



Universidade Federal da Paraíba
Centro de Tecnologia em Desenvolvimento Regional
Departamento de Tecnologia Sucroalcooleira



**AVALIAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO DA
PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR VISANDO SEU
APROVEITAMENTO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL**

Lucas Vinicius Borges Pereira

João Pessoa/PB

Novembro/2021

Lucas Vinicius Borges Pereira

**AVALIAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO DA
PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR VISANDO SEU
APROVEITAMENTO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Centro de Tecnologia e Desenvolvimento
Regional da Universidade Federal da Paraíba,
como requisito parcial para a obtenção do grau
de Tecnólogo em Produção Sucroalcooleira.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Laís Campos Teixeira de
Carvalho Gonçalves

João Pessoa

Novembro de 2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

P436a Pereira, Lucas Vinicius Borges.

Avaliação do pré-tratamento alcalino da palha de cana-de-açúcar visando seu aproveitamento para produção de etanol / Lucas Vinicius Borges Pereira. - João Pessoa, 2021.

51 f. : il.

Orientação: Laís Campos Teixeira de Carvalho Gonçalves.

TCC (Graduação) - UFPB/CTDR.

1. Biomassa. Hidróxido de sódio. Etanol 2G. I.
Gonçalves, Laís Campos Teixeira de Carvalho. II. Título.

UFPB/CTDR

TCC aprovado em 07/12/2021 como requisito para a conclusão do curso de Tecnologia e Produção Sucroalcooleira da Universidade Federal da Paraíba.

BANCA EXAMINADORA:

Laís Campos Teixeira de Carvalho Gonçalves

PROF^a DR^a LAÍS CAMPOS TEIXEIRA DE CARVALHO GONÇALVES - (UFPB – Orientadora)

Solange Maria de Vasconcelos

PROF^a DR^a SOLANGE MARIA DE VASCONCELOS – (UFPB – Membro interno)

Angela Lucinia U. Vasconcelos

PROF^a DR^a ANGELA LUCINIA URTIGA VASCONCELOS – (UFPB – Membro interno)

In Memoriam a Wycleff Hugo,
que sua genialidade sempre o preceda.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me sustentado em todos os momentos, sem ele eu não seria nada.

Agradeço a toda minha família. Especialmente minha mãe e avó, Ana Paula e Nilcelia Borges, que foram meu socorro em inúmeros momentos e não há palavras suficientes que possam expressar a minha gratidão. Tudo que sou hoje devo a vocês!

Agradeço a minha orientadora Prof^a Dr^a. Laís Campos Teixeira de Carvalho Gonçalves por ter me guiado durante todos os 3 anos de pesquisa científica. Os ensinamentos ministrados por ela me tornaram o aluno que sou hoje. Serei eternamente grato por toda paciência, atenção, compreensão e conselhos que levarei por toda a vida.

Agradeço as minhas amigas, Helena Veloso e Anne Fernandes, que em muitos momentos foram meu conforto e me abraçaram como família. A nossa amizade estará sempre em meu coração.

Agradeço aos meus amigos de Universidade, Thiago Alves, Thiago Fidelis e Sabrina Sobrinho por todo companheirismo e apoio nessa trajetória. Em especial agradeço a Maria Kethllin, uma das mulheres mais inteligentes que conheci na vida, por toda parceria e irmandade. Você é Luz, Maria!

Agradeço a Universidade Federal da Paraíba por ter me proporcionado todo o conhecimento acadêmico, bem como aos técnicos dos laboratórios do Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional por todo auxílio durante os experimentos desse trabalho.

Agradeço a todos os professores e colaboradores que compõe o Departamento de Tecnologia Sucroalcooleira. Vocês foram essenciais durante toda a construção do meu conhecimento para o caminho profissional.

*“Alguns dizem que nossas vidas são definidas pela soma das nossas escolhas.
Mas não são nossas escolhas que distinguem quem somos, é o nosso
compromisso com elas.”*

(Emily Thorne – REVENGE)

AValiação DO PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO DA PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR VISANDO SEU APROVEITAMENTO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL

RESUMO

Objetivando reduzir a intensa dependência do petróleo, alternativas renováveis estão sendo cada vez mais estudadas para a obtenção de etanol de segunda geração. O etanol é comumente obtido por via fermentativa, do caldo de cana-de-açúcar, porém é possível produzi-lo por meio da conversão dos açúcares fermentescíveis das biomassas lignocelulósicas, como a palha de cana-de-açúcar. Os carboidratos constituintes deste resíduo podem ser solubilizados por processos de pré-tratamento, tornando a estrutura mais susceptível à hidrólise enzimática, visando a liberação de monômeros de açúcar, que poderão ser fermentados e destilados para produção de etanol. Desta forma, o presente trabalho objetivou promover pré-tratamento alcalino da palha de cana-de-açúcar visando a produção de etanol de segunda geração. Dessa forma, foi realizado um planejamento experimental linear 2^3 , com 3 pontos centrais e 8 combinações únicas, totalizando 11 ensaios. Os fatores analisados foram: concentração de NaOH (0,25 M, 0,5 M e 0,75 M), temperatura (60, 80 e 100 °C) e tempo (20, 40 e 60 min). O ensaio 8 (0,75M, 60 min e 100 °C) apresentou o melhor desempenho dentre os demais, pois indicou a maior concentração de açúcares redutores (2,42 g/L), menor rendimento (55,40 %) e maior solubilização dos componentes macromoleculares (44,60 %). Além disso, o pré-tratamento também demonstrou ser eficaz na remoção da lignina do resíduo. Conforme análise das estimativas dos efeitos para os açúcares redutores liberados após a etapa de pré-tratamento, realizada através do software Statistica, a temperatura (X3) apresentou significância estatística ao nível de 95% de confiança. A análise de espectroscopia na região do infravermelho demonstrou que o pré-tratamento promoveu mudanças estruturais no resíduo em estudo. Os resultados obtidos mostram a vantagem do pré-tratamento alcalino no processo de solubilização dos componentes macromoleculares da palha, apresentando-se como uma alternativa de baixo custo para processos que visem a produção de etanol de segunda geração.

Palavras-chave: Biomassa lignocelulósica. Hidróxido de sódio. Etanol de segunda geração.

EVALUATION OF THE ALKALINE PRE-TREATMENT OF SUGAR CANE STRAW AIMING ITS USE FOR ETHANOL PRODUCTION

ABSTRACT

In order to reduce the intense dependence on oil, renewable alternatives are being increasingly studied to obtain second generation ethanol. Ethanol is commonly obtained by fermentation from sugarcane juice in autonomous distilleries attached to Brazil, but it can be produced by converting fermentable sugars from lignocellulosic biomass such as straw and sugarcane bagasse. Sugar cane straw has grown gradually due to environmental factors that promoted laws prohibiting the burning of this material and, with the surplus in the field, it represents a new byproduct for obtaining second generation ethanol. The carbohydrates constituting this residue need to be solubilized by pretreatment processes, making the structure more susceptible to enzymatic hydrolysis, aiming at the release of sugar monomers that can be fermented and distilled for ethanol production. Thus, the present work aimed to promote alkaline pretreatment of sugarcane straw aiming the production of second generation ethanol. Thus, a linear experimental design 2³ was performed, with 3 central points and 8 unique combinations, totaling 11 trials. The factors analyzed were: NaOH concentration (0.25 M, 0.5 M and 0.75 M), temperature (60, 80 and 100 °C) and time (20, 40 and 60 min). Assay 8 (0.75M, 60 min and 100 °C) presented the best performance among the others, as it indicated the highest concentration of reducing sugars (2.42 g / L), lowest yield (55.40%) and highest solubilization of macromolecular components (44.60%). In addition, pretreatment has also been shown to be effective in removing lignin from the residue. According to the analysis of the effect estimates for reducing sugars released after the pretreatment step, performed using the Statistica software, the temperature (X3) was statistically significant at the 95% confidence level. Infrared spectroscopy analysis showed that pretreatment promoted structural changes in the residue under study. The obtained results show the advantage of alkaline pretreatment in the solubilization process of the straw macromolecular components, presenting itself as a low cost alternative for second generation ethanol production processes.

Keywords: Straw sugarcane. Pretreatment. Second generation ethanol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Panorama simplificado das moléculas constituintes de biomassas lignocelulósicas.....	16
Figura 2- Estrutura da Celulose	19
Figura 3 – Representação estrutural da hemicelulose e seus demais constituintes	21
Figura 4 – Estrutura da lignina de abeto (<i>Picea abies</i>).....	21
Figura 5 – Produção de compostos inibidores a partir do pré-tratamento ácido da biomassa	24
Figura 6 – Mecanismo de ação do complexo celulolítico	26
Figura 7 – Evolução da capacidade instalada de produção do etanol no Brasil.....	28
Figura 8 – Secagem da palha lavada.....	31
Figura 9 – Palha de cana-de-açúcar selecionada para secagem em estufa.....	33
Figura 10 – Curva padrão de glicose para determinação dos açúcares redutores	34
Figura 11 – Diagrama de Pareto para os açúcares redutores liberados na etapa de pré-tratamento.....	37
Figura 12 – Resultado do rendimento e solubilização dos componentes macromoleculares.	38
Figura 13 – Espectros das amostras de palha de cana-de-açúcar <i>in natura</i> e pré-tratada com NaOH.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição de biomassas lignocelulósicas aplicadas na produção de bioetanol	19
Tabela 2 – Níveis dos fatores utilizados no planejamento experimental do pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar com NaOH	32
Tabela 3 – Matriz do planejamento fatorial 2^3 com triplicata no ponto central	32
Tabela 4 – Resultados obtidos com a fração líquida após o pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar.....	36
Tabela 5- Análise de variância (ANOVA) para a concentração de açúcares redutores	38

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 OBJETIVOS	15
1.1.1 <i>Objetivo Geral</i>	15
1.1.2 <i>Objetivos específicos</i>	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Resíduos agroindustriais	16
2.2 Palha de cana-de-açúcar	17
2.2.1 <i>Celulose</i>	19
2.2.2 <i>Hemicelulose</i>	20
2.2.3 <i>Lignina</i>	21
2.3 Pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos	22
2.3.1 <i>Pré-tratamento físico</i>	22
2.3.2 <i>Pré-tratamento químico</i>	23
2.3.2.1 <i>Pré-tratamento ácido</i>	23
2.3.2.2 <i>Pré-tratamento alcalino</i>	24
2.3.3 <i>Pré-tratamento biológico</i>	25
2.4 Celulases na hidrólise enzimática	25
2.5 Etanol de segunda geração	27
2.6 Análise estatística e planejamento experimental	29
3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	31
3.1 Obtenção e preparo da palha	31
3.2 Planejamento experimental	31
3.3 Pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar	33
3.4 Análise de açúcares redutores	33
3.5 Avaliação do rendimento e da solubilização da fração sólida e dos componentes macromoleculares	35
3.6 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....	35
4 ANÁLISE DOS DADOS: RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 Pré-tratamento alcalino da palha de cana-de-açúcar	36
4.2 Rendimento e solubilização da fração sólida	38
4.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	39

5 CONCLUSÃO	41
6 REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

Ao fazer uma análise do âmbito social é notável que desde o surgimento da indústria na Europa Ocidental, em 1760, a busca por crescimento e exploração de recursos naturais alastrou-se por todo o mundo prorrogando-se até os dias de hoje. Atualmente, questões ambientais vêm sendo discutidas com veemência buscando correlacionar processamentos industriais com o ambiente, ou seja, tornando a prática industrial sustentável. Atrelado a isso, tem-se o fato que 87% da energia produzida no mundo ainda é proveniente de recursos não renováveis aumentando a concentração de gases do efeito estufa (GEE) na atmosfera. Logo, a bioenergia proveniente da cana-de-açúcar representa uma nova diretriz a ser seguida criando novas formas de produção (ROGELJ *et al.*, 2016; POP *et al.*, 2014; CAVALCANTE; SILVA, 2011).

