

FERNANDO ALMEIDA SANTOS

**AVALIAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO HIDROTÉRMICO
DE PALHAS DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA PRODUÇÃO DE
ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2013

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

S237a
2013

Santos, Fernando Almeida, 1981-

Avaliação do pré-tratamento hidrotérmico de palhas de
cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração /
Fernando Almeida Santos. – Viçosa, MG, 2013.
xvi, 94f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: José Humberto de Queiróz.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.79-92.

1. Biocombustíveis. 2. Cana-de-açúcar. 3. Etanol.
4. Cana-de-açúcar - Processamento. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular.
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola. II. Título.

CDD 22 ed. 662.88

FERNANDO ALMEIDA SANTOS

**AVALIAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DE
PALHAS DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA PRODUÇÃO DE
ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 28 de março de 2013.

Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz

Celso Silva Caldas

Jorge Luiz Colodette
(Coorientador)

Sarita Cândida Rabelo
(Coorientadora)

José Humberto de Queiroz
(Orientador)

DEDICO

Aos meus pais Antônio Borborema Santos (*in memoriam*) e Delci A. Souza.

À minha querida filha Maria Fernanda Santos e sobrinhos.

Aos meus irmãos Fredson Charles e Fred Adson.

A Jesus Cristo, Tia Suely, Mônica e Arnaldo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela fé, saúde, coragem e por ter-me dado sabedoria e inspiração para realizar este trabalho.

Em especial agradeço aos meus pais Antônio Borborema Santos (*in memoriam*) e Delci Almeida de Souza, pelo carinho, amor, e principalmente, por ter educado e criado a minha filha Maria Fernanda Santos. Agradeço também aos meus irmãos Fredson Charles e Fred Adson, que mesmo estando distante me proporcionaram estímulo, apoio e confiança.

À minha querida “bebê” Maria Fernanda Santos, pela alegria, felicidade e amor. É tão difícil expressar através das palavras o quão é lindo ter você em minha vida. Simplesmente, TE AMO!

À minha namorada Mônica, que sempre esteve ao meu lado, incentivando e apoiando. Agradeço pelo seu carinho, amor, companheirismo e paciência ao longo desse tempo.

À minha Tia Suely e madrinha Lúcia pelo apoio, carinho e por acreditar no meu potencial.

Aos professores, orientadores e amigos José Humberto e Maria Eliana, pela oportunidade concedida, orientação, paciência e cordialidade com que sempre me recebeu. Espero que nossa amizade dure por toda a vida.

Aos amigos Celso Caldas e Sarita Rabelo, pela orientação na realização desse trabalho, profissionalismo, amizade e pela parceria na publicação de livros, artigos e capítulos.

Aos professores Sergio Fernandes e Caetano de Souza, e suas respectivas famílias, um muito obrigado pela orientação, aprendizado, amizade e pelos momentos de alegria no “restaurante”.

Ao professor Jorge Luiz Colodette, pelo respeito, ensinamento, confiança, profissionalismo, otimismo e pela oportunidade de aprender e trabalhar junto a uma equipe de altíssima competência e credibilidade, onde a cada dia aprendi algo novo. Espero poder manter esses laços cada vez mais fortes e também de poder retribuir todo apoio e confiança que me foi dado.

Aos meus amigos de Janaúba: Arnaldo, Gerônimo, Gil, Dimar, Harrison e Renato por serem mais que amigos.

Aos amigos conquistados em Viçosa: Izaías, Carlos Joubert, Flavinho, Chico, Nando, Zé do Carmo, Jovelino, Ricardo Natalino, Rui, José Luiz, Eduardo da química e Eduardo da bioquímica, pela ajuda, amizade e alegria proporcionada.

Aos amigos do laboratório de Metabolismo e Fermentação: Wilton, Larissa, Renata, Filippe, Hugo, Izabela pela convivência e pelos bons momentos ao longo dessa jornada.

Agradeço aos amigos conquistados no Laboratório de Celulose e Papel, em especial Fernando Gomes, Maurício, Mauro, Cláudio, Gustavo e Brunela que contribuíram para a realização desse trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

E finalmente, a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para tornar possível a realização desse trabalho, os mais sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

FERNANDO ALMEIDA SANTOS, filho de Antônio Borborema Santos (*in memoriam*) e Delcy Almeida de Souza, é pai de Maria Fernanda Lourenço Santos, nasceu em 01 de maio de 1981, na cidade de Janaúba – MG. Possui graduação em Engenharia Agrônômica pela Universidade Estadual de Montes Claros (2006) e Mestrado em Fitotecnia pela Universidade Federal de Viçosa (2008). Em março de 2009 iniciou no Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, em nível de Doutorado, pela Universidade Federal de Viçosa, submetendo a defesa de tese em 28 de março de 2013. Tem desenvolvido projetos associado ao setor sucroenergético. Publicou cinco livros, dentre eles “Cana-de-Açúcar: Bioenergia, Açúcar e Etanol Tecnologias e Perspectivas”; (português e inglês), sendo este utilizado como livro texto em diversas universidades e “Bioenergia e Biorrefinaria # Cana-de-Açúcar e Espécies Florestais #”. Tem experiência na área de Engenharia Agrônômica, com ênfase em Fitotecnia, Bioquímica Agrícola e Biorrefinaria.

“Escolha um trabalho que ama e não terá que trabalhar um único dia em sua vida.”

Provérbio Chinês

“Porque o senhor é quem dá sabedoria, e de sua boca é que procedem à ciência e a prudência”

Provérbios 2:6

“A voz de Deus troveja maravilhosamente; Ele faz coisas grandiosas, acima do nosso entendimento”

Jó 37:5

“É como árvore plantada à beira de águas correntes: Dá fruto no tempo certo e suas folhas não murcham. Tudo o que ele faz prospera”

Salmo 1:3

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xi
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1. Biomassa lignocelulósica.....	4
3.1.1. Organização estrutural da biomassa lignocelulósica.....	6
3.1.1.1. Celulose.....	7
3.1.1.2. Hemicelulose.....	8
3.1.1.3. Lignina.....	9
3.1.1.4. Extrativos e outros.....	11
3.1.2. Recalcitrância da biomassa lignocelulósica.....	11
3.2. Setor sucroenergético brasileiro.....	14
3.2.1. A cultura da cana-de-açúcar.....	14
3.2.2. Processo de produção de açúcar e etanol.....	16
3.2.3. Bagaço de cana-de-açúcar.....	22
3.2.4. Palha de cana-de-açúcar.....	24
3.3. Produção de etanol celulósico a partir da cana-de-açúcar.....	26
3.3.1. Pré-tratamento da biomassa lignocelulósica.....	32
3.3.1.1. Tipos de pré-tratamentos.....	33
3.3.1.1.1. Pré-tratamentos físicos.....	33
3.3.1.1.2. Pré-tratamentos químicos.....	34
3.3.1.1.3. Pré-tratamentos biológicos.....	35
3.3.1.1.4. Pré-tratamentos combinados.....	35
3.3.2. Hidrólise da biomassa lignocelulósica.....	41
3.3.2.1. Hidrólise ácida.....	41
3.3.2.2. Hidrólise enzimática.....	42
3.3.3. Processo fermentativo.....	45

3.3.3.1. Microrganismos fermentativos.....	45
3.3.3.2. Formas de condução do processo fermentativo.....	46
3.4. Inclusão da produção de etanol celulósico à destilaria padrão.....	48
4. MATERIAL MÉTODOS.....	52
4.1. Matéria-prima.....	52
4.2. Preparação da palha de cana-de-açúcar.....	52
4.3. Determinação do teor de umidade.....	53
4.4. Determinação do Poder Calorífico.....	53
4.5. Caracterização química da palha de cana-de-açúcar.....	54
4.5.1. Determinação dos teores de carboidratos.....	54
4.5.2. Determinação de extrativos.....	54
4.5.3. Determinação do teor de lignina insolúvel e solúvel.....	55
4.5.4. Determinação do teor de cinzas.....	56
4.5.5. Determinação do teor de minerais.....	57
4.6. Planejamento experimental do pré-tratamento hidrotérmico.....	57
4.7. Hidrólise enzimática da palha pré-tratada.....	59
4.8. Análise estatística.....	60
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
5.1. Caracterização química da palha de cana-de-açúcar em diferentes estados do Brasil.....	61
5.2. Otimização do pré-tratamento hidrotérmico.....	65
5.2.1. Efeito do pré-tratamento hidrotérmico sobre a composição química da palha.....	66
5.2.2. Hidrólise enzimática da palha pré-tratada.....	69
5.2.3. Superfície de resposta do pré-tratamento hidrotérmico.....	73
5.2.4. Análise do rendimento em glicose.....	76
6. CONCLUSÕES.....	78
7. BIBLIOGRAFIA.....	79
8. ANEXO.....	92

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fontes de biomassa.....	5
Figura 2. Principais componentes químicos da biomassa lignocelulósica.....	6
Figura 3. Representação esquemática da molécula de celulose.....	8
Figura 4. Representação esquemática da hemicelulose.....	9
Figura 5. Precursores primários da lignina.....	9
Figura 6. Representação esquemática da lignina de eucalipto.....	10
Figura 7. Estrutura recalcitrante da biomassa lignocelulósica.....	12
Figura 8. Ligações de hidrogênio supramolecular da celulose.....	13
Figura 9. Partes constituintes da cana-de-açúcar.....	15
Figura 10. Composição química da cana-de-açúcar.....	15
Figura 11. Fluxograma de uma unidade produtora de açúcar e etanol.....	18
Figura 12. Representação esquemática da produção de etanol celulósico....	27
Figura 13. Rendimento teórico da produção de etanol por hectare de cana processada.....	29
Figura 14. Efeito do pré-tratamento na biomassa lignocelulósica.....	33
Figura 15. Degradação dos componentes presentes na biomassa.....	39

Figura 16. Processo de hidrólise anexo à destilaria padrão.....	49
Figura 17. Representação de uma biorrefinaria de cana-de-açúcar.....	50
Figura 18. Perfis da liberação de glicose nos 20 ensaios de pré-tratamento hidrotérmico.....	71
Figura 19. Curvas de superfície de resposta do processo de pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar. (A) liberação de glicose em função do tempo e da relação palha/água; (B) liberação de glicose em função da temperatura e da relação palha/água; (C) liberação de glicose em função da temperatura e do tempo.	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química de diferentes tipos de biomassa lignocelulósica.....	7
Tabela 2. Composição mássica e energética da cana-de-açúcar (base seca).....	28
Tabela 3. Produção de etanol a partir do bagaço (litros / tonelada de bagaço).....	31
Tabela 4. Efeito de diferentes pré-tratamentos na biomassa lignocelulósica.....	38
Tabela 5. Composição química da palha de cana-de-açúcar em diferentes estados do Brasil.....	61
Tabela 6. Teor de minerais (Mg, K, Ca, Mn, Fe, Cu e P) da palha de cana-de-açúcar em diferentes estados do Brasil.....	63
Tabela 7. Poder calorífico da palha de cana em diferentes estados do Brasil.....	64
Tabela 8. Faixa de valores estudados no planejamento composto central.....	65
Tabela 9. Matriz DCCR com as diferentes condições de pré-tratamento.....	66
Tabela 10. Efeito do pré-tratamento hidrotérmico nos teores de celulose, hemicelulose e lignina presentes na palha de cana-de-açúcar.	68

Tabela 11. ANOVA para superfície de resposta do modelo quadrático do processo de otimização do pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana..... 73

Tabela 12. Rendimentos obtidos através do pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar, de acordo com o planejamento experimental..... 77

RESUMO

SANTOS, Fernando Almeida, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2013. **Avaliação do pré-tratamento hidrotérmico de palhas de cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração.** Orientador: José Humberto de Queiroz. Coorientadores: Jorge Luiz Colodette e Sarita Cândida Rabelo.

Com o ímpeto de substituir os combustíveis fósseis, pelo menos parcialmente, surgiu nas últimas décadas o interesse por fontes alternativas de energia. Neste contexto, considerando o crescente desenvolvimento alcançado pelo setor sucroenergético brasileiro, a palha de cana-de-açúcar vem ganhando cada vez mais destaque como matéria-prima para produção de biocombustíveis. Devido à estreita associação recalcitrante entre os três componentes poliméricos da palha de cana (celulose, hemicelulose e lignina), a liberação dos monossacarídeos como fonte de açúcares fermentescíveis para produção de etanol está entre as prioridades nas áreas de pesquisa e desenvolvimento do etanol celulósico. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar quimicamente a palha de cana-de-açúcar em diferentes estados do Brasil e otimizar a etapa de pré-tratamento hidrotérmico visando à produção de etanol celulósico, através do planejamento experimental. A palha de cana-de-açúcar cultivar RB867515 foi colhida logo após a colheita mecanizada nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná Alagoas e Mato Grosso. A palha foi submetida ao processo de secagem, sendo posteriormente moída para análises da sua composição química, tais como: teor de celulose, hemiceluloses, lignina total, extrativos totais, cinzas e minerais. O pré-tratamento hidrotérmico foi realizado de acordo com o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), com o objetivo de avaliar a influência do tempo (min), da temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e da relação palha/água (%) na liberação de glicose após a hidrólise enzimática. A hidrólise enzimática foi conduzida a 50°C utilizando celulasas na concentração de 15 FPU (filter paper unit) por grama de palha pré-tratada e foi acompanhada por 72 horas. Os resultados da caracterização química mostraram que as condições edafoclimáticas dos estados avaliados pouco influenciam na composição química da palha. O pré-tratamento hidrotérmico mostrou-se bastante eficiente na remoção das hemiceluloses, além de fornecer substratos de alta susceptibilidade à hidrólise enzimática. Pré-tratamentos

hidrotérmicos com temperaturas de 190 e 210 °C proporcionaram maior rendimento de hidrólise da celulose, chegando a valores próximos de 100%, mostrando a sua eficiência sobre a recalcitrância da palha de cana-de-açúcar e seu potencial na produção de etanol celulósico.

ABSTRACT

SANTOS, Fernando Almeida, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March 2013. **Evaluation of hydrothermal pretreatment of sugar cane straw aiming second generation ethanol production.** Adviser: José Humberto de Queiroz. Co-advisers: Jorge Luiz Colodette and Sarita Cândida Rabelo.

With the objective of replacing fossil fuels, at least partially, in recent decades the interest in alternative energy sources has increased. In this context, considering the increasing development of the Brazilian sugarcane industry, sugarcane straw has been gaining increasing prominence as a feedstock for biofuel production. Given the close recalcitrant association between the three polymeric components of sugarcane straw (cellulose, hemicellulose and lignin), the release of monosaccharides as a source of fermentable sugars for ethanol production is one of the priorities in the field of cellulosic ethanol research and development. The objective of the present study was to chemically characterize sugarcane straw from different regions of Brazil and optimize a hydrothermal pretreatment step for the production of cellulosic ethanol, via an experimental design. Sugarcane straw of the cultivar RB867515 was collected soon after harvest in the states of São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Alagoas and Mato Grosso. The straw was subjected to drying and further milled for analysis of its chemical composition, including contents of cellulose, hemicellulose, total lignin, total extractives, ash, and minerals. Hydrothermal pretreatment was conducted based on a Central Composite Rotational Design (CCRD), with the objective of evaluating the influence of time (min), temperature (°C) and the straw/water ratio (%) on the release of glucose after enzymatic hydrolysis. Enzymatic hydrolysis was conducted at 50 °C using cellulase at a concentration of 15 FPU (filter paper unit) per gram of pretreated straw and was monitored for 72 hours. The results of chemical characterization indicated that the soil and climatic conditions of the regions assessed had little influence on the chemical composition of the straw. The hydrothermal pretreatment proved to be very efficient in the removal of hemicellulose and provides substrates of high susceptibility to enzymatic hydrolysis. Hydrothermal pretreatments at temperatures of 190 and 210 °C resulted in greater cellulose hydrolysis yields,

reaching values close to 100%, indicating its efficiency for breaking down sugarcane straw and its potential for the production of cellulosic ethanol.

1. INTRODUÇÃO

A iminente escassez de petróleo, principal fonte energética mundial, juntamente com as preocupações da sociedade com os níveis de degradação ambiental, são os principais motivos que levaram os governos a buscarem estratégias para uma maior produção e maior consumo de combustíveis que sejam renováveis e sustentáveis (CORTEZ et al. 2010; KHESHGI et al., 2000).

Um dos principais objetivos do uso dos biocombustíveis é a substituição de combustíveis fósseis, permitindo a diminuição da dependência por recursos não renováveis e a redução das emissões de gases de efeito estufa. A queima de combustíveis fósseis representa aproximadamente 82% das emissões dos gases causadores do efeito estufa (LAL, 2004). Portanto, seja pela questão ambiental global, seja pela importância em reduzir a dependência externa de energia, o etanol de cana-de-açúcar, que já apresenta indicadores ambientais muito positivos quando comparado a outras opções, representa uma grande oportunidade (CORTEZ et al., 2010).

O etanol obtido do caldo de cana-de-açúcar (etanol de primeira geração) é até o momento, o único combustível com capacidade de atender à crescente demanda mundial por energia renovável de baixo custo e de baixo poder poluente. Diversas universidades e centros de pesquisas apresentam programas de pesquisas científicas tentando entender a melhor maneira de aproveitar todos os componentes químicos presentes na cana-de-açúcar (celulose, hemicelulose e lignina), para produção de etanol combustível (etanol de segunda geração).

Entre os diferentes tipos de biomassas, a palha de cana-de-açúcar se destaca como fonte energética. A palha apresenta grande potencial para geração de calor, eletricidade e para produção de etanol celulósico. O aproveitamento da palha deverá ocupar um lugar de destaque, como matéria-prima para a produção de etanol combustível. Segundo Ripoli et al., (2010) uma tonelada de palha equivale a algo entre 1,2 a 2,8 EBP (equivalentes barris de petróleo). Conseqüentemente, a não utilização dessa biomassa significa desperdício energético.

A tecnologia de conversão da biomassa lignocelulósica em açúcares fermentescíveis para a produção de etanol celulósico vem sendo considerada como uma alternativa promissora para aumentar a produção necessária para atender à

demanda mundial de etanol. Apesar de já existirem tecnologias disponíveis, a maioria esbarra em dificuldades técnicas ou econômicas. O processo envolve quatro etapas: (i) pré-tratamento, para romper a estrutura recalcitrante da biomassa lignocelulósica; (ii) hidrólise enzimática, para hidrolisar os polissacarídeos em açúcares fermentescíveis; (iii) fermentação, para converter os açúcares em etanol e (iv) destilação, que visa a separação de componentes de uma mistura, de acordo com a volatilidade relativa dos componentes.

Efetivamente, devido à natureza recalcitrante da biomassa, a hidrólise enzimática é muito lenta, e é difícil atingir elevados rendimentos em açúcar se a biomassa não for previamente pré-tratada. O pré-tratamento é provavelmente a etapa mais crucial, uma vez que tem forte impacto em todas as outras etapas do processo, por exemplo, na hidrólise enzimática e na fermentação, em termos de digestibilidade da celulose e toxicidade da fermentação. O pré-tratamento tem por finalidade alterar ou remover a lignina e as hemiceluloses, aumentar a área superficial e diminuir o grau de polimerização e cristalinidade da celulose, o que acarreta em aumento na digestibilidade do complexo enzimático e, conseqüentemente em elevados rendimentos em açúcar (SANTOS et al., 2012).

Vários métodos de pré-tratamentos têm sido propostos e desenvolvidos. Esses métodos podem ser classificados de diferentes formas: pré-tratamentos físicos, químicos, biológicos ou uma combinação destes no intuito de reduzir a recalcitrância da biomassa lignocelulósica. Cada método de pré-tratamento tem suas vantagens e desvantagens. No entanto, o pré-tratamento hidrotérmico tem chamado atenção, por não fazer uso de reagentes químicos, que é interessante do ponto de vista ambiental e econômico, por não ter necessidade de trabalhar com reatores altamente resistentes a corrosão e por hidrolisar grande parte da fração hemicelulósica (GARROTE et al., 1999).

Um progresso substancial tem sido alcançado na conversão da biomassa em etanol celulósico, principalmente no campo da pesquisa. No entanto, para que ocorra a transição para uma tecnologia industrial, serão necessários mais estudos e investimentos em pesquisas com objetivo de conseguir um maior e melhor entendimento dos fenômenos envolvidos na conversão da biomassa o que deverá acontecer em breve.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo do presente trabalho foi estudar o potencial da palha de cana-de-açúcar do cultivar RB867515 de diferentes estados do Brasil para produção de etanol celulósico.

2.2. Objetivos específicos

- ✚ Coletar e caracterizar quimicamente as palhas de cana-de-açúcar em diferentes estados do Brasil: São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Alagoas e Mato Grosso.

- ✚ Avaliar entre a palha de cana-de-açúcar de diferentes estados do Brasil quanto ao seu potencial para produção de etanol celulósico.

- ✚ Desenvolver um processo de pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar visando à produção de etanol celulósico, através do planejamento experimental.

- ✚ Determinar a melhor condição de hidrólise enzimática para maximizar a sacarificação da celulose da palha de cana-de-açúcar em diferentes condições de pré-tratamento, utilizando enzimas comerciais.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Biomassa lignocelulósica

Devido às constantes crises no fornecimento de petróleo, bem como à possibilidade de sua escassez, à instabilidade dos preços e, principalmente, aos efeitos negativos ao meio ambiente, aumentou nos últimos anos o interesse por fontes alternativas de energia, que incluem a biomassa lignocelulósica, energia solar, eólica, hidrelétrica, geotérmica etc. Dentre essas fontes alternativas, a biomassa lignocelulósica tem se mostrado como alternativa viável, sustentável e racional em substituição aos combustíveis fósseis, em especial pelo seu potencial de produzir combustíveis sólidos, líquidos, energia elétrica, biogás, bio-óleo e produtos químicos diversos (SANTOS et al., 2013). Por esse motivo, a maioria dos países desenvolvidos ou em desenvolvimento, como o Brasil, estão mobilizando grandes investimentos para que a biomassa lignocelulósica tenha participação significativa na matriz energética, especialmente, na obtenção de combustíveis que sejam renováveis e sustentáveis.

Em geral, a biomassa lignocelulósica é definida como um recurso natural renovável de produção energética e que pode ser processada para fornecer formas bioenergéticas mais elaboradas e adequadas para o uso final. Em termos energéticos é toda e qualquer forma de energia associada a formas de energia química acumulada mediante processos fotossintéticos (BNDES, 2008).

Como resultado da reação de fotossíntese, a biomassa depende essencialmente da energia solar, da água e do dióxido de carbono (CO_2). Nessas condições, as regiões tropicais e subtropicais são privilegiadas, em razão da maior disponibilidade tanto de energia solar como também de terras agricultáveis e de água (MATSUOKA et al., 2012). Essas condições são perfeitamente atendidas pelo Brasil, que ainda apresenta a vantagem de possuir 27% de terras aráveis em potencial do mundo (CONWAY, 2003).

A biomassa pode ser obtida de vegetais não lenhosos, de vegetais lenhosos, resíduos orgânicos, como também dos biofluidos (Figura 1) (CORTEZ et al., 2008).

Os produtos obtidos dependem tanto da biomassa utilizada quanto da tecnologia de processamento.

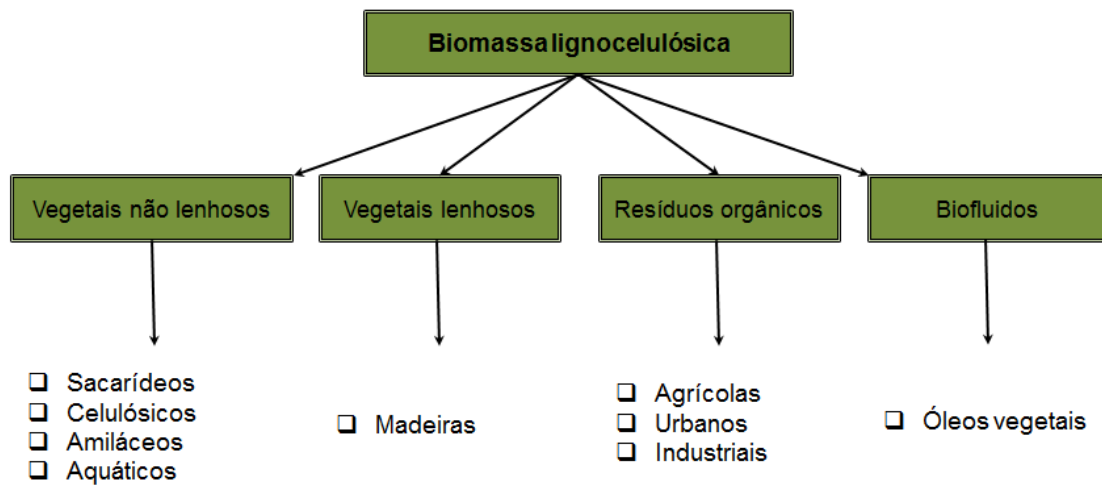


Figura 1. Fontes de biomassa.
Fonte: Adaptado de Cortez et al., (2008).

Dentre as fontes de biomassa, destacam-se as florestas, especialmente o eucalipto, a cana-de-açúcar e o capim-elefante, plantas que se desenvolvem bem nos trópicos e subtropicais, por apresentarem alta eficiência fotossintética por possuírem metabolismo fotossintético C₄. A alta taxa de acumulação de biomassa se deve à intensa atividade fotossintética, e ao longo período vegetativo (SANTOS et al., 2012).

No contexto da produção de combustíveis líquidos, atualmente, diversos países consideram o uso da biomassa para produção de etanol combustível, uma alternativa promissora capaz de alavancar o desenvolvimento econômico e, sobretudo, por contribuir significativamente com a redução dos gases causadores do efeito estufa (GEE). As emissões de GEE proveniente da queima de combustíveis de biomassa são 75% menores quando comparadas às emissões da gasolina, sendo ainda que todo o CO₂ produzido é reabsorvido pela biomassa nos plantios subsequentes (SANTOS et al., 2012; IPCC, 2007).

O Brasil tem uma das matrizes energéticas mais limpas do planeta graças à sua agricultura. Além de produzir alimentos, a agricultura brasileira é líder na geração de energia renovável. Ela representa mais de 30% da matriz energética brasileira, o equivalente a 68,3 milhões de toneladas equivalentes de petróleo (TED), superada apenas pelo petróleo e seus derivados. Por ordem de importância,

contribuem com a parte renovável da matriz brasileira: cana-de-açúcar (etanol e bioeletricidade), hidroelétricas, florestas energéticas para lenha e carvão, óleos vegetais no biodiesel, resíduos agrícolas e outras (MIRANDA, 2013).

