 74,3% do total de açúcares fermentáveis. A hidrólise ácida é frequentemente relacionada à degradação de açúcares simples, promovendo um processo de baixa eficiência quando comparado à hidrólise enzimática (MONTAÑEZ et al., 2011). Por outro lado, a hidrólise enzimática, embora considerada altamente específica e com maior eficiência de produção de açúcar, o processo é frequentemente relacionado como sendo muito limitado, porque os melhores desempenhos das condições de enzimas são limitados, e estas enzimas são onerosas. O tempo total de hidrólise das enzimas também é superior ao tempo de reação da hidrólise ácida (MIELENZ et al., 2015).

Em relação a hidrólise ácida, tem-se a utilização de ácidos diluídos ou concentrados para decompor os polímeros de celulose e hemicelulose na biomassa lignocelulósica para formar moléculas individuais de açúcares que podem ser fermentadas em etanol. As vantagens da hidrólise ácida são que o ácido pode penetrar na lignina sem pré-tratamento, a taxa de hidrólise ácida é mais rápida que a enzimática, no entanto, a glicose também degrada rapidamente sob condições ácidas (JIANG et al., 2015).

O processo de hidrólise ácida emprega normalmente ácido sulfúrico e ácido clorídrico em concentrações de 1 a 10% usando uma temperatura moderada (na faixa de 100-150 °C) (HUITRÓN et al., 2013). Mas nestas condições operacionais relativamente moderadas, isso prova menos eficaz na formação de hexoses. Isto é principalmente devido a menor decomposição dos monossacarídeos em compostos desejáveis durante a hidrólise. Estes compostos incluem furfural, um produto da desidratação de pentoses e hidroximetilfurfural (HMF), um produto da desidratação de hexoses. Estes compostos juntamente com o ácido acético que se forma durante a decomposição inicial de hemiceluloses, como resultado da hidrólise de grupos acetil ligados ao açúcar, inibem a fermentação posterior, levando a uma redução do rendimento em etanol (MAHZABIN et al., 2019).

2.4.2 Quantificação de Açúcares pelo Método DNS

Um método bastante utilizado para detectar e medir açúcares fermentáveis e açúcares totais é pela utilização do ácido 3,5-dinitrossalicilato (DNS). A técnica detecta a redução de açúcares pelo ácido com espectrofotometria. O ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) puro apresenta coloração alaranjada. Este ácido é facilmente reduzido por açúcares, mas pode apresentar uma eficiência menor se a solução redutora utilizada possuir outras espécies redutoras mais fortes

que os açúcares. Quando reduzido, o DNS se torna ácido 3-amino-5-nitrosalicílico, e passa a ter coloração acastanhada. Através da calibração da curva de Concentração x Absorbância com uma solução padrão de glicose, a concentração de uma solução com uma quantidade de açúcares desconhecida poderá ser facilmente conhecida pela utilização de espectrofotômetro (PALOMO-BRIONES et al., 2018).

2.4.3 Fermentação Alcoólica

Em relação a fermentação alcoólica, os açúcares simples como glicose e frutose são convertidos em etanol no processo da degradação destes por microorganismos. A fermentação do etanol pode ser realizada por fermentação submersa ou em estado sólido. Na fermentação submersa, a água é um líquido importante que é usado para fazer a mistura de fermentação, misturando um sólido pré-definido com água (HIDALGO-REYES et al., 2013). Durante a fermentação, a conversão microbiana de pentoses, hexoses e dissacarídeos derivados de celulose e hemicelulose ocorrem com base na Equação 1 (ZABED et al., 2016).



O processo de fermentação ocorre devido a a\u00e7\u00e3o de micro-organismos que consomem a\u00e7\u00facares produzindo CO₂ e etanol no processo, al\u00e9m de outros coprodutos n\u00e3o desejados que incluem fufural e \u00e1cido ac\u00e9tico. O alto crescimento de c\u00e9lulas e a quantidade de massa celular s\u00e3o considerados fatores-chave para produzir quantidades aumentadas de etanol durante a fermenta\u00e7\u00e3o (MOHAPATRA et al., 2017). No entanto, a taxa de crescimento das c\u00e9lulas, bem como a acumula\u00e7\u00e3o de quantidades vi\u00e1veis de c\u00e9lulas, \u00e9 limitada por muitos atributos. O esgotamento do substrato no caldo (a\u00e7\u00facares) ao longo do tempo \u00e9 um dos fatores importantes. A produ\u00e7\u00e3o de inibidores nas etapas da hidr\u00f3lise \u00e1cida, tamb\u00e9m afetam negativamente a produ\u00e7\u00e3o de bioetanol. Os subprodutos produzidos durante o pr\u00e9-tratamento incluem a\u00e7\u00facares \u00e1cidos, \u00e1cido ac\u00e9tico, \u00e1cido f\u00f3rmico, \u00e1cido levul\u00ednico, hidroximetil furfural (HMF) e furfural (SILVA, S. B et al,2019).

A maioria dos inibidores derivados da lignocelulose s\u00e3o produzidos quando a hemicelulose e a lignina se degradam durante o pr\u00e9-tratamento, enquanto a celulose e os extratos da biomassa podem ser a fonte de inibidores que s\u00e3o afetados involuntariamente pelas condi\u00e7\u00f5es de pr\u00e9-tratamento (RIJAL et al., 2016). Os inibidores de pr\u00e9-tratamento podem ser

categorizados em três grupos principais com base em sua origem, tais como ácidos alifáticos, derivados de furano e compostos fenólicos. O próprio etanol produzido no processo da fermentação inibe as atividades das células que convertem os açúcares em bioetanol pela intoxicação do meio, assim diminuindo ou parando totalmente a produção do bioetanol (FLORES-GÓMEZ et al., 2018).

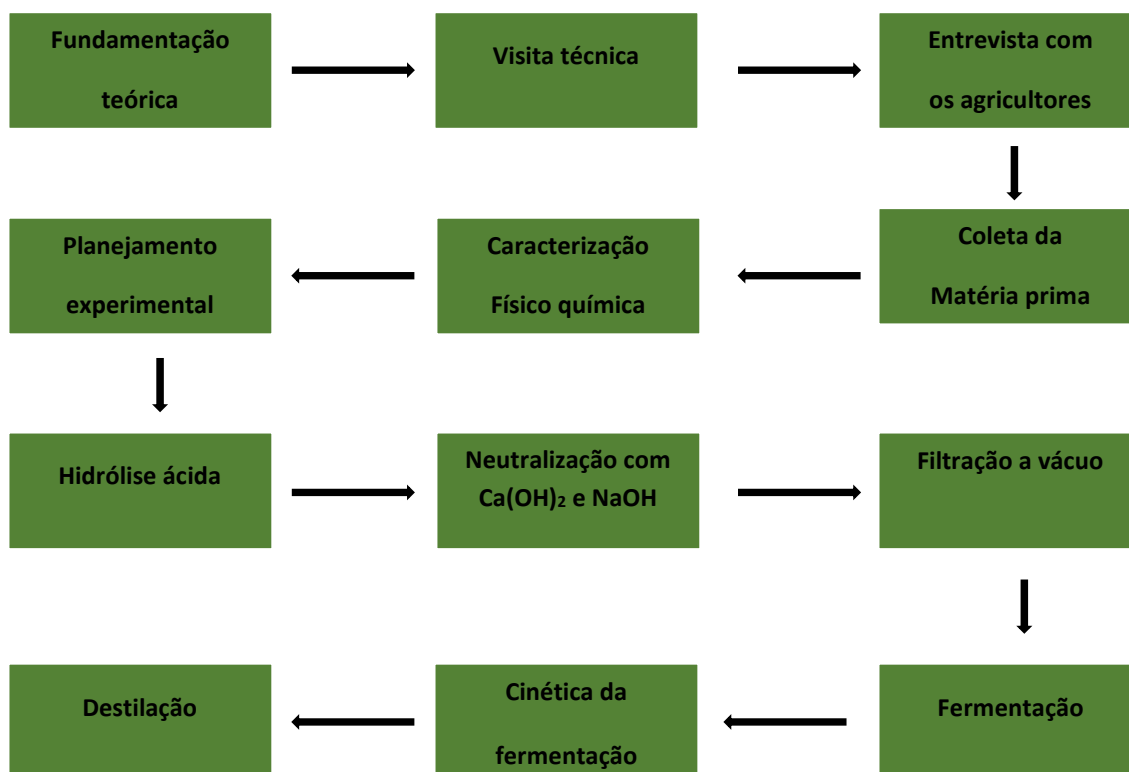
3. METODOLOGIA

A pesquisa foi desenvolvida na Universidade Federal da Paraíba (UFPB), a caracterização físico-química e o pré-tratamento da matéria-prima foram realizados nos Laboratórios de Análise Físico-Química do Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional (CTDR) e Laboratório de Materiais e Química Ambiental (LABMAQ), do Centro de Energias Alternativas e Renováveis (CEAR). As análises do hidrolisado, medição dos açúcares por DNS e espectrofotometria, realizou-se no Laboratório de Bioengenharia (LABIO) do Centro de Tecnologia (CT). O trabalho iniciou pelo levantamento do referencial teórico sobre a utilização do sisal e seus resíduos para produção de bioenergia, através de pesquisas na base de dados dos periódicos da CAPES.

3.1 Fluxograma Representativo da Metodologia Desenvolvida

As etapas seguidas para o desenvolvimento do trabalho estão ilustradas na Figura 2.

Figura 2. Etapas do desenvolvimento do trabalho.



Fonte: THOMAS, H. Y., 2018.

3.2 Coleta da Matéria-Prima

Os resíduos do sisal utilizados neste trabalho foram oriundos do desfibramento da *Agave sisalana*. Os mesmos foram coletados na fazenda Grota Funda, com 17 hectares e localizada no Município do Algodão da Jandaira no Estado da Paraíba, Brasil. Foram realizadas 5 visitas técnicas e entrevistas com os agricultores desta fazenda no período de Janeiro de 2018 a Outubro de 2018. A fazenda tem como principal atividade o cultivo do sisal para obtenção fibras. O resíduo foi separado em duas partes, a parte líquida obtida diretamente após a prensagem das folhas da agave, na separação da fibra do bagaço pelo processo mecânico. O bagaço foi prensado manualmente para retirar o resíduo líquido e em seguida armazenado em garrafas PET de 2 litros. O bagaço foi armazenado em sacolas plásticas e em seguida, ambos foram mantidos sob refrigeração para análises posteriores.

3.3 Caracterização Físico-Química

3.3.1. Secagem e peneiramento

As amostras do bagaço do sisal foram secas em um forno com circulação de ar a 105°C, depois foram moídas em moinho de facas industrial, e peneiradas numa peneira mecânica com vários tamanhos (ASTM), que tem tamanhos de 8, 12, 16, 20, 30, 40 50 e 0. Quanto maior o número do tamanho de mesh, menor o espaçamento e tamanho dos furos da peneira. O peneirador modelo MATEST, foi utilizado a 60% da potência que controla a vibração, o processo durou 15 minutos. A amostra já moída foi colocada na peneira de maior abertura, mesh 8, assim que a máquina é ligada, a amostra passa pelos diferentes meshes de acordo com o tamanho das partículas do resíduo da agave na tabela 5. O mesh 0, recebe as partículas com os menores tamanhos já que não possui abertura.

3.3.2 Determinação de cinzas

Para o ensaio de cinzas, utilizou-se 6 capsulas de porcelana lavadas com agua destilada para , em seguida calcinadas a 900°C por 20 minutos, depois foram retiradas e deixadas no dessecador por 1 hora para resfriar, e o peso de cada capsula foi medido antes de determinar o teor de cinzas das amostras. Para o suco e o bagaço, pesou-se 1g de cada amostra em triplicata

colocados nas cápsulas já calcinadas, e colocou-se na mufla a 550°C por 4 horas. O forno foi aberto duas vezes por 1 minuto para liberar a entrada de ar neste período. Logo após, os cadinhos foram retirados da mufla e colocados diretamente no dessecador para que atingissem a temperatura ambiente, novamente pesados anotando-se as leituras finais para efetivação do percentual de cinzas na amostra.

O cálculo das cinzas foi baseado na Equação 2 através do método 31.1.04 da AOAC, 1995 e Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 2008:

$$\text{Cinzas \%} = \left(\frac{100 \times N}{P} \right) \dots\dots\dots \text{Equação 2}$$

Em que:

N – massa de cinzas

P – massa inicial da amostra

Fonte: Instituto Adolfo Lutz, 2008; AOAC, 1995.

3.3.3 Teor de umidade do bagaço da agave sisalana

Para quantificação do percentual de umidade, foi utilizado o método de secagem em estufa comum (AOAC, 2000). Lavou-se com água destilada 6 placas petri e 6 cápsulas de porcelanas. Em seguida, secas por 30 minutos a 105°C. Após esta etapa, colocou-se no dessecador por 20 minutos para resfriar, depois retiradas e pesadas em uma balança analítica de alta precisão modelo M124Ai p BEL MARK MW - Resolução 0,001g. Em seguida, 1g da bagaço do agave foram pesadas, nas porcelanas, ambas em triplicata. Previamente secas e taradas, anotando-se o peso das cápsulas e da amostra, logo em seguida as cápsulas foram levadas para a estufa a 105° C. Após 24 horas, as cápsulas foram retiradas da estufa e colocadas em dessecador durante 20 minutos para esfriar, em seguida pesadas e anotou-se o peso final para efetuar-se os cálculos através da Equação 3.

$$\text{Umidade \%} = 100 \times \left(\frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \right) \dots\dots\dots \text{Equação 3}$$

Fonte: AOAC, 1995

3.3.4 Poder calorífico

O poder calorífico pode ser conceituado como a quantidade de energia liberada sobre a forma de calor, durante a combustão completa para uma dada massa de combustível (medida em kJ.kg^{-1}). Na conversão da biomassa considera-se o poder calorífico superior (PCS) como parâmetro para cálculos, tendo em vista o pré-tratamento realizado antes das análises, em geral quanto mais elevado o PCS melhor a biomassa para aplicação como biocombustível em combustão direta. O poder calorífico superior foi determinado utilizando o método da bomba, a qual determina a quantidade de calor liberada pela combustão da biomassa com oxigênio. IKA C200 foi a bomba calorimétrica utilizada.

3.3.5 Análise Termogravimétrica

As análises termogravimétricas foram realizadas no Laboratório de Carvão Ativado (LCA) do Centro de Tecnologia da UFPB utilizando o equipamento Shimadzu, TGA-50. A massa das amostras foi de aproximadamente 10 mg, na faixa de temperatura ambiente até 900°C , sob atmosfera inerte de N_2 (pureza mínima 99,997%), modo de aquecimento dinâmico com razão de $10^{\circ}\text{C.min}^{-1}$ e vazão de gás de 10mL/min .

3.4 Sólidos solúveis totais (SSS)

Para o ensaio do Brix foi necessário o descongelamento e homogeneização do suco de agave. Em seguida, o aparelho foi inicialmente higienizado com água destilada e colocada uma gota da amostra, em temperatura de 25°C . O aparelho utilizado foi o RHB-32ATC portátil scanner de mão refratômetro açúcar medidor que possui uma Faixa de medição: 0-32% Brix, Divisão mínima: Brix 0,2% e uma faixa de Compensação automática de Temperatura entre 10°C - 30°C .

3.4.1 Açúcares Redutores (AR) e Açúcares Totais (AT)

Para a determinação dos açúcares redutores utilizou-se uma modificação do método do DNS, originalmente proposto por Miller (1959). Desta forma, transferiu-se diferentes medidas

da solução mãe do suco de agave (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 mL), e do bagaço já hidrolisado com ácido e neutralizada, para tubos de ensaio, sendo completados para o volume para 10 mL com água destilada, Após a homogeneização foi transferido 0,5 mL para tubos com 0,5 mL de DNS (em duplicata), homogeneizou-se, e em seguida os tubos foram submetidos ao aquecimento de 100°C, durante cinco minutos. O resfriamento foi realizado com água gelada até temperatura ambiente. Após o resfriamento, adicionou-se 4 mL de água destilada e homogeneizou. A leitura foi realizada a 540 nm. O branco para zerar o equipamento, foi feito com 0,5 mL de água destilada e 0,5 mL de DNS.

Quando a amostra tem sacarose é necessário fazer a inversão da sacarose: misturar 1 mL da amostra com 1 mL de solução de ácido clorídrico 2N (16,8 mL ác. Concentrado/100 mL), colocar o tubo em banho com água fervente por cinco minutos, resfriar em banho de água gelada. Depois de frio adicionar 2 mL de hidróxido de sódio 2 N. Homogeneizar bem e seguir o procedimento da curva padrão. Neste caso lembrar de multiplicar por 4 (diluição) para obter o valor de ART (mg/mL) e por 50 para quantificar AR e AT.

3.4.2 Cinética do Processo Fermentativo

Logo na análise dos SSS e açúcares redutores do resíduo líquido ,foi observado que a amostra possui pouca quantidade de açúcares, e foi descartado a utilização desta matéria porque não é eficiente para o processo fermentativo. Após o ajuste do meio de cultivo para as condições ideais de fermentação(pH e temperatura e a inoculação do agente fermentativo, foi iniciado o processo da fermentação alcoólica, para a obtenção do fermentado do bagaço de agave, as etapas das análises de fermentação foram realizadas a tempo zero, e controladas as variáveis (pH, SSS, temperatura) responsáveis pelo bom desempenho do processo, determinando a influência e quantificando os periodicamente a cada duas horas até o final do experimento. No decorrer de cada cinética que durou 72 horas, foram coletadas alíquotas de 4 mL periodicamente, que foram armazenadas no freezer e congeladas, para depois serem analisadas quanto ao teor de biomassa e açúcares.