A matriz energética brasileira corresponde a energia produzida no país que se consolida em vários meios produtivos através de políticas públicas criadas pelo governo com o objetivo de aumentar e diversificar as parcelas de energia já existentes, assim buscando a diminuição dos impactos causados pelo seu uso. Dentre as variedades de componentes energéticos, o Brasil possuía 45% de energia advinda de fontes renováveis em 2018 caracterizada por biocombustíveis líquidos dado as características climáticas do território e da criação de novas tecnologias que colocam os derivados de cana-de-açúcar como a segunda fonte essencial na demanda de energia, ficando atrás apenas do petróleo (EPE, 2018).

Atualmente pesquisas vêm sendo desenvolvidas para reduzir o consumo de combustíveis fósseis, atrelando a busca por maiores rendimentos em menor custo. O setor sucroalcooleiro tem mostrado grande potencial para solucionar problemas energéticos e ambientais por trabalhar a cana-de-açúcar e seus resíduos de forma ampla, visto que a maior parte dos resíduos gerados nesse setor são reaproveitados na própria usina ou vendidos para outros setores (LORENA *et al.*, 2017).

O setor sucroalcooleiro produz resíduos como palha e bagaço de cana-de-açúcar que podem ser reaplicados em estratégias para atender as medidas estabelecidas pelo Renovabio, utilizando esses resíduos agroindustriais na produção de etanol de segunda geração (2G) de forma a complementar a produção de etanol convencional. É importante destacar que a cana-de-açúcar possui um potencial elevado na produção de etanol de segunda geração, pois 1 tonelada dessa planta produz 140kg de palha, sendo o volume de etanol produzido por tonelada desse resíduo superior ao volume encontrado na produção com bagaço, 206,29 L/T e

190,93 L/T, respectivamente. O bagaço oriundo da etapa de moagem é encaminhado para atender a demanda elétrica da própria usina, considerando que ele possui um poder calorífico superior a palha, mas sua geração é atrelada a etapa de moagem (ROCHA; ALMEIDA; CRUZ, 2017). Segundo Rocha, Almeida e Cruz (2017) o volume de etanol por tonelada de palha chega a ser superior a quantidade produzida por outras biomassas como palha de milho, bagaço de cana, sabugo de milho, palha de trigo e casca de coco.

O etanol de segunda é obtido a partir da fermentação dos açúcares presentes na biomassa lignocelulósica, constituída por lignina, celulose e hemicelulose, em açúcares fermentescíveis. A palha de cana-de-açúcar caracteriza-se por ser um resíduo lignocelulósico constituído de 40-44% de celulose, 30-32% de hemicelulose e 22-25% de lignina. A celulose presente no material consiste em um polímero de glicose linear e cristalino. A hemicelulose corresponde a um heteropolissacarídeo de estrutura ramificada. A lignina circunda ambos os componentes e influencia no material de forma a dar rigidez, dificultando o ataque de microrganismos. Para produção do etanol de segunda geração, a biomassa precisa passar por quatro etapas fundamentais: pré-tratamento, hidrólise enzimática, fermentação e destilação, sendo o pré-tratamento a etapa crucial, objetivando reduzir a cristalinidade do resíduo e remover a lignina presente no material facilitando a etapa de hidrólise enzimática da celulose (SARKAR *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2012).

A literatura relata uma diversidade de tipos de pré-tratamento onde se destacam os físicos, químicos, biológicos e a combinação deles sobre um mesmo material. O método físico consiste em moer a biomassa de forma a aumentar a área superficial do material, já o biológico ocorre pela ação de fungos que degradam a lignina da amostra. Entretanto, esses procedimentos não são muito usados, dado ao fato do elevado consumo de energia e da baixa velocidade do ataque microbiano.

O pré-tratamento com ácido diluído tem ação sobre a hemicelulose pela reatividade da macromolécula que acaba sendo hidrolisada e convertida a açúcares monoméricos, porém ele acaba produzindo furfural e hidroximetilfurfural que vão inviabilizar a fermentação por serem substâncias tóxicas aos microrganismos (SILVA, 2014; SANTOS *et al.*, 2012).

O pré-tratamento alcalino usa bases como NaOH, juntamente com fatores de tempo e temperatura promovendo o inchamento da biomassa, aumentando a superfície de contato para melhorar a ação da enzima sobre a celulose. Assim a ligação entre lignina e carboidrato é quebrada (SILVA, 2014). Esse método se sobressai em relação aos demais por não necessitar de equipamentos especializados, pois os reagentes utilizados além de serem eficientes na

deslignificação não causam corrosão e degradação de açúcares em compostos tóxicos (NASCIMENTO, 2011; SILVA, 2014).

Nesta perspectiva, o objetivo do estudo foi promover a caracterização físico-química da palha de cana-de-açúcar, antes e após seu pré-tratamento com hidróxido de sódio, visando seu aproveitamento na produção de etanol de segunda geração.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 *Objetivo Geral*

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar com hidróxido de sódio, através da sua caracterização físico-química antes e após o pré-tratamento, visando seu aproveitamento na produção de etanol de segunda geração.

1.1.2 *Objetivos específicos*

- Coletar a palha de cana-de-açúcar e obter um material uniformizado quanto à granulometria;
- Realizar o pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar com diferentes concentrações de hidróxido de sódio e em distintas condições de tempo e temperatura, seguindo um planejamento experimental linear 2^3 ;
- Analisar a solubilização da fração sólida e dos componentes macromoleculares da palha de cana-de-açúcar;
- Avaliar as variações na estrutura química dos componentes da palha de cana-de-açúcar por espectroscopia na região do infravermelho.

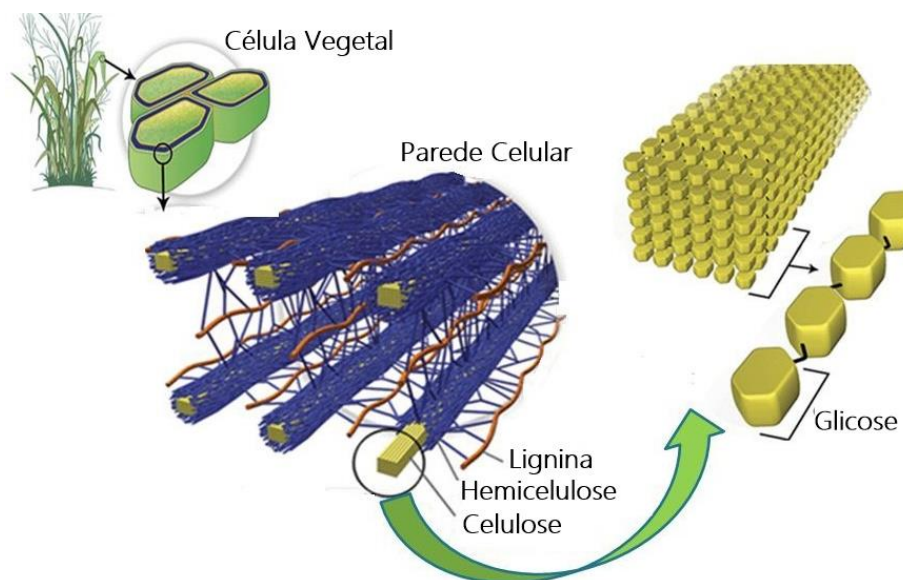
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Resíduos agroindustriais

Segundo Vaz Júnior (2020), a agroindústria caracteriza-se como um conjunto de transformações de matérias-primas da agricultura, silvicultura, pecuária e aquicultura. Considerando a crescente industrialização, certifica-se a obtenção de produtos de valor agregado em paralelo com a geração de resíduos que podem causar impactos ambientais negativos.

Os resíduos provenientes da agroindústria são comumente derivados do processamento da madeira, couro, fibras, alimentos e também são encontrados no setor sucroalcooleiro. Tais elementos podem ser classificados como inorgânicos ou caracterizados como biomassa lignocelulósica; os materiais inorgânicos abrangem os componentes produzidos pela ação humana, como: embalagem de agrotóxicos e resíduos sólidos domésticos da área rural; os resíduos lignocelulósicos são obtidos na indústria de palma, cana-de-açúcar, milho, arroz, trigo e outros compostos que apresentam em sua constituição a celulose, hemicelulose e lignina, conforme visto na Figura 1 (RODRIGUES *et al.*, 2013; PEREIRA; ANJOS; MAGNAGO, 2019).

Figura 1 – Panorama simplificado das moléculas constituintes de biomassas lignocelulósicas



Fonte: Adaptado de Wyman e Yang, 2009.

O contexto sucroalcooleiro abrange resíduos como torta de filtro, vinhaça, bagaço e palha de cana-de-açúcar, que podem ser utilizados como alternativas renováveis à química industrial, tendo em vista que esses detritos passaram a serem considerados como matérias-primas fundamentais em outros processos por serem menos nocivos ao ambiente. A vinhaça corresponde a um detrito obtido na etapa de destilação do mosto fermentado. Dado ao seu potencial poluente, ela pode contaminar rios, solos e lençóis freáticos. Entretanto, ela também pode ser utilizada na produção de biogás ou fertilizantes. A torta de filtro tem sua origem na clarificação do caldo para fabricação de açúcar e pode ser usada para adubação de mudas de hortaliças em virtude da sua composição rica em nutrientes. O bagaço e a palha de cana-de-açúcar são materiais lignocelulósicos que podem ser aplicados na obtenção biocombustíveis como o etanol (FIALHO *et al.*, 2019; SFEIR, 2013; VAZ JÚNIOR, 2020).

A literatura tem destacado aplicações para os resíduos lignocelulósicos, obtidos do setor sucroalcooleiro, na área energética. Araújo e Ronquim Filho (2018) retrataram um estudo de caso, realizado em uma usina sucroenergética, atribuindo a utilização do bagaço de cana-de-açúcar para a obtenção de energia elétrica. Os resultados foram promissores mostrando 720 mil MWh na safra 2016/2017. Já Vieira *et al.* (2015) realizou um comparativo entre o bagaço e a palha visando a produção de etanol de segunda geração (2G), concluindo que os resultados obtidos com a palha foram promissores devido ao rendimento de 85% obtido no pré-tratamento.

Logo, em virtude da mudança na matriz energética mundial, visando a redução do uso de combustíveis fósseis, pesquisas voltadas para o desenvolvimento de tecnologias que destinem os resíduos gerados nas agroindústrias para geração de energia, têm sido cada vez mais promissoras.

2.2 Palha de cana-de-açúcar

A palha da cana-de-açúcar trata-se de um resíduo lignocelulósico proveniente do campo que vem crescendo bastante no setor. Na colheita mecanizada, a palha encontra-se depositada no solo protegendo-o de processos erosivos, bem como o intemperismo. Já na colheita manual, a palhagem é queimada para facilitar o corte da cana. Entretanto, por ser conhecida como planta C4, ela absorve carbono na forma de compostos orgânicos para auxiliar no seu crescimento e, conseqüentemente, com a queima da palha, todo o carbono absorvido é liberado de uma só vez. Cerca de 70 produtos químicos nocivos já foram

identificados na queima desse detrito como hidrocarbonetos, monóxido de carbono, óxido nitroso, etc. Com o advento da colheita mecanizada e em virtude da busca por novas tecnologias, destaca-se a lei N° 11.241/2002, estabelecida no estado de São Paulo, que faz ressalva a eliminação gradativa da queima do canavial até 2031. Em virtude disso, haverá um crescente aumento de palha no campo que poderá ser destinada para produção do bioetanol (RIBEIRO; FICARELLI, 2010; SILVA; SILVA, 2012; MORI, 2015).