Para que esse crescimento na expansão continue e melhore o uso da biomassa no Brasil, é preciso que, além do avanço tecnológico, sejam desenvolvidos modelos de gestão que garantam a sustentabilidade técnica, econômica e ambiental dessa fonte energética (CORTE et al., 2008).

3.1.1. Organização estrutural da biomassa lignocelulósica

Os principais componentes químicos da biomassa lignocelulósica são a celulose, hemicelulose e lignina, além de pequena quantidade de cinzas, extrativos, proteínas, amido e outros (Figura 2). A concentração de cada um desses componentes depende do tipo de biomassa, tipo de tecido, da idade da planta e das condições de crescimento (Tabela 1) (FENGEL e WEGENER, 1989).

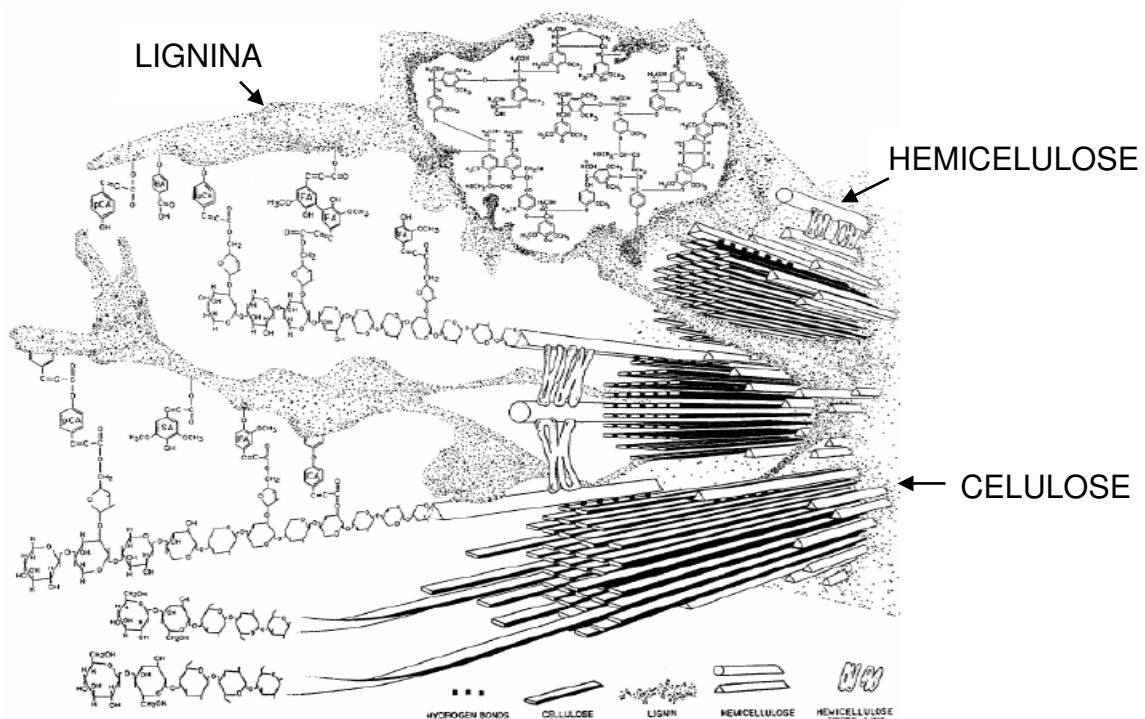


Figura 2. Principais componentes químicos da biomassa lignocelulósica. Fonte: Fengel e Wegener, (1989).

Tabela 1. Composição química de diferentes tipos de biomassa lignocelulósica.

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

Fonte: Gómez et al., (2010).

3.1.1.1. Celulose

A celulose é o polímero natural de maior ocorrência no mundo e um dos principais constituintes da parede celular dos vegetais (Figura 3). Ela fornece resistência e rigidez, impedindo que a célula inche, com consequente ruptura da membrana plasmática, quando as condições osmóticas favorecem a entrada excessiva da água na célula (LEHNINGER, 2006). É um polímero linear (não ramificado), sua estrutura pode ser classificada em três níveis organizacionais. O primeiro é definido pela sequência de resíduos β -D- glicopiranosídicos unidos por ligações covalentes, formando o homopolímero de anidroglicose com ligações β -(1 \rightarrow 4) glicosídicas, de fórmula geral $(C_6H_{10}O_5)_n$. O segundo nível descreve a conformação molecular, isto é, a organização espacial das unidades repetitivas, e é caracterizado pelas distâncias das ligações e respectivos ângulos, bem como pelas ligações de hidrogênio intramoleculares. O terceiro nível define a associação das

moléculas, formando-se agregados com determinada estrutura cristalina. Esses agregados conferem elevada resistência à tensão, tornando a celulose insolúvel em água e em grande número de outros solventes (ATALLA et al., 1993).

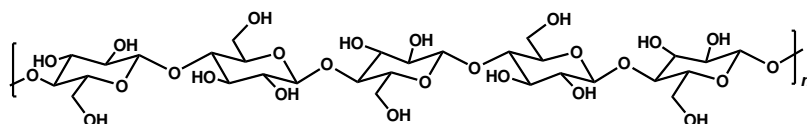


Figura 3. Representação esquemática da molécula de celulose.
Fonte: Santos et al., (2012).

3.1.1.2. Hemicelulose

As hemiceluloses são heteropolissacarídeos complexos com cadeias menores que as da celulose compostos por *D*-glicose, *D*-galactose, *D*-manose, *D*-xilose, *L*-arabinose, ácido *D*-glucurônico e ácido 4-*O*-metil-glucurônico (Figura 4). A sua composição química varia de acordo com os vegetais, o tipo de tecido, o estágio, as condições de crescimento e os locais de armazenamento (TELEMAN, 2009). Tanto xilanas quanto mananas são encontradas em coníferas e folhosas, mas o tipo e a proporção diferem significativamente entre elas. Nas coníferas, os principais constituintes são glicomananas (10-15%), arabinoglicouronoxilanas (7-15%) e galactoglicomananas (5-8%), enquanto em folhosas são glicouronoxilanas (15-35%) e glicomananas (2-5%) (SJÖSTRÖM, 1999). Já em gramíneas e cereais, arabino xilanas têm sido encontrados como hemiceluloses dominantes da parede celular dos tecidos de sustentação (EBRINGEROVÁ et al., 2005).

A estrutura das hemiceluloses apresenta ramificações que interagem facilmente com a celulose, dando a estabilidade e flexibilidade ao agregado (RAMOS, 2003). Comparadas com a celulose, elas apresentam maior susceptibilidade à hidrólise ácida, pois oferecem maior acessibilidade aos ácidos minerais comumente utilizados como catalisadores. Essa reatividade é usualmente atribuída ao caráter amorfo desses polissacarídeos (FENGEL e WEGENER, 1989).

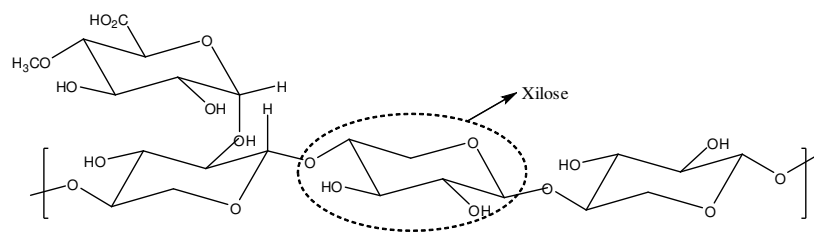


Figura 4. Representação esquemática das hemiceluloses.
 Fonte: Santos et al., (2012).

3.1.1.3. Lignina

A lignina, depois da celulose, é a macromolécula mais abundante dentre as biomassa lignocelulósica (Figura 5). O objetivo principal da lignina é dar à planta apoio estrutural, impermeabilidade, resistência contra o ataque microbiano e o estresse oxidativo (FENGEL e WEGENER, 1989). É um heteropolímero amorfo e polifenólico derivado da polimerização de três estruturas fenilpropanóides: álcool *p*-cumarílico, álcool coniferílico e álcool sinapílico.

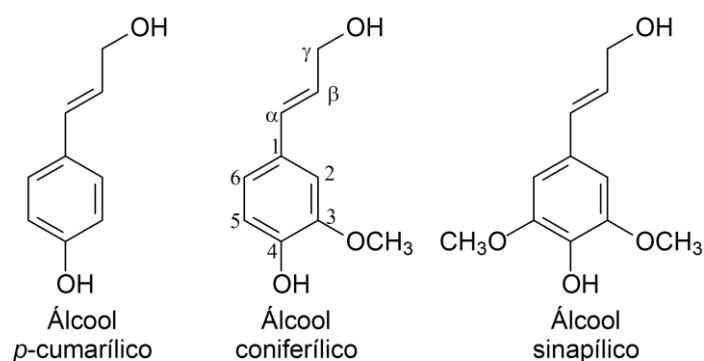


Figura 5. Precursores primários da lignina.

O processo de biossíntese da lignina consiste essencialmente de reações de acoplamento radicalar, às vezes seguida pela adição de água ou grupos hidroxilas aos intermediários quinonas metídeo, levando à formação de um polímero complexo e tridimensional (Figura 6) (BOERJAN et al., 2003; SARKANEN et al., 1971).

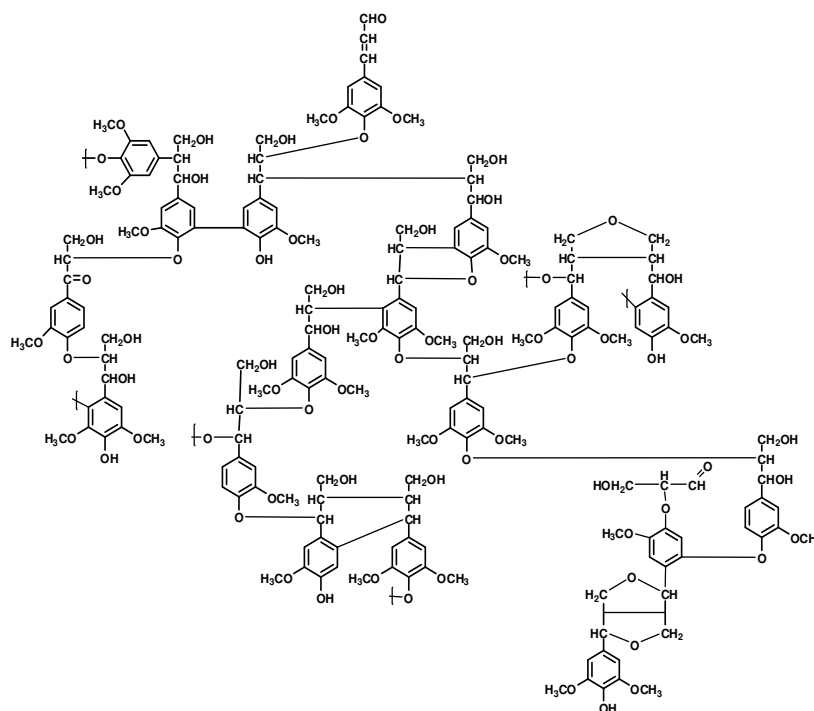


Figura 6. Representação esquemática da lignina de eucalipto.
 Fonte: Santos et al., (2012).

A estrutura da lignina não é homogênea e nela há regiões amorfas e estruturas globulares. Além do conteúdo de lignina variar entre coníferas, folhosas e gramíneas, a distribuição das unidades H (*p*-hidroxifenila), G (guaiacila) e S (siringila) também variam. Em folhosas, as ligninas consistem de unidades de G e S, bem como alguns traços de H, enquanto as coníferas são principalmente compostas de unidades G. No entanto, as gramíneas incorporam maiores quantidades de unidades H (HENRIKSSON, 2009).

No processo de hidrólise enzimática, a lignina atua como uma barreira física para as enzimas que podem ser irreversivelmente capturadas pela lignina e, conseqüentemente, influenciar a quantidade de enzima requerida para a hidrólise, assim como dificultar a sua recuperação após a hidrólise. O entendimento da distribuição da lignina e carboidratos da parede celular pode tornar os processos de fracionamento e conversão mais eficientes (SANTOS e COLODETTE, 2013).

3.1.1.4. Extrativos e outros

Os extrativos são compostos orgânicos que são depositados no lume das células e em outros espaços vazios, têm baixo peso molecular e são solúveis em água, solventes orgânicos neutros, ou volatilizados (SJÖSTRÖM, 1992). Podem ser extraídas utilizando solventes polares e apolares. Os extrativos são frequentemente responsáveis por determinadas características da planta, como a cor, o cheiro, a resistência natural ao apodrecimento, o sabor e as propriedades abrasivas (D ALMEIDA, 1998). Nos extrativos, podem ser encontrados os terpenóides e esteroides, gorduras, ceras e substâncias fenólicas, incluindo estilbenos, lignanas, taninos e flavonoides. Além dos extraíveis também são encontrados na parede celular os compostos inorgânicos (cinzas), proteínas e substâncias pécticas (RAMOS, 2003). A soma destes componentes varia em cada espécie de material lignocelulósico e representa aproximadamente 5-20% de todo o material (FENGEL e WEGENER, 1989).

3.1.2. Recalcitrância da biomassa lignocelulósica

A biomassa lignocelulósica constitui a maior fonte de carboidratos naturais do mundo. A dificuldade de converter a biomassa lignocelulósica em combustível líquido é atribuída à sua recalcitrância, pois são constituídas de fibras de celulose envolvidas em uma matriz amorfa de hemiceluloses e lignina. Essa matriz amorfa age como uma barreira natural ao ataque de microrganismos e/ou enzimas tornando esses materiais estruturalmente rígidos e pouco reativos (FENGEL e WEGENER, 1989).

Assim como em toda célula vegetal, a parede celular da biomassa lignocelulósica é composta principalmente por celulose, hemiceluloses e lignina (Figura 7). A reatividade da celulose é determinada tanto pelos grupos funcionais presentes em sua estrutura como pelas interações físico-químicas existentes entre as macromoléculas (celulose, hemicelulose e lignina).

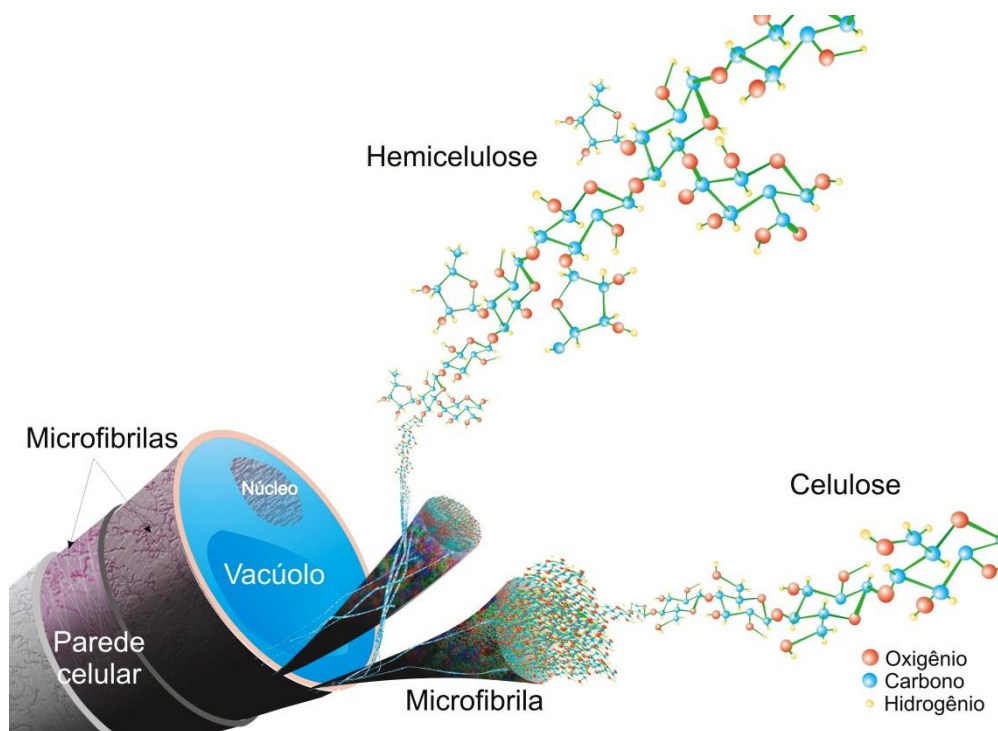


Figura 7. Estrutura recalcitrante da biomassa lignocelulósica.
 Fonte: Buckeridge et al., (2010).

As ligações de hidrogênio intramoleculares entre as hidroxilas conferem resistência à celulose. Já as interações intermoleculares entre hidroxilas são responsáveis pela formação da fibra vegetal, em que de seis a oito moléculas de celulose alinham-se paralelamente para formar uma microfibrila, eliminando as moléculas de água e tornando a fibra extremamente longa e resistente (Figura 8). Sobre a superfície das microfibrilas, aderem-se as hemiceluloses que cobrem a celulose, formando o chamado domínio celulose-hemicelulose da parede celular (BUCKERIDGE et al., 2010).

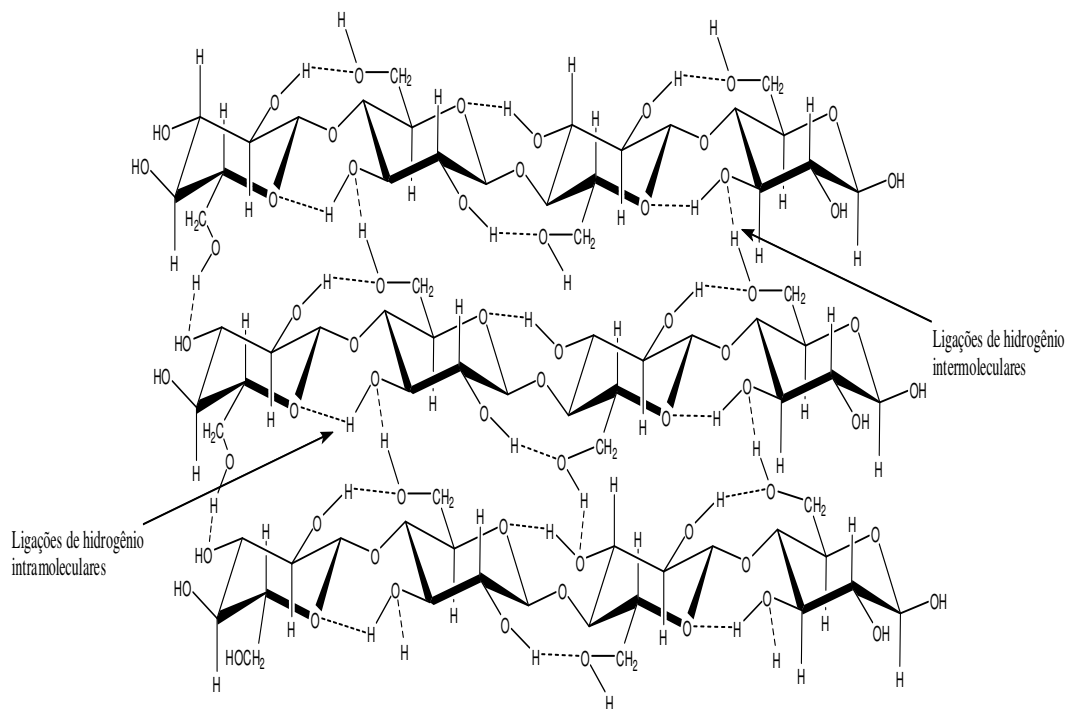


Figura 8. Ligações de hidrogênio supramolecular da celulose.
 Fonte: Santos et al., (2012).

As hemiceluloses impedem que as moléculas de celulose de fibras paralelas colapsem entre si, mas também permitem a interação fraca entre uma fibra e outra, formando uma rede. O domínio celulose-hemicelulose fica imerso em um domínio formado por pectinas, ou seja, açúcares altamente ramificados, que determinam a porosidade da parede celular (BUCKERIDGE et al., 2008).

As ligações de hidrogênio inter e intramoleculares são responsáveis pela manutenção das regiões cristalinas e tornam a celulose altamente resistente à hidrólise ácida, alcalina ou enzimática. A formação de ligações de hidrogênio é o principal fator que influencia as propriedades físicas da celulose, como: solubilidade, reatividade e cristalinidade. A interação entre os grupos hidroxila via ligações de hidrogênio entre as cadeias limita o acesso de agentes aos grupos funcionais da cadeia, o que dificulta tanto sua solubilização como reações.

A presença de hemiceluloses e lignina envolvendo as cadeias de celulose também dificulta o acesso de reagentes e catalisadores, sendo necessário tratamento prévio para a remoção desses componentes, facilitando o acesso do complexo enzimático à celulose. Diversos autores têm atribuído a recalcitrância da biomassa lignocelulósica, principalmente, à cristalinidade, ao grau de polimerização

e a baixa acessibilidade das enzimas celulolíticas ao substrato (BUCKERIDGE et al., 2010; CHANG e HOLZAPPLE, 2000).

3.2. Setor sucroenergético brasileiro

3.2.1. A cultura da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar, *Saccharum* spp., é uma planta pertencente à família Poaceae e à classe monocotiledônea. As principais espécies surgiram na Oceania (Nova Guiné) e na Ásia (Índia e China) e as variedades cultivadas no Brasil e no mundo são híbridos multiespecíficos. As principais características dessa família são a inflorescência em forma de espiga, o crescimento do caule em colmos, as folhas com lâminas de sílica em suas bordas e a bainha aberta. A planta na forma nativa é perene, de hábito ereto e levemente decumbente na fase inicial do desenvolvimento. Nas fases seguintes, a cana-de-açúcar sofre seleção dos perfilhos por autossombreamento. O crescimento em altura continua até a ocorrência de alguma limitação no suprimento de água, de baixas temperaturas ou, ainda, devido ao florescimento (DIOLA e SANTOS, 2012).

É uma planta de metabolismo C_4 e apresenta especificidades anatômicas, fisiológicas e bioquímicas típicas. Ela possui alta taxa de fotossíntese líquida, um ponto elevado de saturação de luz e uma afinidade muito alta pelo gás carbônico. De certa forma, mesmo à noite, a cana-de-açúcar ainda prossegue sua síntese de açúcares. O enraizamento profundo e fasciculado da cana contribui com a estruturação favorável dos solos e a infiltração da água, além de reduzir os riscos de erosão. O recobrimento do solo ao longo de quase todo o ano pela biomassa verde e, no período pós-colheita, pela palhada minimiza o impacto da radiação solar e da energia cinética das gotas de chuva. Plantada em curvas de nível, com devidos cuidados de conservação dos solos e trabalho de gradagem/aração, a cana-de-açúcar minimiza os problemas de erosão e perda de solos tanto quanto poucos cultivos o fazem (MIRANDA, 2013).

A cana-de-açúcar é constituída do colmo industrializável, folhas verdes, folhas secas e ponteiro (Figura 9). Em se tratando da composição química, a cana contém sólidos insolúveis (fibra), solúveis (caldo) e água; estes, por sua vez, são constituídos de compostos orgânicos e inorgânicos. A composição da cana é muito

variável, dependendo de condições edafoclimáticas da região, do sistema de cultivo, do estágio de maturação, da idade do cultivar, dentre outros fatores. A Figura 10 apresenta a composição química média da cana cultivada no Brasil.

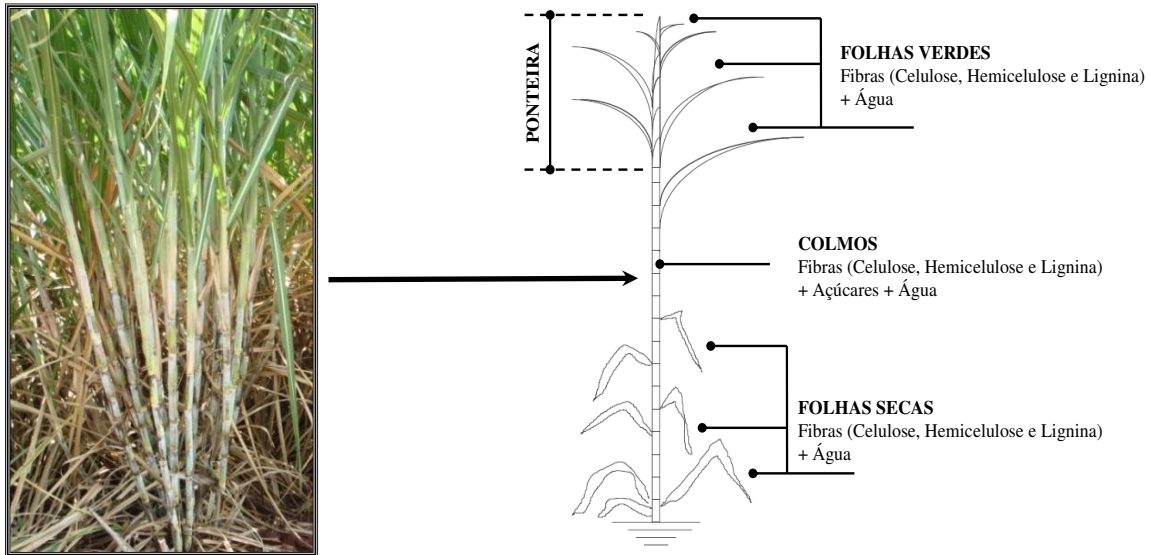


Figura 9. Partes constituintes da cana-de-açúcar.
Fonte: Adaptado de Hassuani, (2005).

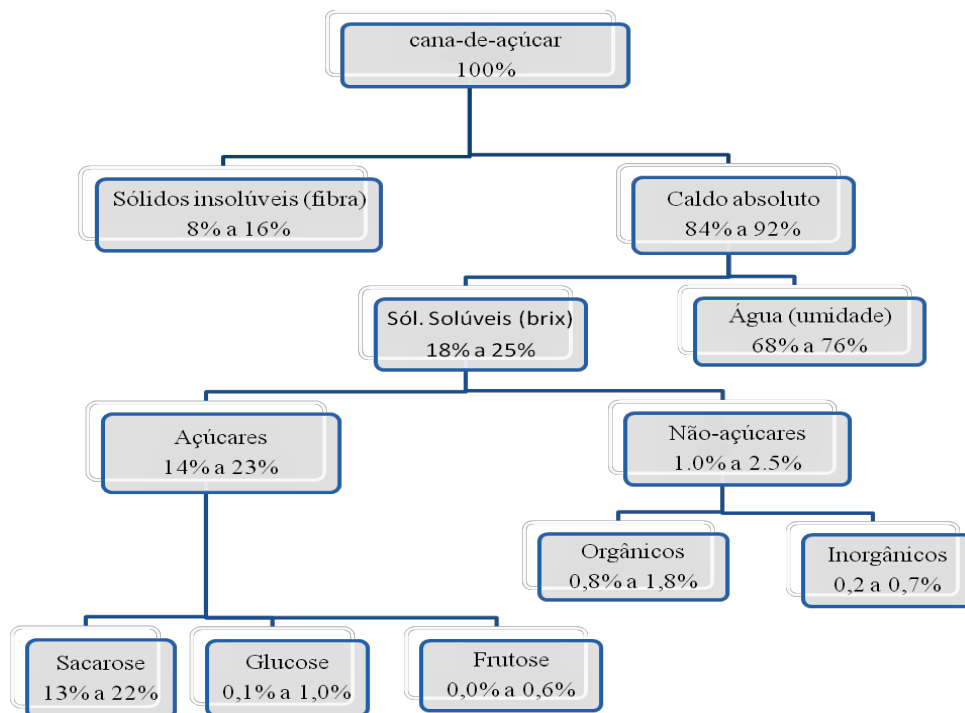


Figura 10. Composição química da cana-de-açúcar.
Fonte: Santos et al., (2012).

