



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**ESTUDO INTEGRADO DAS ETAPAS DE PRÉ-TRATAMENTO E HIDRÓLISE  
ENZIMÁTICA DA PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Martha Suzana Rodrigues dos Santos Rocha

São Carlos – SP  
2017

MARTHA SUZANA RODRIGUES DOS SANTOS ROCHA

**ESTUDO INTEGRADO DAS ETAPAS DE PRÉ-TRATAMENTO E HIDRÓLISE  
ENZIMÁTICA DA PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos, como requisito para obtenção do título de Doutor em Engenharia Química, área de concentração em Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Químicos.

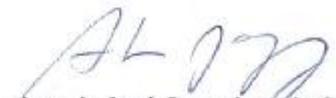
Orientadores: Prof. Dr. Antonio José Gonçalves da Cruz

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Renata Maria Rosas Garcia Almeida

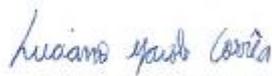
São Carlos – SP  
2017

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE MARTHA SUZANA RODRIGUES DOS SANTOS ROCHA APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, EM 20 DE OUTUBRO DE 2017.

BANCA EXAMINADORA:

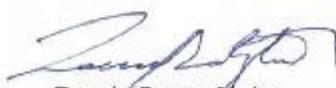
  
Antonio José Gonçalves da Cruz  
**Orientador, UFSCar**

  
Renata Maria Rosas Garcia Almeida  
**Coorientadora, UFAL**

  
Luciano Jacob Corrêa  
**UNIFEI**

  
Marcel Otávio Cerri  
**UNESP**

  
Alberto Colli Badino Junior  
**UFSCar**

  
Ruy de Sousa Junior  
**UFSCar**

## **Agradecimentos**

*Após longos quase quatro anos, mais um ciclo está se fechando. O engraçado é que no início do doutorado, em março de 2014, tudo parecia tão distante, tantas dúvidas, tantos questionamentos sem resposta, um misto de sentimentos de estar longe de casa, longe dos meus. Afinal, 2300 quilômetros não é brincadeira. À medida que o tempo foi passando, fui percebendo que as coisas pareciam se encaixar, que o sonho parecia factível e concretizável. E quantas pessoas maravilhosas cruzaram o meu caminho no percurso dessa jornada chamada doutorado.*

*A Deus, primeiramente, meu agradecimento profundo. Sei que Sua forte mão esteve em todo o tempo conduzindo o meu caminho e me dando forças quando tudo parecia não fazer sentido. Obrigada por não me deixar desistir, obrigada por não desistir de mim. Obrigada Deus, pelas pessoas que foram usadas por ti para me abençoar.*

*A meu pai, mãe e irmã, que sempre se fizeram presentes em suas orações e ligações. Sei que essa vitória também é de vocês, pois sem seu apoio não teria chegado até aqui. Obrigada por tudo, amo vocês!*

*Meu esposo Guto, te agradeço pelo seu companheirismo de todos os momentos. Não foi fácil pra gente viver nessa distância... Conseguimos chegar juntos ao final dessa árdua jornada! Te amo!*

*A família Vaz-Sverzut que me acolheu com muito carinho, através da Ane e fez dos meus fins de semana momentos em família. Nunca esquecerei a forma tão amorosa que me trataram, pois mesmo sem me conhecer direito me colocaram dentro de sua casa e não me permitiram mais sair de suas vidas. Obrigada por cada almoço de sábado (Seu Ilto, minha conta tá bem alta!), obrigada por ser de verdade a minha família São Carlense! Amo essa família como se fosse a minha: Leila, Ilto, Eliane, Patrick, Erly, Roberto, Lucas, Laura, Tia Belkis.*

*Meninas da rep com quem dividi quarto e casa, vocês foram essenciais para tornar mais família os momentos dentro de casa. Obrigada pelas conversas,*

*comilanças, risadas e lágrimas também. Ingrid, Lê, Paula, Adriana, Juli, aguardo vocês em Maceió.*

*Bruna Pratto, dentro das atividades acadêmicas do doutorado, você tem merecido destaque nos meus agradecimentos. Foi com você que pude contar a cada parte experimental desenvolvida, especialmente na parte da modelagem do PTH. Que perrengue nós passamos com a retirada das alíquotas naqueles experimentos hein?! Rs. Mas no fim deu certo e o que ficaram foram as lembranças boas de tudo que vivemos juntas, que não me refiro apenas a vivência no LaDABio. Tivemos muitos momentos de troca de idéias científicas, profundas reflexões filosóficas dentro do conceito de pré-tratamento, hidrólise e fermentação de biomassas...hahaha. Vivemos também momentos de gordices, claro! E também momentos onde uma aconselhava a outra, dava forças, incentivava a se manter firme no caminho, que com certeza não foi fácil. Obrigada por tudo Bruninha!*

*Aos amigos da Bioquímica do DEQ, agradeço demais. Apesar da minha dificuldade de relacionamento interpessoal (rsrs), vocês fizeram questão de estar presentes no meu dia-a-dia. Agradeço de forma especial a Ci, Lê, Rê, Vitor, Murilo, Thiago, Zé, Gilson, Rafa, Carlota, Valdemir, Matheus. Ci admiro demais seu jeitinho cativante que conquista todos ao seu redor e faz com que não nos esqueçamos de você nunquinha! Furlong valeu por me deixar usar seu cérebro de nerd a meu favor, pelos helps com o reator de hidrólise e também por levantar o PARR n vezes pra mim. Nesse ponto, agradeço a todos os meninos que contribuíram nesse trabalho braçal de levantar o reator PARR.*

*Aos amigos da UFAL, em especial Márcia e Kledson, que mesmo de longe estiveram sempre presentes através de áudios do whatsapp, compartilhando notícias boas, ruins e muita ciência.*

*Ao professor Antonio e professora Renata, meus orientadores durante o doutorado, só tenho a agradecer muitíssimo por todo o conhecimento transmitido e muito mais pelas experiências vividas e compartilhadas. Tenho certeza que a amizade ficará para sempre. Vocês foram para mim exemplos de profissionais que, cada um com*

*seu jeitinho, me ensinaram a ser uma pessoa e profissional melhor. Muito obrigada por tudo mesmo!*

*Aos professores que participaram das bancas de avaliação durante todas as etapas: exame de acompanhamento, qualificação e defesa. Professor Wagner Pimentel, Cristiane Farinas, Ruy de Sousa Júnior, Alberto Colli, Luciano Corrêa, Marcel Cerri, me sinto muito grata por toda a contribuição de vocês em cada etapa do meu trabalho.*

*Ao professor Mansur Assaf que me acompanhou durante o ano de 2015 no 'Programa de Estágio Supervisionado de Capacitação Docente 1 e 2'.*

*A todos os professores do DEQ que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação pessoal e profissional.*

*A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e ao projeto “Casadinho” / PROCAD, CNPq/CAPES (nº552595/2011-0) pelo apoio financeiro.*

*De uma forma brilhante e inimaginável Deus colocou as pessoas certas na minha vida para mostrar que foi Ele quem esteve conduzindo meu caminho e que Ele nunca perdeu o controle da direção, mesmo nos momentos mais tensos. A jornada realmente não foi fácil, mas quem disse que seria? Acredito ter sido forte e corajosa para chegar ao final dela e poder dizer que até aqui o Senhor tem me ajudado. E como me ajudou! Só tenho, por fim, a agradecer imensamente por tudo! Acho que os desafios nesses anos contribuíram muito para minha formação principalmente pessoal.*

*Enfim, Maceió está de portas abertas para receber cada um de vocês, será um prazer imenso!*

## Resumo

A utilização das biomassas lignocelulósicas para a produção de etanol, como a palha de cana-de-açúcar, pressupõe que etapas adicionais sejam acrescentadas ao processo para obtenção dos açúcares que serão convertidos a etanol via rota fermentativa. Sendo assim, torna-se imprescindível a realização de um pré-tratamento, que irá alterar essa estrutura, tornando-a mais acessível e suscetível à próxima etapa, a hidrólise enzimática. Esse trabalho visou ao estudo de estratégias de pré-tratamento e hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar, com o objetivo de avaliar a melhor configuração para produção de bioetanol, levando-se em conta fatores chave associados a essas duas etapas. Inicialmente, realizou-se pré-tratamento hidrotérmico (PTH) utilizando-se razões palha/água de 1:5 a 1:20 m/v, a 195°C, 200 rpm por 10 min. Sequencialmente ao PTH, ensaios de deslignificação em solução alcalina de peróxido de hidrogênio (PTA) foram realizados (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1% v/v, pH 11,5). Um planejamento experimental (fatores: razão  $m_{\text{palha seca}}/V_{\text{água}}$  no PTH e temperatura no PTA) foi realizado para escolha e otimização das condições operacionais. Na etapa de hidrólise enzimática utilizou-se 20 FPU/g<sub>celulose</sub> e 15% m/v de sólidos. As variáveis-resposta do planejamento experimental foram o teor de celulose e conversão de celulose em glicose. Foi possível constatar que a hidrólise enzimática não foi melhorada após o pré-tratamento alcalino. Logo, diante da elevada eficiência do pré-tratamento hidrotérmico identificada no estudo, custos operacionais concernentes à etapa alcalina podem ser descartados. Na modelagem matemática do PTH, os ensaios foram conduzidos fixando-se a carga de sólidos em 10% m/v, variando-se a temperatura de 180 a 210°C e o tempo reacional (0 a 40 min), com o intuito de identificar, a temperatura e o tempo ótimos com relação à degradação dos açúcares e formação de inibidores. A 195°C/15 min, 85% de remoção de hemicelulose e 21% de remoção de celulose foram alcançadas. Os modelos apresentados podem ser utilizados em estudos de engenharia, incluindo análises de viabilidade técnica e econômica da produção de etanol de segunda geração. Ensaios de hidrólise enzimática foram realizados em volume reacional de 50 mL, empregando-se cargas de sólidos de 10 a 30% m/v, em batelada e batelada alimentada. Um escalonamento foi realizado para um volume de 3-L, empregando-se diferentes estratégias de alimentação de substrato/enzima (batelada alimentada), de forma a atingir carga de sólidos final de 30% m/v. Os ensaios mostraram que à medida que a carga de sólidos se eleva, a conversão de

celulose em glicose diminui. Os experimentos conduzidos em batelada alimentada demonstraram melhor desempenho quando comparados aos ensaios em batelada. Aumentos de 3,4 (10% m/v); 9,2 (20% m/v) e 19,8 % (30% m/v) na conversão de celulose em glicose foram obtidos, considerando os ensaios realizados em batelada alimentada. Nos ensaios conduzidos em volume de 3L, os resultados mostraram que a melhor condição empregada foi aquela com menor concentração de sólidos adicionada a cada alimentação com maior número de adições de substrato. O consumo de potência por unidade de volume e a reologia do meio reacional apresentaram valores baixos para a condição onde o perfil de alimentação foi mais distribuído ao longo do tempo, indicando que esse modo de operação é adequado do ponto de vista de processo, alcançando resultados factíveis industrialmente em termos de concentração de glicose e consumo de energia.

Palavras-chave: palha de cana-de-açúcar; pré-tratamento hidrotérmico; estudo cinético; consumo de potência; batelada alimentada.

## Abstract

The use of lignocellulosic biomass for ethanol production, such as, the sugarcane straw, suggests that additional steps should be included aiming the sugars release, that will be converted to ethanol via fermentative route. In this way, it is essential to conduct a pretreatment step, to disrupt partially the recalcitrant structure, increasing cellulose accessibility to hydrolysis by cellulases. This work aims the study of pretreatment and enzymatic hydrolysis strategies of sugarcane straw. The goal is evaluate the best configuration to bioethanol production, taking into account key factors correlated to these two steps. Firstly, the hydrothermal pretreatment (HPT) was conducted in a straw/water ratio of 1:5 to 1:20 (w/v), at 195°C, 10 min and 200 rpm. HPT was followed by alkaline pretreatment (APT, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1% v/v, pH 11.5). An experimental design (variables: ratio of  $w_{\text{dry straw}}/v_{\text{water}}$  during the HPT and temperature during the APT) was performed to choice and optimization of the operational conditions. On enzymatic hydrolysis step, 20 FPU/g<sub>cellulose</sub> and 15% (w/v) of solid loading were applied. The experimental design responses were: cellulose content and cellulose-to-glucose conversion. It was observed that the enzymatic hydrolysis was not improved after the alkaline pretreatment. Thus, taking into account the high efficiency of the hydrothermal pretreatment identified in this study, operational costs concerning the alkaline step can be eliminated. In a study concerning HPT mathematical modeling, the assays were conducted applying 10% (w/v) of solid loading and by vary the temperature (180 a 210°C) and time of reaction (0 to 40 min), aiming the identification, from a proposed kinetic model, the optimal temperature and time regarding to sugars degradation and inhibitors formation. At 195 °C/15 min, the pretreatment reached 85% of hemicellulose removal. This condition promoted a little degradation of cellulosic fraction, only 21%. The models proposed in this work can be utilized for engineering studies, including technical and economic feasibility analysis of 2G ethanol production. In addition to the studies developed in this thesis, enzymatic hydrolysis assays were performed in stirred tank reactors, with a reaction volume of 50-mL, applying solids loading of 10, 20, and 30% (w/v), in batch and fed-batch modes. Experiments were conducted in 3-L working volume, under different feeding strategies of substrate/enzyme (fed-batch), reaching 30% (w/v) of solids loading. The assays showed that as the solids loading increases, a decrease in the cellulose-to-glucose conversion is

observed. The experiments conducted in fed-batch mode showed high performance when compared with those performed in batch mode. An increase of 3.4 (10% w/v); 9.2 (20% w/v) and 19.8 % (30% w/v) in the cellulose-to-glucose conversion was obtained, taking into account the assays performed in fed-batch mode. Concerning the assays conducted in 3-L working volume, the results showed that the best condition was the one where the feeding profile was smoother (lower solid concentration added in each feed time, but more substrate additions). Both the power consumption per unit volume and the rheology presented lower values to the condition where the feeding profile was smoother. This behavior indicates that this operational mode is more suitable from process point of view, reaching results industrially feasible in terms of glucose content and the energy consumption.

Key-words: sugarcane straw; hydrothermal pretreatment; kinetic study; power consumption; fed-batch.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Oferta interna de energia.....	23
Figura 1.2: Etapas de obtenção do etanol 2G. ....	25
Figura 2.1: Histórico da produção de etanol no Brasil. ....	30
Figura 2.2: Estrutura da biomassa lignocelulósica. ....	32
Figura 2.3: Representação da molécula de celulose. ....	33
Figura 2.4: Diversas ligações encontradas em uma variedade de xilana.....	33
Figura 2.5: Esquema da estrutura da lignina com suas principais ligações.....	34
Figura 2.6: Da esquerda para a direita: Palha de cana-de-açúcar in natura, pré-tratada e hidrolisada. ....	35
Figura 3.1: Potencial de obtenção do E2G a partir da celulose e da hemicelulose presente na palha de cana-de-açúcar. ....	48
Figura 3.2: Ciclo Rankine.....	49
Figura 4.1: Reator Parr. ....	64
Figura 4.2: Perfil da temperatura nos diferentes PTH realizados.....	73
Figura 4.3: Remoção dos principais componentes da biomassa na razão 1:20 no PTH seguido ou não de deslignificação. ....	75
Figura 4.4: Remoção dos principais componentes na razão 1:10 no PTH seguido ou não de deslignificação. ....	76
Figura 4.5: Remoção dos principais componentes na razão 1:6,7 no PTH seguido ou não de deslignificação. ....	77
Figura 4.6: Conversão de celulose em glicose durante 72 horas de hidrólise enzimática realizada com biomassa pré-tratada na razão palha-água 1:20 para o PTH e 1:20 para os PTH + PTA. Experimentos de hidrólise realizados com carga de sólidos de 15% m/v.....	78

Figura 4.7: Conversão de celulose em glicose durante 72 horas de hidrólise enzimática com biomassa pré-tratada na razão palha-água 1:10 no pré-tratamento hidrotérmico (PTH) e 1:10 no PTH+PTA. Experimentos de hidrólise realizados com carga de sólidos de 15% m/v.....	79
Figura 4.8: Conversão de celulose em glicose durante 72 horas de hidrólise enzimática com biomassa pré-tratada na razão palha-água 1:6,7 no pré-tratamento hidrotérmico (PTH) e 1:6,7 no PTH+PTA. Experimentos de hidrólise realizados com carga de sólidos de 15% m/v .....	79
Figura 4.9: Gráficos de Pareto para as duas variáveis-resposta avaliadas (teor de celulose e conversão de celulose em glicose).....	81
Figura 5.1: Degradação das frações (a) hemicelulósicas e (b) celulósicas da palha de cana-de-açúcar propostas neste trabalho. ....	94
Figura 5.2: Perfil da (a) degradação da hemicelulose, (b) formação e consumo de xilooligômeros, (c) monômeros e (d) furfural durante o pré-tratamento hidrotérmico. Os símbolos correspondem às observações experimentais e as linhas correspondem ao modelo cinético proposto para as temperaturas de 180 °C (diamante azul), 195 °C (círculo vermelho) e 210 °C (asterisco preto). ....	96
Figura 5.3: Gráfico de Arrhenius de $\ln(k_i)$ versus $1/T$ , mostrando a dependência de temperatura dos parâmetros cinéticos $k_1$ - $k_6$ para (a) hemicelulose e (b) celulose. ....	98
Figura 5.4: Perfil da (a) degradação da celulose, (b) formação e consumo de glicooligômeros, (c) monômeros e (d) hidroximetilfurfural durante o pré-tratamento hidrotérmico. Os símbolos correspondem às observações experimentais e as linhas correspondem ao modelo cinético proposto para as temperaturas de 180 °C (diamante azul), 195 °C (círculo vermelho) e 210 °C (asterisco preto). ....	100
Figura 5.5: Regiões de confiança para os parâmetros $k_4$ e $k_6$ para a (a) hemicelulose e (b) celulose a 180 °C. ....	103

