



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA



IGOR VIEIRA EVANGELISTA

CARACTERIZAÇÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS PARA A PRODUÇÃO DE
ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO

PATOS DE MINAS

2017

IGOR VIEIRA EVANGELISTA

CARACTERIZAÇÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS PARA A PRODUÇÃO
DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Engenharia de
Alimentos da Universidade Federal de
Uberlândia - *Campus* Patos de Minas como
parte dos requisitos para conclusão do curso.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª. Carla Zanella
Guidini

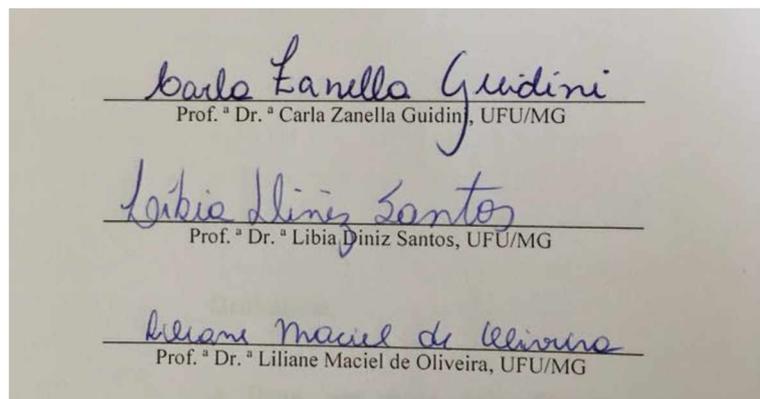
PATOS DE MINAS

2017

CARACTERIZAÇÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS PARA A PRODUÇÃO
DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado para
obtenção do Título de Engenheiro de Alimentos
da Universidade Federal de Uberlândia *Campus*
Patos de Minas, pela a banca examinadora,
formada por:

Patos de Minas, 15 de dezembro de 2017



Carla Zanella Guidini
Prof.ª Dr.ª Carla Zanella Guidini, UFU/MG

Libia Diniz Santos
Prof.ª Dr.ª Libia Diniz Santos, UFU/MG

Liliane Maciel de Oliveira
Prof.ª Dr.ª Liliane Maciel de Oliveira, UFU/MG

Dedicatória,

A Deus, aos meus pais, Sinezio e Rozilaina, a minha irmã Yasmim, e a minha família; pelo apoio, incentivo, compreensão e amor.

Amo vocês, sou grato por tudo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, pelas alegrias proporcionadas, por iluminar o meu caminho e estender a mão nas horas de dificuldades.

Aos meus pais, Sinezio e Rozilaina, que sempre me deram amor, educação e apoio para a minha formação pessoal e acadêmica. A minha irmã Yasmim, por estar sempre ao meu lado. Amo vocês!

A minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª Carla Zanella Guidini pela orientação, por toda a dedicação, paciência e confiança, fundamentais para meu crescimento profissional e pessoal. Obrigado também pelas palavras amigas, incentivo e carinho. Não tenho palavras para expressar o tamanho respeito, admiração e gratidão que sinto por você. Muito obrigado!

A todos os professores da UFU - *campus* Patos de Minas que contribuíram direta ou indiretamente em minha formação, contribuindo com informações valiosas para a realização deste trabalho. Também aos técnicos e funcionários pelo pronto atendimento quando necessário.

Ao grupo PET – Programa de educação tutorial, que me proporcionou os melhores anos da minha graduação, desenvolvendo diversas atividades e contribuindo para o meu crescimento pessoal e profissional, eternizando estes momentos, e principalmente ao tutor do programa, Danylo de Oliveira Silva, a todos o meu muito obrigado!

A todos os colegas e amigos que tive oportunidade de conhecer ao longo dessa caminhada, tenho certeza que cada um de vocês estarão sempre em minhas lembranças, em especial Ana Flávia, Bruna, Fernanda, Liskelly e Kamila, e também vocês Isabelle e Isadora que já estão comigo desde o jardim de infância e que tive o privilégio de dividir apartamento durante toda essa caminhada vocês fizeram toda a diferença, obrigado pelos ensinamentos, ajuda, momentos compartilhados e amizade ímpar. Me farão muita falta nossos contatos diários!

Enfim, a todos, que com boa intenção, colaboraram pela realização e finalização deste trabalho. Meu muito obrigado.

“Mas se desejarmos fortemente o melhor e, principalmente, lutarmos pelo melhor... O melhor vai se instalar em nossa vida. Porque sou do tamanho daquilo que vejo, e não do tamanho da minha altura.”

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

A produção de etanol por fontes renováveis, proveniente de materiais lignocelulósicos, advindos de biomassas, já é realidade, pois há uma grande preocupação com o grande despejo de resíduos no meio ambiente. Esses resíduos afetam diretamente no aquecimento global, que é resultante da prática de despejo destas matérias de forma inutilizável no meio ambiente. Desta forma, se faz necessário desenvolver pesquisas com o objetivo de minimizar problemas ambientais. Essas biomassas apresentam em sua composição três principais compostos: lignina, celulose e hemicelulose, sendo que a lignina não é de interesse na fermentação, mas desempenha papel muito importante por trás de toda a química da biomassa, já a celulose e hemicelulose quando hidrolisados podem fornecer monossacarídeos capazes de serem fermentados produzindo o etanol de segunda geração. Este estudo analisou a viabilidade de três biomassas para a produção de etanol celulósico, sendo elas o farelo da palha do arroz, bagaço de cana-de-açúcar e farelo da casca do milho. Foram feitas determinações de granulometria, umidade, cinzas, sólidos totais, atividade de água, extrato etéreo, proteínas, extrativos totais, lignina solúvel e insolúvel, holocelulose, celulose, hemicelulose, e carboidratos totais. Os resultados encontrados mostraram que as três biomassas estudadas demonstram grande potencial em aplicação para cogeração de energia, devido ao seu baixo teor de cinzas que foram de 7,99% para o farelo da palha do arroz, 2,7% para o bagaço da cana-de-açúcar, e 3,47% para o farelo da casca do milho. Os resultados mostraram também a possibilidade de aplicação para a bioconversão e produção do bioetanol, devido a presença considerável de polissacarídeos, 38,33% de celulose, 19,73% de hemicelulose para o farelo da palha do arroz, 27,09% de celulose, 5,61% de hemicelulose para o bagaço da cana-de-açúcar, e 55,75% de celulose, 12,93% de hemicelulose para o farelo da casca do milho.

Palavras chave: Lignocelulósicos, Celulases, Etanol de segunda geração, Bioetanol.

ABSTRACT

The production of ethanol from renewable sources, derived from lignocellulosic materials, from biomass, is already a reality, as there is a great concern about the large dumping of waste into the environment. These residues directly affect global warming, which is an effect resulting from the practice of disposing of these materials unusable in the environment. Thus, it is necessary to develop researches with the objective of minimizing environmental problems. These biomasses present the three main compounds: lignin, cellulose and hemicellulose, and lignin is not of interest in fermentation, but plays a very important role behind all biomass chemistry, cellulose and hemicellulose when hydrolysates can to provide fermentable monosaccharides producing the second generation ethanol. This study attempted to analyze the viability of three biomasses for the production of cellulosic ethanol, such as rice bran, sugarcane bagasse and corn husk meal. Determination of granulometry, moisture, ash, total solids, water activity, ethereal extract, proteins, total extractives, soluble and insoluble lignin, holocellulose, cellulose, hemicellulose, and total carbohydrates were made. Results showed that the three biomasses studied showed a great potential in application for energy cogeneration due to their low ash content, which was 7.99% for rice bran, 2.7% for sugarcane bagasse, and 3.47% for corn husk meal. The results also showed the application for bio-conversion and bioethanol production, due to the presence of polysaccharides, 38.33% cellulose, 19.73% hemicellulose for rice bran, 27.09% cellulose, 5.61% hemicellulose for sugarcane bagasse, and 55.75% cellulose, 12.93% hemicellulose for corn husk meal.

Key words: Lignocellulosic, Cellulases, Second generation ethanol, Bioethanol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Produção de etanol em cada estado brasileiro.	19
Figura 2.2 - Produção de etanol no Brasil das safras de 2012 até 2018.....	20
Figura 2.3 - Complexo lignocelulósico: cadeias de celulose envolvidas por hemicelulose e lignina.	23
Figura 2.4 - Estrutura da cana-de-açúcar.....	25
Figura 2.5 - Estrutura do amido.....	26
Figura 2.6 - Estrutura da biomassa lignocelulósica.....	29
Figura 2.7 - Estrutura molecular da celulose.....	30
Figura 2.8 - Estrutura molecular da hemicelulose.....	31
Figura 2.9 - Estrutura molecular da lignina.....	32
Figura 3.1 - Resíduos do farelo da palha do arroz, bagaço de cana-de-açúcar e farelo da casca do milho, respectivamente.	34
Figura 3.2 - Vibrador de peneiras para determinação de granulometria das amostras..	35
Figura 3.3 - Aparelho de Soxhlet para a extração de gordura.....	36
Figura 3.4 - Analisador automático de umidade no infravermelho.....	40
Figura 3.5 - Equipamento mufla para a determinação de cinzas nas biomassas.....	41
Figura 3.6 - Destilador de compostos nitrogenados propostos Kjeldahl.....	42
Figura 4.1 - Distribuição granulométrica da Farelo da palha do arroz, Bagaço de cana-de-açúcar e Farelo da casca do milho, respectivamente.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 Produção brasileira de etanol.....	19
Tabela 2.2 - Composição química de biomassas lignocelulósicas com potencial para produção de etanol de segunda geração.	27
Tabela 4.1 - Caracterização química das biomassas em estudo para a produção de etanol de segunda geração.	45
Tabela 4.2 - Composição química de biomassa lignocelulósica.	47
Tabela 4.3 - Concentração de monossacarídeos nos extrativos das biomassas (%).	49
Tabela 4.4 - Concentração de monossacarídeos resultantes das hidrólises (%).	50
Tabela 4.5 - Composição de carboidratos em % de monossacarídeos	52
Tabela 4.6 - Quantidade de Sólidos totais, Umidade e Atividade de água (A_w) nas biomassas.....	53
Tabela 4.7 - Composição de Gordura e Proteína nas biomassas	54

Sumário

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	13
1.1 Objetivo	14
CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Etanol	16
2.2 Panorama atual do etanol no Brasil	17
2.3 Etanol de segunda geração	20
2.4 Resíduos agroindustriais	22
2.4.1 Resíduos agroindustriais utilizados para a produção de celulases	23
2.4.2 Resíduos da Cana-de-açúcar	24
2.4.3 Resíduos do Milho	25
2.4.4 Resíduos do Arroz	26
2.5 Composição da estrutura lignocelulósica	27
2.5.1 Celulose	30
2.5.2 Hemicelulose	30
2.5.3 Lignina	31
2.6 Caracterização da biomassa	32
CAPÍTULO 3 - MATERIAL E METODOS	34
3.1 Material	34
3.2 Métodos	35
3.2.1 Preparação das amostras	35
3.2.2 Análise granulométrica	35
3.2.3 Determinação de extrativos	35
3.2.4 Determinação de Carboidratos totais e lignina	37
3.2.5 Determinação de holocelulose	38
3.2.6 Determinação de hemicelulose e α -celulose	39
3.2.7 Determinação de sólidos totais	39

3.2.8	Determinação de umidade	40
3.2.9	Determinação da Atividade de Água (Aw)	40
3.2.10	Determinação de cinzas	40
3.2.11	Determinação de Proteína.....	41
3.2.12	Determinação de extrato etéreo	43
CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO		44
4.1	Distribuição granulométrica das biomassas.....	44
4.2	Caracterização química das biomassas	45
4.3	Composição de carboidratos na biomassa analisados por HPCL-RID.....	49
4.4	Composição de sólidos totais, umidade e atividade de água	52
4.5	Análise de extrato etéreo e proteínas	53
CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES		55
CAPÍTULO 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		57

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

O setor agroindustrial produz resíduos derivados de materiais lignocelulósicos, que podem ser aplicados a bioprocessos, gerando o bioetanol, essas biomassas são provenientes, como por exemplo, do bagaço de cana-de-açúcar, resíduos do arroz, de milho e de trigo. Sendo que os maiores produtores destes resíduos são da América do Sul, Ásia, Estados Unidos e Europa, respectivamente (VALE, 2013). Estes resíduos em maior parte das vezes são utilizados como ração animal, combustíveis domésticos ou até mesmo para a cogeração de energia, porém, grande parte destes ainda ficam inutilizados, o que se pode chamar de excedentes (SANTOS, 2012). Com a crescente preocupação com o meio ambiente, tem-se estudado um destino para esses resíduos gerados na prática agroindustrial, ao qual uma das alternativas encontradas é a produção do etanol de segunda geração, agregando valor a essas biomassas, sendo que estas podem ser da casca e farelo da palha do arroz, bagaço da cana-de-açúcar, casca, espiga e entre outras partes residuais do milho, e entre outras biomassas que poderão ser transformados em etanol (GOMBERT; MARIS, 2015).

O etanol representa em torno de 75% de todo biocombustível disponível, sua produção aumentou de aproximadamente 50 bilhões de litros em 2007 para aproximadamente 98 bilhões de litros em 2015, sendo os Estados Unidos e o Brasil os principais produtores, usando predominantemente substratos simples, como milho e cana-de-açúcar, respectivamente (RASTOGI; SHRIVASTAVA, 2017). O Brasil é um grande produtor de matérias-primas, principalmente no setor de açúcar e álcool, assim é gerado muitos resíduos em detrimento desta prática.

De acordo com a União dos produtores de bioenergia (UDOP), entre abril de 2016 até março de 2017 o Brasil produziu mais de 27 milhões de m³ de etanol, tanto anidro, quanto hidratado. A região Centro-Sul liderou com a produção de mais de 26 milhões de litros, em segundo ficou a região Norte com mais 1 milhão de litros produzidos e o Nordeste com 368 mil litros. Os estados que mais se destacaram na produção foram São Paulo, Goiás, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais, contribuindo com 13702767 m³, 4400950 m³, 2709300 m³ e 2657455 m³, de etanol produzidos, respectivamente (UDOP, 2017).

O etanol é produzido praticamente por matérias-primas ricas em açúcares simples (glicose e frutose), como cana-de-açúcar e milho. Há um grande esforço da comunidade científica para que se desenvolva novos processos que sejam economicamente viáveis para aproveitamento dos componentes residuais gerados dessas matérias-primas, chamados de biomassa. Neste caso são biomassa de práticas agrícolas (palha e bagaço de cana-de-açúcar, palha de trigo e arroz, e resíduos do milho) e resíduos florestais (pó e restos de madeira) (SANTOS *et al.*, 2012).

Um dos grandes desafios envolvidos no processo de produção de etanol de segunda geração está em torno da definição de qual melhor pré-tratamento utilizar em escala industrial, visto que este deve ser de baixo custo, e ao mesmo tempo tem-se o empecilho crítico que é a formação de compostos inibidores da fermentação alcoólica (DRABER; FARIA, 2013). Um estudo realizado pelo Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE) analisou o custo da produção do etanol de segunda geração que é de R\$ 1,50/litro, enquanto o etanol de primeira geração é de R\$ 1,15/litro. As expectativas se concentram que em até 2020 o valor do etanol de segunda geração se torne mais baixo que o de primeira geração, ao qual os valores fiquem entre R\$ 0,50 a 0,90/litro, sendo essa a uma grande dificuldade (UDOP, 2017).