3.5 - Difração de Raios-X (DRX)

Normalmente, ocorre uma hidrólise parcial da biomassa lignocelulósica, que remove as regiões amorfas da celulose, aumentando a proporção da região cristalina que é resistente a mais hidrólises. Portanto, ácidos concentrados e/ou uma alta quantidade de enzimas são usados na hidrólise ácida e enzimática, para reduzir ao máximo a cristalinidade da celulose e convertê-la totalmente no amorfo (PEREZ-PIMIENTA et al., 2015). O Difratoograma (Figura 9) foi obtido pelo ensaio realizado na biomassa seca do bagaço já triturado e peneirado com mesh 50. Os Difratoogramas foram registrados usando um difratômetro de raios X (XRD 6000 Shimadzu) com radiação Cu K α . O intervalo de varredura foi de $2\theta = 5^\circ$ a 100° a uma velocidade de varredura de graus por 0,081 segundos. O difratograma foi plotado com o programa HighScore Expert Plus[®].

3.6 – Planejamento Experimental

O Programa Estatística 7.0 foi utilizado para planejar as análises experimentais e aperfeiçoar as reações da hidrólise, com o intuito de obter maior eficiência na conversão do resíduo de agave em açúcares fermentáveis. Desta forma, foi realizado um planejamento do tipo 2^2 , com 3 repetições no ponto central. No total realizou-se 7 hidrólises na fase do planejamento com o tempo e concentração do ácido sulfúrico como as variáveis independentes, variando o tempo de 30, 60 e 90 minutos e a concentração do ácido variando de 0,5, 1 e 1,5 molares. A temperatura foi mantida constante em $100 \pm 5^\circ\text{C}$. Com este experimento, foi possível obter uma superfície de resposta com duas variáveis dependentes que são os açúcares fermentáveis e açúcares totais. Na Tabela 1 estão os parâmetros utilizados para gerar a combinação para o planejamento dos experimentos. Os níveis superiores são denotados como -1, o nível médio é 0, e nível superior é +1. O nível médio teve 3 repetições, também conhecido como o ponto central.

Tabela 1. Planejamento de experimentos *design* 2².

Nº experimentos	Nível	Concentração	Tempo
1	-1	0,5	30
2	+1	1,5	30
3	-1	0,5	90
4	+1	1,5	90
5	0	1	60
6	0	1	60
7	0	1	60

Fonte: Estatística versão 7.0, 2018.

As variáveis dependentes que são açúcares redutores (AR) e açúcares redutores totais (ART) respectivamente. Uma vez que os experimentos foram realizados, o resultado obtido destas variáveis dependentes foi utilizado para gerar a superfície de reposta, que seria utilizada para aperfeiçoar o experimento e obter maior eficiência na obtenção dos açúcares redutores.

3.6.1 Pré-Tratamento e Hidrólise Ácida

Para a realização da hidrólise ácida, utilizou-se nos ensaios 3 concentrações de ácido sulfúrico de 0,5, 1, e 1,5 molares. A temperatura foi mantida constante a 100 ± 5 °C e o tempo de reação de 30, 60 e 90 minutos. Realizou-se todos os ensaios em triplicata. A hidrólise ocorreu em um reator do tipo soxhlet com refluxo para evitar a vaporização do meio reacional e consequentemente manter a concentração do ácido constante. Após a hidrólise, a solução foi resfriada até atingir a temperatura ambiente, o pH foi medido e a solução neutralizada com NaOH_(aq) e CaOH₂. Após a neutralização, as análises dos açúcares foram realizadas pelo método DNS. A quantificação de açúcares foi realizada por um método bastante utilizado para detectar e medir açúcares fermentáveis e açúcares totais, que é pela utilização do ácido 3,5-dinitrossalicilato (DNS).

3.7 Fermentações Alcoólicas

Para a fermentação alcoólica, somente o hidrolisado do resíduo sólido(bagaço), do Agave sisalana foi utilizado, visto que o resíduo líquido não contém açúcares suficientes para produção de bioetanol , contendo mu milhagem e clorofila que dar a coloração verde do suco.

Realizou-se seis fermentações:

1. Amostra *in-natura* com inóculo (FINI);
2. Amostra sem inóculo, hidrolisada e neutralizada com NaOH (FHNB);
3. Amostra hidrolisada, com inóculo e neutralizada com Ca(OH)_2 (FHINCH);
4. Amostra hidrolisada sem inóculo e neutralizada com Ca(OH)_2 (FHNCH);
5. Amostra hidrolisada e tratada com carvão ativado e filtração a vácuo com adição de melaço (FHCA);
6. Amostra com adição de melaço industrial (FMInd), tratado com Ca(OH)_2 .

Os ensaios de fermentação foram realizados em um *erlemeyer* de 500 mL, com 300 mL do meio de cultura no mosto, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (fermento biológico comercial fresco, onde adicionou-se 15 gL^{-1} do fermento, fechados com rolhas de algodão, mantidos na incubadora SHAKER SL 221, por 72 horas a 30°C e 200 rpm. Para as fermentações com inóculo, foi utilizado 10% do meio cultivo, ou seja, 30 mL do *erlemeyer* de 100 mL e adicionou-se 15 gL^{-1} do fermento no meio de cultivo, agitou-se, logo após fechados com rolhas de algodão, mantidos na incubadora SHAKER SL 221, por 24 horas em temperatura ambiente. Para os meios de cultivo hidrolisado foi mantido uma concentração de açúcares entre 14 a 16%, para os cultivos *in-natura* foi utilizado os açúcares *in-natura*.

3.7.1 Teor Alcoólico do Vinho

Realizado por ebulliometria, utilizando-se de um ebuliômetro de bancada, o teor alcoólico do fermentado foi em $^\circ\text{GL}$ (% vol.). Utilizou-se a metodologia recomenda por Silva (2018), desta forma, após calibrado, foi adicionado 50 mL da amostra e a temperatura de ebulição mostrada no termômetro foi anotada e plotada na régua de determinação de concentração alcoólica.

3.7.2 Concentração de Biomassa (g L^{-1})

A concentração da biomassa presente no procedimento da fermentação foi analisada pelo método de massa seca, a partir da concentração celular da biomassa que consiste em separar as células do meio, secá-las e pesá-las, em tubos de *eppendorffs*, com a capacidade de 2 mL cada, foram preenchidos com o fermentado e em seguida foram centrifugados por de 5 minutos, com uma rotação de de 10.000 rpm, retirado o sobrenadante e novamente colocado na estufa a 105 °C por 24 horas, sendo que as alíquotas retiradas foram do último dia de fermentação.

3.7.3 Rendimento da Fermentação

O rendimento da fermentação alcoólica foi determinado através da Equação 4, sendo considerado o valor do etanol produzido em gramas e dos açúcares redutores (AR) consumidos,

$$\text{Rendimento \%} = \frac{\text{Etanol (g)}}{\text{ARs(g)} \times 0,511 (\text{g.g})} \dots\dots\dots \text{Equação 4}$$

ARs = Açúcares redutores consumidos

0,511 = Valor do fator de correção de consumo de açucares na fermentação (REGULY, 1998).

3.7.4 Produtividade das Fermentações

A produtividade das fermentações foi calculada utilizando-se os valores de etanol produzido em (g/L) e o tempo total de fermentação (h), segundo a Equação 5.

$$\text{Produtividade} = \frac{\text{Etanol (g/l)}}{\text{Tempo (h)}} \dots\dots\dots \text{Equação 5}$$

Expressa a velocidade com que o etanol é produzido, relacionando sua concentração no vinho pela unidade de tempo.

3.7.5 Rendimento em massa celular ($Y_{x/s}$)

Este parâmetro relaciona a quantidade de massa celular produzida em base seca com a quantidade de substrato consumido, sendo sua unidade dada por [g massa seca/g ART]. Este parâmetro é definido matematicamente pela equação 6;

Rendimento de conversão do substrato em células;

$$Y_{X/S} = \frac{dx/dt}{ds/dt} \dots\dots\dots \text{Equação 6}$$

Onde (dx/dt) é células produzidas produzido e (ds/dt) é a quantidade de açúcar consumido na fermentação alcoólica.

3.7.6 Rendimento em produto (Y_{P/S})

Este parâmetro relaciona a massa de produto obtido com a massa de substrato consumida, sendo sua unidade dada por [g etanol/g ART]. Este parâmetro é definido matematicamente pela equação;

$$Y = \frac{dp/dt}{ds/dt} \dots\dots\dots \text{Equação 7}$$

Em que dp/dt é quantidade de etanol produzido e ds/dt é a quantidade de açúcares consumidos no processo fermentativo. A produtividade da fermentação é relacionada a quantidade de etanol produzido na fermentação alcoólica dividido pelo tempo de fermentação, enquanto o rendimento é dado pela equação;

$$\text{Rendimento \%} = \frac{P}{Ac * 0,511} * 100 \dots\dots\dots \text{Equação 8}$$

Onde P é a quantidade de etanol produzido em gramas

Ac é a quantidade de açúcares consumidos durante o processo fermentativo.

3.8. Processo de Destilação

A destilação foi realizada no Laboratório de Análises e Pesquisas de Bebidas Alcoólicas – LBA, do Departamento de Engenharia Química na Universidade Federal da Paraíba. A destilação foi realizada em um micro destilador Solab, modelo SL – 77, composto por caldeiras, coluna e condensadores na parte superior, um recipiente com volume pré-determinado no qual o sistema é para 50 mL alimentado e , através do aquecimento da água da caldeira , os vapores ascendentes da amostra contida no ebulidor são arrastadas através da coluna e condensador em contracorrente do refluxo, ocorre a troca de calor do condensados com os vapores hidroalcoólicos advindos da coluna.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.0 – Caracterização Físico-Química

4.1. Composição Química do Resíduo Líquido e Sólido do Agave

As composições químicas do resíduo líquido e do resíduo sólido de 4 diferentes espécies da cultura de agave na literatura em comparação com a agave sisalana analisada estão ilustradas nas Tabelas 2 e 3, respectivamente, com suas quantidades estimadas.

Tabela 2. Composição química do resíduo líquido das variedades de agave.

Composição	<i>Agave Henequen</i>	<i>Agave sisalana</i>	<i>Agave Tequilana</i>	<i>Agave Americana</i>	<i>Agave Salmiana</i>
Cinzas(g/L)	5,5±1.1	3,2±0.3	6,4±0.4	3,2±0.1	6,5±0.9
SSS (Brix)	10	8	11	10	11
Açúcares totais(g/L)	69,4	36,5	42,2	38,1	50,5
Açúcares redutores(g/L)	27,7	13,5	32	20	12
pH	4,5	4,5	4,9	4,6	5,1

Fontes: CÁCERES-FARFÁN et al., 2008; VALENZUELA, 2011; LÓPEZ-ALVAREZ et al., 2012; AGED, 2011 e FLORES-GÓMEZ et al., 2018.

Na análise do resíduo líquido, Agave sisalana apresentou uma quantidade de cinzas de 3,2%, sólidos solúveis de 8, e açúcares redutores de 13,5g/L. Flores-Gomez, 2018 teve resultados similares de cinzas de 2,9%, sólidos solúveis suspensos de 7 e pH de 4,8. Valenzuela também reportou em 2011, uma quantia de 20g/L na Agave sisalana e SSS de 6,5.

A Tabela 3 resume a composição química do bagaço das 5 espécies de agave estudadas nesta pesquisa e as reportadas na literatura.

Tabela 3. Composição química do bagaço do Agave.

Composição	<i>Agave Henequen</i>	<i>Agave sisalana</i>	<i>Agave Tequilana</i>	<i>Agave Americana</i>	<i>Agave Salmiana</i>
Cinzas(g/L)	5,5±0.3	6,5±0.4	6,2±0.2	7,4±0.1	4,5±0.9
Lignina(%)	16	21	13	8	15
Celulose(%)	42	43	35	41.5	36
Hemicelulose(%)	20	20	12	24	21
Polissacarídeos totais(g/L)	4,5	4,5	4,9	4,6	5,1

Fonte: SAUCEDO-LUNA et al., 2011; HIDALGO-REYES et al., 2013; MONTAÑEZ et al., 2011; (RIOS-GONZÁLEZ et al., 2017 e MORAIS, 2014.

A composição das cinzas de acordo com as análises realizadas apresentaram uma quantia de 6,5% de cinzas na Agave sisalana, esta quantidade se aproxima às quantidades de cinzas encontradas no bagaço de Agave sisalana por pesquisadores como Rios-Gonzales e Hidalgo-Reyes.

4.2 Poder calorífico

A análise do poder calorífico foi realizada e comparada com algumas biomassas que apresentam potenciais para produção de energia na forma de calor. Pode se observar que a quantidade de energia presente no bagaço é menor do que aquela na palha de cana de açúcar, sabugo de milho e resíduos madeiros, porém a diferença é próximo, o que significa que o resíduo do agave (bagaço) poderia ser utilizado para geração de energia térmica pela combustão direta da biomassa seca de acordo com Tabela 4.

Tabela 4. Poder calorífico da biomassa.

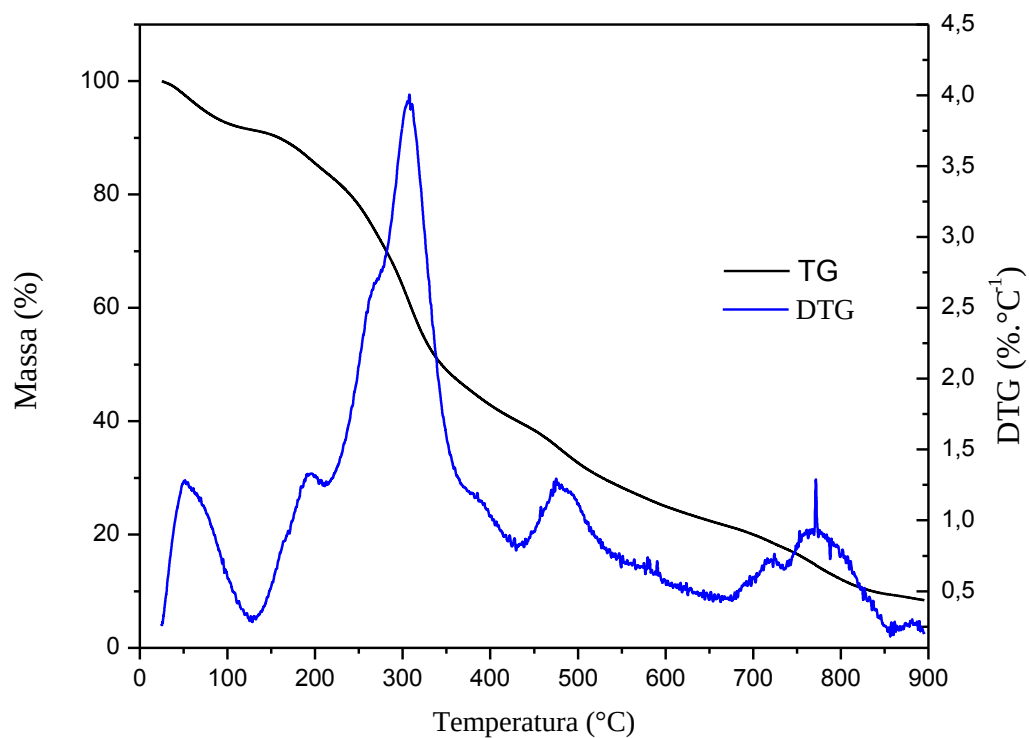
Biomassa	PCS (MJ/Kg)	Referência
Bagaço de cana	17,72	Vassilev et al., (2011)
Palha de cana de açúcar	17,10	Bizzo et al., (2014)
Sabugo do milho	18,35	Hupa, 2012
Resíduos Madeireiros	19,40	Vassilev et al., (2011)
Bagaço de Agave	16,22	Thomas, H.Y, 2018
Casca de Banana	17,00	Thomas, H.Y, 2018
Carvão vegetal	25,00	Bizzo et al., (2014)

Valores de poder calorífico do bagaço do Agave Sisalana de 16,50 MJ/kg e 18,20 MJ/kg de PCI e PCS respectivamente foram encontrados por Jeaneth .T et al., 2015, estes valores encontrados se aproximam aos valores encontrados pelo ensaio de poder calorífico realizado neste trabalho, já que correlaciona com os valores do poder calorífico inferior e superior encontrados na literatura.

4.3 Análise Termogravimétrica

As curvas TG/DTG do bagaço do sisal (Figura 3) evidenciam as etapas da decomposição. Pode ser observado que até 120°C, houve a perda da umidade da matéria, entre 120 a 200 °C, houve provavelmente a perda dos voláteis, essa observação convergiu com dados obtidos por Hernandez, relatou que entre 200 e 400 °C, a perda de massa é atribuída principalmente a degradação da celulose e hemicelulose (HERNÁNDEZ-MELÉNDEZ et al., 2016), De 400 a 500°C, pode ser observado outro perfil de degradação de acordo com a curva de TG, que provavelmente corresponde a degradação de lignina, como observado por Hidalgo também que entre 400 a 500 °C, apresenta-se a degradação da lignina porque esta fase apresenta uma degradação mais lenta numa ampla faixa de temperatura devido á estrutura resistente da lignina. A maior perda de massa da hemicelulose se encontra entre 200 a 280 °C devido a sua estrutura fraca de decompor em relação a lignina (HIDALGO-REYES et al., 2015).

Figura 3. Curva de TG e DTG do bagaço gerado do desfibramento da Agave Sisalana



4.4 Preparação da amostra

O peneiramento do bagaço foi realizado a 60% da potência do peneirador por 10 minutos. O processo foi realizado após a secagem depois de triturar o bagaço em moinho de facas. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Peneiramento do resíduo do Agave sisalana.