O clima ideal para o cultivo da cana é aquele que apresenta duas estações distintas: uma quente e úmida, para proporcionar a germinação, o perfilhamento e o desenvolvimento vegetativo, seguida de outra fria e seca, para promover a maturação e o acúmulo de sacarose nos colmos.

O ciclo completo da cana-de-açúcar é variável, dependendo do clima local, de variedades e práticas culturais. No Brasil, o ciclo é, geralmente, de seis anos, dentro do qual ocorrem cinco cortes, quatro tratos de soqueiras e uma reforma do canavial. De forma geral, o primeiro corte é feito 12 ou 18 meses após o plantio (dependendo da variedade), quando se colhe a chamada cana-planta. Os demais cortes, quando se colhe a cana-soca resultante da rebrota, são feitos uma vez por ano, ao longo dos quatro anos consecutivos, com redução gradual da produtividade, até que se torne economicamente mais interessante reformar o canavial do que efetuar um novo corte (MARGARIDO e SANTOS, 2012; BNDES, 2008).

O período da colheita da cana varia de acordo com o regime de chuvas, de modo a tornar possíveis as operações de corte e transporte e para permitir alcançar o melhor ponto de maturação e acumulação de açúcares. Na Região Centro-Sul do Brasil, a colheita é de abril a dezembro, enquanto, na Região Nordeste, é realizada de agosto a abril. O sistema de colheita pode ser com a queima prévia do canavial e posterior corte manual da cana inteira ou utilizando colheitadeiras. Com os recentes acordos firmados entre governo e produtores, espera-se que nos próximos anos toda a cana seja colhida mecanicamente, sem a queima prévia do canavial (RIPOLI e RIPOLI, 2012; BNDES 2008).

Após a colheita a cana é transportada o mais rápido possível para a unidade produtora, a fim de evitar perdas de sacarose. A cana não deve ser armazenada por muito tempo e, independentemente do tipo de instalação, as usinas só operam durante o período de safra, sendo as etapas iniciais do processamento para etanol basicamente as mesmas empregadas para a produção de açúcar.

3.2.2. Processo de produção de açúcar e etanol

No Brasil, há indícios de que o cultivo da cana seja anterior à época do descobrimento, mas foi a partir do século XVI que a cultura proporcionou grandes ganhos econômicos e sociais ao país, principalmente para produção de açúcar.

Atualmente, o Brasil é o maior produtor de cana e açúcar do mundo, ficando em primeiro lugar na produção de etanol de cana-de-açúcar. A previsão para a safra 2012/13 é que sejam processadas cerca de 600 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, com geração de aproximadamente 38 milhões de toneladas de açúcar e 24 bilhões de litros de etanol, numa área estimada em 8,6 milhões de hectares (CONAB, 2012).

Existem no país 401 unidades produtoras de açúcar, etanol e mistas cadastradas no Departamento da Cana-de-Açúcar e Agroenergia do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2012). Do ponto de vista do perfil de produção, as usinas brasileiras podem ser classificadas em três tipos de instalações: (1) usinas (produtoras de açúcar), (2) usinas com destilarias anexas (que produzem açúcar e etanol) e (3) destilarias autônomas (produtoras de etanol).

Geograficamente, as unidades produtoras de açúcar e etanol situam-se junto às regiões produtoras de cana, a maior parte delas localizada no Estado de São Paulo. Nesse estado, conjugaram-se, além das excelentes condições de solo e clima, a existência de uma adequada infraestrutura de transportes, a proximidade dos mercados consumidores e uma ativa base de desenvolvimento científico e tecnológico, fundamental para o processo de expansão com incrementos de produtividade observados nesse setor. Entretanto, nos últimos anos, com a relativa saturação das áreas disponíveis nesse estado e a elevação dos custos da terra, as novas unidades de produção têm se instalado em áreas anteriormente ocupadas por pastagens e, em menor grau, por cultivos anuais na região do Triângulo Mineiro, Sul de Goiás e Sudeste de Mato Grosso do Sul (BNDES, 2008).

Os principais produtos do setor sucroenergético brasileiro são o açúcar, que abastece o mercado alimentício, o etanol anidro, utilizados como combustível adicional à gasolina, e o etanol hidratado, que atende os veículos *flex*, além de um pequeno mercado de usos não energéticos (SANTOS et al, 2013). No processo de produção de açúcar e etanol, as etapas iniciais são semelhantes (Figura 11).

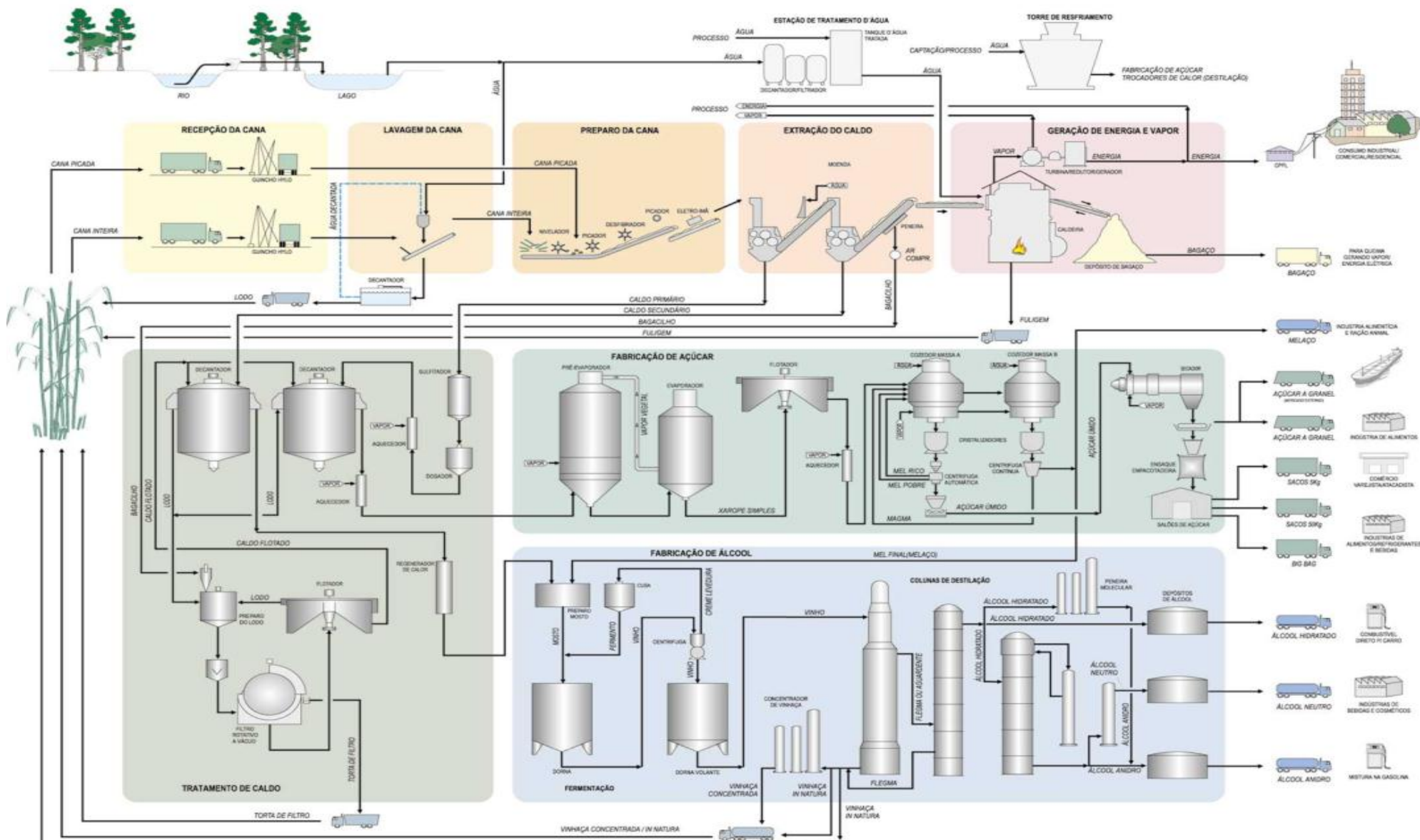


Figura 11. Fluxograma de uma unidade produtora de açúcar e etanol.

Uma vez transportada até a unidade produtora, a cana-de-açúcar é, em geral, lavada e enviada para o sistema de preparo e extração do caldo, através de um conjunto de quatro a sete ternos de moendas (BNDES, 2008). O caldo é extraído e os açúcares, separados da fibra (bagaço), que, por sua vez, segue para a planta de energia da unidade produtora. Com objetivo de aumentar o rendimento da extração, a cana picada e desfibrada passa por sucessivas lavagens com água quente, cedendo por lixiviação seus açúcares e, ao final, passa por um rolo de secagem, de onde sai o bagaço a ser utilizado nas caldeiras (SEABRA, 2008). Produzido na moenda ou no difusor, o caldo contendo os açúcares da cana pode, então, ser destinado à produção de açúcar ou etanol.

Para a produção de açúcar, o caldo, ao sair da moenda, passa por uma série de etapas de tratamento, que incluem ações físicas (peneiramento, aquecimento, flasheamento) e químicas (reações promovidas pela adição de produtos químicos, polímeros etc.), com o objetivo de eliminar não açúcares, coloides, turbidez e cor, bem como favorecer ao máximo a sedimentação (CAVALCANTE et al., 2012). Nessa etapa ocorre a máxima recuperação de sacarose e obtêm-se boa qualidade do produto final.

Após o tratamento químico, o caldo é aquecido para eliminar microrganismos por esterilização, completar as reações químicas com o agente alcalinizante, coagular, flocular as impurezas insolúveis e remover os gases. Em seguida, o caldo é levado para o decantador ou clarificador, onde são separadas as impurezas floculadas, também chamadas de lodo. O caldo clarificado sai pela parte superior das bandejas já isento da maioria das impurezas. Nos decantadores, ocorre apenas a separação física entre o caldo e as impurezas (lodo). O lodo retirado é então adicionado de bagacilho e filtrado para a recuperação da sacarose ainda contida nele, enquanto a torta de filtro residual é utilizada na própria lavoura de cana como adubo.

O caldo tratado é, então, concentrado em evaporadores de múltiplo efeito e cozedores para a cristalização da sacarose. Nesse processo, nem toda a sacarose disponível na cana é cristalizada e a solução residual rica em açúcar (mel) pode retornar mais de uma vez ao processo com o propósito de se recuperar mais açúcar. O mel final, chamado de melaço e que não retorna

ao processo de produção de açúcar, contém ainda alguma sacarose e elevado teor de açúcares redutores (glicose e frutose), podendo ser utilizado como matéria-prima para a produção do etanol por meio da fermentação (CAVALCANTE et al., 2012).

Por fim, o açúcar é encaminhado para a secagem, que consiste basicamente na redução de sua umidade pelo resfriamento simultâneo, até níveis de umidade que permitam sua armazenagem por períodos mais ou menos longos, sem apresentar alterações significativas de suas características, isto é, preservando sua qualidade para consumo como produto alimentício.

O processo de produção de etanol é baseado na fermentação tanto do caldo da cana diretamente como de misturas de caldo e melaço. Esse é o processo mais utilizado no Brasil, nos EUA e, de modo geral, nos demais países. Essa complementaridade de produção de açúcar e etanol reflete a sinergia existente no sistema de produção brasileiro.

Como já descrito, as primeiras etapas de produção de etanol são semelhantes ao processo de produção de açúcar. Uma vez tratado, o caldo de cana é evaporado para ajustar sua concentração de açúcares e, eventualmente, é misturado com o melaço, dando origem ao mosto. Em seguida, o mosto segue para as dornas de fermentação, onde é adicionado às leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) e fermentado por um período médio de 6 a 10 horas, dando origem ao vinho (mosto fermentado, com concentração de 7% a 10% de álcool). Tempos superiores a esses podem indicar contaminações, baixa viabilidade de leveduras, baixa concentração de leveduras no meio fermentativo, excesso de açúcares no mosto, entre outros fatores, problemas que precisam ser corrigidos com a máxima urgência, pois se trabalha com fermentadores de centenas de metros cúbicos de capacidade volumétrica (VASCONCELOS, 2012). O processo de fermentação mais utilizado nas destilarias do Brasil é o Melle-Boinot, cuja característica principal é a recuperação das leveduras do vinho mediante sua centrifugação.

Assim, após a fermentação, as leveduras são recuperadas e tratadas para novo uso, enquanto o vinho é levado para as colunas de destilação. Esse processo apresenta vantagens de ordem econômica devido à reutilização das leveduras no processo fermentativo.

A destilação é uma operação física que visa à separação de componentes de uma mistura, de acordo com a volatilidade relativa dos componentes. O etanol é recuperado inicialmente na forma hidratada, com aproximadamente 92.8 – 94.7 INPM (m/m), correspondentes a cerca de 7.2 - 6% de água em peso, deixando a vinhaça ou vinhoto como resíduo, normalmente numa proporção de 10 a 13 litros por litro de etanol absoluto produzido. Nesse processo, outras frações líquidas também são separadas, dando origem aos álcoois de segunda e ao óleo fúsel. O etanol hidratado pode ser estocado como produto final ou pode ser enviado para a coluna de desidratação. Mas, como se trata de uma mistura azeotrópica, seus componentes não podem ser separados por uma simples destilação. A tecnologia mais utilizada no Brasil é a desidratação pela adição do ciclohexano, formando uma mistura azeotrópica ternária, com ponto de ebulição inferior ao do etanol anidro. Nesse processo, na coluna de desidratação, o ciclohexano é adicionado no topo, e o etanol anidro é retirado no fundo, com aproximadamente 99,7° INPM ou 0,4% de água em peso. A mistura ternária retirada do topo é então condensada e decantada, enquanto a parte rica em água é enviada à coluna de recuperação de ciclohexano.

A desidratação do etanol ainda pode ser feita por adsorção com peneiras moleculares ou pela destilação extrativa com monoetilenoglicol (MEG), que se destacam pelo menor consumo de energia e também pelos custos mais elevados. Por conta das crescentes exigências do mercado externo, diversos produtores de etanol no Brasil e em outros países estão optando pelas peneiras moleculares, já que com elas é possível produzir etanol anidro livre de contaminantes. Espera-se grande disseminação do seu uso nos próximos anos, na busca por atender aos padrões de exigência do mercado internacional (VASCONCELOS, 2012).

É importante salientar que esse modelo tradicional de produção de açúcar e etanol deve dar lugar a um “novo modelo”, capaz de produzir, além do açúcar e etanol, novos produtos via sucroquímica e alcoolquímica (BNDES e CGEE, 2008). Para isso, serão necessários investimentos e incentivo nas seguintes áreas:

Agrícola: projetos que visem à produção de cana (desenvolvimentos de novas variedades, controle fitossanitário, sistema de produção, novos sistemas de plantio, colheita, transporte e uso dos resíduos), enfim, uma nova concepção de todo o novo sistema “cana energia”;

Industrial: tecnologias mais eficientes, que reduzam as perdas no processo, os custos e as emissões de poluentes (gases e resíduos líquidos). O aproveitamento integral da cana para produção de etanol, açúcar, eletricidade e produtos químicos que deverá nortear as tecnologias futuras, reformulando toda a indústria;

Energética: projetos que otimizem a geração e o uso de energia gerada a partir de sistemas mais modernos e uso econômico do vapor no processo de geração;

Sustentabilidade: projetos com áreas de preservação ambiental e da biodiversidade, que melhorem os indicadores sociais, econômicos e ambientais e reduzam os impactos negativos da produção sobre os recursos hídricos, o solo e o ar, assim como melhoria do ambiente de produção.

Nas últimas décadas, houve grande avanço tecnológico no setor sucroenergético brasileiro, tanto em relação à cadeia produtiva quanto à industrial, associado a melhorias de gerenciamento. Este desenvolvimento alcançado pelo setor tem gerado um atraente incentivo no aproveitamento do bagaço produzido e na recuperação integral ou parcial da palha de cana-de-açúcar (MAGALHAES et al., 2010).

3.2.3. Bagaço de cana-de-açúcar

O bagaço é resultante dos processos de extração do caldo de cana-de-açúcar. É constituído fisicamente de quatro frações: material fibroso (45%), água (51-49%), sólidos não solúveis (2-3%), sólidos solúveis e extrativos (2-3%) (CGEE, 2009).

Como é um subproduto, praticamente não tem custo de produção ou transporte, por isso é muito valorizado, principalmente por ser substituto de combustível fóssil e da madeira na geração de vapor e energia elétrica, permitindo a autossuficiência energética das unidades produtoras e, em algumas, a comercialização de energia elétrica excedente (MATSUOKA et al., 2012). Também, o bagaço é utilizado na produção de celulose e papel como alternativa ao uso da madeira de eucalipto e pinho; e na produção do furfural, usado como solvente para a refinação de óleos lubrificantes, resinas de madeira e óleos vegetais, bem como de álcool furfurílico como matéria-prima para polímeros furânicos, anticorrosivos, polímeros de ureia, formaldeídos modificados, fragrâncias e solvente de resinas e corantes. Por apresentar digestibilidade muito baixa, o bagaço passou a ser utilizado ainda como complemento na dieta de bovinos (BNDES, 2008).

Morfologicamente, o bagaço é constituído de fibras exteriores (50%) – ricas em feixes fibrovasculares e outras formas fibrosas que garantem resistência e dureza ao tecido vegetal – quantidades abundantes de células parenquimatosas (30%) – com paredes porosas, tendo como função a reserva de sacarose e a condução de nutrientes em pequenas distâncias – e segmentos de vasos (15%) – com função de conduzir nutrientes e distintos das células parenquimatosas pelo seu grande comprimento. Em menor quantidade, encontram-se as células epidérmicas (5%), que dão origem ao tecido de revestimento e são caracterizadas por apresentarem bordas irregulares (CORTEZ et al., 2013).

Por não apresentar morfologia e tamanho de partículas uniformes, pode ser classificado em três diferentes frações: casca, fibra e medula. A casca é a fração de maior dimensão, quando comparadas às demais, apresentando-se como laminais retangulares. As fibras são constituídas por feixes vasculares e outras formas fibrosas, garantindo a resistência do colmo da cana. A medula é o miolo da cana-de-açúcar, é formada por partículas esponjosas com formato achatado, em termos dimensionais, tem a forma de pó e baixo teor de celulose (CGEE, 2009). Visando a produção de polpa celulósica do bagaço de cana, a remoção da medula é desejável, a fim de se evitar o desperdício de produtos químicos durante o processo de polpação.

De acordo com Cortez, et al., (2013), diversos estudos apontam a viabilidade de produção de energia elétrica excedente e sua posterior comercialização à rede – mediante a modernização dos sistemas atuais de cogeração e utilização do excedente de bagaço –, além do uso das fibras como matéria-prima para o incremento de produção de etanol celulósico, por processo de hidrólise ácido-enzimático diluído, ou para a produção de outros biocombustíveis ou químicos, por processos de gaseificação, pirólise rápida ou BTL – *Biomass to Liquid*.

3.2.4. Palha de cana-de-açúcar

A palha da cana-de-açúcar, deixada na superfície do solo após a colheita mecanizada, é constituída basicamente de folhas verdes, folhas secas, bainha e ponteiros (GÓMEZ et al., 2010).

Até o ano de 2031, toda a palha gerada durante a colheita no Brasil poderá estar disponível para recuperação integral ou parcial e posterior utilização, devido principalmente à lei que proíbe as queimadas da cana em todo território nacional. A queima da cana-de-açúcar é regulada pelo Decreto Federal n. 2.661/98, que estabelece o fim progressivo da prática da queima, especialmente em áreas passíveis de mecanização. Portanto, nos próximos anos haverá uma grande disponibilidade de palha de cana-de-açúcar, e duas atitudes, não necessariamente excludentes, poderão ser tomadas: (1) deixar a palha no campo (lavoura) ou (2) recuperá-la como matéria-prima para a produção de combustíveis ou produtos químicos (GÓMEZ et al., 2010).

Agronomicamente, é interessante manter a palha no campo, pois ela contribui para a melhoria das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, para o controle de erosão e de plantas daninhas, para retenção de umidade, além de propiciar aumento na microbiota do solo (SANTOS et al., 2012; GÓMEZ et al., 2010). No entanto, a permanência da palha no solo pode causar alguns problemas, como: retardamento na brotação, imobilização de nutrientes minerais, principalmente o nitrogênio, dificuldades de operação das máquinas e implementos agrícolas, bem como maior incidência de pragas e doenças na lavoura subsequente.

Portanto, visando ao aproveitamento da palha para produção de combustíveis e produtos químicos, sem afetar os seus benefícios agrônômicos ao solo, Hassuani et al. (2005) chegaram às seguintes conclusões:

A palha deverá ser removida nestas condições:

- em áreas habitadas e, ou, próximas a rodovias, devido ao risco de incêndios acidentais ou criminosos;
- em áreas sujeitas a tempestades elétricas (topo de relevo);
- antes do preparo de solo, em áreas com infestação por pragas de solo, quando for necessário eliminar os restos de culturas; e
- em regiões de inverno muito úmido, especialmente em solos de drenagem deficiente, que afete a brotação.

A palha poderá ser removida mediante análise técnico-econômica nestes casos:

- onde a cobertura da palha no solo dificultar a brotação da cana;
- em áreas com altos índices de pragas que são favorecidas pela palha; e
- em locais onde o preparo reduzido do solo não puder ser empregado por ocorrência de infestação por plantas não controladas pela palha ou pragas de solo cujo controle depende do revolvimento deste.

A palha poderá ser parcialmente removida nestas condições:

- durante ou após a colheita da cana, recomenda-se deixar > 7,5 ton./ha de palha no solo, uniformemente distribuída; e
- quando a palha estiver aproximadamente 30 cm sobre as linhas de plantio de cultivares que apresentem baixa brotação.

Pode-se, portanto, afirmar que a quantidade de palha de cana a ser deixada na superfície do solo apresenta uma série de vantagens e desvantagens, dependendo das condições agrônômicas envolvidas e levando em conta principalmente os custos no processo de recolhimento e transporte da palha para a agroindústria. Braunbeck e Cortez (2005), ao abordarem os

aspectos relativos à recuperação da palha, concluíram que, em média, 70% de palha devem ser recuperados.

Diferentemente do bagaço de cana que, já se encontra na indústria, os custos para recuperação da palha são considerados elevados. Em termos energéticos a palha representa aproximadamente 1/3 da energia potencial da cana que, atualmente é desperdiçada ou aproveitada de forma menos nobre (BUCKERIDGE et al., 2010; SANTOS et al., 2012).

Nesse contexto, com a viabilização técnica e econômica da produção de etanol celulósico e a busca da sustentabilidade energética e ambiental da cadeia produtiva, haja vista as exigências do mercado internacional, a recuperação e o uso da palha de cana-de-açúcar deverá ocupar um lugar de destaque no setor sucroenergético brasileiro.

Magalhaes e Braunbeck, (2010), concluíram que não existem divergências quanto à necessidade de se investir na recuperação e aproveitamento da palha, mas infelizmente, a tecnologia disponível para o recolhimento a custo economicamente viável ainda não está disponível. Segundo Cortez et al., (2013), algumas pesquisas, apontam a colheita integral, ou seja, a colheita e o transporte de todas as partes constituintes da cana conjuntamente, como uma prática capaz de minimizar os impactos negativos na recuperação e no aproveitamento da palha. Nesse processo, a colhedora de colmos operar com os extratores desligados, permitindo assim que todo o material seja transferido ao veículo de transbordo e, posteriormente, transportado até a usina, onde seria submetido a um processo de limpeza a seco (separação pneumática e mecânica visando separar os colmos e a palha).

3.3. Produção de etanol celulósico a partir da cana-de-açúcar

A produção de energia baseada na biomassa lignocelulósica é uma importante rota alternativa que vem sendo mundialmente estudada. O interesse na obtenção do etanol celulósico vem crescendo muito, em consequência de a celulose corresponder à substância de maior concentração na biomassa e apresentar alta eficiência para produção de etanol quando submetida a reações de hidrólise (SANTOS et al., 2013).

No processo de obtenção de etanol celulósico, o objetivo é “desmontar” a parede celular para utilizar os polissacarídeos como fonte de açúcares fermentescíveis. No entanto, já foi mencionada o quão complexa é a estrutura recalcitrante da biomassa lignocelulósica (BUCKERIDGE et al., 2010).

Atualmente, as tecnologias para a obtenção de etanol celulósico envolvem o (1) pré-tratamento, que visa alterar ou remover a lignina e as hemiceluloses, aumentando a área superficial, e diminuir o grau de polimerização e cristalinidade da celulose; (2) a etapa de hidrólise, para obtenção dos açúcares a partir da celulose e hemiceluloses; e (3) em seguida a conversão desses açúcares em etanol via fermentação e destilação (Figura 12) (SANTOS et al., 2012).

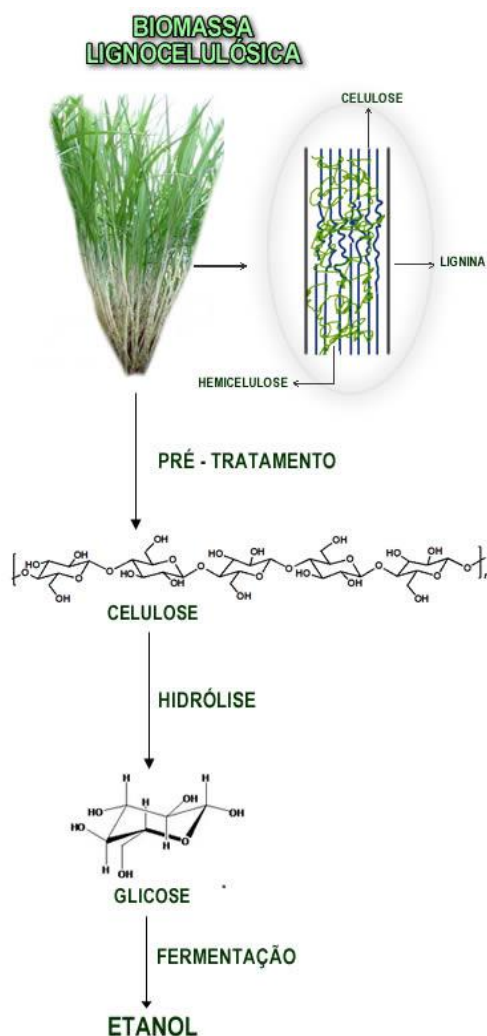


Figura 12. Representação esquemática da produção de etanol celulósico. Fonte: Santos et al., (2012).