Figura 6.1: À esquerda, o impelidor utilizado nos ensaios conduzidos em volume reacional de 3-L; à direita, o impelidor empregado nos ensaios conduzidos em volume reacional de 50-mL.....	109
Figura 6.2: Reator utilizado nos ensaios com volume de trabalho de 50-mL.....	110
Figura 6.3: Reator utilizado nos ensaios com volume de trabalho de 3-L.....	110
Figura 6.4: Representação esquemática do aparato experimental para os ensaios conduzidos com 3-L. (1) Banho termostático, (2) inversor de frequência, (3) motor, (4) dinamômetro, (5) reator, (6) impelidores do tipo “orelha de elefante” (fluxo descendente e fluxo ascendente), (7) chicanas.....	112
Figura 6.5: À esquerda, o reômetro digital. À direita, os <i>spindles</i> SC4-25, SC4-34 e SC4-31 (da esquerda para a direita). .....	112
Figura 6.6: Concentração de glicose ( $C_G$ ) durante a hidrólise enzimática em batelada, realizada em volume de trabalho de 50-mL. S1: 10% m/v (quadrado preto), S2: 20% m/v (círculo vermelho) e S3: 30% m/v (triângulo azul).....	115
Figura 6.7: Conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) durante a hidrólise enzimática em batelada, realizada em volume de trabalho de 50-mL. S1: 10% m/v (quadrado preto), S2: 20% m/v (círculo vermelho) e S3: 30% m/v (triângulo azul). .....	115
Figura 6.8: Concentração de glicose ( $C_G$ ) durante a hidrólise enzimática em batelada alimentada, realizada em volume de trabalho de 50-mL. S4: 10% m/v (diamante preto), S5: 20% m/v (estrela vermelha) e S6: 30% m/v (triângulo azul).....	117
Figura 6.9: Conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) durante a hidrólise enzimática em batelada alimentada, realizada em volume de trabalho de 50-mL. S4: 10% m/v (diamante preto), S5: 20% m/v (estrela vermelha) e S6: 30% m/v (triângulo azul). .....	117
Figura 6.10: Concentração de glicose ( $C_G$ ) durante a hidrólise enzimática em batelada alimentada, realizada em volume de trabalho de 3-L. S7: 30% m/v, 6 alimentações de 5% m/v ao longo de 30 h (triângulo preto vazio), S8: 30% m/v, 6 alimentações de 5% m/v ao longo de 48 h (triângulo vermelho cheio) e S9: 30% m/v, 12 alimentações de 2,5% m/v ao longo de 48 h (quadrado azul).....	119

Figura 6.11: Conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ), durante a hidrólise enzimática em batelada alimentada, realizada em volume de trabalho de 3-L. S7: 30% m/v, 6 alimentações de 5% m/v ao longo de 30 h (triângulo preto vazio), S8: 30% m/v, 6 alimentações de 5% m/v ao longo de 48 h (triângulo vermelho cheio) e S9: 30% m/v, 12 alimentações de 2,5% m/v ao longo de 48 h (quadrado azul). ..... 119

Figura 6.12: Consumo de potência por unidade de volume (P/V) medido durante a hidrólise enzimática das estratégias S7 (a), S8 (b) e S9 (c). S7: 30% m/v, 6 alimentações de 5% m/v ao longo de 30 h (triângulo preto vazio), S8: 30% m/v, 6 alimentações de 5% m/v ao longo de 48 h (triângulo vermelho cheio) e S9: 30% m/v, 12 alimentações de 2,5% m/v ao longo de 48 h (quadrado azul). ..... 122

Figura 6.13: Viscosidade aparente ( $\mu_{app}$ ) determinada durante a hidrólise enzimática para as estratégias S7, S8 e S9. S7: 30% m/v, 6 alimentações de 5% m/v ao longo de 30 h (triângulo preto vazio), S8: 30% m/v, 6 alimentações de 5% m/v ao longo de 48 h (triângulo vermelho cheio) e S9: 30% m/v, 12 alimentações de 2,5% m/v ao longo de 48 h (quadrado azul). ..... 124

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1: Composição química de biomassas. ....	24
Tabela 3.1: Poder calorífico superior (PCS) de diversas biomassas lignocelulósicas.....	54
Tabela 3.2: Composição química de diferentes biomassas lignocelulósicas. ....	55
Tabela 3.3: Potencial de produção de etanol a partir da celulose presente nos resíduos de cada cultura.....	56
Tabela 3.4: Potencial de produção de etanol a partir da hemicelulose presente nos resíduos de cada cultura.....	57
Tabela 3.5: Produção das culturas por região.....	59
Tabela 4.1: Matriz do delineamento experimental 22 com três repetições no ponto central. ....	70
Tabela 4.2: Caracterização química da palha in natura e submetida ao PTH (195°C, 10 minutos, 200 rpm) nas diferentes razões palha-água.....	72
Tabela 4.3: Caracterização química com valores corrigidos pelo rendimento do PTH (195°C, 10 min., 200 rpm).....	73
Tabela 4.4: Caracterização química das amostras após PTH (195°C, 10 min., 200 rpm) seguido de PTA. ....	74
Tabela 4.5: Composição química levando-se em conta o rendimento mássico dos pré-tratamentos PTH e PTA.....	75
Tabela 4.6: Matriz de planejamento fatorial e as variáveis-resposta.....	81
Tabela 5.1: Composição dos licores extraídos em diferentes tempos do pré-tratamento hidrotérmico a 180 °C (g/L).....	90
Tabela 5.2: Composição dos licores extraídos em diferentes tempos do pré-tratamento hidrotérmico a 195 °C (g/L).....	90

Tabela 5.3: Composição dos licores extraídos em diferentes tempos do pré-tratamento hidrotérmico a 210 °C (g/L).....	91
Tabela 5.4: Constantes cinéticas de taxa para a degradação de hemicelulose. ....	97
Tabela 5.5: Parâmetros de Arrhenius da auto-hidrólise de hemicelulose e celulose para a palha de cana-de-açúcar.....	98
Tabela 5.6: Constates cinéticas de taxa para a degradação da celulose. ....	101
Tabela 6.1: Estratégias de alimentação (substrato e enzima) avaliadas durante a etapa de hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar. ....	108
Tabela 6.2: Concentração de fenólicos e ácido acético, liberados durante a hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar. ....	121

## LISTA DE NOMENCLATURAS

A	fator pré-exponencial de Arrhenius	[-]
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência	[-]
C <sub>G</sub>	concentração de glicose	[g·L <sup>-1</sup> ]
D	produtos de degradação	[-]
D <sub>i</sub>	diâmetro do impelidor	[m]
E	enzima	[-]
E <sub>a</sub>	energia de ativação	[kJ/mol]
F	furfural	[-]
FPU	<i>filter paper unit</i>	[-]
FS	fator de severidade	[-]
GOS	glicooligômeros	[-]
H	hemicelulose	[-]
HMF	hidroximetilfurfural	[-]
K	índice de consistência	[Pa·s <sup>n</sup> ]
k <sub>n</sub>	taxas de solubilização	[1/min]
Mtep	mega tonelada equivalente de petróleo	[-]
M <sub>C</sub>	monômeros de glicose	[-]
M <sub>H</sub>	monômeros de xilose	[-]
N	rotação	[rps]
n	índice de escoamento	[-]
N <sub>p</sub>	número de potência	[-]
P	consumo de potência	[W]
P/V	potência por unidade de volume	[W·m <sup>-3</sup> ]
PCI	poder calorífico inferior	[Mtep]
PCS	poder calorífico superior	[Mtep]
PTA	pré-tratamento alcalino	[-]
PTH	pré-tratamento hidrotérmico	[-]
S <sub>n</sub>	estratégias	[-]
T	torque	[N·m]
t	tempo	[s]

V	volume	[m <sup>3</sup> ]
X <sub>C-G</sub>	conversão de celulose em glicose	[%]
XOS	xilooligômeros	[-]

### SÍMBOLOS GREGOS

$\mu_{app}$	viscosidade aparente	[mPa·s]
$\rho$	massa específica	[kg·m <sup>-3</sup> ]
$\omega$	velocidade angular	[rad·s <sup>-1</sup> ]
$\dot{\gamma}_m$	velocidade média de cisalhamento	[s <sup>-1</sup> ]

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO .....</b>	<b>23</b>
1.1 Objetivo geral .....	27
1.2 Objetivos específicos .....	27
<b>CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>29</b>
2.1 O Etanol .....	29
2.2 Biomassa .....	30
2.3 Biomassas lignocelulósicas.....	31
2.3.1 Celulose.....	32
2.3.2 Hemicelulose .....	33
2.3.3 Lignina .....	34
2.3.4 Componentes orgânicos e inorgânicos .....	34
2.4 Etapas da produção de etanol de segunda geração .....	35
2.4.1 Pré-tratamento .....	36
2.4.1.1 Modelagem matemática do pré-tratamento de biomassas .....	39
2.4.2 Hidrólise .....	39
2.4.2.1 Efeito da elevada carga de sólidos na hidrólise enzimática.....	40
2.4.2.2 Hidrólise enzimática em batelada alimentada .....	41
2.4.2.3 Avaliação do consumo de potência e reologia do meio reacional.....	41
2.4.2.4 Compostos inibitórios liberados durante a hidrólise enzimática .....	42
2.4.3 Fermentação .....	43
2.4.4 Destilação .....	45

**CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ENERGÉTICO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS PROVENIENTES DE DIFERENTES REGIÕES BRASILEIRAS ..... 46**

3.1 Introdução .....	46
3.2 Biomassas residuais: potencial energético.....	47
3.2.1 Milho .....	49
3.2.2 Arroz .....	50
3.2.3 Soja.....	51
3.2.4 Coco .....	51
3.2.5 Trigo.....	52
3.2.6 Cana-de-açúcar.....	53
3.3 Potencial para produção de etanol lignocelulósico.....	56
3.4 Localização geográfica dos resíduos .....	58
3.5 Considerações finais .....	59

**CAPÍTULO 4 - OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS OPERACIONAIS DO PRÉ-TRATAMENTO DA PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR ATRAVÉS DE PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL ..... 61**

4.1 Introdução .....	61
4.2 Materiais e métodos .....	63
4.2.1 Materiais.....	63
4.2.2 Pré-tratamento hidrotérmico .....	64
4.2.3 Pré-tratamento alcalino .....	66
4.2.4 Caracterização química da biomassa .....	66

4.2.4.1	Extrativos.....	66
4.2.4.2	Hidrólise com ácido sulfúrico 72% .....	67
4.2.4.3	Determinação de lignina insolúvel na fração sólida.....	67
4.2.4.4	Determinação de lignina solúvel na fração líquida .....	68
4.2.4.5	Determinação de carboidratos, ácidos orgânicos, furfural e hidroximetilfurfural na fração líquida .....	68
4.2.4.6	Determinação de cinzas .....	69
4.2.5	Planejamento experimental .....	70
4.2.6	Hidrólise enzimática.....	70
4.2.6.1	Atividade enzimática do complexo Cellic <sup>®</sup> CTec2 .....	71
4.3	Resultados e discussão.....	72
4.3.1	Pré-tratamento hidrotérmico .....	72
4.3.2	Pré-tratamento alcalino sequencial ao hidrotérmico .....	74
4.3.3	Hidrólise enzimática.....	77
4.3.4	Análise estatística.....	80
4.4	Considerações finais .....	83
<b>CAPÍTULO 5 - UM MODELO CINÉTICO PARA O PRÉ-TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DA PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR.....</b>		<b>84</b>
5.1	Introdução .....	84
5.2	Material e métodos.....	87
5.2.1	Matéria-prima.....	87
5.2.2	Composição da material-prima .....	87
5.2.3	Pré-tratamento hidrotérmico (PTH) .....	87

5.2.4	Análise do licor de pré-tratamento .....	88
5.3	Resultados e discussão .....	89
5.3.1	Cinética de solubilização .....	91
5.3.2	Cinética de solubilização hemicelulósica .....	95
5.3.3	Cinética de solubilização celulósica .....	99
5.4	Considerações finais .....	104
<b>CAPÍTULO 6 – AVALIAÇÃO DE DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE ALIMENTAÇÃO DE BIOMASSA PARA MELHORAR A HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA PALHA DA CANA-DE-AÇÚCAR .....</b>		
6.1	Introdução .....	105
6.2	Materiais e métodos .....	107
6.2.1	Materiais .....	107
6.2.2	Pré-tratamento hidrotérmico .....	107
6.2.3	Caracterização química .....	107
6.2.4	Atividade enzimática .....	108
6.2.5	Estratégias de batelada e batelada alimentada .....	108
6.2.6	Quantificação de glicose e ácidos orgânicos .....	111
6.2.7	Quantificação dos compostos fenólicos .....	111
6.2.8	Análise reológica .....	111
6.2.9	Consumo de potência .....	113
6.3	Resultados e discussão .....	114
6.3.1	Caracterização da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotermicamente .....	114

6.3.2	Quantificação de glicose, ácidos orgânicos e fenólicos: inibidores/ desativadores de celulases.....	114
6.3.3	Consumo de potência .....	122
6.3.4	Análise de reologia.....	123
6.4	Considerações finais .....	125
<b>CAPÍTULO 7 – CONCLUSÕES .....</b>		<b>126</b>
<b>CAPÍTULO 8 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>		<b>127</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>		<b>128</b>

## CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

Devido à elevada demanda por combustíveis, instabilidade nos preços do petróleo e às restrições ambientais relacionadas ao uso de combustíveis fósseis, manifesta-se uma elevada necessidade de diversificação da matriz energética mundial, como forma de complementação às fontes derivadas do petróleo. Nesse contexto, com o intuito de suprir as necessidades mundiais concernentes aos combustíveis, surgem as biomassas (GONZALEZ et al., 2012; SANCHEZ et al., 2013; SANTOS et al., 2014; PEREIRA et al., 2015).

Com relação ao uso de biomassas, o Brasil encontra-se em posição de destaque visto que é um país tropical, recebendo intensa radiação solar durante todo o ano, em grande parte de seu extenso território. As condições climáticas são, portanto, bastante favoráveis para a obtenção de energia a partir das biomassas. Outro fator que corrobora essa afirmação é o fato de que o Brasil é pioneiro na produção de etanol a partir do caldo da cana-de-açúcar, sendo o primeiro no ranking mundial (PRATTO, 2015; CORRÊA, 2016).

O relatório final do Balanço Energético Nacional 2017 (ano base 2016) mostra (Figura 1.1) que a oferta interna de energia ainda encontra-se fortemente dependente dos não renováveis, com 56,5 % (36,5 % provenientes do petróleo e seus derivados), frente a 43,5 % a partir de fontes renováveis (17,5 % da biomassa da cana-de-açúcar).

**Figura 1.1: Repartição da oferta energética do Brasil.**



Fonte: BEN (2017).

Já a participação dos renováveis na matriz energética mundial foi de 13,5 %, apontando que esse percentual manteve-se entre os mais elevados do mundo (BEN, 2017).

No contexto das biomassas, os materiais lignocelulósicos, formados por celulose, hemicelulose e lignina, surgem como alternativa promissora visto que possuem em sua composição alto teor de carboidratos, que podem ser convertidos a etanol. Nesse caso, tem-se o etanol chamado de segunda geração – E2G (GOUVEIA et al., 2009; PEREIRA et al., 2015). A Tabela 1.1 apresenta o teor desses três componentes principais (celulose, hemicelulose e lignina) presentes em algumas biomassas que vem sendo estudadas para a produção do E2G.

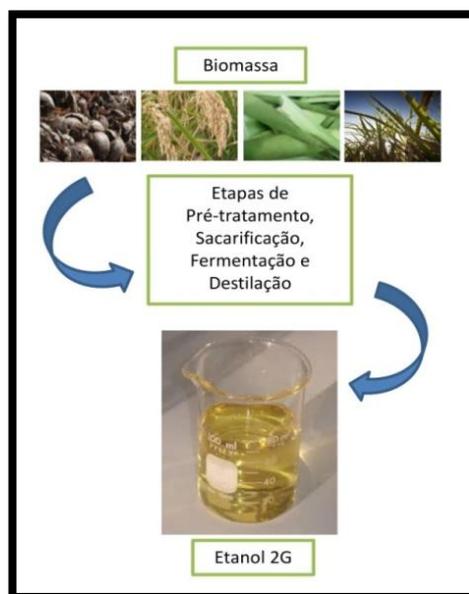
**Tabela 1.1: Composição química de biomassas.**

Resíduo	Composição Química (%)			Referência
	Celulose	Hemicelulose	Lignina	
Bagaço de cana-de-açúcar	36,6	28,5	13,8	PEREIRA et al., 2015
Palha de cana-de-açúcar	34,8	24,3	20,2	PRATTO et al., 2016
Palha de milho	36,7	34,2	14,0	SANTOS, 2014
Sabugo de milho	35,4	26,9	18,0	
Casca de coco	41,0	21,5	30,6	ESTEVEZ, 2014
Casca de arroz	34,0	13,0	29,0	HICKERT, 2010

Nota-se pela Tabela 1.1 que a celulose é o componente majoritário, seguido pela hemicelulose (exceção para a casca de coco e de arroz que possuem maior teor de lignina do que de hemicelulose), indicando alto potencial de conversão desses polissacarídeos a etanol.

A grande diferença entre os processos de obtenção de etanol diretamente do caldo (E1G) e o etanol de segunda geração (E2G) é o fato de que, para converter os polissacarídeos a etanol, necessita-se da inclusão de mais duas etapas, o pré-tratamento e a hidrólise da biomassa, além das etapas de fermentação e destilação já empregadas (Figura 1.2). Isso porque nos lignocelulósicos, devido a sua estrutura recalcitrante, os açúcares não se encontram diretamente disponíveis, como no caso das matérias sacarídeas, sendo o pré-tratamento responsável por tornar as cadeias poliméricas acessíveis para posterior etapa de hidrólise, onde ocorrerá a obtenção dos monômeros fermentescíveis (LENNARTSSON; ERLANDSSON; TAHERZADEH, 2014; CORRÊA, 2016). Esse fator torna desafiadora a tecnologia de produção de etanol a partir de biomassas lignocelulósicas (E2G).

**Figura 1.2: Etapas de obtenção do etanol 2G.**



Fonte: Acervo do autor (2017).

A parede celular dos materiais lignocelulósicos é composta por fibras de celulose e hemicelulose, envolvidas por uma macromolécula aromática denominada lignina, que imprime elevada rigidez à parede celular da célula vegetal. Devido à elevada organização dessa matriz natural, o acesso aos monômeros constituintes dos polissacarídeos (celulose e hemicelulose) é dificultado (CANILHA et al., 2009; SANTOS, 2014; PRATTO, 2015).

Os pré-tratamentos encontram-se subdivididos em físicos, químicos, biológicos ou combinados. Configuram a etapa inicial do processo de obtenção de E2G, visando à desorganização da estrutura lignocelulósica. Subsequente ao pré-tratamento, a etapa de hidrólise é realizada, visando à sacarificação dos polímeros em monômeros, passíveis a fermentação. A hidrólise pode ser ácida ou enzimática, sendo a última a mais utilizada industrialmente devido a sua elevada seletividade. A fermentação pode ocorrer posteriormente ou simultaneamente à etapa de hidrólise, na qual os microrganismos atuam na transformação dos açúcares a etanol. Finalmente, na etapa de destilação, o etanol será concentrado, obtendo-se o etanol hidratado ou anidro (SANTOS et al., 2014).