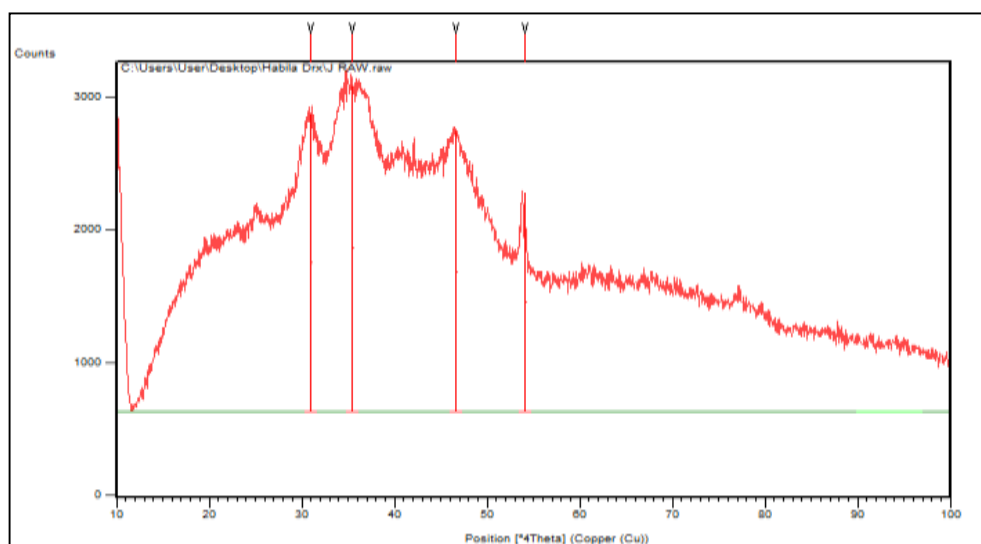
Peneiramento da Matéria Seca do Bagaço (Agave sisalana)				
Malha mesh	Peso vazio(g)	Peso com matéria (g)	Peso matéria(g)	% por malha
8	365,84	367,35	1,51	0,566
12	329,44	331,74	2,30	0,863
16	426,12	430,33	4,21	1,579
20	326,93	355,32	28,39	10,650
30	324,32	435,20	110,88	41,590
50	304,80	398,02	93,22	34,970
0	371,34	397,41	26,07	9,779
TOTAL			266,58	100

A etapa do peneiramento do bagaço do Agave sisalana permitiu o aumento da área superficial do material em contato com o ácido sulfúrico utilizado no processo da hidrólise ácida, portanto permitindo maiores conversões da celulose e hemicelulose em açúcares redutores. O pesquisador Medina Morales em 2017, utilizou resíduo de agave com mesh 40 na sua pesquisa de hidrólise enzimática de resíduos da agave sisalana, portanto argumentou que quanto menor o tamanho das partículas do bagaço, melhor a reação da hidrólise para formação de açúcares redutores (MEDINA MORALES,2017).

4.5 Difração de Raio-X (DRX)

O resultado do DRX do bagaço em forma de pó foi semelhante aos difratogramas de material lignocelulósica, visto que o difratograma possui linhas de ruído similares aquele encontrado por (THYREL, 2014) em 2θ entre 15° a 22° , na análise de pó de banana. O resíduo de Agave sisalana (bagaço) apresenta uma estrutura desordenada (amorfa), sem nenhum tipo de ordem de organização que é típico de matérias não cristalinas nesta região. Entre 22° a 26° , pico em torno de 36° , mais evidente nos difratogramas das biomassas podem estar associados a presença de celulose cristalina. Ou seja, há a presença de um certo grau de organização das estruturas presentes, visto que o resíduo contem nas fibras as estruturas organizadas (cristalinas). Os demais picos que aparecem no difratograma podem estar relacionados com outros componentes, lignina e hemicelulose, que estão dispersos de forma amorfa na estrutura. (GONZALES J. T. et al ,2019). As cartas cristalográficas utilizadas para demarcar os picos foram PDF 01-075-1525 e PDF 01-089-0460.

Figura 4. Difratograma da difração de Raio-X



4.6 Análises dos Sólidos Solúveis Suspensos (SSS) do Hidrolisado

Na Tabela 6 está sumarizado o Brix, também conhecido como sólidos solúveis suspensos (SSS). Os SSS das amostras antes e após a reação da hidrólise ácida com as respectivas concentrações do ácido. A hidrólise ácida provocou a liberação de sólidos solúveis, comparando os SSS inicial e final de todas as amostras que foram submetidas ao tratamento, observa-se que houve um aumento de 8 para 10, 12 e 19 para concentrações de 0,5M, 1M e 2M do ácido respectivamente. Vale ressaltar que para os SSS dos hidrolisados não houve mudança significativa para tempo de 30 e 60 minutos. Pela análise do planejamento experimental, isso ocorreu provavelmente porque a hidrólise ácida na maioria das vezes, acontece rapidamente e num curto período de tempo, como confirmado pelos autores Ávila-Lara et al. (2015); Maitan-Alfenas, Visser e Guimarães (2015); Velázquez-Valadez et al. (2016).

Tabela 6. SSS inicial e final da reação de hidrólise ácida.

Brix inicial (%)	Concentração ácida(M)	Tempo de reação (min)	Temperatura (°C)	Brix final (%)
6,8	0,5	30	100±5	10,15
6,8	0,5	30	100±5	10,05
6,8	0,5	30	100±5	10,25
6,8	1	30	100±5	12,30
6,8	1	30	100±5	12,20
6,8	1	30	100±5	12,00
6,8	2	30	100±5	19,80
6,8	2	30	100±5	19,25
6,8	2	30	100±5	19,60

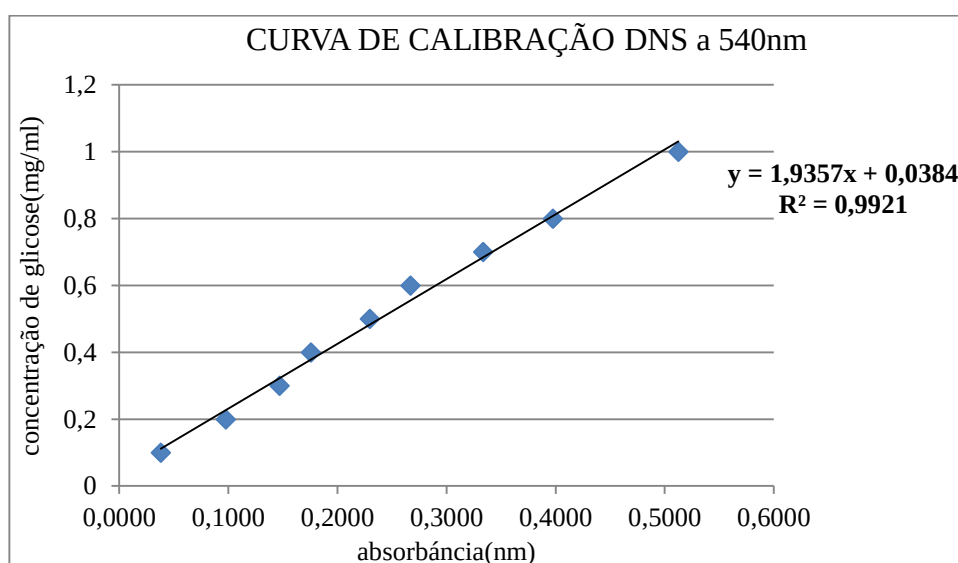
Fonte: THOMAS, H. Y., 2018.

Os valores do Brix de todas as amostras que foram hidrolisadas com a concentração de ácido utilizada e o Brix final obtido após a reação da hidrólise ácida são próximos aos que foram obtidos por Wood et al., 2012. Houve um aumento significativo no SSS da amostra in natura e depois da hidrólise ácida, implicando um possível aumento na quantidade de açúcares totais presentes na amostra, que aumentará a quantidade de bioetanol após o processo da fermentação.

4.6.1 Quantificação por DNS

Um espectrofotômetro calibrado a 540 nm foi utilizado para ler as absorbâncias das soluções utilizadas para calibrar a curva, o mesmo comprimento de onda é utilizado para medir a absorbância das amostras depois de reagir com o ácido DNS para quantificar os açúcares relacionando a absorbância das amostras com a concentração de glicose inicial que foi utilizada para calibrar a curva previamente, como ilustrado na Figura 5.

Figura 5. Curva de calibração.



De acordo com as diluições da glicose de 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 e 1 mg/mL, absorbâncias destas soluções foram obtidas depois da reação com 0,5mL do ácido DNS. A Equação desta curva é utilizada para calcular a concentração dos açúcares redutores e açúcares totais nas amostras analisadas, permitindo relacionar as absorbâncias das amostras em estudo com a quantidade de açúcares nas amostras. Isto foi realizado de acordo com o método de análise de açúcares elaborado pelo Instituto Adolfo Lutz (ZENEON, PASCUET e TIGLEA, 2008).

A absorbância das amostras obtidas antes da hidrólise e após a hidrólise ácida foram lidas, e os resultados destas análises são apresentados nas Tabelas 7 e 8. Na Tabela 7 estão apresentadas as absorbâncias e quantificação dos açúcares redutores na amostra *in natura*.

Tabela 7. Açúcares redutores para amostra *in natura* sem hidrólise.

Açúcares redutores para amostras <i>in natura</i> sem hidrólise		
Amostras	Absorbância	Açúcares(g/L)
1	0,1490	3,38
2	0,1110	2,53
3	0,1480	3,49

Na Tabela 7 estão apresentados os cálculos dos açúcares redutores para a amostra hidrolisada, com a concentração do ácido variando de 0,5M, 1M e 2M, respectivamente. As absorbâncias correspondem às quantidade de açúcares nas amostras (MEDINA-MORALES et al., 2017; STAMBUK, LUIZ e JUNIOR 2017).

Na Tabela 8 estão ilustrados os resultados da hidrólise em triplicata com os respectivos desvios padrões, a quantidade de açúcares obtidos são similares as quantidades obtidas na literatura (STAMBUK, LUIZ e JUNIOR, 2017; PHAM et al., 2011; WOOD et al., 2012, de acordo com o Anexo 1).

Tabela 8. Açúcares redutores e absorbância das amostras hidrolisadas.

Conc. ácido	Absorbância	Açúcares R(mg/mL)	Desvio padrão
2	0,295	38,47	0,04
2	0,252	35,81	0,05
2	0,270	37,50	0,07
0,5	0,213	22,53	0,01
0,5	0,209	22,15	0,04
0,5	0,214	22,63	0,04
1	0,247	25,52	0,01
1	0,255	26,21	0,01
1	0,254	26,43	0,01

Na Tabela 9 estão resumidos os dados referentes aos açúcares redutores e absorbância das amostras hidrolisadas com seus respectivos desvios padrões.

Tabela 9. Açúcares redutores e absorbância das amostras hidrolisadas.

Conc. ácido	Absorbância	Açúcares T(mg/mL)
1	0,076	25,1
1	0,076	36,6
1	0,075	26,05
0,5	0,068	35,8
0,5	0,063	33,15
0,5	0,062	33,3
1,5	0,091	32,9
1,5	0,084	25,1
1,5	0,096	36,6

Na Tabela 10 estão apresentados os açúcares redutores e totais das amostras dos ensaios utilizados para o Planejamento Experimental, em que as superfícies de repostas e o modelo matemático foram gerados para a cinética da hidrólise ácida para liberação de açúcares redutores e açúcares totais.

Tabela 10. Quantificação dos açúcares do Planejamento Experimental.

Concentração	Tempo	Açúcares Redutores	Açúcares Totais
0,5	30	21,75	25,1
1,5	30	29,85	36,6
0,5	90	23,4	26,05
1,5	90	29,15	35,8
1,0	60	26,31	33,15
1,0	60	26,6	33,3
1,0	60	26,8	32,9

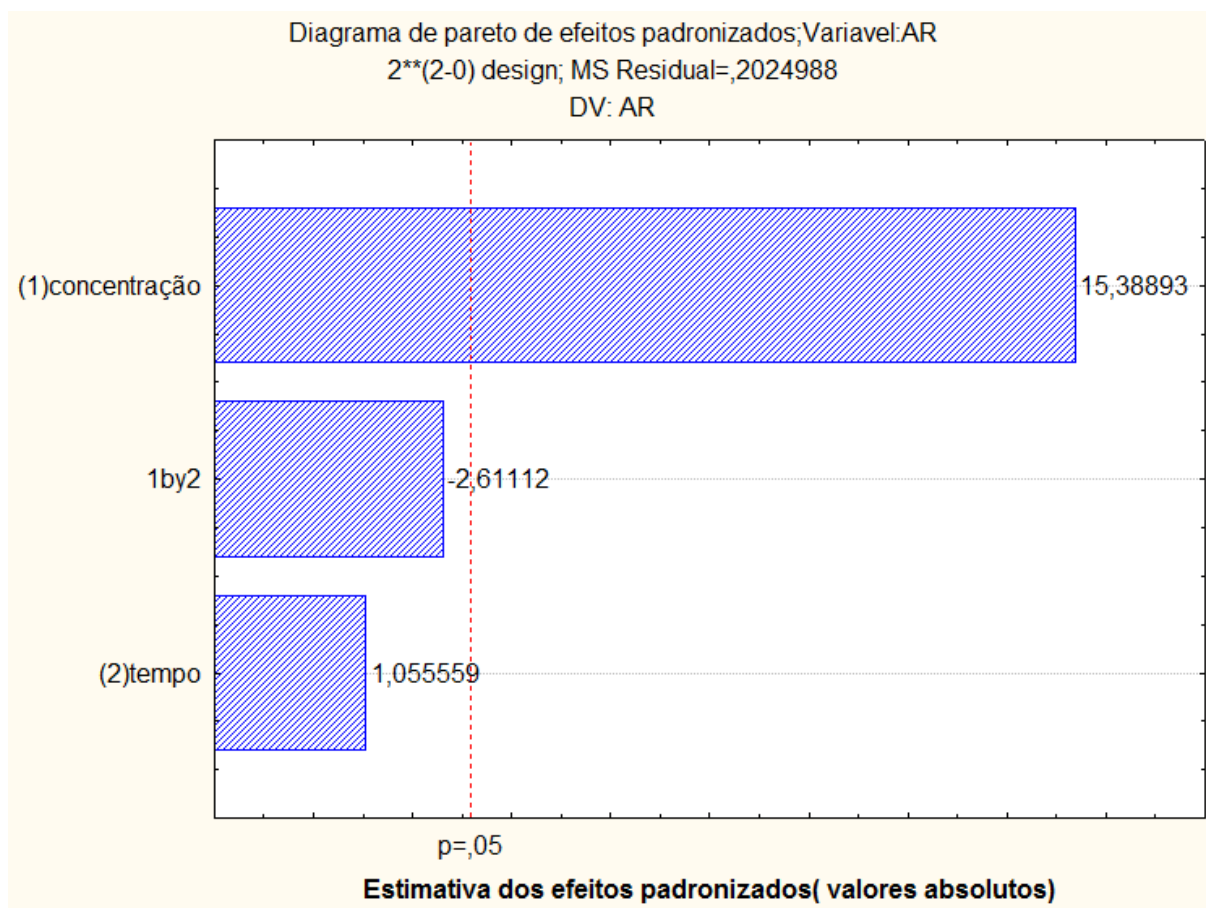
Os perímetros do Planejamento Experimental foram escolhidos baseado no estudo de vários trabalhos sobre hidrólise de biomassa lignocelulósica (Anexo 1) (HIDALGO-REYES et al., 2015; CORBIN et al., 2015; BARBANERA et al., 2018; STAMBUK, LUIZ e JUNIOR 2017), foram estudadas para a escolha dos parâmetros do Planejamento Experimental.

A quantidade de açúcares produzidos no processo da hidrólise ácida das amostras do resíduo de agave evidenciou ser quantidades maiores na medida em que a concentração do ácido é aumentada, porém, a própria reação de oxidação de açúcares produzidos promovido pelo ácido presente no meio, acaba degradando os açúcares presentes (MONTIEL et al., 2016). Esse processo da degradação dos açúcares também é promovido pela temperatura alta em que ocorre a reação da hidrólise que varia entre 105°C a 120°C aproximadamente nesta reação (MICHEL-CUELLO et al., 2012). Portanto, no final do processo da hidrólise, as amostras que foram expostas a menores concentrações de ácido e por menor tempo na temperatura estipulada do processo, mostraram maiores quantidades de açúcares e melhor eficiência de conversão em bioetanol no processo fermentativo.

4.6.2 Gráfico de Pareto

Na Figura 6 está representado o gráfico de Pareto obtido a partir da análise estatística (ANOVA), dos resultados do planejamento experimental, neste gráfico, é possível verificar as variáveis que influenciam a concentração de açúcares redutores (AR) e açúcares redutores totais (ART) liberadas ao longo da reação da hidrólise realizada. Aquelas cujas barras ultrapassam a linha vertical ($p\text{-level} = 0,5$) têm influência significativa sobre a variável de resposta com 95% de confiança. É possível visualizar que o efeito da variável principal, a concentração do ácido sulfúrico é significativa para variável de resposta. Quanto maior a concentração de ácido, maior a liberação dos açúcares redutores. A interação entre a concentração do ácido e o tempo da reação teve pouco ou nenhum efeito na liberação dos açúcares totais e açúcares redutores. A variável tempo também não teve influência significativa sobre as variáveis de resposta, porém, o tempo de 30 minutos mostrou resultados similares com o maior tempo de 90 minutos da reação de hidrólise. A interação 1x2 também foi com um nível de significância considerável.

Figura 6. Gráfico de Pareto para as variáveis dependentes.



Fonte: Estatística versão 7.0, 2018.

Na Tabela 11 estão ilustrados os coeficientes de regressão para modelar o planejamento experimental e gerar a equação matemática que representa o modelo. Os coeficientes de regressão relacionam os efeitos da concentração do ácido, o tempo de reação e a interação entre a concentração do ácido e o tempo simultaneamente, para gerar o modelo matemático que representa a reação da liberação de açúcares redutores e açúcares redutores totais na hidrólise ácida.