A maioria dos resíduos gerados, durante a prática agroindustrial, são ricos em polímeros de carboidratos, que não são fermentescíveis (celulose e hemicelulose), assim é necessário um estudo mais aprofundado sobre as quantidades e a disponibilidade destas para a aplicação de uma hidrólise, e os tornando disponíveis como substrato para a fermentação produzindo assim o etanol de segunda geração (RAELE *et al.* 2014).

1.1 Objetivo

O objetivo geral do presente trabalho é a caracterização dos resíduos gerados no processamento da cana-de-açúcar, do beneficiamento do arroz e resíduos do milho, para posterior utilização como substrato na obtenção do complexo enzimático e substrato para o processo de etanol de segunda geração. Os objetivos específicos deste trabalho, são:

1. Realizar a revisão bibliográfica do tema proposto com o intuito de expandir os conhecimentos e poder comparar os resultados experimentais obtidos com a literatura.
2. Caracterizar a composição centesimal destes resíduos, de forma a avaliar a concentração de água, gordura, proteína, cinzas e carboidratos.
3. Caracterizar o teor de açúcares redutores, açúcares totais, hemicelulose, celulose e lignina de cada resíduo.

Capítulo 1 - Introdução

4. Avaliar possíveis aplicações destes resíduos para a produção do complexo enzimático, visando principalmente a produção de celulasas, e como substrato para a fermentação alcoólica de etanol de segunda geração.

CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Etanol

Nas últimas décadas, o uso de combustíveis fósseis para a produção de energia tornou-se uma grande causa de preocupação para a humanidade. Os principais impactos do uso em automóveis é o aumento da poluição em centros e concentrações crescentes de gases de efeito estufa. Através de interesses ambientais, econômicos, políticos e sociais, muitos países já estão implementando políticas públicas para incentivar a substituição do petróleo por biocombustíveis em matrizes de energia (DEMCZUK; PADULA, 2016).

Os conceitos desenvolvimento e sustentabilidade estão passando por um processo de aprimoramento e discussões. O debate tem por objetivo provocar reflexão que privilegie a construção de novas visões, principalmente quando se refere à questão energética global. A literatura científica especializada tem enfatizado a discussões sobre a produção agroenergética como forma de redução das emissões de gases de efeito estufa. A discussão sobre a produção dos biocombustíveis está voltada para argumentos que abrangem a inclusão social, segurança alimentar, e também questões ambientais. No intuito de amenizar as emissões de gases de efeito estufa pelo uso dos combustíveis renováveis o que torna atributo favorável à utilização dos biocombustíveis em escala mundial. A preocupação está relacionada com a forma que será atendida as demandas interna e externa de biocombustíveis, e seus respectivos impactos ambientais no território nacional (FILHO; JULIANI, 2013). Tal fato requer atenção especial de representantes do governo brasileiro, do setor privado e da população em geral.

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, demonstrando grande importância para o agronegócio brasileiro. A área plantada na safra de 2015/16 correspondeu a 8,7 milhões de hectares. A demanda mundial por etanol oriundo de fontes renováveis teve um aumento considerável, aliado às grandes áreas cultiváveis e condições edafoclimáticas favoráveis à cana-de-açúcar, tornam o Brasil um país promissor para a exportação dessa *commoditie* (CONAB, 2017).

As matérias-primas utilizadas para a produção de etanol devem ser ricas em açúcares simples ou complexos, quase que exclusivamente o amido ou sacarose. Estes açúcares liberados, por exemplo, do amido de milho por enzimas hidrolíticas industriais

ou sacarose derivada de cana-de-açúcar (por invertase) pode ser diretamente fermentada para etanol utilizando leveduras (GOMBERT; MARIS, 2015). Para a realização da fermentação utiliza-se microrganismos capazes de realizar essa biosíntese, ao qual através do seu metabolismo em meio líquido em escala macroscópica tornará possível a conversão do açúcar em etanol, ou também chamado de etanol de primeira geração (RAELE *et al.* 2014).

2.2 Panorama atual do etanol no Brasil

As iniciativas de produção e comercialização de combustíveis alternativos no Brasil, iniciaram na década de 1970, por meio do Programa Nacional do Alcool (PROÁLCOOL), com o objetivo de reduzir a dependência de combustíveis fósseis em veículos automotores através do uso de etanol. O etanol é um combustível renovável, chegando a ser o biocombustível mais consumido no Brasil e considerado uma alternativa à gasolina. Muitos estudos apontam para uma redução significativa na liberação de poluentes para a atmosfera através do uso deles. Além de reduzir as emissões de poluentes ambientalmente relevantes, é um combustível mais limpo e ecológico em comparação com a gasolina (SCHIMER; RIBEIRO, 2017).

O Brasil foi um dos precursores no uso de biocombustíveis em nível mundial e segue em busca de alternativas ao uso do petróleo. No âmbito do PROÁLCOOL, houve a introdução do etanol no mercado de biocombustíveis em que, ainda na década de 1970, o teor de álcool etílico anidro combustível na gasolina representava 15%. O incentivo na inserção do etanol no mercado de combustíveis seguiu em constante crescimento. Nas décadas de 1980 e 1990, os teores deste álcool na gasolina correspondiam a 20% a 25% (SCHIMER; RIBEIRO, 2017). Com a crescente preocupação internacional relacionada a questão ambiental manifesta-se na expansão das políticas nacionais voltadas ao incentivo à produção e ao consumo de biocombustíveis. Nesse contexto, o Brasil apresenta papel de destaque no setor sucroalcooleiro.

Nos anos 2000, o setor passou por um expressivo ciclo de desenvolvimento tanto tecnológico quanto produtivo, fomentado pelo crescimento da demanda mundial por alternativas aos combustíveis fósseis. No Brasil, com o advento da tecnologia flex fuel, por exemplo, a partir de 2003, a elevação do percentual de mistura de etanol na gasolina, teve um aumento significativo do etanol na matriz de combustíveis nacional, ao qual proporcionou incentivos a investimentos em capacidade produtiva de usinas (ANP, 2016).

Após um longo período de quarenta anos da produção em larga escala de etanol no Brasil a palavra “crise” principalmente na agroindústria canavieira, tem sido muito usual mais que a menção a sua trajetória, desafios, perspectiva e importância (SANTOS *et al.*, 2016). Entretanto, em 2009 a crise chegou para o setor, assim a oferta de etanol interna teve uma súbita redução. Isso se deu pelos fatores relacionado a elevação do preço do açúcar internacionalmente e também em relação a política de manutenção dos preços internos da gasolina, assim foi gerado um teto artificial ao preço do etanol no intuito deste se tornar competitivo. Reduziu-se então os investimentos em renovação de canaviais, em expansão de capacidade e em produtividade. Houve uma mecanização acelerada para realizar melhorias, onde o setor estava despreparado para receber esta mudança de processos, gerando perdas de produtividade (ANP, 2016).

Em média, o mercado de combustíveis teve um decréscimo de 1,9% em termos de volume. Este dado deve ser comparado com outros dois, sendo eles a retração econômica brasileira, a qual está representada pela queda de 3,8 % no Produto Interno Bruto (PIB), e em 2014 o crescimento do mercado de combustíveis de 5,3%. Estes três dados mostram a desaceleração do mercado no âmbito de combustíveis em 2015 (ANP, 2016). Segundo a União dos produtores de bioenergia (UDOP), na safra 2016/2017 os estados de São Paulo, Goiás, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais tiveram destaque, como pode-se observar na Tabela 2.1 Produção brasileira de etanol. E na Figura 2.1, porém não foi um dos melhores anos para o setor de produção de etanol (UDOP, 2017). Em 2015, a produção nacional de etanol totalizou 29,9 milhões m³. Ainda no ano de 2015, o Brasil importou 512,9 mil m³ e exportou 1,9 milhões m³ de etanol com elevação de 33,6% nas exportações desse biocombustível, comparado ao ano de 2014. Os principais destinos do etanol brasileiro foram: América do Norte, em especial aos Estados Unidos (925,9 mil m³); Américas Central e do Sul (18,9 mil m³); e região Ásia-Pacífico (728 mil m³) (SCHIMER; RIBEIRO, 2017).

De fato, é importante ressaltar que no ano de 2015, em relação ao contexto econômico brasileiro e ao preço da gasolina em patamares altíssimos, o etanol hidratado pôde-se destacar mais, mostrando ser competitivo quando comparado a gasolina e pode apresentar um recorde histórico de comercialização de 17,9 milhões m³. Entre os anos de 2014 e 2015, o crescimento do etanol hidratado foi registrado em 37,5%. Essa nova fase foi muito importante para o mercado industrial canavieiro, pois este enfrentou em 2013 a sua pior crise no setor, onde as políticas públicas vigentes davam preferência a investir em combustíveis fósseis, mantendo os preços do etanol abaixo ao dos praticados no

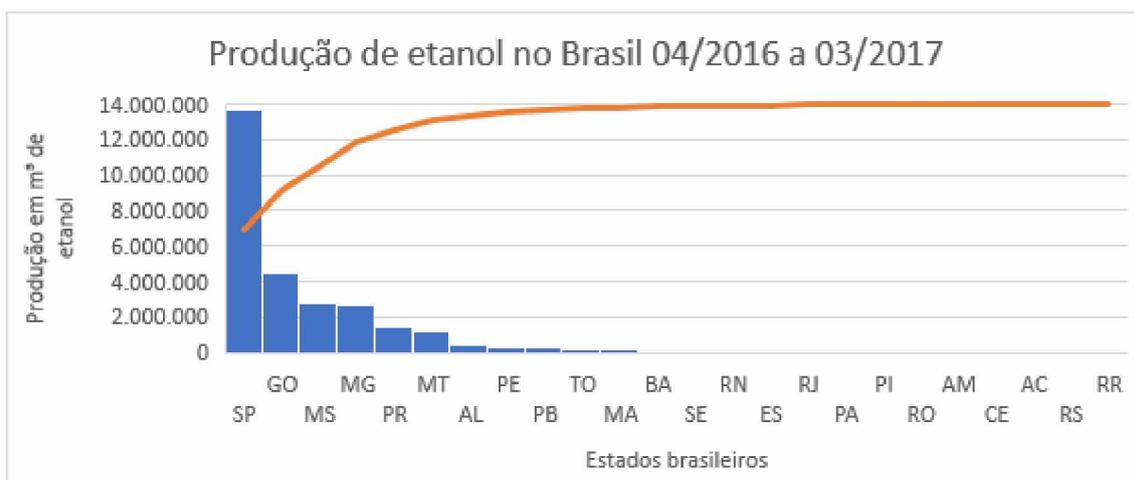
mercado internacional, e com estes dados pode-se reanimar (ANP, 2016), desde o ano de 2013 o Brasil vem tentando alavancar a produção de etanol. Entretanto atualmente as expectativas estão sendo baixas e isso está diretamente relacionado as variações climáticas enfrentadas nas principais regiões produtoras, como se pode observar os dados na Figura 2.2, coletados do site da União dos produtores de bioenergia (UDOP, 2017).

Tabela 2.1 Produção brasileira de etanol.

Região Centro-Sul		Região Nordeste/Norte	
UF	Produção (m³)	UF	Produção (m³)
ES	60.731	AC	3.674
GO	4.400.950	AM	5.496
MG	2.657.455	CE	5.242
MS	2.709.300	MA	127.361
MT	1.220.699	PA	33.210
PR	1.401.270	PI	21.605
RJ	48.315	RO	9.487
RS	2.914	RR	0
SP	13.702.767	TO	162.184
Total	26.204.401	AL	385.342
		BA	106.022
		PB	296.153
		PE	336.041
		RN	63.302
		SE	66.021
		Total	1621.14

Fonte: UDOP, 2017.

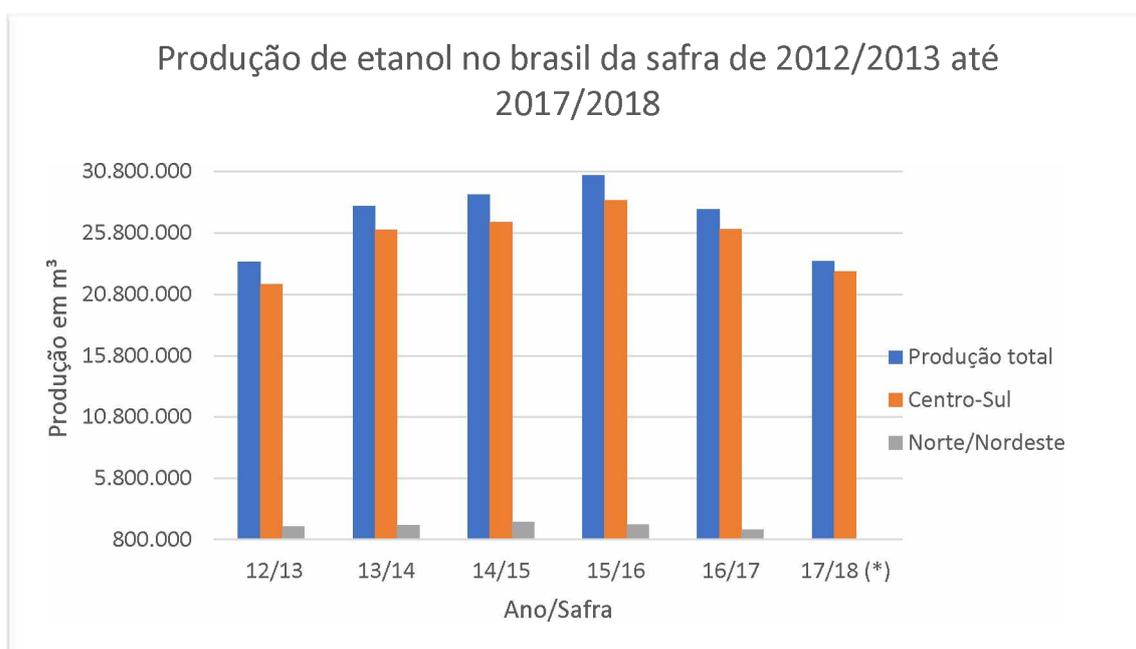
Figura 2.1 - Produção de etanol em cada estado brasileiro.



Fonte: UDOP, 2017.

Nos últimos anos, o Brasil tem deixado de ser um importador líquido de combustíveis fósseis para ser um exportador líquido de etanol. Dados de 2016, mostram que 64 países adotam o percentual mínimo obrigatório de mistura de biocombustível (etanol ou biodiesel) aos derivados de petróleo, assim se reduz o consumo de combustíveis de fonte não renovável (ANP, 2016). O Centro de tecnologia canavieira (CTC) tem apoiado o desenvolvimento de tecnologias visando a melhoria e competitividade do setor. Dentre os principais interesses do CTC está o setor voltado para o etanol de segunda geração, oriundo da celulose, como resultado de processamento de biomassas. A vantagem que o etanol de segunda geração proporciona é a possibilidade de desenvolver a produção de etanol sem a necessidade de aumentar a área plantada, mantendo a autossuficiência energética industrial. Além destas, existem também os ganhos que são relacionados à otimização dos custos de instalação e operação (SANTOS *et al.*, 2016).

Figura 2.2 - Produção de etanol no Brasil das safras de 2012 até 2018.



(*) Valores atualizados em 01/11/2017

Fonte: UDOP, 2017.