Para cada uma dessas etapas, diversas formas de execução têm sido encontradas na literatura. O grande desafio, porém, caracteriza-se por identificar a configuração dessas etapas que apresentará menor consumo de energia e maior conversão na sacarificação, com posterior produção de bioetanol (SANTOS et al., 2012; VIKARI;

VEHMAANPERA; KOIVULA, 2012; DUTTA; HALDER; MANDAL, 2014; MAURYA; SINGLA; NEGI, 2015).

O pré-tratamento hidrotérmico tem se destacado dentre os pré-tratamentos combinados, visto que há interesse no estudo da influência da água quente sob alta pressão nos processos de conversão de biomassas. Nesse caso, a água atua como o solvente e deve estar entre 150 e 230 °C. O pré-tratamento é visto como promissor, pois a princípio não gera nenhum tipo de corrosão ao equipamento utilizado (OLIVEIRA et al., 2014).

O pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino é um tratamento químico que objetiva a deslignificação da biomassa. Ocorre em condições amenas de temperatura e pressão, sendo considerado de baixo impacto ambiental. Esse pré-tratamento pode ser realizado sequencialmente ao hidrotérmico, alcançando assim remoções elevadas tanto da lignina quanto da fração hemicelulósica (BANERJEE et al., 2012).

A aplicabilidade do pré-tratamento de biomassas tem sido abordada na literatura com a descrição de modelos matemáticos capazes de prever o comportamento dos açúcares e produtos de degradação durante sua execução. O objetivo é que o modelo cinético consiga fornecer entendimento fundamental das mudanças que ocorrem com a fração celulósica e hemicelulósica durante a auto-hidrólise, sem ser, ao mesmo tempo, muito complexo (MITTAL et al., 2009a; PRATTO et al., 2016).

A etapa de hidrólise enzimática representa uma das maiores dificuldades em tornar o processo de produção de etanol de segunda geração industrialmente viável, devido a gargalos técnicos e econômicos. Idealmente, para se obter um licor concentrado em glicose seria importante realizar essa etapa utilizando-se uma carga de sólidos elevada, todavia essa ação leva a maior formação de inibidores das enzimas e dificuldades de transferência de calor e massa (CORRÊA; BADINO; CRUZ, 2016a; CORRÊA; BADINO; CRUZ, 2016b).

Ximenes et al. (2010) apontaram viabilidade econômica na produção de etanol de segunda geração ao se utilizar um substrato celulósico com pelo menos 200 g/L, ou seja, 20% de sólidos na etapa de sacarificação enzimática. Para tanto, tem se estudado a inserção da etapa de pré-sacarificação, ou ainda a estratégia de batelada alimentada, que visam diminuir a viscosidade do substrato, viabilizando a sacarificação enzimática com cargas de sólidos mais elevadas (VIAKARI; VEHMAANPERA; KOIVULA, 2012; CAVALCANTI-MONTAÑO et al., 2013).

Diante do exposto, observando-se a relevância do tema, esse trabalho aborda um estudo detalhado de duas das principais etapas de produção de etanol de segunda geração a partir da palha de cana-de-açúcar, quais sejam, o pré-tratamento e a hidrólise enzimática. Tendo em vista a falta de informações na literatura sobre modelos matemáticos capazes de descrever o comportamento do processo utilizando a palha de cana-de-açúcar durante a etapa de pré-tratamento e formas eficientes de elevar a carga de sólidos na hidrólise enzimática da palha, enfoque foi dado na proposta de um modelo cinético do pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar e na realização de hidrólise enzimática dessa biomassa aplicando-se estratégias de batelada alimentada com o intuito de se viabilizar um processo com alta carga de sólidos. Os objetivos do trabalho são descritos a seguir.

### 1.1 Objetivo geral

Avaliar configurações de pré-tratamentos e de hidrólise enzimática para se obter a mais adequada para produção de etanol lignocelulósico a partir da palha de cana-de-açúcar.

### 1.2 Objetivos específicos

- Realizar pré-tratamento hidrotérmico e alcalino da palha de cana-de-açúcar, caracterizando a biomassa *in natura* e após cada pré-tratamento, para avaliar sua eficiência em termos de material celulósico, rendimento mássico e grau de severidade;
- Avaliar o pré-tratamento hidrotérmico seguido de deslignificação, através do planejamento experimental para a escolha da condição ótima, entre as estudadas;
- Propor um modelo cinético para estudar a degradação da fração hemicelulósica e a perda da fração celulósica durante o pré-tratamento hidrotérmico;
- Realizar hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotermicamente, em batelada e batelada alimentada, utilizando-se carga de sólidos de 10 a 30% m/v com volume reacional de 50-mL e avaliação da concentração de açúcares, compostos fenólicos, derivados do furano e ácidos orgânicos. Experimentos

foram conduzidos também em reator de 3-L, com avaliação do consumo de potência e da reologia do meio reacional durante a hidrólise enzimática.

Para atingir os objetivos propostos, o trabalho foi estruturado em 8 capítulos, assim divididos:

O Capítulo 1 apresenta uma introdução ao tema abordado, destacando as principais motivações do estudo.

O Capítulo 2 traz uma revisão da literatura, apresentando com detalhes os temas abordados no trabalho.

O Capítulo 3 aborda uma avaliação do potencial energético de resíduos dos cultivos de arroz, soja, milho, trigo, coco e cana-de-açúcar, em termos de produção de energia elétrica e bioetanol.

O Capítulo 4 refere-se ao estudo de otimização de parâmetros do pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar.

O Capítulo 5 apresenta um modelo cinético para o pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar.

O Capítulo 6 diz respeito ao estudo da hidrólise enzimática em regime de batelada simples e batelada alimentada da palha de cana-de-açúcar pré-tratada. Ensaios foram realizados aplicando-se cargas de sólidos de 10, 20 e 30% m/v.

As conclusões obtidas no trabalho são expostas no capítulo 7.

Por fim, o capítulo 8 apresenta sugestões para trabalhos futuros.

## CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A produção de combustíveis a partir de fontes renováveis tem sido um assunto de elevado destaque. Isso porque soluções sustentáveis, que visam ao mínimo impacto ao meio ambiente, tornaram-se prioridade não só no Brasil, mas mundialmente. As biomassas surgem dentro desse contexto como fontes promissoras, pois possuem elevado potencial de conversão a etanol. O Brasil apresenta grande vantagem em termos de utilização de biomassas devido às condições climáticas favoráveis (SANTOS-ROCHA; ALMEIDA; CRUZ, 2017; PRONYK; MAZZA, 2010).

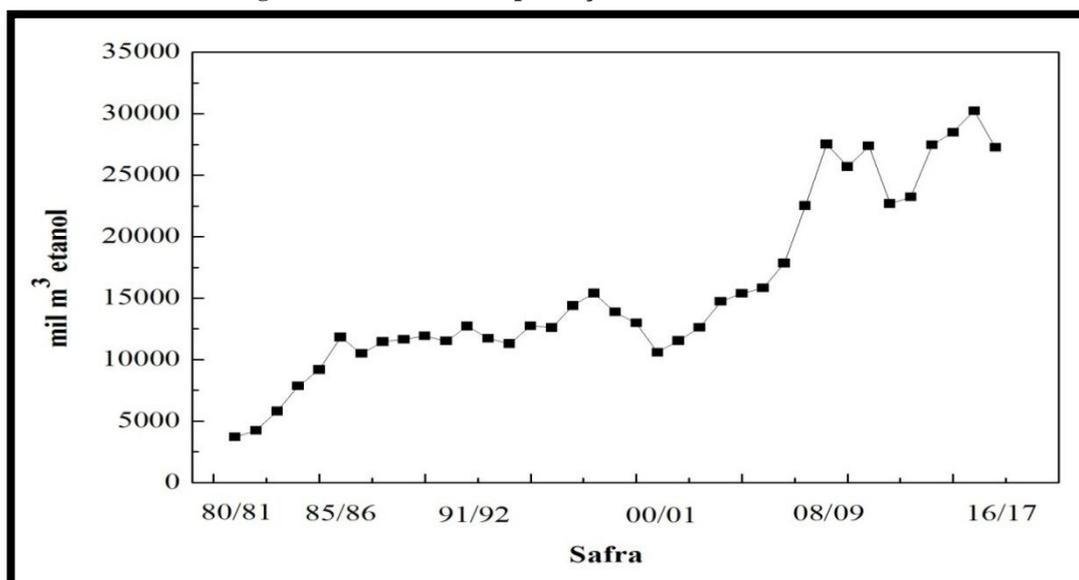
### 2.1 O Etanol

O etanol ou álcool etílico é um combustível considerado de alta qualidade por possuir um átomo de oxigênio em sua composição ( $C_2H_5OH$ ). Sua principal forma de obtenção é a partir da fermentação, processo que ocorre pela conversão de monossacarídeos presentes em matérias-primas açucaradas através de microrganismos (EPE, 2007; CGEE, 2009).

Tendo em vista que o etanol é um produto que faz parte do dia-a-dia do brasileiro, é indiscutível a sua importância no mercado nacional. A Figura 2.1 apresenta o histórico da produção de etanol (anidro e hidratado) no Brasil desde a safra de 1980/1981 até a última safra, em 2016/2017 (UNICA, 2017).

A produção de etanol no mercado nacional teve um acréscimo considerável ao longo dos anos, conforme verifica-se na Figura 2.1, com alguns momentos de queda que refletem situações de crise e instabilidade nos preços do açúcar e do etanol. Apesar disso, é notória a importância da produção desse combustível no mercado nacional.

Figura 2.1: Histórico da produção de etanol no Brasil.



Fonte: UNICA, 2017.

Para o caso da aplicação de fontes açucaradas, como é o caso do caldo da cana-de-açúcar ou da beterraba, os açúcares podem ser facilmente transformados a etanol pela levedura, obtendo-se assim o etanol chamado de primeira geração (E1G) (SANTOS, 2014).

Estudos tem se intensificado quanto à aplicação de biomassas como fonte de carboidratos para a produção de etanol, porém nesse caso, é necessário que algumas etapas sejam acrescentadas, pois os açúcares não se encontram diretamente disponíveis dentro da estrutura da biomassa. Dessa forma, obtêm-se o etanol de segunda geração (E2G). No contexto do E2G, muitos desafios ainda precisam ser superados para tornar o processo viável economicamente a nível industrial (BNDES; CGEE; FAO; CEPAL, 2008; CGEE, 2009).

## 2.2 Biomassa

De acordo com o Ministério de Minas e Energia (2007), “o termo biomassa compreende a matéria vegetal gerada pela fotossíntese e seus diversos produtos e subprodutos, tais como resíduos agrícolas, dejetos animais e matéria orgânica, contida nos rejeitos industrial e urbano.” Essa matéria contém energia química acumulada, obtida pela transformação energética da radiação solar, podendo ser convertida a etanol (ou outros

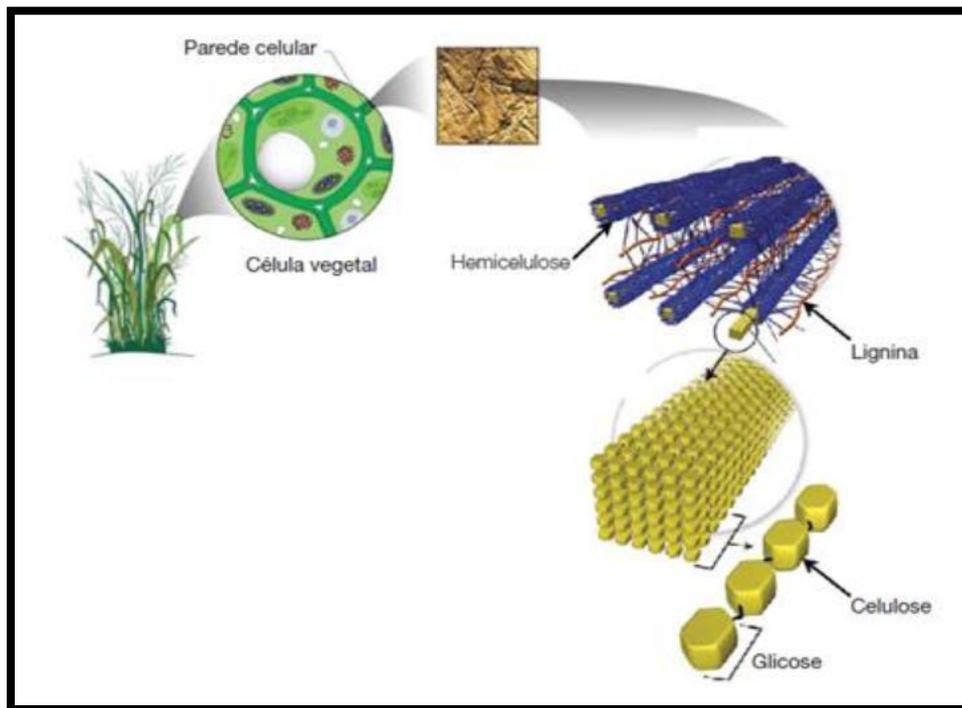
produtos energéticos) ou até mesmo liberada diretamente através da combustão. Desse modo, tem-se a bioenergia, que é a energia obtida a partir de biomassa (SANTOS, 2014; EPE, 2007).

Diversos tipos de biomassas têm sido aplicados ao redor do mundo na produção do etanol de segunda geração, como por exemplo, o bagaço e a palha de cana-de-açúcar, o sabugo e a palha de milho, a palha de trigo e de arroz, entre outros. Tendo em vista que hoje o Brasil se encontra no ranking mundial da produção de cana-de-açúcar, ocupando a primeira posição, e é pioneiro na obtenção do etanol de primeira geração, o mesmo encontra-se em posição privilegiada no sentido de realizar progressos concernentes a produção de etanol a partir de biomassas. Na safra de 2016/2017, 651.841.000 mil toneladas de cana-de-açúcar foram processadas pelas usinas brasileiras (UNICA, 2017). Além do mais, é estimado que para cada tonelada de cana-de-açúcar processada sejam gerados 140 kg de bagaço e 140 kg de palha, em base seca, o que equivale a 91.257.740 mil toneladas de bagaço e 91.257.740 mil toneladas de palha sendo gerados a partir da safra de cana-de-açúcar de 2016/2017 (SANTOS-ROCHA; ALMEIDA; CRUZ, 2017). Dessa forma, nota-se que os resíduos lignocelulósicos provenientes da cana-de-açúcar são bastante promissores para serem aplicados no país para a produção do E2G. Esse fato pode ser confirmado não apenas pela grande quantidade gerada dessas matérias-primas, mas também do ponto de vista da logística, já que o bagaço e a palha de cana já foram coletados no campo, estando disponíveis no próprio sítio industrial.

### 2.3 Biomassas lignocelulósicas

As biomassas lignocelulósicas são constituídas majoritariamente por celulose, hemicelulose e lignina, porém uma pequena quantidade de componentes orgânicos e inorgânicos também é encontrada em sua composição. A lignina é uma macromolécula aromática que reveste os carboidratos (celulose e hemicelulose) dentro da matriz lignocelulósica de uma planta. Dessa forma, a presença da lignina, apesar de imprimir à biomassa vegetal resistência e proteção, configura a maior dificuldade do aproveitamento dos carboidratos para a produção de etanol de segunda geração. Ela atua como uma barreira física dificultando o processo de hidrólise enzimática (PITARELO, 2007; SANTOS, 2014; PRATTO, 2015). A Figura 2.2 apresenta a complexa estrutura da biomassa vegetal.

Figura 2.2: Estrutura da biomassa lignocelulósica.



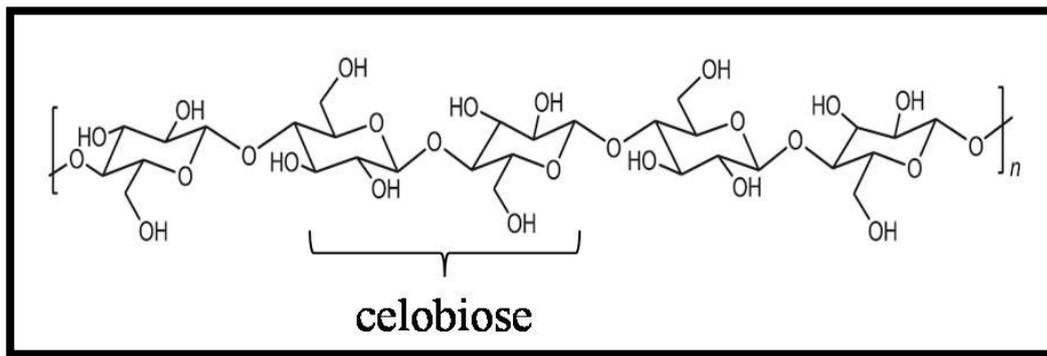
Fonte: CANILHA et al. (2009).

### 2.3.1 Celulose

A celulose é o polissacarídeo mais abundante da parede celular dos vegetais. Responde por cerca de 40 % da reserva de carbono disponível na atmosfera (NASCIMENTO, 2011). Possui cadeia bastante extensa, e é um polímero que apresenta regiões altamente ordenadas, sendo considerado um homopolissacarídeo constituído de monômeros de glicose unidos entre si através de ligações glicosídicas do tipo  $\beta$  1-4.

Esses monômeros são ligados através de seus grupos hidroxilas, com eliminação de uma molécula de água. A unidade repetitiva da molécula de celulose é a celobiose, definida como o dímero de glicose formado por cada ligação glicosídica, conforme representado na Figura 2.3 (PITARELO, 2007; SANTOS et al., 2012).

Figura 2.3: Representação da molécula de celulose.

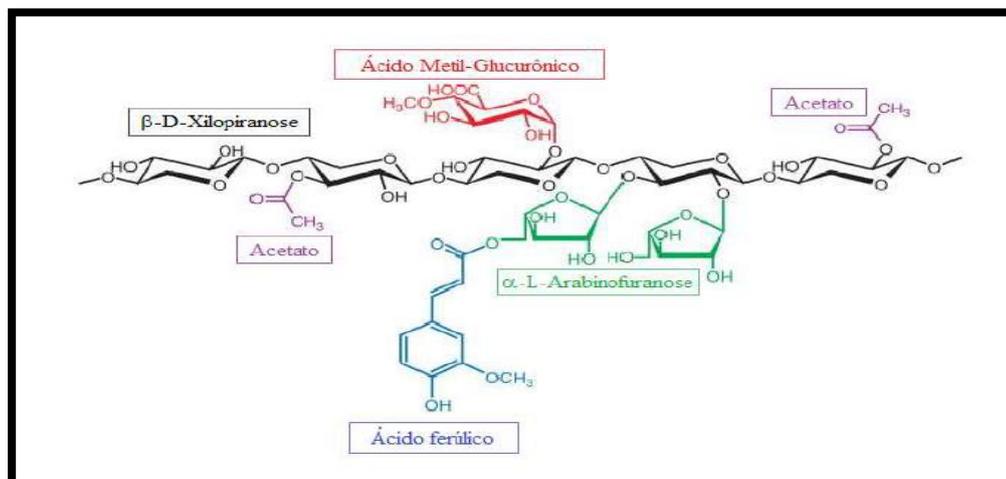


Fonte: Adaptado de Santos et al. (2012).