Tabela 11. Coeficientes de regressão para o planejamento experimental de açúcares redutores.

Fatores	Coeficiente	coef erro.padrão.	-95%	+95%
Média	26,26571	0,170084	25,7244	26,80700
Concentração(1)	3,46250	0,224999	2,74645	4,17855
Temperatura(2)	0,23750	0,224999	-0,47855	0,95355
(1)*(2)	-0,58750	0,224999	-1,30355	0,12855

Fonte: Estatística versão 7.0, 2018

Apartir destes coeficientes de regressão, pode-se obter a Equação do modelo que representa a obtenção dos açúcares redutores em g/L. O R² foi de 0,9879 para o ajuste do modelo. Os fatores importantes pelo planejamento experimental foram as iterações(1), a concentração e interação (1)*(2) como ilustradas na equação 9.

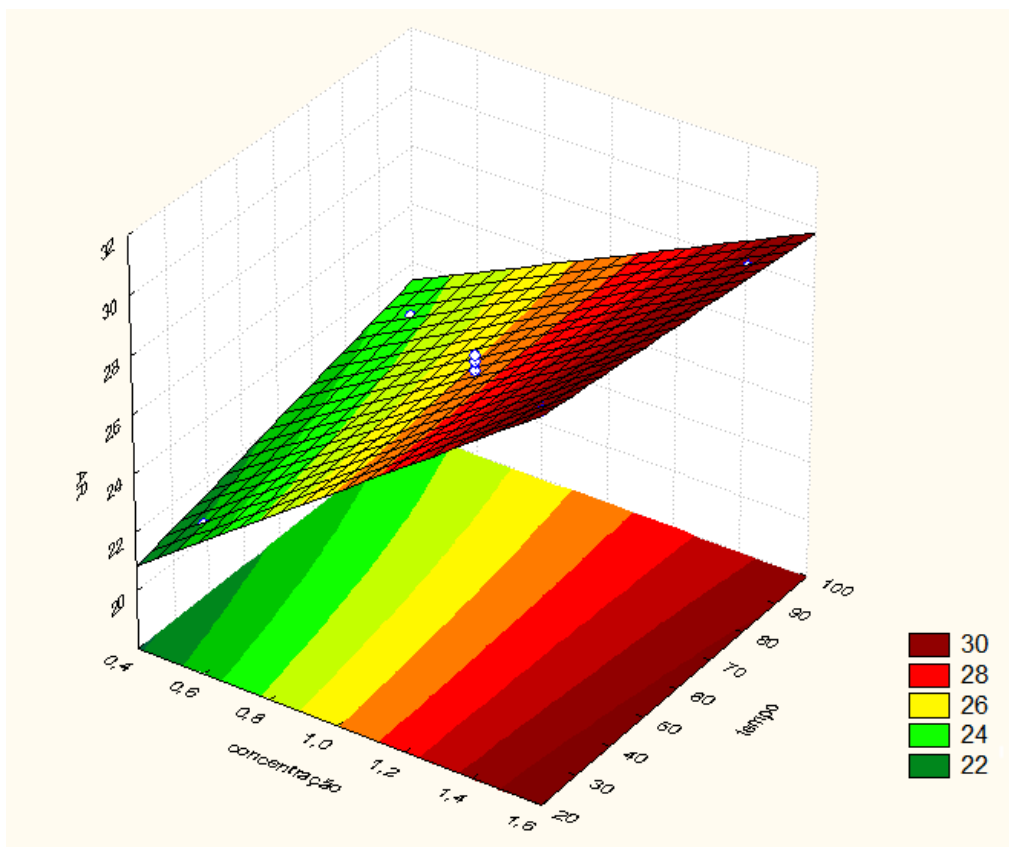
$$\text{Açúcares redutores} = ((26,26 \pm 0,17) + ((3,463 \pm 0,225) * CA) + ((0,237 \pm 0,255) * T)) \dots \dots \dots \text{Equação 9}$$

CA = concentração de ácido;

T = tempo (minutos).

Na liberação de açúcares redutores totais ART na reação da hidrólise ácida (Tabela 6), é possível notar que as melhores respostas foram obtidas na maior concentração do ácido que é de 2 mol/L e 1,5 mol/L, respectivamente, e menor tempo de reação de 30 minutos como ilustrado pelo planejamento experimental, porque não houve aumento significativo de açúcares liberados com tempo de hidrólise de 60 e 90 minutos. A quantidade de açúcares corresponde com os vários valores dos sólidos solúveis suspensos, encontrados na análise do °Brix das amostras hidrolisadas. A superfície é obtida a partir da interação dos efeitos da concentração do ácido e tempo de reação, como ilustrado na Figura 7.

Figura 7. Superfície de resposta para a variável AR (Açúcares redutores).



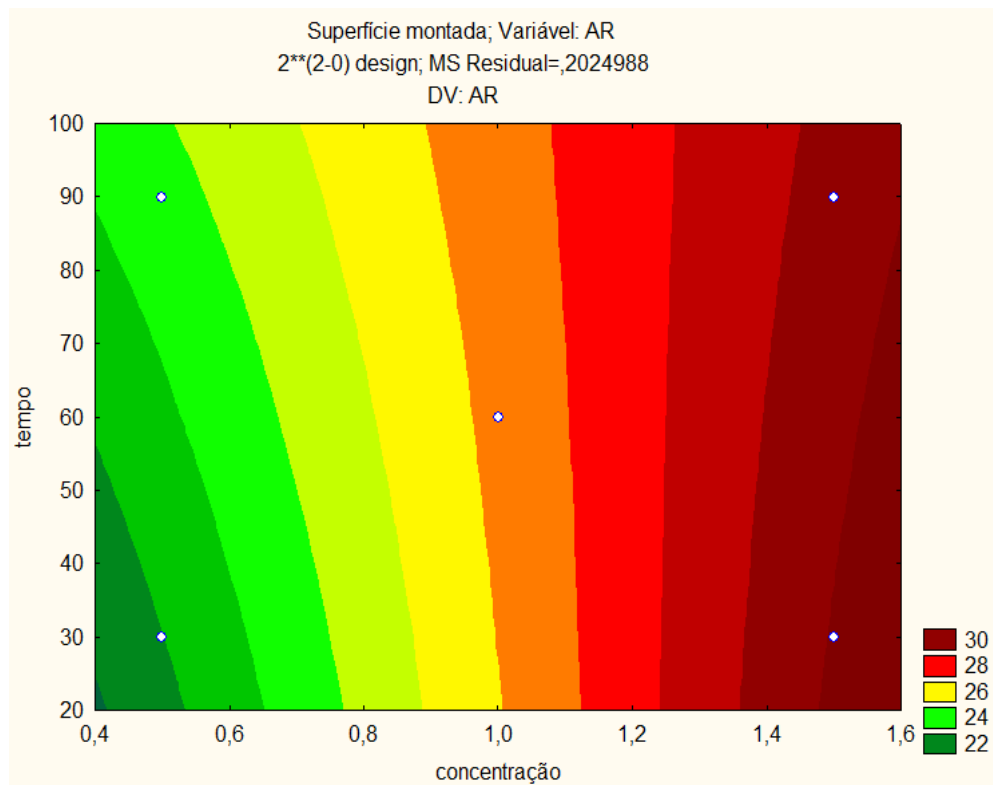
Fonte: Estatística versão 7.0, 2018.

A superfície de resposta para a liberação de açúcares redutores (AR) é representada na Figura 8. De acordo com a superfície obtida, a liberação dos açúcares redutores é influenciada pela concentração do ácido, com efeito as melhores respostas obtidas na menor concentração do ácido e menor tempo de reação.

De acordo com a figura 8, as colorações significam as quantidades de açúcares redutores liberados pela reação da hidrólise. Quanto mais vermelho, maior a quantidade dos açúcares, e quanto mais verde, menor a quantidade dos açúcares liberados. Pode se observar que quanto maior a concentração do ácido utilizado na reação da hidrólise, maior será a quantidade de açúcares liberados, e vice versa. A temperatura do experimento foi mantido a 100°C, portanto não foi analisado o efeito da temperatura na liberação dos açúcares.

Na figura da superfície em 2D, as cores significam a mesma coisa com o gráfico em 3D. O aumento da concentração do ácido utilizado na reação da hidrólise implica um aumento na liberação de açúcares.

Figura 8. Superfície montada em 2D para açúcares redutores



A modelagem desta superfície foi gerada em função da concentração do ácido e tempo da reação. A aproximação do experimento ao modelo do planejamento experimental é apresentado na figura 9.

Figura 9. Previsão do modelo do planejamento experimental



Para o planejamento experimental dos açúcares redutores totais, foram usados os mesmos perímetros de reação, os dois fatores independentes que são tempo e concentração do ácido, o modelo ilustra o efeito destes fatores na reação da hidrólise acida. No diagrama do Pareto, com um nível de confiança 95%, os fatores que passaram a linha vermelha são estaticamente significativos, o único fator com importante na liberação dos açúcares é a concentração do ácido.

Para a analise de ANOVA, o planejamento experimental fatorial de 2^k onde k é o numero de fatores dependentes do experimento, neste caso K=2 mais 3 pontos centrais, foram obtidos os seguintes dados para a analise de variança realizada;

Onde $SQT = SQ_r + SQ_R$, e $R^2 = SQ_R / SQ_T$, para o teste de F, a analise experimental é estatisticamente relevante se e somente se $O F_{cal} > F_{tab}$, onde F_{cal} é o F calculado e F_{tab} é o F tabelado.

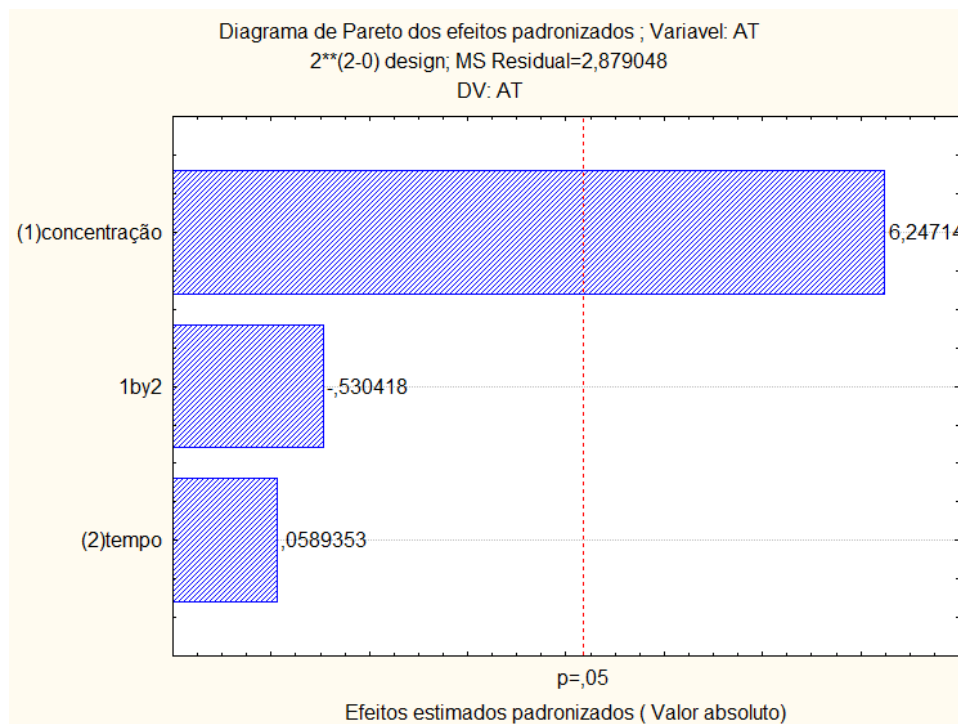
Tabela. ANOVA (ANÁLISE DE VARIANCIA: AR)

Fontes de variação	SQ	GL	QM	Teste F
Regressão	49,5619	(P-1)=3	16,52	F Cal=81,58
Resíduo (erro)	0,60750	(N-P)=3	0,2025	F Tab=9,28
Total	50,1694	(N-1)=6		Grau de liberdade=3
R^2	$SQ_R / SQ_T =$ 0,9880			

SQ= Soma dos quadráticos, GL= Grau de liberdade, QM= Média quadrático.

No diagrama de pareto (figura 10), pode se observar que os fatores indepedentes com maior nivel de significancia ou maior efeito sobre a liberação de açúcares redutores totais foram a concentração do acido, com a quantidade de açúcares redutores totais aumentando com o aumento da concentração do acido utilizado na reação da hidrólise.

Figura 10. Diagrama de Pareto para liberação de açúcares redutores totais



Fonte: Estatística versão 7.0, 2018.

A Tabela 12 evidencia os parâmetros estatísticos completos que representam o modelo matemático do sistema da hidrólise ácida do resíduo líquido da Agave sisalana. Nesta figura, é possível verificar os erros padroes e o R^2 do modelo.

Tabela 12. Parâmetros estatísticos do planejamento de experimentos

Fatores	Coefficiente	erro.coef. padrão	-95%	+95%
Média	31,8571	0,641321	29,8161	33,8981
Concentração(1)	5,3000	0,848388	2,6001	7,9999
Temperatura(2)	0,0500	0,848388	-2,6500	2,7499
(1)*(2)	-0,4500	0,848388	-3,1500	2,2499

Fonte: Estatística versão 7.0, 2018

Apartir destes coeficientes de regressão, pode se obter a equação do modelo que representa a obtenção dos açúcares totais em g/L. Os fatores dependentes da maior importancia

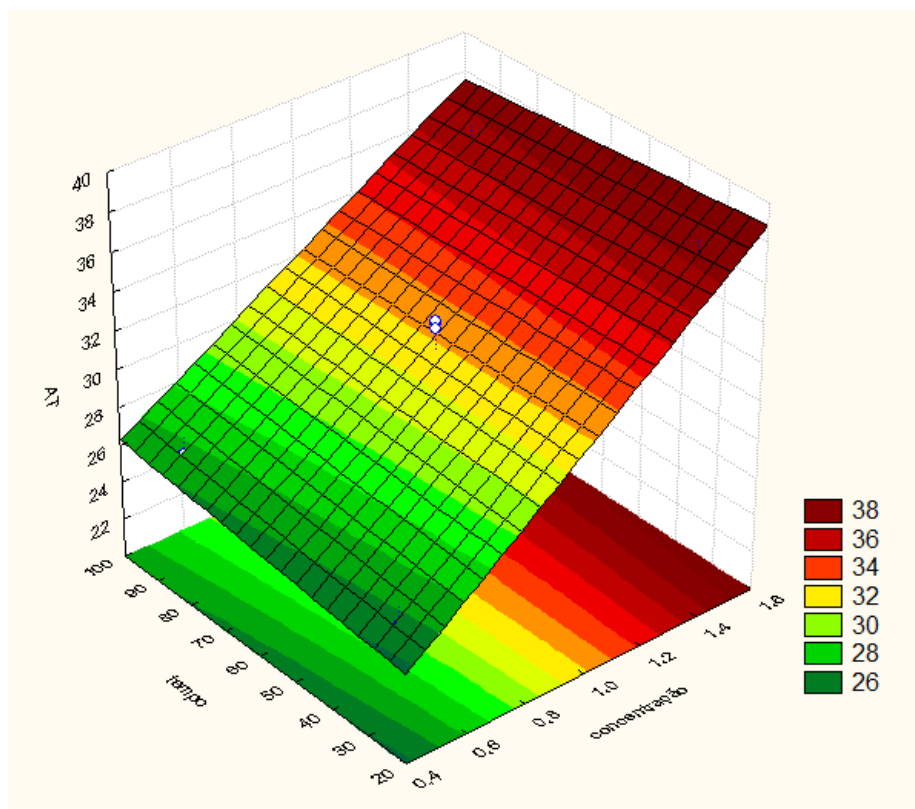
são apenas as iterações e a concentração(1) como ilustrado na equação 10 com R^2 de 0,929. Os valores marcados com estrela(*) são estatisticamente significantes na equação.

$$\text{Açúcares redutores totais} = (31,86 \pm 0,641)^* + ((5,3000 \pm 0,84839)^* \text{CA})^* + ((0,05 \pm 0,848)^* \text{T}) - (0,45 \pm 0,848)^* \text{CA} * \text{T}) \dots \text{Equação 10}$$

Na equação 10, a estimativa dos açúcares totais poderia ser realizada utilizando a soma das médias ponderadas, a soma dos efeitos e seus respectivos erros vezes os fatores dependentes de maior significância. Os fatores com maiores níveis de significância e portanto estatisticamente significantes são marcados com estrela(*) na equação para um destaque melhor.

A Figura 11 ilustra a superfície de resposta para o planejamento experimental para obtenção de açúcares redutores pela reação da hidrólise ácida.