Atualmente, parte da palha de cana-de-açúcar permanece no solo para evitar processos erosivos e reduzir sua exposição. Bizzo *et al.* (2014) aborda a produção de energia elétrica através da palha devido ao seu poder calorífico de 17,1 MJ kg⁻¹. Entretanto, Ripoli e Ripoli (2010) ressaltam a utilização desse resíduo na produção de biocombustíveis ao explicar que uma tonelada de palha corresponde a 2,8 EBP (equivalentes barris de petróleo). Nesse aspecto, Santos *et al.* (2012) justifica que a não aplicação dessa biomassa para produção de bioetanol representaria um desperdício energético dado ao seu potencial na substituição de combustíveis fósseis.

O etanol de primeira geração é comumente obtido através da fermentação dos açúcares presentes no caldo da cana-de-açúcar, em contrapartida, o etanol celulósico é produzido a partir da fermentação dos açúcares que são liberados após o processo de hidrólise da celulose presente na biomassa. A caracterização bioquímica da palha de cana-de-açúcar demonstra sua aplicabilidade na obtenção de moléculas de interesse industrial através da celulose, hemicelulose e lignina presentes em sua constituição (UNICA, 2010).

A Tabela 1 expõe a composição percentual de diversos tipos de fontes alternativas para a produção de etanol, onde a palha de cana-de-açúcar se destaca por apresentar o maior percentual de celulose, frente aos demais resíduos. Desta forma, ela apresenta grande potencial para conversão deste polímero em monômeros de glicose para serem fermentados.

Tabela 1 – Composição de biomassas lignocelulósicas aplicadas na produção de bioetanol

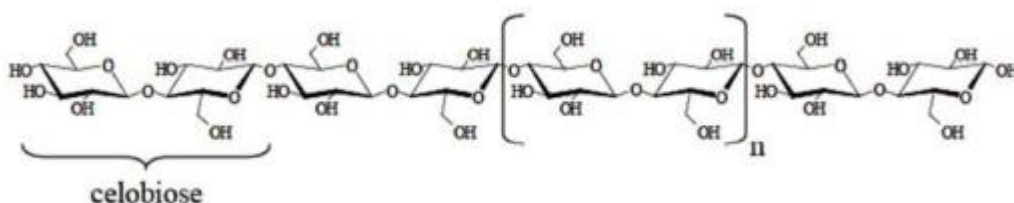
Biomassa	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Referência
Palha de cana-de-açúcar	44	32	25	Sarkar <i>et al.</i> (2012)
Bagaço de cana-de-açúcar	32	28	27	Oliveira (2014)
Casca de arroz	43	22	17	Lopes <i>et al.</i> (2017)
Mesocarpo da Palma – Dendê	21	33	07	Brasil (2018)
Fibra de coco	24	12	40	Cabral <i>et al.</i> (2017)
Sabugo de milho	32	29	18	Raj <i>et al.</i> (2015)

Fonte: Autor, 2021.

2.2.1 Celulose

A celulose caracteriza-se como um polímero linear e cristalino, similarmente corresponde a macromolécula mais abundante do planeta, dado ao fato que é o principal constituinte das plantas (SILVA *et al.*, 2009; SANTOS, 2018). Essa molécula é formada por unidades de D-glicose unificadas por ligações β -1,4 glicosídicas, assim exemplificado na Figura 2. A celobiose, dissacarídeo constituinte da celulose, estabelece ligações de hidrogênio do tipo intramolecular e intermolecular das quais conferem rigidez ao material e são responsáveis pela formação das fibras de celulose (PALMQVIST & HAHN-HAGERDAL, 2000; ANDRADE, 2014).

Figura 2- Estrutura da Celulose



Fonte: Gomes, 2015.

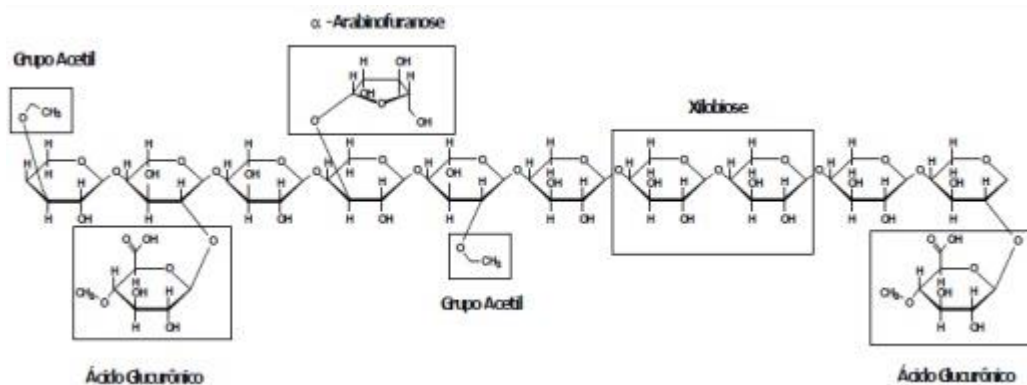
A cristalinidade da biomassa, o grau de polimerização e a interação da celulose com a hemicelulose e lignina são parâmetros importantes na utilização de materiais celulósicos. Apesar desses aspectos atribuírem a resistência à hidrólise, essa caracterização possibilita novas rotas biotecnológicas que venham a viabilizar a desconstrução do complexo celulolítico para aplicação industrial, como na produção do etanol de segunda geração (ZHENG; PAN; ZHANG, 2009).

2.2.2 Hemicelulose

A hemicelulose corresponde a molécula responsável pela ligação entre o complexo celulolítico, celulose e lignina, através de suas cadeias laterais e ramificações que conferem a ela maior consonância com a celulose (RAMOS, 2003). Wang *et al.* (2017) classificam essa molécula como um heteropolímero composto por unidades de D-xilose, D-galactose, D-manose e D-arabinose, conforme apresentado na Figura 3.

No contexto industrial, a hemicelulose presente na palha de cana-de-açúcar pode ser hidrolisada em açúcares como arabinose e xilose, importante aditivo alimentar. A hemicelulose difere da celulose pela ausência de regiões cristalinas apresentando maior vulnerabilidade à hidrólise ácida (SANTOS, 2018; CALDAS, 2011). Fangkum e Reungsang (2010) ressaltam diferentes tipos de compostos empregados nesse sistema, objetivando aumentar a digestibilidade do material, como ácido clorídrico, sulfúrico e fosfórico.

Figura 3 – Representação estrutural da hemicelulose e seus demais constituintes.

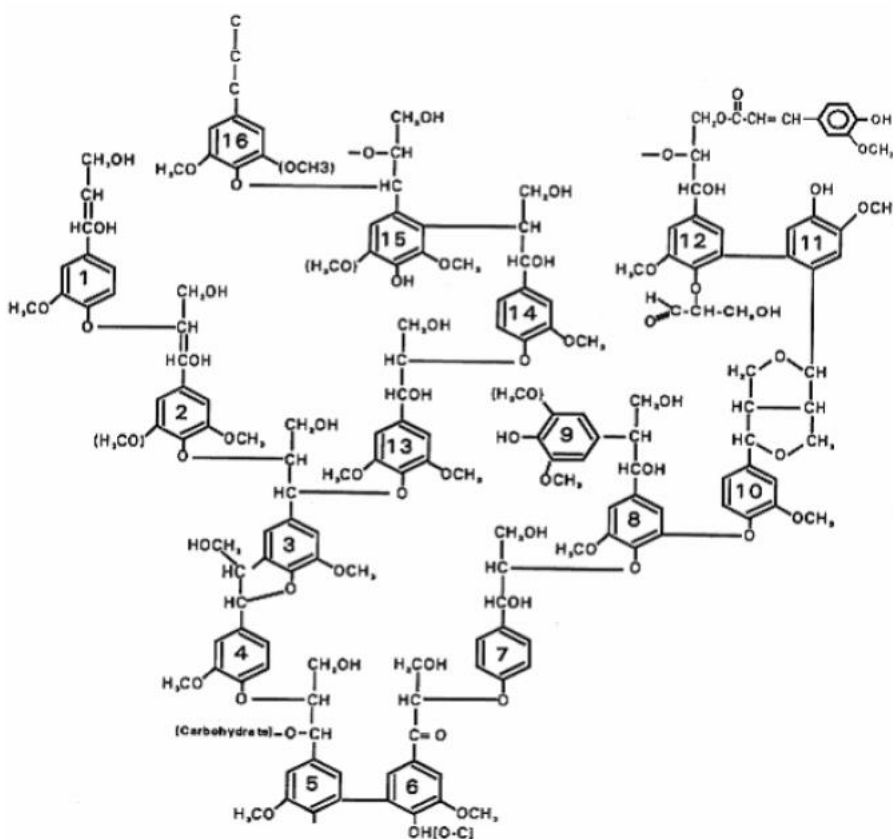


Fonte: Silva *et al.*, 2012.

2.2.3 Lignina

A lignina caracteriza-se como um heteropolímero amorfo, insolúvel em água, de estrutura bastante complexa, formada a partir de unidades de fenilpropano unidas entre si por ligações não hidrolisáveis. Para formar os precursores terminais (ésteres de ácidos fenilpropanóides) ocorrem sucessivas oxidações e metilações (Figura 4). A lignina é sintetizada a partir de três alcoóis fenilpropiônicos: coumaril, coniferil e sinaptil. O resultado final da polimerização é uma estrutura heterogênea com unidades básicas que estão ligadas por ligações C-C, C-O-C e ariléter, sendo o éter β -aril aril-glicerol a estrutura predominante. Desta forma, ela é uma substância de natureza aromática responsável pela rigidez da parede celular, atuando assim na proteção contra a degradação enzimática ou química. (LINO, 2015; SÁNCHEZ, 2009).

Figura 4 – Estrutura da lignina de abeto (*Picea abies*).



Fonte: FENGEL; WEGENER, 1989.

Numa perspectiva industrial, relacionada a hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos, como a palha de cana-de-açúcar, a lignina representa uma barreira a ser removida, tendo em vista o seu alto peso molecular. Uma etapa importante para utilização dessa biomassa é a aplicação de um pré-tratamento químico como uma alternativa para ultrapassar a barreira lignificante, proporcionando assim maior acessibilidade a celulose (SAAD, 2010).

2.3 Pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos

A hidrólise de resíduos lignocelulósicos é limitada devido a sua natureza recalcitrante, o grau de polimerização da celulose, a umidade do material em estudo e a forte interação entre as moléculas de celulose, hemicelulose e lignina (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009; NICOLA, 2017). Nesse contexto, a etapa de pré-tratamento é primordial para reduzir a recalcitrância da biomassa e a desestruturação da matriz vegetal, abrindo caminho para a utilização da celulose em aplicações industriais, como a produção de etanol de segunda geração.

A etapa de pré-tratamento possui grande influência nos procedimentos subsequentes do processamento biotecnológico de materiais celulósicos. Souza (2016) destaca que a ação enzimática, sem a etapa de pré-tratamento, proporciona rendimentos menores que 20%. Galbe e Zacchi (2017) apontam que para um pré-tratamento eficiente é necessário uma alta recuperação de todos os açúcares, bons níveis de digestibilidade da celulose na etapa de hidrólise enzimática, produção de poucos ou nenhum produto de degradação de açúcares que venham a inviabilizar o processo.

Entre os métodos aplicados no pré-tratamento, destacam-se os físicos (triturar, debastar ou comuir), químicos (ação de compostos ácidos ou alcalinos) e biológicos (ação fúngica ou bacteriana) ou a combinação dessas técnicas sobre um material (ASSUMPÇÃO, 2015).

2.3.1 Pré-tratamento físico

O pré-tratamento físico corresponde na fragmentação da biomassa lignocelulósica buscando obter partículas menores. Nesse processo, o material é moído para aumentar sua área superficial e reduzir a cristalinidade da celulose. A granulometria do resíduo influencia em diversas etapas do processo, como a hidrólise enzimática que denota o uso de partículas

pequenas para aumentar o ataque de microrganismos e facilitar a digestão anaeróbica da biomassa (GALBE; ZACCHI, 2017).