### 2.3.2 Hemicelulose

As hemiceluloses ou polioes são consideradas heteropolissacarídeos, pois é constituída por uma combinação de diversos tipos de monossacarídeos, ao contrário da celulose. São compostas por D-glicose, D-galactose, D-manose (hexoses), D-xilose, L-arabinose (pentoses), e ainda por pequena quantidade dos ácidos D-glucurônico e 4-O-metil-glucurônico. De forma geral, as xilanas são os polissacarídeos mais abundantes nas hemiceluloses. Do ponto de vista estrutural, são mais semelhantes à celulose do que a lignina. Apresentam também maior solubilidade em água em relação à celulose (FENGEL; WEGENER, 1989; CANILHA et al., 2009). A Figura 2.4 apresenta a estrutura geral de uma variedade de xilana isolada da parede celular de uma planta.

Figura 2.4: Diversas ligações encontradas em uma variedade de xilana.

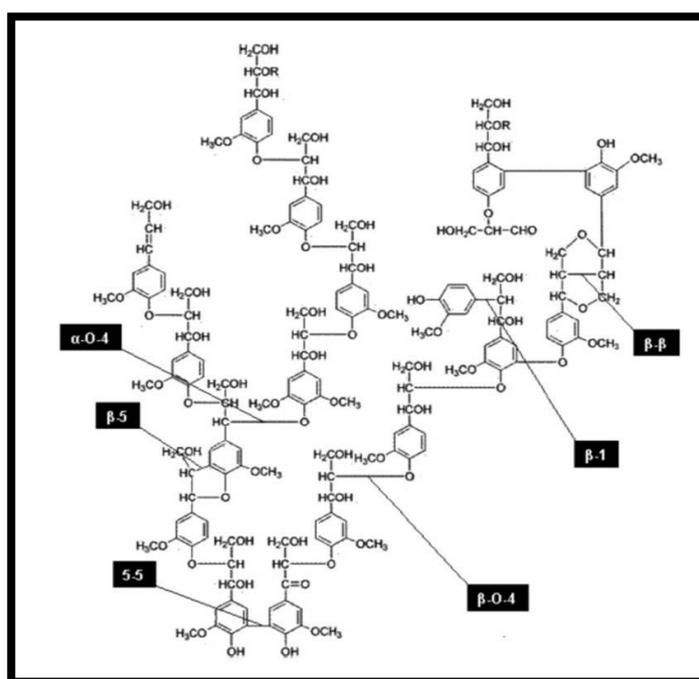


Fonte: Adaptado de DODD; CANN (2009).

### 2.3.3 Lignina

A lignina representa a maior dificuldade para o aproveitamento dos materiais lignocelulósicos, tendo em vista que está relacionada à estrutura das plantas, imprimindo-as elevada rigidez. Depois da celulose é a macromolécula mais abundante da terra. É sintetizada por via radicalar a partir de três unidades diferentes de fenilpropanos: álcool p-cumarílico, álcool coniferílico e álcool sinapílico (CARVALHO et al., 2009; SANTOS, 2014). A Figura 2.5 apresenta as principais ligações existentes na estrutura da lignina.

Figura 2.5: Esquema da estrutura da lignina com suas principais ligações.



Fonte: Adaptado de Carvalho et al. (2009).

### 2.3.4 Componentes orgânicos e inorgânicos

Os componentes minoritários presentes nas biomassas lignocelulósicas incluem os compostos orgânicos, denominados de extrativos e os compostos inorgânicos, onde se incluem as cinzas. Diferentes classes de compostos aparecem na classificação dos orgânicos extraíveis, como por exemplo, ácidos graxos, compostos fenólicos de baixo peso molecular, ceras, alcoóis, terpenos. As cinzas, que compreendem os componentes inorgânicos da matéria lignocelulósica, são constituídas principalmente por sulfatos, oxalatos, carbonatos e silicatos

de cálcio, potássio e magnésio, além de outros sais em quantidades menores (BIANCHI, 1995).

#### 2.4 Etapas da produção de etanol de segunda geração

Com a finalidade de romper parcialmente a recalcitrância apresentada pela estrutura lignocelulósica, diminuir barreiras físicas e aumentar a acessibilidade aos carboidratos pelas enzimas, o pré-tratamento torna-se fundamental (SANTOS-ROCHA et al., 2017). A etapa de hidrólise enzimática visa promover a sacarificação dos oligômeros a monômeros e, assim, a etapa fermentativa será conduzida para se obter o etanol.

A Figura 2.6 ilustra a palha de cana-de-açúcar *in natura* e após as etapas de pré-tratamento hidrotérmico e hidrólise enzimática.

**Figura 2.6:** Da esquerda para a direita: Palha de cana-de-açúcar *in natura*, pré-tratada e hidrolisada.



Fonte: Acervo do autor (2017).

É possível notar através da Figura 2.6 que a biomassa sofre alterações marcantes, tendo em vista o seu aspecto, coloração e textura. A palha de cana-de-açúcar pré-tratada apresenta uma coloração mais escura, quando comparada com a palha *in natura*. Esse efeito ocorre devido à recondensação da lignina na superfície dos carboidratos, à caramelização dos polissacarídeos e à formação de produtos derivados da degradação dos carboidratos (SANTOS et al., 2012; KIM et al., 2013; SOUZA, 2016). Após a hidrólise

enzimática, nota-se a formação de uma pasta, sugerindo que a biomassa foi, em sua maioria, liquefeita devido à ação das enzimas.

#### 2.4.1 Pré-tratamento

A etapa de pré-tratamento tem por objetivo alterar a estrutura dos lignocelulósicos promovendo, por exemplo, o aumento da área superficial e porosidade da biomassa. Mesmo que parcialmente, a estrutura da lignina é quebrada e ocorre o rompimento da cristalinidade da celulose. Essas ações são necessárias para facilitar o acesso de ácidos e/ou enzimas à celulose, para que esse polímero possa então ser hidrolisado a monômeros. A etapa de pré-tratamento representa, portanto, um dos principais estágios do processo de produção de etanol lignocelulósico (BEHERA et al., 2014; SANTOS-ROCHA et al., 2017).

Alvira et al. (2010) relataram algumas propriedades importantes a serem levadas em consideração quando da execução de um pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas. Resumidamente, é necessário que o pré-tratamento não promova degradação dos açúcares (ou que essa degradação seja a menor possível), que o sólido pré-tratado apresente alta digestibilidade, que a formação de compostos tóxicos seja minimizada, que não seja requerida redução no tamanho das partículas, pois essa ação encerra em alto consumo de energia e que o pré-tratamento apresente eficácia com baixo teor de umidade da biomassa, pois o uso de altas cargas de sólidos reduz o consumo energético durante o pré-tratamento.

O pré-tratamento pode ser conduzido de diversas formas, classificadas em métodos físicos, químicos, biológicos ou combinados (PRATTO, 2015). Os pré-tratamentos físicos, como é o caso da moagem, tem por finalidade aumentar a área superficial e porosidade da biomassa. Os pré-tratamentos que ocorrem por métodos químicos, como é o caso do uso de ácidos e bases, são aplicados para promover a remoção da lignina e/ou hemicelulose. Os pré-tratamentos biológicos estão especialmente associados com a ação de fungos capazes de produzir enzimas para degradar a lignina e/ou a hemicelulose. Os métodos de pré-tratamentos combinados, como por exemplo, o hidrotérmico e explosão a vapor, podem afetar as propriedades físicas e químicas da biomassa, dependendo das condições de processo e solventes utilizados (BEHERA et al., 2014). Dessa forma, consegue-se aumentar a

eficiência da produção de açúcar e também diminuir o tempo de processo (ZENG et al., 2014).

Dentro dos pré-tratamentos físico-químicos, o hidrotérmico tem demonstrado interesse particular por ser uma tecnologia ambientalmente correta. Isso porque, tendo em vista que é utilizada apenas água quente sob alta pressão (150-240 °C; 1–3.5 MPa), elimina-se problemas com corrosão e custos operacionais (SANTOS-ROCHA et al., 2017). Durante esse pré-tratamento, os íons hidrônio liberados pela auto-ionização da água catalisam a reação de degradação da fração hemicelulósica da biomassa. Essa degradação ocorre de forma seletiva, deixando a celulose e lignina praticamente inalteradas (MITTAL et al., 2009a).

Em seus estudos com bagaço de cana-de-açúcar, Santucci et al. (2015) relataram remoção de 95 % da fração hemicelulósica após pré-tratamento hidrotérmico a 190 °C e 67 minutos. Por outro lado, devido à decomposição dos açúcares no licor pré-tratado, os autores relatam que ótimas condições foram obtidas a 170 °C e 90 min, com 61,7 % de conversão da hemicelulose em oligômeros e monômeros de açúcar.

Petersen, Larsen e Thomsen (2009) realizaram um estudo de otimização do pré-tratamento hidrotérmico da palha de colza em escala piloto. Seis diferentes condições de pré-tratamento foram avaliadas com relação à recuperação dos açúcares e convertibilidade da celulose em etanol. Os experimentos mostraram que os ensaios conduzidos na temperatura de 195 °C de 6-12 min apresentaram os melhores resultados.

O pré-tratamento de explosão a vapor é um tratamento físico-químico que também tem demonstrado elevada eficiência em estudos de biomassas lignocelulósicas. A biomassa é submetida a uma alta pressão de vapor saturado (13-17 kgf; 190-205 °C) (CORRÊA, 2016) e esse contato pode durar entre 2 e 30 minutos (PITARELO, 2013). Após esse tempo de exposição, o material é submetido a uma rápida descompressão. Esse método permite a desintegração da biomassa lignocelulósica e aumenta de forma significativa a superfície de contato. Assim, ocorre degradação da hemicelulose e alterações na molécula de lignina, o que potencializa a posterior hidrólise da fração celulósica (BRAGATTO, 2010).

Liu et al. (2014) avaliaram o pré-tratamento por explosão a vapor da palha de milho e constataram que esse pré-tratamento se mostrou eficiente, ocorrendo em duas etapas sequenciais: um processo termo-químico de degradação da hemicelulose, enquanto manteve-

se elevada a temperatura e um processo físico de desconstrução da estrutura da biomassa, devido a rápida despressurização.

Iroba et al. (2014) estudaram o pré-tratamento e fracionamento da palha de cevada por explosão a vapor em baixos fatores de severidade (140-180 °C e 5-10 min). O pré-tratamento resultou em um desarranjo na matriz lignocelulósica com aumento da lignina solúvel. Foi também observada uma considerável degradação térmica da celulose e hemicelulose. Maiores tempos e temperaturas reacionais promoveram o decréscimo do tom amarelado da biomassa, que foi adquirindo um tom azulado com o aumento da severidade do pré-tratamento.

Com o objetivo de remover a lignina presente na biomassa, os pré-tratamentos alcalinos têm sido empregados. Utilizam reagentes químicos com caráter básico e apresentam elevada eficácia na deslignificação. Os pré-tratamentos alcalinos oxidativos utilizam um agente oxidante (por exemplo, o  $H_2O_2$ ) para potencializar a remoção da lignina através da oxidação seletiva de seus compostos aromáticos. Essa oxidação ocorre devido à quebra das ligações dos grupos hidrofílicos, dissolvendo a lignina e um pouco da hemicelulose (ASSUMPCÃO, 2015).

Assumpção (2015) relata em seus estudos remoção de aproximadamente 80% de lignina após realização de pré-tratamento combinado do bagaço de cana-de-açúcar, ácido e alcalino. Tendo em vista que o pré-tratamento ácido não se caracteriza por remover a lignina presente na biomassa, essa remoção é atribuída ao pré-tratamento básico, conduzido com solução alcalina de peróxido de hidrogênio (7,5% v/v).

O hidróxido de sódio (NaOH) e a amônia também tem sido bastante utilizados como reagentes de caráter básico com o intuito de deslignificar a biomassa. Pratto (2015) alcançou em seus estudos com palha de cana-de-açúcar quase 92% de remoção da lignina, após realização de pré-tratamento hidrotérmico seguido de alcalino. O pré-tratamento alcalino foi conduzido com NaOH 4% m/v, a 121°C por 30 min.

#### 2.4.1.1 Modelagem matemática do pré-tratamento de biomassas

Com o objetivo de identificar e prever as mudanças que ocorrem durante o pré-tratamento, estudos de modelagem dessa etapa tem sido realizados (MITTAL et al., 2009a; MITTAL et al., 2009b; PRONYK; MAZZA, 2010; VALLEJOS et al., 2015). Assim, é possível explicar o processo em escala piloto ou até mesmo industrial, identificando os compostos que são gerados e sucessivamente degradados durante a execução da etapa de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica.

Vallejos et al. (2015) realizaram o estudo cinético da extração hemicelulósica do bagaço de cana-de-açúcar a partir de pré-tratamento hidrotérmico (160-180 °C). A maior concentração de xilana no licor com um mínimo teor de furfural foi encontrada a 180 °C e 20 min de tratamento. Após longo tempo de pré-tratamento, foi identificada uma degradação de xilose e/ou furfural a outros componentes.

Os estudos de Santos-Rocha et al. (2017) apresentaram um modelo cinético para o pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar, sob as temperaturas de 180, 195 e 210 °C. Os resultados obtidos mostraram que a taxa de reação aumenta com o aumento da temperatura reacional. Além disso, foi possível detectar que o pré-tratamento hidrotérmico favoreceu principalmente a conversão dos carboidratos a oligômeros e monômeros.

#### 2.4.2 Hidrólise

A etapa de hidrólise, sequencial ao pré-tratamento, pode ocorrer por ação de ácidos ou enzimas e tem por objetivo converter os polissacarídeos em açúcares fermentescíveis. A Equação 2.1 mostra a reação de conversão da celulose à glicose.



Apesar de as reações catalisadas por ácidos ocorrerem mais rapidamente, a hidrólise enzimática tem se mostrado mais eficiente devido à sua elevada seletividade. Outro fator importante para ser levado em conta é que a hidrólise enzimática não necessita de equipamentos custosos, como é o caso da hidrólise ácida (PITARELO, 2013).

A hidrólise enzimática da celulose ocorre por ação de enzimas altamente específicas, denominadas celulasas. Essas enzimas atuam em condições amenas de temperatura e pH e catalisam a reação de hidrólise das cadeias celulolíticas. Na realidade, as celulasas são formadas por um complexo enzimático de endoglicanases, exoglicanases e  $\beta$ -glicosidases (SANTOS, 2014).

As endoglicanases iniciam a reação, promovendo a hidrólise de forma aleatória das regiões internas da estrutura amorfa da celulose, liberando oligossacarídeos e produzindo terminais redutores e não-redutores. As exoglicanases são subdivididas em celobiohidrolases e glicanohidrolases. Enquanto as celobiohidrolases promovem a liberação de celobiose a partir dos terminais redutores e não-redutores da celulose cristalina, as glicanohidrolases liberam moléculas de glicose diretamente do polímero. O último grupo das celulasas, as  $\beta$ -glicosidases, são enzimas que completam a hidrólise, pois têm a capacidade de hidrolisar celobiose e oligossacarídeos solúveis em glicose (ASSUMPÇÃO, 2015; PRATTO, 2015; SOUZA, 2016).

#### 2.4.2.1 Efeito da elevada carga de sólidos na hidrólise enzimática

Tendo em vista que o processo de hidrólise deve resultar em elevada concentração de açúcares no licor, a aplicação de alto teor de sólidos nessa etapa representa eficiência em termos energéticos na destilação. Por outro lado, executar a hidrólise enzimática em altas cargas de sólidos implica em problemas de transferência de calor e massa devido à dificuldade de agitação e mistura. Outro problema a ser considerado é a formação de compostos inibidores ou até mesmo desativadores das enzimas. Esses entraves resultam em uma redução significativa na conversão dos carboidratos a açúcares monoméricos (XIMENES et al., 2011; DU et al., 2014; FUJII et al., 2014; CARDONA et al., 2015). Assim, deve-se obter uma forma ideal de condução da hidrólise enzimática, que resulte em alto teor de açúcares fermentescíveis sem causar danos relacionados à conversão da celulose em glicose.

#### 2.4.2.2 Hidrólise enzimática em batelada alimentada

A literatura relata que o modo de operação batelada alimentada tem sido uma estratégia promissora para a execução da hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos. Através dessa técnica é possível se obter uma mistura reacional adequada durante todo o experimento, mesmo aplicando-se uma grande quantidade de matéria seca até o final da reação (CAVALCANTI-MONTAÑO et al., 2013; CORRÊA; BADINO; CRUZ, 2016b; SOTANIEMI et al., 2016).

Em estudos com bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor, Corrêa, Badino e Cruz (2016b) apontam que a conversão de celulose em glicose para a estratégia de batelada alimentada (carga final de 20% de sólidos) elevou-se em 31%, quando comparada à estratégia em que se realizou hidrólise enzimática com 20% de sólidos em batelada.

Cavalcanti-Montaño et al. (2013) avaliaram três diferentes estratégias para a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor. A primeira estratégia foi operação em batelada alimentada com adição somente de substrato. A segunda foi operação em batelada alimentada com adição de substrato e enzima, com o objetivo de manter altas taxas de reação. A terceira e última estratégia foi a condução da hidrólise enzimática através de sucessivas bateladas. Os melhores resultados foram obtidos com a segunda estratégia, onde foi adicionado enzima e substrato simultaneamente, alcançando aproximadamente  $200 \text{ g.L}^{-1}$  de glicose.

#### 2.4.2.3 Avaliação do consumo de potência e reologia do meio reacional

Existem algumas variáveis de processo de grande importância a serem monitoradas quando se executa a etapa de hidrólise enzimática em altas cargas de sólidos. O consumo de potência requerido para agitar o meio reacional, bem como o comportamento reológico identificado durante a reação de sacarificação, são propriedades que permitem verificar o consumo de energia que está sendo requerido e auxiliam na tomada de decisões

concernentes à viabilidade de escalonamento do processo (PEREIRA et al., 2011; HOU et al., 2016).

Pereira et al. (2011) avaliaram o processo de hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar em regime de batelada. Uma redução considerável na viscosidade aparente e na potência requerida para agitar o meio reacional é obtida ao final de 36 horas de hidrólise enzimática. Ao utilizar 600 rpm e impelidor tipo turbina Rushton na hidrólise, a viscosidade aparente e a potência apresentaram redução em torno de 190 e 46 vezes, respectivamente, considerando-se o início e o final do experimento de hidrólise enzimática. Esse comportamento indica que o regime de hidrólise em batelada exige elevado consumo energético no início do processo.