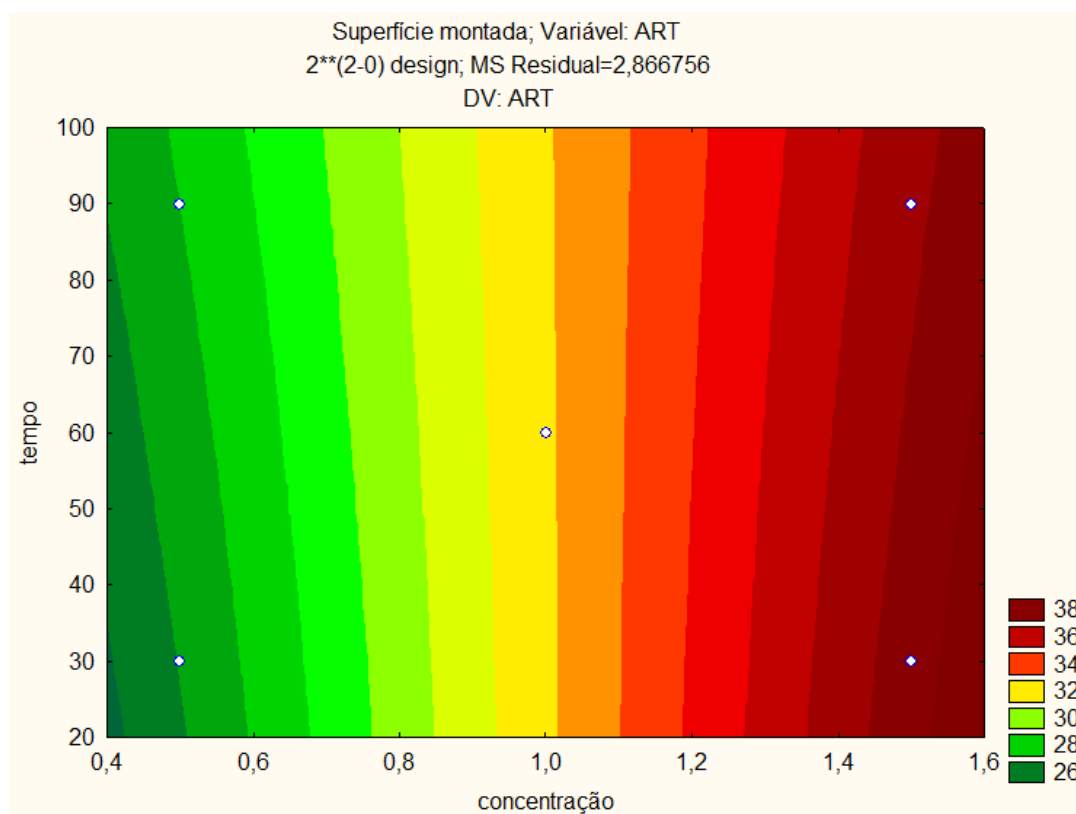
Figura 11. Superfície de resposta para açúcares redutores totais (ART).



A superfície de resposta em 2D para a reação da hidrólise ácida para obtenção de açúcares redutores totais. Pode se observar novamente, que quanto mais vermelho a cor da superfície,

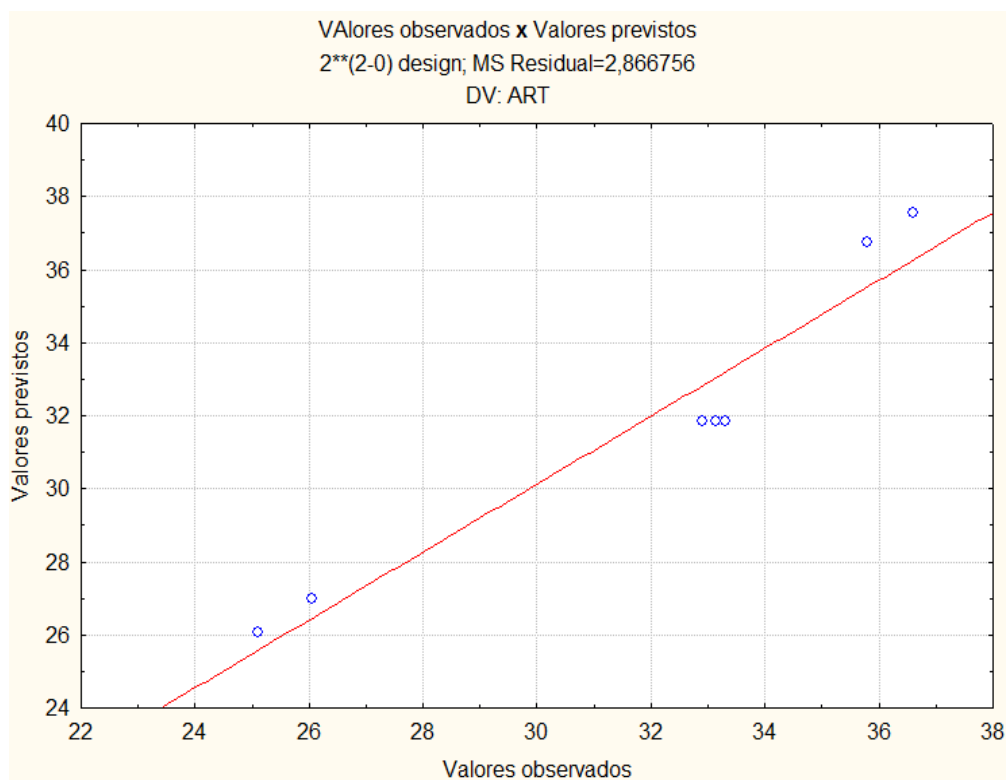
maior será a concentração de açúcares redutores totais liberados pela reação da hidrólise. A concentração do ácido é a variável mais importante como previsto pela superfície da resposta gerada no planejamento experimental. A temperatura da reação foi mantida a 100°C também nesta análise, e o tempo que vario de 30, 60 e 90 minutos mostrou ser insignificativo a reação, então o menor tempo de 30 minutos foi utilizado como padrão para o resto do trabalho.

Figura 12. Superfície de resposta em 2D para açúcares redutores totais



A aproximação do experimento ao modelo do planejamento experimental é apresentado na figura 13.

Figura 13. Valores experimentais observados e sua aproximação ao modelo teórico.



Por fim, Todos os métodos de pré-tratamento mencionados no apêndice apresentam suas vantagens e desvantagens.

Na análise da anova, os seguintes dados foram utilizados para o calculo do teste F para verificar a significância do planejamento experimental realizado para os açucares totais.

Tabela. ANOVA (ANÁLISE DE VARIANCIA: AT)

Fontes de variação	SQ	GL	QM	Teste F
Regressão	113,18	(P-1)=3	37,727	F Cal=13,05
Resíduo (erro)	8,6371	(N-P)=3	2,8790	F Tab=9,28
Total	121,8171	(N-1)=6		Grau de liberdade=3
R ²	SQ _R /SQ _T = 0,9291			

SQ= Soma dos quadrados, GL= Grau de liberdade, QM= Média dos quadrados.

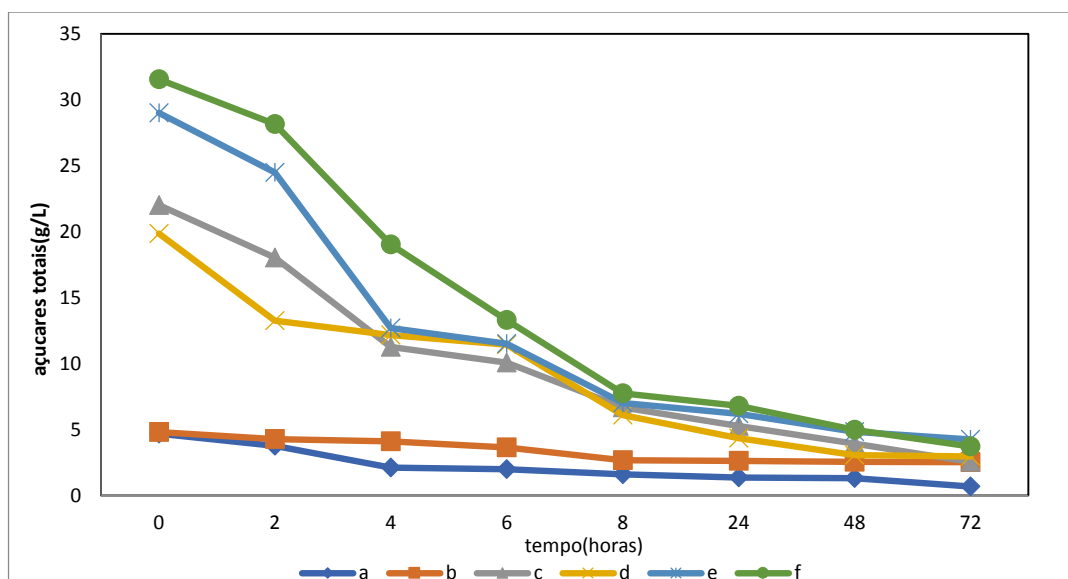
5.-FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

As fermentações dos resíduos (bagaço) foram realizadas da seguinte forma: fermentado in natura(A), fermentado com inoculo hidrolisado e neutralizado com hidróxido de cálcio Ca(OH)_2 (B), sem inoculo neutralizado com hidróxido de sódio NaOH (C), sem inoculo fermentado com adição de melaço de cana de açúcar(D), com inoculo fermentado e tratado com carvão ativado com melaço, hidrolisado neutralizado com hidróxido de cálcio(E) , com adição de melaço com e decantado(F). Em todas as fermentações realizadas, foram realizadas as análises de crescimento de biomassa para poder avaliar a cinética de fermentação e crescimento da biomassa. Os açúcares redutores, sólidos solúveis suspensos (SSS), quantidade dos açúcares e massa celular das amostras foram monitoradas durante o processo de fermentação até 96 horas.

5.1.- Analise de consumo de açúcares no processo fermentativo

Nos ensaios de fermentação realizadas denotadas de A até F, foram observadas as seguintes curvas de consumo de açúcares em relação ao tempo no processo fermentativo realizado. Em todas as fermentações realizadas, o consumo de açúcares ao longo do tempo foi observado em todos os ensaios realizados.

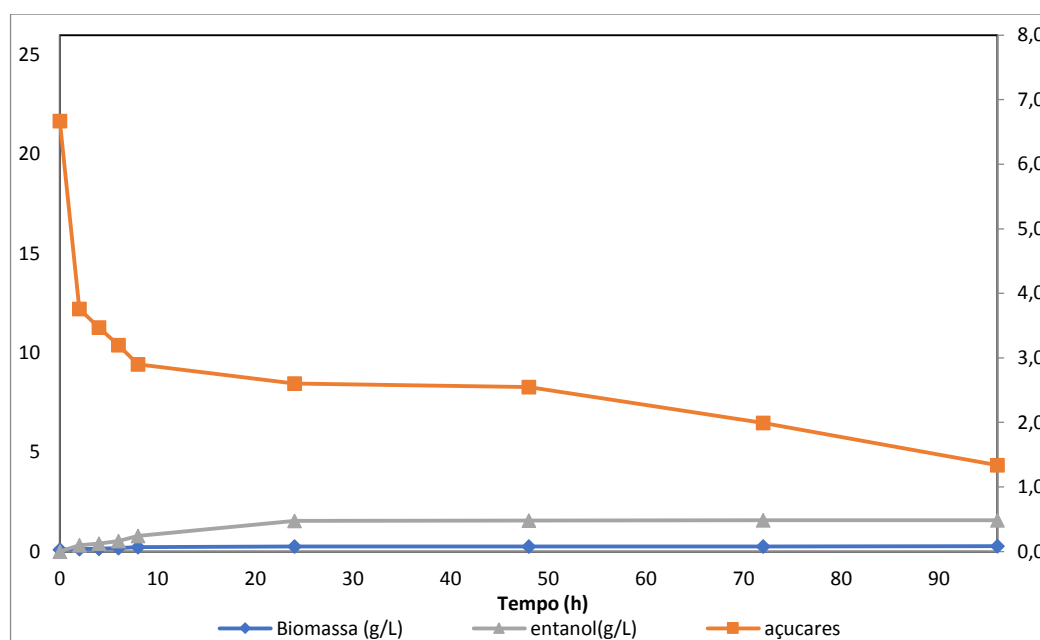
Figura 14. Curva de açúcares totais em relação ao tempo no processo fermentativo



5.1.1. Resíduo de agave fermentado *in-natura* sem hidrólise

O gráfico a seguir ilustra a relação entre o consumo de açúcares, o crescimento das células e produção de bioetanol analisados entre 0 e 96 horas. Pode ser observado que tanto a quantidade de células (biomassa), quanto a quantidade do bioetanol produzido aumentou ao longo do tempo, enquanto a quantidade de açúcares presentes no mosto decresce rapidamente nos primeiros 10 horas do processo. Obteve boa taxa de crescimento celular, $Y_{x/s}$ de 0,034 e $Y_{p/s}$ de 0,2964.

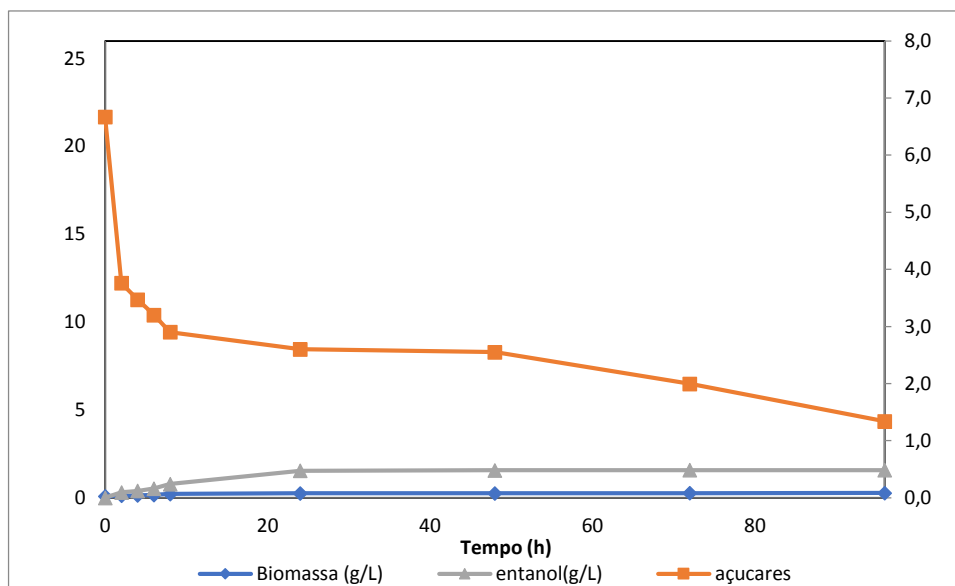
Figura 15. Gráfico da análise do resíduo de agave fermentado *in-natura* neutralizado com Hidróxido de cálcio



5.1.2 - Resíduo fermentado com inóculo neutralizado com Hidróxido de Cálcio

Na fermentação realizada com inóculo da levedura e também com neutralização do hidrolisado utilizando hidróxido de cálcio, O crescimento da biomassa e produção de bioetanol foi evidentes nos primeiros 24 horas do processo fermentativo, enquanto a quantidade de açúcares presentes no mosto decresce ao decorrer da fermentação. Depois de 48h as variáveis do sistema praticamente se mantiveram constante até os 96h do processo fermentativo. Houve um $Y_{p/s}$ (0,3261) menor do que o $Y_{x/s}$ (0,0940), implicando que houve maior rendimento de crescimento celular do que de produto(etanol).

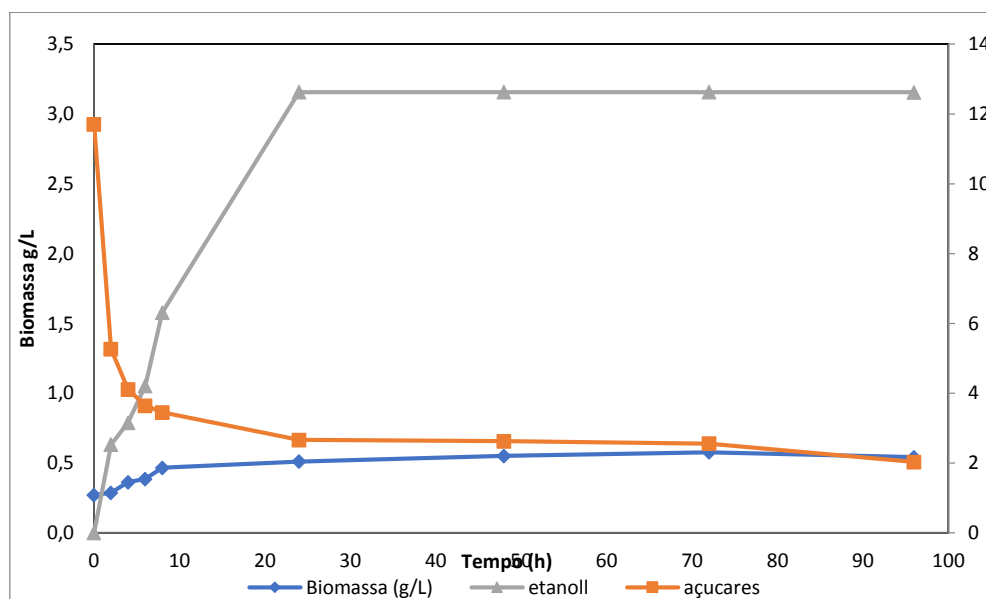
Figura 16. Gráfico da análise do resíduo fermentado com inoculo neutralizado com Hidróxido de sódio.



5.1.3. - Resíduo sem inoculo hidrolisado e neutralizado com hidróxido de sódio

No processo de realização da fermentação na amostra sem inoculo e que foi neutralizado com hidróxido de sódio, houve um rendimento de bioetanol menor que do ensaio anterior, provavelmente devido a não realização de inoculação no inicio da fermentação, dificultando o crescimento da levedura e também a formação de sal de cloreto de sódio que se dissolveu no sistema. Foram obtidos os menores $Y_{p/s}$ de 0,2714 e $Y_{x/s}$ de 0,1320 em todos os ensaios realizados.