Um estudo publicado por Santos *et al.* (2014) apontou o uso do pré-tratamento físico atrelado ao hidrotérmico para produção de bioetanol através da palha de cana-de-açúcar. Nele, a granulometria ótima do material usado foi 60 mesh, e os ensaios apresentaram um rendimento de hidrólise da celulose próximo a 100%.

Park *et al.* (2010) descreve o índice de cristalinidade da celulose e seu impacto na hidrólise enzimática. Segundo o autor, a acessibilidade a celulose está fortemente ligada ao tamanho da partícula em processo. Kumar *et al.* (2009) realça essa afirmação ao discorrer que após o pré-tratamento físico a granulometria da partícula vai de 10-30 mm para 0,2-2,0 mm. Entretanto, esse aspecto não anula o fato que processos de cominuição demandam uma grande quantidade de energia, como também não causam a remoção da lignina esboçando a baixa eficiência dos métodos físicos em detrimento a outros tipos de pré-tratamento.

Logo, os estudos atuais estão voltados para a utilização de métodos físicos atrelados a métodos químicos, buscando melhorar os rendimentos do processo de pré-tratamento e a diminuição do grau de polimerização da celulose, como: o pré-tratamento com explosão a vapor, explosão com CO₂ e tratamento com água quente (CHEMMÉS *et al.*, 2013).

2.3.2 Pré-tratamento químico

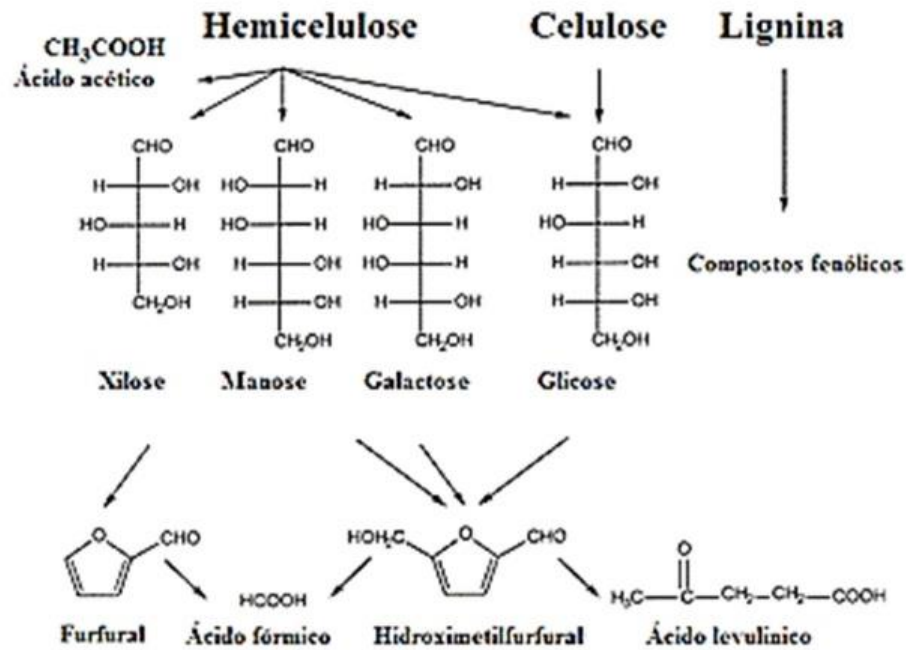
O pré-tratamento químico atrela o uso de substâncias ácidas e alcalinas objetivando a liberação de monossacarídeos para serem utilizados em processamentos industriais. Nessa perspectiva, fatores de tempo e temperatura atrelam-se a esse processo de forma a influenciar positiva ou negativamente, visto que em temperatura altas o pré-tratamento ácido provoca a degradação de hemicelulose em compostos de baixo rendimento.

2.3.2.1 Pré-tratamento ácido

O pré-tratamento ácido faz uso soluções com ácido sulfúrico, nítrico ou fosfórico para promover a desestruturação da matriz lignocelulósica aumentando a acessibilidade a celulose. Com isso, a hemicelulose presente na biomassa pode ser hidrolisada em açúcares como xilose e arabinose, dado a sua natureza não cristalina, aumentando a digestibilidade do material (FANGKUM; REUNGSANG, 2010).

No pré-tratamento ácido podem ser gerados produtos oriundos da degradação de açúcares, como: ácido acético, ácido fórmico, furfural, hidroximetil furfural e compostos fenólicos mostrados na Figura 5. Esses inibidores podem dificultar os processos de hidrólise enzimática e fermentação, reduzindo os seus rendimentos finais.

Figura 5 – Produção de compostos inibidores a partir do pré-tratamento ácido da biomassa



Fonte: Souza, 2016.

Assumpção (2015) aborda a ineficiência do pré-tratamento ácido na remoção de lignina, em virtude da ocorrência apenas de reações de condensação que vão formar pseudo-ligninas na extremidade da parede vegetal e não causam a eliminação da molécula. Manzoor *et al.* (2012) aplicaram o pré-tratamento com ácido sulfúrico na deslignificação do bagaço de cana-de-açúcar, em temperatura constante a 121°C , porém com concentrações de ácido e tempos de contato distintos. Os autores encontraram ótimos índices de remoção da lignina em 4% de H_2SO_4 a 180 minutos, no entanto, houve uma degradação elevada da celulose presente no material.

2.3.2.2 Pré-tratamento alcalino

O pré-tratamento alcalino pode ocorrer a partir da aplicação de soluções com hidróxido de sódio, potássio ou amônia. O hidróxido de sódio atua como um agente de

inchamento, buscando aumentar a área superficial e promover a despolimerização do material, a partir da água que adentra a biomassa e rompe a ligação de hidrogênio entre a hemicelulose e lignina. O uso de métodos alcalinos é comumente conhecido como um bom deslignificante, tendo em vista que as bases possuem atuação sobre a lignina (BALAT *et al.*, 2008; NASCIMENTO, 2011).

Balat *et al.* (2008) descreve que os métodos alcalinos se sobressaem em relação aos ácidos por, em condições mais amenas, extraírem maiores índices de lignina sem causar degradação de açúcares. Entretanto, Mendes (2013) explica que como a lignina está ligada a hemicelulose, uma fração de hemiceluloses também é degradada nesse processo. Além disso, Kim e Holtzaple (2006) justificam que o objetivo do pré-tratamento alcalino é remover estruturas amorfas (lignina e hemicelulose).

O pré-tratamento alcalino se destaca por ser efetivo em baixas temperaturas e pressões, gerar poucos componentes químicos corrosivos em comparação ao método ácido e a reutilização das soluções alcalinas no final do processo (NASCIMENTO, 2011).

2.3.3 Pré-tratamento biológico

O pré-tratamento biológico consiste na utilização de microrganismos, muitas vezes fungos, que irão atacar a biomassa lignocelulósica objetivando degradar o seu percentual de lignina. Essa metodologia proporciona uma alternativa de baixa demanda energética e impacto ambiental. No entanto, ocasiona um elevado tempo de residência, baixos índices de hidrólise e menores rendimentos em açúcares, não sendo uma alternativa eficiente (LIU *et al.*, 2016; BALAT, 2011; ASSUMPÇÃO, 2015).

2.4 Celulases na hidrólise enzimática

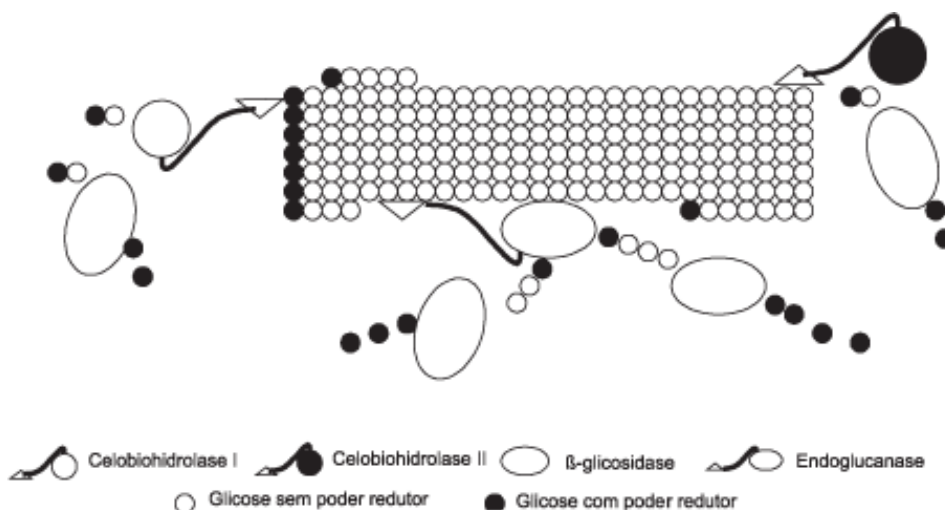
Frente às discussões sobre meio ambiente e sustentabilidade, muitas pesquisas voltadas para o desenvolvimento de bioprocessos verdes têm sido realizadas, principalmente para substituir a maioria dos processos químicos existentes, que podem ser potencialmente danosos ao meio ambiente. Portanto, essas iniciativas aumentaram a demanda de enzimas em várias aplicações industriais, uma vez que elas são biocatalisadores e podem ser vantajosas frente aos reagentes químicos por desempenharem suas funções em temperaturas mais amenas e os produtos de suas reações não serem tóxicos, criando assim a possibilidade de serem utilizadas

em bioprocessos ecologicamente corretos (PATEL *et al.*, 2019).

Uma vez que a tecnologia está avançando em um ritmo acelerado, em direção à biorrefinaria, as enzimas desempenham um papel extremamente importante na bioconversão da biomassa. Há um interesse renovado na comercialização de biomassa lignocelulósica que é considerada a única fonte previsível de energia e foi projetada com base em uma economia baseada em carboidratos, que o futuro da humanidade seria altamente dependente da sua utilização (PATEL *et al.*, 2019).

A hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos pode ser realizada pelas celulasas que agem sobre materiais celulósicos promovendo a desconstrução da celulose em monômeros de glicose (PASSOS; PEREIRA JR.; CASTRO, 2018). Essa reação é catalisada por um complexo de três tipos de celulasas de que atuam de forma sinérgica: endoglucanases (CMCase) que clivam ligações internas transformando a cadeia de celulose em fragmentos menores; exoglucanases (FPase) que atuam na extremidade da cadeia liberando celobiose; β -glicosidases que quebram a ligação entre as duas unidades de celobiose liberando glicose. A Figura 6 demonstra o mecanismo de ação do complexo celulolítico (GARBIN *et al.*, 2021).

Figura 6 – Mecanismo de ação do complexo celulolítico.



Fonte: Castro e Pereira Júnior, 2010.

As celulasas possuem um importante papel econômico atribuído a sua eficiência, alta biodegradabilidade e ação específica nas atividades biotecnológicas. Suas diversas aplicações estão na indústria de biocombustíveis, no âmbito alimentício em processos de maceração para obtenção de suco de frutas, na produção de ração animal, reciclagem de papel, indústria têxtil e extração de óleos vegetais. A expectativa é que o mercado de celulasas cresça em decorrência

da hidrólise de materiais lignocelulósicos para a produção de biocombustíveis em escala industrial, como também o surgimento de novas tecnologias que possibilitem o uso de enzimas nas formulações de detergentes (GAETE;TEODORO; MARTINAZO, 2020).

Na natureza, existe uma diversidade de microrganismos capazes de produzir enzimas celulolíticas como bactérias dos gêneros *Cellulomonas*, *Thermobifida*, *Clostridium*, *Rominococcus* e fungos os gêneros *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Bulgaria*, *Helotium*, *Poria* (MARCO, 2012). Estudos ressaltam o fungo *Trichoderma reesei* como uma das linhagens mais utilizadas na obtenção de celulasas para fins industriais (FLORENCIO, 2011). Nunes (2014) aborda a produção desses biocatalizadores utilizando *Trichoderma reesei* BTF 0948, apresentando atividade de CMCase em 30,3 U/gms. Zapata, Galviz-Quezada e Echeverri (2018) salientam a aplicabilidade do fungo *T. reesei* ao obterem em sua pesquisa extratos brutos contendo 5,8 U/g de endoglicanases, em contrapartida os autores esboçaram resultados inferiores para a mesma enzima ao utilizarem *T. asperellum*.