2.3 Etanol de segunda geração

O aumento da demanda por biocombustíveis e bioenergia motivou o uso de materiais lignocelulósicos como matéria-prima. Com a preocupação em relação à disponibilidade limitada de combustíveis fósseis, economia, segurança nacional e

aceleração do aquecimento global, o foco está sendo em alternativas para novas energias renováveis. Os combustíveis fósseis estão se esgotando continuamente levando a sua crise e as subidas de preços subsequentes, tornando estes uma grande preocupação, especialmente em países subdesenvolvidos. Por outro lado, as alternativas por combustíveis renováveis fornecem uma opção favorável ao meio ambiente.

Uma enorme quantidade de resíduos lignocelulósicos é liberada para o ambiente a cada dia através da silvicultura, práticas agrícolas, madeireiras e agroindústria que, em última instância, são queimadas em aberto levando a graves ameaças globais. Esses substratos são baratos, renováveis e de livre acesso para muitas indústrias incluindo a de biocombustível. Trigo, arroz e milho são as principais culturas alimentares no mundo que fornecem 50% de todas as calorias consumida pela população humana. O arroz é o segundo maior em termos de cultura mundial, em relação a área colhida, levando a produção de palha e casca de arroz que em muitas das vezes permanecem subutilizados (RASTOGI; SONI; KAUR, 2016).

As matérias-primas lignocelulósicas são abundantes e de baixo custo e, ao contrário de outros substratos à base de amido e açúcar, seu uso na produção de etanol não reduz o suprimento de alimento humano (BAHMANI; SHAFIEL; KARIMI, 2016). Apesar do abundante suprimento de resíduos agrícolas para a produção de combustível, ainda existem desafios para suas conversões comerciais, devido à sua recalcitrância a degradação, e composição química única. Com a estrutura altamente cristalina de celulose e composição heterogênea de hemiceluloses na biomassa, ela requer um pré-tratamento químico ou físico além de processos de tratamento enzimático, o que aumenta o custo de todo o processo e, portanto, se revelam um grande obstáculo para a produção em grande escala (RASTOGI; SHRIVASTAVA, 2017).

O etanol de segunda geração, por sua vez, resulta da degradação de açúcares complexos (polissacarídeos) em açúcares simples para uma posterior fermentação e destilação. A celulose que está contida na biomassa ao qual se deseja fermentar é composta de milhares de moléculas de glicose. Devido ao seu tamanho e estrutura, as moléculas de glicose que compõe a polpa da celulose não são diretamente fermentescíveis por microrganismos, o que se torna um empecilho na produção direta do etanol de primeira geração. Novas alternativas são pesquisadas para que haja a hidrólise desses polissacarídeos em glicose por meio de ação enzimática, em processos bioquímicos para a obtenção de moléculas disponíveis para fermentação, resultando assim em etanol de segunda geração. Vale ressaltar que o etanol de segunda geração é quimicamente idêntico

ao etanol de primeira geração, mudando apenas o processo, ou seja, o caminho tecnológico para sua produção (RAELE *et al.* 2014).

A conversão da biomassa em açúcares fermentescíveis necessários para a produção de etanol celulósico ocorre em quatro etapas. Inicia-se no pré-tratamento, ao qual rompe a estrutura cristalina da celulose. Em seguida ocorre a hidrólise enzimática dos polissacarídeos em açúcares fermentescíveis, para então realizar a fermentação, convertendo os açúcares em etanol, e após é realizada a destilação, que tem por objetivo separar os componentes de uma mistura, de acordo com sua volatilidade relativa (FERREIRA, 2015).

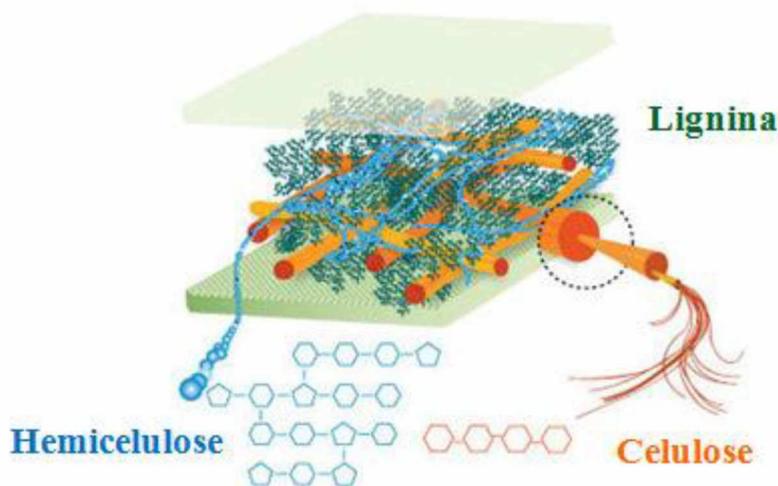
Em escala global, o uso dos biocombustíveis pode representar contribuição gerada pelos esforços internacionais para diminuir as emissões de gases de efeito estufa, onde este representa alternativa renovável em relação a utilização de combustíveis fósseis. Contudo, esta prática não se limita somente em reduzir emissão dos gases de efeito estufa, aos avanços tecnológicos ou o enquadramento legal da atividade de produção de biocombustíveis, pois a sustentabilidade requer uma maior responsabilidade, austeridade e equidade nos padrões de produção, consumo e uso de energia (FILHO; JULIANI, 2013). O que essa geração representa é uma alternativa energética para o uso das biomassas, que evidencia vantagens ambientais e econômicas pelo fato de ser o etanol produzido a partir de matérias lignocelulósicas presentes em resíduos gerados da prática agroindustrial, sendo estes de origem vegetal (FERREIRA, 2015).

2.4 Resíduos agroindustriais

Com resultados de pesquisas e incentivos, pode-se esperar que grande parte do crescimento do bioetanol venha do processo de segunda geração, o qual inclui o uso de plantas ricas em material lignocelulósico (SCORDIA, *et al.*, 2012). A biomassa lignocelulósica pode ser um subproduto da agricultura ou de indústrias deste segmento, como talos de algodão, bagaço, trigo e arroz, palhas, resíduos de milho, cascas de arroz ou orgânicos, podendo incluir também resíduos florestais, como aparas de madeira, serradura e casca. A lignocelulose é principalmente constituída por celulose (40 – 60% do peso seco total), hemicelulose (20-40%) e lignina (Figura 2.3) (10-25%) (RASTOGI; SHRIVASTAVA, 2017). Atualmente, ligninas provenientes de processos de explosão de vapor e outros apresentam grande heterogeneidade em termos de pureza e estruturas químicas, portanto, o primeiro grande passo que envolve agregar valor à lignina não

convertida é a sua separação de componentes, tais como hemiceluloses e celulose (COTANA *et al.*, 2014).

Figura 2.3 - Complexo lignocelulósico: cadeias de celulose envolvidas por hemicelulose e lignina.



Fonte: FISHER, (2014).

2.4.1 Resíduos agroindustriais utilizados para a produção de celulases

Os resíduos agroindustriais são utilizados, também, como substratos para produção de enzimas. A hidrólise enzimática pode ser utilizada para a produção de açúcares de resíduos lignocelulósicos, pelas condições suaves de trabalho relacionadas ao pH, temperatura e ausência de subprodutos (CARRILO, et al., 2005). A hidrólise enzimática da celulose é realizada pelas enzimas celulases, que são proteínas catalisadoras altamente específicas. Celulases são uma mistura de várias enzimas que atuam sinergicamente, dentre as quais pelo menos três grandes grupos estão envolvidos no processo de hidrólise da cadeia de celulose: as endoglucanases que atacam as regiões de baixa cristalinidade da fibra, gerando cadeias livres, as exoglucanases, que removem unidades de celubiose a partir das extremidades livres da cadeia e as glicosidases, que hidrolisam a celubiose à glicose (MUSSATTO, et al., 2008).

Muitas espécies de fungos possuem a habilidade de degradar a celulose produzindo as celulases extracelulares (enzimas produzidas no interior da célula e lançada para o meio externo). Os principais gêneros produtores são *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium*. O fungo *Aspergillus niger* é o maior produtor de celulases e pode ser considerado, algumas vezes, superior aos outros fungos reconhecidamente bons

produtores dos complexos celulolíticos e hemicelulolíticos, como o *Trichoderma reesei*. (DASHTBAN, et al., 2009).

A seleção de microrganismos capazes de realizar a quebra dos polissacarídeos de resíduos de fonte agrícola ocorre de forma seletiva. Através de métodos tradicionais como o isolamento em meios enriquecidos, as linhagens são selecionadas de acordo com a medição de seu nível de atividade em testes de difusão enzimática diretamente em placas contendo o meio seletivo a base de celulose. Os fungos recebem uma atenção especial uma vez que seus esporos são fáceis de disseminar, quando comparado com as leveduras e bactérias (SILVA, et al., 1997).

O mais abundante na composição da hemicelulose são os xilanos e glicomananos. Os xilanos geralmente estão disponíveis em quantidades enormes como subprodutos das indústrias florestais, celulose e papel, agricultura, agroindústrias e culturas de bioenergia. Entre as leveduras fermentadoras de xilose, *Scheffersomyces (Pichia) stipitis* foi relatado como o mais promissor para aplicação industrial, porque fermenta a xilose produzindo etanol com altos rendimentos (SCORDIA, et al., 2012). O tratamento para realizar as hidrólises pode variar de simples hidrólise alcalina/ácida a fisicoquímica, pré-tratamentos como explosão a vapor, amônia, explosão de fibra, explosão de CO₂ e processos biológicos enzimáticos. O objetivo desses processos é alterar a estrutura e tornar a celulose na biomassa facilmente acessível as enzimas usadas para hidrólise. Isto é, seguido por sacarificação simultânea e fermentação (BADWAL, et al., 2015).

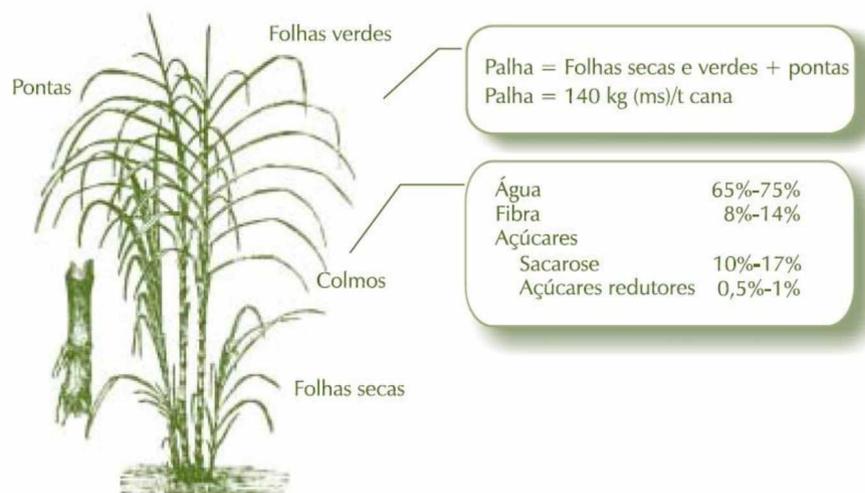
Embora a hidrólise por ácidos diluídos gere produtos ricos em açúcares fermentescíveis, compostos inibitórios também são produzidos, tais como ácido acético, furfural, hidroximetilfurfural e vários derivados da lignina. Tais compostos inibem o metabolismo microbiano. Dependendo da concentração destes compostos a bioconversão de açúcares nos produtos desejados se torna mais difícil. A fim de reduzir as concentrações de compostos inibitórios e melhorar a bioconversão de açúcares em produtos desejados, diferentes métodos como ajuste de pH, adsorção a carvão ativo, adsorção de resinas de permuta iônica e redução biológica são investigadas (SCORDIA, et al., 2012).

2.4.2 Resíduos da Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar, muito cultivada no Brasil, é uma planta semiperene da família das gramíneas. A sacarose se concentra nos colmos, que compõe a parte aérea da planta

enquanto a palha da cana está em suas pontas e folhas, como mostra a Figura 2.4 (XAVIER, 2007).

Figura 2.4 - Estrutura da cana-de-açúcar.



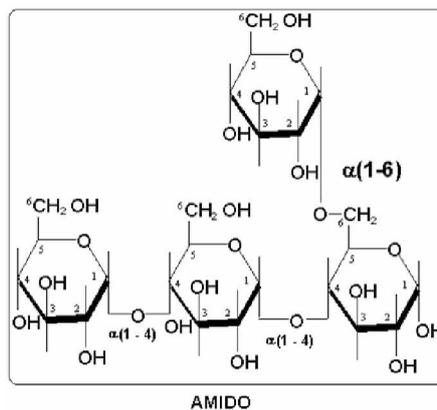
Fonte: XAVIER (2007).

O bagaço da cana-de-açúcar é obtido pela moagem, e suas características físico-químicas dependem do sistema de colheita (queima ou mecânica), do corte e da forma de carregamento. Condições climáticas anteriores e posteriores à colheita e diferentes estágios de desenvolvimento vegetativo podem interferir, também, na composição do bagaço de cana para fins energéticos (CARRILO *et al.*, 2005). Este resíduo apresenta grande potencial em sua composição para a geração de calor, eletricidade e também para a produção de etanol celulósico. A busca em aplicar alternativas viáveis para o bagaço, esta tende a ocupar um lugar de destaque, principalmente como matéria-prima na produção de etanol de segunda geração (SANTOS *et al.*, 2012).

2.4.3 Resíduos do Milho

O milho é da família das gramíneas. O cultivo desta planta ocupa cerca de 147 milhões de hectares em todo o mundo e é considerado um componente alimentício de grande importância. O processo fotossintético do milho tem como produto final o amido (ver Figura 2.5), que constitui sua reserva de carbono. É este amido que, após da hidrólise, produzirá a sacarose que será fermentada para a produção de etanol de primeira geração (XAVIER, 2007).

Figura 2.5 - Estrutura do amido.



Fonte: RASTOGI *et al.*, (2016).

As partes do milho que são subprodutos do grão, abundante na agricultura residual, também é considerada como uma escolha para produção de bioetanol, tanto para a fermentação como para a produção do complexo enzimático. Para gerenciar adequadamente essa biomassa e convertê-la em produtos valiosos, vários estudos estão sendo empregados para desenvolver tal produção. As diferentes características nas partes do milho podem ser esclarecidas devido ao tipo de tecido e grão, as composições deste são caule, folha, flor, casca e espiga (CAI *et al.*, 2016).

2.4.4 Resíduos do Arroz

Fora do continente asiático, o Brasil se destaca como maior produtor mundial de arroz, ao qual se encontra na 9ª posição. Esta gramínea é comercializada na maioria das vezes em sua forma beneficiada e polida, os grãos de arroz são processados gerando grãos limpos, casca, farelo e um pó de arroz. São produzidos em média mais de 10 milhões de toneladas de arroz no Brasil (CONAB, 2017) gerando em torno de 2 milhões de toneladas de casca, sendo a metade deste valor farelo. Estes resíduos são encontrados em abundância em todo o território brasileiro. Embora a maior parte do arroz seja produzida na Região Sul, este é comercializado com casca e beneficiado regionalmente. O que mostra que estes são excelentes nutrientes e suporte para que microrganismos possam se desenvolver e liberar enzimas. O farelo de arroz é uma boa fonte de nitrogênio e tem sido usado bastante em misturas com o bagaço de cana-de-açúcar para a produção de celulases (FISHER, 2014).