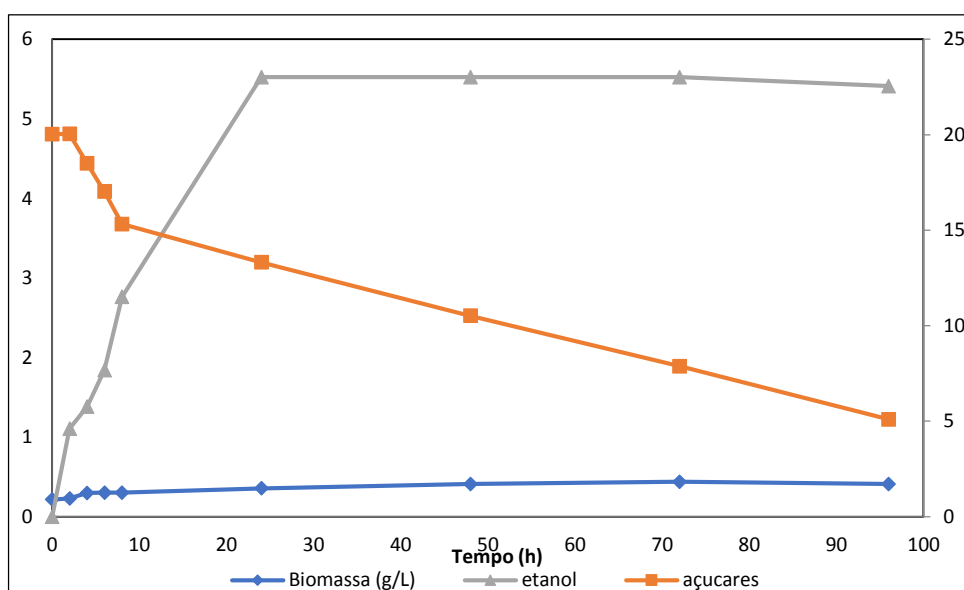
Figura 17. Gráfico da análise do resíduo sem inoculo neutralizado com hidróxido de cálcio



5.1.4 Resíduo sem inóculo fermentado e tratado com carvão ativado sem melaço tratado com Ca(OH)_2

O carvão ativado foi utilizado após o processo de hidrólise com ácido sulfúrico, depois do processo de neutralização com o hidróxido de cálcio, a amostra foi centrifugada a 5000 rpm por 5 minutos para separar o sobrenadante. O carvão ativado serve para remoção de alguns inibidores de fermentação como fufural, HMF e ácido acético (SOLARTE-TORO, J. C et al., 2019). Foram obtidos $Y_{p/s}$ de 0,3691 e $Y_{x/s}$ de 0,1530.

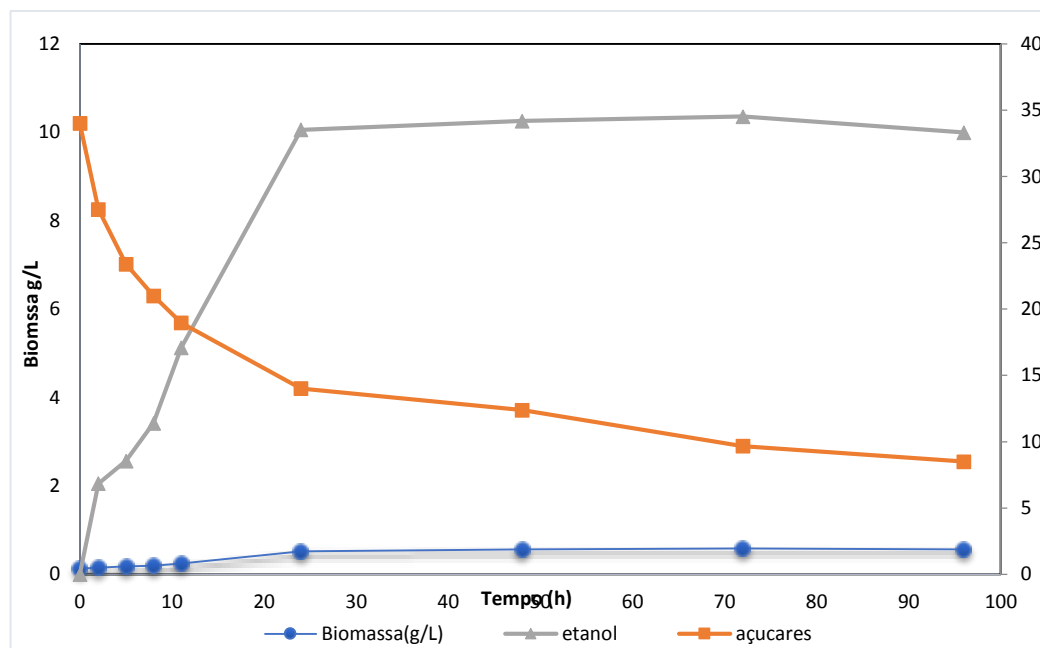
Figura 18. Gráfico da análise do resíduo fermentado e tratado com carvão ativado.



5.1.5 Resíduo fermentado com inóculo e com adição de melaço de cana de açúcar tratado com NaOH

As fermentações realizadas com adição de melaço de cana de açúcar obtiveram as melhores eficiências na conversão de açúcar em bioetanol. Foram obtidos altos valores de $Y_{p/s}$ de 0,3919 e $Y_{x/s}$ de 0,1730, valores maiores quando comparado ao resto dos ensaios anteriores sem melaço.

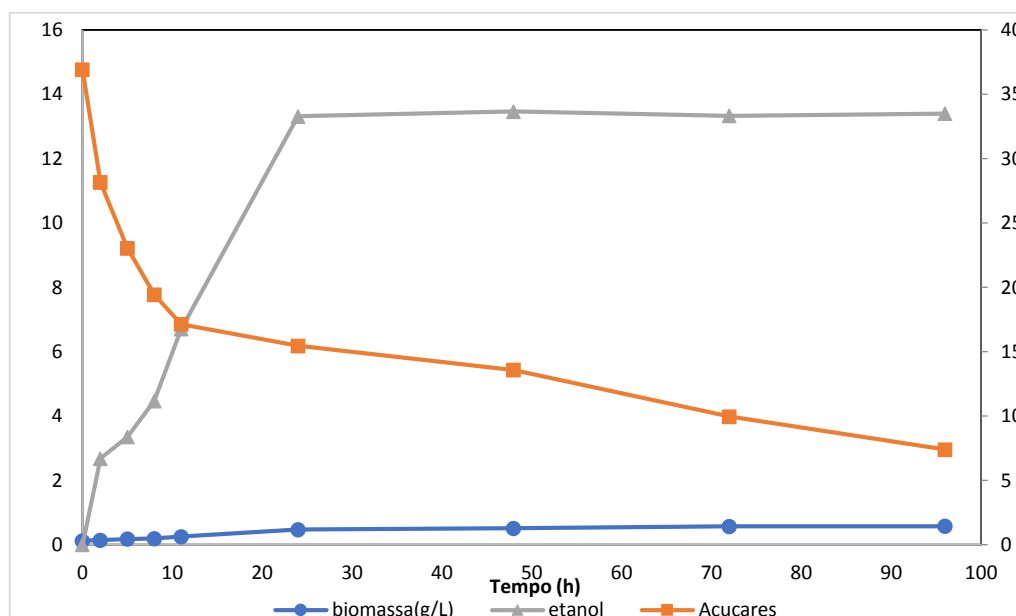
Figura 19. Gráfico da análise do resíduo fermentado com adição de melaço de cana de açúcar e neutralizado com NaOH.



5.1.6 Resíduo fermentado tratado com carvão ativado com melaço neutralizado com $\text{Ca}(\text{OH})_2$

Por fim, a fermentação obtida na amostra que foi neutralizada com hidróxido de cálcio depois da hidrólise ácida tratada com carvão ativado e também adicionado o melaço da cana de açúcar apresentou o melhor desempenho na conversão de açúcares e na produção de bioetanol entre todos os ensaios realizados. Foram obtidos $Y_{p/s}$ de 0,4543 e $Y_{x/s}$ de 0,1940.

Figura 20. Gráfico da análise resíduo fermentado tratado com carvão ativado com melaço

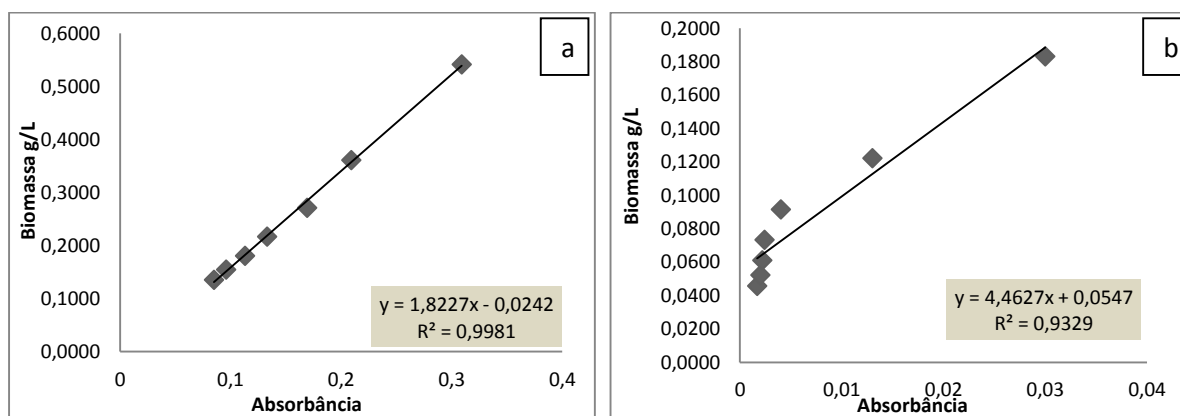


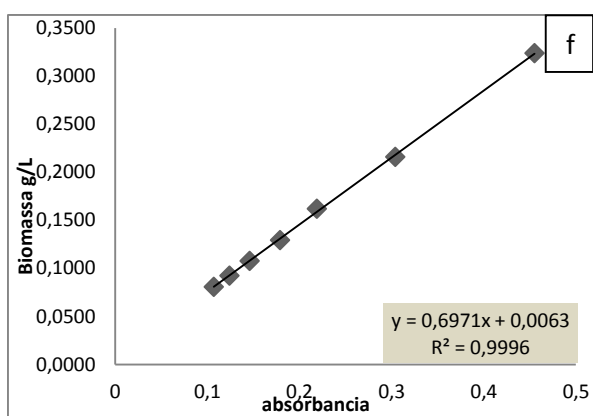
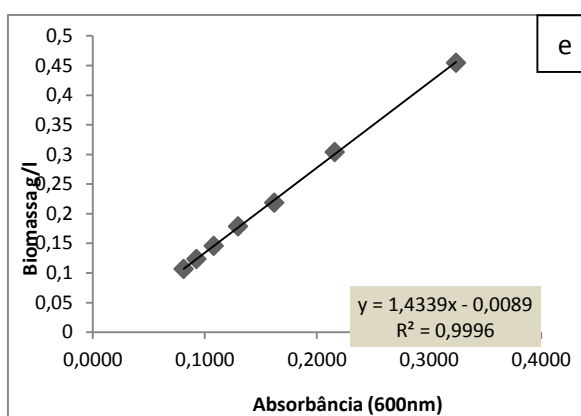
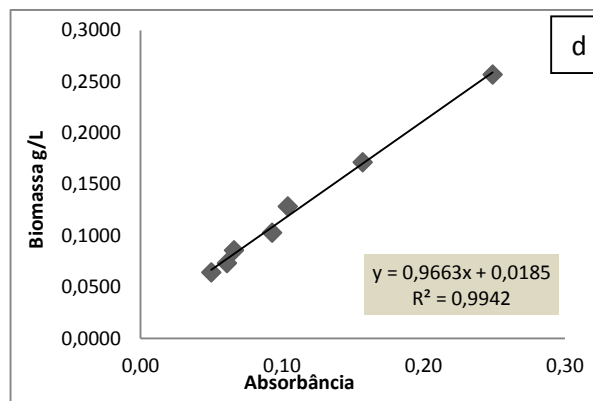
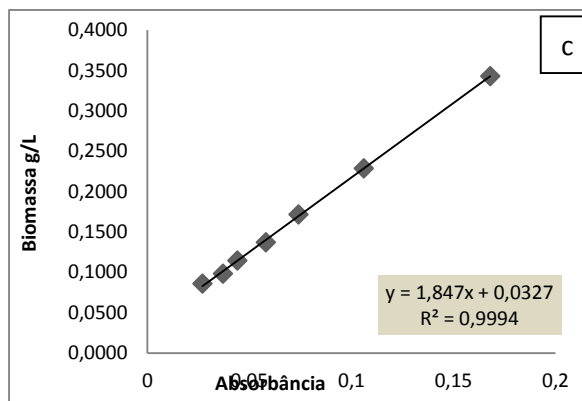
7. -CINÉTICA DO PROCESSO FERMENTATIVO

A cinética de fermentação foi realizada a partir do crescimento da biomassa observado ao longo do processo fermentativo. Neste processo, foram analisadas a absorbância, teor de sólidos solúveis suspensos (SSS), açúcares totais e crescimento da biomassa, 2 mL de cada amostra foi retirado a cada duas horas, centrifugada e o sobrenadante guardado na geladeira para estas análises. Depois de retirar na décima hora, as alíquotas foram retiradas a cada 12 horas até chegar às 72 horas do processo fermentativo. Para realizar a retirada das alíquotas, a amostra que foi submetida ao processo fermentativo no shaker foi retirada para uma capela previamente desinfetada com luz ultravioleta por 5 a 10 minutos e higienizada com álcool etílico. As ponteiras, previamente esterilizadas em autoclave a 200°C e 1psi por 30 minutos. A curva da calibração para quantificar e avaliar o crescimento da biomassa presente na amostra foi traçada utilizando 7 diluições realizadas no final do tempo de fermentação para cada amostra fermentada. Fez-se as diluições na seguinte ordem: 1:50, 1:75, 1:100, 1:125, 1:150, 1:175 e 1:200. 1mL da amostra foi diluída em água destilada nas quantidades ilustradas.

Gráfico de curva de calibração de quantificação de biomassa para os seis ensaios de fermentação realizados. O comportamento de todas as curvas de ensaio de cinética de crescimento da biomassa possui uma curva com comportamento linear porque foram analisadas a base de quantidade de biomassa presente no final do processo fermentativo, com os pontos representando as diluições realizadas.

Figura 21. Curva de calibração para todos os ensaios de cinética de crescimento da biomassa.





O grafico ilustrando o crescimento da biomassa foi obtido pela quantificação da biomassa realizada a cada 2 horas ate obter 5 pontos, a partir desse ponto, a retirada de 2ml da amostra do processo fermentativo é realizada a cada 24 horas ate chegar 72 horas. A sequencia dos graficos representam as seguintes configurações para o processo fermentativo; resíduo do agave fermentado in-natura sem tratamento(a), amostra hidrolisado e fermentado com inoculo(b), amostra hidrolisado, neutralizado com hidróxido de cálcio(c), amostra hidrolisado e tratado com carvão ativado(d), amostra não hidrolisado fermentado com adição de melaço(e) e por fim amostra hidrolisado, com inoculo, tratado com carvão ativado e com adição de melaço(f).

Em todos os cenários do processo fermentativo, inicialmente houve um crescimento com perfil linear nas primeiras 24 horas do processo fermentativo, com exceção dos ensaios (C) e (F). No final do processo, houve uma diminuição notável nos ensaios (D) e (F) na quantidade de biomassa presente nas amostras fermentadas. Esse comportamento de crescimento inicial da biomassa é uma característica da levedura no início do processo fermentativo, na fase *lag*, houve a iniciação do um crescimento mais gradual até a fase log, e na fase de declino, um declino na quantidade de biomassa como notado por (ZABED et al., 2016).

A Tabela 13 ilustra os teores de álcool em °GL, de todos os ensaios de fermentação e destilação realizados. As quantidades de etanol em g/L foram calculados também, a partir destes dados, foi possível realizar os cálculos da produtividade e rendimento da fermentação através das equações 4,5,6,7 e 8.

Tabela 13. Perímetros para cálculo da eficiência da fermentação.

Experimento	Teor alcoólico (°GL)	Massa celular Final (g/l)	Açúcares redutores totais consumidos
A	0,2	14	5,33
B	0,4	5	9,675
C	0,7	8	19,94
D	0,9	6	18,96
E	1,3	17	25,51
F	1,7	17	29,5

Considerando que a densidade de etanol corresponde a 0,789kg/m³

A tabela a seguir ilustra a produtividade e a eficiência da fermentação em termos de conversão dos açúcares totais no meio fermentativo.

Tabela 14. Produtividade e rendimento das fermentações.

Ensaio	°GL	Etanol (g/L)	Produtividade (g/Lh)	Rendimento (%)	$Y_{p/s}$	$Y_{x/s}$
a	0,2	1,58	0,07	57,94	0,2964	0,034
b	0,4	3,16	0,13	63,84	0,3261	0,094
c	0,7	5,52	0,23	54,20	0,2714	0,132
d	0,9	7,10	0,30	73,29	0,3691	0,153
e	1,3	10,26	0,43	78,68	0,3919	0,173
f	1,7	13,41	0,56	88,98	0,4543	0,194

As produtividades dos ensaios de fermentação demonstraram que todas as amostras que passaram pelo processo de fermentação e renderam entre 0,07 a 0,56g/Lh e quantidade de 57% a 88% de rendimento de fermentação, as altas produções foram obtidas devido à aplicação da hidrólise ácida que aumentou a quantidade de açúcares redutores, este explica a razão pelo qual foram obtidos baixos rendimentos no ensaio A, que não passou pelo processo da hidrólise ácida. Gomez F, também afirmou que a etapa da hidrólise ácida é fundamental para quebra da celulose, hemicelulose e lignina em açúcares que poderiam ser fermentados pela levedura que aumenta a eficiência da fermentação. (FLORES-GÓMEZ et al., 2018).