Visando a produção de etanol de segunda geração, a utilização das celulasas durante o processo de hidrólise enzimática da biomassa lignocelulósica, para liberação de açúcares fermentencíveis, tem sido uma das etapas mais cruciais. Este processo ocorre em condições de reação suaves, com alta seletividade e não são gerados subprodutos tóxicos. No entanto, os principais problemas deste processo são a necessidade de uma elevada carga enzimática, alto custo de produção dessas enzimas e uma reduzida atividade da enzimática, em geral (WANG *et al.*, 2018). Desta forma, é imprescindível o desenvolvimento de estudos que visem a redução de custos na produção dessas enzimas e promovam a sua caracterização físico-química para que sua atividade enzimática seja maximizada.

2.5 Etanol de segunda geração

A busca por tecnologias renováveis permanece em expansão pelo mundo todo em virtude dos danos causados ao meio ambiente com a utilização de combustíveis fósseis. Atualmente, 81% da matriz energética global e 53,4% do complexo energético brasileiro são caracterizados por tecnologias de fontes não renováveis. Analisando a narrativa ambiental é possível observar as consequências existentes na utilização de combustíveis oriundos do petróleo, pois sua queima é responsável pela emissão de dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄), monóxido de carbono (CO), óxidos de nitrogênio (NO_x) para a atmosfera (BIZERRA; QUEIROZ; COUTINHO, 2018; ROSA; GARCIA, 2009).

Nesse contexto, Poli (2019) acrescenta que a produção de biocombustíveis como o biodiesel, biometano e bioetanol consiste em uma alternativa viável, pois são produzidos através de recursos naturais. A demanda mundial por biocombustíveis deverá crescer de forma contínua nas próximas décadas. A Figura 7 apresenta a evolução da capacidade instalada de produção do etanol no Brasil.

Figura 7 – Evolução da capacidade instalada de produção do etanol no Brasil.



Fonte: EPE a partir de (ANP, 2021).

O etanol de primeira geração é comumente obtido através de açúcares proveniente do caldo da cana-de-açúcar, no mecanismo de hidrólise a glicose é fermentada a etanol e gás carbônico (MOTA; MONTEIRO, 2013). Já a produção do etanol 2G ocorre a partir de biomassas lignocelulósicas, ressaltando que para a produção do bioetanol faz-se necessário duas etapas a mais do que o etanol de primeira geração, sendo o pré-tratamento a etapa responsável por promover a mudança e a despolimerização da estrutura vegetal para que a enzima atue sobre a celulose na hidrólise enzimática.

O Brasil destaca-se como um potencial produtor dessa tecnologia por dispor de grandes quantidades de matéria-prima, tal como os resíduos provenientes da indústria sucroalcooleira. Pacheco (2011) destaca que dois terços da cana-de-açúcar, bagaço e palha, correspondem ao material lignocelulósico.

O etanol de segunda geração ainda encontra-se em crescimento produtivo e mesmo com os desafios e agravantes relacionados a complexidade e recalcitrância da matriz lignocelulósica, várias técnicas que empregam o pré-tratamento de biomassas e estudos para a produção de etanol de segunda geração vem sendo feitas de forma a complementar a

fabricação do etanol convencional (LORENZI; ANDRADE, 2019).

No Brasil, o aproveitamento dos açúcares provenientes da hidrólise do excedente de bagaço e palha de cana-de-açúcar do setor sucroalcooleiro, pode incrementar em até 50 % a quantidade de etanol por tonelada de cana processada, além de gerar um significativo excedente de energia elétrica comercializável. Desta forma, além de aumentar o rendimento atual, o etanol 2G leva ao surgimento, no Brasil, de novas tecnologias, como é o caso da cana-energia, uma variedade desenvolvida especialmente para a produção de etanol 2G, com maior quantidade de fibras, capaz de aumentar a produção de etanol por hectare em mais de 250%, quando comparado com o etanol produzido pela cana de açúcar, de primeira geração. Isso favorece a redução da liberação do gases do efeito estufa, uma vez que o etanol 2G poderá emitir 15 vezes menos carbono na atmosfera e permite a redução de até 80% na emissão de CO₂ (MORAIS *et al.*, 2017).

2.6 Análise estatística e planejamento experimental

Diversas pesquisas são desenvolvidas no âmbito industrial, entretanto em alguns casos o pesquisador não conhece a relação entre as variáveis do estudo. Nesse contexto, a otimização de bioprocessos é comumente empregada objetivando reduzir custos para aumentar a sua produtividade. É necessário encontrar as melhores condições para realização do método que proporcione a melhor resposta e boas características analíticas (BEZERRA *et al.*, 2008; NOVAES *et al.*, 2017).

As técnicas de planejamentos experimentais e a metodologia da superfície de resposta vem sendo empregadas na otimização de processos químicos devido a sua alta eficiência. O mecanismo da Superfície de resposta age de forma a estimar coeficientes de regressão polinomial para um modelo empírico que estabeleça a relação entre os fatores e as respostas do estudo. (SARAMAGO; STEFFEN JR; SILVA JR, 2008). O planejamento experimental parte do princípio que uma das variáveis exercerá maior influência no estudo. Novaes *et al.* (2017) explica que esse procedimento é pautado em um conjunto de experimentos definidos pela matriz do estudo com diferentes variáveis analisadas.

Polidoro (2016) aplicou a otimização da superfície de resposta no processo de pirólise oriundo do torrador de café para produção de bio-óleo. Já Rosa *et al.* (2016) analisou o planejamento experimental aplicado a avaliação do processo fermentativo de azeitonas de mesa. Nesse contexto, é notório os benefícios da utilização dessas técnicas, como: a redução do número de ensaios, estudo simultâneo de diversas variáveis, determinação da confiabilidade dos

resultados, representação do processo estudado através de expressões matemáticas (BUTTON, 2012).

3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

3.1 Obtenção e preparo da palha

As amostras de palha de cana-de-açúcar foram cedidas pela Usina Japungu Agroindustrial S.A, localizada no município de Santa Rita – PB. A palha foi conduzida até o Laboratório de Tecnologia Sucroalcooleira do CTDR/UFPB em sacos plásticos de 15 L e lavada em água corrente com auxílio de uma peneira para a remoção da areia remanescente. Em seguida, a palha foi colocada sobre uma lona para secagem ao ar livre, sob o sol (Figura 8).

Figura 8 – Secagem da palha lavada



Fonte: Autor, 2018.

Após a secagem, iniciou-se a moagem da palha utilizando um moinho de facas (SL – 31 Solab), a qual, em seguida, foi peneirada para uniformização da granulometria, em peneira de 12 mesh.

3.2 Planejamento experimental

A palha de cana-de-açúcar seguiu para a etapa de pré-tratamento com NaOH visando determinar as melhores condições para obtenção do etanol de segunda geração. Para tanto, o planejamento experimental linear 2^3 , com 3 (três) pontos centrais e 8 (oito) combinações únicas,

totalizando 11 (onze) ensaios, foi realizado. Os fatores independentes foram: temperatura (60, 80 e 100°C), tempo (20, 40 e 60 min) e concentração de hidróxido de sódio (0,25 – 0,5 0,75 M). A concentração de açúcares redutores foi a variável dependente ou resposta. As Tabelas 2 e 3 apresentam os fatores e níveis codificados e a matriz do planejamento experimental, respectivamente.

Tabela 2 – Níveis dos fatores utilizados no planejamento experimental do pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar com NaOH.

Fatores	Níveis experimentais		
	-1	0	+1
Concentração (M)	0,25	0,5	0,75
Tempo (min.)	20	40	60
Temperatura (°C)	60	80	100

Fonte: Autor, 2019.

Tabela 3 – Matriz do planejamento fatorial 2^3 com triplicata no ponto central.

Ensaios	Concentração	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
1	0,25 (-1)	20 (-1)	60 (-1)
2	0,75 (+1)	20 (-1)	60 (-1)
3	0,25 (-1)	60 (+1)	60 (-1)
4	0,75 (+1)	60 (+1)	60 (-1)
5	0,25 (-1)	20 (-1)	100 (+1)
6	0,75 (+1)	20 (-1)	100 (+1)
7	0,25 (-1)	60 (+1)	100 (+1)
8	0,75 (+1)	60 (+1)	100 (+1)
9	0,5 (0)	40 (0)	80 (0)
10	0,5 (0)	40 (0)	80 (0)
11	0,5 (0)	40 (0)	80 (0)

Fonte: Autor, 2019.

As análises do planejamento foram realizadas através do software Statistica (Statsoft 7.0, EUA).

3.3 Pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar

O pré-tratamento alcalino da palha foi realizado em béqueres de 600 mL, onde 40 g da palha moída e uniformizada, de acordo com o item 3.1, foram adicionadas juntamente com 400 mL de NaOH e, após homogeneização da mistura, o conteúdo foi vedado com plástico filme e conduzido ao banho-maria. Todos os ensaios foram realizados em diferentes condições de concentração de NaOH, de temperatura e de tempo, de acordo com a Tabela 3.

Logo após o tempo de reação determinado, a mistura foi filtrada em tecido de algodão para separação da palha (fração sólida) e do licor (fração líquida). O licor foi armazenado para posterior análise de açúcares redutores buscando identificar as amostras que apresentaram maior concentração dessas moléculas, caracterizando-se como um indicativo da eficiência do pré-tratamento. A fração sólida foi submetida a três lavagens com 200 mL de água destilada cada, para promover a retirada do excesso de NaOH e a neutralização do pH. Em seguida, ela foi levada para secagem em estufa a 50 °C, por 24 h, (FIG. 9) e depois armazenada em saco plástico.

Figura 9 – Palha de cana-de-açúcar selecionada para secagem em estufa



Fonte: Autor, 2019.

3.4 Análise de açúcares redutores

O licor obtido do pré-tratamento foi inicialmente centrifugado em centrífuga de bancada (Nova Instruments – NI 1811) a 400 rpm por 5 min. O sobrenadante foi selecionado para

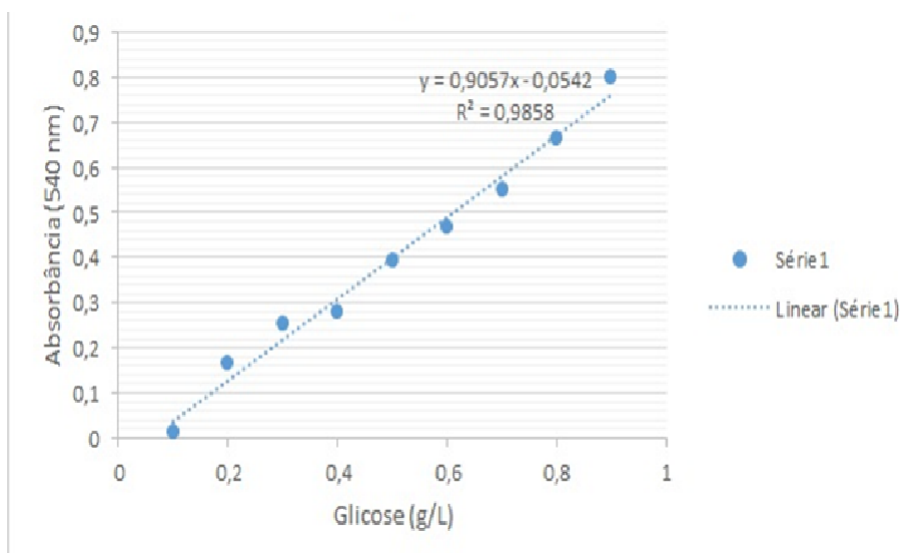
análise dos ART. A concentração dos ART foi determinada de acordo com Miller (1959), com modificações. Para tanto, 0,5 mL do sobrenadante de cada amostra foi para tubos falcon de 15 mL juntamente com 0,5 mL de DNS (ácido 3,5 dinitrosalicílico). Após agitação em vórtex (Phoenix – AP56) por 1 min para homogeneização, o material foi conduzido ao banho-maria a 105 °C durante 5 min e, em seguida, resfriada em banho de gelo, para interromper a reação. Por fim, 4 mL de água destilada foram adicionados às amostras. A absorbância das amostras foi avaliada por espectrofotometria a 540 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

A determinação da concentração dos ART presentes em cada amostra foi realizada por meio da utilização de uma curva padrão de glicose. Inicialmente, a partir de uma solução padrão de glicose, foram realizadas diluições de modo a obter concentrações de glicose de 0,1 a 1,0 g/L. Em seguida, em cada tubo de ensaio, foram adicionados 1 mL de cada diluição e 1 mL de DNS. As amostras foram conduzidas ao banho-maria a 100 °C, durante 5 min. Por fim, as amostras foram resfriadas em banho de gelo e sofreram adição de 4 mL de água destilada. Após homogeneização em vórtex por 1 min, as leituras das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro a 540 nm.