2.5 Composição da estrutura lignocelulósica

Em sua composição, a biomassa lignocelulósica é a maior fonte de carboidratos naturais do mundo. A dificuldade de converter essa biomassa em substratos de fácil acesso aos microrganismos é devido a suas características químicas e morfológicas. Essas fibras de celulose são envolvidas em matrizes amorfas de polioses e lignina, estas agem como se fossem uma barreira natural ao ataque microbiano e também das enzimas, fazendo que estes materiais se tornem estruturalmente rígidos de baixa reatividade. A composição química dessa biomassa lignocelulósica possui em média 35-50% de celulose, seguido de 20-35% de hemicelulose, 10-25% de lignina e uma pequena quantidade de cinzas e extrativos. A sua composição química varia de acordo com o tipo da biomassa, conforme mostra a Tabela 2.2 - Composição química de biomassas lignocelulósicas com potencial para produção de etanol de segunda geração(SANTOS *et al.*, 2012).

Tabela 2.2 - Composição química de biomassas lignocelulósicas com potencial para produção de etanol de segunda geração.

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	12
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
Forragem 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

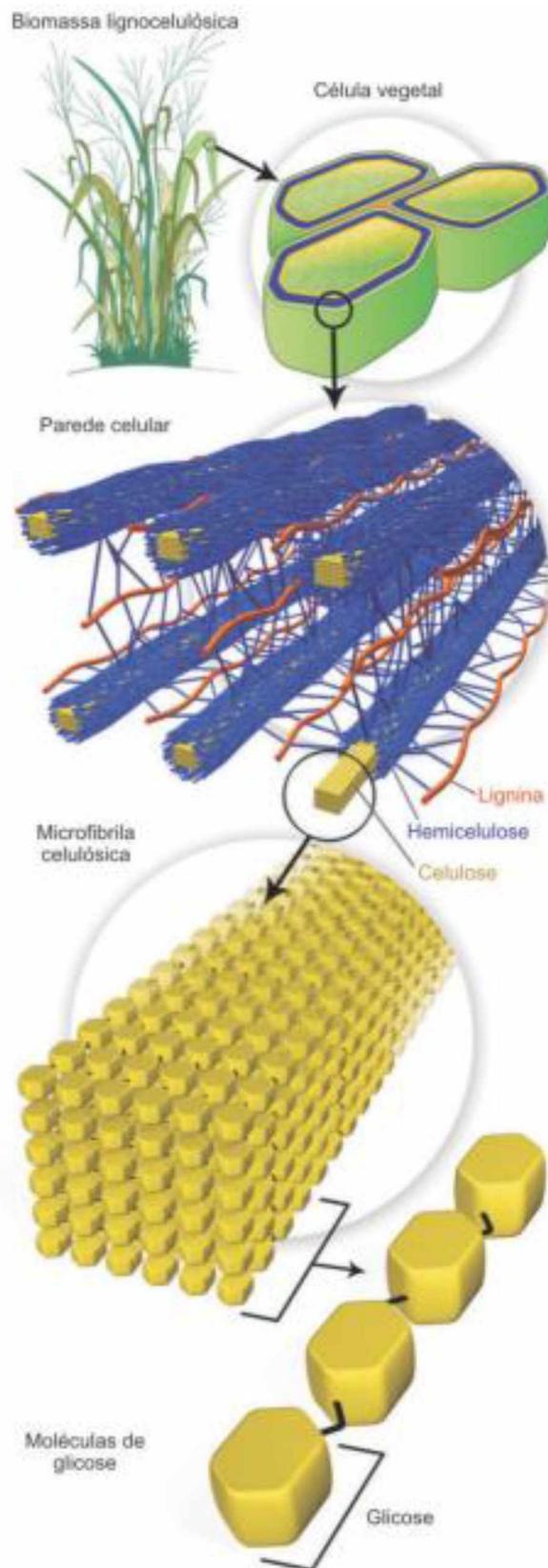
Fonte: SANTOS *et al.*, (2012)

Um dos principais desafios envolvidos na produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica é realizar a hidrólise da parede celular, liberando os polissacarídeos e os tornando fonte de açúcares fermentescíveis de forma eficiente e economicamente viável. Os carboidratos presentes na biomassa encontram-se na forma de polímeros (celulose e hemicelulose) recobertos por uma macromolécula (lignina), formando uma microfibrila

celulósica. Devido à sua interação intermolecular, isso faz com que se tenha uma completa ausência de água entre as estruturas, e como a celulose apresenta estrutura bastante recalcitrante, é difícil de ser desestruturada e convertida em açúcares simples, como se pode observar na Figura 2.6 (SANTOS *et al.*, 2012).

Para realizar a quebra destes polissacarídeos, é necessário realizar um pré-tratamento da biomassa, que se difere dos tipos químicos, utilizando microrganismos específicos para a realização desta etapa, sendo os responsáveis pelas modificações nas estruturas da parede celular, resultando em acessibilidade melhorada da enzima, além de obter rendimentos satisfatórios. No pré-tratamento ao qual são utilizados ácidos, a camada de hemicelulose é hidrolisada, e quando se utilizam bases, parte da lignina é removida e a hemicelulose necessita de ser hidrolisada pelo uso de hemicelulases. Uma tecnologia que vem sendo amplamente explorada é o uso da explosão a vapor, obtendo sucesso em diversos tipos de biomassa lignocelulósica (madeiras macias e duras, além de resíduos agrícolas). Esse processo pode ocorrer com ou sem a presença de catalisadores químicos (ácido sulfúrico, dióxido de enxofre, hidróxido de sódio e amônia) (FERREIRA, 2015).

Figura 2.6 - Estrutura da biomassa lignocelulósica.



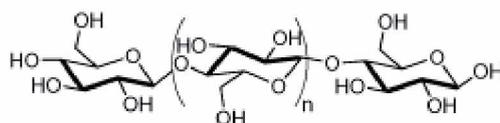
Fonte: SANTOS *et al.*, (2012).

2.5.1 Celulose

A celulose é o maior polímero natural do mundo, podendo ter sua estrutura organizacional classificada em três níveis. O primeiro é definido pela sequência de resíduos β -D-glicopiranosídicos unidos por ligações covalentes, formando o homopolímero de anidroglicose com ligações β -D (1 \rightarrow 4) glicosídicas (Figura 2.7), de fórmula geral $(C_6H_{10}O_5)_n$ (FERREIRA, 2015).

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 e pelas ligações de hidrogênio intramoleculares. O terceiro nível define a associação das moléculas formando agregados com uma determinada estrutura cristalina. Estes grupos conferem elevada resistência à tensão, tornando a celulose insolúvel em água e em um grande número de solventes (SANTOS *et al.*, 2012).

Figura 2.7 - Estrutura molecular da celulose.



Fonte: FERREIRA, (2015).

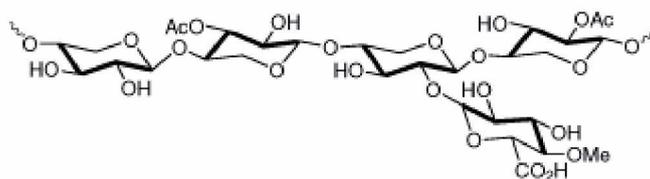
2.5.2 Hemicelulose

As hemiceluloses são heteropolissacarídeos complexos compostos por D- glicose, D-galactose, D-manose, D-xilose, L-arabinose, ácido D-glucurônico e ácido 4-O-metilglucurônico. Em relação as suas estruturas, estes são muito mais semelhantes à celulose do que a lignina. Sua estrutura apresenta ramificações que permitem uma interação fácil com a celulose (Figura 2.8), tornando-a estável e flexível. Comparadas com a celulose, as hemiceluloses apresentam maior susceptibilidade à hidrólise ácida, pois oferecem uma maior acessibilidade aos ácidos minerais comumente utilizados como catalisadores (SANTOS *et al.*, 2012).

Estes polímeros de açúcares são ligados entre si por ligações do tipo glicosídicas β (1 \rightarrow 4) formando uma estrutura principal composta por um tipo específico de resíduos, a partir da qual surgem ramificações laterais de cadeias curtas de outros açúcares. Eles são classificados de acordo com o açúcar predominante na cadeia principal e na ramificação lateral. Assim, têm-se os seguintes polissacarídeos: xilanas, galactomananas, arabinoxilanas, galactosanas, arabinoxilanas, etc. As hemiceluloses estão presentes em

todas as camadas da parede celular das plantas, mas concentram-se principalmente nas camadas primária e na secundária, onde estão intimamente associadas à celulose e lignina. A xilana é o principal polissacarídeo componente das hemiceluloses (da SILVA, *et al.*, 1997).

Figura 2.8 - Estrutura molecular da hemicelulose.



Fonte: FERREIRA, (2015).

2.5.3 Lignina

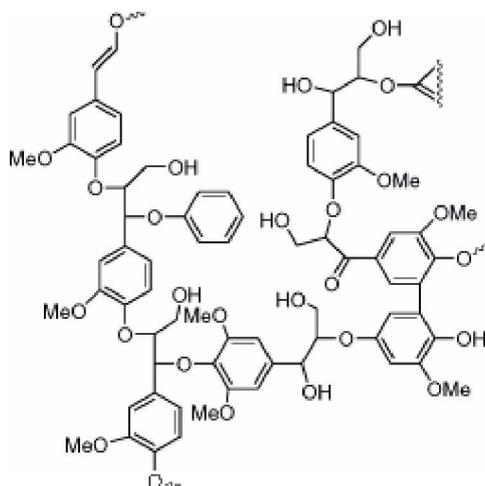
As ligninas são compostos fenólicos altamente insolúveis em água, formados pela ligação de três precursores principais, o álcool trans-*p*-coumaril, álcool-coniferil e álcool trans-sinapil. Existe entre elas uma extensa rede de ligações cruzadas dentro da parede celular, o que confere a eles elevada resistência (da SILVA, *et al.*, 1997).

Depois da celulose, esta é a macromolécula mais abundante dentre as biomassas, sendo um heteropolímero amorfo que consiste em três diferentes unidades de fenilpropanos: álcool *p*-cumarílico e álcool sinapílico. A estrutura da lignina é heterogênea, possuindo regiões amorfas e estruturas globulares. A composição e a organização de seus constituintes variam de uma espécie para outra, dependendo da matriz de celulose-hemicelulose (Figura 2.9). No processo de hidrólise enzimática dos materiais lignocelulósicos, a lignina funciona como barreira física para os microrganismos e enzimas, que podem ser irreversivelmente capturadas pela lignina e, conseqüentemente, influenciar na quantidade de enzima requerida para a hidrólise, assim como dificultar a recuperação da enzima após a hidrólise (SANTOS *et al.*, 2012).

A estrutura bioquímica da lignina não está diretamente relacionada a monossacarídeos, ou seja, acaba que não é desejada na produção do bioetanol por rotas fermentativas, porém a lignina desempenha uma função muito importante para a tecnologia de hidrólise. Apesar de ter grande possibilidade de produzir muitos produtos a partir da lignina, atualmente o foco das pesquisas tem se voltado para o uso deste material como fonte de energia para os processos, garantindo a autossuficiência e,

eventualmente, até a possibilidade de exportar alguma energia elétrica excedente (FERREIRA, 2015).

Figura 2.9 - Estrutura molecular da lignina.



Fonte: FERREIRA, (2015).

2.6 Caracterização da biomassa

Para que se tenha um desenvolvimento satisfatório e crescente do comércio da biomassa a caracterização se torna um passo chave para a escolha de qual tipo de biomassa utilizar para dar a esta valor agregado, seja valoração energética, ou dependendo do tipo de utilização que se pretende obter. Definido qual o intuito do uso da biomassa, é necessário determinar a escolha do processo de conversão e também as dificuldades de processamento subsequentes que possam surgir. A caracterização se baseia principalmente nas propriedades físicas (granulometria, massa específica, densidade e teor de umidade), na análise imediata (teor de umidade, voláteis, cinzas e carbono fixo), análise elementar, a qual analisa os elementos químicos presentes na biomassa, análise somativa (teor de lignina, celulose e hemicelulose) e poder calorífico (VIEIRA, 2012).

Para a realização da caracterização da biomassa é necessário realizar diversas análises experimentais que irão permitir saber as composições imediatas, elementar, de matéria orgânica e de matéria inorgânica. Visando obter uma maior eficiência na produção do biocombustível é necessário conhecer bem a biomassa que será utilizada, isso porque é na caracterização que pode fornecer informações importantes para que se

Capítulo 2 – Revisão Bibliográfica

possa determinar o melhor processo ou método a ser utilizado, assim, obter melhores rendimentos, minimizando custos e impactos ambientais (AZEVEDO, *et al.*, 2016)

CAPÍTULO 3 - MATERIAL E METODOS

3.1 Material

Para a realização deste trabalho, foram utilizados três biomassas, conforme Figura 3.1. Estes resíduos foram doados por três empresas distintas, sendo o farelo da casca do milho cedido pela Cargill/Uberlândia-MG pré-tratado fisicamente, o bagaço de cana-de-açúcar, explodido a vapor, doado pelo CTC/Piracicaba-SP (Centro de Tecnologia Canavieira), e o farelo da palha do arroz pela empresa Cocal/Uberlândia-MG pré-tratado fisicamente. Estes resíduos são provenientes de processamentos industriais.

Figura 3.1 - Resíduos do farelo da palha do arroz, bagaço de cana-de-açúcar e farelo da casca do milho, respectivamente.



Fonte: O autor.

O Trabalho de Conclusão de Curso foi desenvolvido nos Laboratórios de Engenharia de Alimentos e de Microbiologia da Universidade Federal de Uberlândia *campus* Patos de Minas, aos quais foram utilizados todos os reagentes de grau analítico. As análises foram realizadas em duplicatas e triplicatas, dependendo das disponibilidades dos reagentes.

3.2 Métodos

3.2.1 Preparação das amostras

Foram utilizadas três amostras, o farelo da palha do arroz, o farelo da casca do milho e o bagaço de cana-de-açúcar. As amostras encontravam-se em condições ideais para a realização dos experimentos, conforme a metodologia do NREL (National Renewable Energy Laboratory) recomenda.

3.2.2 Análise granulométrica

A granulometria foi analisada através de um vibrador de peneiras, feita em duplicata, ao qual foram utilizados diferentes diâmetros de peneira (Tyler), sendo eles entre 10 (1,68 mm) a 35 mesh (420 μm). Foram colocadas amostras com aproximadamente 50 gramas, e após submetido em um tempo entre 10 a 20 minutos de vibrações constantes. Em seguida foram retiradas as amostras das peneiras e realizado as leituras dos pesos do material retido, possibilitando avaliar a distribuição granulométrica de cada amostra analisada (GOMIDE, 1997). O vibrador de peneiras utilizado neste experimento está apresentado na Figura 3.2.

Figura 3.2 - Vibrador de peneiras para determinação de granulometria das amostras.



Fonte: O autor.

3.2.3 Determinação de extrativos

Para analisar o teor de extrativos presente nas amostras utilizou-se a metodologia descrita por SLUITER *et al.*, 2008c, feito em triplicata. Foi adicionado aproximadamente

4 gramas das amostras em cada cartucho, foram utilizados dois cartuchos por extrator, devidamente costurados para que se evitasse o vazamento indesejado de massa, e colocado no interior do dedal para fazer a extração. Em sequência foi montado todos os aparelhos para realizar a extração por Soxhlet. A aparelhagem utilizada nesse experimento está apresentado na Figura 3.3.

Figura 3.3 - Aparelho de Soxhlet para a extração de gordura.



Fonte: O autor.