Considerando a grande disponibilidade de biomassa produzida pela agroindústria sucroenergética, o bagaço e a palha apresentam potencial para a produção de etanol celulósico. O bagaço é um material promissor para a produção de etanol combustível, pois ele está disponível na unidade industrial, já que é um “subproduto” do processo de produção de etanol de primeira geração, e as melhores tecnologias de cogeração permitem a geração de maiores quantidades de bagaço excedente. Também é importante considerar que, com o fim gradativo da queima da cana-de-açúcar, haverá aumento significativo da quantidade e disponibilidade de palha no campo (SANTOS et al., 2012). Em termos energéticos e, se tratando da composição mássica da cana-de-açúcar, o caldo (açúcar), o bagaço e a palha representam proporções equivalentes, conforme pode ser observado na Tabela 2 (CORTEZ et al., 2013).

Tabela 2. Composição mássica e energética da cana-de-açúcar (base seca).

Componentes	Conteúdo mássico		Conteúdo energético	
	[kg/t]	[%]	[MJ]	[%]
Palha	140	32,9%	2500	33,8%
Bagaço	135	31,8%	2400	32,4%
Caldo (açúcar)	150	35,3%	2500	33,8%

A produtividade média de cana-de-açúcar no Brasil é de 85 toneladas por hectare. E para cada tonelada de cana processada são gerados cerca de 140 kg de palha e 140 kg de bagaço em base seca, ou seja, 12 toneladas de palha e 12 toneladas de bagaço por hectare. Considerando a conversão de toda a celulose contida no bagaço e na palha em etanol, o aproveitamento integral da cana-de-açúcar (colmo, palha e bagaço) poderá aumentar significativamente a produção de etanol por hectare, passando dos atuais 7.000 litros para aproximadamente 14.000 litros sem necessidade de expansão da área cultivada, além de ser possível diminuir os custos de produção (Figura 13). Em termos energéticos, o bagaço e a palha representam aproximadamente dois terços da energia potencial da cana-de-açúcar (MAGALHÃES et al., 2010; RABELO et al., 2012; CORTEZ et al., 2013).

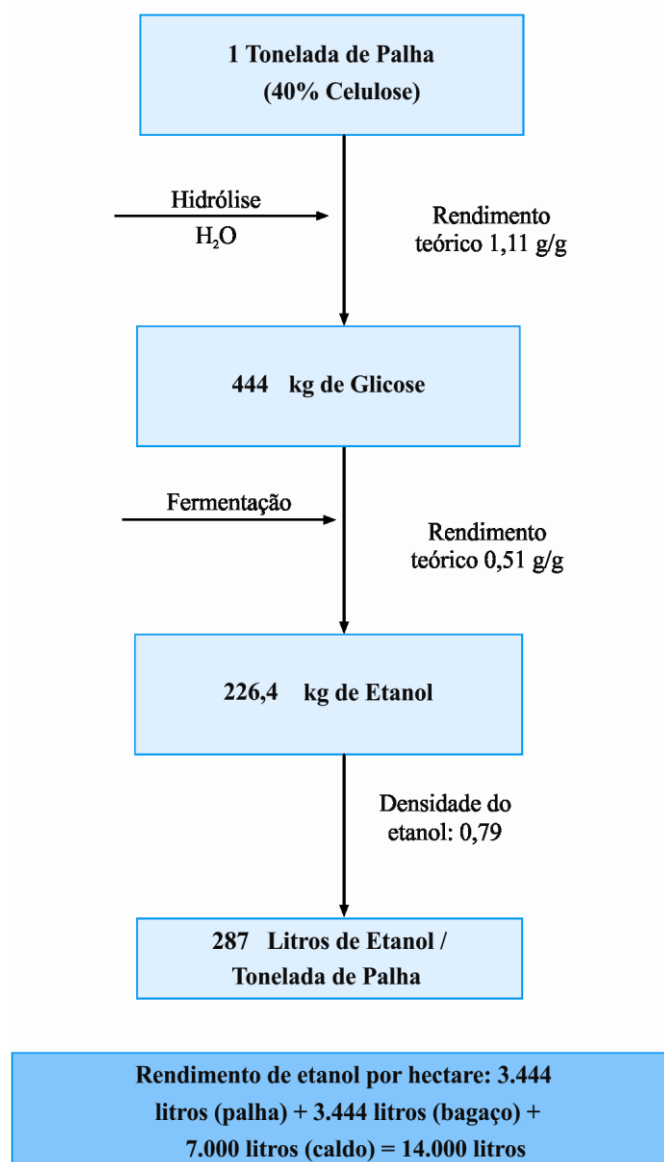


Figura 13. Rendimento teórico da produção de etanol por hectare de cana processada.

Fonte: Santos et al., (2012).

Devido à estreita associação recalcitrante entre os três componentes poliméricos do bagaço e da palha de cana (celulose, hemiceluloses e lignina), a liberação dos polissacarídeos como fonte de açúcares fermentescíveis para produção de etanol está entre as prioridades nas áreas de pesquisa e desenvolvimento do etanol celulósico. Segundo Bucheridge et al., (2010), a produção de etanol celulósico com alta eficiência e sustentabilidade resultará da integração entre diversos grupos de pesquisa especializados em diferentes

áreas da fisiologia, ecologia, bioquímica, genética, física e engenharia, entre outras. Ainda de acordo com o mesmo autor, a longo prazo as maiores expectativas para a viabilização do etanol celulósico estão depositadas na possibilidade de utilizarmos a maquinaria bioquímica de microrganismos (fungos e bactérias) para “desmontar” a parede celular da cana-de-açúcar.

Para ilustrar o potencial da cana-de-açúcar para produção de etanol celulósico em função do avanço da tecnologia de hidrólise, especificamente para o bagaço, foi estabelecido cinco cenários que incorporam gradativamente aumento da eficiência de conversão de hexoses e pentoses para hidrólise catalisada por ácidos diluídos e por enzimas, além da fermentação das pentoses a etanol (Tabela 3). Para traçar esses cenários, foram utilizadas tecnologias de hidrólise já publicadas (CGEE, 2009). Os cenários propostos são:

1. pré-tratamento e hidrólise ácida diluída com aproveitamento das hexoses, no estágio tecnológico atual;
2. pré-tratamento e hidrólise ácida diluída com aproveitamento das hexoses e otimização da reação de hidrólise aos melhores valores atingidos, reportados na literatura;
3. pré-tratamento e hidrólise ácida diluída com aproveitamento das hexoses e pentoses, com otimização da reação de hidrólise aos melhores valores atingidos, relatados na literatura;
4. pré-tratamento e hidrólise enzimática com aproveitamento das hexoses, no estágio atual da tecnologia; e
5. pré-tratamento e hidrólise enzimática com aproveitamento das hexoses e pentoses, com a tecnologia otimizada.

Tabela 3. Produção de etanol a partir do bagaço (litros/tonelada de bagaço).

Cenário	Conversões	Etanol Hexoses	Etanol Pentoses	Etanol Total
1	Hexoses: 60% Fermentação: 89% Pentoses: 70% Fermentação: 0% Destilação: 99,5%	69,1	0	69,1
2	Hexoses: 80% Fermentação: 91% Pentoses: 78,5% Fermentação: 0% Destilação: 99,75%	94,2	0	94,2
3	Hexoses: 80% Fermentação: 91% Pentoses: 85% Fermentação: 50% Destilação: 99,75%	94,2	37,2	132,2
4	Hexoses: 85% Fermentação: 89% Pentoses: 70% Fermentação: 0% Destilação: 99,5%	97	0	97
5	Hexoses: 95% Fermentação: 91% Pentoses: 85% Fermentação: 50% Destilação: 99,75%	111,4	37,9	149,3

Fonte: CGEE, (2009).

Observa-se na Tabela 3, que uma tonelada de bagaço *in natura* pode ser convertida em 69,1 litros de etanol com uma tecnologia medianamente otimizada. Com a otimização da sacarificação, pode-se atingir de 94,2 a 97,0 litros. Além disso, vencida a barreira da fermentação etanólica das pentoses, será possível atingir de 132,2 a 149,3 litros de etanol celulósico e esses valores poderão ser significativamente maiores com a introdução da palha de cana-de-açúcar.

3.3.1. Pré-tratamento da biomassa lignocelulósica

O pré-tratamento consiste em uma das etapas operacionais mais relevantes em termos de custo direto, além de influenciar significativamente os custos das etapas anteriores e subsequentes. Basicamente, o pré-tratamento é requerido para modificar a estrutura da biomassa lignocelulósica a fim de tornar a celulose mais acessível às enzimas que convertem os polímeros de carboidratos em açúcares fermentescíveis. Um pré-tratamento eficiente pode reduzir substancialmente a quantidade de enzimas no processo de sacarificação de celulose e, conseqüentemente, os custos de produção (HENDRIKS et al., 2009). De acordo com Galbe e Zacchi, (2010), um pré-tratamento efetivo deve obedecer a uma série de características desejáveis:

- baixo investimento e custo operacional para o pré-tratamento;
- produção mínima de resíduos;
- reações rápidas e/ou reagentes químicos não corrosivos para minimizar o custo do reator;
- altos rendimentos de produtos nas operações subsequentes com custos mínimos;
- carga baixa de enzima adequada para se atingir digestibilidade superior a 90% da celulose pré-tratada; e
- facilitar a recuperação da lignina e outros constituintes para conversão em coprodutos de maior valor agregado e etapas de purificação.

Em linhas gerais, o pré-tratamento da cana-de-açúcar (bagaço e palha) visando à produção de etanol celulósico deve apresentar uma polpa celulósica com elevada acessibilidade e reatividade da fibra aos agentes hidrolíticos ácidos ou enzimáticos, garantir adequada recuperação das pentoses, limitar a formação de compostos inibidores a leveduras e enzimas, associado ao baixo custo envolvido no processo de pré-tratamento. A Figura 14 ilustra o efeito do pré-tratamento na biomassa lignocelulósica.

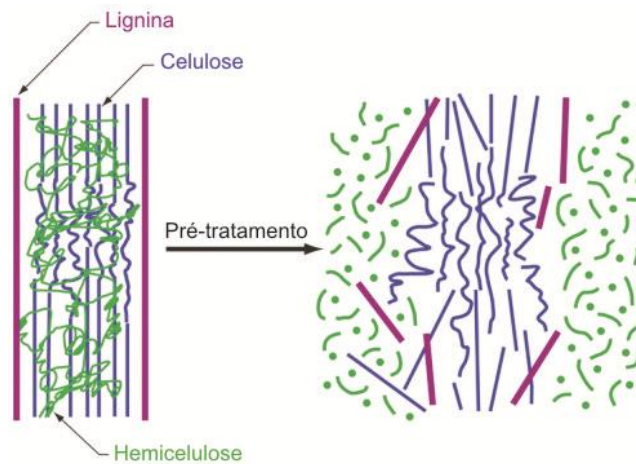


Figura 14. Efeito do pré-tratamento na biomassa lignocelulósica.
Fonte: Adaptado de Kondo (1997).

3.3.1.1. Tipos de pré-tratamentos

Diversos métodos de pré-tratamentos têm sido sugeridos durante as últimas décadas, e cada um deles possui suas vantagens e desvantagens. Eles podem ser divididos basicamente nas seguintes categorias: físicos, químicos, biológicos ou na combinação desses métodos.

3.3.1.1.1. Pré-tratamentos físicos

Geralmente são divididos em duas categorias: mecânicos e não mecânicos. No mecânico (moagem e trituração), as forças de impacto reduzem o tamanho de partícula, a cristalinidade, aumentam a superfície específica e a densidade aparente. Nos pré-tratamentos não mecânicos, submete-se o substrato celulósico à ação de agentes externos que provocam alterações diversas no material original. Esse pré-tratamento tem como desvantagem a ineficiência no aumento da digestibilidade da biomassa e o consumo de grandes quantidades de energia no processo (FAN et al., 1987; FUENTES, 2009). O pré-tratamento físico combinado com aquecimento e adição de produtos químicos pode ser uma opção interessante.

3.3.1.1.2. Pré-tratamentos químicos

São aqueles em que se utilizam de agentes químicos, como ácidos, bases e solventes orgânicos. Eles têm como objetivo o aumento da superfície do substrato por inchamento das fibras e a modificação ou remoção das hemiceluloses e/ou da lignina a fim de tornar a celulose mais acessível às enzimas.

O pré-tratamento ácido consiste em colocar a biomassa em contato direto com ácidos diluídos ou concentrados para solubilizar as hemiceluloses, a fim de se obter celulose mais acessível. O pré-tratamento com ácido diluído consiste na imersão do material em uma solução de ácido de aproximadamente 4% (p/p) e, em seguida, aquecimento até atingir temperaturas na faixa de 140 a 200 °C por períodos de vários minutos até uma hora. Diferentes reações ocorrem durante os pré-tratamentos com ácidos, e uma delas é a hidrólise das hemiceluloses, especialmente das xilanas e das glicanas. Dependendo das condições do pré-tratamento, pode haver formação de furfural e hidroximetilfurfural pela degradação de pentoses e hexoses, respectivamente, o qual pode influenciar negativamente na etapa da fermentação (PALMQVIST et al., 2000). Uma vantagem deste pré-tratamento é a solubilização de hemiceluloses, aumentando a acessibilidade da celulose para as enzimas. Em contrapartida, existe o risco de formação de produtos voláteis de degradação do carbono e estes, em muitos casos, diminuem a conversão a etanol. A condensação e a precipitação de componentes de lignina solubilizada também é uma reação indesejada, uma vez que diminui a digestibilidade. Pré-tratamentos com ácido concentrado para a produção de etanol não são processos atrativos, devido ao grande risco de produção de componentes inibidores pela degradação de carboidratos.

No pré-tratamento alcalino, geralmente utilizam-se soluções alcalinas diluídas em condições moderadas em comparação aos sistemas ácidos. O principal efeito desse pré-tratamento consiste na remoção da lignina. Embeber o material em uma solução alcalina, como hidróxido de sódio, potássio ou amônia, seguido de aquecimento, leva à diminuição na cristalinidade do grau de polimerização da celulose. Também provoca quebra das ligações lignina-carboidrato, além de perturbações na estrutura da lignina. Em alguns casos,

pode ser conduzido à temperatura ambiente, porém isso demanda tempos reacionais elevados, da ordem de horas, dias ou semanas. Ao contrário dos pré-tratamentos ácidos, uma limitação ocorre porque algumas bases podem ser convertidas em sais irrecuperáveis ou incorporadas como sais na biomassa por meio das reações do pré-tratamento (CHANG e HOLTZAPPLE, 2000). Ressalta-se, ainda, que esse método é mais efetivo em resíduos agrícolas e em gramíneas do que em materiais lenhosos, uma vez que, em geral, esses materiais contêm menos lignina. Para materiais lenhosos, a concentração de álcali deve ser acrescida consideravelmente, de forma que o processo se assemelhe ao de polpação *Kraft* (GALB e ZACCHI, 2010).

3.3.1.1.3. Pré-tratamentos biológicos

Envolvem o uso de microrganismos (fungos e bactérias) ou enzimas (lacases) para a deslignificação e redução do grau de polimerização da celulose e hemiceluloses. A vantagem desses pré-tratamentos é o baixo requerimento energético. Apesar de ser efetivo, limpo e sem produção de metabolitos indesejáveis, o processo é demasiado lento para ser aplicado industrialmente. Outra desvantagem é que esses os microrganismos não são seletivos, assim, além de degradarem hemiceluloses e lignina, degradam a celulose (SANTOS et al., 2013).

3.3.1.1.4. Pré-tratamentos combinados

Nesta categoria incluem-se combinações de pré-tratamentos físico e químico, como é o caso do pré-tratamento a vapor com adição de um catalisador (ácido ou alcalino). Um pré-tratamento típico nesta categoria é o AFEX (do inglês *Ammonia Fiber Explosion*), que é também alcalino, ocorrendo incremento da reatividade da fração celulósica, devido ao “inchamento” dela, combinado com hidrólise das hemiceluloses e desintegração da fibra. A biomassa é tratada com amônia líquida por um período de 10-60 min a temperaturas moderadas (100 °C) e altas pressões (30 Bar). Até 2 kg de amônia são usados por kg de biomassa seca. Uma das desvantagens deste pré-tratamento é a pouca solubilização das hemiceluloses e da lignina

(FUENTES, 2009). Como os outros métodos de pré-tratamento alcalino, o AFEX é mais eficiente em resíduos agrícolas, e não apresenta eficiência com madeira, devido ao seu maior conteúdo de lignina. Portanto, neste caso, o pré-tratamento ARP (do inglês *Ammonia Recycled Percolation*) é mais indicado para madeira de fibra curta e resíduos agrícolas, pois é menos eficiente para madeira de fibra longa (GALB e ZACCHI, 2010).

Nos últimos anos houve um grande interesse do meio científico no uso da água, submetida a elevadas temperaturas e pressão, (geralmente 160 °C a 240 °C por 1 a 20 minutos) servindo como solvente presente no meio reacional, em processos de conversão da biomassa lignocelulósica (YUAN et al., 2011). Esse tipo de pré-tratamento tem sido chamado de hidrotérmico, auto-hidrólise, fracionamento aquoso ou fracionamento a vapor.

Muito resíduos agrícolas e alguns tipos de madeira de fibra curta contém uma quantidade suficiente de ácidos orgânicos (principalmente ácido acético) que agem como catalisadores para a hidrólise das hemiceluloses. Esse processo inicia geralmente em pH neutro e termina em pH ao redor de 3,5 a 4, dependendo da quantidade de ácido liberado (GALBE e ZACCHI, 2010).

Essa tecnologia tem sido largamente utilizada em escala piloto, por exemplo, no NREL em Golden, Co (EUA), na Sekab em Ornskoldsvik (Suécia), na Iogen, em Ottawa (Canadá), sendo considerada como um dos pré-tratamentos mais promissor e estando próximo de ser comercializado (GALBE e ZACCHI, 2010).

O pré-tratamento hidrotérmico oferece uma alternativa interessante no processo de conversão da biomassa em etanol celulósico (ROGALINSKI et al., 2008). Vários estudos foram realizados utilizando esse método de pré-tratamento em diferentes biomassas, tais como a palha de trigo (KABEL et al., 2007), a palha de milho (OHGREN et al., 2007), o bagaço de cana (LASER et al., 2002) e a madeira (SODERSTROM et al., 2004). Esse interesse na utilização do pré-tratamento hidrotérmico se justifica pelas seguintes razões: (I) o processo não faz uso de reagentes químicos, que é interessante do ponto de vista ambiental e econômico, além de não ter necessidade de trabalhar com reatores altamente resistentes a corrosão; (II) hidrolisa grande parte da fração hemicelulósica; (III) provoca alterações físico-químicas na celulose e lignina favorecendo a maior eficiência de hidrólise (GARROTE et al., 1999).

Em relação aos pré-tratamentos químicos, o processo hidrotérmico oferece várias vantagens: não requer o uso de reagentes químicos e, conseqüentemente, não há necessidade de se trabalhar com reatores altamente resistentes à corrosão, reduzindo o custo deste processo e os impactos ambientais (WYMAN, 2003).

Os diversos tipos de pré-tratamento podem ser avaliados pelo seu efeito não só na celulose, hemicelulose e lignina, mas também na fração sólida remanescente. Os pré-tratamentos físico-químicos podem ser classificados de acordo com o pH do pré-tratamento (GALBE e ZACCHI, 2007):

Métodos com condições ácidas: condições em baixo pH que resultam na hidrólise de hemiceluloses a monômeros de açúcar e minimizam o uso de hemicelulases. Esses pré-tratamentos, na maioria dos casos, geram produtos como furfural e hidroximetilfurfural, a partir da degradação dos açúcares.

Métodos com condições próximas à neutra: ocorre a solubilização da maioria das hemiceluloses devido à liberação de ácidos, como o acético, mas não ocorre a total conversão a monômeros de açúcar. Neste caso, é necessário o uso de hemicelulases.

Métodos alcalinos: na maioria dos casos, quase toda hemicelulose permanece na fração sólida. Isso requer que as hemicelulases ajam em ambas as frações, sólida e na hemicelulose dissolvida. Uma alternativa seria realizar, por exemplo, uma hidrólise ácida nesta fração sólida para remoção de celulose pela hidrólise enzimática.

A associação entre um ou mais pré-tratamentos e a estrutura e composição da biomassa determinarão o sucesso do pré-tratamento escolhido como facilitador do processo de hidrólise. A Tabela 4 apresenta as principais características que diferenciam alguns pré-tratamentos. Os pré-tratamentos ácido diluído, hidróxido de cálcio, biológico, explosão a vapor e Afex removem, basicamente, hemiceluloses, com alterações mínimas na estrutura da lignina. Já o pré-tratamento organosolve remove a lignina e hemiceluloses.

Tabela 4. Efeito de diferentes pré-tratamentos na biomassa lignocelulósica.

Pré-tratamento		Características Composicionais			Vantagens	Desvantagens
		Celulose	Hemicelulose	Lignina		
Físico	Moinho de bolas	Intensiva diminuição da cristalinidade	Não remove	Não remove	Redução de cristalinidade	Alto consumo de energia
	Ácido Diluído	Pouca despolimerização	80-100% de remoção	Pouca remoção	Condições médias, altas produção de xilose	Difícil recuperação do ácido, corrosivo e custo elevado
Químico	Hidróxido de Sódio	Inchamento significativa	Considerável solubilidade	Considerável solubilização, >50%	Remoção efetiva de ésteres	Reagente caro,
	ARP <i>Percolação com amônia</i>	Menor < 5% de despolimerização	~50% de solubilidade	~70% de solubilização	Efetiva deslignificação	Reagente caro
	Hidróxido de Cálcio	Pouca despolimerização	Significativa solubilização	Solubilização parcial (~40%)	Efetiva remoção de lignina e acetil, baixo custo	Menor efetividade devido à pouca solubilidade da cal
	Ozonólise	Não foi observado despolimerização	Pequena solubilização	Solubilização acima de 70%	Efetiva deslignificação em condições suaves	Caro, necessidade de mais ozônio
	Organosolve	Considerável inchamento	Significativo, quase completa	Significativo, pode ser quase completa	Alta produção de xilose, efetiva deslignificação	Recuperação de solvente cara
Biológico	Biológico	20-30% de despolimerização	Acima de 80% de solubilização	~40% de deslignificação	Baixo requerimento de energia, efetiva deslignificação	Perda de celulose, baixa taxa de hidrólise
Combinado	Explosão a vapor	Pouca despolimerização	80-100% de remoção	Pouca remoção, mas ocorre mudança da estrutura	Energia eficiente, nenhum custo de reciclagem	Degradação da xilana como produto inibitório
	AFEX <i>Ammonia fiber explosion</i>	Diminuição do grau de cristalinidade	Acima de 60% de solubilidade	10-20% de solubilização	Menor perda de xilanas, não formação de inibidores	Recuperação de amônia, não é efetivo para alta concentração de lignina

Fonte: Santos et al., (2012).

Saber avaliar cada pré-tratamento quanto às vantagens e desvantagens no caso de cada biomassa é essencial para a viabilidade da produção do etanol celulósico. Para isso, avaliações econômicas são focalizadas não na determinação do custo do etanol, mas sim na comparação entre as opções tecnológicas disponíveis (SEABRA, 2008).

Formação de inibidores

A formação dos coprodutos inibidores é proveniente, principalmente, dos pré-tratamentos que utilizam reagentes ácidos combinados com altas temperaturas. Eles levam à degradação dos açúcares e da lignina e à produção de ácidos orgânicos. Da degradação da xilose resulta o furfural e da degradação das hexoses, o inibidor hidroximetilfurfural, os quais são produtos inibitórios bastante conhecidos para uso na etapa da fermentação (MUSSATO e ROBERTO, 2004). Quando é promovida a degradação desses inibidores, os ácidos fórmicos e levulínico são formados. Já compostos fenólicos, como o ácido 4-hidroxibenzóico, vanilina, catecol e siringaldeído, podem ser formados pela decomposição química parcial da lignina. Alguns desses compostos estão apresentados na Figura 15.

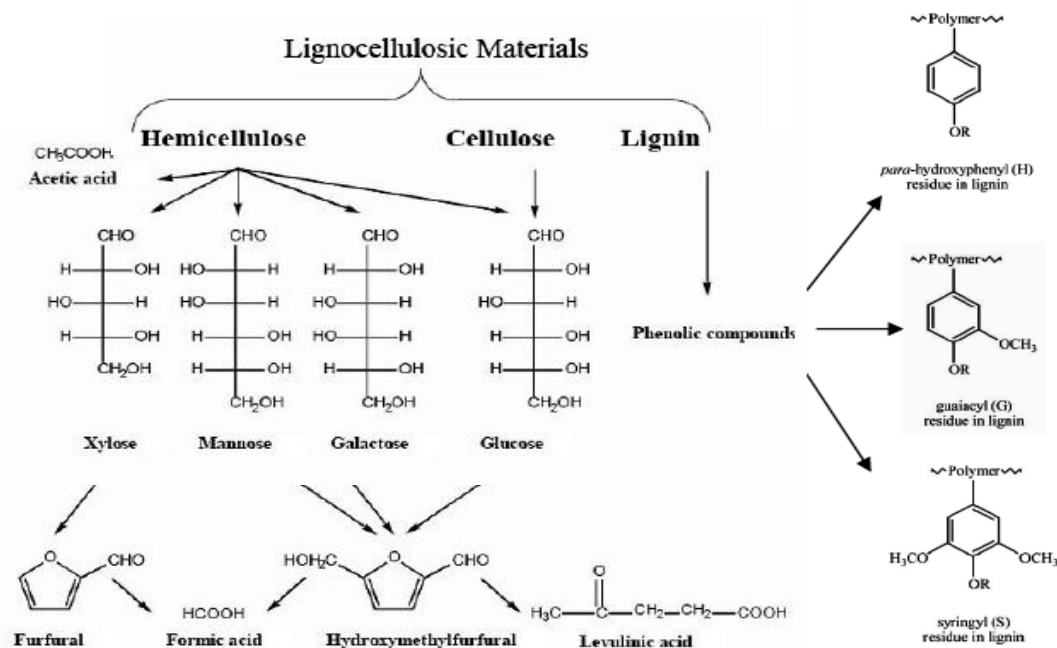


Figura 15. Degradação dos componentes presentes na biomassa.