A Figura 10 mostra a curva de calibração feita com base na absorbância (nm) em contraponto com a concentração de glicose no meio (mg/mL). É importante salientar que o coeficiente de correlação foi próximo a 1.

A determinação da concentração de açúcares redutores nas amostras provenientes do pré-tratamento foi realizada em triplicata.

Figura 10 – Curva padrão de glicose para determinação dos açúcares redutores



Fonte: Autor, 2019.

3.5 Avaliação do rendimento e da solubilização da fração sólida e dos componentes macromoleculares

O rendimento da fração sólida, obtida após o pré-tratamento, foi determinada por gravimetria. Para tanto, realizou-se a pesagem da palha antes e após o pré-tratamento alcalino de acordo com a Equação 2:

$$y = \frac{MF}{MI} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

- y = Rendimento da fração sólida da palha (% m/m)
- MF: massa final da palha após o pré-tratamento com NaOH (g);
- MI: massa inicial da palha antes do pré-tratamento com NaOH (g);

$$Scm = 100 - y \quad (2)$$

Onde:

- Scm = solubilização dos componentes macromoleculares da palha (% m/m).

3.6 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

A espectroscopia na região do infravermelho foi realizada objetivando analisar a interação da radiação eletromagnética com os componentes da palha de cana-de-açúcar, ou seja, a mudança no estado rotacional das moléculas em dada quantidade de energia. Buscou-se analisar as variações e o modo de interação molecular dos grupos funcionais da matéria. As análises foram realizadas em Espectrofotômetro (Shimadzu, IR – Prestige), com o comprimento de onda variando de 400 a 4000 cm^{-1} e o branco do equipamento foi feito utilizando KBr.

4 ANÁLISE DOS DADOS: RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Pré-tratamento alcalino da palha de cana-de-açúcar

Como apresentado na Tabela 4, podemos observar que o ensaio 8, nas condições de 0,75M de NaOH, 60 min e 100 °C, foi o que promoveu uma maior liberação de açúcares redutores, 2,42 g/L, em comparação com os outros ensaios. Resende *et al.* (2019) realizou diversos pré-tratamentos para disponibilização de açúcares redutores a partir do bagaço de cana-de-açúcar. No experimento em questão, o autor encontrou melhor condições associando o pré-tratamento alcalino com hidróxido de sódio a hidrólise ácida com ácido sulfúrico, nas condições de concentração a 4%, proporção 1:10 (m/v) e tempo de 45 minutos em autoclave, encontrou o teor de 1,863g.L⁻¹ em açúcares redutores.

Gonçalves (2009) aplicou o pré-tratamento alcalino-oxidativo no bagaço de cana-de-açúcar analisando a influência de agentes oxidativos na sacarificação da celulose. O autor obteve 1,6 g/L em açúcares redutores no ensaio submetido ao pré-tratamento com H₂O₂ a 4%, pH 6 e 24 horas de exposição. Similarmente, Vasconcelos e Benachour (2015) também realizou o pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar utilizando H₂O₂ e alcançou 1,7 µmol/mL na análise dos ART liberados no processo.

Tabela 4 – Resultados obtidos com a fração líquida após o pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar

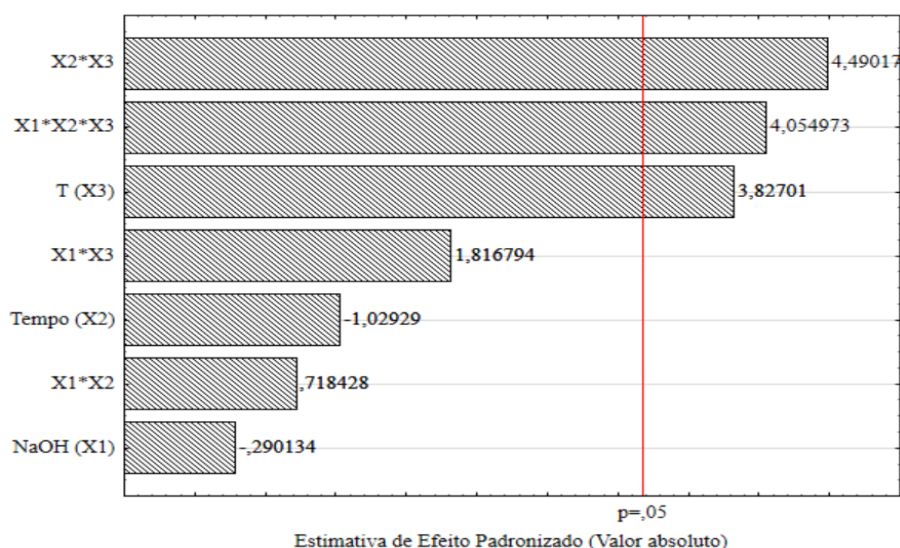
Ensaios	Concentração	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)	ART (g/L)
1	0,25 (-1)	20 (-1)	60 (-1)	1,95
2	0,75 (+1)	20 (-1)	60 (-1)	2,04
3	0,25 (-1)	60 (+1)	60 (-1)	1,79
4	0,75 (+1)	60 (+1)	60 (-1)	1,40
5	0,25 (-1)	20 (-1)	100 (+1)	2,06
6	0,75 (+1)	20 (-1)	100 (+1)	1,83
7	0,25 (-1)	60 (+1)	100 (+1)	1,97
8	0,75 (+1)	60 (+1)	100 (+1)	2,42
9	0,5 (0)	40 (0)	80 (0)	2,06
10	0,5 (0)	40 (0)	80 (0)	2,07
11	0,5 (0)	40 (0)	80 (0)	2,01

Fonte: Autor, 2019.

O objetivo do uso da metodologia do planejamento experimental é encontrar um modelo empírico com capacidade de prever o processo em estudo, através da avaliação das variáveis de entrada, concentração de NaOH, tempo e temperatura.

Através do diagrama de Pareto (Fig. 11) é possível identificar que os efeitos da temperatura (X3), da interação tempo e temperatura (X2 X3), bem como a interação dos três fatores são significativos (X1 X2 X3), ao nível de 95% de confiança. A temperatura e as interações mais significativas atuam estatisticamente de forma positiva sobre a quantidade de açúcares redutores, relacionando os fatores é possível perceber que o aumento da temperatura aumenta a quantidade de açúcares redutores disponíveis no licor após o pré-tratamento.

Figura 11 – Diagrama de Pareto para os açúcares redutores liberados na etapa de pré-tratamento.



Fonte: Autor, 2019.

O modelo matemático empírico, codificado de 1ª ordem que representa a concentração de açúcares redutores, está apresentado na Equação 1:

$$AR \text{ (g/L)} = 1,97 - 0,01X_1 - 0,04X_2 + 0,14X_3 + 0,03 X_1.X_2 + 0,07 X_1.X_3 + 0,16 X_2.X_3 + 0,15 X_1.X_2.X_3 \quad (1)$$

Os dados de análise de variância (ANOVA) para os AR estão apresentados na Tabela 5. O modelo que representa os açúcares redutores após o pré-tratamento alcalino

apresentou um bom coeficiente de explicação (R^2) com valor de 94,93%. O coeficiente de explicação fornece uma medida da proporção de variação explicada pela equação da regressão em relação à variação total das respostas, variando de 0 a 100% (RODRIGUES; IEMMA, 2009). A ANOVA também apresenta os valores de Probabilidade de Fisher (F), cujo valor indica a significância dos fatores avaliados, suas interações, erros e a falta de ajuste do experimento. Neste estudo, o F calculado foi menor que o tabelado, ou seja, o teste F apresentou um valor inferior a 1 e, dessa forma, o modelo não foi significativo.

Tabela 5- Análise de variância (ANOVA) para a concentração de açúcares redutores.

	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F _{calc}	R ² (%)
Regressão	0,59	7	0,08	8,03	94,93
Resíduo	0,03	3	0,01		
Falta de ajuste	0,03	1			
Erro puro	0,00	2			
Total	0,62				

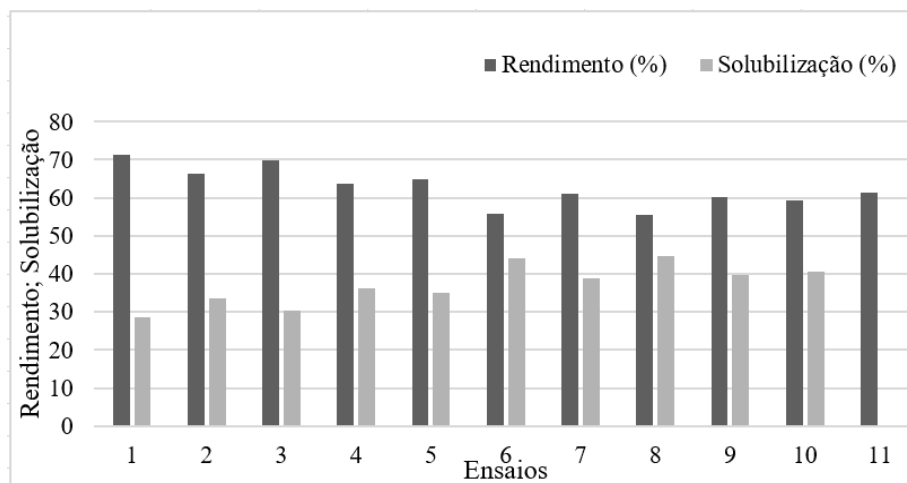
$F_{0,05;7;3} = 8,89$ (Teste F = $F_{calc}/F_{tab} = 0,90$)

Fonte: Autor, 2019.

4.2 Rendimento e solubilização da fração sólida

O rendimento da fração sólida foi calculado tendo como base a diferença de massa da palha antes e após o pré-tratamento. Os valores referentes ao rendimento e à solubilização da fração sólida estão apresentados na Figura 12.

Figura 12 – Resultado do rendimento e da solubilização dos componentes macromoleculares



Fonte: Autor, 2019.