Inicialmente realizou a lavagem (extração) da amostra com água, assim adicionou-se 190 ± 5 mL de água ao balão de fundo redondo, em sequência colocou-se o balão conectado a manta de aquecimento programando a mesma para fornecer no mínimo 4 a 5 ciclos de lavagem da amostra pelo solvente por hora com duração de 6 horas.

Após a extração com a água, foi realizado a extração com o etanol. Adicionou-se 190 ± 5 mL de álcool etílico ao mesmo balão de fundo redondo e conectando ao aparelho de Soxhlet montado. Usando a mesma amostra que estava no dedal durante a extração por água. Foi ajustado a manta de aquecimento para fornecer no mínimo 6 a 10 ciclos por hora de lavagem da amostra pelo solvente. Este refluxo durou aproximadamente 16 horas, em seguida os cartuchos foram levados para a estufa a 40 ± 5 °C por um tempo de 24 horas, para que se elimine todo o solvente residual e se torne possível o cálculo de extrativos. Para a análise de açúcares foi retirado o balão antes de colocá-lo na estufa, e deixado em repouso até que se atingisse a temperatura ambiente. Após toda a extração, removeu-se uma alíquota de 10 mL da solução extraída do balão para realizar a análise de açúcares pelo método HPLC-RID, e esse valor retirado foi compensado nos cálculos.

3.2.4 Determinação de Carboidratos totais e lignina

Para realizar a análise de carboidratos estruturais (celulose e hemicelulose) e lignina, utilizou-se a metodologia proposta por Sluiter *et al.*, 2012, feito em triplicata, seguindo os seguintes passos.

Para a realização desta etapa as amostras devem estar livres de extrativos, ou seja, foi necessário realizar a extração (com água e etanol) antes, assim foram pesados aproximadamente 0,250 gramas, em tubos de ensaio, e em sequência adicionou-se 3 mL de ácido sulfúrico 72%. Após foram colocados os tubos em banho-maria à 30°C por 1 hora, realizando o procedimento de agitação (a cada 10 minutos) sem retirar os tubos do banho para assegurar o contato com as partículas e hidrólise uniforme. Após este período, adicionou-se 80 mL de água destilada no intuito de diluir o ácido da concentração de 72% para 4%, logo após as amostras foram transferidas dos tubos para Erlenmeyeres e autoclavadas a 121°C por um período de 1 hora. Utilizando uma bomba a vácuo, foram filtradas as amostras em cadinhos, e após a filtração utilizou 50 mL de água destilada com o objetivo de realizar a remoção de todo material residual que possa ter ficado retido.

Os cadinhos com o material retido foram utilizados para a determinação de lignina insolúvel em ácido, assim foram levados para a estufa a 105°C por aproximadamente 16 horas e após foram pesados em balança analítica (W1). Em seguida, foram calcinados em mufla a 550°C por 6 horas e pesados novamente em balança analítica (W2). Estas amostras calcinadas foram determinadas como lignina insolúvel em ácido (lignina de Klason). Para a determinação de lignina solúvel, retirou-se 1 mL dos filtrados e foram diluídos em balões volumétricos de 100 mL realizando a leitura em espectrofotômetro pela medida da absorbância da amostra em 240 nm, e calculado sua porcentagem de acordo com a Equação 1.

$$\% \text{Lignina solúvel} = \frac{UV_{abs} \times \text{Volume}_{filtrado} \times \text{Diluição}}{\epsilon \times M \times \text{Comprimento do caminho}} \quad (\text{Equação 1})$$

$$\text{Diluição} = \frac{\text{Volume}_{amostra} + \text{Volume}_{solvente diluente}}{\text{Volume}_{amostra}} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

UV_{abs} = Absorbância média UV-Vis para a amostra com um comprimento de onda apropriado.

$V_{\text{volume líquido hidrolisado}} = \text{Volume do filtrado}$.

ε = Absortividade da biomassa em um comprimento de onda específico.

M = Peso da amostra em mg.

Com o restante da amostra hidrolisada e filtrada, esta foi neutralizada com carbonato de cálcio, adicionando lentamente até que se chegasse a um pH entre 5,5 e 6,0. Após decantar a amostra, esta foi filtrada novamente a vácuo utilizando filtro de papel, sendo o filtrado transferido para um balão volumétrico de 200 mL. Para o teor de carboidratos estruturais, 10 μL da fração líquida filtrada foi injetada em HPLC-RID e as concentrações de glicose, xilose, arabinose, lactose e sacarose foram determinadas, de acordo com a Equação 3.

$$\% \text{Açúcares} = \frac{C_{\text{HPLC}} \times \text{FC} \times \text{Volume}_{\text{filtrado}}}{M} \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

C_{HPLC} = Concentração de açúcar determinada por HPLC, mg/mL.

$\text{Volume}_{\text{filtrado}}$ = Volume do filtrado.

FC = Fator de correção de 0,88 para açúcares C-5 (xylose e arabinose) e correção de 0,90 para açúcares C-6 (glicose, galactose e manose).

M = Massa utilizada livre de extrativos.

3.2.5 Determinação de holocelulose

A determinação de holocelulose seguiu a metodologia descrita por Manochio *et al.*, 2010, feito em duplicata, com pequenas modificações.

Inicialmente pegou-se um Erlenmeyer de 1 litro e adicionou-se 4 gramas da amostra livre de extrativos, 110 mL de água destilada, 3 mL de ácido acético glacial, 22 mL de solução de acetato de sódio a 20%, e 9 mL da solução de clorito de sódio a 40%. Em sequência foi colocado o Erlenmeyer em chapas de aquecimento com agitação constante, a 75°C por um tempo de 60 minutos, assim, passado este tempo foi adicionado novamente os reagentes (ácido acético e as soluções de clorito de sódio e acetato de sódio) até que se obtivesse uma solução branca, concluindo-se esta etapa. O produto foi filtrado em cadinhos de vidro com porosidade média e lavado os erlenmeyers com 500 mL de água destilada. Após concluído a filtração foi adicionado 10 mL de acetona no cadinho

com a holocelulose e ainda conectado a bomba a vácuo que filtrou até que o produto ficasse totalmente seco, em seguida foram levados para estufa a 105°C por um tempo aproximado de 18 horas. Após atingido esse tempo, o mesmo foi colocado em dessecador por 30 minutos e posteriormente calculado o rendimento obtido (massa final dividido pela massa inicial).

3.2.6 Determinação de hemicelulose e α -celulose

A determinação de hemicelulose e α -celulose seguiu a metodologia descrita por Manochio et al., 2010, feito em duplicata, com pequenas modificações. Cerca de aproximadamente 1 grama de holocelulose e 15 mL de solução de hidróxido de potássio a 17,5% foram adicionadas ao almofariz e deixados por um período de espera de contato entre a solução e a celulose por 2 minutos. Após esse tempo, triturou-se a amostra por 8 minutos, e adicionou 40 mL de água destilada, e posteriormente foi filtrado com cadinhos de vidro com porosidade média a vácuo e enxaguou-se o filtrado até obter o seu pH próximo ao da água. Para essa operação foi utilizado fitas de medição de pH para ter o controle do mesmo, após atingido o pH, os cadinhos filtrantes foram levados a estufa a temperatura média de 105°C a um tempo próximo de 18 horas, atingido este tempo, o produto foi deixado em um dessecador por 30 minutos e depois calculado o rendimento de celulose presente (massa final dividido pela massa inicial).

3.2.7 Determinação de sólidos totais

Seguindo a metodologia proposta por SLUITER *et al.*, 2008a, realizado em triplicata, foram separados pratos de alumínio e colocados em estufa a 105±3°C por um período de 4 horas para realizar uma pré-secagem, sem a presença das amostras. Após este tempo, os pratos secos foram colocados em um dessecador para que o mesmo esfriasse, em seguida foi pesado os pratos de alumínio e colocado a quantidade desejada da amostra. A amostra foi rapidamente espalhada por todo o prato e avaliado no analisador automático de umidade até que o instrumento se estabilize (permanecer com um peso constante). Pesou-se entre 0,5 gramas da amostra, logo em seguida foi programado o analisador automático de umidade para uma temperatura de análise a 105°C, e um ponto final de menos de 0,05% de alteração de sólidos em 1 minuto. A Figura 3.4 apresenta o analisador automático de umidade no infravermelho.

Figura 3.4 - Analisador automático de umidade no infravermelho.



Fonte: O autor.

3.2.8 Determinação de umidade

A metodologia usada foi descrita por SLUITER *et al.*, 2008, realizado em triplicata. Com a determinação dos sólidos totais, item 3.2.7, pode-se encontrar o percentual de umidade pela diferença do total da amostra pelos sólidos totais.

3.2.9 Determinação da Atividade de Água (A_w)

Para a determinação da atividade água (A_w) em cada amostra, realizado em triplicata, foi utilizado o aparelho medidor de atividade de água (AQUALAB). Neste aparelho adiciona-se cerca de 0,5 g de amostra em pequenas placas de plásticos, próprias do aparelho, e em sequência foram colocadas em gavetas do aparelho para que fossem realizadas as medidas. A temperatura utilizada para a medição da atividade de água foi em torno de 28,7°C.

3.2.10 Determinação de cinzas

A determinação de cinzas foi realizada conforme proposto por SLUITER *et al.*, 2008b, feito em triplicata. Em forno mufla foram colocados cadinhos a uma temperatura de $575 \pm 25^\circ\text{C}$ por um período mínimo de 4 horas. Após foram removidos os cadinhos, os mesmos foram colocados no dessecador por um tempo recomendável de 1 hora, e retornado para a mufla até que o peso se tornasse constante. Pesou-se aproximadamente 2 gramas para cada amostra, e antes de colocar as amostras na mufla foi feito o uso de um queimador de cinzas e um triângulo de argila com suporte, colocando os cadinhos sobre a chama até aparecer fumaça, assim é permitido que a amostra queime até não aparecer

mais fumaça ou chama. Após essa operação o cadinho foi esfriado, e em sequência foram colocados os cadinhos com amostras na mufla por 18 horas. Após atingido esse tempo os cadinhos foram removidos cuidadosamente para um dessecador e deixado resfriar, e anotado o peso, e novamente a amostra foi colocada no forno mufla a $575\pm 25^{\circ}\text{C}$ por um tempo aproximado de 1 hora de reaquecimento, e deixado até que a amostra apresentasse peso constante. A mufla utilizada nesse experimento está apresentada na Figura 3.5.

Figura 3.5 - Equipamento mufla para a determinação de cinzas nas biomassas.



Fonte: O autor.

3.2.11 Determinação de Proteína

Para a análise do conteúdo de proteínas Hames *et al.*, 2008 recomenda o uso do procedimento descrito por Kjeldahl, foram feitas as análises em duplicata. O procedimento consiste em três etapas, sendo elas, digestão, destilação e titulação que serão descritas a seguir:

Digestão: Para realizar esta etapa foi necessário pesar em uma balança analítica aproximadamente 0,1 grama de amostra homogeneizada e transferir para um tubo de Kjeldahl e adicionar 1 grama da mistura catalítica e 5 mL de ácido sulfúrico. Os tubos contendo as amostras foram colocados para aquecer em um bloco digestor, a princípio em temperatura ambiente por um tempo de 20 minutos. Em seguida foi aumentada a temperatura para 50°C , e após foi deixado os tubos nessa temperatura por 20 minutos. Este aumento aconteceu de 50 em 50°C por 20 minutos a cada temperatura acrescida até que se chegasse em $350\text{-}400^{\circ}\text{C}$. Quando a temperatura foi atingida as amostras permaneceram em torno de 8 horas nessa temperatura, até que se observasse um líquido

límpido e transparente, de tonalidade azul-esverdeada. Após atingido o aquecimento foi cessado e deixado os mesmos resfriar por uma noite. O destilador de compostos nitrogenados utilizados nos experimentos está apresentado na Figura 3.6.

Figura 3.6 - Destilador de compostos nitrogenados propostos Kjeldahl.



Fonte: O autor

Destilação: Com os tubos frios, foi adicionado aproximadamente 30 mL de água e homogeneizado antes de adicioná-lo ao destilador. Acoplou-se ao destilador um Erlenmeyer contendo 25 mL de solução de ácido bórico 4%. Preparou-se uma solução de hidróxido de sódio 50%, e esta foi adicionada ao destilador, pois após o tubo acoplado e aquecido, o NaOH seria adicionado até obter-se uma cor escura da solução (aproximadamente 20 mL), caso não se atingisse a cor escura, adicionaria a solução somente até a metade do tubo. Procedendo a destilação está só foi cessada após atingir aproximadamente 100 mL do destilado no erlenmeyer.

Titulação: Foi titulado com solução padrão de ácido clorídrico 0,01 mol/L até que as soluções contidas nos erlenmeyer atingisse a mesma coloração do branco. Na Equação 4 é calculado os compostos nitrogenados e na Equação 5 é calculado a porcentagem de proteínas presentes.

$$(\%) \text{ Compostos Nitrogenados} = \frac{F \times 0,0014 \times 100 \times V \times N}{m} \quad (\text{Equação 4})$$

$$(\%) \text{ Proteína} = (\%) \text{ Compostos nitrogenados} \times NF \quad (\text{Equação 5})$$

Onde:

F = Fator de correção da solução de HCl 0,01 N

V = Volume da solução de HCl 0,01 N gastos na titulação

N = Normalidade do ácido (HCl)

NF = Fator de conversão de nitrogênio em proteína

m = Massa em gramas de amostra utilizada

3.2.12 Determinação de extrato etéreo

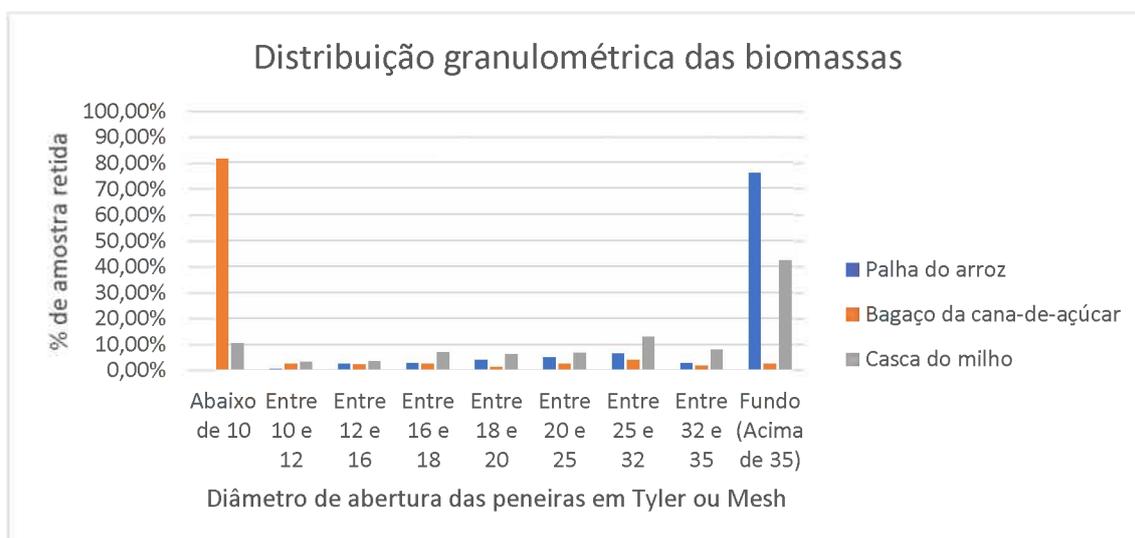
O extrato etéreo foi determinado por Soxhlet, utilizando como solvente o éter de petróleo, para determinação de gorduras. A metodologia usada foi proposta pela AOAC (1995), feito em triplicata, com modificações. Papeis filtros foram usados e costurados com linha para costura, realizando o fechamento destes, denominados de cartuchos. Foi pesado em média 2,5 gramas para cada amostra, e após costurados os cartuchos, estes foram colocados no dedal do tubo de Soxhlet e submetido a lavagem da amostra por aproximadamente 6 ± 1 horas, a uma temperatura de 60°C , para que fosse totalmente extraída as gorduras presentes na amostra. Ao fim de todo o procedimento, foram deixados apenas os balões de fundo redondo na manta aquecedora, e deixado evaporar todo o solvente por tempo indeterminado. Após este procedimento, foi levado os balões para a estufa a uma temperatura de 80°C , por 8 horas, no intuito de retirada de todo o solvente residual nos balões e deixar apenas a gordura presente nas amostras. Após todo o processo, estes balões foram pesados em uma balança analítica, e em sequência foi calculado o rendimento (massa final dividido pela massa inicial).

CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Distribuição granulométrica das biomassas

Das amostras utilizadas neste estudo, pode-se observar que para o farelo da palha do arroz e o bagaço de cana-de-açúcar houve uma melhor uniformidade, ao qual maior parte do farelo da palha do arroz se concentrou no fundo o que implica que a maioria das amostras tem diâmetro inferior a 420 μm e já para o bagaço de cana-de-açúcar a maioria deste ficou retida no MESH 10, mostrando que o diâmetro das amostras destes são superiores a 1,68 mm. Para o farelo da casca do milho, pode-se notar que as partículas analisadas não estavam uniformes, onde resultou em mais de dois diâmetros ao qual se teve porcentagem considerável de amostra retida, como mostra a Figura 4.1.

Figura 4.1 - Distribuição granulométrica da Farelo da palha do arroz, Bagaço de cana-de-açúcar e Farelo da casca do milho, respectivamente.



A granulometria interfere diretamente na área de contato entre os reagentes químicos utilizados e a biomassa, principalmente quando se utiliza métodos laboratoriais para a quantificação de componentes, quando comprado o método por infravermelho próximo. Uma parte crítica nessa análise é quando as partículas se encontram desuniformes, o que acarreta uma dificuldade de se obter resultados mais próximos,

elevando o desvio padrão dos resultados. Esta irregularidade pode atrapalhar a reprodutibilidade dos experimentos.

4.2 Caracterização química das biomassas

Os extrativos são uma pequena parcela das biomassas lignocelulósicas. Eles têm potencial forte de inibir atividades fermentativas dos microrganismos, demonstrando assim a grande importância de sua extração do processo no intuito de se obter um melhor rendimento na fermentação ao qual dará origem ao bioetanol (da COSTA, 2016). Para as biomassas em estudo, obteve-se os valores médios de extrativos para o farelo da palha do arroz, bagaço da cana-de-açúcar e farelo da casca do milho de 15,82%, 18,7% e 12,82%, respectivamente, como se pode observar na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Caracterização química das biomassas em estudo para a produção de etanol de segunda geração.

	Extrativos (%)	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Cinzas (%)
Farelo da palha do arroz	15,82±2,73	38,33±0,96	19,73±0,96	8,01±0,83	7,99±0,17
Bagaço da cana-de-açúcar	18,7±1,83	27,09±2,99	5,61±2,99	15,3±1,34	2,7±0,06
Farelo da casca do milho	12,82±0,06	55,75±2,4	12,93±2,4	9,84±0,22	3,47±0,17

As biomassas têm concentrações muito variantes de componentes, estes resíduos possuem em média valores aproximados de extrativos entre 5-20% (RABELO, 2007). Hickert *et al.*, (2010) estudou a casca do arroz e realizou a análise de extrativos para o resíduo obtendo como resultado o valor de 3,1%. No presente estudo a quantidade de extrativos diferenciou do que fora encontrado na literatura, porém se encontra entre os estabelecidos para os resíduos em geral. Isso pode acontecer devido a espécie da planta estudada, tipo de solo que esta foi cultivada e o tempo que foi feito a colheita e ao pré-tratamento que foi aplicado a biomassa.

Costa (2016) obteve para o bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado o valor de 16,8% de extrativos. Canilha *et al.*, (2007) em seus estudos caracterizaram o bagaço de cana-de-açúcar sem pré-tratamento com 10,23% de extrativos, assim pode-se concluir que o valor encontrado está entre os que foram encontrados na literatura, sendo que a biomassa em

estudo foi pré-tratada antes da análise, e o resultado obtido foi bem próximo do resultado de Costa (2016) e para o valor médio geral de extrativos em biomassa descrito por Rabelo (2007), podendo explicar o valor de 15,82% de extrativos encontrados na biomassa.

Santos (2014), estudou a palha do milho e o sabugo do milho, e encontrou para estas biomassas o valor de extrativos de 11,6% e 18%, respectivamente. Salazar *et al.*, (2005) estudaram a composição química da palha do milho, encontrando para extrativos o valor de 28,53%. Neste estudo a quantidade extrativos encontradas foi menor que a encontrada no estudo de Salazar *et al.*, (2005), já Romão (2015) que estudou a composição química da palha do milho, encontrou para extrativos totais o valor de 17,22%. Neste estudo o valor foi de 12,82%, visto que a parte estudada do milho foi o farelo da casca do milho, sendo este valor bem próximo do encontrado por Santos (2014), porém ainda em um nível aceitável de proximidade entre os resultados de outros autores, como por exemplo Rabelo (2007), que qualificou biomassas em geral com conteúdo de extrativos entre 5-20%.

De acordo com Costa (2016), quando se tem elevados valores de extrativos presentes na biomassa, este pode-se tornar um fator negativo, principalmente em processos fermentativos. Comparando aos valores de extrativos de madeiras que variam entre 5-8% e para plantas folhosas que variam entre 2-4% (BRITO, 1985). O teor de extrativos encontrados para as biomassas estudadas pode ser considerado alto, o que dificultaria no processo de fermentação, ao qual se torna necessário fazer a extração destes antes de aplicá-los em processos fermentativos.

A quantificação de celulose se torna fator chave na caracterização, pois é a partir destes dados que se pode ter noção da viabilidade da biomassa no processo que se deseja empregar, que no caso do etanol de segunda geração quanto maior for a quantidade presente de celulose, mais provável que este se torne um bom substrato para aplicação na produção do bioetanol (CAI *et al.*, 2017). A lignina é um composto crucial na quantificação da biomassa, pois através dela pode-se obter o quanto de resistência esse material provavelmente possui a ataques indesejados de microrganismo, porém este não é composto de interesse na fermentação (ABRAHAM *et al.*, 2016). Para este estudo, pode-se observar, conforme Tabela 4.1, algumas características físico-químicas dos materiais estudados.

O farelo da palha do arroz, bagaço da cana-de-açúcar e o farelo da casca do milho podem ser usadas para a produção de etanol de segunda geração, devido a presença de celulose incorporada na matriz lignocelulósica, se tornando acessível para a sacarificação

enzimática (ABRAHAM *et al.*, 2016). Pode-se observar também os resultados obtidos por Cai *et al.*, (2017) entre os resíduos da palha do arroz, bagaço-de-cana e espiga do milho a composição de celulose, hemicelulose e lignina, conforme a Tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Composição química de biomassa lignocelulósica.

	(%) Celulose	(%) Hemicelulose	(%) Lignina
Palha do arroz	29,2-34,7%	23-25,9%	17-19%
Bagaço da cana-de-açúcar	25-45%	28-32%	15-25%
Espiga do milho	33,7-41,2%	31,9-36%	6,1-15,9%

Fonte: CAI *et al.*, (2017)

A palha do arroz atraiu o interesse de pesquisadores, devido a sua composição, contendo grande quantidade de celulose (~44%) e hemicelulose (~20,1%) ligados com a lignina (~19%) (RASTOGI; SONI; KAUR, 2016). Para Akhtar *et al.*, (2017) que caracterizaram a palha do arroz através de métodos laboratoriais, obtiveram como resultado para celulose, hemicelulose, e lignina na biomassa de 42,54%, 24,51% e 9,16%, respectivamente. Islam *et al.*, 2017 que também caracterizaram cascas de arroz da Austrália, obtiveram através de análises laboratoriais, como resultado para celulose, hemicelulose e lignina foi de 35%, 30% e 18% respectivamente.

A composição química do bagaço de cana é composta por três principais polímeros: 32-34% de celulose, 27-32% de hemicelulose, 19-24% de lignina (FILHO; JULIANI, 2013). Para Wolf (2011), que estudou a composição química do bagaço e da palha da cana-de-açúcar, os resultados encontrados foram de 38,8% de celulose, 29,4% de hemicelulose, e 21,7% de lignina para o bagaço de cana. Já Canilha *et al.*, (2007) que também estudaram o bagaço de cana, obtiveram os seguintes resultados para celulose, hemicelulose e lignina, 46,86%, 27,50% e 26,7%, respectivamente.

Para Hicker (2010), que caracterizou a composição química da palha e sabugo do milho, para cada um dos resíduos ele quantificou celulose, hemicelulose e lignina, encontrando os seguintes valores para a palha do milho: 36,7% de celulose, 34,2% de hemicelulose, e 14% de lignina, e para o sabugo de milho foi encontrado os seguintes resultados para celulose, hemicelulos e lignina, 35,4%, 26,9%, e 18%, respectivamente. Salazar *et al.*, (2005) encontraram como resultado para a palha do milho 41,18% de celulose, 16,31% de hemicelulose e 14,14% de lignina. Romão (2015) que também

caracterizou a composição química da palha do milho, teve como resultado para celulose, 47,22%, hemicelulose 22,15% e lignina 12,77%.

Pode-se observar nos resultados do farelo da palha do arroz, que os valores de celulose estão entre aqueles encontrados na literatura, e já a lignina está abaixo do que foi encontrado, isso pode acontecer no processo de transformação da palha em farelo o que possivelmente desfaz parcialmente a rede de lignina que prende a celulose e hemicelulose, deixando-as mais expostas (VIEIRA *et al.*, 2011).

Para o bagaço de cana-de-açúcar estudado, o teor de celulose está abaixo quando comparado com os valores encontrados na literatura, essa baixa concentração encontrada pode estar associada ao alto teor de umidade presente na amostra, o que diretamente interfere nas outras concentrações presentes na biomassa, fazendo com que as mesmas se encontrem em teores menores (CANILHA *et al.*, 2007).

O farelo da casca do milho apresentou o teor de celulose acima daqueles que foram encontrados na literatura, e a lignina se manteve próximos dos resultados encontrados. Todas biomassas antes de serem analisadas passaram por processo de pré-tratamento físico (explosão a vapor ou moagem), na intenção de deixa-las cada vez mais homogêneas e com uma maior área exposta. Os resultados podem estar se divergindo por este detalhe, pois na literatura pesquisada não informavam se as biomassas foram pré-tratadas ou não, e para o farelo da casca do milho, pode-se observar que os dados encontrados foram da palha e sabugo e não da casca, o que possivelmente traria uma diferença nos resultados.

Quanto maior o teor de holocelulose encontrada e menor o da lignina e extrativos, maior será o rendimento de conversão destes compostos em etanol de segunda geração. O baixo teor de lignina é um resultado positivo para os estudos, pois isso significa que em processos posteriores irá demandar uma menor quantidade de agente que fará essa deslignificação, o tornando mais barato (CAI, *et al.*, 2017). Assim, os resultados na Tabela 4.1 mostram o quanto pode ser satisfatório a aplicação destes resíduos como substrato para a produção de etanol de segunda geração, devido a sua alta presença de celulose nas três biomassas.

Vieira *et al.*, (2011) estudaram a casca do arroz e obtiveram 15,51% de cinzas em seus experimentos, Hickert (2010) encontrou 17% de cinzas na casca do arroz. Para o farelo da palha do arroz foi encontrado 7,99% de cinzas na biomassa, que é menor que os encontrados na literatura para a casca do arroz.

Wolf (2011) encontrou como resultado 5,1% de cinzas no bagaço da cana-de-açúcar. Canilha *et al.*, (2007) obtiveram como resultado para o bagaço de cana-de-açúcar um teor de cinzas igual 1,61%. O valor encontrado neste estudo foi de 2,7% de cinzas presente no bagaço-de-cana de açúcar, estando entre os valores encontrados na literatura.

Salazar *et al.*, (2005) encontraram para a palha do milho 1,52% de cinzas, já Santos (2014) encontrou um teor de 2,3% para a palha do milho e Romão (2015) obteve como resultado para a palha do milho 0,64% de cinzas. O valor encontrado neste estudo foi de 3,47% estando acima dos encontrados na literatura, porém estão próximos, e também deve-se levar em conta que foi utilizado como estudo foi o farelo da casca do milho e não a sua palha.

Biomassas com baixos teores de cinzas, podem oferecer numerosas vantagens para utilização em processos de bioconversão (FILHO; JULIANI, 2013). As cinzas quando estão em concentrações altas podem fazer diminuir o poder calorífico do processo, o que possivelmente ocasiona perda de energia e dificuldade na transferência de calor (VIEIRA *et al.*, 2011). Assim, todas as três biomassas estudadas possuem pequena porção de cinzas, o que é um saldo positivo para a utilização destes em processos de geração de energia ou de bioconversão.

4.3 Composição de carboidratos na biomassa analisados por HPCL-RID

Durante o processo de retirada dos extrativos da biomassa foi utilizado como solvente a água e o etanol. Ao fim dessa operação foram retirados 10 mL dos balões e passados 100 µL desta solução no HPLC para realização de leitura de carboidratos presentes. O volume retirado para esta análise foi compensado nos cálculos de extrativos, e os resultados encontrados pode-se observar na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 - Concentração de monossacarídeos nos extrativos das biomassas (%).

	Farelo da palha do arroz	Bagaço da cana-de-açúcar	Farelo da casca do milho
Glicose	-	0,03	0,06
Sacarose	2,22	0,68	0,66
Xilose	-	0,11	0,02
Arabinose	-	0,03	0,05
Lactose	0,14	0,03	0,02

Os valores encontrados são como esperados, pois essa extração tem o intuito de retirar compostos presentes na biomassa que não tenha tanto valor nos processos de

hidrólise e bioconversão, então espera-se que tenha pouca quantidade de carboidratos livres, pois senão torna desnecessário todo o procedimento de hidrólises para a produção do etanol de segunda geração (NAIK *et al.*, 2010).

Comumente, espera-se que o monomero majoritário presente nas biomassas seja a glicose, o que pode ser explicado devido a presença de maiores quantidades de celulose do que hemicelulose (LEE; VADLANI; FAUBION, 2017). Quando se é encontrado alta concentração de monossacarídeos, isso pode significar a alta retenção de carboidratos no substrato submetido ao pré-tratamento, demonstrando ser benéfico para uma posterior hidrólise enzimática e utilização das biomassas como substrato para uma fermentação subsequente (MOURTZINIS *et al.*, 2016).

Quando se identifica glicose e xilose, pode-se ter uma confirmação que a celulose e hemicelulose foram retiradas durante a deslignificação, que acontece durante a adição de acetato e clorito de sódio, ao qual tem o potencial de realizar a oxidação da lignina, o que deixa os polímeros de açúcares livres (ISLAM *et al.*, 2017). Na biomassa, exceto para a celulose, todos os outros componentes presentes, tais como a hemicelulose, lignina e outros extrativos são encontrados na sua forma amorfa, o que torna as reações das biomassas complexas e misteriosas devido a presença de vários grupos funcionais em suas estruturas (ZHENG *et al.*, 2017).