Para o bagaço e para a palha de cana, alguns métodos se mostraram adequados, mas todos ainda precisam ser otimizados para reduzir as elevadas expectativas de custos. Na agroindústria sucroenergética, o bagaço é submetido a um pré-tratamento físico no momento de sua produção, ou seja, após a moagem da cana, e torna-se um conjunto heterogêneo de partículas com tamanhos que oscilam entre 1 mm e 25 mm, com média de 20 mm. Em virtude da reduzida granulometria, o bagaço dispensa moagem previa ao pré-tratamento físico-químico, o que representa uma vantagem em termos de custo de preparação da matéria-prima. Entretanto, a baixa densidade e o baixo grau de compactação do bagaço representam um problema em termos da operação de alimentação do reator, além da dificuldade em conduzir o pré-tratamento com cargas de sólidos superiores a 50% (BONOMI, 2010).

O bagaço possui elevada capacidade de absorção de líquidos, bem como reduzida “dureza”. Além disso, a elevada umidade do bagaço proveniente das moendas (45% a 50%) facilita a impregnação dessa biomassa com soluções ácidas e alcalinas. Esse aspecto é de fundamental importância com respeito à eficiência do pré-tratamento hidrolítico ácido, o qual demanda concentrações adequadas de íons hidroxônios (H_3O^+), formados a partir da água e do ácido dissociado. A insuficiência de água na biomassa resultaria em menor formação de íon hidroxônio, bem como reduzida disponibilidade de fluido de transporte deste no interior da biomassa, e conseqüente perda de eficiência da capacidade hidrolítica. Portanto, neste caso, o desafio consiste em determinar a quantidade ótima de água no bagaço, de modo a garantir efetiva impregnação da biomassa, enquanto se obtém uma carga de sólidos no reator, principalmente em processos de explosão a vapor. Os pré-tratamentos a vapor auto catalíticos, ou em presença de catalisador, água quente e ácido sulfúrico diluído, são métodos mais promissores para cana-de-açúcar (BONOMI, 2010).

Existem vários projetos de pré-tratamento em escala piloto, em fase de demonstração e já em uso comercial visando à produção de etanol celulósico. No entanto, não existe o “melhor pré-tratamento”, ou seja, o mais eficiente para todos os tipos de biomassa lignocelulósica. Cada tipo de biomassa requer um método particular de pré-tratamento para minimizar a degradação do substrato,

maximizar o rendimento de açúcar e, ao mesmo tempo, reduzir o consumo de insumos químicos e energia.

3.3.2. Hidrólise da biomassa lignocelulósica

Após a etapa de pré-tratamento é necessária à hidrólise da celulose para obtenção de açúcares fermentescíveis. O rendimento da hidrólise da celulose é inferior a 20%, se não sucedida por pré-tratamento, caso contrário excede os 90% (HAMELINK et al., 2005). A hidrólise é apontada como a rota com maior potencial de promover o incremento da produção de etanol (sem expandir a fronteira agrícola), bem como aumentar a eficiência de conversão da energia primária da cana-de-açúcar. Nessa etapa, a celulose é convertida em glicose, que pode ser catalisada por ácidos (diluído ou concentrado) ou por enzimas (BNDES, 2008).

3.3.2.1. Hidrólise ácida

Os processos de obtenção de etanol celulósico a partir de biomassa em que se utilizam catalisadores ácidos permitem, em condições adequadas de pressão e temperatura, solubilização das hemiceluloses e da celulose, sem alterar significativamente a lignina (PERDICES et al., 2012). Os processos de hidrólise ácida são divididos em duas categorias: os que usam ácidos concentrados e os que utilizam ácidos diluídos.

Na hidrólise com ácido concentrado, as hemiceluloses e celulose presentes na biomassa lignocelulósica são hidrolisadas usando-se soluções aquosas de ácidos minerais fortes, como ácido sulfúrico, clorídrico, nítrico ou fosfórico, em moderada temperatura. Nessa categoria, a biomassa deve ser submetida à secagem com o intuito de se obter teor de umidade abaixo de 10%, a fim de evitar a diluição do ácido no estágio de hidrólise. Tipicamente, a fração de hemicelulose é hidrolisada mais rapidamente que a de celulose, e os monossacarídeos liberados da hemicelulose são expostos no meio reacional por muito tempo, o que leva à degradação e perda desses açúcares. É um processo relativamente lento, sendo necessário recuperar o ácido utilizado por razões econômicas e ambientais.

O processo com ácido diluído é a tecnologia mais antiga na conversão de biomassa em etanol celulósico. Esse processo envolve duas reações de hidrólise; na primeira, a fração hemiceluloses é convertida em açúcares e outros coprodutos por meio da utilização de ácido diluído e vapor. A temperatura do processo está na faixa de 130-190 °C, com tempo de 10-30 min. A conversão dos açúcares não só reduz os rendimentos, como o furfural e outros coprodutos podem inibir a etapa de fermentação (SEABRA, 2008). O segundo estágio de hidrólise também é realizado com ácido diluído e vapor, mas as temperaturas são mais severas, entre 190 e 265 °C, e com tempo de residência muito curto, só alguns segundos. Os açúcares no segundo estágio são tratados com hidróxido de cálcio e, algumas vezes, com uma pequena adição de sulfato de sódio antes da fermentação. Esse tratamento neutraliza os hidrolisados e remove as substâncias inibidoras. Em média, os rendimentos são de 89% para manose, 82% para galactose, mas apenas 50% para glicose (HAMELINK et al., 2005).

Nos processos industriais, a hidrólise ácida tem sido realizada com ácido sulfúrico (H₂SO₄). O fato de ainda não haver comercialização de etanol produzido a partir da hidrólise ácida do bagaço da cana está relacionado a dificuldades técnicas e operacionais que resultam em um custo elevado do produto final. Parte deste custo se deve ao fato de que para que a hidrólise ocorra de forma eficiente é necessário aquecer o polissacarídeo na solução ácida. A temperatura ideal para a quebra de hemiceluloses está entre 100 a 120 °C e a concentração ideal de ácido sulfúrico é ao redor de 3% (BUCKERIDGE et al., 2010). No caso específico da cana de açúcar, este custo é minimizado devido ao fato de parte do bagaço ser queimado para alimentar as caldeiras e produzir a energia elétrica consumida no processo.

3.3.2.2. Hidrólise enzimática

Neste caso, a hidrólise é catalisada por celulases. Trata-se de um complexo enzimático que apresentam alto grau de sinergismo representado pelas endoglucanases, exoglucanases e β-glicosídeos. As endoglucanases hidrolisam randomicamente as regiões internas da estrutura amorfa da celulose, liberando oligossacarídeos menores. Essas enzimas são

responsáveis pela rápida solubilização da fibra de celulose. Os produtos gerados pelas endoglucanases tornam-se então substratos para as exoglucanases, as quais clivam os oligossacarídeos, liberando principalmente celobiose. As principais representantes das exoglucanases são as celobiohidrolases, que podem atuar tanto na extremidade redutora quanto na não redutora da celulose. As β -glicosidades impedem a acumulação da celobiose, realizando a quebra dela em glicose. Entretanto, conforme aumentam as concentrações desses monômeros no meio, as atividades das celulases são inibidas. A celobiose é um inibidor mais forte do que a glicose, sendo interessante que ela seja rapidamente hidrolisada em glicose pelas β -glicosidases (SUN e CHENG, 2002).

A enzima pode ser produzida em um reator separado na própria unidade produtora de etanol ou adquirida de um fornecedor. No contexto do setor sucroenergético, a produção de enzimas *in house* (na própria unidade produtora de etanol), utilizando parte do bagaço pré-tratado (cerca de 30 a 40%) como substrato, emerge como alternativa tecnológica potencialmente interessante. Entre as vantagens, podem-se relacionar a ausência de custo de transporte, possibilidade de utilizar formulações diluídas, menor custo de purificação e concentração, menor complexidade da conservação do produto, além do fato de se poder utilizar hidrolisados hemicelulósicos no cultivo dos microrganismos (BONOMI, 2010).

A hidrólise enzimática apresenta algumas vantagens em comparação à ácida, por exemplo, maior especificidade do biocatalisador, menores taxas de degradação da glicose, condições moderadas de temperatura e pressão e menores custos de separação devido à menor formação de coprodutos inibidores. Entretanto, ainda é necessário o avanço no desenvolvimento de enzimas para tornar viável a implantação dos processos de hidrólise enzimática em escala comercial (PERDICES et al., 2012).

Geralmente, o processo de hidrólise enzimática apresenta vantagens associadas à obtenção de rendimentos superiores a 0,85g de glicose/g de celulose, sob temperaturas de 40-50 °C e pressão atmosférica. Todavia, aspectos operacionais relacionados à elevada duração do processo (48-72h), desativação catalítica por inibição da atividade enzimática, bem como elevado custo das enzimas, têm acarretado incertezas quanto à viabilidade econômica

do processo de hidrólise enzimática no contexto da produção de etanol, a partir da biomassa lignocelulósica (BONOMI, 2010).

Diversos fatores podem afetar a hidrólise enzimática de biomassa lignocelulósica, são eles referentes à:

Substrato: concentração do substrato (é um dos fatores mais importantes que afetam a produção e a velocidade inicial de hidrólise enzimática da celulose); características estruturais do substrato (cristalinidade da celulose, grau de polimerização da celulose, área superficial e teor de lignina).

Celulase: concentração de celulase (até certa quantidade, pode-se melhorar a taxa de hidrólise, mas isso incrementa significativamente o custo do processo); inibição retroativa devido ao acúmulo de glicose e celobiose no meio reacional e desnaturação térmica das enzimas.

Comparativamente às rotas químicas, a enzimática apresenta-se como alternativa mais adequada à produção de etanol a partir do bagaço, do ponto de vista técnico, em virtude da maior possibilidade em se obterem rendimentos glicosídicos elevados, da ordem de 90%, com cargas enzimáticas de aproximadamente 7,5 FPU/g celulose, ao mesmo tempo em que são obtidos hidrolisados com reduzida toxicidade aos microrganismos da fermentação. Entretanto, a despeito dessas vantagens, existe o desafio de tornar o processo enzimático viável economicamente (BONOMI, 2010).

Em suma, o processo de hidrólise enzimática tem um ótimo potencial para produzir açúcares fermentescíveis a partir de biomassa lignocelulósica e pode ser adaptado a diferentes casos. Para a cana, esta tecnologia já está próxima de se tornar comercial e será um ponto de extrema importância estratégica para as próximas gerações de etanol celulósico. Considerando-se o ponto em que se encontra no momento, pode-se esperar que a viabilidade comercial esteja próximo de ser atingida. O desenvolvimento de tal tecnologia é de extrema importância tecnológica, pois abre o caminho para que se utilizem enzimas e/ou se modifique a matéria prima para obter rendimentos ainda maiores (BUCKERIDGE, et al., 2010).

3.3.3. Processo fermentativo

A terceira etapa no processo de produção de etanol celulósico é a fermentação. Nessa etapa, os açúcares liberados na hidrólise da celulose e da hemicelulose são metabolizados pelos microrganismos a etanol.

Os principais açúcares decorrentes da hidrólise da biomassa são a glicose e a xilose. Na levedura *Sacharomyces cerevisiae*, a glicose é captada por transportadores codificados por genes da família *HXT*. Após ser transportada, a glicose é fosforilada e transformada em piruvato na via glicolítica. O piruvato é então convertido em etanol por meio da fermentação etanólica. A xilose, por sua vez, segue outra via. A levedura *S. cerevisiae* não possui um transportador específico para esse açúcar, por isso, na célula, a xilose é transportada pelos transportadores de hexoses (*HXT*). No entanto, a afinidade desses transportadores por glicose é maior, dificultando a captação de xilose pela célula na presença de glicose. No interior da célula, a xilose é transformada em xilitol e em seguida em xilulose. A xilulose formada entra então na fase não oxidativa da via das pentoses fosfato (PPP). O produto dessa via segue pela via glicolítica, sendo transformado em piruvato, que é convertido em etanol. *Sacharomyces cerevisiae* possui os genes que codificam enzimas que metabolizam xilose, no entanto sua expressão é muito baixa, o que impede a conversão de xilose em etanol (MATSUSHIKA et al., 2009; RUBIO-TEXEIRA et al., 2009; OREB et al., 2012).

3.3.3.1. Microrganismos fermentativos

Pesquisas têm sido desenvolvidas objetivando o isolamento de linhagens de leveduras capazes de crescer e fermentar em altas temperaturas. Dentre os microrganismos isolados, destacam-se, principalmente, os das espécies *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyveromyces marxianus*.

Saccharomyces cerevisiae é o principal organismo utilizado na fermentação etanólica no Brasil e no mundo. Esse microrganismo é capaz de fermentar sacarose a etanol com altos rendimentos, alta produtividade, além de tolerar altas concentrações de etanol comparado com outras linhagens de leveduras, ter capacidade de crescer em baixos valores de pH, tolerância a

inibidores, comparado a outras linhagens, e ser genética e fisiologicamente conhecido.

Nos últimos anos, a espécie *K. marxianus* tem sido adotada pela indústria, principalmente porque possui características que são desejáveis para aplicação biotecnológica, as quais incluem a termotolerância. Nesse caso, algumas linhagens são capazes de crescer em temperaturas acima de 45 °C. Cita-se, ainda, a capacidade de assimilar ampla variedade de substratos. Muitos dos açúcares que essa espécie é capaz de assimilar estão presentes na biomassa lignocelulósica. Essas características, juntamente com a capacidade de algumas cepas de fermentar xilose em etanol celulósico com altos rendimentos, têm despertado interesse de sua aplicação em processo de produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica (LANE et al., 2011).

3.3.3.2. Formas de condução do processo fermentativo

A hidrólise enzimática e a fermentação podem ser realizadas separadamente, no chamado processo de sacarificação e fermentação separadas (SHF), ou combinadas, na chamada sacarificação e fermentação simultânea (SSF). Independentemente da forma de condução, é importante manter elevada concentração de carboidratos na etapa de hidrólise, de forma a se obter elevada concentração de etanol no processo fermentativo (GALBE e ZACCHI, 2010).

Sacarificação e fermentação separadas

Nesta forma de condução, realiza-se inicialmente a hidrólise da biomassa. Após a hidrólise, o meio é centrifugado, o sólido não hidrolisado é descartado e no meio líquido é inoculado o microrganismo fermentativo. O processo prossegue até o consumo dos açúcares presentes no meio. Uma vantagem desse processo é a possibilidade de realização de cada etapa, hidrólise e fermentação, nas condições ótimas de ação das celulasas e crescimento do microrganismo (OLOFSSON et al., 2008). Neste caso, a hidrólise é realizada próximo de 50 °C, que é a temperatura ótima de atuação das celulasas e a fermentação na temperatura ótima de crescimento do

microrganismo abaixo de 37 °C. A desvantagem que pode ocorrer é a inibição parcial das celulasas pelo acúmulo de celobiose e glicose. Essa inibição influi negativamente na conversão da biomassa em glicose (WANG et al., 2012).

Sacarificação e fermentação simultâneas

Foi demonstrado que maiores rendimentos em etanol poderiam ser obtidos por sacarificação e fermentação simultâneas (SSF), em comparação com processos de hidrólise e fermentação separadas (SHF) (TOMÁS-PEJÓ et al., 2008; SANTOS et al., 2010). Nessa forma de condução, a hidrólise e a fermentação são realizadas simultaneamente, em um mesmo recipiente. Assim, inoculam-se no mesmo recipiente, ao mesmo tempo, as celulasas e os microrganismos.

Nesse processo, a glicose liberada na hidrólise é concomitantemente utilizada pela levedura, impedindo seu acúmulo no meio reacional e, conseqüentemente, diminuindo a inibição das celulasas pelos produtos de hidrólise, celobiose e glicose (OLOFSSON et al., 2008). Vários estudos têm mostrado que o rendimento em etanol é maior quando conduzido por SSF do que quando se utiliza o SHF, ambos para madeira de fibras longas e resíduos agrícolas, caso do bagaço e da palha da cana-de-açúcar (OHGREN et al., 2007).

Comparado com o processo em dois estágios, com hidrólise e fermentação separadas, o SSF tem diversas vantagens: (1) melhora a taxa de hidrólise pela conversão simultânea dos açúcares que inibem a atividade das celulasas; (2) diminui o requerimento de enzimas; (3) aumenta o rendimento; (4) diminui o requerimento de condições estéreis, já que a glicose é removida imediatamente do meio; e (5) diminui tempo total do processo. A principal desvantagem que precisa ser considerada no processo SSF é a incompatibilidade de temperatura de hidrólise e fermentação, o que torna necessária a utilização de cepas de microrganismos termotolerantes (SUN E CHENG, 2002; OLOFSSON et al., 2008; SAHA et al., 2011).

Pré-sacarificação

O processo de sacarificação e fermentação simultâneas pode ser antecedido por uma etapa de pré-sacarificação. A função dessa etapa é fornecer uma fonte de carbono inicial para a levedura, uma vez que a biomassa está na forma de polímero que não é uma fonte de carbono diretamente fermentescíveis. Foi demonstrado que a pré-sacarificação leva à rápida dissolução e boa mistura do substrato no meio, resultando em maior rendimento de etanol no final do processo (SANTOS et al., 2010). De Santos et al. (2012) demonstraram que a concentração inicial de glicose é o principal fator que afeta o rendimento em etanol no processo SSF, daí a importância dessa etapa no processo.

3.4. Inclusão da produção de etanol celulósico anexo à destilaria padrão

Por ser um dos maiores produtores de cana-de-açúcar e de etanol (primeira geração), com tecnologia já consolidada e custos altamente competitivos, o Brasil apresenta um ambiente muito favorável para hidrólise do bagaço e da palha, bem como conversão dos açúcares em etanol celulósico (ROSSEL e ZAINAGHI, 2008).

O modelo de inclusão seria integrar o processo de hidrólise a uma destilaria de etanol padrão, utilizando como matéria-prima o bagaço e a palha de cana. A tecnologia empregada nesse modelo de integração se fundamenta na proposta da IOGEN *Coporratio*n, localizada em Ottawa (Canadá). Nesse modelo, após o pré-tratamento do bagaço com vapor e ácido sulfúrico, ocorrem à hidrólise enzimática do material pré-tratado em suspensão aquosa e os pós-tratamentos do licor de hidrólise (CGEE, 2009) (Figura 16).

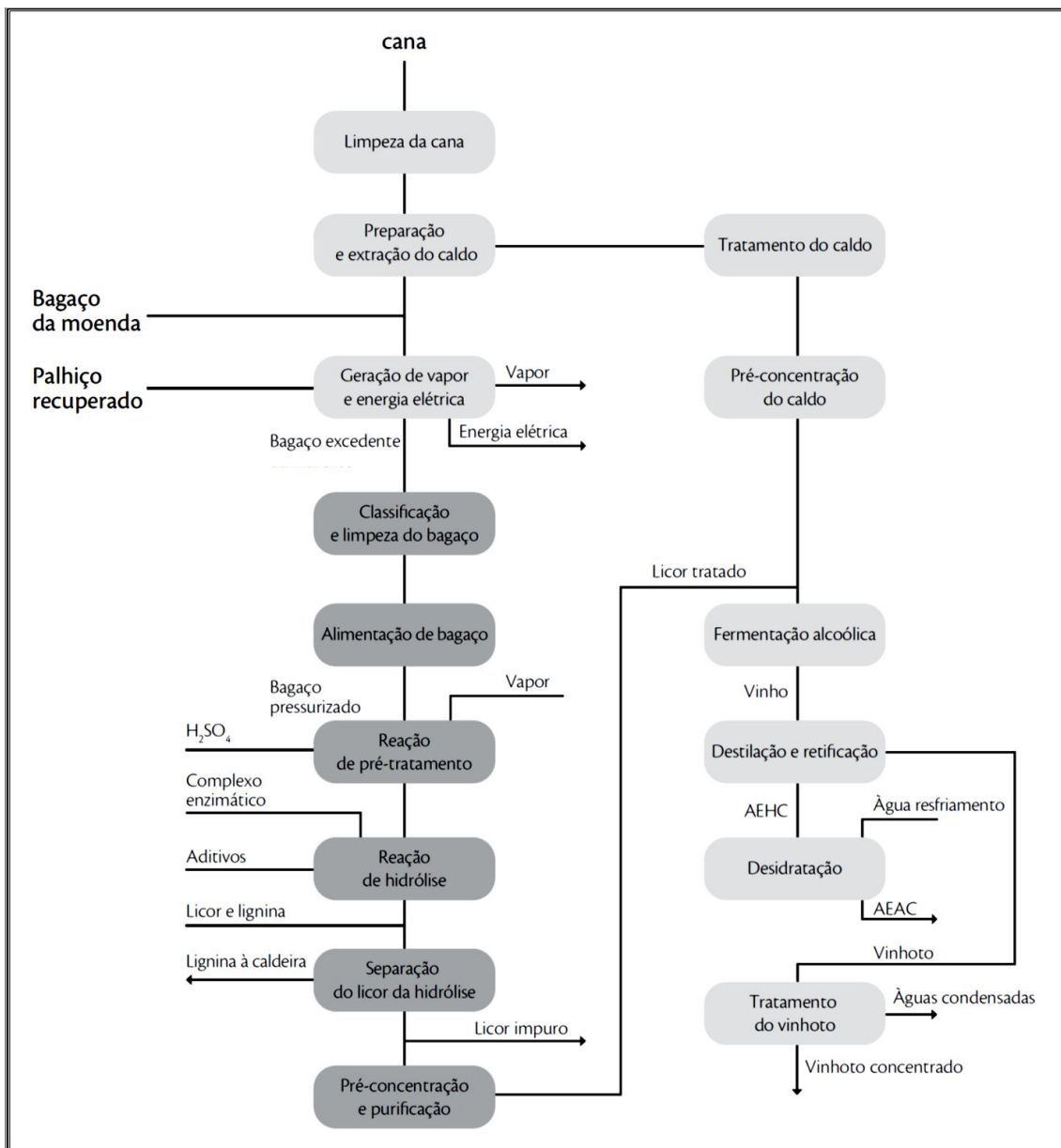


Figura 16. Processo de hidrólise anexo à destilaria padrão.
 Fonte: CGEE, (2009).

O processamento seria continuado da destilaria padrão, na qual o licor seria adicionado ao caldo de cana tratado e pré-concentrado para formar o mosto. O processo de fermentação etanólica, destilação, retificação e desidratação do etanol e tratamento do vinhoto seriam realizados também na destilaria, agora redimensionada para atender à produção adicional de etanol (CGEE, 2009).

A destilaria proveria as utilidades necessárias para operação da hidrólise: água de processo, de resfriamento, vapor e energia elétrica, assim

O desenvolvimento de novas tecnologias que levem ao aproveitamento de todo o potencial econômico e energético da cana-de-açúcar é de fundamental importância, devendo ser considerada, ainda, a sustentabilidade das cadeias produtivas – o que passa por uma avaliação criteriosa dos impactos ambientais, econômicos e sociais.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O método empregado para caracterização química da palha de cana-de-açúcar antes e após a etapa do pré-tratamento e na etapa de hidrólise, assim como a descrição experimental da otimização do pré-tratamento hidrotérmico e da hidrólise enzimática são descritas nos itens a seguir.

4.1. Matéria-prima

A matéria-prima utilizada nos experimentos foi à palha (folhas e ponteiros) de cana-de-açúcar cultivar RB867515, sendo esta a cultivar mais plantada no país, segundo o Censo Varietal de cana-de-açúcar, 2011. Proveniente de uma mesma safra a palha foi colhida manualmente após a colheita mecanizada da cana em diferentes estados do Brasil: São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Alagoas e Mato Grosso.

4.2. Preparação da palha de cana-de-açúcar

A palha foi colhida no campo após a colheita mecanizada e secada a temperatura ambiente durante quatro dias, com constante homogeneização. Após a secagem, a palha foi submetida a um processo de moagem, utilizando-se um moinho de facas marca Wiley Mill. Após o tratamento físico a palha foi classificada por meio de um conjunto de peneiras, sendo a fração utilizada para análises a que passou pela peneira de 40 mesh e ficou retida na peneira de 60 mesh. Esperou-se, então, que a amostra atingisse seu teor de equilíbrio de umidade, sendo aclimatadas em sala climatizada com controle interno de temperatura e umidade relativa ($23 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR% de $50 \pm 2\%$), e armazenou-se toda a amostra em recipientes hermeticamente fechados. Os teores de umidade das amostras foram determinados de acordo com a norma TAPPI T 264 om-88.

Para conseguir um material peneirado homogêneo constituído de parte fibrosa que foi utilizada no experimento, esse processo foi repetido inúmeras

vezes até obter uma quantidade mínima para a realização dos experimentos, aproximadamente 200 g.

4.3. Determinação do teor de umidade

A determinação de umidade nas amostras é importante para apresentar os resultados em termos de biomassa seca. Foram pesados béqueres de 50 mL (M_1) previamente secos em uma estufa a 105 °C durante quatro horas e colocados em um dessecador até atingirem a temperatura ambiente. Amostras de 2 g da palha foram pesadas nos béqueres (M_2), e levadas à estufa a 105 °C para secagem até massa constante com variação em $\pm 0,001$ g na umidade atual após 1 h de reaquecimento da amostra. Após este período, as amostras foram retiradas da estufa e colocadas num dessecador e pesadas novamente (M_3). Para calcular o teor de umidade nas amostras utilizou-se a seguinte equação:

$$\% \text{ Teor de Umidade} = \left(\frac{M_2 - M_3}{M_2 - M_1} \right) \times 100$$

M_1 = massa do béquer vazio (g)

M_2 = massa da amostra úmida com béquer (g)

M_3 = amostra absolutamente seca com béquer (g)

4.4. Determinação do Poder Calorífico

Os materiais foram avaliados quanto ao Poder Calorífico Superior (PCS); que é o poder calorífico obtido em combustão e realizado a volume constante, onde a água formada pela combustão é condensada. Nesse tipo de determinação, foi utilizada uma bomba calorimétrica marca Parr, modelo 6300. Esta análise foi realizada seguindo a norma ABNT NBR 8633/84 e o manual do calorímetro.