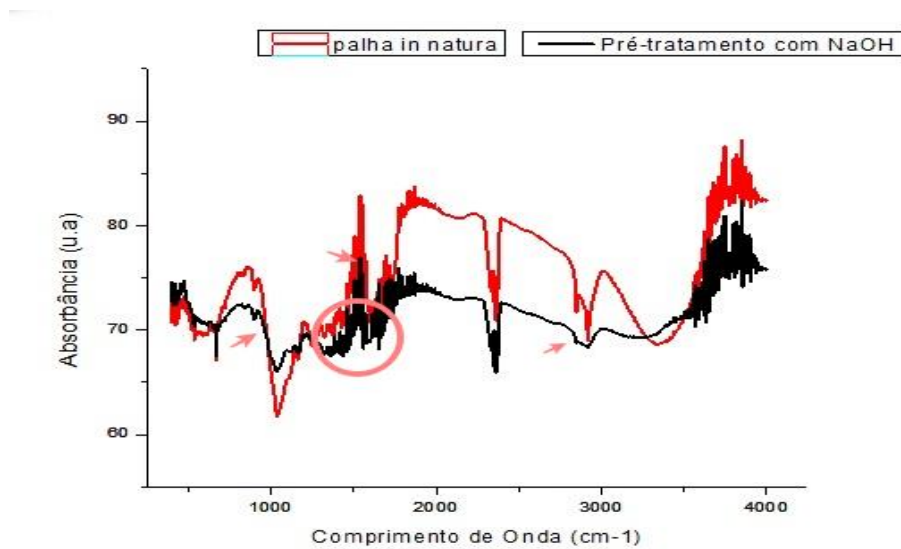
Correlacionando os ensaios é possível perceber que o experimento 8 apresentou a maior quantidade de açúcares redutores, como visto na seção anterior. Consequentemente, o seu rendimento foi o menor (55,40%) e a solubilização dos componentes macromoleculares maior (44,60%). Acredita-se que esse fator possa ter sido causado devido aos altos índices temperatura, concentração de NaOH e tempo (0,75 M, 60 min, 100 °C) ao qual o experimento em questão foi exposto conforme o planejamento experimental. Os ensaios 3 e 4 apresentaram as menores concentrações de açúcares redutores, os maiores rendimentos em termos de biomassa e as menores solubilizações dos componentes macromoleculares, indicando pouca remoção do complexo lignina, celulose e hemicelulose. Wolf (2011) efetuou o pré-tratamento e a deslignificação do bagaço de cana-de-açúcar utilizando NaOH 1% (m/v) atingindo um rendimento de 42,8%. Esse aspecto realça o potencial do NaOH na solubilização do complexo lignocelulósico.

Segundo Maziero (2013) a maior solubilização dos componentes macromoleculares indica alta deslignificação do material, como mostrado em seu experimento atrelando o pré-tratamento hidrotérmico à deslignificação alcalina do bagaço e da palha de cana-de-açúcar. A autora descreve que o bagaço apresentou maiores mudanças morfológicas comparado a palha, que demonstrou (sólido; líquido 1;10 m/v, NaOH 1%, 1 hora, 50 rpm, 100 °C) e mais severas de pré-tratamentos (Amostra 10, 50 min, 180 °C) não indicaram uma elevada solubilização de lignina e hemicelulose comparado as mesmas condições de processamento do bagaço.

4.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

De acordo com a Figura 13, ocorreram alterações estruturais nos intervalos de comprimentos entre 2846 cm^{-1} e 2960 cm^{-1} , correspondentes ao estiramento C-H em metoxilas aromáticas. Observou-se mudanças nas faixas a 890 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} . A cadeia entre 1300 cm^{-1} e 1700 cm^{-1} circulada na figura estima-se ser causada pelas vibrações do anel aromático e a deformação C-H e C=O (GAMBARATO, 2014).

Figura 13 – Espectros das amostras de palha de cana-de-açúcar *in natura* e pré-tratada com NaOH.



Fonte: Autor, 2019.

5 CONCLUSÃO

A palha de cana-de-açúcar tem apresentado crescente potencial para geração de etanol 2G, possibilitando um novo destino para esse resíduo, bem como aumentar a produção de etanol sem aumentar as áreas de plantio, ou seja, possibilita uma boa relação com o meio produtivo e ambiental.

Após a otimização do pré-tratamento do resíduo, pode-se perceber que a temperatura foi a variável mais significativa. Além disso, o hidróxido de sódio demonstrou potencial para hidrolisar componentes macromoleculares da biomassa em estudo.

Desta forma, o pré-tratamento com hidróxido de sódio demonstrou ser uma forma vantajosa e de baixo custo no aumento da solubilização dos componentes macromoleculares da palha, visando uma hidrólise enzimática eficiente para produção do etanol 2G.

6 REFERÊNCIAS

ANDRADE, L. F. de. Produção de etanol de segunda geração. Belo Horizonte: UFMG, 2014.

ANP. Autorização para produção de biocombustíveis. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/anp/pt-br/assuntos/producao-e-fornecimento-debiocombustiveis/autorizacao-para-producao-de-biocombustiveis>>. Acesso em 15 de nov. de 2021.

ARAUJO, G. J. F. de.; RONQUIM, A. F. **A utilização do bagaço de cana-de-açúcar para geração de energia elétrica:** o estudo de caso em uma usina sucroenergética de grande porte. Revista de Agronegócio – Reagro, Jales, v.7, n.2, p. 17-29, jul./dez., 2018.

ASSUMPÇÃO, S.M.N. de. Combined chemical pretreatment of sugarcane bagasse in order to second generation ethanol production. 99 pp. 2015. Master Dissertation – Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.

BALAT, M. **A production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway:** A review. Energy Conversion and Management, v.52, p. 858-875, 2011.

BALAT, M.; BALAT, H.; ÖZ, C. Progress in bioethanol processing. Progress in energy and combustion science, v.34, n.5, p.551-573, 2008.

BRASIL. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Diagnóstico da produção sustentável da palma de óleo no Brasil. Brasília: Mapa/ACE 2018.

BIZZO, W. A., LENÇO, P. C., CARVALHO, D. J., VEIGA, J. P. S. The generation of residual biomass during the production of bio-ethanol from sugarcane, its characterization and its use in energy production. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 29, p. 589–603, 2014.

BEZERRA, M. A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. Talanta 2008, 76, 965.

BIZERRA, A. M. C.; QUEIROZ, J. L. A. de.; COUTINHO, D. A. M. **O impacto ambiental dos combustíveis fósseis e dos biocombustíveis:** as concepções de estudantes do ensino médio sobre o tema. **Revista Brasileira de Educação Ambiental (RevBEA)**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 299–315, 2018. DOI: 10.34024/revbea.2018.v13.2502. Disponível em: <<https://periodicos.unifesp.br/index.php/revbea/article/view/2502>>. Acesso em: 27 nov. 2021.

BUTTON, S. T. Metodologia para planejamento experimental e análise de resultados. Programa de pós-graduação em engenharia mecânica, Campinas, 2012. Disponível em: <<http://www.fem.unicamp.br/~sergio1/pos-graduacao/IM317/apostila2012.pdf>>. Acesso em: 27 de nov. 2021.

CABRAL, M. M. S.; ABUD, A. K. de. S.; ROCHA, M. S. R. dos. S.; ALMEIDA, R. M. R. G.; GOMES, M. A. Composição da fibra da casca de coco verde in natura e após o pré-tratamentos químicos. ENGEVISTA, V. 19, n.1 , p. 99-108, Janeiro 2017.

CALDAS, R. C. R. de. B. Biorefino químico do bagaço de cana-de-açúcar em reator de leito de lama com produção de sacarídeos e lignina. Recife: UFPE, 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química.

CASTRO, A. M, de.; PEREIRA JUNIOR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. Química Nova, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010. FapUNIFESP (SciELO).

CAVALCANTE, Z. V.; SILVA, M. L. S. da. A importância da revolução industrial no mundo da tecnologia. In: Encontro Internacional de Produção Científica, VII. Maringá, p. 01-03, 2011.

CHEMMÉS, C. S. ; SILVA, F. C. ; SOUZA, L. S. ; AZEVEDO JUNIOR, R. A. ; Campos, L. M. A. . Estudo de Métodos Físico-Químicos no Pré-Tratamento de Resíduos Lignocelulósicos para produção de Etanol de Segunda Geração. SEPA. Seminário Estudantil de Produção Acadêmica, UNIFACS, v. 12, p. 1, 2013.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA – EPE. **Balanco Energético Nacional 2018:**Ano base 2017. Rio de Janeiro: EPE, 2018.

FANGUKM, A.; REUSANG, A. **Biohydrogen production from sugarcane bagasse hydrolysate by elephant dung:** Effects of initial pH and substrate concentration. International Journal of Hydrogen Energy, 36:8687-8696,2010.

FENGEL, D.; WEGENER, G. Wood chemistry, ultrastruture, reactions. Berlin: Walter de Gruyter & CO, 613p. 1989.

FIALHO, M. L.; CARNEIRO, A. P. C.; REIS, K. P.; CAMPOS, O. N.; FRANCO, M. V. O impacto da vinhaça produzida pela cana-de-açúcar na produção de etanol – poluição ambiental. Intraciência, 2019. Disponível em:<http://uniesp.edu.br/sites/_biblioteca/revistas/20190312105011.pdf >. Acesso em: 05 de novembro, 2021.

FLORENCIO, C. **Microrganismos produtores de celulases:** seleção de isolados de *Trichoderma* spp. São Carlos: UFSCar, 83 f., 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos.

GAMBARATO, B. C. Isolamento e caracterização de ligninas de palha de cana-de-açúcar. 2014. 106 p. Tese (doutorado). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

GAETE, A. V.; TEODORO, C. E. de S.; MARTINAZO, A. P. **Utilização de resíduos agroindustriais para produção de celulase: uma revisão.** Research, Society and Development, v. 9, n. 8, e567985785, 2020 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409

GALBE, M.; ZACCHI, G. Pretreatment of Lignocellulosic aterias for Efficient Bioethanol Production, Adv Biochem Engin/Biotechnol (chapter in a book), Springer Verlag Berlin Heidelberg, 108, 41-65, 2017.

GARBIN, A. P.; GARCIA, N. F.L.; CAVALHEIRO, G. F.; SILVESTRE, M. A.; RODRIGUES, A.; PAZ, M. F. da; FONSECA, G. G.; LEITE, R. S. R. **β -glucosidase from thermophilic fungus *Thermoascus crustaceus*: production and industrial potential.** Anais da Academia Brasileira de Ciências, [S.L.], v. 93, n. 1, p. 1-11, 2021. FapUNIFESP (SciELO).

GOMES, M. A. Destoxificação de hidrolisados lignocelulósicos visando à produção e etanol 2G. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal de Alagoas. Maceió, 2015.

GONÇALVES, C. Aplicação de agentes oxidantes no pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar e sua influência na sacarificação da celulose. 2009. 73 p. Dissertação (Mestrado – Escola de Engenharia de Mauá). Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, São Paulo, 2009.

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. Bioresource Technology, v. 100, p. 10–18, 2009.

KIM, S.; HOLTZAPPLE, M. T. Effect of structural features on enzymedigestibility of corn stover. Bioresources and Technology, v. 97, p. 583 - 591, 2006.

KUMAR,P.; BARRETT, D. M.; DELWICHE,M. J.; STROEVE, P. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. Industrial & Engineering Chemistry Research , v.8, n. 48, p. 3713–3729, 2009.

LINO, A. G. Composição química e estrutural da lignina e lipídios do bagaço e palha da canade-açúcar. Viçosa, UFV, 2015. 97p.

LIU, S.; XU, F.; GE, X.; LI, Y. Comparison between ensilage and fungal pretreatment for storage of giant reed and subsequent methane production. Biores Technol 209:246-253, 2016.

LORENZI, B. R.; ANDRADE, T. H. N. de. O etanol de segunda geração no Brasil políticas e redes sociotécnicas. RBCS ,Vol. 34 n° 100 /2019: e3410014

LOPES, E. R.; MEDINA, A. L.; RIBEIRO, A. S.; BRANDALISE, J. N.; NUNES, A. M. Caracterização elementar da casca de arroz e suas cinzas por métodos após decomposição ácida com sistema de refluxo. Quim. Nova, Vol. 40, No. 9, 1009-1017, 2017.

LORENA, E. M. G.; BEZERRA, A. P. X. de. G.; SANTOS, Í. G. S. dos.; GABRIEL, F. Â.; HOLANDA, R. M. de. Gestão de resíduos industriais do setor sucroalcooleiro: estudo de caso de Pernambuco, Brasil. R. Gest. Industr., Ponta Grossa, v. 13, n. 2, p. 182-197, jun./ago. 2017.