Após as biomassas hidrolisadas e filtradas, foram retiradas 10 µL do filtrado e realizado a leitura em HPLC para identificação dos açúcares presentes, como se pode observar na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 - Concentração de monossacarídeos resultantes das hidrólises (%)

	Farelo da palha do arroz	Bagaço da cana-de- açúcar	Farelo da casca do milho
Glicose	8,66	15,23	14,79
Sacarose	-	1,79	-
Xilose	-	1,40	9,75
Arabinose	8,20	-	6,33
Frutose	7,83	-	-

A presença majoritária da glicose era esperada, devido haver maior quantidade de celulose do que hemicelulose. A concentração de carboidratos encontrada é relativamente baixa quando se compara aos dados da literatura, o que leva a crer que a biomassa possui uma baixa retenção de carboidratos em sua estrutura, o que não se torna atrativo, pois

quando emprega-las em processos de bioconversão os rendimentos podem ser baixos, porém os resultados de holocelulose provam o contrário.

Para a palha do arroz não foi identificado presença da xilose, o que possivelmente deixa a concluir que não há hemicelulose nesta biomassa, porém durante a análise para essa biomassa foi encontrado cerca de 19,73% deste polímero, o que leva a crer que o processo de deslignificação não foi tão eficaz como esperado, mas todo o protocolo da metodologia foi seguido, realizando triplicata das amostras, provando que algo poderia não estar de acordo, como por exemplo a solução do acetato e clorito de sódio, sendo estes os responsáveis pelo processo de separação da holocelulose (hemicelulose + celulose) da lignina (ISLAM *et al.*, 2017).

Em comparação com os autores na Tabela 4.5, é concluso que as amostras lidas não estão dentro do esperado, pois os resultados obtidos foram bastante divergentes dos que foram encontrados na literatura. Pode ter acontecido uma deslignificação e as hidrólises (ácida e física) incompletas, necessitando de uma adaptação na metodologia fazendo com que as amostras estejam em um contato com os reagentes por um maior tempo, estudando qual condição seja melhor para trabalhar (tempo, temperatura e concentração de reagentes) com as biomassas em estudo. Outro ponto de erro pode ter sido na calibração do pHmetro, pois um dos procedimentos após as hidrólises é realizar a adição de carbonato de cálcio e deixa-lo em um pH próximo de neutro (entre 5,5-6,0), não podendo passar de 8,5, pois se caso chegar a este pH pode acontecer perda de carboidratos, o qual deixarão as análises tendenciosas ao erro implicando em uma menor quantidade de açúcares presente, e também em meios muito ácidos os carboidratos tendem a formar compostos como o furfural (SLUITER *et al.*, 2012).

Tabela 4.5 - Composição de carboidratos em % de monossacarídeos

	Glicose	Xilose	Galactose	Arabinose	Manose	Celubiose	Fonte
Casca do arroz	10,53	12,95	-	22,10	-	7,35	Islam <i>et al.</i> , (2017)
Palha do arroz	32,83	12,5	-	7,35	-	-	Zheng <i>et al.</i> , (2017)
Palha do arroz	34,2	19,3	-	2	-	-	Sasaki <i>et al.</i> , (2016)
Palha do arroz moído	8,1	6,6	-	1,7	-	-	Sasaki <i>et al.</i> , (2016)
bagaço de cana-de-açúcar	48,6	28,72	1,37	3,48	-	-	Panaro <i>et al.</i> , (2015)
bagaço de cana-de-açúcar	36,74	20,3	0,65	1,8	-	-	Szczerbowski <i>et al.</i> , (2014)
Palha da cana-de-açúcar	32,76	20,47	0,97	2,57	-	-	Szczerbowski <i>et al.</i> , (2014)
Bagaço de cana-de-açúcar	42,3	20,9	0,9	-	-	-	Narron <i>et al.</i> , 2017
milho livre de extrativos	42,6	25,8	25,8	13,7	-	-	Kim <i>et al.</i> , (2015)
farelo de milho desengordurado	19,4	24,2	-	9,4	-	-	Lee <i>et al.</i> , (2017)
Milho inteiro	45,4	22,7	-	2,3	-	-	Mourtzinis <i>et al.</i> , (2016)
Espiga do milho	37,9	29	-	2,8	-	-	Mourtzinis <i>et al.</i> , (2016)
Palha de trigo	53,6	16	1	18,6	9,8	-	Naik <i>et al.</i> , (2010)
Palha de trigo	39	18,8	1,2	-	-	-	Narron <i>et al.</i> , 2017
Palha de cevada	55,7	15,2	15,6	13,1	0,3	-	Naik <i>et al.</i> , (2010)

Fonte: O autor

4.4 Composição de sólidos totais, umidade e atividade de água

É importante conhecer a quantidade de matéria úmida e atividade de água na biomassa, pois estes estão diretamente correlacionados com o desenvolvimento de microrganismos, porque uma grande porcentagem de água presente favorecerá a atividade metabólica destes. Os valores da atividade de água variam entre 0 e 1, ao qual 0 (zero) significa nenhuma atividade de água e 1 (um) muita atividade de água (ROMÃO, 2015) sendo que cada tipo de microrganismo possui uma atividade específica para seu desenvolvimento, como por exemplo os fungos que estão próximos de 0,70, as leveduras 0,80 e as bactérias 0,90 e entre 0,20 e 0,50 dificilmente ocorrerá desenvolvimento microbiano (MORAIS, *et al.*, 2010).

Segundo Vieira *et al.*, (2011) a umidade para a casca do arroz está entre 7,9% e 10%, Souza (2014) encontrou para o bagaço recém moído cerca de 50% de umidade, e para Vieira (2012), o resultado encontrado de umidade para a espiga de milho foi de 16,93%. Na Tabela 4.6 estão apresentados os valores da quantidade de sólidos totais, umidade e atividade de água nas biomassas estudadas neste trabalho.

Tabela 4.6 - Quantidade de Sólidos totais, Umidade e Atividade de água (A_w) nas biomassas.

	Sólidos Totais (%)	Umidade (%)	A_w
Farelo da palha do arroz	93,08±2,15	6,92±2,15	0,391±0,05
Bagaço da cana-de-açúcar	57,29±3,88	42,71±3,88	0,822±0,03
Farelo da casca do milho	90,91±1,43	9,09±1,43	0,437±0,03

Para todas as biomassas estudadas foram encontrados valores inferiores aos que foram pesquisados na literatura, isso ocorre devido ao pré-tratamento empregado as mesmas, o que se torna satisfatório. Avaliando as atividades de água (A_w), para o farelo da palha do arroz e para o farelo da casca de milho, dificilmente ocorrerá incidência de crescimento microbiano, pois as atividades de água estão relativamente baixas e entre os valores onde ocorre uma dificuldade de atividade metabólica dos microrganismos (entre 0,2 e 0,5), já para o bagaço de cana-de-açúcar, mesmo com a umidade abaixo do que encontrado na literatura, ainda continua alta e conseqüentemente com uma alta atividade de água (A_w), necessitando de um cuidado especial para que não ocorra desenvolvimento de microrganismo indesejado na mesma, uma das características da cana-de-açúcar é seu alto teor de umidade, com isso era de se esperar que o bagaço, mesmo que tratado tivesse uma quantidade considerável de umidade presente (FILHO; JULIANI, 2013).

4.5 Análise de extrato etéreo e proteínas

A composição de gordura em grandes quantidades na biomassa pode ser extraída para geração de energia (biogás), ou também serem empregados em co-produtos que possivelmente irão gerar valor comercial. Os principais produtos com alto valor comercial importantes a serem extraídos seriam os pigmentos (carotenoides, astaxantina, ficobilina) utilizados como aditivos alimentares e também na indústria farmacêutica e cosmética (BOSA *et al.*, 2011). Silva *et al.*, (2010) encontraram para o farelo de arroz a quantidade de lipídeos equivalente a 16,96%, Chaud *et al.*, (2009) que estudaram farelo de arroz integral, encontraram como resultado de gordura equivalente de 15,3%, Carvalho *et al.*,

(2006) caracterizaram a composição químico-bromatológica do bagaço de cana-de-açúcar, encontrando o resultado de gordura de 0,07%, e Zambom *et al.*, (2008) estudaram a composição do milho moído, estimando o valor de extrato etéreo em 3,59%.

Analisando a Tabela 4.7 pode-se observar que os resultados encontrados para as três biomassas foram próximos dos que foram encontrados na literatura, e devido à baixa presença de gordura as biomassas estas provam ser inviáveis para a retirada dos lipídeos e aplicação em processos de agregação de valor, exceto para o arroz que apresentou frações de 17,45% de lipídeos.

Tabela 4.7 - Composição de Gordura e Proteína nas biomassas

	Extrato etéreo (%)	Proteínas (%)
Farelo da palha do arroz	17,45±3,43	0,68±0,04
Bagaço da cana-de-açúcar	0,586±0,14	-
Farelo da casca do milho	3,32±0,13	7,31±0,03

Em relação as proteínas presentes nos resíduos, foram encontrados na literatura alguns resultados de alguns autores, como se pode ver a seguir, Chaud *et al.*, (2014) encontraram 1,54% de proteína bruta em seu estudo para o farelo de arroz, Silva *et al.*, (2010) encontraram 4,94% de proteína para o mesmo tipo de resíduo. Souza (2014) encontrou 0,66% de proteína para o bagaço de matérias sacarinas e Carvalho *et al.*, (2006) caracterizaram a composição químico-bromatológica do bagaço de cana-de-açúcar, encontrando 2,32% de proteína bruta. Zambom *et al.*, (2008) estudaram a composição do milho moído, estimando o valor de proteína bruta em 8,38%. Em comparação com as biomassas utilizadas neste estudo, as análises do bagaço de cana-de-açúcar e do farelo da casca do milho estiveram muito próximas daquelas encontradas na literatura, porém o farelo da palha do arroz esteve um pouco distante dos resultados encontrados. Isso pode se dar pelo tipo de casca do arroz estudado, e também condições climáticas e solo de onde estes foram plantados.

A diferença de valores que foram encontrados pode ter essa incidência devido a variabilidade das composições químicas das matérias-primas ou levar em consideração a época em que as mesmas foram colhidas, ou seja, o fato pode estar associado diretamente à origem da biomassa ou até mesmo ao método de análise utilizado por outros autores (AZEVEDO *et al.*, 2016a).

CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES

A caracterização é um passo muito importante para avaliar e conhecer a composição química das biomassas oriundas de resíduos agroindustriais, antes de realizar a aplicação destas em processos de bioconversão e co-geração de energia.

A realização da revisão bibliográfica permitiu expandir os conhecimentos sobre o assunto estudado e enriquecer o trabalho com a pesquisa realizada no laboratório. A revisão também proporcionou a comparação de resultados experimentais com a literatura, aos quais fornece confiança através desta conferência de dados para concluir se o resultado se encontra próximo ou não, e se será necessário refazer determinado procedimento.

A comparação centesimal das biomassas em estudo oferece uma visão crítica sobre o resíduo estudado, neste caso para as biomassas. A concentração de água estava abaixo do que fora encontrado na literatura. Para os resultados de gordura encontrado neste estudo e comparando com a literatura observou-se que os resultados se mostram próximos do mesmo para as três biomassas. Para a proteína, o farelo da casca do milho, e o bagaço de cana-de-açúcar observou-se, também, valores próximos dos encontrados na literatura, divergindo um pouco apenas para o farelo da palha de arroz, diante disto a diferença pode estar relacionada com condições climáticas de plantio e época de colheita do arroz. As cinzas apresentaram valores baixos, porém próximos dos encontrados na literatura. No geral os resultados foram bastante satisfatórios.

As frações de celulose, hemicelulose e lignina encontrados, apresentaram valores bem próximos daqueles encontrados em trabalhos que estudaram o mesmo tipo de vegetal, podendo divergir apenas a parte do resíduo da planta pesquisada. Os teores de açúcares redutores totais encontrados foram duvidosos, estando muito abaixo daqueles resultados que foram encontrados por outros pesquisadores, assim conclui-se que há necessidade de refazer os testes para uma posterior análise dos mesmos.

Os dados encontrados neste trabalho se mostraram bastante promissores para a produção de complexo enzimático, principalmente para a produção de celulases devido a maior presença de celulose quando comparada a hemicelulose, assim estas poderão se

Capítulo 5 – Conclusões

tornar substratos eficientes quando aplicados a fermentação alcóolica para a produção de etanol de segunda geração.

CAPÍTULO 6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, A.; MATHEW, A. K.; SINDHU, R.; PANDEY, A.; BINOD, P. Potential of rice straw for bio-refining: An overview. **Bioresource Technology**. p. 29-36. Índia, 2016.

AKHTAR, N.; GOYAL, D.; GOYAL, A.; Characterization of microwave-alkali-acid pre-treated rice straw for optimization of etanol production via simultaneous saccharification and fermentation (SSF). **Energy Conversion and Management**. p. 133-144. Índia, 2017.

ANP – Agência nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (Brasil). **Panorama do abastecimento de combustíveis**. Rio de Janeiro – RJ, 2016.

ANTUNES, D. P. C.; VIANA; SANTOS, M. C. S.; SOARES, E. L. S.; BARBOSA, K. L.; MOURA K. L.; VIEIRA, R. C.; ALMEIDA, R. M. R. G. Produção de bioetanol de segunda geração a partir do hidrolisado do albedo da laranja como fonte de biomassa lignocelulósica. COBEQ. Florianópolis – SC, 2014.

AOAC international. (1995). **Official methods of analysis of AOAC International (16th ed.)**. Arlington, VA: AOAC International.

AZEVEDO, V. Q.; LEMONS E SILVA, C. F.; LEMÕES, J. S.; FARIAS, S. P. Caracterização de biomassa visando à produção de etanol de segunda geração. **Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade**. v. 2, n. 2, p.61-65. Pelotas – RS, 2016a.

AZEVEDO, V. Q.; SILVA, C. F. L.; LEMÕES, J. S.; FARIAS, S. P. Caracterização de biomassa visando à produção de etanol de segunda geração. **RBES**. v. 2, n. 2, p. 61-65. Pelotas – RS, 2016.

BADWAL, S. P. S.; GIDDEY, S.; KULKARNI, A.; GOEL, J.; BASU, S. Direct ethanol fuel cells for transport and stationary applications – A comprehensive review. **Applied Energy**. p. 80-103. Índia, 2015.

BAHMANI, M. A.; SHAFIEI, M.; KARIMI, K. Anaerobic digestion as a pretreatment to enhance ethanol yield from lignocelluloses. **Process Biochemistry**. p. 1256-1263. Irã, 2016.

BOSA, J. A.; DZUMAN, M. J.; MARIANO, A. B. Avaliação da composição da biomassa de microalgas de água doce e salgada com foco em aplicações biotecnológicas. Paraná-PR, 2011.

BRITO, J.O. Química da madeira. **ESALQ/SP**. 126 p. Campinas, SP, 1985.

CAI, J.; HE, Y.; YU, X.; BANKS, S. W.; YANG, Y.; ZHANG, X.; YU, Y.; LIU, R.; BRIDGWATER, A. V. Review of physicochemical properties and analytical characterization of lignocellulosic biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. p. 309-322. China, 2017.