Corrêa, Badino e Cruz (2016b) avaliaram o consumo de potência em ensaios de hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar. Os resultados mostram que quando os experimentos foram conduzidos em batelada alimentada, não foi verificado nenhum pico de consumo de potência, o que implica em baixo consumo energético durante todo o experimento. Redução em torno de 5 vezes no consumo de potência por unidade de volume foi detectada, quando comparada ao ensaio que foi realizado em batelada.

#### 2.4.2.4 Compostos inibitórios liberados durante a hidrólise enzimática

Existem diversos compostos inibitórios que são liberados durante as etapas de processamento de biomassas, entre os quais se podem citar os ácidos orgânicos (acético, fórmico, levulínico) e os compostos derivados do furano (furfural e hidroximetilfurfural). Esses componentes podem dificultar a etapa de hidrólise enzimática e posterior fermentação dos açúcares a etanol. Efeito ainda mais pronunciado pode ser detectado quando a hidrólise enzimática é conduzida em elevadas cargas de sólidos. Visto que alguns desses componentes inibitórios são solúveis, lavar a biomassa após etapa de pré-tratamento poderá promover melhorias na posterior digestibilidade enzimática (KIM et al., 2009; KIM et al., 2011).

Outra razão a ser considerada, é o efeito da inibição pelo produto. O próprio açúcar que está sendo gerado durante a etapa de hidrólise caracteriza-se como um forte inibidor para as enzimas. Dessa forma, quanto maior a carga de sólidos empregada nessa

etapa, maior será a concentração de açúcares liberados e conseqüentemente haverá maior inibição pelo produto. Liu e Chen (2016) relataram esse problema em seus estudos com palha de milho pré-tratada por explosão a vapor e sacarificação e co-fermentação simultâneas empregando altas cargas de sólidos. Visto que se obteve concentração de açúcares maior que  $100 \text{ g.L}^{-1}$ , sugere-se um forte efeito de inibição dos açúcares para as enzimas.

Kim et al. (2011) reportam que os compostos fenólicos e os xilooligossacarídeos foram a principal causa de redução da atividade das celulases. A xilose solúvel, tanto na forma monomérica quanto oligomérica, provocou inibição da celulase instantaneamente. Os compostos fenólicos, mesmo em baixa concentração, foram fortemente inibitórios para as celulases, causando desativação e precipitação da  $\beta$ -glicosidase, reduzindo a taxa e os rendimentos da hidrólise da celulose.

#### 2.4.3 Fermentação

A fermentação pode ocorrer separadamente ou de forma simultânea à etapa de hidrólise. No processo separado, é possível executar cada uma das etapas em suas condições ótimas, porém pode ocorrer severa inibição da enzima pelos açúcares formados. Já para o caso em que as duas etapas ocorrem de forma simultânea, essa inibição pode ser fortemente minimizada tendo em vista que os açúcares formados serão sucessivamente convertidos a etanol. Outra vantagem é a redução nos investimentos com equipamentos. Por outro lado, a temperatura de operação é a principal limitação, pois a hidrólise enzimática ocorre de forma geral em temperaturas em torno de  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  e a maioria das leveduras operam entre  $30$  e  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  (COSTA, 2011; KULOYO, 2012).

Quando a fermentação visa à conversão da fração celulósica da biomassa, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* tem sido preferencialmente empregada. Essa levedura, já consolidada nos processos industriais de produção de etanol de primeira geração, apresenta elevada eficiência na fermentação das hexoses (BARBOSA, 2015). A biotransformação dos açúcares monoméricos a etanol ocorre conforme demonstra a Equação 2.2. Estequiometricamente, apenas uma molécula de glicose é necessária para a produção de duas moléculas de etanol e duas moléculas de gás carbônico.



Para o caso da fermentação das pentoses (fração C<sub>5</sub>), a reação ocorre de acordo com a Equação 2.3, que representa a reação de biotransformação da xilose a etanol. Estequiometricamente, três moléculas de xilose são necessárias para a formação de cinco moléculas de etanol e cinco moléculas de gás carbônico.



Alguns microrganismos têm sido empregados na conversão das pentoses, como por exemplo, as leveduras *Kluyveromyces marxianus* e *Pichia stipitis* (KULOYO et al., 2014; BARBOSA, 2015). A *K. marxianus* é uma levedura termotolerante, pois consegue se manter viável mesmo em temperaturas mais elevadas (52 °C). Por outro lado, porém, sabe-se que a levedura *S. cerevisiae* é naturalmente mais tolerante a altas concentrações de etanol do que a *K. marxianus* (COSTA, 2011). A *Pichia stipitis*, apesar de também se mostrar capaz de metabolizar as pentoses, é uma cepa que produz cinco vezes menos etanol em comparação com a *Saccharomyces cerevisiae*, e ainda requer maior controle de aeração. Além disso, apresenta baixa tolerância ao etanol produzido (BARBOSA, 2015). Devido a esses gargalos, a fermentação da fração hemicelulósica ainda representa um grande desafio.

A maior parte das usinas utiliza para a produção de etanol, o processo com recirculação e tratamento posterior da levedura, processo conhecido como Melle-Boinot. Este procedimento é considerado como o mais seguro, ao se levar em conta os fatores de assepsia e manutenção, já que ao final de cada batelada a dorna pode ser esvaziada para limpeza e possíveis manutenções no equipamento. Assim, uma nova fermentação poderá ser iniciada com segurança (MARTINS, 2009).

#### 2.4.4 Destilação

Por fim, após a etapa de fermentação é necessário que o etanol seja purificado e concentrado. A destilação é o processo de separação mais empregado nas indústrias para a concentração do etanol. É uma operação que visa à separação de componentes de uma mistura, de acordo com sua volatilidade relativa. O etanol é recuperado inicialmente na forma hidratada, com aproximadamente 92.8 – 94.7 INPM (m/m), deixando a vinhaça ou vinhoto como resíduo, normalmente numa proporção de 10 a 13 litros por litro de etanol produzido (SANTOS, 2013).

## CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ENERGÉTICO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS PROVENIENTES DE DIFERENTES REGIÕES BRASILEIRAS

Este capítulo apresenta uma avaliação preliminar do potencial energético de resíduos provenientes da colheita e do processamento de produtos agroindustriais de diferentes regiões brasileiras. O objetivo foi avaliar o potencial desses resíduos, como matérias-primas limpas e renováveis, na geração de energia e/ou também na produção de bioetanol. Analisaram-se os resíduos provenientes dos cultivos de arroz, milho, soja, trigo, cana-de-açúcar e coco. Os estudos mostraram que as biomassas provenientes da cana-de-açúcar (palha e bagaço) e do milho (palha) apresentam elevado potencial energético, podendo contribuir significativamente para o aumento da geração de energia elétrica. Com relação ao bioetanol, o uso de biomassas residuais (palha e bagaço de cana-de-açúcar, palha de trigo e milho e casca de coco) pode vir a contribuir com um acréscimo expressivo em litros de bioetanol por hectare, sem necessidade de aumentar a área plantada.

### 3.1 Introdução

Diante da necessidade de uma matriz energética mais limpa e renovável e da crescente preocupação com o meio ambiente, as biomassas vegetais, que compreendem toda a matéria orgânica vegetal que pode ser convertida em energia, tem sido largamente empregadas (PEREIRA et al., 2015). Os resíduos provenientes das indústrias de grãos, madeira, papel, entre outras, e que são, na maioria dos casos, subutilizados, são identificados como biomassas residuais promissoras para fins energéticos (GONÇALVES et al., 2014).

De acordo com dados do décimo segundo levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2017), a área de grãos plantada na safra 2016/17 foi de 60,9 milhões de hectares, o que representa crescimento de 0,4 % em relação ao levantamento passado. Nesse cenário, com toneladas de grãos sendo produzidas, toneladas de refugos agrícolas são descartados, incluindo casca, palha, bagaço, sabugo, entre outros (SALAZAR; SILVA; SILVA, 2005).

A proposta deste capítulo é apresentar um levantamento preliminar acerca do potencial energético dos resíduos provenientes do cultivo de arroz, milho, trigo e soja, bem como da cana-de-açúcar e do coco no Brasil, através de duas vertentes: (i) o potencial de geração de energia elétrica, fundamentado em dados de poder calorífico, e; (ii) o potencial de produção de bioetanol (etanol 2G) com base na composição química de cada biomassa residual. A localização geográfica dos resíduos também foi avaliada, com o intuito de verificar questões associadas ao aproveitamento desses resíduos.

### 3.2 Biomassas residuais: potencial energético

Quando se trata de avaliar o potencial energético de resíduos agroindustriais, o poder calorífico é uma variável que merece atenção. Define-se como a quantidade de energia na forma de calor liberada pela combustão de uma unidade de massa de material (JARA, 1989). Sabe-se que existe uma correlação negativa entre o poder calorífico e o teor de umidade presente em determinada biomassa; logo é importante para fins energéticos que a biomassa apresente teor de umidade que não afete negativamente o seu potencial para geração de energia (FURTADO et al., 2012).

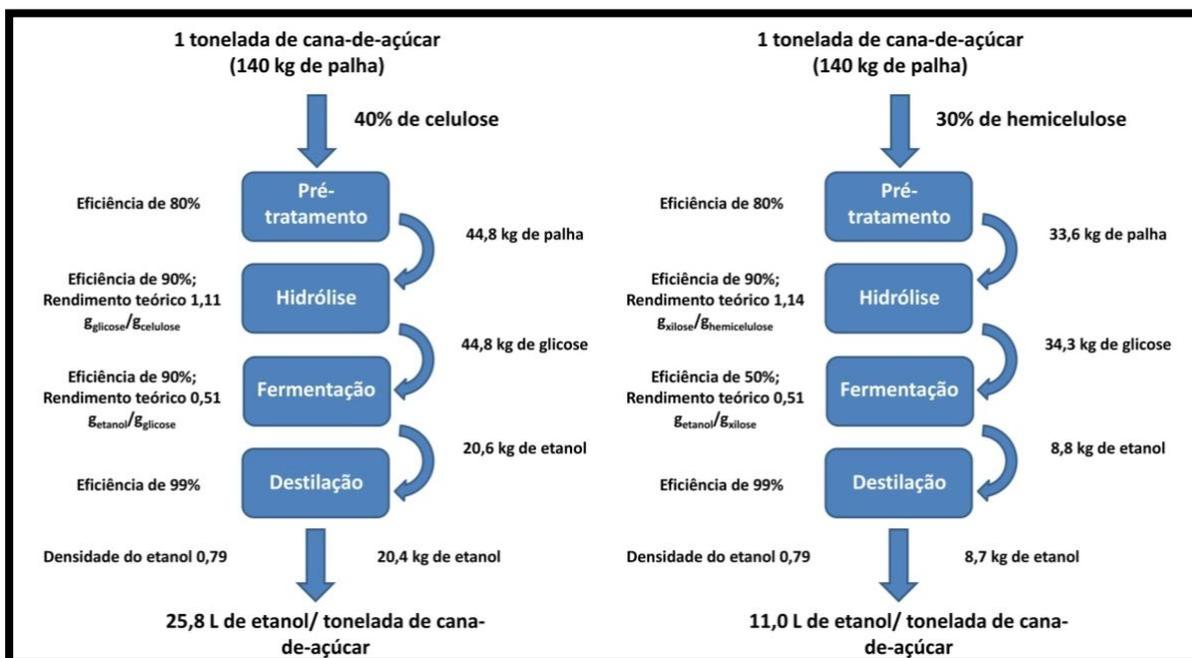
O poder calorífico pode ser classificado em superior e inferior. O poder calorífico superior (PCS) é definido quando a combustão se efetua a volume constante e na qual a água formada durante a combustão é condensada e o calor que é derivado desta condensação é recuperado (BRIANE; DOAT, 1985). Já o poder calorífico inferior (PCI) é definido como a energia efetivamente disponível por unidade de massa de combustível após calcular as perdas com a evaporação da água (JARA, 1989). Nesse estudo será empregado o PCS das biomassas, visto que é o poder calorífico superior que pode ser determinado por meio de análise experimental em calorímetros usuais, o que não ocorre com o PCI, que por sua vez, é determinado através de cálculos analíticos a partir do PCS.

Fica claro que para se obter bons rendimentos em termos de queima do combustível, o poder calorífico do material utilizado deve ter valores expressivos para que se possa indicar o material como bom gerador de energia (RAMOS E PAULA et al., 2011). O desenvolvimento de processos para a produção de bioetanol a partir de biomassas envolve a otimização, de forma integrada, das etapas de pré-tratamento, sacarificação, fermentação e

destilação. Para que se possa avaliar a eficiência nas diferentes etapas desse processo, é essencial determinar a composição química da biomassa utilizada durante a sua conversão nas diferentes etapas envolvidas. Sem ela é impossível avaliar se as condições utilizadas estão sendo favoráveis à produção de etanol e, assim, realizar estudos de valorização de materiais lignocelulósicos (GOUVEIA et al., 2009).

No processo de obtenção de E2G, cada etapa apresenta um determinado rendimento. A Figura 3.1 ilustra as operações unitárias envolvidas no processo de produção de E2G (a partir da celulose e da hemicelulose) com os respectivos rendimentos alcançados em cada uma das etapas do processo, tomando por base a quantidade de palha presente em uma tonelada de cana-de-açúcar. A composição química da palha de cana-de-açúcar foi obtida da literatura (SANTOS et al., 2012; MOTA; MONTEIRO, 2013; PRATTO, 2015).

**Figura 3.1: Potencial de obtenção do E2G a partir da celulose e da hemicelulose presentes na palha de cana-de-açúcar.**

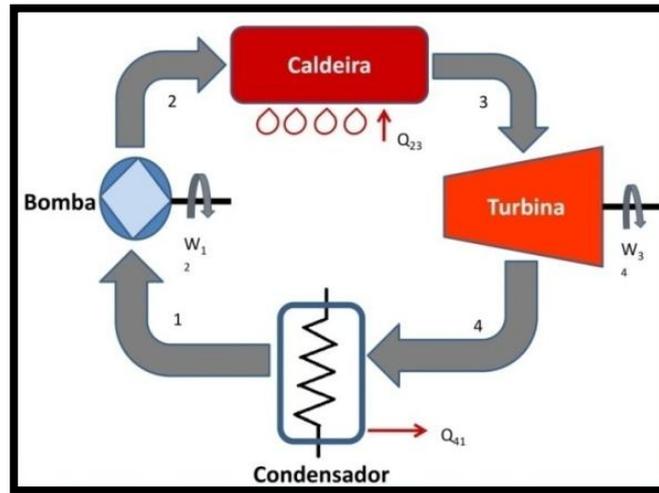


Fonte: Acervo do autor (2017).

A produção de energia elétrica a partir de biomassas residuais apresenta-se como outra vertente promissora para suprir a demanda por energia no Brasil. Estima-se que 90% de toda energia elétrica produzida mundialmente ocorre através do ciclo de *Rankine* (Figura 3.2), que é um ciclo termodinâmico reversível, capaz de converter calor em trabalho. O setor sucroalcooleiro brasileiro utiliza esse tipo de sistema, empregando o bagaço de cana-

de-açúcar como principal biomassa residual. O ciclo é composto por quatro processos internamente reversíveis, em que ocorre na caldeira (aquecedor), adição de calor à pressão constante, na turbina, expansão adiabática, no condensador, ocorre perda de calor à pressão constante, e por fim, a bomba realiza compressão adiabática (DANTAS-FILHO, 2009).

Figura 3.2: Ciclo Rankine.



Fonte: Acervo do autor (2017).

A energia gerada é utilizada no próprio processo ou quando há excedente vendida para a concessionária de energia elétrica. A biomassa, que é a fonte de calor, é alimentada e queimada diretamente nas caldeiras, sendo a energia térmica resultante utilizada na produção de vapor. Este vapor alimenta as turbinas, gerando assim energia elétrica. Após sair das turbinas e realizar trabalho, o vapor segue para atender as necessidades térmicas do processo (DANTAS-FILHO, 2009). Qualquer tipo de biomassa, incluindo os resíduos lignocelulósicos em geral, devido à sua elevada qualidade energética, pode ser alimentada à caldeira para geração de calor.

### 3.2.1 Milho

O milho (*Zea mays*) pertence à família *Gramineae*, e é originário da América Central. É um grão que pode ser cultivado nos hemisférios norte ou sul, ao nível do mar e em regiões montanhosas, em climas úmidos e regiões secas, devido à sua grande capacidade de adaptação a diversos climas (MATOS, 2007; RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003).

De acordo com a FAO (2014) o Brasil ocupa a terceira posição entre os países produtores de milho, ficando atrás somente dos Estados Unidos da América e da China, sendo este o terceiro produto agrícola mais produzido no Brasil, depois da cana-de-açúcar e da soja (FAO, 2014).

No décimo segundo levantamento referente à safra 2016/2017, realizado pela Conab em setembro de 2017, a área total semeada com milho em todas as regiões do Brasil atingiu 17.592,1 mil hectares, o que equivale a 97.712,0 mil toneladas, sendo 14.275,8 mil hectares (88.459,4 mil toneladas) na região centro-sul e 3.316,3 mil hectares (9.252,6 mil toneladas) na região norte-nordeste (CONAB, 2017).

A palha e o sabugo são importantes subprodutos da indústria do milho. A palha é obtida ainda durante a colheita e na maioria dos casos não possui uma utilização definida, tornando-se um resíduo. Já o sabugo, parte interna e mais densa do milho, é o resíduo gerado após o milho ser debulhado e geralmente é usado para ração animal (SANTOS, 2014). Para cada tonelada de milho processado são gerados, aproximadamente, 180 kg de sabugo (TORRE et al., 2008; TSAI et al., 2001) e 700 kg de palha (HORST, 2013).

### 3.2.2 Arroz

O arroz (*Oryza sativa L* entre outras espécies do gênero *Oryza*) é uma planta pertencente à família das gramíneas e é responsável pela alimentação da metade da população humana. No cenário mundial, caracteriza-se como a terceira maior cultura de grãos (ROCHA et al., 2011). As cascas de arroz representam aproximadamente 20% da massa seca da colheita, sendo um abundante resíduo lignocelulósico. Essas cascas cobrem e protegem o grão durante o seu crescimento, e consistem de camadas, que compreendem a epiderme exterior, revestida com uma camada de cutícula espessa de células altamente silicificadas (DAGNINO et al., 2013).

Segundo dados do décimo segundo levantamento do CONAB em 2017, a área plantada de arroz atingiu 1.980,9 mil hectares, o que equivale a 12.328,1 mil toneladas, sendo 1.488,7 mil hectares no centro-sul (10.804,7 mil toneladas) e 492,2 mil hectares no norte-

nordeste (1.523,4 mil toneladas) (CONAB, 2017). Para cada tonelada de grãos de arroz colhidos são gerados, em média, 220 kg de casca (DIAS et al., 2012).