Para os ensaios de fermentação das amostras que foram neutralizados com hidróxido de sódio após o processo da hidrólise, houve conversões menores dos açúcares em etanol provavelmente devido a presença de sais de sódio $NaCl_{(s)}$, formados durante o processo de neutralização do ácido $HCl_{(aq)}$. O sal de sódio encontrado em maiores concentrações de até 2M inibiu a atividade da levedura e diminuiu o rendimento de etanol no final da reação da fermentação, enquanto os ensaios de fermentação de amostras hidrolisados com ácido clorídrico e neutralizados com hidróxido de cálcio (amostra D e F) tiveram rendimentos melhores do que das amostras neutralizados com $NaOH_{(aq)}$ porque os sais de cálcio se precipitaram e foram retiradas por centrifugação. Este fenômeno poderia ser explicado pelo fato de que o hidróxido de cálcio quando reage com o ácido sulfúrico precipita o sal $CaCl_2$, enquanto na reação de $HCl_{(l)}$ com $NaOH_{(aq)}$, o sal formado dissolve na própria solução do hidrolisado, dificultando a retirada deste sal, que consequentemente atrapalha a reação da fermentação. Rijal afirmaram

que concentrações de sal acima de 1M já começa a trazer efeitos negativos no processo fermentativo (RIJAL et al., 2016).

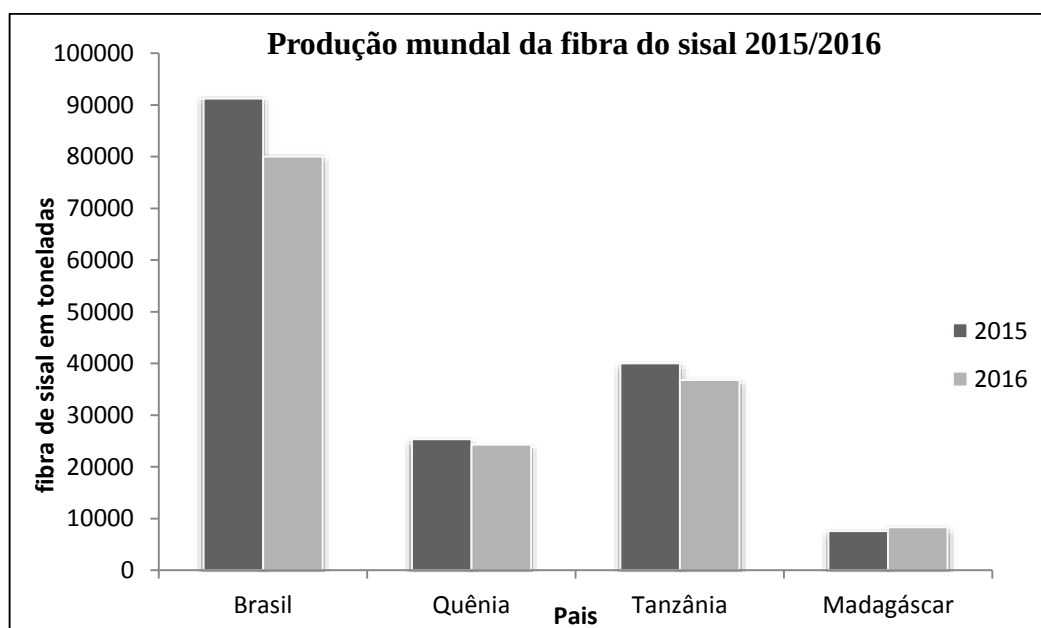
Nos ensaios de fermentação E e F, os rendimentos de etanol foram os melhores porque houve a adição de melaço da cana de açúcar. Essa adição de melaço foi feita para comparar o rendimento dos ensaios do hidrolisado sem melaço e com melaço, a quantidade de melaço foi ajustada para simular mosto de cana de açúcar, assim criando as condições de mosto da indústria de produção de etanol a partir da cana de açúcar.

O rendimento da hidrólise e rendimento da fermentação do resíduo de Agave sisalana foi de 50% para conversão da celulose, hemicelulose e lignina em açúcares redutores, e 80% para a conversão dos açúcares em bioetanol pelo processo fermentativo, esses valores são aceitáveis, visto que na indústria sucroalcooleira a média do teor alcoólico é de 3 a 5°GL para o bagaço da cana de açúcar enquanto no ensaio hidrólise e fermentação do resíduo de agave realizado, foi obtido um °GL de 1,7.

7. Estimativa da Produção de Etanol a partir do Resíduo de Agave

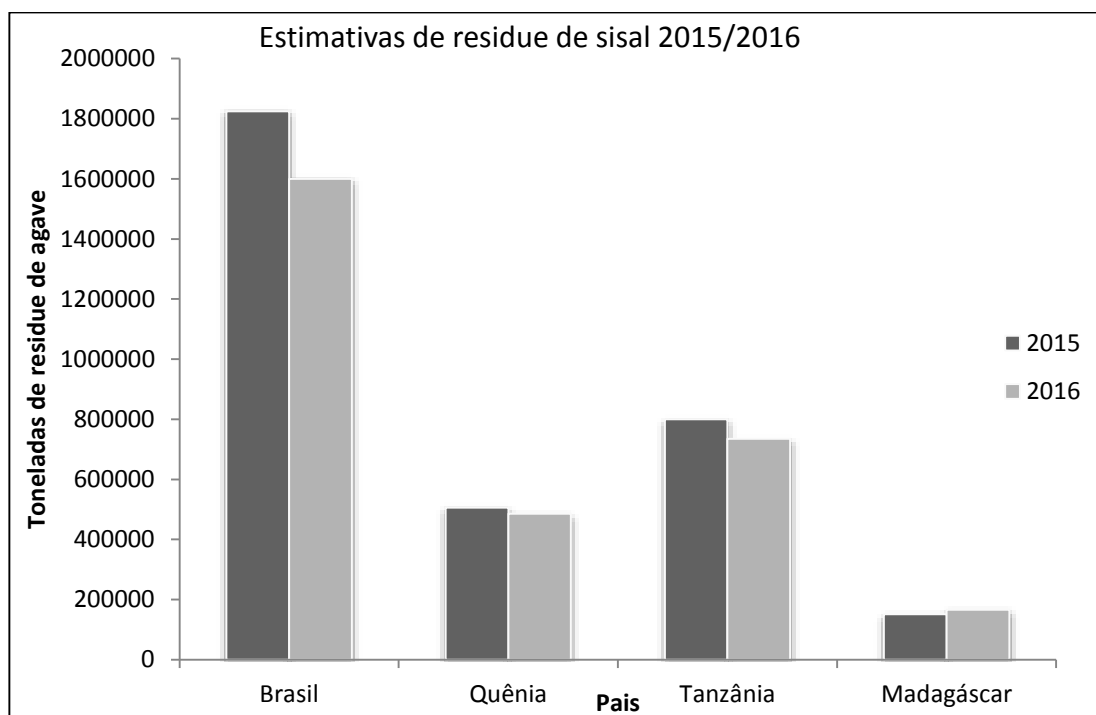
Segundo a Organização de Alimentação e Agricultura das Nações Unidas, o Brasil é o principal produtor mundial do sisal, seguido pela Tanzânia, Quênia e Madagascar, respectivamente (ADVANCED ETHANOL COUNCIL, 2013). A produção total de fibra de sisal de 2015 e 2016 é de aproximadamente 160.000 e 150.000 toneladas de sisal *in natura* (ÁVILA-LARA et al., 2015). Na Figura 23 está ilustrada uma estimativa da produção mundial total de fibra de sisal de acordo com os países que mais produzem.

Figura 22. Produção mundial de fibra de sisal para 2015 e 2016.



Os resíduos sólidos e líquidos totais foram calculados com base no pressuposto de que o sisal tem em média 5% do conteúdo total de fibras, o restante é composto de material lignocelulósico elevado e resíduos líquidos (CORBIN et al., 2015; MARTÍNEZ-TORRES et al., 2011). Na Figura 24 está ilustrada uma estimativa dos resíduos sólidos e líquidos que foram gerados em 2015 e 2016.

Figura 23. Estimativa dos resíduos de sisal 2015 e 2016.

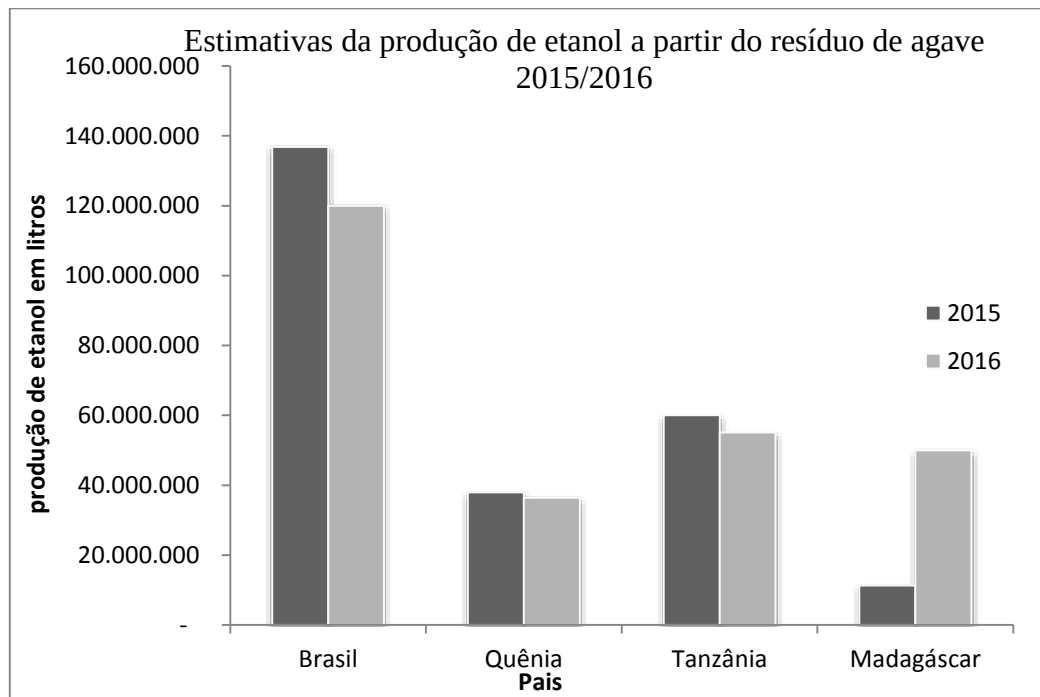


Estimando 5% de sisal como fibra, 95% é o resíduo que pode ser pré-tratado e potencialmente convertido em açúcares redutores simples e consequentemente fermentado para produzir bioetanol (DAVIS, LEBAUER e LONG, 2014). Observou-se que um total estimado de 6.267.980 toneladas de resíduos de sisal foi gerado apenas em 2015 e 2016. Desta quantidade, a estimativa total de bioetanol para esses dois anos foi calculada.

Por fim, a produção estimada de etanol a partir desses resíduos foi calculada com base no pressuposto de que 75 litros de bioetanol podem ser gerados a partir de uma tonelada de resíduo de sisal, quando adequadamente tratados como proposto por Corbin et al., 2015.

Na Figura 25 estão ilustradas estimativas de etanol calculadas a partir do resíduo total do sisal, assumindo que para cada tonelada de resíduo, 75 litros de etanol podem ser processados a partir dele após o pré-tratamento adequado.

Figura 22. Produção estimada de bioetanol a partir do resíduo de sisal.



Fonte: THOMAS. H, Y., 2018

Uma quantidade teórica estimada em aproximadamente 261,470,016 milhões de litros de bioetanol, poderia ter sido gerada a partir desse resíduo se fosse propriedade coletada em 2015 e somente 2016, tratada e transformada em açúcares fermentáveis que podem ser fermentados em bioetanol. A estimativa realizada nesta pesquisa baseou-se na média dos monossacarídeos e polissacarídeos totais presentes no resíduo sisal, conforme demonstrado pelos diversos autores citados nesta pesquisa.

8. CONCLUSÃO

A utilização do resíduo de sisal para a produção de bioetanol evidenciou ser viável, uma vez que esses resíduos gerados são adequadamente coletados e convertidos em bioetanol como ilustrado pela análise econômica. Os vários métodos de pré-tratamento analisados nesta pesquisa provaram melhorar o teor geral de açúcar disponível para a fermentação. O resíduo líquido do Agave sisalana apresentou uma quantidade significativa de açúcares, porém a hidrólise ácida foi necessária para obter maior quantidade de açúcar e converter a celulose presente em açúcar redutor. A hidrólise ácida aumentou a quantidade de açúcares redutores e açúcares redutores totais após a reação. Foi possível aperfeiçoar a concentração e tempo ideal da reação para obter a maior quantidade de açúcares redutores totais e redutores, pela realização do planejamento experimental.

A hidrólise ácida aumenta a acidez do hidrolisado, sendo necessário ajustar o pH do sistema antes de iniciar o processo de fermentação para obter bioetanol nas condições ideais de fermentação. A etapa da hidrólise ácida demonstrou eficácia para a obtenção dos açúcares redutores. Também demonstrou ser eficiente para aumentar a quantidade de açúcares fermentáveis no meio reacional, porém o sistema precisará ser neutralizado para poder iniciar o processo de fermentação.

No processo fermentativo, a utilização de diferentes agentes de neutralização mostraram resultados diferentes, com o hidróxido de cálcio como a melhor opção para reação de neutralização do ácido utilizado na etapa da hidrólise da amostra. O hidróxido de sódio quando usado gera sais que interferem no processo fermentativo negativamente.

No ensaio de fermentação realizado, foram obtidas eficiências diferentes de acordo com o método da neutralização da solução hidrolisada, também as amostras com adição de melaço obviamente tiveram melhores conversões devido à maior quantidade de açúcares presentes.

10. TRABALHOS FUTUROS

Esta pesquisa realizou várias análises sobre a utilização dos resíduos de agave sisalana para produção de bioetanol, a partir do poder calorífico e metodologia de hidrólise ácida, futuros trabalhos como utilização do bagaço do sisal para obtenção de briquetes, já que possui um alto poder calorífico, a hidrólise enzimática do sisal poderia ser estudada mais profundamente, analisando a extração mais eficiente dos açúcares. Poderiam ser estudados também outros tipos de leveduras para aumentar a eficiência do processo fermentativo.

11. REFERÊNCIAS

ADVANCED ETHANOL COUNCIL. Cellulosic Biofuels: Industry Progress Report 2012-2013. **Annual review of plant biology**, p. 19, 2013.

ALDERÓN, G. U. U. R. chemical and morphological characterization of agave angustifolia bagasse fibers martin. v. 93, n. 4, p. 807–817, 2015.

ANA K.DE SOUZA ABUD; CARLOS E.DE FARIAS SILVA. Bioethanol in Brazil: Status, Challenges and Perspectives to Improve the Production. Bioethanol Production from Food Crops. **Sustainable Sources, Interventions, and Challenges**, Chapter 21, Pages 417-443, 2019.

ANDREIKOSTIN; DIOGO H.MACOWSKI; JULIANA M.T.A.PIETROBELLI; GONZALOGUILLÉN-GOSÁLBEZ; LAUREANOJIMÉNEZ; MAURO A.S.S.RAVAGNANI; Optimization-based approach for maximizing profitability of bioethanol supply chain in Brazil. **Computers & Chemical Engineering**. Volume 115, Pages 121-132, 2018.

ANGELA LUIZA ASTOLFI; ALAN REMPEL; VÍTOR AUGUSTO FARINA CAVANHI; MAYCON ALVES; KRICELLE MOSQUERA DEAMICI; LUCIANE MARIA COLLA; JORGE ALBERTO VIERA COSTA; Simultaneous saccharification and fermentation of Spirulina sp. and corn starch for the production of bioethanol and obtaining biopeptides with high antioxidant activity. **Bioresource Technology**. Volume 301, 122698, 2020.

ÁVILA-LARA, A. I. et al. Optimization of Alkaline and Dilute Acid Pretreatment of Agave Bagasse by Response Surface Methodology. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 3, 2015.

BAMIDELE VICTOR AYODELEA; MAY ALI ALSAFFARB SITI INDATI MUSTAPA. An overview of integration opportunities for sustainable bioethanol production from first- and second-generation sugar-based feedstocks. **Journal of Cleaner Production**. Volume 245, 118857, 2020.

BARBANERA, M. et al. Optimization of bioethanol production from steam exploded hornbeam wood (*Ostrya carpinifolia*) by enzymatic hydrolysis. **Renewable Energy**, v. 124, p. 136–143, 2018.

BELTRÁN, C. D. J. A. G. El agave y sus productos. **Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos**, v. 7, n. 2, p. 53–61, 2013.

CAMPOS, A. DEA; Efeito do tratamento das fibras nas propriedades do biocompósito de amido termoplástico/policaprolactona/sisal. **Polímeros**, v. 21, n. 3, p. 217–222, 2011.

CLÁUDIA AMORIM, SARA C. SILVÉRIO, KRISTALA L. J. PRATHER, LÍGIA R. RODRIGUES; From lignocellulosic residues to market: Production and commercial potential of xylooligosaccharides. **Biotechnology Advances**. Volume 37, Issue 7, 107397, 2019.

KENDALL R. CORBIN, CAITLIN S. BYRT, STEFAN BAUER, SETH DEBOLT, DON CHAMBERS, JOSEPH A. M. HOLTUM, GHAZWAN KAREM, MARILYN HENDERSON, JELLE LAHNSTEIN, CHERIE T. BEAHAN, ANTONY BACIC, GEOFFREY B. FINCHER, NATALIE S. BETTS, RACHEL A. BURTON; Prospecting for Energy-Rich Renewable Raw Materials: Sorghum Stem Case Study. *PLoS ONE* 11(5): e0156638. doi:10.1371/journal.pone.0156638, 2016.