4.5. Caracterização química da palha de cana-de-açúcar

A caracterização química das amostras da palha de cana-de-açúcar foi realizada em triplicata no Laboratório de Celulose e Papel da Universidade Federal de Viçosa. Foram realizadas as seguintes análises químicas: teor de carboidratos (glicanas, xilanas, galactanas, mananas, arabinanas, grupos de acetila e ácidos urônicos), lignina (solúvel e insolúvel e total), extrativos totais, cinzas e minerais (Mg, K, Ca, Mn, Fe, Cu e P).

4.5.1. Determinação dos teores de carboidratos

A determinação dos teores de carboidratos foi realizada por hidrólise dos polissacarídeos pelo método Saeman seguido pela quantificação dos açúcares resultantes por meio de cromatografia de troca iônica. As amostras (palha moída) foram hidrolisadas com H₂SO₄ (72%) à 30 °C com agitação ocasional durante 1 h. A mistura foi então diluída com água deionizada para se obter a concentração de H₂SO₄ à 3%, que em seguida, foi transferida para um frasco, selado e aquecido a 120 °C durante 1,5 h numa autoclave. A suspensão resultante foi filtrada, e o filtrado foi analisado por Cromatografia Iônica (IC-3000 Dionex) com um detector amperométrico pulsado (HPAE-PAD). A separação de açúcares foi conseguida utilizando uma coluna de proteção Carbo-Pac PA1 e uma coluna analítica conectadas em série. A água foi utilizada como eluente a uma taxa de 1,0 mL/min e a temperatura da coluna foi mantida a 28 °C. Os picos dos cromatogramas das amostras foram comparados com os padrões dos açúcares a serem analisados (item 4.5), sendo a quantificação feita pela área do analito em uma curva de calibração de cada composto, conforme a norma TAPPI 222 om-88.

4.5.2. Determinação de extrativos

Para a determinação do teor de extrativos totais presente na palha de cana-de-açúcar utilizou-se para a extração: álcool:tolueno (1:2), álcool 95% e água quente nesta ordem de polaridade, segundo a norma adaptada de TAPPI T 204 om-88 e TAPPI T 264 om-88. Pesou-se cerca de 1,5 g de palha moída

em cartucho de extração e colocou-se para ser extraídos no aparelho soxhlet. Foram adicionados no balão do extrator 150 mL de álcool:tolueno (1:2) e certa quantidade de perolas de vidro para maior controle da ebulição. A extração termina quando o solvente que se encontra ao redor do cartucho de extração fica incolor, aproximadamente 5 horas. Ao final deste tempo o cartucho foi retirado e colocado para secar. A extração foi repetida substituindo álcool:tolueno (1:2) por álcool 95%. Após a segunda extração o cartucho foi seco, e a amostra retirada do cartucho e colocada no béquer de 400 mL contendo 300 mL de água deionizada em seguida levada ao banho-maria a temperatura de ebulição por 1 hora. Posteriormente, a amostra foi filtrada, lavada com água deionizada quente e levada para estufa a 105 °C até massa constante. A quantificação do conteúdo de extrativos totais é descrita na equação abaixo:

$$\text{Extrativos totais (\%)} = \frac{m.s.a. - m.s.p.}{m.s.a.} \times 100$$

m.s.a. = massa seca antes da extração

m.s.p. = massa seca após a extração

4.5.3. Determinação do teor de lignina insolúvel e solúvel

Após a remoção dos extrativos, cerca de 300 mg da amostra (palha moída) foi transferida quantitativamente para um tubo de ensaio de aproximadamente 60 mm de comprimento e 15 mm de diâmetro. Em seguida, foi adicionado ácido sulfúrico 72% (3 mL; resfriado a 10-15 °C), e o conjunto foi mantido em banho-maria a 30 ± 0,2 °C por 1 h, mantendo-se frequentemente a agitação com bastão de vidro. Após esse tempo, transferiu-se quantitativamente a mistura para um frasco de vidro e esse foi fechado hermeticamente, com tampa de borracha e lacre de alumínio. Colocou-se o frasco numa autoclave calibrada para 118 °C e 27 psi, mantida a temperatura máxima por 1 h. A mistura foi filtrada em cadinho de vidro previamente preparado com uma camada de óxido de alumínio (2-3 mm) e pesado. A lignina retida no cadinho foi lavada com água destilada quente até a completa

remoção do ácido. O cadinho foi secado em estufa a 105 ± 3 °C até peso constante, sendo em seguida determinado o peso da lignina e, finalmente, o teor de lignina Klason da amostra.

$$\text{Teor de Lignina Klason Insolúvel} = \frac{\text{Peso do resíduo em gramas}}{\text{Peso inicial da amostra (a.s.) em gramas}} \times 100$$

O filtrado da lignina Klason (~500 mL) foi diluído e transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 1 L e, em seguida, analisado por absorção no ultravioleta nos comprimentos de onda de 280 nm e 215 nm. A quantidade de lignina solúvel no filtrado foi determinada pela seguinte fórmula:

$$\text{Teor de Lignina Solúvel} = \frac{(4,538 \times A_{215}) - A_{280}}{300 \times P} \times 100$$

em que:

A_{215} = absorvância obtida no comprimento de onda de 215 nm;

A_{280} = absorvância obtida no comprimento de onda de 280 nm; e

P = peso absolutamente seco (g) da amostra utilizada na determinação da lignina Klason.

4.5.4. Determinação do teor de cinzas

Para determinação do teor de cinzas na palha de cana-de-açúcar, pesou-se 1 g da amostra (palha moída) em três cadinhos de porcelana previamente tarados. Em seguida os cadinhos foram tampados e levados para mufla a temperatura de 575 °C, permitindo deste modo a incineração inicial. Mantendo a mufla a 575 °C, a tampa foi retirada do cadinho permanecendo por mais 3 horas. Após a calcinação, os cadinhos foram resfriados em dessecador

até temperatura ambiente e pesados. A calcinação foi repetida até atingir massa constante. O teor de cinzas foi calculado pela equação abaixo:

$$\text{Teor de cinzas (\%)} = \frac{P_c}{P} \times 100$$

P_c = peso das cinzas;

P = peso da amostra seca em estufa.

4.5.5. Determinação do teor de minerais

A quantificação dos minerais (item 4.5) foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica no Laboratório de Espectrofotometria Atômica – Departamento de Solos – UFV. Foram pesados 0,5 g da palha de cana-de-açúcar em seguida foi adicionado 1 mL de ácido nítrico p.a 65%. Fez-se uma pré-digestão da amostra por aproximadamente 12 h, tempo suficiente para que a palha fosse completamente digerida. Em seguida foi adicionado mais 3 mL de ácido nítrico. Os tubos de digestão foram levados para bloco digestor com a elevação gradual da temperatura até ± 95 °C. Com a digestão da amostra até à metade em relação ao volume inicial adiciona-se 2mL de ácido perclórico p.a 70%, aumentando a temperatura gradativamente até ± 150°C, até o completo clareamento das amostras no tubo digestor. Em seguida as amostras foram retiradas do bloco, resfriadas em temperatura ambiente, com extrato digerido (cerca de 2 mL) completando o volume com água destilada para 25 mL. Visando anular o efeito da variação espacial da temperatura dentro do bloco digestor, os tubos de digestão contendo as amostras foram distribuídos ao acaso.

4.6. Planejamento experimental do pré-tratamento hidrotérmico

No Laboratório de Celulose e Papel da Universidade Federal de Viçosa foi testado o pré-tratamento hidrotérmico com a finalidade de remover a

hemicelulose e parte da lignina da palha de cana-de-açúcar objetivando disponibilizar a celulose para o processo de hidrólise enzimática. Este processo foi escolhido pelas vantagens oferecidas, em especial por não utilizar reagentes químicos poluentes o que minimiza os impactos ambientais e reduz os custos envolvidos no processo.

Foram realizados planejamentos experimentais para o pré-tratamento hidrotérmico visando à otimização do mesmo, ou seja, determinar a maior concentração de glicose liberada em determinada condição de pré-tratamento. O Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) foi realizado com seis repetições no ponto central e a interação de três variáveis independentes: temperatura (°C), tempo (min) e relação palha/água (%). A matriz DCCR gerada pelo software Design-Expert 7.0, para as três variáveis gerou vinte ensaios. O efeito dessas variáveis foi estudado em 5 níveis experimentais: $-\alpha$, -1 , 0 , 1 , $+\alpha$, onde $\alpha=2^{n/4}$, n é igual ao número de variáveis e 0 corresponde ao ponto central. Com base na revisão de literatura foram definidos três níveis de cada variável analisada: (1) temperatura (°C): 170, 190 e 210; (2) tempo (min): 5, 10 e 15; (3) relação palha/água (%): 10, 12,5 e 15 em 200 mL de água.

A relação entre as variáveis e a resposta (concentração de glicose) foi calculada através da seguinte equação polinomial de segunda ordem:

$$Y = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ii} x_i^2 + \sum a_{ij} x_i x_j$$

Onde Y representa a variável resposta, a_0 é o coeficiente de interceptação, a_i é o coeficiente linear do efeito, a_{ii} é o coeficiente quadrático do efeito e a_{ij} é o coeficiente de efeito de interação. x_i e x_j denotam os níveis codificados das variáveis X_i e X_j nos experimentos. A variável X_i será codificada como x_i de acordo com a seguinte equação de transformação:

$$x_i = (X_i - X_0) / \Delta X_i$$

Onde x_i é o valor adimensional codificado da variável X_i , X_0 é o valor de X_i no ponto central, e ΔX_i é o ponto de etapa.

No processo de pré-tratamento hidrotérmico, colocou-se a mistura palha de cana-de-açúcar *in natura* e água no reator Parr com agitador e termômetro internos em alta temperatura e pressão. O tempo de reação foi cronometrado a partir do momento que atingiu a temperatura estabelecida no planejamento experimental. Após a reação, foi retirado do reator o licor negro e a celulignina separadamente. Em seguida a celulignina foi lavada em água corrente até atingir pH neutro e colocada na centrífuga de secagem por 4 minutos a 800 rpm para promover sua desagregação e secagem.

Após a lavagem da palha pré-tratada foi reservada uma parte para a caracterização química e outra parte para a etapa de hidrólise enzimática.

4.7. Hidrólise enzimática da palha pré-tratada

Para avaliar o efeito das diferentes condições de pré-tratamento hidrotérmico na palha de cana-de-açúcar foi realizado a hidrólise enzimática para cada um dos ensaios do planejamento experimental.

Após a etapa de pré-tratamento, pesou-se 4 g (massa seca) da palha pré-tratada de cada ensaio em erlenmeyers de 250 mL contendo 50 mL de tampão citrato 50 mmol/L⁻¹. O pH das amostras foi ajustado para pH 4,8, valor de pH ótimo para enzimas. Em seguida os erlenmeyers foram então fechados, para que não houvesse uma alteração considerável dos volumes reacionais e incubados em um shaker com rotação constante de 150 rpm e temperatura de 50 °C durante todo o processo de hidrólise. Utilizou-se enzima comercial (Celluclast 1.5 L, Novozymes) na concentração 15 FPU por grama de substrato. Alíquotas de aproximadamente de 1 mL foram coletadas em períodos de tempo pré-determinado, isto é, 0, 12, 24, 26, 36, 48, 60, e 72 h e então, centrifugadas e retiradas o sobrenadante para análise da concentração de glicose na amostra por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, (CLAE), marca Shimadzu acoplado a um detector de índice de refração (RID– 10 A), equipado com coluna marca BIO-RAD Aminex HPX-87H (300 x 7.8 mm) e pressão de 134 kgf. As amostras foram analisadas nas seguintes condições: temperatura da coluna de 60 °C, fase móvel ácido sulfúrico 5 mmol/L⁻¹, fluxo de 0,6 mL/min⁻¹ e volume injetado de 20 µL da amostra, com tempo de retenção de 30 minutos.

4.8. Análise estatística

No Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), os resultados foram analisados estatisticamente por meio de análises de variância e de regressão. Por meio da análise da Metodologia de Superfície de Resposta (MSR), foram determinadas as melhores condições de pré-tratamento hidrotérmico para a palha de cana-de-açúcar. As relações entre as variáveis e as respostas podem ser mais bem compreendidas, ficando explícito o comportamento de cada variável individual e suas interações sobre a resposta estudada, neste caso, concentração de glicose.

Os resultados foram analisados utilizando o software Design-Expert 7.0 ao nível de significância de 95% ($p < 0,05$). Foi considerado para o delineamento de seleção de níveis das variáveis o valor de 95% ($p < 0,05$) para o DCCR.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização química da palha de cana-de-açúcar em diferentes estados do Brasil

Visando o aproveitamento da palha de cana-de-açúcar cultivar RB867515 no processo de produção de etanol celulósico, realizou-se a caracterização química da palha de cana-de-açúcar proveniente de diferentes estados do Brasil: São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Alagoas e Mato Grosso.

Na Tabela 5 são apresentados os valores médios e o nível de confiança de 95%, para a composição química da palha de cana. Observa-se que os compostos químicos presentes na palha em maior quantidade foram: a celulose, as hemiceluloses e a lignina, e em menores quantidades encontram-se cinzas e extrativos. No processo de etanol celulósico, quanto maior teor de celulose melhor, pois reflete em pré-tratamentos menos severos e de menor custo como também maiores quantidades de glicose liberada na hidrólise. O menor teor de lignina reflete um melhor acesso das celulases nas ligações glicosídicas presentes na celulose e, conseqüentemente, maior rendimento em glicose na sacarificação.

Tabela 5. Composição química da palha de cana-de-açúcar em diferentes estados do Brasil.

Palha de cana	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Cinzas	Extrativos	Total
	%					
MG	45,30	31,51	16,70	5,90	16,10	99,41
SP	44,44	30,70	19,80	3,90	16,70	98,84
PR	44,98	30,92	18,90	4,80	16,80	99,60
MT	43,57	30,53	19,40	5,30	16,70	98,80
AL	43,02	31,85	20,20	4,40	14,10	99,47
Média	44,26 ± 1,35	31,10 ± 0,78	19,01 ± 1,95	4,86 ± 1,10	16,68 ± 2,83	

*Intervalo de confiança calculado das médias para $\alpha = 5\%$.

Pode-se observar que a concentração média de celulose encontrada na palha de cana-de-açúcar (44,26%) é comparável aos publicados na literatura,

tais como: (41,8%) Carvalho (2012); (40,1%) Gómez et al., (2010) e (42,1%) Pitarelo (2007). Os valores de hemicelulose médios (31,10%) são superiores aos encontrados para o bagaço de cana (24%); madeira (25%); palha de arroz (26,4%); palha de cevada (27%) e palha de sorgo (26,04%) (SANTOS et al., (2012); CARDOSO, (2012). No caso da lignina (19,01%) foi inferior aos encontrados no bagaço por Samaniego (2007) (22,82%) e Pitarelo (2007) (40,7%) e ligeiramente superior aos encontrados por Carvalho (2012) (16,2%).

Em relação à quantidade de cinzas é preciso levar em consideração as diferentes concentrações de cinzas dependendo do estado e como foi coletada a palha de cana. A palha localizada próxima ao solo apresenta concentração de cinzas em torno de 7 a 8%. Já a palha proveniente do meio da cana e as folhas verdes apresentam quantidade de cinzas em torno de 2 a 3% (SOTELO e CORREA, 1999). No Estado de São Paulo a concentração de cinzas da palha foi (3,90%), enquanto em Minas Gerais e no Mato Grosso obteve 5,90 e 5,30%, respectivamente. Pitarelo (2007) obteve teores de cinzas (11,7%) na palha de cana superiores aos encontrados no presente trabalho. Concentrações elevadas de cinzas podem diminuir o potencial energético da matéria-prima para o processo de fermentação, acarreta um aumento na capacidade tamponante da matéria-prima, levando a uma neutralização parcial dos catalisadores ácidos responsáveis pela hidrólise parcial dos polissacarídeos constituintes da biomassa, além de causar maior abrasão e corrosão dos equipamentos (PITARELO, 2007). O percentual médio de extrativos encontrados na palha (16,68%) é ligeiramente maior aos encontrados por Carvalho (2012) na palha (12,2%) e no bagaço (15,0%). Pitarelo encontrou valores para palha de 11,5% e para o bagaço 6,8%. Estas diferenças nos resultados podem ser devidas a diferentes técnicas de análises empregadas.

A composição química da palha de cana varia em função de diversos fatores, incluindo a própria genética da planta, as condições edafoclimáticas da região, estágio de desenvolvimento, bem como o sistema de colheita e armazenamento (HAMES et al., 2003).

A fim de verificar qual o percentual total de massa alcançado pela caracterização química do presente trabalho, os percentuais individuais dos componentes químicos na palha sem extrativos foram somados, como foi

observado na Tabela 5. Os somatórios foram realizados com os valores encontrados para cada componente (celulose, hemicelulose, lignina e cinzas), excluindo-se o intervalo de confiança associado aos resultados médios, apresentando um balanço de massa entre 99,80 a 98,84% para a palha de cana entre os estados avaliados. Esses valores estão dentro da faixa (98 a 102%) preconizada por Marabezi, (2009).

Os minerais presentes na palha de cana-de-açúcar são essenciais para o crescimento e desenvolvimento da cana-de-açúcar, mas também participam de inúmeras reações intermediárias dentro das diferentes rotas metabólicas da planta, até a produção final, por exemplo, o açúcar (FILHO et al., 2003). Observado por vários pesquisadores, o estado nutricional da cana-de-açúcar tem influência direta na taxa fotossintética e no metabolismo da sacarose, tendo como consequência, efeitos na produtividade, longevidade e lucratividade do canavial (MEINZER e ZHU, 1998).

De modo geral, as concentrações dos minerais variaram muito entre os diferentes locais onde foi coletada a palha. Com exceção do cobre, todos os minerais avaliados foram encontrados na palha de cana (Tabela 6).

Tabela 6. Teor de minerais (Mg, K, Ca, Mn, Fe, Cu e P) da palha de cana-de-açúcar em diferentes estados do Brasil.

Palha de cana	Mg	K	Ca	Mn	Fe	Cu	P
	mg/Kg palha						
MG	2031,90	1033,33	6617,81	158,85	169,94	0,00	310,34
SP	1723,48	5647,76	2830,87	96,08	269,08	0,00	345,71
PR	1038,70	4333,33	2880,20	81,77	599,27	0,00	429,82
MT	690,31	4100,00	1599,26	18,65	869,74	0,00	439,98
AL	814,50	1750,00	1742,11	12,43	646,92	0,00	263,92
Média	1143,93 ± 328,54	2804,20 ± 832,56	3209,93 ± 1185,74	67,87 ± 33,46	571,47 ± 202,45	0,00 ± 0,00	361,07 ± 77,86

*Intervalo de confiança das médias para $\alpha = 5\%$.

A palha de cana coletada em Minas Gerais apresentou os maiores teores para o magnésio (2031,90 mg/Kg), cálcio (6617,81 mg/Kg) e 158,85 mg/Kg de manganês. Já em Mato Grosso foi verificado na palha maiores teores de ferro e fósforo, 869,74 mg/Kg e 439,98 mg/Kg, respectivamente. Os

maiores teores de potássio foram encontrados na palha de São Paulo (5647,76 mg/Kg), Paraná (4333,33 mg/Kg) e Mato Grosso (4100 mg/Kg). Essas variações nos teores dos minerais podem ser atribuídas a fatores como o cultivo e o manuseio da cana-de-açúcar. Em relação ao cultivo, a quantidade e o tipo de adubo influenciam nas características dos minerais presentes na cana, e o manuseio é responsável pela agregação de partículas estranhas de origem mineral que dependem do lugar onde a biomassa é estocada e/ou acondicionada (GOMEZ et al., 2010).

Tendo em vista o aproveitamento da palha de cana-de-açúcar para o processo de processo de combustão, foi realizada análise do poder calorífico superior na palha (Tabela 7). Em São Paulo foram encontrados um poder calorífico de 19,20 MJ/kg, Alagoas 19,30 MJ/kg, Minas Gerais 18,80 MJ/kg, Mato Grosso 18,80 MJ/kg e Paraná 19,00 MJ/kg. Os resultados obtidos corroboram com os encontrados na palha de cana por Carvalho, (2012) (18,17 MJ/kg), Ramos e Paula, (2011) (18,07 MJ/kg) e Gómez et al., (2010) (19,98 MJ/kg).

Tabela 7. Poder calorífico da palha de cana em diferentes estados do Brasil.

Palha de cana	Poder calorífico (MJ/kg)
MG	18,80
SP	19,20
PR	19,00
MT	18,80
AL	19,30

Todo esse potencial energético da palha pode mais do que dobrar a quantidade de energia que se obtém da cana na indústria, que atualmente aproveita somente o bagaço. O uso da biomassa lignocelulósica (palha de cana) para produção de energia apresenta menores problemas de poluição quando comparada aos combustíveis fósseis, já que a emissão de CO₂ da queima da biomassa na atmosfera geralmente é compensada pela absorção nos plantios subsequentes (INGHAM, 1999).

Segundo Quirino et al., (2005) o rendimento energético de um processo de combustão de biomassa depende de sua constituição química, onde os

teores de celulose, hemiceluloses, lignina, extrativos e cinzas variam entre a espécies e nas condições de cultivo.

Os resultados encontrados permitem concluir que as condições edafoclimáticas dos estados avaliados pouco influenciam na composição química da palha de cana-de-açúcar, especialmente, em relação à celulose, hemicelulose e lignina. Diante disso, para dar prosseguimento nas etapas subsequentes, foi escolhida a palha de cana-de-açúcar oriunda do Estado de Minas Gerais.

5.2. Otimização do pré-tratamento hidrotérmico

A otimização do pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar, através do planejamento experimental, objetivou maximizar a hidrólise da celulose, estudando as variáveis do processo: temperatura; tempo e relação palha/água. Com base nos estudos preliminares foram definidos os níveis de cada variável analisada (Tabela 8).

Tabela 8. Faixa de valores estudados no planejamento composto central.

Variáveis	Níveis				
	- α	-1	0	+1	- α
Temperatura (°C)	156,36	170	190	210	223,64
Tempo (min)	1,59	5	10	15	18,41
Palha/água (%)	8,30	10	12,50	15	16,70

Uma das metodologias de superfície de resposta, o Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR) foi aplicado para determinação dos níveis ótimos das três variáveis selecionadas (temperatura, tempo e relação palha/água). Para isso, foram realizados no total de 20 ensaios com diferentes combinações dos fatores selecionados. O ponto central foi repetido seis vezes para estimativa do erro. A Tabela 9 apresenta a matriz do delineamento fatorial completo com as condições de cada ensaio de pré-tratamento hidrotérmico.

Tabela 9. Matriz DCCR com as diferentes condições de pré-tratamento.

Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Palha/Água (%)
1	170	5	10
2	210	5	10
3	170	15	10
4	210	15	10
5	170	5	15
6	210	5	15
7	170	15	15
8	210	15	15
9	156,36	10	12,5
10	223,64	10	12,5
11	190	1,59	12,5
12	190	18,41	12,5
13	190	10	8,30
14	190	10	16,70
15	190	10	12,5
16	190	10	12,5
17	190	10	12,5
18	190	10	12,5
19	190	10	12,5
20	190	10	12,5

Em todos os ensaios foram medidas as concentrações de glicose liberadas durante a hidrólise enzimática e o rendimento em termos de massa com base na caracterização química da palha pré-tratada.

5.2.1. Efeito do pré-tratamento hidrotérmico sobre a composição química da palha

A Tabela 10 mostra os resultados de caracterização da palha de cana-de-açúcar *in natura* e após o pré-tratamento hidrotérmico. Observa-se que a composição química da palha *in natura* apresenta quantidades menores de celulose (45,30%) e lignina (16,70%) quanto comparadas com a palha pré-tratada. No entanto, a concentração de hemicelulose (31,51%) presentes na palha *in natura* foi bem maior com relação à palha submetida ao pré-tratamento hidrotérmico que ficou na faixa de 17,06 a 2,07%. Esses resultados corroboram

com os encontrados por Garrote et al., (1999), que em temperaturas de 150 a 230 °C o pré-tratamento hidrotérmico solubiliza grande parte da fração hemicelulósica sem afetar a celulose e a lignina. No entanto, em condições mais severas de temperaturas (260 a 270 °C), a celulose e a lignina podem ser solubilizadas em até 20% e 60%, respectivamente (BIERMANN et al., 1984).

A maior remoção de hemicelulose (93,43%) ocorreu na condição de 223 °C por 10 min e na condição de 210 °C por 15 minutos com 92,54% de hemicelulose. Esses resultados estão próximos aos encontrados por Silva, (2009), que avaliando o bagaço de cana em diferentes condições de pré-tratamento hidrotérmico encontrou 88,7% de hemicelulose removida para a condição de 195 °C por 10 minutos.

Verifica-se ainda que a variável temperatura tem maior efeito sobre os constituintes da palha de cana em relação ao tempo. Observa-se que na temperatura de 170 °C houve pequena diferença entre os valores encontrados para celulose (46,74 e 47,33%), hemicelulose (14,54 e 16,49%) e lignina (24,54 e 25,81%). Na temperatura de 190 °C os valores de celulose 52,53, 52,35 e 50,63% nos tempos de 1,59, 18,41 e 10 minutos, respectivamente, também variaram pouco o que também pode ser observado para lignina. No entanto, nessas condições de temperatura e tempo os valores de hemicelulose mostraram que o tempo de 1,59 minutos solubilizou menos hemicelulose (12,58%) quanto comparada aos tempos de 18,41 (6,16%) e 10 minutos (6,72%). Em temperaturas de 210 e 223 °C os valores de celulose, hemicelulose e lignina pouco variaram em função do tempo (5,10 e 15 min). Entretanto, nas condições avaliadas a temperatura foi a que mais influenciou para a maior solubilização da hemicelulose (3,35, 2,35 e 2,07%).

Tabela 10. Efeito do pré-tratamento hidrotérmico nos teores de celulose, hemicelulose e lignina presentes na palha de cana-de-açúcar.

Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)
1	170	5	46,74	16,49	24,54
2	210	5	55,95	3,35	32,77
3	170	15	47,33	14,54	25,81
4	210	15	49,49	2,35	40,20
5	170	5	43,59	17,44	27,10
6	210	5	55,03	4,17	31,93
7	170	15	47,18	14,30	24,61
8	210	15	56,39	2,54	33,68
9	156,36	10	44,48	17,06	24,67
10	223,64	10	53,99	2,07	37,13
11	190	1,59	50,63	12,58	23,62
12	190	18,41	52,35	6,16	32,25
13	190	10	52,53	6,72	31,30
14	190	10	53,75	6,52	30,95
15	190	10	53,63	7,32	29,40
16	190	10	55,29	7,17	29,10
17	190	10	51,73	6,42	32,53
18	190	10	52,05	6,48	32,52
19	190	10	51,01	7,03	32,52
20	190	10	50,67	6,81	33,27
Palha de cana <i>in natura</i>			45,30	31,51	16,70

Vale a pena ressaltar que, em processos de pré-tratamento hidrotérmico conduzidos a elevadas temperaturas, o tempo de aquecimento do reator até atingir a temperatura pré-estabelecida, pode proporcionar, ainda que pequena, uma solubilização da fração hemicelulósica (CARRASCO e ROY, 1992). Ademais, fatores como a relação sólido/líquido são importantes para o controle da degradação da fração celulósica evitando a perda de rendimento no processo de conversão enzimática da fração celulósica em glicose para a obtenção de etanol celulósico (GARROTE et al., 1999).