### 3.2.3 Soja

A soja (*Glycine Max L.*) é considerada uma leguminosa originária da China, cultivada há mais de cinco mil anos. A soja começou a ser cultivada nas Américas no início do século XX. Atualmente é cultivada nos Estados Unidos, Brasil e Argentina, que juntos produzem aproximadamente 85% da soja do mundo (FERNANDES; LUZ; CASTILHOS, 2010).

O décimo segundo levantamento da safra brasileira de soja na temporada 2016/17, realizado pela Conab, apresentou 33.909,4 mil hectares de área plantada para a soja, correspondendo a 114.075,3 mil toneladas, sendo 29.004,6 mil hectares para a região centro-sul (98.894,2 mil toneladas) e 4.904,8 mil hectares para o norte-nordeste (15.181,1 mil toneladas) (CONAB, 2017). A geração de resíduos para a cultura da soja é da ordem de 80 kg de casca para cada tonelada de grão. Industrialmente, a casca de soja não possui alto valor agregado, sendo amplamente utilizada como ração animal, na forma solta ou peletizada (ROJAS, 2012).

### 3.2.4 Coco

O coqueiro (*Cocos nucifera L.*) é uma palmeira perene, originária do sudeste asiático, que foi introduzida no Brasil por volta de 1553, no estado da Bahia, trazida pelos portugueses. Por ser uma cultura de clima tropical, encontrou condições propícias para seu desenvolvimento no país e se espalhou pelas regiões Norte, Nordeste e Sudeste (PEREIRA, 2012; PURSEGLOVE, 1975).

A casca do coco verde, enquanto matéria-prima não utilizada apresenta custos e impactos para a sociedade e meio ambiente, ao passo que o seu aproveitamento, para geração de energia, agrega valor ao resíduo e pode trazer benefícios para o meio como um todo. Empresas automobilísticas, de beneficiamento do coco, a Empresa Brasileira de

Pesquisas Agropecuárias – EMBRAPA, Universidades Federais e Estaduais, dentre outras, estão investindo em pesquisas para encontrar maneiras de utilização das cascas de coco verde (SILVEIRA, 2008).

Segundo o Levantamento Sistemático da Produção Agrícola apresentado em agosto de 2017, a área plantada do coco foi de 224,666 mil hectares, o que equivale a 3.508,850 mil toneladas, sendo 206,957 mil hectares (3.058,288 mil toneladas) na região norte-nordeste e 17,709 mil hectares (400,006 mil toneladas) na região centro-sul (LSPA-IBGE, 2017). Estima-se que 850 kg de casca de coco verde sejam gerados para cada tonelada de coco produzida (DIAS et al., 2012).

### 3.2.5 Trigo

O trigo (*Triticum*) foi introduzido na Índia, China e Europa desde cinco mil anos a.C. Pertencente à família *Poaceae* se originou do cruzamento de outras plantas silvestres que existiam nas proximidades dos rios Tigre e Eufrates (BRAMMER, 2000); (FERNANDES et al., 2000).

Em geral, o trigo nacional é utilizado pela indústria para a produção de massas. Por ser de elevada importância no consumo, especialmente humano, representa um produto de elevada importância estratégica. Existem estimativas de redução das importações de trigo nos próximos anos devido ao aumento esperado da produção interna. Segundo técnicos da CONAB, o Brasil tem potencial para expandir a produção de trigo, sendo ainda produzido com ótima qualidade (HORST, 2013).

Atualmente a produção de trigo no país concentra-se na região Sul, nos estados de Paraná, 56,4%, e Rio Grande do Sul, 33,6%. A participação de outros estados é ainda pequena. A produção projetada de trigo para 2020/2021 é de 6,2 milhões de toneladas, e um consumo de 11,7 milhões de toneladas no mesmo ano. O abastecimento interno exigirá importações de 5,5 milhões de toneladas em 2020/2021 (MAPA, 2011).

De acordo com dados do Conab a área plantada de trigo alcançou 1.917,1 mil hectares na safra 2016/2017, o que equivale a 5.185,5 mil toneladas, sendo 1.912,1 mil hectares para a região centro-sul (5.155,5 mil toneladas) e 5,0 mil hectares para o norte-

nordeste (30,0 mil toneladas) (CONAB, 2017). Estima-se que para cada tonelada de grãos de trigo produzidos, são geradas 1,36 toneladas de palha (HORST, 2013).

### 3.2.6 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta herbácea, alógama, pertencente à família *Poaceae*, tribo *Andropogoneae* e gênero *Saccharum*. A família *Poaceae* (ou família das gramíneas) tem grande importância para a economia humana, pois nela se incluem cereais, tais como milho, trigo, arroz e sorgo, bem como muitas outras culturas forrageiras (TZVELEV, 1989).

Existem várias teorias que tentam explicar sua origem, porém a maioria das publicações cita que a cana-de-açúcar é originária da Nova Guiné, por volta de 2.500 a.C., utilizada naquela época, tanto para a construção de cercados como para apreciar o seu caldo açucarado. O cultivo expandiu-se para a Índia, China e regiões vizinhas, entre 1.500 a.C. e 1.000 a.C. (MATSUOKA; GARCIA; ARIZONO, 2005). Posteriormente a cana-de-açúcar se disseminou para vários lugares do mundo, principalmente para países tropicais e subtropicais (WOLF, 2011).

A produtividade média de cana-de-açúcar no Brasil é de 85 toneladas por hectare. Cada tonelada de cana processada gera cerca de 140 kg de palha e 140 kg de bagaço em base seca, ou seja, 12 toneladas de palha e 12 toneladas de bagaço por hectare (SANTOS et al., 2014).

Segundo dados do LSPA, a área plantada de cana-de-açúcar atingiu 9.620,725 mil hectares em 2017, o equivalente a 715.494,327 mil toneladas, sendo 1.031,099 mil hectares na região norte-nordeste (57.282,816 mil toneladas) e 8.589,626 mil hectares na região centro-sul (658.211,511 mil toneladas) (LSPA-IBGE, 2017).

Diante do exposto, verifica-se que há uma grande quantidade de resíduos sendo gerado anualmente a partir dos diferentes cultivos das regiões brasileiras, o que potencializaria sua utilização em larga escala para fins promissores, que possam gerar valor agregado a esses resíduos agroindustriais.

De acordo com o relatório síntese do Balanço Energético Nacional 2017, tomando como referência o ano base 2016, os principais setores que utilizaram energia foram:

Indústria (33,0 %), transportes (32,4 %), setor energético (10,3 %), residências (9,7 %), serviços (4,9 %) e agropecuária (4,0 %) (BEN, 2017). Com relação ao consumo de energia nas indústrias, 18,5% foi a partir do bagaço de cana-de-açúcar, o que representa 16,2 Mtep (mega tonelada equivalente de petróleo). No caso do setor energético, o bagaço de cana-de-açúcar denota um valor expressivo de 45,4% (12,5 mil tep). No setor de transportes, 15,1% do consumo de energia foi a partir de etanol (13,0 Mtep).

Os números expostos confirmam que a oferta de energia interna tem crescido no âmbito dos renováveis, indicando que ao longo dos anos outras fontes de biomassa se desenvolveram e se consolidaram como de fato já acontece com o bagaço da cana. Dados de poder calorífico e composição química de lignocelulósicos são apresentados nas Tabelas 3.1 e 3.2, respectivamente.

**Tabela 3.1: Poder calorífico superior (PCS) de diversas biomassas lignocelulósicas.**

Resíduo	PCS (Mtep)	Referência
Palha de Milho	24,73	SANTOS, 2014
Sabugo de Milho	6,60	
Casca de Arroz	0,89	HORST, 2013
Casca de Soja	3,34	RAMOS e PAULA et al., 2011
Palha de Trigo	3,30	HORST, 2013
Casca de Coco	1,47	ESTEVEES, 2014
Palha de Cana-de-açúcar	41,80	SANTOS et al., 2014
Bagaço de Cana-de-açúcar	41,57	

\*Mtep: mega tonelada equivalente de petróleo

A partir da Tabela 3.1, pode-se observar que as biomassas estudadas apresentam poder calorífico superior bastante diversificado. Observa-se que os valores do PCS dos resíduos provenientes da cana-de-açúcar são os mais promissores, visto que apresentam elevado valor. A palha de milho também oferece um PCS atrativo, apesar de inferior ao da palha e bagaço de cana.

Diante da necessidade de diversificação da matriz energética, acredita-se que os resíduos citados são promissores e devem, ao longo dos anos, passar a compor a matriz energética nacional no sentido de suprir o setor energético brasileiro, que já utiliza como fonte principal o bagaço de cana-de-açúcar. As demais biomassas indicam valores inferiores em comparação ao bagaço de cana e à palha de cana e milho.

A composição química das biomassas apresentada na Tabela 3.2 mostra que, para todos os resíduos avaliados, a celulose é o componente presente em maior quantidade. Esse fator faz com que os resíduos se mostrem promissores para a produção do etanol 2G, visto que esse polímero é o de maior interesse e que pode ser convertido a açúcares fermentescíveis após as etapas de pré-tratamento e hidrólise, e seu processo fermentativo ocorre pelo uso de leveduras comerciais (SANTOS, 2014). Nota-se também que para a maioria dos resíduos, a hemicelulose é o segundo componente mais abundante, exceção apenas para as cascas do arroz e do coco que apresentam nessa posição a lignina. As hemiceluloses são heteropolissacarídeos que também podem ser submetidos às etapas adequadas para obtenção do bioetanol, porém esse processo não ocorre fazendo-se uso do principal microrganismo utilizado na produção industrial de etanol, a *Saccharomyces cerevisiae* (SUAREZ, 2014).

**Tabela 3.2: Composição química de diferentes biomassas lignocelulósicas.**

Resíduo	Composição Química (%)							Total	Referência
	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Extrativos	Cinzas	Pectina	Proteína		
Palha de Milho	36,7	34,2	14,0	11,6	2,3	—	—	98,8	SANTOS, 2014
Sabugo de Milho	35,4	26,9	18,0	18,3	2,4	—	—	101,0	
Casca de Arroz	34,0	13,0	29,0	3,0	17,0	—	2,0	98,0	HICKERT, 2010
Casca de Soja	35,8	23,1	9,1	5,0	4,0	4,2	15,4	96,6	ROJAS, 2012
Palha de Trigo	35,1	19,8	18,9	14,2	9,3	—	—	97,3	KAPARAJU; FELBY, 2010 HORST, 2013
Casca de Coco	41,0	21,5	30,6	3,7	6,5	—	—	103,3	ESTEVEZ, 2014
Palha de Cana-de-açúcar	44,3	31,1	19,0	16,7	4,9	—	—	99,3	WOLF, 2011
Bagaço de Cana-de-açúcar	38,8	29,4	21,7	4,9	5,1	—	—	99,9	

A produção do etanol chamado de segunda geração tem ganhado espaço e importância, visto que há uma necessidade emergente de diversificação da matriz energética brasileira. Essa necessidade de fontes alternativas tem crescido principalmente devido ao fato de que fontes derivadas do petróleo são poluentes e de preços instáveis (BACH et al., 2014).

Apesar do estudo do etanol celulósico não ser recente, seu custo de produção ainda representa um desafio. Investimentos em pesquisas estão sendo continuamente realizados, objetivando melhorias no processo, o que inclui redução de custos em todas as etapas envolvidas (WANG et al., 2014).

### 3.3 Potencial para produção de etanol lignocelulósico

De acordo com a quantidade gerada dos resíduos de cada cultura e considerando-se eficiência de: 80% na etapa de pré-tratamento; 90% na hidrólise da celulose em glicose; 90% na fermentação da glicose em etanol; 90% na hidrólise da hemicelulose em xilose; e 50% de eficiência na fermentação da xilose em etanol, pode-se fazer uma estimativa do aumento significativo da produção de etanol por hectare sem que haja expansões das áreas de cultivo (SANTOS et al., 2012; MOTA; MONTEIRO, 2013). As Tabelas 3.3 e 3.4 apresentam esses resultados para a celulose e hemicelulose, respectivamente.

**Tabela 3.3: Potencial de produção de etanol a partir da celulose presente nos resíduos de cada cultura.**

Resíduo	Teor de Celulose por tonelada de resíduo (%)	Glicose obtida a partir da hidrólise da celulose <sup>1</sup> (kg)	Etanol obtido a partir da fermentação da glicose <sup>2</sup> (kg)	Volume de etanol por tonelada de resíduo <sup>3</sup> (L)	Volume de etanol por hectare de biomassa (L)
Palha de Milho	36,7	293,57	135,01	170,90	503,65
Sabugo de Milho	35,4	283,17	130,23	164,85	124,92
Casca de Arroz	34,0	271,97	125,08	158,33	183,92
Casca de Soja	35,8	286,37	131,70	166,71	38,28
Palha de Trigo	35,1	280,77	129,13	163,45	653,55
Palha de Cana-de-açúcar	44,3	354,36	162,97	206,29	2.194,10
Bagaço de Cana-de-açúcar	38,8	310,37	142,74	180,68	1.921,70
Casca de coco	41,0	327,97	150,83	190,93	2.426,20

1: 1,111 g/g; assumindo 80% de eficiência no pré- tratamento e 90% de eficiência na hidrólise; 2:  $Y_{p/s} = 0,51$  g/g; assumindo 90% de eficiência na fermentação; 3: densidade do etanol 0,79

A análise dos dados apresentados nas Tabelas 3.3 e 3.4 mostra que a utilização dos resíduos das culturas de milho, arroz, soja, trigo, cana-de-açúcar e coco apresenta grande potencial de geração de etanol por hectare de área cultivada, levando em conta os teores de celulose e hemicelulose.

**Tabela 3.4: Potencial de produção de etanol a partir da hemicelulose presente nos resíduos de cada cultura.**

Resíduo	Teor de Hemicelulose por tonelada de resíduo (%)	Xilose obtida a partir da hidrólise da hemicelulose <sup>1</sup> (kg)	Etanol obtido a partir da fermentação da xilose <sup>2</sup> (kg)	Volume de etanol por tonelada de resíduo <sup>3</sup> (L)	Volume de etanol por hectare de biomassa (L)
Palha de Milho	34,2	279,73	71,47	90,47	266,61
Sabugo de Milho	26,9	220,02	56,22	71,16	53,92
Casca de Arroz	13	106,33	27,17	34,39	39,95
Casca de Soja	23,1	188,94	48,27	61,11	14,03
Palha de Trigo	19,8	161,95	41,38	52,38	209,42
Palha de Cana-de-açúcar	31,1	254,37	64,99	82,27	874,99
Bagaço de Cana-de-açúcar	29,4	240,47	61,44	77,77	827,16
Casca de coco	21,5	175,85	44,93	56,87	722,73

1: 1,136 g/g; assumindo 80% de eficiência no pré-tratamento e 90% de eficiência na hidrólise; 2:  $Y_{p/s} = 0,51$  g/g; assumindo 50% de eficiência na fermentação; 3: densidade do etanol 0,79

O aproveitamento dos resíduos da cana-de-açúcar (bagaço e palha) possibilitaria um incremento de 5.817,95 litros na produção de etanol por hectare, passando dos atuais 7.000 litros (obtidos pelo processo convencional a partir do caldo) para 12.817,95 litros (aproveitamento integral da cana-de-açúcar) (SANTOS et al., 2012). Esse aumento é bastante significativo, visto que não necessitaria expansão das áreas de cultivo. A palha de milho, de trigo e a casca de coco também oferecem números atrativos, frente aos demais resíduos que apresentam valores bem inferiores e que talvez não representem grande significância no potencial de produção de etanol total (casca de arroz, de soja e sabugo de milho).

Atualmente, a utilização de biomassas para produção de etanol de segunda geração já é realidade em nosso país, com grande tendência de crescimento ao longo dos anos visto que esse tipo de inovação apresenta-se como a chave para tornar o etanol ainda mais competitivo e suprir a crescente demanda de biocombustíveis no Brasil e no mundo.

A empresa Raízen se destaca no setor energético como uma das mais competitivas do mundo. Possui diversas unidades produtoras e distribuidoras espalhadas nas diferentes regiões do Brasil e utiliza os co-produtos da cana-de-açúcar: palha e bagaço, para a produção do etanol celulósico. Em novembro de 2014, iniciou a operação de sua primeira planta industrial para a fabricação do etanol 2G em escala comercial. A unidade está localizada em Piracicaba (SP), e tem uma capacidade instalada de 40 milhões de litros de etanol por ano (RAÍZEN, 2015).

### 3.4 Localização geográfica dos resíduos

O aproveitamento de resíduos agroindustriais é uma questão que se encontra diretamente associada à localização geográfica de suas culturas geradoras bem como de suas respectivas capacidades produtivas. Fatores bastante relevantes, como é o caso dos custos associados ao transporte e ao armazenamento de tais resíduos, podem ser minimizados levando-se em conta as regiões de maior beneficiamento potencial.

A Tabela 3.5 apresenta os resultados por região dos cultivos estudados nesse trabalho. Observa-se que as culturas do milho e da soja estão concentradas na região centro-oeste, sendo, por consequência, a região brasileira que gera maior quantidade destes resíduos: milho (sabugo e palha), soja (casca de soja). Logo, essa região apresenta-se como a de maior potencial para a localização de uma unidade produtiva de etanol 2G que tenha intuito de utilizar como fonte de biomassa os resíduos do milho e da soja.

**Tabela 3.5: Produção das culturas por região.**

Cultura	Região	Região	Região	Região	Região
	Norte	Nordeste	Centro-Oeste	Sudeste	Sul
	Produção (em mil t)				
Milho	2.601,5	6.156,1	39.411,5	11.303,4	24.120,0
Soja	4.461,2	8.953,3	46.806,1	6.685,9	35.005,2
Arroz	1.027,3	757,0	837,9	78,4	9.516,2
Trigo	—	—	88,1	475,9	6.088,6
Cana-de-açúcar	2.637,2	68.272,8	137.086,5	445.043,5	52.775,9
Coco	412,3	2.834,6	—	440,3	—

Já para o caso das culturas de arroz e trigo, a região sul detém a maior produção. Quando se verifica a cultura de cana-de-açúcar, a região sudeste é a que apresenta maior produção. De fato, as grandes usinas brasileiras encontram-se na região sudeste devido à grande capacidade produtiva de cana-de-açúcar nessa região. Por fim, na região nordeste predomina a produção do coco, o que indica que fábricas de beneficiamento de resíduos do coco verde deveriam se instalar nessa região, visto que esses resíduos são bastante volumosos, inviabilizando seu transporte por longas distâncias e armazenamento a longo prazo.

Nota-se, portanto uma distribuição dos resíduos lignocelulósicos nas diferentes regiões brasileiras. O Brasil possui grandes vantagens no uso de biomassas, devido à intensa radiação solar durante todo o ano e sua diversidade de clima, que mostram a grande capacidade produtiva em toda a sua extensão agricultável.