EMELI LALESCA APARECIDA DA GUARDA; RENATA MANSUELO ALVES DOMINGOS, STEFANY HOFFMANN MARTINS JORGE; LUCIANE CLEONICE DURANTE; JOÃO CARLOS MACHADO SANCHES; MARLON LEÃO; IVAN JULIO APOLÔNIO CALLEJAS. The influence of climate change on renewable energy systems designed to achieve zero energy buildings in the present: **A case study in the Brazilian Savannah. Sustainable Cities and Society**. Volume 52, 101843, 2020.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA ENERGÉTICA, I. DE P. **Balanço Energético Nacional, Empresa de Pesquisa Energética**. [s.l: s.n.]. Disponível em: https://ben.epe.gov.br/downloads/Relatorio_Final_BEN_2017.

MARTIN HIDALGO-REYES, MAGDALENO CABALLERO-CABALLERO, LUIS HÉCTOR HERNÁNDEZ-GÓMEZ, GUILLERMO URRIOLAGOITIA-CALDERÓN. Chemical and morphological characterization of Agave angustifolia bagasse fibers. **Bioresource Technology**, v. 113, n. 1, p. 107–115, 2013.

DANG P. HO, HUU HAO NGO, WENSHAN GUO. A mini review on renewable sources for biofuel. **Bioresource Technology**, doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.022, v. 169, p. 742–749, 2014.

CARLOS HUITRÓN ROSALBA PÉREZ LUÍS GUTIÉRREZ PATRICIA LAPPE PAVEL

PETROSYANJESÚS VILLEGASCECILIA AGUILARLETICIA ROCHA-ZAVALETAABEL BLANCA; Bioconversion of Agave tequilana fructans by exo-inulinases from indigenous *Aspergillus niger* CH-A-2010 enhances ethanol production from raw Agave tequilana juice. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 40, n. 1, p. 123–132, 2013.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. Cenários de oferta de etanol e etanol e etanol e etanol e demanda otto.**Empresa de pesquisa energética(EPE)**, 2018.

JHUMA SADHUKHAN, ELIAS MARTINEZ-HERNANDEZ, MYRIAM A. AMEZCUA-ALLIERI, JORGE ABURTO, J. AMADOR HONORATO S; Economic and environmental impact evaluation of various biomass feedstock for bioethanol production and correlations to lignocellulosic composition. **Bioresource Technology Reports**, Volume 7, Article 100230, 2019.

LIQUNG JIANG, ANQIN ZHENG, ZENGLI ZǎO, FANG FE. The comparison of obtaining fermentable sugars from cellulose by enzymatic hydrolysis and fast pyrolysis. **Bioresource Technology**, p. 2013–2016, 2015.

JEANETH T. CORREDOR GONZÁLEZ, ALDO J. PINHEIRO DILLON, ALY R. PÉREZ-PÉREZ, R. FONTANA, CARLOS PÉREZ BERGMANN; Enzymatic Surface Modification of Sisal Fibers (*Agave sisalana*) by *Penicillium Echinulatum* Cellulases, **DOI 10.1007/s12221-015-4705-3, vol 1, pg 1-9**,2015.

JOANNA MAĆZYŃSKA; MAŁGORZATA KRZYWONOSB; Production and use of biofuels for transport in Poland and Brazil . **The case of bioethanol. Fuel**, Volume 241, Pages 989-996, 2019.

JONAS PAULINO DE SOUZA; CLEITONDIAS DO PRADO; ELIS C.A.ELEUTHERIO; DIEGOBONATTO; IRANMALAVAZI; ANDERSONFERREIRA DA CUNHA. Improvement of Brazilian bioethanol production – Challenges and perspectives on the identification and genetic modification of new strains of *Saccharomyces cerevisiae* yeasts isolated during ethanol process. **Fungal Biology**. Vol 122, Pg, 583-591,2018.

JUAN CAMILO SOLARTE-TORO, JUAN MIGUEL ROMERO-GARCÍA, JUAN CARLOS MARTÍNEZ-PATIÑO, ENCARNACIÓN RUIZ-RAMOS, CARLOS ARIEL CARDONA-

ALZATE. Acid pretreatment of lignocellulosic biomass for energy vectors production: A review focused on operational conditions and techno-economic assessment for bioethanol production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Volume 107, p. 587-601, 2019.

KRISTENSEN, J. B.; FELBY, C.; JØRGENSEN, H. Biotechnology for Biofuels Yield-determining factors in high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose. **Biotechnology for Biofuel**, v. 10, p. 1–10, 2009.

KRITTIRASH YORSENG; SANJAY MAVINKERE RANGAPPA; HARIKRISHNAN PULIKKALPARAMBIL; SUCHART SIENGCHIN; JYOTISHKUMAR PARAMESWARANPILLAI. Accelerated weathering studies of kenaf/sisal fiber fabric reinforced fully biobased hybrid bioepoxy composites for semi-structural applications: Morphology, thermo-mechanical, water absorption behavior and surface hydrophobicity. **Construction and Building Materials**. Volume 235, 117464, 2020.

LI TAN; HONGYIGAO; RADOELIZO S. ANDRIAMITANTSO; BIN-TAO HU. Facial fabrication of hierarchical 3D Sisal-like CuO/ZnO nanocomposite and its catalytic properties. *Chemical Physics Letters*. Volume 708, Pages 77-80, 2018.

LÓPEZ-ALVAREZ, A. Ethanol yield and volatile compound content in fermentation of agave must by *Kluyveromyces marxianus* UMPe-1 comparing with *Saccharomyces cerevisiae* baker's yeast used in tequila production. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 113, n. 5, p. 614–618, 2012.

M.D KLERK; M.KAYONDO; G.M.MOELICH; W.I.DE VILLIERS; R.COMBRINCK; W.P.BOSHOF. Durability of chemically modified sisal fibre in cement-based composites. **Construction and Building Materials**. Volume 241, 117835, 2020.

MAHZABIN, Q. A combined fermentation and ethanol-assisted liquefaction process to produce biofuel from *Nannochloropsis* sp . **Fuel**, v. 238, n. August 2018, p. 159–165, 2019.

MAITAN-ALFENAS, G. P.; VISSER, E. M.; GUIMARÃES, V. RIA M. Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: Converting food waste in valuable products. **Current Opinion in Food Science**, v. 1, n. 1, 2015.

MANISH RAM; ARMAN AGHAHOSSEINI; CHRISTIAN BREYER. Job creation during the global energy transition towards 100% renewable power system by 2050. **Technological Forecasting and Social Change**. Volume 151, 119682, 2020.

MANJU TOOR, SMITA S. KUMAR, SANDEEP K. MALYAN, NARSI R. BISHNOI, ARIVALAGAN PUGAZHENDHI. An overview on bioethanol production from lignocellulosic feedstocks. *Chemosphere*, Volume 242, Article 125080, 2020.

MARTÍNEZ-TORRES, J. Ethanol production from two varieties of henequen (*Agave fourcroydes* Lem). **GCB Bioenergy**, v. 3, n. 1, p. 37–42, 2011.

MEDINA-MORALES, M. A. et al. Study of enzymatic saccharification of Agave leaves biomass to yield fermentable sugars. **3 Biotech**, v. 7, n. 1, 2017.

MICHEL-CUELLO, C. et al. Study of Enzymatic Hydrolysis of Fructans from *Agave salmiana* Characterization and Kinetic Assessment. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 1–10, 2012.

MIELENZ, J. R. et al. Development of Agave as a dedicated biomass source: Production of biofuels from whole plants. **Biotechnology for Biofuels**, v. 8, n. 1, p. 1–13, 2015.

MOHAPATRA, S. et al. Application of pretreatment , fermentation and molecular techniques for enhancing bioethanol production from grass biomass – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 78, n. March, p. 1007–1032, 2017.

MONTAÑEZ, J. L. et al. Fermentación de los fructanos del Agave tequilana Weber Azul por *Zymomonas mobilis* y *Saccharomyces cerevisiae* en la producción de bioetanol. **Informacion Tecnologica**, v. 22, n. 6, p. 3–14, 2011.

MONTIEL, C. et al. Enhanced Bioethanol Production from Blue Agave Bagasse in a Combined Extrusion–Saccharification Process. **Bioenergy Research**, v. 9, n. 4, 2016.

MORAIS, P. D. E. Dissertação de mestrado. 2014.

NAVA-CRUZ, N. Y. et al. Agave atrovirens fibers as substrate and support for solid-state fermentation for cellulase production by *Trichoderma asperellum*. **3 Biotech**, v. 6, n. 1, 2016.

NIGAM, P. S.; SINGH, A. Production of liquid biofuels from renewable resources. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 37, n. 1, p. 52–68, 2011.

NÚÑEZ, H. M.; RODRÍGUEZ, L. F.; KHANNA, M. Agave for tequila and biofuels: An economic assessment and potential opportunities. **GCB Bioenergy**, v. 3, n. 1, p. 43–57, 2011.

OLIVIER, J. G. J. (PBL) et al. Trends in Global CO₂ Emissions: 2016 Report. **PBL**

Netherlands Environmental Assessment Agency & European Commission's Joint Research Centre (JRC), p. 86, 2016.

Osiris Ashton Vital Brazil, Jaci Lima Vilanova-Neta, Nilton Oliveira Silva, Isabela Maria Monteiro Vieira, Álvaro Silva Lima, Denise Santos Ruzene, Daniel Pereira Silva,

PALOMO-BRIONES, R. et al. Agave bagasse biorefinery: processing and perspectives. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 20, n. 7, 2018.

PAOLA DI DONATO, ILARIAFINORE; ANNARITA POLI; BARBARA NICOLAUS; LICIA LAMA. The production of second generation bioethanol: The biotechnology potential of thermophilic bacteria. *Journal of Cleaner Production*. Volume 233, Pages 1410-1417, 2019.

PHAM, P. J. et al. A spectrophotometric method for quantitative determination of xylose in fermentation medium. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 7, p. 2814–2821, 2011.

RENAN TAVARES FIGUEIREDO. Integral use of lignocellulosic residues from different sunflower accessions: Analysis of the production potential for biofuels. **Journal of Cleaner Production**. Volume 221, Pages 430-438, 2019.

RIJAL, D. et al. Process options for conversion of Agave tequilana leaves into bioethanol. **Industrial Crops and Products**, v. 84, p. 263–272, 2016.

RIOS-GONZÁLEZ, L. J. et al. Autohydrolysis pretreatment assessment in ethanol production from agave bagasse. **Bioresource Technology**, v. 242, p. 184–190, 2017.

RUTZ, D. Biofuel Technology Handbook. **Contract**, p. 152, 2008.

SANDRA BEZERRA DA SILVA; MARINA DONÁRIA CHAVES ARANTES, JAILY KERLLER BATISTA DE ANDRADE, CARLOS ROGÉRIO ANDRADE, ANGÉLICA DE CÁSSIA OLIVEIRA CARNEIRO, THIAGO DE PAULA PROTÁSIO. Influence of physical and chemical compositions on the properties and energy use of lignocellulosic biomass pellets in Brazil. **Renewable Energy**. Volume 147, Part 1, Pages 1870-1879, 2020.

SAUCEDO-LUNA, J. et al. Efficient chemical and enzymatic saccharification of the lignocellulosic residue from Agave tequilana bagasse to produce ethanol by *Pichia caribbica*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 6, p. 725–732, 2011.

Sergio Luiz Monteiro Salles-Filho; Paula Felício Drummond de Castro; Adriana Bin; Charles

Edquist; Ana Flávia Portilho Ferro; Solange Corder. Perspectives for the Brazilian bioethanol sector: The innovation driver. *Energy Policy* Volume 108, Pages 70-77,2017.

STAMBUK, B. U.; LUIZ, S.; JUNIOR, A. Dosagem de açúcares redutores com o reativo DNS em microplaca Microwell plate-based method for the determination of reducing sugars with the DNS reagent. 2017.

STAMBUK, B. U.; LUIZ, S.; JUNIOR, A. Dosagem de açúcares redutores com o reativo DNS em microplaca Microwell plate-based method for the determination of reducing sugars with the DNS reagent. 2017.

TALITA M.LACERDA MÁRCIA; D.ZAMBON ELISABETE FROLLINI. Oxalic acid as a catalyst for the hydrolysis of sisal pulp. **Industrial Crops and Products**. Volume 71, , Pages 163-172,2015.

TALITA M.LACERDA; MÁRCIA D. ZAMBON; ELISABETE FROLLINI. Effect of acid concentration and pulp properties on hydrolysis reactions of mercerized sisal. **Carbohydrate Polymers**. Volume 93, Issue 1, Pages 347-356, 2013.

TIKAM CHAND DAKAL; BHANUPRIYA DHABHAI. Current status of genetic & metabolic engineering and novel QTL mapping-based strategic approach in bioethanol production. **Gene Reports**. Volume 17, December 2019, 100497.

VALENZUELA, A. A new agenda for blue agave landraces: food, energy and tequila. **GCB Bioenergy**, v. 3, n. 1, p. 15–24, 2011.

VELÁZQUEZ-VALADEZ, U. et al. Tequilana weber Agave Bagasse Enzymatic Hydrolysis for the Production of Fermentable Sugars: Oxidative-Alkaline Pretreatment and Kinetic Modeling. **Bioenergy Research**, v. 9, n. 4, 2016.

VILLEGAS-SILVA, P. A. et al. Hydrolysis of Agave fourcroydes Lemaire (henequen) leaf juice and fermentation with Kluyveromyces marxianus for ethanol production. **BMC Biotechnology**, v. 14, n. 130, 2014.

VIRGÍNIO E SILVA, J. O. et al. Integrated production of biodiesel and bioethanol from sweet potato. **Renewable Energy**, v. 124, p. 114–120, 2018.

WOOD, I. P. et al. Rapid quantification of reducing sugars in biomass hydrolysates : Improving the speed and precision of the dinitrosalicylic acid assay. **Biomass and Bioenergy**, v. 44, n. 0,

p. 117–121, 2012

WOOD, I. P. et al. Rapid quantification of reducing sugars in biomass hydrolysates : Improving the speed and precision of the dinitrosalicylic acid assay. **Biomass and Bioenergy**, v. 44, n. 0, p. 117–121, 2012.

YAN ZHAO; ANDERS DAMGAARD; SHAN LIU; HUIMIN CHANG; THOMAS H. CHRISTENSEN. Bioethanol from corn stover – Integrated environmental impacts of alternative biotechnologies. Resources, **Conservation and Recycling**. Volume 155, , 104652, 2020.

YAXUAN JING, YONG GUO, QINENG XIA, XIAOHUI LIU, YANQIN WANG. Catalytic Production of Value-Added Chemicals and Liquid Fuels from Lignocellulosic Biomass. *Chem*, Volume 5, Pages 2520-2546, 2019.

YISHUOYANG; JIANYANG; JINGCAO; ZHAOMEI WANG. Pretreatment with concurrent UV photocatalysis and alkaline H₂O₂ enhanced the enzymatic hydrolysis of sisal waste. **Bioresource Technology**. Volume 267, Pages 517-523, 2018.

YU-FONG HUANG; SHANG-LIEN LO. Predicting heating value of lignocellulosic biomass based on elemental analysis. **Energy**. Volume 191, 116501, 2020.

ZABED, H. Fuel ethanol production from lignocellulosic biomass : An overview on feedstocks and technological approaches. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 66, p. 751–774, 2016.

ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. **Métodos físico químicos para análise de alimentos**.v.2. p.45,2016.

ANEXO

Comparação de vários métodos da hidrólise de biomassa celulósica

Método de pré-tratamento	Resíduo de agave utilizado	Condições	Vantagens	Desvantagens	Açúcares iniciais	Açúcares finais	Eficiência	Referencia
Hidrólise com H₂SO₄	Bagaço do sisal	Concentração de ácido a 1, 2 e 3% p/p, a 125 a 150°C por 20 minutos	Processo rápido e relativamente barato	Formação de produtos químicos indesejáveis, como ácido acético e degradação de açúcares	16g/L	25 g/L	73,62%	(HIDALGO-REYES et al., 2013)
Hidrólise com enzimas Cellulase e Cellobiase	Bagaço do sisal	pH de 5 a 40°C e 100 rpm. Concentração enzimática de 100 unidades/l g e 80 unidades/ lg de sólidos totais	Processo e ação enzimática para produção de produto específico.	Processos caros e demorados, as enzimas geralmente precisam de condições específicas de crescimento	18g/L	40 g/L	69%	
Hidrólise com enzima (Cellulase e Novozymes 188 (cellobiase) de Aspergillus niger)	Resíduo líquido da folha de sisal	Atividade enzimática de 40 FPU (unidade de papel de filtro), concentração de enzima de 1,5 ml/L de sumo de folhas, tempo de 30 minutos a 25°C.	Reações enzimáticas específicas e seguro para manipulação e reação podem ocorrer em temperatura ambiente e no máximo 40-50°C.	Enzimas caras, dispendiosas reproduções enzimáticas para grandes aplicações em escala industrial.	39g/L	47 g/L	60%	(HIDALGO-REYES et al., 2015)
Hidrólise de ácido leve e prétratamento térmico de bagaço de folhas de agave	Resíduo sólido da folha de sisal	Reator com refluxo ácido a 100°C, 30,60 e 90 minutos de tempo de reação com ácido H ₂ SO _{4(aq)} concentração de 0,5, 1 e 2M.	Processos mais baratos e mais rápidos quando comparados com a hidrólise enzimática	Muitas vezes perigoso para manipular ácidos concentrados, produção de produtos finais indesejados e altas temperaturas de > 100°C	14g/L	42,7 g/L	61%	(Autor)
Sacarificação combinada e hidrólise enzimática com celulase comercial.	Bagaço do sisal	Sacarificação a 190 ° C por 30 minutos e hidrólise realizada em reator de aço de 1L, a 100 ° C por 15 minutos.	Alta eficiência de hidrólise e alto rendimento de conversão de açúcar	Alta temperatura de até 190 ° C necessária para a sacarificação e enzimas são caras de obter, enzimas têm melhor desempenho em condições específicas que limitam as aplicações	72g/L	126g/L	74,3%	(CORBIN et al., 2015)