CAI, P. L.; LUO, Z.; QIN, P.; CHEN, C.; WANG, Y.; ZHANG, C.; WANG, Z.; TAN, T. Effect of acid pretreatment on different parts of corn stalk for second generation ethanol production. **Bioresource Technology**. p. 86-96. China, 2016.

CALDARELLI, C. E. Fatores de influência no preço do milho no Brasil. **SciELO**. P 141-164. Brasil, 2012.

CANILHA, L.; CARVALHO, W.; ROCHA, G. J. M.; ALMEIDA E SILVA, J. B.; GIULIETTI, M. Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar in natura, extraído com etanol ou ciclohexano/etanol. **Bioquímica e Biotecnologia**. Brasil-RN, 2007.

CARRILO, F.; LIS, M. J.; COLOM, X.; LÓPEZ-MESAS, M.; VALLDEPERAS, J. Effect of alkali pretreatment on cellulase hydrolysis of wheat straw: Kinetic study. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 10, p 3360-3364, 2005.

CHAUD, L. C. S.; ARRUDA, P. V.; FELIPE, M. G. A. Potencial do Farelo de arroz para utilização em bioprocessos. Brasil, 2009.

CONAB. Acompanhamento da safra Brasileira de Cana-de-açúcar. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_08_17_10_07_35_boletim_cana_portugues_-_2o_lev_-_16-17.pdf> Acessado em: 19/07/2017.

COTANA, F.; CAVALAGLIO, G.; NICOLINI, A.; GELOSIA, M.; COCCIA, V.; PETROZZI, A.; BRRINCHI, L. Lignin as co-product of second generation bioethanol production from ligno-cellulosic biomass. **Science Direct**. P 52-60. Itália, 2014.

da COSTA, C. K. Caracterização da biomassa residual gerada na produção de etanol de segunda geração a partir de *Arundo donax* L. **UFPEL/RS**. Trabalho de conclusão de curso. Brasil – RS, 2016.

da SILVA, C. C. F.; CALIARI, M.; SOARES, M. S. Caracterização química de farelo de arroz *in natura* e extrusado. 2010.

da SILVA, R.; FRANCO, C. M. L.; GOMES, E. Pectinases, hemicelulases e celulases, ação, produção e aplicação no processamento de alimentos: revisão. **IBILCE/UNESP**. São José do Rio Preto – SP, 1997.

DASHTBAN, M.; SCHRAAFT, H.; QIN, W. Fungal bioconversion of lignocellulosic residues: opportunities and perspectives. **International Journal of Biological Sciences**. V. 5, n. 6, p. 578-595, 2009.

de CARVALHO, G. G. P.; PIRES, A. J. V.; VELOSO, C. M.; MAGALHÃES, A. F.; FREIRE, M. A. L.; da SILVA, F. F.; SILVA, R. R.; de CARVALHO, B. M. A. Valor nutritivo do bagaço de cana-de-açúcar amonizado com quatro doses de uréia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 41, n.1, p.125-132. Brasília – DF, 2006.

de SOUZA, G. Q. Caracterização química do *Arundo donax* para a obtenção de etanol 2G. **UnB/DF**. Trabalho de Conclusão de Curso. Brasília – DF, 2014.

DEMCZUK, A. PADULA, A. D. Using system dynamics modeling to evaluate the feasibility of ethanol supply chain in Brazil: The role of sugarcane yield, gasoline prices and sales tax rates. **Biomass and Bioenergy**. P. 186-211. Canoas – RS, 2016.

DIAS, M. O. S.; JUNQUEIRA, T. T.; CAVALETT, O.; PAVANELLO, L. G.; CUNHA, M. P.; JESUS, C. D. F.; FILHO, R. M.; BONOMI, A. Biorefineries for the production of first and second generation ethanol and electricity from sugarcane. **Applied Energy**. p. 72-78. Campinas – SP, 2013.

DRABER, K. M. M.; FARIA, L. F. F. Etanol de segunda geração já é realidade. **Universidade de São Paulo**. São Paulo, 2013.

FERREIRA, A. C. O. Caracterização de vários tipos de biomassa para valorização energética. **PPG/EM - Universidade de Aveiro**. Dissertação. Portugal – PT, 2013.

FERREIRA, J. Etanol de segunda geração: definição e perspectivas. **Revista Conexão eletrônica/UNESP**. São José do Rio Preto – SP, 2015.

FILHO, S. R.; JULIANI, A. J. Sustentabilidade da produção de etanol de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo. **SciELO**. V. 27, n. 78, p 195-212. São Paulo – SP, 2013.

FISHER, J. Produção de etanol de segunda geração pelo uso de complexo enzimático de cepas selecionadas do ecossistema do cerrado. **PPG-EQ/UFU**. Dissertação. Uberlândia – MG, 2014.

GOMBERT, A. K.; MARIS, A. J. Improving conversion yield of fermentable sugars into fuel ethanol in 1st generation yeast-based production processes. **Science Direct**. p. 33:81-86. Campinas – SP, Brasil, 2015.

GOMIDE, R. **Operações unitárias**. São Paulo: R. Gomide, 1997.

HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, A. Determination of protein content in biomass. **National Renewable Energy Laboratory**. NREL/TP-510-42625, 2008.

HICKERT, L. R.; SOUZA-CRUZ, P. B.; AYUB, M. A. Z. Otimização da hidrólise da casca de arroz (*Oryza sativa*) e avaliação da capacidade de bioconversão deste hidrolisado a etanol e xilitol por leveduras. **UFRGS/RS**. Dissertação de mestrado em Microbiologia agrícola e do ambiente. Brasil-RS, 2010.

ISLAM, M. S.; KAO, N.; BHATTACHARYA, S. N.; GUPTA, R.; CHOI, H. J. Potential aspect of rice husk biomass in Australia for nanocrystalline cellulose production. **Chinese Journal of Chemical Engineering**. Coreia do Sul, 2017.

ISLAM, M. S.; KAO, N.; BHATTACHARYA, S. N.; GUPTA, R.; BHATTACHARJEE, P. K. Effect of low pressure alkaline delignification process on the

production of nanocrystalline cellulose from rice husk. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**. p. 820-834. Austrália, 2017.

KIM, D.; ORREGO, D.; XIMENES, E. A.; LADISCH, M. R. Cellulose conversion of corn pericarp without pretreatment. **Bioresource Technology**. p. 511-517. Estados Unidos, 2017.

LEE, J.; VADLANI, P. V.; FAUBION, J. Corn bran bioprocessing: Development of an integrated process for microbial lipids production. p. 196-203. Manhattan – USA, 2017.

MANOCHIO, C.; ANDRADE, B. R.; RODRIGUEZ, R. P.; MORAES, B. S. Ethanol from biomass: A comparative overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. p. 743-755. Campinas -SP, Brasil, 2017.

MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. de F.; MARCONCINI, J. M. Procedimentos para análise lignocelulósica. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Campina Grande – PB, 2010.

MOURTZINIS, S.; CANTRELL, K. B.; ARRIAGA, F. J.; BALKCOM, K. S.; NOVAK, J. M.; FREDERICK, J. R.; KARLEN, D. L. Carbohydrate and nutrient composition of corn stover from three southeastern USA locations. **Biomass and Bioenergy**. p. 153-158. Estados Unidos, 2016.

MUSSATTO, S. I.; FERNANDES, M.; MILAGRES, A. M. F.; ROBERTO, I. C. Effect of hemicellulose and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain. **Enzyme and Microbial Technology**. V. 43, p 124-129, 2008.

NAIK, S.; GOUD, V. V.; ROUT, P. K.; JACOBSON, K.; DALAI, A. K. Characterization of canadian biomass for alternative renewable biofuel. **Renewable Energy**. p. 1624-1631. Canada, 2010.

NARRON, R. H.; HAN, Q.; PARK, S.; CHANG, H.; JAMEEL, H. Lignocentric analysis of a carbohydrate-producing lignocellulosic biorefinery process. **Bioresource Technology**. p.857-867. Estados Unidos, 2017.

PANARO, M. S.; de BARROS, R. R. O.; TEIXEIRA, R. S. S.; BON, E. P. S. Pré tratamento de biomassa de cana-de-açúcar por moinho de bolas em meios seco, úmido e

na presença de aditivos. **XI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**. Campinas – SP, 2015.

RABELO, S. C. Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar. **UNICAMP/SP**. Dissertação de mestrado em Engenharia Química. Piracicaba, SP, 2007.

RAELE, R.; BOAVENTURA, J. M.G.; FISCHMANN, A. A.; SARTURI, G. Scenarios for the second generation ethanol in Brazil. **Technological Forecasting & Social Change**. p. 205-223. São Paulo – SP, 2014.

RASTOGI, M.; SHRIVASTAVA, S. Recent advances in second generation bioethanol production: An insight to pretreatment, saccharification and fermentation process. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. P. 330-340. Uttar Pradesh, India, 2017.

RASTOGI, S.; SONI, R.; KAUR, J.; SONI, S. K. Unravelling the capability of *Pyrenophora phaeocomes* S-1 for the production of ligno-hemicellulolytic enzyme cocktail and simultaneous bio-delignification of rice straw for enhanced enzymatic saccharification. **Bioresource Technology**. p. 458-469. Chandigarth – India, 2016.

ROMÃO, D. R. Potencial de Fibras de resíduo agrícola: palha de milho (*Zea mays* L.) para a produção de celulose. **UnB/DF**. Trabalho de Conclusão de Curso. 46 p. Brasília, DF, 2015.

SALAZAR, R. F. S.; SILVA, G. L. P.; SILVA, M. L. C. P. Estudo da composição da palha de milho para posterior utilização como suporte na preparação de compósitos. **VI Congresso brasileiro de Engenharia Química em iniciação científica**. Brasília, 2005.

SANSONETTI, S.; CURCIO, S.; CLABRÒ, V.; IORIO, G. Bio-ethanol production by fermentation of ricotta chese whey as an effective alternative non-vegetabel souce. **ScienceDirect**. p. 1687 – 1692. Cosenza – Itália, 2009.

SANTOS, D. da S. Produção de etanol de segunda geração por *Zymomonas mobilis* naturalmente ocorrente e recombinante, empregando biomassa lignocelulósica. **PPG-EQ/UFRJ**. Dissertação. Rio de Janeiro – RJ, 2012.

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

SANTOS, G. R.; GARCIA, E. A.; SHIKIDA, R. F. A.; JÚNIOR, D. J. R. A agroindústria canavieira e a produção de etanol no Brasil: Características, potenciais e perfil da crise atual. **IPEA – Instituto de pesquisa econômica aplicada**. p. 17-46, Brasília- DF, 2016.

SANTOS, M. S. R. Estudo de pré - tratamentos de palha e sabugo de milho visando a produção de etanol 2G. **UFAL**. Dissertação de mestrado. Brasil - AL, 2014.

SASAKI, K.; OKAMOTO, M.; SHIRAI, T.; TSUGE, Y.; FUJINO, A.; SASAKI, D.; MORITA, M.; MATSUDA, F.; KIKUCHI, J.; KONDO, A. Toward the complete utilization of rice straw: Methane fermentation and lignina recovery by a combinational process involving mechanical milling, supporting material and nanofiltration. **Bioresource Technology**. p.830-837. Japão, 2016.

SCHIRMER, W. N.; RIBEIRO, C. B. Panorama of fuels and biofuels in Brazil and gas emissions due to the use of gasoline/ethanol. **Biofix**. V. 2, n. 2, Paraná – PR, 2017.

SCORDIA, D.; COSENTINO, S. L.; LEE, J.; JEFFRIES, T. W. Bioconversion of giant reed (*Arundo donax L.*) hemicellulose hydrolysate to ethanol by *Scheffersomyces stipitis* CBS6054. **SciVerse ScienceDirect**. p. 296-305. Catania – Itália, 2012.

SLUITER, A.; HAMES, B.; HYMAN, D.; PAYNE, C.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; WOLFE, J. Determination of total solids in biomass and total dissolved solids in liquid process samples. **National Renewable Energy Laboratory**. NREL/TP-510-42621, 2008a.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; CROCKER, D. Determination of structural carbohydrates and lignina in biomass. **National Renewable Energy Laboratory**. NREL/TP-510-42618, 2012.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. Determination of ash in biomass. **National Renewable Energy Laboratory**. NREL/TP-510-42622, 2008b.

SLUITER, A.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. Determination of extractives in biomass. **National Renewable Energy Laboratory**. NREL/TP-510-42619, 2008c.

SOCCOL, C. R.; COSTA, E. S. F.; LETTI, A. J. L.; KARP, S. G.; WOICIECHOWSKI, A. L.; VANDENBERGHE, L. P. S. Recent developments and innovations in solid state fermentation. **Biotechnology Research&Innovation**. Curitiba, PR – Brasil, 2017.

SZCZERBOWSKI, D.; PITARELO, A. P.; FILHO, A. Z.; RAMOS, L. P. Sugarcane biomass for biorefineries: comparative composition of carbohydrate components of bagasse and straw. **Carbohydrate Polymers**. p.95-101. Brasil, 2014.

UDOP. União dos Produtores de bioenergia. Disponível em: <<http://www.udop.com.br/index.php?item=noticias&cod=1154751>> Acessado em: 30/11/2017.

UDOP. União dos Produtores de bioenergia. Disponível em: <http://www.udop.com.br/download/estatistica/acucar_producao/21nov17_producao_etanol_brasil_safr.pdf> Acessado em: 30/11/2017.

UDOP. União dos Produtores de bioenergia. Disponível em: <http://www.udop.com.br/download/estatistica/producao_estados/11set17_acompto_producao_safr_2016a2017_atualizacao.pdf> Acessado em: 30/11/2017.

VALE, A. T.; DANTAS, V. F. S.; ZAMBRZYCJI, G. C. **Potencial energético dos resíduos da cultura do milho (*Zea mays*)**. v. 13 n. 2, p. 153-164, SP – Brasil, 2013.

VALLONE, H. S. **Produção de mudas cafeeiro (*Coffea arábica L.*) em tubetes com polímero hidrorretentor, diferentes substratos e adubações**. Lavras: UFLA, 2003.

VIEIRA, A. C. Caracterização da biomassa proveniente de resíduos agrícolas. **PPG/EA – Universidade Estadual do Oeste do Paraná**. Dissertação. Cascavel – PR, 2012.

VIEIRA, A. C.; de SOUZA, S. N. M.; BARICCATTI, R. A.; SIQUEIRA, J. A. C.; NOGUEIRA, C. E. C. Caracterização da casca de arroz para a geração de energia. **Revista Varia Scientia Agrárias**. v. 03, n. 01, p. 51-57. Brasil-SP, 2011.

WOLF, L. D. Pré-tratamento organossolve do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol e obtenção de xilooligômeros. **UFSCar/SP**. Dissertação de mestrado. 48 p. São Carlos, SP, 2011.

XAVIER, M. R. The Brazilian sugarcane ethanol experience. **Competitive Enterprise Institute**. Rio de Janeiro – RJ, 2007.

ZAMBOM, M. A.; ALCALDE, C. R.; da SILVA, K. T.; de MACEDO, F. de A. F.; RAMOS, C. E. C. O.; PASSIANOTO, G. de O. Desempenho e digestibilidade dos nutrientes de rações com casca do grão de soja em substituição ao milho para cabras Saanen em lactação e no pré-parto. **Revista brasileira de Zootecnia**. Maringá-PR, 2008.

ZHENG, W.; ZHENG, Q.; XUE, Y.; HU, J.; GAO, M. Influence of rice straw polyphenols on cellulase production by *Trichoderma reesei*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v.123, n.6, p. 731-738. China, 2017.