### 3.5 Considerações finais

Atualmente, diversas formas de aproveitamento de biomassas para geração de energia têm sido extensivamente estudadas. Isso se deve principalmente ao fato de que há uma necessidade emergente da utilização de fontes alternativas de energia, em detrimento ao uso do petróleo, que é de origem fóssil, poluente e de preços instáveis. Outra razão é que esses tipos de resíduos muitas vezes são desperdiçados ou até mesmo subutilizados em atividades que não agregam valor como é o caso da geração de energia limpa.

Apesar desse fato ainda não ser uma total realidade em nosso país, a utilização em larga escala das biomassas residuais como produtoras de energia se apresenta bastante atrativa, uma vez que potencializará a solução de problemas ambientais associados à poluição e desperdício. Questões associadas à localização geográfica dos resíduos também devem ser analisadas, como o intuito de que os custos associados a transporte e armazenamento destas biomassas sejam minimizados.

Dentro do contexto ambiental, o etanol celulósico (E2G) define-se como promissor apesar dos entraves ainda associados à tecnologia de conversão da biomassa lignocelulósica. Isso porque o aproveitamento desses resíduos irá aumentar significativamente a produção de etanol em nosso país, diversificando a matriz energética brasileira sem que haja competitividade com a indústria de alimentos e sem a necessidade de expansão da área cultivada.

Por fim, de acordo com o que foi apresentado nesse capítulo, levando-se em conta especialmente os resultados das Tabelas 3.3 e 3.4, verifica-se que a palha de cana-de-açúcar possui elevado potencial de produção de etanol de segunda geração, sendo, portanto a biomassa escolhida para a condução da parte experimental dessa tese. Além do mais, tendo em vista que o Brasil é o maior produtor mundial de cana, os resíduos provenientes dessa cultura, como é o caso da palha, apresentam-se bastante promissores.

## CAPÍTULO 4 - OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS OPERACIONAIS DO PRÉ-TRATAMENTO DA PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR ATRAVÉS DE PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Este capítulo teve como objetivo a otimização da etapa de pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar, por meio de um delineamento experimental  $2^2$  com três repetições no ponto central. As variáveis de estudo foram: a razão palha-água m/v na etapa de pré-tratamento hidrotérmico e a temperatura reacional do pré-tratamento alcalino, sequencial ao hidrotérmico. O estudo mostrou que a deslignificação não promoveu melhora significativa na conversão da celulose em glicose na hidrólise enzimática, o que não justifica a realização dessa etapa adicional, nas condições avaliadas. Já o pré-tratamento hidrotérmico apresentou bons resultados, alcançando na etapa de hidrólise conversões superiores a 85%, em especial para as razões palha/água 1:6,7 e 1:20 m/v.

### 4.1 Introdução

Muitos estudos desenvolvidos no âmbito do etanol de segunda geração têm apontado o pré-tratamento hidrotérmico seguido de pré-tratamento alcalino como uma alternativa promissora, por representar altas taxas de remoção de hemicelulose e lignina. Um tratamento químico que pode ser realizado posteriormente ao hidrotérmico é o pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino, que é realizado em condições amenas de temperatura e pressão onde o peróxido se decompõe em oxigênio e água, sendo considerado de baixo impacto ambiental. Esse pré-tratamento adicional tem como objetivo principal promover a deslignificação da biomassa (BANERJEE et al., 2012; ABDULLAH; UEDA; SAKA, 2014; BOUSSARSAR; ROGÉ; MATHLOUTHI, 2009; CRUZ et al., 2012; SILVA et al., 2011; XIAO et al., 2013).

A etapa de hidrólise enzimática representa a maior dificuldade em tornar o etanol de segunda geração um processo industrialmente viável, devido a gargalos técnicos e econômicos (CORRÊA; BADINO; CRUZ, 2016a; CORRÊA; BADINO; CRUZ, 2016b). Porém, perspectivas positivas são apresentadas por Viikari, Vehmaanpera e Koivula (2012),

no qual os autores relataram que os custos associados à etapa de hidrólise enzimática tendem a diminuir significativamente nos próximos anos.

A necessidade de estudar a influência de muitas variáveis ao mesmo tempo, numa dada resposta de interesse de um experimento ou processo torna o planejamento de experimentos uma ferramenta importante em análises multiobjetivo, minimizando tempo, trabalho e custos operacionais. Dessa forma, quantificar o efeito das variáveis do processo através das técnicas de planejamento experimental, com o objetivo de obter informações sobre a robustez das respostas faz-se uma alternativa importante para a implementação de controle de processos (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001). Diversas são as vantagens apontadas para o uso do delineamento experimental, entre elas, pode-se citar que reduz o número de experiências ou repetições e melhora a qualidade da informação obtida através dos resultados. É necessário, porém, que o pesquisador invista tempo no estudo das variáveis envolvidas, através da obtenção de informações da literatura, para que a estratégia de realização dos ensaios possa agregar melhor qualidade aos resultados obtidos. Outro ponto positivo é que os fatores são analisados simultaneamente, o que torna possível a verificação e quantificação dos efeitos sinérgicos e antagônicos entre os fatores de interesse (RODRIGUES; IEMMA, 2009).

Santos et al. (2014) realizaram tratamento hidrotérmico da palha de cana, utilizando planejamento experimental (variáveis: temperatura, entre 170 e 210°C, tempo, entre 5 e 15 minutos, e concentração palha/água, entre 10 e 15% m/v). A melhor condição encontrada no tratamento hidrotérmico foi a 190°C, 18 minutos e 12,5% m/v de relação palha/água.

Oliveira et al. (2014) avaliaram um processo combinado (pré-tratamento hidrotérmico seguido de deslignificação alcalina e posterior hidrólise enzimática) para a produção de bioetanol a partir da palha de cana-de-açúcar. O tratamento hidrotérmico foi conduzido entre 180 e 195°C, com tempo reacional entre 0 e 15 minutos. A deslignificação alcalina foi realizada com hidróxido de sódio e a maior solubilização de hemicelulose, bem como a maior conversão de celulose na hidrólise, foram alcançadas na condição de 190°C e 10 minutos. Ademais, a etapa de deslignificação não promoveu melhora significativa na conversão da celulose a glicose na hidrólise enzimática.

Pratto (2015) realizou pré-tratamento hidrotérmico seguido de alcalino com NaOH. A biomassa estudada foi a palha de cana-de-açúcar. Quando os ensaios foram

conduzidos apenas sob pré-tratamento hidrotérmico, 82,91% da hemicelulose e 37,46% da lignina foram removidas. Porém, 99,46 e 91,88% de remoção de hemicelulose e lignina, respectivamente, foram alcançadas quando o pré-tratamento alcalino foi realizado sucessivamente ao hidrotérmico.

Diante do exposto, esse capítulo teve como objetivo a otimização da etapa de pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar por meio de um delineamento experimental  $2^2$  com três repetições no ponto central. As variáveis estudadas foram a razão palha-água (m/v) na etapa de pré-tratamento hidrotérmico e a temperatura reacional do pré-tratamento alcalino, sequencial ao hidrotérmico. Diferente dos trabalhos acima citados, a etapa alcalina foi realizada com solução alcalina de peróxido de hidrogênio, um reagente de baixo custo e elevado poder oxidante. As respostas do planejamento experimental foram o teor de celulose (%), corrigido pelo rendimento mássico do pré-tratamento hidrotérmico e a conversão de celulose em glicose (%), alcançada na etapa de hidrólise enzimática.

## 4.2 Materiais e métodos

### 4.2.1 Materiais

A palha de cana-de-açúcar utilizada nos experimentos foi gentilmente cedida pela Usina Ipiranga Agroindustrial S.A, localizada em Descalvado, São Paulo, Brasil. O material foi seco a temperatura ambiente até se obter um teor de umidade em torno de 10%. Em seguida, esse material foi moído em um moinho de facas tipo Willey para obtenção de um tamanho de partículas de 5 mesh, colocado em sacos plásticos e armazenado em um freezer (-8°C) para experimentos subsequentes. O extrato enzimático Cellic<sup>®</sup> CTec2 foi doado pela empresa Novozymes Latin America (Araucária, PR). Os demais reagentes de laboratório foram adquiridos em grau analítico e não sofreram tratamento antes de sua utilização.

#### 4.2.2 Pré-tratamento hidrotérmico

O pré-tratamento hidrotérmico (PTH) foi realizado em reator de aço inoxidável (Figura 4.1), com capacidade de 5,5 L e controle de agitação e temperatura (PARR Instrument Company, Moline IL, USA, modelo 4584).

**Figura 4.1: Reator Parr.**



Fonte: Acervo do autor (2016).

A palha de cana-de-açúcar foi moída para obtenção de granulometria de 10 mesh, empregando-se um moinho de facas (Willye, modelo SP-30). O conteúdo de água presente nas amostras foi quantificado em um determinador de umidade (aquecimento por infravermelho), a 100°C em modo automático (Marte Balanças e Aparelhos de Precisão Ltda, modelo ID 50).

Cem gramas (em base seca) de palha de cana-de-açúcar (granulometria de 10 mesh) foram misturadas com água no reator, nas proporções palha/água: 1:5, 1:6,7, 1:10, 1:20 m/v. Para todas as razões avaliadas, foram aplicadas as mesmas condições de pré-tratamento (temperatura, tempo de reação e agitação): 195°C, 10 minutos e 200 rpm. Ao final da etapa de pré-tratamento, a fração sólida foi separada da fração líquida por meio de filtração. A fração sólida foi submetida à lavagem com água para a remoção de compostos inibidores, solubilizados durante a etapa de pré-tratamento, até pH neutro.

O rendimento mássico (R) obtido após a etapa de pré-tratamento foi determinado por meio da Equação 4.1.

$$R = \frac{m_{final}}{m_{inicial}} \times 100 \quad (4.1)$$

onde:  $m_{inicial}$  = massa inicial de material lignocelulósico em base seca (g);  $m_{final}$  = massa final de material lignocelulósico após PTH em base seca (g).

O cálculo do fator de severidade (FS) em cada etapa de pré-tratamento foi realizado seguindo a definição proposta por Overend e Chornet (1987), conforme a Equação 4.2.

$$FS = \log \sum_{i=1}^n \left[ t * \exp \left( \frac{T_i - T_{ref}}{14,75} \right) \right] \quad (4.2)$$

onde:  $n$  é o número de intervalos entre as medidas de temperatura durante a etapa de pré-tratamento;  $t$  é o tempo médio entre uma medida e outra;  $T_i$  é a temperatura do pré-tratamento medida a cada instante de tempo;  $T_{ref}$  é a temperatura de referência, 100°C.

O  $FS$  descreve o efeito combinado de fatores-chave na etapa de pré-tratamento, o tempo e a temperatura. Visto que não é simples avaliar o efeito de cada um desses fatores individualmente, esse fator torna-se bastante importante (OVEREND; CHORNET, 1987).

#### 4.2.3 Pré-tratamento alcalino

A etapa de pré-tratamento alcalino (PTA), que consiste na deslignificação da biomassa, ocorreu em sequência ao pré-tratamento hidrotérmico, utilizando-se uma solução alcalina de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1% v/v, em pH 11,5) como reagente. Essa etapa foi realizada em *shaker*, a 100 rpm, nas temperaturas de 25, 45 e 65°C durante 1 hora, com carga de sólidos de 10% m/v.

#### 4.2.4 Caracterização química da biomassa

As amostras de palha de cana-de-açúcar *in natura* e após cada etapa de pré-tratamento foram caracterizadas utilizando-se a metodologia descrita por Sluiter et al. (2008), modificada por Rocha et al. (1997) e validada por Gouveia et al. (2009). O material foi moído (20 mesh). A quantidade de extrativos foi determinada para as amostras de palha *in natura*, visto que após o pré-tratamento os extrativos são solubilizados. O procedimento, proposto pelo *National Renewable Energy Laboratory* (NREL) (SLUITER et al. 2008) será descrito a seguir.

##### 4.2.4.1 Extrativos

Foram adicionados 8,0g (massa seca) de palha (*in natura*) em um cartucho e colocado em um sistema de extração *Soxhlet*. Em um balão de 500 mL de fundo redondo foram adicionados 450 mL de etanol 95%, que utilizando-se uma manta (Fisatom, modelo 52E), foi aquecido. O líquido contendo os extrativos foi colocado em um rotaevaporador até se obter um líquido viscoso, com total evaporação do solvente e então deixado em capela até se obter massa constante. A quantidade de extrativos foi determinada pela Equação 4.3.

$$\% \textit{Extrativos} = \left( \frac{m_{inicial} - m_{final}}{m_{inicial}} \right) \cdot 100 \quad (4.3)$$

onde:  $m_{inicial}$  é a massa inicial seca de palha (g);  $m_{final}$  é a massa de palha após extração alcoólica (g).

#### 4.2.4.2 Hidrólise com ácido sulfúrico 72% v/v

Amostras de 1 g (moídas em moinho de facas – 20 mesh) de palha de cana-de-açúcar, pesadas com precisão de 0,1 mg, foram transferidas para béqueres de 100 mL e tratadas com 10 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72% v/v, sob vigorosa agitação, em um banho termostatizado (Nova Ética) a 45°C por 8 min. As amostras foram transferidas quantitativamente para frascos erlenmeyers de 500 mL, adicionando-se 275 mL de água destilada. Os erlenmeyers foram fechados com papel alumínio e autoclavados por 30 min a 120°C. Após a decompressão da autoclave, os frascos foram retirados e resfriados à temperatura ambiente, sendo a fração sólida separada da fração líquida por filtração em papel de filtro qualitativo. A fração líquida foi transferida para balão volumétrico de 500 mL, o qual teve o seu volume posteriormente completado com água destilada. A solução foi armazenada para análises posteriores de carboidratos, ácidos orgânicos, furfural, hidroximetilfurfural (HMF) e lignina solúvel.

#### 4.2.4.3 Determinação de lignina insolúvel na fração sólida

O material retido no papel de filtro foi lavado com 1500 mL de água destilada, transferido para pesa-filtros para secagem em estufa a 100 °C até massa constante. A percentagem de lignina insolúvel foi calculada com relação à massa de amostra seca conforme a Equação 4.4.

$$\% L_{Ki} = \frac{M_K - M_C}{M_A} * 100 \quad (4.4)$$

onde:  $L_{Ki}$  = Lignina Klason insolúvel;  $M_K$  = massa de lignina insolúvel seca;  $M_c$  = massa de cinzas;  $M_A$  = massa da amostra seca.

#### 4.2.4.4 Determinação de lignina solúvel na fração líquida

A quantidade de lignina solúvel foi determinada pela medida de absorvância a 280 nm em espectrofotômetro (Pharmacia Biotech Ultrospec 2000). O cálculo da lignina solúvel foi determinado conforme a Equação 4.5.

$$C_{lig} = 4,187 * 10^{-2} (A_T - A_{pd}) - 3,279 * 10^{-4} \quad (4.5)$$

onde:  $C_{lig}$  = concentração de lignina solúvel, em g/L;  $A_T$  = absorvância da solução de lignina junto com os produtos de degradação, em 280 nm;  $A_{pd} = (c_1 \varepsilon_1 + c_2 \varepsilon_2)$  – absorvância, em 280 nm, dos produtos de decomposição dos açúcares (furfural e HMF), cujas concentrações  $c_1$  e  $c_2$  foram determinadas previamente por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) e  $\varepsilon_1$  e  $\varepsilon_2$  são as absorvâncias e valem, respectivamente, 146,85 e 114,00 L g<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>.

#### 4.2.4.5 Determinação de carboidratos, ácidos orgânicos, furfural e hidroximetilfurfural na fração líquida

Antes da determinação de carboidratos e de ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência, o hidrolisado foi aplicado em cartuchos de extração em fase sólida Sep-Pak C18 (Phenomenex). Para a construção das curvas de calibração dos carboidratos, foram injetadas no cromatógrafo líquido soluções contendo celobiose, glicose, xilose e arabinose. A construção das curvas de calibração dos ácidos orgânicos foi realizada através da injeção de soluções contendo ácido acético e ácido fórmico. As condições das análises foram: coluna Aminex HPX 87H (300 x 7,8 mm, Bio-Rad); fase móvel: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,005 mol L<sup>-1</sup>; fluxo

de 0,6 mL min<sup>-1</sup>; temperatura do forno: 45 °C; em cromatógrafo Shimadzu modelo LC-10AD, empregando um detector de índice de refração Shimadzu modelo RID-6A.

Para determinar as concentrações de hidroximetilfurfural (HMF) e furfural foram realizadas análises cromatográficas (CLAE). Construíram-se curvas de calibração de furfural e hidroximetilfurfural injetando soluções padrões destes dois compostos. As amostras dos hidrolisados foram filtradas em membrana de 0,45 µm e analisadas. Condições experimentais: coluna C-18 (Waters, 3,9 x 300 mm), fase móvel solução de acetonitrila/água 1:8 com 1% de solução de ácido acético, vazão de 0,8 mL/min, temperatura do forno 45°C e detector UV/VIS (SPD-10A) a 274 nm, em cromatógrafo Shimadzu.

#### 4.2.4.6 Determinação de cinzas

Após a determinação da lignina insolúvel, a amostra junto com o papel de filtro foi transferida para um cadinho de porcelana, previamente tarado e foi calcinada lentamente (150°C/30 min, 250°C/20 min e mais 120 min/800 °C em uma mufla (Rocha et al., 1997)).

Na determinação das cinzas totais, pesou-se aproximadamente 1 g de material em cadinho de porcelana previamente tarado. Por diferença de massa, o teor de cinzas da lignina insolúvel e das cinzas totais foi determinado conforme a Equação 4.6.

$$\% \text{cinzas} = \frac{M_c}{M_a} * 100 \quad (4.6)$$

onde: % cinzas = percentual em massa de cinzas;  $M_c$  = massa de cinzas (diferença entre a massa do cadinho com cinzas e a massa do cadinho vazio);  $M_a$  = massa da amostra em base seca.

#### 4.2.5 Planejamento experimental

Nesse estudo realizou-se um delineamento experimental  $2^2$ , com três repetições no ponto central. O objetivo foi avaliar a influência da razão  $m_{\text{palha seca}}/v_{\text{água}}$  no PTH seguido de deslignificação por peróxido de hidrogênio alcalino ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). As variáveis-resposta foram: o teor de celulose corrigido pelo rendimento mássico do PTH (%) e a conversão de celulose em glicose (%) determinada após etapa de hidrólise enzimática. As análises estatísticas foram realizadas através do software STATISTICA<sup>®</sup> (versão 7.0).

A Tabela 4.1 apresenta o delineamento experimental realizado, com todas as combinações entre os níveis e variáveis estudadas. Destaca-se que a escolha dos níveis de cada variável se baseou na literatura (GONÇALVES et al., 2014; DÍAZ et al., 2014; AYENI et al., 2014; WANG et al., 2014).