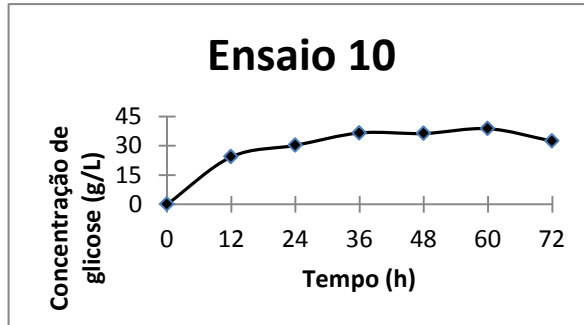
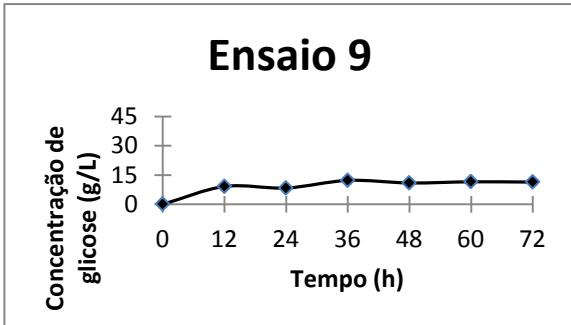
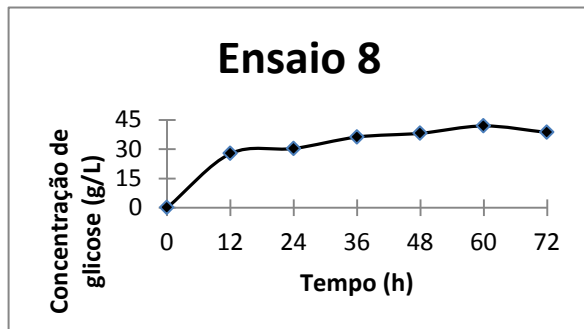
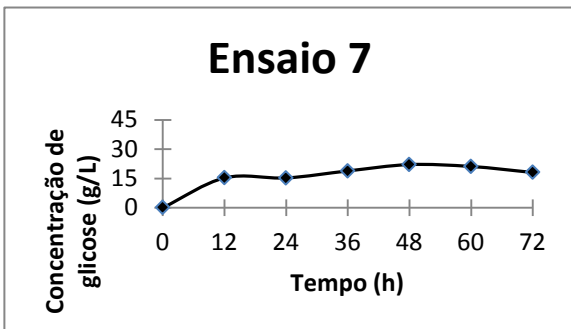
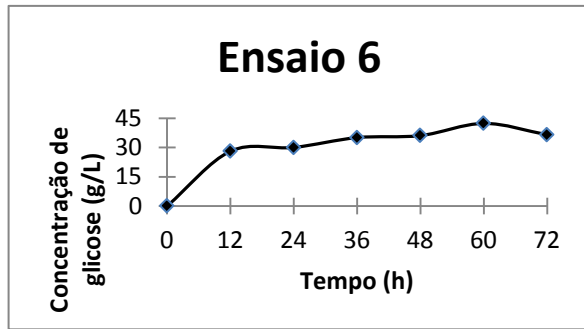
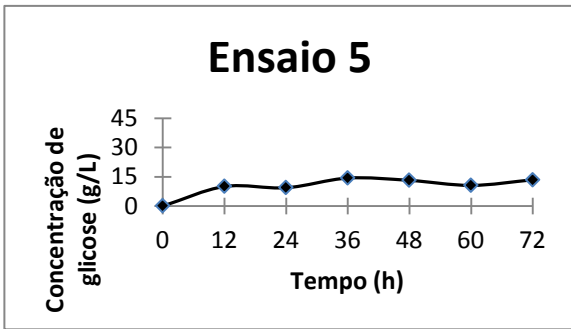
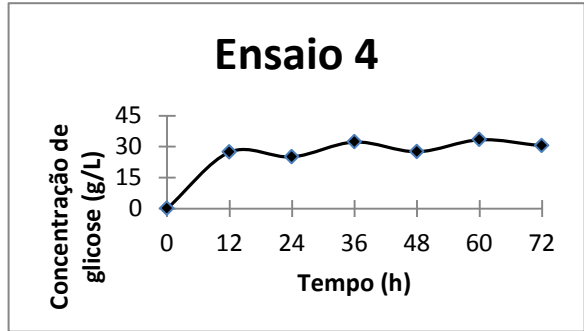
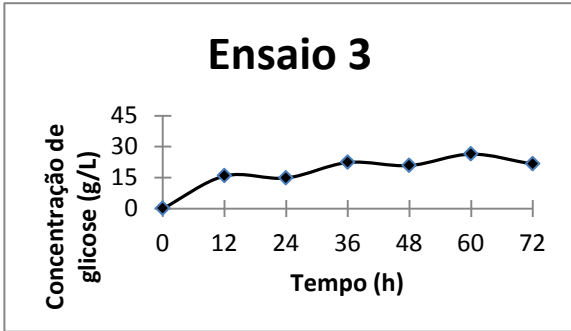
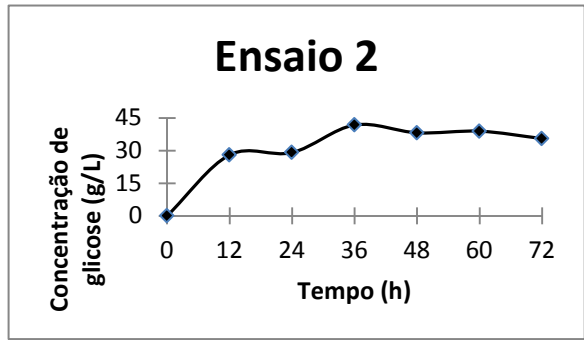
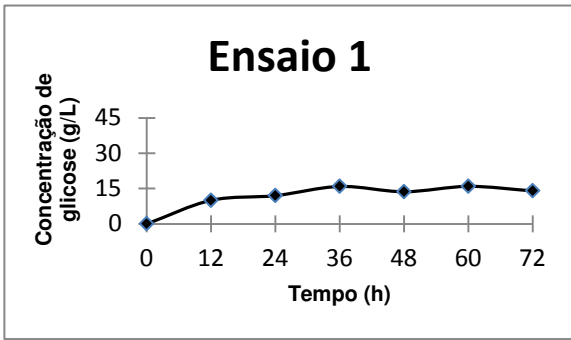
Diante desses resultados, conclui-se que quanto maior a severidade do pré-tratamento hidrotérmico, maior é a quantidade de hemicelulose solubilizada. Com a remoção da hemicelulose, o teor de celulose e lignina na palha pré-tratada aumentam em relação à palha *in natura*. Esse resultado é

importante porque a remoção de hemicelulose pelo pré-tratamento hidrotérmico já foi relatada por outros autores em diferentes tipos de biomassa (RAMOS, 2003; EMMEL et al., 2003; ROGALINSKI et al., 2008). O pré-tratamento hidrotérmico é considerado com grande potencial para aumentar a digestibilidade celulósica, extração de açúcar e recuperação de pentoses, com a vantagem de se produzir pouco ou nenhum composto inibidor da fermentação (GALBE e ZACCHI, 2010).

5.2.2. Hidrólise enzimática da palha pré-tratada

Com objetivo de avaliar o efeito das diferentes condições de pré-tratamento hidrotérmico na palha de cana-de-açúcar efetuou-se a hidrólise enzimática para cada um dos ensaios do planejamento experimental.

A hidrólise enzimática foi conduzida a 50 °C utilizando celulasas na concentração de 15 FPU por grama de palha pré-tratada. Para selecionar o melhor pré-tratamento a hidrólise foi acompanhada por 72 h para que se pudessem traçar curvas de liberação de glicose em relação ao tempo. Essa avaliação é importante uma vez que o efeito de cada condição de pré-tratamento sobre a palha de cana pode ser diferente. Isso torna a palha menos ou mais acessível para as celulasas influenciado dessa forma no tempo de conversão da mesma. A Figura 18 mostram os perfis de liberação de glicose da palha de cana-de-açúcar nos 20 ensaios de pré-tratamento hidrotérmico.



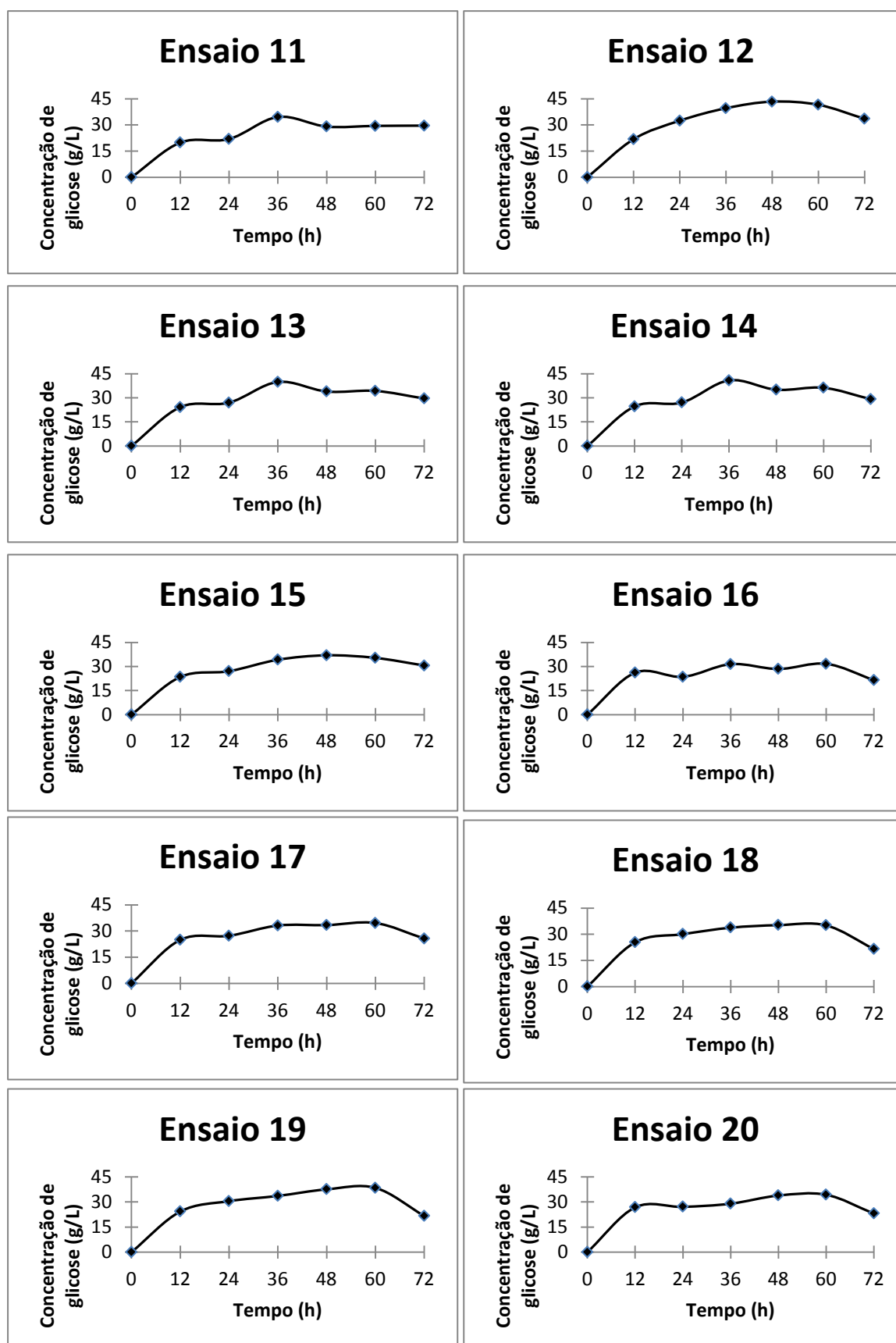


Figura 18. Perfis da liberação de glicose nos 20 ensaios de pré-tratamento hidrotérmico.

Ao analisar os perfis da Figura 18, observa-se que as diferenças nos rendimentos de glicose estão relacionadas com as condições de cada ensaio do planejamento experimental. É possível verificar que a liberação de glicose é rápida nas primeiras 12 horas, após esse período a velocidade de hidrólise diminui, tendendo a estabilizar após 48 horas de sacarificação.

O menor valor de glicose liberada (9,70 g/L) foi encontrado no ensaio 9 na condição de temperatura de 156,36 °C; tempo de 10 minutos e relação de palha/água de 12,5%. Por sua vez, o maior rendimento de sacarificação enzimática (43,36 g/L) foi obtida no ensaio 12 na condição de temperatura de 190 °C; tempo de 18,41 minutos e relação palha/água de 1:12,5%. O ponto central do planejamento experimental (ensaios 15 a 20) proporcionou um rendimento médio de 34,22 g/L de glicose em 48 horas de sacarificação.

Estes resultados confirmam com os relatados na literatura evidenciando que o rendimento da hidrólise enzimática é fortemente influenciado pelas condições de pré-tratamento, pelo tempo de sacarificação, pela composição química da palha pré-tratada (CANILHA et al., 2010) e que o pré-tratamento hidrotérmico favorece a acessibilidade das enzimas celulolíticas à celulose proporcionando, portanto, um aumento da digestibilidade enzimática nos processos de conversão da celulose em glicose (GARROTE et al., 1999).

Sendo assim, escolheu-se o tempo de 48 horas de hidrólise enzimática como resposta final que prevê a maior liberação de glicose após a eliminação dos termos referentes as variáveis não significantes ($p > 0,05$), que pode ser obtida pela função:

$$Y = -551.87742 + 5.52469 X_1 + 4.69214 X_2 - 0.014008 X_2^2$$

Onde Y é o valor da resposta (liberação de glicose) e X_1 e X_2 são os níveis codificados de temperatura e tempo, respectivamente.

O modelo de regressão teve sua significância estatística testada pelo teste F, e a análise de variância (ANOVA) foi utilizada para o modelo quadrático de superfície de resposta (Tabela 11).

Tabela 11. ANOVA para superfície de resposta do modelo quadrático do processo de otimização do pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana.

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	Valor F	Valor p Prob. > F	
Modelo	1537,65	9	170,85	9,28	0,0009	significativo
A-Temperatura	867,97	1	867,97	47,16	< 0,0001	significativo
B-Tempo	103,94	1	103,94	5,65	0,0389	significativo
C-%Sólido	21,45	1	21,45	1,16	0,3057	n.s
AB	43,85	1	43,85	2,38	0,1537	n.s
AC	23,77	1	23,77	1,29	0,2823	n.s
BC	8,84	1	8,84	0,48	0,5040	n.s
A ²	452,43	1	452,43	24,58	0,0006	significativo
B ²	12,44	1	12,44	0,67	0,4302	n.s
C ²	34,37	1	34,37	1,87	0,2017	n.s
Resíduo	184,055	10	18,40			
Falta de ajuste	129,17	5	25,83	2,35	0,1846	n.s
Erro puro	54,89	5	10,98			
Total	1721,70	19				

*R² = 0,89

No presente trabalho, o modelo quadrático foi significativo com valor de P>F 0,0009. Além disso, a falta de ajuste do referido modelo foi não significante, conforme pode ser observado por meio do valor P>F 0,1846.

Os resultados indicaram que o termo linear da temperatura e do tempo de residência no reator, e o efeito quadrático da temperatura tiveram efeito significativo (P<0,05) sobre a liberação de glicose no processo de pré-tratamento hidrotérmico. Entretanto, o efeito linear da relação palha/água, os efeitos quadráticos do tempo e relação palha/água não demonstraram significância.

5.2.3. Superfície de resposta do pré-tratamento hidrotérmico

Na Figura 19, são apresentados os resultados da superfície de resposta tridimensional (3D), representado de acordo com a equação modelo para o processo de pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar.

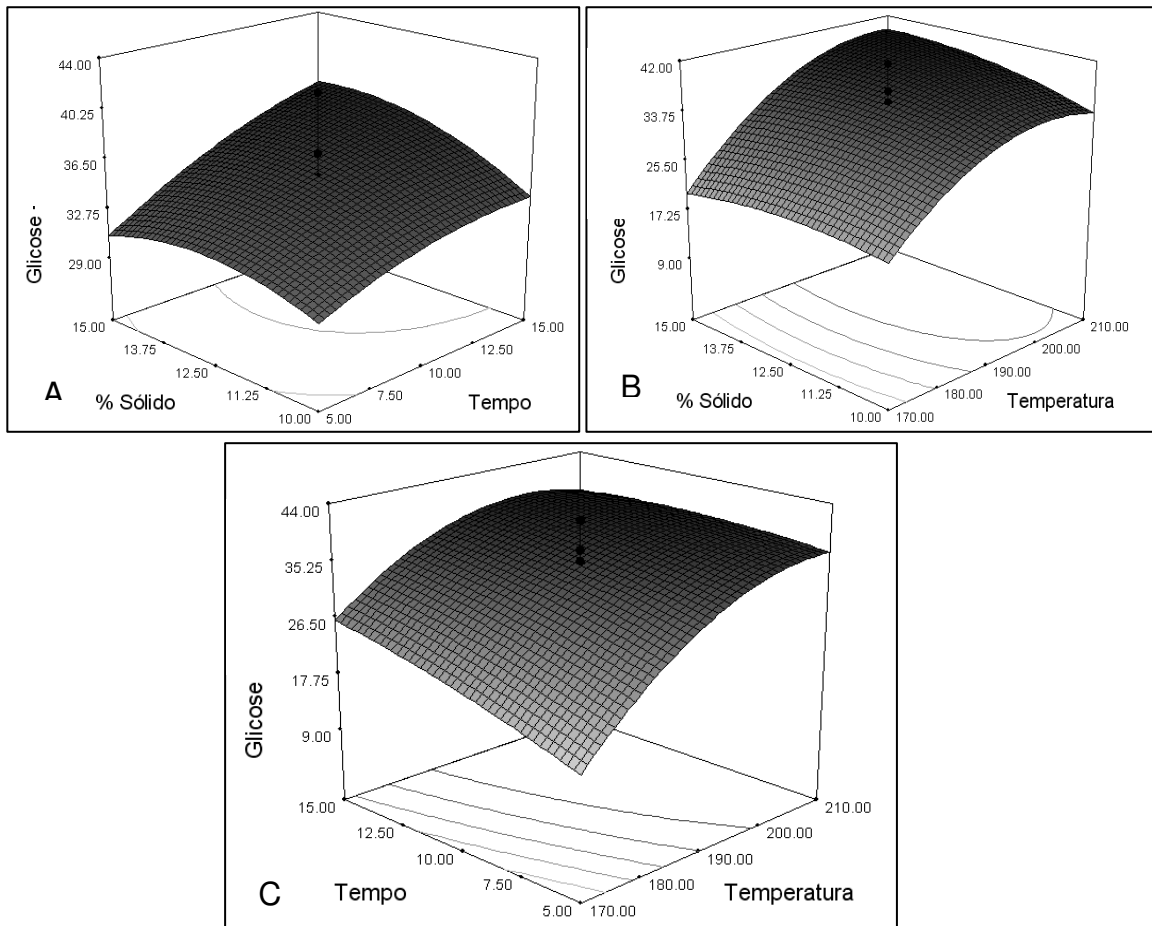


Figura 19. Curvas de superfície de resposta do processo de pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar. (A) liberação de glicose em função do tempo e da relação palha/água; (B) liberação de glicose em função da temperatura e da relação palha/água; (C) liberação de glicose em função da temperatura e do tempo.

Ao analisar a Figura 19 (A) observa-se que, mantendo a temperatura no ponto central, a maior liberação de glicose ocorre na condição de maior relação palha/água e tempo. Com esse aumento de tempo e da relação palha/água a superfície de resposta apresenta um comportamento de um plano ascendente buscando atingir um máximo de liberação de glicose. Esse mesmo comportamento é observado quando o tempo é fixado no ponto central Figura 19 (B), no entanto, chega um momento que a temperatura acaba influenciando negativamente na liberação de glicose. Já na Figura 19 (C) nota-se que a maior liberação de glicose encontra-se nas maiores temperaturas do planejamento e em maiores tempo. Esses resultados corroboram com Pitarelo, (2009), que

obteve os melhores rendimentos de glicose liberada no bagaço de cana em temperatura de 195 °C e 210 °C por 8 minutos. Silva, (2009) também verificou que a maior liberação de glicose no bagaço de cana ocorreu nas temperaturas de 195 °C por 10 minutos pelo pré-tratamento hidrotérmico. No entanto, altas temperaturas favorece a formação de produtos de desidratação dos carboidratos (furfural e hidroximetilfurfural) e degradação da lignina que restringem a acessibilidade do substrato às enzimas (HSU, 1996).

A eficiência com que a celulose é hidrolisada depende de muitos fatores que envolvem desde as características do substrato até a natureza do sistema enzimático utilizado. Os fatores relacionados às enzimas incluem a inibição do complexo celulásico pelo acúmulo de produto final (glicose e celobiose), adsorção irreversível das enzimas sobre o substrato, desnaturação enzimática por exposição excessiva à temperatura e agitação de processo. Já os fatores relacionados ao substrato correspondem à porosidade e cristalinidade das fibras de celulose, teor de lignina e hemiceluloses (RAMOS et al., 1999).

De acordo com Galbe et al., (2002), o pré-tratamento hidrotérmico provoca redução do tamanho das partículas, abertura dos microporos e aumento da área superficial da biomassa lignocelulósica. Estas alterações na estrutura recalcitrante da biomassa são responsáveis pela melhora do ataque enzimático, sendo que o aumento da drasticidade do pré-tratamento hidrotérmico produz um substrato com maior acessibilidade à ação enzimática (PITARELO, 2009).

Mantendo a temperatura e o tempo nos maiores valores considerado no planejamento experimental ocorrerá maior liberação de glicose promovida pela hidrólise enzimática. Segundo Garrote et al., (1999) quanto maior a temperatura e tempo no pré-tratamento hidrotérmico, maior será a liberação de glicose.

No presente trabalho, as superfícies de resposta demonstraram um contorno elíptico, o que sugere que as condições de operação foram bem definidas para o processo de otimização do pré-tratamento hidrotérmico para palha de cana-de-açúcar. Em relação a essa análise, existem uma carência de trabalho na literatura buscando a otimização do pré-tratamento hidrotérmico para a palha de cana-de-açúcar.

5.2.4. Análise do rendimento em glicose

Foi avaliado o efeito das diferentes condições de pré-tratamento hidrotérmico sobre o rendimento de hidrólise da celulose e de glicose total expresso em glicose total (Tabela 12).

Em geral, os rendimentos em massa seca (palha) decresceram com o aumento da temperatura do pré-tratamento. Ensaios com temperaturas de 190, 210 e 223,64 °C apresentaram os menores resultados em massa seca, ficando os valores entre 36,04 a 44,79%; 34,65 a 45,02% e 17,37%, respectivamente, independentemente do tempo.

Já em condições de temperatura de 156,36 e 170 °C foram os que apresentaram maiores rendimentos em massa, ou seja, houve menor perda de palha no pré-tratamento hidrotérmico ficando os valores entre 60,30 a 99,58%, indicando uma menor solubilização dos componentes da palha de cana. A baixa perda de massa no pré-tratamento hidrotérmico em temperatura 156,36 e 170 °C pode ser explicado pela menor remoção da hemicelulose e, ao contrário, a grande perda de massa em temperaturas mais elevadas se deve à maior remoção da hemicelulose, característica deste tipo de pré-tratamento, conforme mostrado na Tabela 10.

No entanto, os maiores rendimentos em massa seca após o pré-tratamento hidrotérmico, verificado na temperatura de 170 °C, não se caracterizam em maior rendimento de hidrólise da celulose (36,50 a 58,55%) e nem no rendimento total de glicose (12,10 a 17,58%). Por outro lado, em temperaturas maiores (190, 210 e 223,64 °C), observa-se o contrário, ou seja, um menor rendimento em massa seca e um maior rendimento de hidrólise da celulose e em glicose total, com exceção da temperatura 223,64 °C, que embora apresente alto rendimento de hidrólise da celulose (83,97%), o seu rendimento em glicose total foi baixo (7,88%) (Tabela 12). Nota-se que, nessa condição de temperatura, embora 83,97% da celulose tenha sido hidrolisada, o seu rendimento em glicose total foi o menor valor encontrado, isso pode ser justificado pelo seu baixo rendimento em massa seca (17,37%) e que nessas condições de altas temperaturas a celulose foi parcialmente hidrolisada, sendo encontrada no licor (Anexo).

Tabela 12. Rendimentos obtidos através do pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar, de acordo com o planejamento experimental.

Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Rendimento (%)		
			Após o pré-tratamento	Hidrólise da celulose após o pré-tratamento	Glicose total g/100g de palha
1	170	5	70,90	36,50	12,10
2	210	5	44,79	71,87	18,01
3	170	15	60,30	55,12	15,73
4	210	15	36,44	69,58	12,55
5	170	5	73,60	37,71	12,10
6	210	5	36,04	81,98	16,26
7	170	15	63,62	58,55	17,58
8	210	15	37,80	84,57	18,03
9	156,36	10	99,58	27,26	12,07
10	223,64	10	17,37	83,97	7,88
11	190	1,59	45,02	71,72	16,35
12	190	18,41	34,65	103,53	18,78
13	190	10	42,13	80,70	17,86
14	190	10	36,88	81,44	16,14
15	190	10	40,47	86,17	18,70
16	190	10	39,42	73,34	15,98
17	190	10	42,37	80,68	17,68
18	190	10	41,25	84,61	18,17
19	190	10	41,01	101,69	21,27
20	190	10	41,61	82,85	17,59

Finalmente, nas condições do presente trabalho, os ensaios do planejamento experimental com temperaturas de 190 e 210 °C proporcionaram maior rendimento de hidrólise da celulose, chegando a valores próximos de 100%, mostrando a eficiência do pré-tratamento hidrotérmico sobre a recalcitrância da palha de cana-de-açúcar e seu potencial na produção de etanol celulósico.