MANZOOR, A. et al. **Dilute sulfuric acid:** a cheap acid for optimization of bagasse pretreatment. Science International, v.24, n.1, p. 41-45, 2012.

MARCO, É. G. de. Produção e caracterização de celulase produzidas por um isolado de Bacillus sp. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Porto Alegre, 2012.

MAZIERO, P. Estudos topoquímicos durante obtenção de etanol a partir da celulose de bagaço e palha de cana-de-açúcar. 2013. 180p. Tese (doutorado). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

MENDES, K.C.S.; Estudo do processo de pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar para a otimização da produção de xilose com reduzida formação de produtos de degradação. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, PE, 2013.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry Washington, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MORAIS, P. P., PASCOAL, P.V., ROCHA, E.S., MARTINS, E.C.A. **Etanol de 2 geração:** atual produção e perspectivas. Bioenergia em revista: diálogos, n.1, p. 45-57, 2017.

MORI, N. R. **Etanol celulósico a partir da palha e do bagaço de cana-de-açúcar:** pré-tratamentos e conversão biotecnológica não convencionais. 2015. 199f. Tese (doutorado). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

MOTA, C. J. A.; MONTEIRO, R. S. **Química e Sustentabilidade:** novas fronteiras em biocombustíveis. Química Nova. v. 36, n. 10, p. 1483–1490, 2013.

NASCIMENTO, V. M. Pré-tratamento alcalino (NaOH) do bagaço de cana-de-açúcar para produção de etanol e obtenção de xilooligômeros. 2011. 136 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

NICOLA, D. Q. Pré-tratamento ácido da biomassa palha mais bagaço de cana-de-açúcar. 2017. 51 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2017.

NOVAES, C. G.; YAMAKI, R. T.; PAULA, V. F. de.; NASCIMENTO JÚNIOR, B. B. do.; BARRETO, J. A.; VALASQUES, G. S.; BEZERRA, M. A. Otimização de métodos analíticos usando metodologia de superfície de resposta – parte I: variáveis de processo. *Rev. Virtual Quim.*, 2017, 9 (3), 1184-1215.

NUNES, J. M. N. Produção de Enzimas Celulolíticas por Linhagens do Fungo *Trichoderma*. 2014. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Engenharia Química, Departamento da Engenharia Rural, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2014.

OLIVEIRA, C. M. de. Integração energética da biorrefinaria de cana-de-açúcar para produção de etanol de primeira e segunda geração e energia elétrica. 2014. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.

PACHECO, T. F. Produção de Etanol: Primeira ou Segunda Geração?. Circular Técnica 04, v. 1, p. 6, 2011.

PALMQVIST, E.; HAHN-HAGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. *Bioresource Technology*, 74, p.17-24, 2000.

PARK, S. *et al.* **Cellulose crystallinity index**: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnology for Biofuels*, v. 3, n. 10, 2010.

PASSOS, D. de. F.; PEREIRA, N. J.; CASTRO, A. M. de. A comparative review of recent advances in cellulases production by *Aspergillus*, *Penicillium* and *Trichoderma* strains and their use for lignocellulose deconstruction. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, v.14, p.60–66, 2018.

PATEL, A.; SINGHANIA, R.; SIM, S.; PANDEY, A. **Thermostable cellulases**: current status and perspectives. *Bioresource technology*, 279, 385 – 392, 2019.

PEREIRA, N. R. L.; ANJOS, F. E.; MAGNAGO, R. F. **Resíduos lignocelulósicos da bananicultura**: uma revisão sobre os processos químicos de extração da celulose. *Rev. Virtual Quim*, Santa Catarina, v. 11, n. 4, 2019.

POLI, M. de. *Roadmap Tecnológico da Produção de Etanol de Segunda Geração a Partir do Bagaço e da Palha da Cana-de-Açúcar*. Rio de Janeiro: UFRJ, 2019. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos.

POLIDORO, A. dos. S. Otimização por superfície de resposta do processo de pirólise de resíduo oriundo do torrador de café (SILVERSIN) para a produção de bio-óleo e caracterização química por cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas quadrupolar. 2016. 142f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Porto Alegre, 2016.

POP, J., LAKNER, Z., HARANGI-RÁKOS, M., FÁRI, M. **The effect of bioenergy expansion:** food, energy, and environment. Renewable and Sustainable. Energy Reviews 32, p. 559–578, 2014.

RAMOS, L. P. The chemistry involved in the pretreatment of lignocellulosic materials. 2003.

RAJ, T.; KAPOOR, M.; GAUR, R.; CHRISTOPHER, J.; LAMBA, B.; TULI, D. K.; KUMAR, R. Physical and chemical characterization of various indian agriculture residues for biofuels production. Energy and Fuels, v. 29, p. 3111-3118, 2015.

RESENDE, J. F.; SOUZA, . I. M.; MONGELLI, L. T.; MAIA, L. F. Estudo de pré-tratamentos para disponibilização de açúcares redutores a partir do bagaço de cana-de-açúcar. Congresso Brasileiro de Engenharia Química em iniciação científica, 2019. Disponível em: < <https://cobeqic2019.com.br/trabalhos finais/PBIO44.pdf>>. Acesso em: 07 de nov. de 2021.

RIBEIRO H.; FICARELLI, T. R. de. A. Queimadas nos canaviais e perspectivas dos cortadores de cana-de-açúcar em Macatuba, São Paulo. Saúde Soc. São Paulo, v.19, n.1, p.48-63, 2010.

RODRIGUES, L. S. et al. Gerenciamento de resíduos sólidos agrossilvipastoris e agroindustriais. Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia (Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG), n. 68, 2013.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. Planejamento de experimentos e otimização de processos. 2. Ed. Campinas, SP: Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, 2009.

RODRIGUES, L. S. et al. Gerenciamento de resíduos sólidos agrossilvipastoris e agroindustriais. Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia (Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG), n. 68, 2013.

ROSA, A. D.; STEFFENS, C.; FERNADES, I. A; RIGO, E.; BACKES, G. T.; SILVEIRA, S. M. da. Aplicação de planejamento experimental para avaliar o processo fermentativo de azeitonas de mesa. PERSPECTIVA, Erechim. v. 40, n.151, p. 07-18, setembro/2016.

ROSA, S. E. S. da.; GARCIA, J. L. F. **O etanol de segunda geração:** limites e oportunidades. Revista do BNDES, Rio de Janeiro, n.32 , p. 117-156, dez. 2009.

ROCHA, M. S. R. S.; ALMEIDA, R. M. R. G.; CRUZ, A. J. G. Avaliação do potencial energético de resíduos agroindustriais provenientes de diferentes regiões brasileiras. *Engvista*. V. 19, n.1, p. 217-235, Janeiro 2017.

ROGELJ, J.; DEN-ELZEN, M.; HOHNE, N. *et al.* Paris Agreement climate proposals need a boost to keep warming well below 2 °C. *Nature* 534, 631–639, 2016.

SAAD, M. B. W. Avaliação técnica e econômica preliminar da produção de etanol via hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar. 2010. 138p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP, 2010.

SÁNCHEZ, C. **Lignocellulosic residues:** biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advance*, v.27, n.2, p.185-94, 2009.

SANTOS, A. M. dos. **Caracterização química da biomassa:** Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração. Rio Largo: Centro de Ciências Agrárias, 63 f., 2018. Dissertação (Mestrado em Energia da Biomassa) – Universidade Federal de Alagoas.

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

SANTOS, F. A.; QUEIROZ, J. H. de.; COLODETTE, J. L.; MANFREDI, M.; QUEIROZ, M. E. L. R.; CALDAS, C. S.; SOARES, F. E. F. Otimização do pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar visando a produção de etanol celulósico. *Quim. Nova*, Vol. 37, No. 1, 56-62, 2014.

SARAMAGO, S. P.; STEFFEN JÚNIOR, V.; SILVA, F. D. Planejamento de experimentos e otimização de sistemas mistos. *FAMAT em Revista*, nº 11, 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/228551708_PLANEJAMENTO_DE_EXPERIMENTOS_E_OTIMIZACAO_DE_SISTEMAS_MISTOS>. Acesso em: 27 de nov. 2021.

SARKAR, N.; GHOSH, S. K.; BANNERIEE, S.; AIKAT, K. **Bioethanol production from agricultural wastes:** An overview. *Renewable Energy*, v. 37, p.19-27, 2012.

SFEIR, F. P. **Resíduos da indústria sucroalcooleira:** vinhaça e torta de filtro. 2012. 32 folhas. Monografia, Especialização em Ensino de Ciências - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2013.

SILVA, J. P. N. da.; SILVA, M. R. N. da. Noções da cultura de cana-de-açúcar. Inhumas: IFG; Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012. 105 p.

SILVA, I. de. S. Pré-tratamento alcalino do bagaço da palha de cana-de-açúcar em reator de leito fixo percolado: avaliação do efeito da temperatura e concentração de NaOH na digestibilidade enzimática do material. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2014.

SILVA, R. et al. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. Química Nova, Maringá: UEM, v. 32, n. 3, 2 abril 2009. p. 661-671.

SILVA, J. P. A.; MUSSATO, S. I.; ROBERTO, I. C.; TEIXEIRA, J. A. Fermentation medium and oxygen transfer conditions that maximize the xylose conversion to ethanol by *Picia stipites*. Renewable Energi, v. 37, p. 259 – 265. 2012.

SOUZA, R. B. A. de. Estudo do pré-tratamento hidrotérmico e hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar. São Carlos: UFSCar, 106 p., 2016. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos.

UNICA. **União da Indústria de Cana-de-Açúcar. Etanol e bioeletricidade:** a cana de açúcar no futuro da matriz energética. Souza, E. I.; Macedo, I. C. (Coords.) São Paulo: Luc Projetos de Comunicação, 2010.

VASCONCELOS, G. S.; BENACHOUR, M. Estudos das etapas de pré-tratamentos e deslignificação da palha de cana-de-açúcar. Recife: UFPE, 2015.

VAZ JUNIOR, S. Aproveitamento de resíduos agroindustriais: uma abordagem sustentável. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2020.

VIEIRA, R. C.; ANTUNES, D. P. C.; SILVA, M. C. S.; ALMEIDA, R. M. R. G.; BISPO, V. G. Pré-tratamento de bagaço e palha de cana-de-açúcar visando a deslignificação para produção de etanol. Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, [S.L.], p. 1-8, fev. 2015. Editora Edgard Blücher.

WANG, W.; CHEN, X.; TAN, X.; WANG, Q.; LIU, Y.; HE, M.; YU, Q.; QI, W.; LUO, Y.; ZHUANG, X. Feasibility of reusing the black liquor for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. Bioresource Technology, [s.l.], v. 228, p. 235-240, mar. 2017. Elsevier BV.

WANG, S.; LY, M.; Yang, J.; ZHOU, Y; Xu, B. Effects and Mechanism of Metal Ions on Enzymatic Hydrolysis of Wheat Straw after Pretreatment. BioResources 13(2), 2617-2631, 2018.

WOLF, L. D. Pré-tratamento organossolve do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol e obtenção de xilooligômeros. 2011. 148 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

WYMAN, C. E.; YANG, B. Cellulosic biomass could help meet California's transportation fuel needs. California Agriculture, v. 63, n. 4, 2009.

ZAPATA, Y. M.; GALVIZ-QUEZADA, A.; OSORIO ECHEVERRI, V. M. Cellulases production on paper and sawdust using native *Trichoderma asperellum*. *Universitas Scientiarum*, [S. l.], v. 23, n. 3, p. 419-436, 2018.

ZHENG, Y.; PAN, Z.; ZHANG, R. Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production. *Int. J Agric. & Biol. Eng.*, v. 2, n. 3, p. 51-68, set., 2009.