6. CONCLUSÕES

- Os resultados encontrados da composição química da palha de cana-de-açúcar estão de acordo com os valores relatados na literatura e mostraram que as condições edafoclimáticas dos estados avaliados pouco influenciam na sua composição química, especialmente, em relação à celulose, hemicelulose e lignina.
- O pré-tratamento hidrotérmico mostrou-se eficiente na remoção da hemicelulose da palha de cana-de-açúcar, além de fornecer substratos de alta susceptibilidade à hidrólise enzimática.
- Através do Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR), foi possível obter um modelo quadrático significativo para explicar as variáveis temperaturas e tempo sobre a liberação de glicose no processo de pré-tratamento hidrotérmico.
- De acordo com o Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR), a maior liberação de glicose da hidrólise enzimática foi na condição de pré-tratamento hidrotérmico de 190 °C por 18,41 minutos e relação palha/água de 12,5 %.
- As superfícies de resposta demonstraram um contorno elíptico, o que sugere que as condições de operação foram bem definidas para o processo de otimização do pré-tratamento hidrotérmico para palha de cana-de-açúcar.
- Os ensaios do planejamento experimental com temperaturas de 190 e 210 °C proporcionaram maior rendimento de hidrólise da celulose, chegando a valores próximos de 100%, mostrando a eficiência do pré-tratamento hidrotérmico sobre a recalcitrância da palha de cana-de-açúcar e seu potencial na produção de etanol celulósico.

7. BIBLIOGRAFIA

ALVIRA, P.; TOMÁS-PEJÓ, E.; BALLESTEROS, E. M.; NEGRO M. J. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*, v.101, n.4851-4861, 2010.

AMBRÓSIO, W. A usina de cana-de-açúcar como exemplo de biorrefinaria. In: JUNIOR, S. V. (Ed). In: *Biorrefinaria: cenários e perspectivas – Brasília, DF: Embrapa Agroenergia*, 2011. P.69-80.

ATALLA, R.H.; HACKNEY, J.M.; UHLIN, I. 1993. Hemicelluloses as structure regulators in the aggregation of native cellulose. *Int. J. Biol. Macromol.*, 15:109-112.

BAUDEL, H. M. Pré-tratamento e hidrólise. III Workshop Tecnológico sobre: Hidrólise para produção de etanol. 2006.

BIERMANN C. J, SCHULTZ T. P, MCGINNIS G. D. 1984. Rapid steam hydrolysis/extraction of mixed hardwoods as a biomass pretreatment. *J. Wood Chem. Technol.* 4: 111±128.

BNDES e CGEE. Banco Nacional para o Desenvolvimento Social e Econômico; Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. *Bioetanol de cana-de-açúcar: Energia para o desenvolvimento sustentável*. Rio de Janeiro: BNDES e CGEE, 2008. 316p.

BOBLETER, O. Hydrothermal Degradation of Polymers Derived from Plants. *Prog. Polym. Sci.*, v.19, p. 797-841, 1994.

BOERJAN, W.; RALPH, J.; BAUCHER, M. Lignin biosynthesis. *Annu Rev Plant Biol*, v.54, p.519-546, 2003.

BONOMI, A. 2010. Workshop hidrólise de materiais lignocelulósicos. In: Cortez (Ed.). Bioetanol de cana-de-açúcar: PeD para produtividade sustentabilidade. – São Paulo: Blucher, p. 679-695.

BRAUNBECK, O. A.; CORTEZ, L. A. B. O cultivo da cana-de-açúcar e o uso dos resíduos. In: ROSILLO-CALLE, F; BAJAY, S.V.; ROTHMAN, H. Uso da biomassa para a produção de energia na indústria brasileira. Campinas: Unicamp, 2005. p. 215-246.

BUCKERIDGE, M. S.; SILVA, G.B; CAVALARI, A. Parede celular. In: KERBAUY, G. B (ed). Fisiologia vegetal. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 165-181.

BUCKERIDGE, M.S.; DOS SANTOS, W.; SOUZA, A.P. 2010. As rotas para o etanol celulósico no Brasil. In: Cortez (Ed.). Bioetanol de cana-de-açúcar: PeD para produtividade sustentabilidade. – São Paulo: Blucher, p. 365-380.

CANILHA, L.; MILAGRES, A.M.F.; SILVA, S.S.; SILVA, J.B.A.; FELIPE, M.G.A.; ROCHA, G.J.M.; CARVALHO, W. 2010. Sacarificação da biomassa lignocelulósica através de pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática: Uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal. Revista analítica. n. 44. p. 48-54.

CARDOSO, W. S., SANTOS, F. A., MOTA, C. M., TARDIN, F. D., RESENDE, S. T., QUEIROZ, J. H. Pré-tratamentos de biomassa para produção de etanol de segunda geração. Revista Analytica, 56: 64-76, Dezembro 2011/Janeiro 2012.

CARRASCO, F.; ROY, C. Kinetic study of dilute-acid prehydrolysis of xylan-containing biomass. Wood Science and Technology, v.26, n.3, p.189-208, 1992.

CARVALHO, D. M. Caracterização físico-química e polpação etanol/soda do bagaço e da palha de cana-de-açúcar. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2012. 165p.

CAVALCANTE, C. S. 2012. Processo de produção do açúcar. In: SANTOS, F. A.; BORÉM, A.; CALDAS, C. (eds.). In: Cana-de-Açúcar: Bioenergia, Açúcar e Etanol – Tecnologias e Perspectivas. 2 ed. Revisada e ampliada. – Viçosa, MG p. 400-450.

BNDES, Banco Nacional para o Desenvolvimento Social e Econômico; CGEE Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável. BNDES e CGEE, Rio de Janeiro, 2008. 316p.

CGEE. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. Bioetanol combustível: uma oportunidade para o Brasil. CGEE, Brasília, 2009. 536p.

CHANG, V. S., HOLTZAPPLE, M. T. Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 84:5–37, 2000.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, Primeiro levantamento, abril/2012 - Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília: Conab 2012.

CONWAY, G. Produção de alimentos no século XXI: Biotecnologia e Meio Ambiente. São Paulo: Estação Liberdade, 2003. 375p.

CORTEZ, L.A.B. et al. Roadmap Tecnológico para o Etanol: Componente Termoconversão de Biomassa. In: CORTEZ, L.A.B. Bioetanol de Cana-de-Açúcar: P&D para a Produtividade e Sustentabilidade. São Paulo: Blucher, 2010b. p. 919-936.

CORTEZ, L. A. B.; JUNIOR, R. B.; ALMEIDA, E. Energia da cana-de-açúcar. In: SANTOS, F.; COLODETTE, J.; QUEIROZ, J. H. (Eds). Bioenergia e Biorrefinaria – Cana-de-Açúcar e Espécies Florestais -. Viçosa: 2013. p 17-58.

CORTEZ, L.A.B.; LORA, E.E.S.; OLIVARES GÓMEZ, E. Biomassa para energia. Campinas: Editora da Unicamp, SP, 2008. 733p.

D ALMEIDA, M. L. O. Composição química dos materiais lignocelulósicos. In: Celulose e Papel- Tecnologia de Fabricação da Pasta Celulósica. São Paulo: Instituto de Pesquisas do Estado de São Paulo. , 2ª. Ed., vol. 1, 1998.

DIOLA, V.; SANTOS, F.A. 2010. Fisiologia. In: Santos, F.; Borém, A.; Caldas, C. (Ed.). Cana-de-Açúcar: Bioenergia, Açúcar e Álcool – Tecnologias e Perspectivas. Viçosa – UFV. p. 487-517.

EBRINGEROVÁ, A.; HROMÁDKOVÁ, Z.; HEINZE, T. Hemicelullose. Adv. Polym Sci., 186, 2005. p. 1-67.

EMMEL, A. MATHIAS, A. L.; WYPYCH, F.; RAMOS, L. P. Fractionation of Eucalyptus grandis chips by dilute acid-catalysed steam explosion. Bioresource Technology, v.86, 2003, p.105-115.

FAN, L. T.; GHARPURAY, M. M.; LEE, Y. H. Cellulose hydrolysis. New York: Springer-Verlag, 1987.

FELIPE, M. G. A. A qualidade da matéria-prima na produção de etanol de cana-de-açúcar. In: CORTEZ, L. A. B. (ed.). In: Bioetanol de Cana-de-Açúcar: PeD para Produtividade Sustentabilidade. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 2010. p. 553-559.

FENGEL, D., WEGENER, G. Wood Chemistry ultrastructure Reactions. Berlín: Walter de Gruyter, 610 p, 1989.

FILHO, H. P. M. 120 anos de produção mundial de açúcar: comentários sobre series estatísticas tradicionais (1820-1940). Instituto de Filosofia e Ciências Sociais, UFRJ, 2003.

FINGUERUT, J.; MEIRELLES, A. J. A.; GUIRARDELLO, R.; COSTA, A. C. Fermentação, Hidrólise e Destilação. In: CORTEZ, L. A. B.; LORA, E.E.S.;

GÓMEZ, E. O. (Org.). Biomassa para Energia. 1 ed. Campinas: Unicamp, 2006. v. 1, p. 1-53.

FRANCO, T. T.; GARZÓN, C. S. L. Novas possibilidades de negócios do setor sucroenergético: álcoolquímica e biorrefinaria. In: CORTEZ, L. A. B. (ed.). Edgard Blücher Ltda. Bioetanol de Cana-de-Açúcar: PeD para Produtividade Sustentabilidade. São Paulo, 2010. p. 761-772.

FUENTES, L.L.G. Determinação de dados cinéticos da deslignificação do bagaço de cana-de-açúcar e da hidrólise enzimática no pré-tratamento com hidróxido de cálcio. 2009. Dissertação (Mestrado) – Escola Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

GALBE , M.; ZACCHI, G. Pretreatment of Lignocellulosic Materials for Efficient Bioethanol Production. Adv Biochem Engin/Biotechnol., 108, p. 41-65, 2007.

GALBE, M.; ZACCHI, G. 2010. Produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos. In: Cortez (Ed.). Bioetanol de cana-de-açúcar: PeD para produtividade sustentabilidade. – São Paulo: Blucher, p. 697-716.

GARROTE, G.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. C. Hydrothermal processing of lignocellulosic materials. European Journal of Wood and Wood Products, v.57, p.191-202, 1999.

GEORGES, F. Caracterização da palha da cana-de-açúcar do Rio Grande do Sul e de seus produtos de pirólise. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2011. 120p.

GÓMEZ, E.O.; SOUZA, R.T.G.; ROCHA, G.J.M.; ALMEIDA, E.; CORTEZ, L.A.B. 2010. A palha de cana-de-açúcar como matéria-prima para processos de segunda geração. In: Cortez (Ed.). Bioetanol de cana-de-açúcar: PeD para produtividade sustentabilidade. – São Paulo: Blucher, p. 637-659.

HAMELINCK, C. N.; HOOIJDONK, G. V.; FAAIJ, A. P. C. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle-and long-term. *Biomass and Bioenergy*, v. 28, p.384-410, 2005.

HAMES, B. R.; THOMAS, S. R.; SLUITER, A. D.; ROTH, C. J.; TEMPLETON, D. W. Rapid Biomass Analysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 105, p.5-16, 2003.

HASSUANI, S. J.; VERDE LEAL, M. R. L.; MACEDO, I. C. Biomass power generation: sugarcane bagasse and trash. Project BRA/96/G31 PNUD – CTC. Piracicaba: Unipress Disc Records do Brasil. Série Caminhos para Sustentabilidade, 2005.

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

HENRIKSSON, G. Lignin. In: GELLERSTEDT, G. M. EK.; HENRIKSSON, G. *Pulp and Paper Chemistry and Technology: Wood Chemistry and Wood Biotechnology*. Stockholm, Sweden: De Gruyter, 2009. v. 1, p. 121-146.

HSU, T. A., LADISCH, M. R., TSAO, G. T. Alcohol from cellulose. *Chemical Technology* 10(5) :315–319, 1980.

HSU, T. Pretreatment of biomass. In: *HANDBOOK on Bioethanol: Production and Utilization*. Washington: Taylor e Francis, 1996. p.179-188.

IPCC – Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007. *Climate change,2007: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Core Writing Team, Pachauri, RK. And Reisinger, A. (Eds). IPCC, Geneva, Switezrland. 104p.

KABEL, M. A.; BOS, G.; ZEEVALKING, J.; VORAGEN, A. G. J.; SCHOLS, H. A. Effect of pretreatment severity on xylan solubility and enzymatic breakdown of

the remaining cellulose from wheat straw. *Bioresource Technology*, v.98, p.2032-2042, 2007.

KHESHGI, H.S.; PRINCE, R.C.; MARLAND, G. 2000. The potential of biomass fuels in the context of global climate change: focus on transportation fuels. *Annu Rev Energy Environ* 25:199–244.

KONDO, T. 1997. The relationship between intramolecular hydrogen bonds and certain physical properties of regioselectively substituted cellulose derivatives. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, v.35, p.717-723.

LANE, M. M.; BURKE, N.; KARREMAN, R.; WOLFE, K. H.; O'BYRNE, C.P.; MORRISSEY, J. P. Physiological and metabolic diversity in the yeast *Kluyveromyces marxianus*. *Anton Leeuw*, v.100, p.507-519, 2011.

LAL, R. 2004. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. *Science* 304:1623–1627.

LASER, M.; SCHULMAN, D.; ALLEN, S. G.; LICHWA, J.; ANTAL JR., M. J.; LYND, L. R. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol. *Bioresource Technology*, v.81, p.33-44, 2002.

LAVACK, B. P.; GRIFFIN, G. J.; RODMAN, D. The Acid Hydrolysis of Sugarcane Bagasse Hemicellulose to Produce Xylose, Arabinose, Glucose and other Products. *Biomass and Bioenergy*, 23, p. 367-380, 2002.

LEAL, M. R. L. V. Cana energia. In: CORTEZ, L. A. B. (ed.). *Bioetanol de Cana-de-Açúcar: PeD para Produtividade Sustentabilidade*. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 2010. p. 751-760.

LEHNINGER, A. L. *Lehninger princípios de bioquímica / coordenação de tradução Arnaldo Antonio Simões, Wilson Roberto Navega Lodi*. 4. ed. São Paulo: SARVIER, 2006.

MAGALHÃES, O. S. G.; BRAUNBECK, O. A. Colheita de cana-de-açúcar e palha. In: CORTEZ, L. A. B. (ed.). Bioetanol de Cana-de-Açúcar: PeD para Produtividade Sustentabilidade. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 2010. p. 465-475.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: www.agricultura.gov.br. Acesso em 20 de novembro de 2012.

MARABEZI, K. Estudo sistemático das reações envolvidas na determinação dos teores de lignina e holocelulose em amostras de bagaço e palha da cana-de-açúcar. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2009. 142p.

MARGARIDO, B. F.; SANTOS, F. 2012. Planejamento agrícola. In: SANTOS, F. A.; BORÉM, A.; CALDAS, C. (eds.). In: Cana-de-Açúcar: Bioenergia, Açúcar e Etanol – Tecnologias e Perspectivas. 2 ed. Revisada e ampliada. – Viçosa, MG p. 9-24.

MATSUOKA, S.; BRESSIANI, J.; MACCHERONI, W.; FOUTO, I. Bioenergia da cana. In: SANTOS, F. A.; BORÉM, A.; CALDAS, C. (eds.). Cana-de-Açúcar: Bioenergia, Açúcar e Etanol – Tecnologias e Perspectivas. 2. ed. Revisada e ampliada. – Viçosa, MG, 2012. p. 547-577.

MATSUSHIKA, A.; INOUE, H.; KODAKI, T.; SAWAYA, S. Ethanol production from xylose in engineered *Saccharomyces cerevisiae* strains: current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol*, v.84, p.37-53, 2009.

MEINZER, F. C.; ZHU, J. Nitrogen stress reduces the efficiency of the C₄ CO₂ concentrating system, and therefore quantum yield, in *Saccharum* (sugarcane) species. *Journal of Experimental Botany*, v. 49, n. 324, p. 1227-1234, July, 1998.

MIRANDA, E. E.; CAVALLI, A. C. O etanol combustível: solução ou problema nacional? In: SANTOS, F.; COLODETTE, J.; QUEIROZ, J. H. (Eds.). Bioenergia

e Biorrefinaria – Cana-de-Açúcar e Espécies Florestais -. Viçosa: 2013. p 165-186.

MIRANDA, I. C. Aproveitamento energético a partir de resíduos de biomassa: Bagaço e palha de cana-de-açúcar. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RS, 2009. 199p.

MOURA, A. G.; CASTILLO, E. F.; PALACIO, J. C. E.; RENO, M. L. G.; LORA, E. E. S.; VENTURINI, O. J.; OLMO, O. A. Biocombustíveis de primeira geração – bioetanol pela rota convencional. In: LORA, E. E. S.; VENTURINI, O. J. (eds.). Biocombustíveis. Rio de Janeiro: Interciência Ltda., 2012. v.1 e 2, p.359-409.

MUSSATO, S.I.; ROBERTO, I.C. Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolyzates for use in fermentative processes: a review. *Bioresource Technol.* v.93, p. 1-10, 2004.

OHGREN, K.; BURA, R.; LESNICKI, G.; SADDLER, J.; ZACCHI, G. A comparison between simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation using steam-pretreated corn stover. *Process Biochem.*,v.42, p.834-839. 2007.

ÖHGREN, K.; BURA, R.; SADDLER, J.; ZACCHI, G. Effect of hemicellulose and lignin removal on enzymatic hydrolysis of steam pretreated corn stover. *Bioresource Technology*, v.98, p.2503-2510. 2007.

OLIVÉRIO, J. L.; HILST, A. G. P. DHR-Dedini Hidrólise Rápida – Revolutionary Process for Producing Alcohol from Sugar Cane Bagasse. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, 25., Guatemala, Janeiro/fevereiro, 2005.

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

OREB, M.; DIETZ, H.; FARWICK, A.; BOLES, E. Novel strategies to improve co-fermentation of pentoses with d-glucose by recombinant yeast strains in lignocellulosic hydrolysates. *Bioengineered*, v.3, p.347-351, 2012.

PALMQVIST, E.; HAHN-HÅGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. Inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technol.* v.74, p.25-33, 2000.

PERDICES, M. B.; ARGAYA, G.E.A.; CORAL, D. S. O.; MENDOZA, M. A. G.; NUNES, D. C. L. Bioetanol a partir de materiais lignocelulósicos pela rota da hidrólise. In: LORA, E. E. S.; VENTURINI, O. J. (ed.). *Biocombustíveis. V. 1 e 2.* Rio de Janeiro: Interciência Ltda., 2012. p.335-588.

PITARELO, A. P. 2007. Avaliação da susceptibilidade do bagaço e da palha de cana-de-açúcar à bioconversão via pré-tratamento à vapor e hidrólise e enzimática. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. 142p.

PROTÁSIO, T. de P.; BUFALINO, L.; TONOLI, G. H. D.; COUTO, A. M.; TRUGILHO, P. F.; GUIMARÃES JÚNIOR, M. Relação ente o poder calorífico superior e os componentes elementares e minerais da biomassa vegetal. *Pesq. flor. bras, Colombo*, v. 31, n. 66, p. 113-122, abr./jun. 2011.

RABELO, S. Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar. São Paulo: Escola Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas, 2007. Tese (Mestrado).

RABELO, S. C.; COSTA, A. C.; ROSSEL, C. E. V. Aproveitamento de resíduos industriais. In: SANTOS, F. A.; BORÉM, A.; CALDAS, C. (eds.). *Cana-de-Açúcar: Bioenergia, Açúcar e Etanol – Tecnologias e Perspectivas. 2 ed. Revisada e ampliada.* – Viçosa, MG, 2012. p. 515-536.

RAMOS e PAULA, L. E. de; TRUGILHO, P. F.; NAPOLI, A. BIANCHI, M. L. Characterization of residues from plant biomass for use in energy generation. *Cerne*, Lavras, v. 17, n. 2, p. 237-246, 2011.

RAMOS, L. P. The chemistry involved in the pretreatment of lignocellulosic materials. *Química Nova*, v.26,p. 863-871, 2003.

RIDESA. Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro. Catálogo nacional de variedades “RB” de cana-de-açúcar. Curitiba: Ridesa, 2010. 136p.

RIPOLI, T.C.C. ; RIPOLI, M.L.C. 2012. Sistemas de colheitas de colmos. In: Santos, F.; Borém, A.; Caldas, C. (Ed.). *Cana-de-Açúcar: Bioenergia, Açúcar e Etanol – Tecnologias e Perspectivas*. Viçosa – UFV. p. 271-312.

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

ROSSEL, C. E. V.; ZAINAGHI, G. Produção de etanol combustível pela hidrólise enzimática. In: Instituto Euvaldo Lodi. Núcleo Central. *Álcool combustível / IEL*. Núcleo Central – Brasília: IEL/NC, 2008. 123-138.

RUBIO-TEXEIRA, M.; ZEEBROECK, G. V.; VOORDECKERS, K.;THEVELEIN, J. M. *Saccharomyces cerevisiae* plasmamembrane nutrient sensors and their role inPKA signaling. *FEMS Yeast Res*, v.10, p.134-149, 2009.

SAHA, B. C.; NICHOLS, N. N.; QURESHI, N.; COTTA, M. A. Comparison of separate hydrolysis and fermentation and simultaneous saccharification and fermentation processes for ethanol production from wheat straw by recombinant *Escherichia coli* strain FBR5. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.92, p.865-74, 2011.

SAMANIEGO, M. R. P. Uso de biocombustível da pirólise rápida da palha de cana em um motor de ciclo Otto. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2007. 117p.

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

SANTOS, F.; QUEIROZ, J. H.; COLODETTE, J.; SOUZA, C. J. Produção de etanol celulósico a partir da cana-de-açúcar. In: SANTOS, F.; COLODETTE, J.; QUEIROZ, J. H. (Eds). *Bioenergia e Biorrefinaria – Cana-de-Açúcar e Espécies Florestais* -. Viçosa: 2013. p 129-164

SANTOS, F.; QUEIROZ, J. H.; COLODETTE, J.; SOUZA, C. J.; NICK, C. Subprodutos da agroindústria sucroenergética. In: SANTOS, F.; COLODETTE, J.; QUEIROZ, J. H. (Eds). *Bioenergia e Biorrefinaria – Cana-de-Açúcar e Espécies Florestais* -. Viçosa: 2013. p 105-128.

SANTOS, J. R. A.; SOUTO-MAIOR, A. M.; GOUVEIA, E. R. Comparação entre processos em shf e em ssf de bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol por *Saccharomyces cerevisiae*. *Química Nova*, v.3, p.904-908, 2010.

SANTOS, V,L, S.; COLODETTE, J. Produção de Lignina da Madeira. In: SANTOS, F.; COLODETTE, J.; QUEIROZ, J. H. (Eds). *Bioenergia e Biorrefinaria – Cana-de-Açúcar e Espécies Florestais* -. Viçosa: 2013. p 509-527.

SARKANEN, K.V.; HERGERT, H. L. Lignins: occurrence, formation, structure and reactions. SARKANEN, K.V.; LUDWID, C.H. (Eds.). New York: Wiley-Interscience, 1971. p-43-49.

SHELLER, H. V.; ULVSKOV, P. Hemicelluloses. *Annual Review of Plant Biology*, v.61, p.263-289, 2010.

SEABRA, J. E. A. 2008. Avaliação técnico-econômico de opções para o aproveitamento integral da biomassa de cana no Brasil. Tese (Doutorado), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 298p.

SILVA, L.D.O. Sustentabilidade do etanol brasileiro: Uma proposta de princípios e critérios. 2010. 174 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

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

SJOSTROM, E.; WESTERMARK, V. 1999. Chemical composition of wood and pulps: Basic constituents and their distribution. In: Sjostrom, E.; Alén, R. Analytical Methods in Wood Chemistry, Pulping and Papermaking. Berlin: Springer-Verlag.

SÖDERSTRÖM, J., GALBE, M., ZACCHI, G., 2004. Effect of washing on yield in one- and two-step steam pretreatment of softwood for production of ethanol. Biotechnol. Progr. 20, 744–749.

SOTELO, R.C.; CORREA, J.L. Resíduos da colheita. In: INSTITUTO CUBANO DE PESQUISA DOS DERIVADOS DA CANA (ICIDCA). Manual dos derivados da cana-de-açúcar: diversificação, matérias-primas, derivados do bagaço, derivados do melaço, outros derivados, resíduos, energia. Brasília: ABIPTI, 1999. p. 63-68.

SUN, Y.; CHENG, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review. Bioresource Technology. 83, 1-11.

TAPPI TEST METHODS. Atlanta: TAPPI Press, 1994.

TELEMAN, A. Hemicelluloses and Pectins. In: GELLERSTEDT, M. EK. G.; HENRIKSSON, G. Wood Chemistry and Wood Biotechnology. Stockholm: De Gruyter, 2009. v. 1, p. 102-120.

TOMÁS-PEJÓ, E.; GARCÍA-APARICIO, M.; NEGRO, M. J.; OLIVA, J. M.; BALLESTEROS, M. Effect of different cellulase dosages on cell viability and ethanol production by *Kluyveromyces marxianus* in SSF processes. *Bioresource Technology*, v.100, p. 890-895, 2008.

VASCONCELOS, J. N. Ethanol fermentation. In: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sugarcane: bioenergy, sugar and ethanol: technology and prospects. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012. p. 387-422

WANG, M.; LI, Z.; FANG, X.; WANG, L.; QU, Y. Cellulolytic Enzyme Production and Enzymatic Hydrolysis for Second-Generation Bioethanol. Production. *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, 2012.

WYMAN, C. E. Potential synergies and challenges in refining cellulosic biomass to fuels, chemicals, and power. *Biotechnology Progress* v. 19, p.254-262, 2003.

YUAN, W.J.; CHANG, B.L.; REN, J.G.; LIU, J.P.; BAI, F.W.; LI, Y.Y. Consolidated bioprocessing strategy for ethanol production from Jerusalem artichoke tubers by *Kluyveromyces marxianus* under high gravity conditions. *Journal of Applied Microbiology*, v. 112, p. 38-44, 2011.

ZÚÑIGA, U. F. R. Desenvolvimento de um bioprocesso para produção de celulasas específicas na cadeia produtiva do etanol de segunda geração. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2010. 228p.

A N E X O

Caracterização química do licor		
Ensaio	Celulose (mg/L)	Hemicelulose (mg/L)
1	203,25	1144,13
2	629,55	4037,70
3	223,50	1856,48
4	724,80	280,13
5	117,01	410,92
6	333,75	3991,50
7	140,41	1117,34
8	623,70	669,00
9	138,86	640,84
10	558,38	114,08
11	206,03	1704,83
12	225,60	4351,65
13	308,63	4264,13
14	135,99	2139,59
15	209,85	3135,90
16	199,80	2875,20
17	206,25	3256,50
18	171,75	2517,75
19	176,94	2817,06
20	213,45	3258,30