**Tabela 4.1: Matriz do delineamento experimental  $2^2$  com três repetições no ponto central.**

Ensaio	Variável 1:	Variável 2:
	Razão $m_{\text{palha seca}}/v_{\text{água}}$ no PTH (%)	Temperatura do PTA (°C)
1	1:20 (-)	25(-)
2	1:6,7 (+)	25(-)
3	1:20 (-)	65(+)
4	1:6,7 (+)	65(+)
5	1:10 (0)	45(0)
6	1:10 (0)	45(0)
7	1:10 (0)	45(0)

#### 4.2.6 Hidrólise enzimática

A etapa de hidrólise enzimática foi realizada para as amostras submetidas ao PTH e para as amostras submetidas ao PTH seguido da deslignificação com peróxido de oxigênio (PTH+PTA). Os ensaios foram realizados em frascos de Erlenmeyer, por 72 horas, à temperatura de 50°C e sob agitação de 250 rpm em shaker.

A carga de sólidos utilizada nos experimentos de hidrólise foi de 15% m/v. O volume de meio reacional foi de 50 mL, composto por material lignocelulósico pré-tratado (em base seca), extrato enzimático (20 FPU/g<sub>celulose</sub>) e tampão citrato de sódio 50 mM (q.s.p), pH 4,8.

As amostras tiveram seu teor de glicose quantificado por cromatografia líquida de alta eficiência (SCL-10A chromatograph, Shimadzu), com detector de índice de refração (RID10-A, Shimadzu). A coluna utilizada nas análises foi Aminex HPX-87H (Bio-Rad), mantida a 65°C. Empregou-se como fase móvel solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5,0 mM) na vazão de 0,6 mL/min. A conversão de celulose em glicose foi calculada através da Equação 4.7.

$$\text{Convers\~{a}o(\%)} = \frac{\text{glicose liberada (g / L)}}{\text{concentra\~{c}\~{o} de biomassa seca (g / L) \times f \times 1,11}} \times 100 \quad (4.7)$$

onde: *f* consiste da fração de celulose presente na biomassa seca; 1,11 corresponde ao fator estequiométrico de conversão de celulose em glicose.

#### 4.2.6.1 Atividade enzimática do complexo Cellic<sup>®</sup>CTec2

Antes de iniciar os ensaios utilizando a enzima Cellic<sup>®</sup>CTec2, sua atividade foi determinada conforme metodologia descrita por Ghose (1987). O método baseia-se em encontrar a concentração de uma solução da enzima de interesse que libere aproximadamente 2 mg de açúcares redutores a partir de 50 mg de papel de filtro Whatman em 60 min usando uma alíquota de 0,5 mL da solução de enzima. A atividade é dada em unidades de papel filtro, FPU (do inglês *Filter Paper Units*) por mL de enzima. O complexo apresentou atividade enzimática de 241 FPU/mL.

## 4.3 Resultados e discussão

### 4.3.1 Pré-tratamento hidrotérmico

A Tabela 4.2 apresenta a caracterização química da biomassa *in natura* e após o PTH realizado.

**Tabela 4.2: Caracterização química da palha *in natura* e submetida ao PTH (195°C, 10 minutos, 200 rpm) nas diferentes razões palha-água.**

Componente	Palha <i>In Natura</i>	$m_{\text{palha seca}}/V_{\text{água}}$ no PTH m/v			
		1:20	1:10	1:6,7	1:5
Celulose (%)	34,8±0,2	67,2±0,8	57,02±0,01	56,2±0,8	43,7±0,1
Hemicelulose (%)	23,0±0,2	5,56±0,07	5,80±0,02	6,18±0,05	14,2±0,3
Lignina total (%)	24,1±0,5	26,7±0,1	29,4±0,3	32,3±1,1	28,4±0,1
Cinzas (%)	7,1±0,4	3,5±0,2	5,9±0,1	1,80±0,04	2,3±0,2
Extrativos (%)	14,9±0,4	—	—	—	—
Rendimento mássico (%)	—	47,58	52,50	55,07	75,56
Fator de Severidade (-)	—	4,32	4,23	4,18	4,17

Observa-se na Tabela 4.2 que o fator de severidade (FS) diminui com o aumento da razão palha-água empregada no pré-tratamento hidrotérmico. Por sua vez o rendimento mássico (R) aumenta à medida que a razão palha-água se eleva.

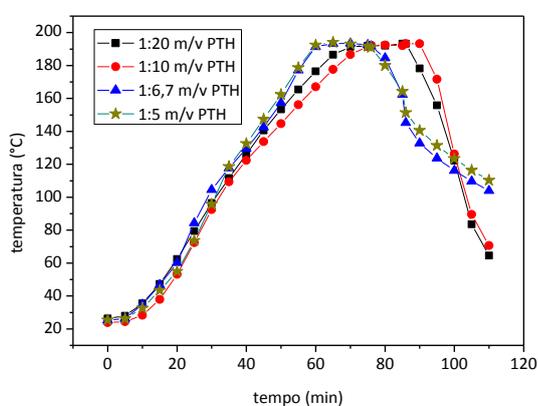
Sabe-se que à medida que a razão  $m_{\text{palha seca}}/V_{\text{água}}$  se eleva, haverá menor volume de água para a mesma quantidade de massa seca. Esse fato corrobora para a obtenção de maior rendimento mássico em maiores razões palha/água visto que menor quantidade de íons hidrônios estará disponível para catalisar a hidrólise da biomassa, o que promove pouca solubilização (MARTÍNEZ, 2014). Em estudos empregando palha de colza submetida a tratamento hidrotérmico catalisado por H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Lu, Zhang e Angelidaki (2009) encontraram resultados semelhantes, nos quais os maiores rendimentos mássicos foram obtidos nas maiores razões palha/água avaliadas. Em razões mais baixas (1:10 e 1:20 m/v), Pérez et al. (2007) não encontraram diferenças significativas nos valores de rendimento mássico, o que também foi observado nesse trabalho para razões 1:20, 1:10 e 1:6,7 m/v.

Com relação ao fator de severidade, que diminui à medida que a razão  $m_{\text{palha seca}}/V_{\text{água}}$  se eleva, isso ocorre devido à presença de menor volume de água no meio reacional,

que aquecerá mais rapidamente. Visto que o fator de severidade é fortemente dependente do tempo e da temperatura, seu valor será menor em reações de maior razão  $m_{\text{palha seca}}/V_{\text{água}}$ , o que foi observado nesse estudo.

A Figura 4.2 ilustra os perfis de temperatura obtidos durante a etapa de PTH para cada razão  $m_{\text{palha seca}}/V_{\text{água}}$ . A partir desses dados é que se determina o fator de severidade. De forma geral, os pré-tratamentos apresentaram perfis de severidade semelhantes. Observa-se que em razões menores (1:20 e 1:10 m/v), o ensaio levou mais tempo para alcançar a temperatura experimental, visto que há maior volume de água para ser aquecido no reator.

**Figura 4.2:** Perfil da temperatura nos diferentes PTH realizados.



A Tabela 4.3 apresenta a caracterização química das amostras com os valores corrigidos pelo rendimento mássico obtido em cada um dos PTHs.

**Tabela 4.3:** Caracterização química com valores corrigidos pelo rendimento do PTH (195°C, 10 min., 200 rpm).

Componente*	Palha <i>In Natura</i>	Razão $m_{\text{palha seca}}/V_{\text{água}}$ no PTH m/v			
		1:20	1:10	1:6,7	1:5
Celulose (%)	34,8±0,2	31,97	29,94	30,94	32,98
Hemicelulose (%)	23,0±0,2	2,65	3,05	3,40	10,73
Lignina total (%)	24,1±0,5	12,68	15,45	17,78	21,48
Cinzas (%)	7,1±0,4	1,67	3,11	0,99	1,72
Rendimento mássico (%)	—	47,58	52,50	55,07	75,56
Fator de Severidade (-)	—	4,32	4,23	4,18	4,17

\*valores corrigidos levando-se em conta o rendimento mássico do PTH.

Analisando os dados da Tabela 4.3, verifica-se que, para as quatro condições de pré-tratamento avaliadas, o teor de celulose sofreu pouca alteração, observando-se apenas uma pequena perda em relação ao teor de celulose da biomassa *in natura* (8,08% para a razão

de 1:20; 13,92% para a razão de 1:10; 11,04% para a razão de 1:6,7; e 5,18% para a razão de 1:5).

Com relação ao teor de hemicelulose e lignina, nota-se que há uma dependência entre o fator de severidade (FS) e a remoção desses dois componentes; à medida que se aumenta o FS, a remoção desses componentes é maior. Nota-se também que a razão de 1:5 m/v promoveu remoção não satisfatória em termos de lignina. Nessa mesma razão, a remoção de hemicelulose foi inferior às demais razões estudadas, apesar de ainda representar quase 55%. Esse fato sugere que essa razão não foi eficiente, visto que um dos objetivos principais do PTH é promover acima de 80% de remoção da fração hemicelulósica (PRATTO, 2015). Resultados semelhantes foram obtidos por Lu, Zhang e Angelidaki (2009), em que maior fração hemicelulósica foi percebida em elevadas cargas de sólidos, dentre as avaliadas no pré-tratamento hidrotérmico catalisado por H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Em face da remoção não satisfatória de hemicelulose e lignina, a condição em que se empregou razão de 1:5 m/v no PTH foi descartada para seguir as demais etapas do trabalho.

#### 4.3.2 Pré-tratamento alcalino sequencial ao hidrotérmico

A Tabela 4.4 apresenta os resultados da composição química da palha de cana-de-açúcar após os dois pré-tratamentos sequenciais: hidrotérmico (PTH) e alcalino (PTA) nas condições descritas pelo delineamento experimental.

**Tabela 4.4: Caracterização química das amostras após PTH (195°C, 10 min., 200 rpm) seguido de PTA.**

Componente (%)	1:20 PTH e 25°C PTA	1:20 PTH e 65°C PTA	1:6,7 PTH e 25°C PTA	1:6,7 PTH e 65°C PTA	1:10 PTH e 45°C PTA
Celulose	51,7±0,7	61,2±0,5	64,1±0,4	67,0±2,9	62,1±0,3
Hemicelulose	5,6±0,1	6,7±0,1	6,2±0,2	6,4±0,3	4,51±0,07
Lignina total	22,6±0,4	25,0±0,8	22,2±0,1	20,4±0,4	21,0±0,1
Cinzas	1,86±0,02	2,02±0,04	2,8±0,1	2,82±0,04	5,1±0,2
Rendimento PTA	80,01	75,51	81,57	73,93	72,09

Para análise das condições estudadas nos pré-tratamentos PTH+PTA, procede-se de forma análoga aos ensaios de PTH. Serão apresentados, na Tabela 4.5, os resultados de composição química levando-se em conta o rendimento mássico das duas etapas realizadas (PTH+PTA).

**Tabela 4.5: Composição química levando-se em conta o rendimento mássico dos pré-tratamentos PTH e PTA.**

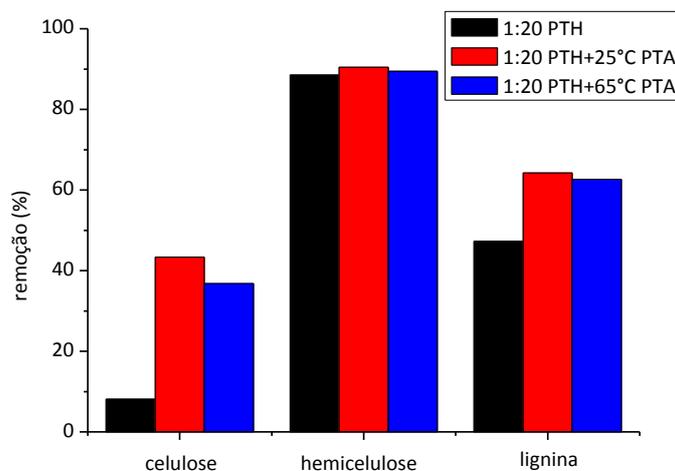
Componente* (%)	1:20 PTH e 25°C PTA	1:20 PTH e 65°C PTA	1:6,7 PTH e 25°C PTA	1:6,7 PTH e 65°C PTA	1:10 PTH e 45°C PTA
Celulose	19,68	21,99	28,79	27,28	23,50
Hemicelulose	2,13	2,42	2,79	2,60	1,71
Lignina total	8,60	9,20	9,97	8,31	7,95
Cinzas	0,71	0,68	1,26	1,15	1,93
Rendimento mássico PTH+PTA	38,07	35,93	44,92	40,71	37,85

\*valores corrigidos levando-se em conta o rendimento mássico do PTH+PTA.

Observa-se na Tabela 4.5 que maiores teores de celulose foram obtidos com a razão 1:6,7 no PTH, em combinação com as temperaturas dos níveis inferior e superior do PTA. O teor de hemicelulose, lignina e cinzas não sofreu variações expressivas quando comparados entre si.

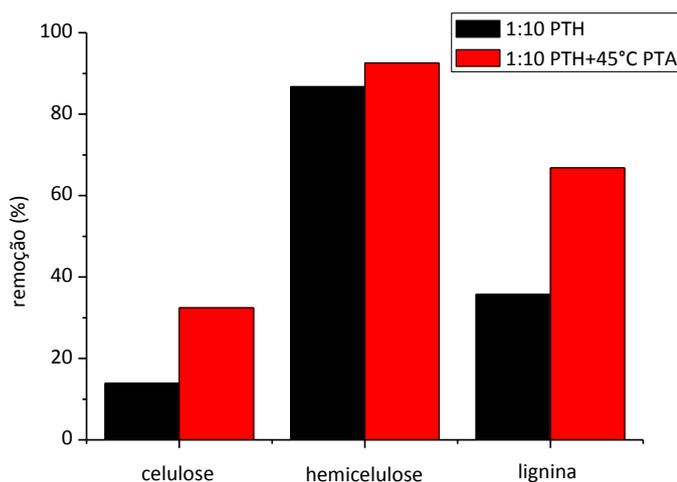
As Figuras 4.3, 4.4 e 4.5 apresentam o percentual de remoção dos componentes principais (celulose, hemicelulose e lignina) da biomassa para as três razões palha-água avaliadas (1:20; 1:10; 1:6,7), respectivamente.

**Figura 4.3: Remoção dos principais componentes da biomassa na razão 1:20 no PTH seguido ou não de deslignificação.**



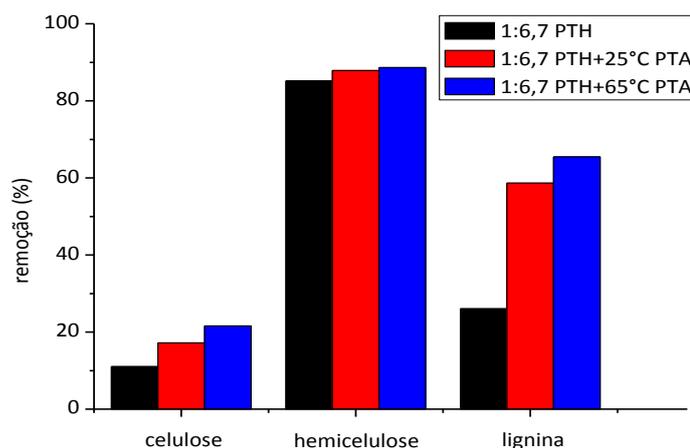
A Figura 4.3 mostra que a deslignificação promoveu remoção considerável de lignina: 64,24% na condição de 1:20 no PTH+ 25°C no PTA e 62,64% na condição de 1:20 no PTH+ 65°C no PTA, frente a 47,26% na condição onde ocorreu apenas o PTH. A remoção de hemicelulose após PTA praticamente não se alterou comparando-se com a condição onde ocorreu apenas PTH. Isso se deve ao fato de que além de o PTA não apresentar a característica de remoção da fração hemicelulósica, é notável que bastante hemicelulose foi removida no PTH, diminuindo de forma expressiva o percentual remanescente de hemicelulose passível a remoção por PTA. Já em termos de celulose, houve perda considerável, o que não é desejado. 43,37% de perda de material celulósico foi detectada na condição de 1:20 no PTH+25°C no PTA e 36,78% na condição de 1:20 no PTH+65°C no PTA. No ensaio onde ocorreu somente PTH houve remoção de apenas 8,08% de celulose. Para essa razão  $m_{\text{palha seca}}/V_{\text{água}}$  conclui-se, portanto, que a deslignificação não se mostrou eficiente visto que removeu parte da lignina, porém promoveu severa perda de celulose.

**Figura 4.4: Remoção dos principais componentes na razão 1:10 no PTH seguido ou não de deslignificação.**



A Figura 4.4 apresenta os percentuais de remoção dos 3 componentes principais da biomassa lignocelulósica na condição de 1:10 no PTH seguido ou não de deslignificação. Analisando seus resultados, nota-se que 66,81% da lignina foi removida no ensaio onde ocorreu PTH+PTA, frente a 35,78% no ensaio onde ocorreu apenas o pré-tratamento hidrotérmico (PTH). Maior percentual de remoção de hemicelulose também foi encontrado para o ensaio seguido de deslignificação: 92,57%, frente a 86,74% no ensaio onde foi realizado apenas PTH. A perda de material celulósico foi de 32,42% na condição de PTH+PTA e de 13,93% na condição onde ocorreu apenas PTH.

**Figura 4.5: Remoção dos principais componentes na razão 1:6,7 no PTH seguido ou não de deslignificação.**

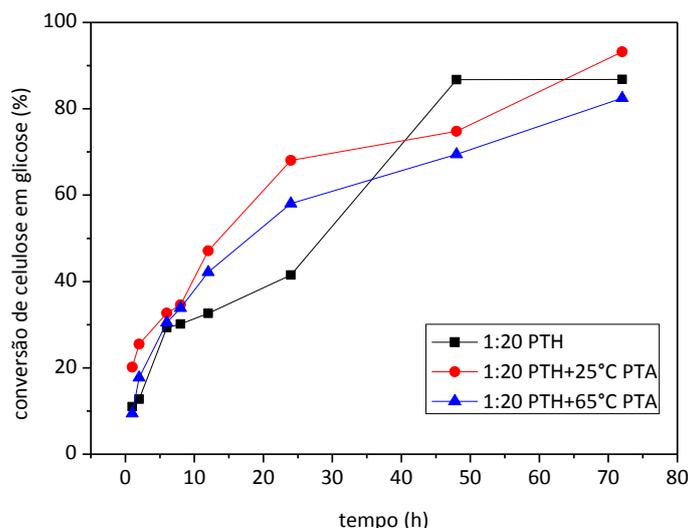


Ao avaliar os ensaios que ocorreram com a razão de 1:6,7 no PTH, observa-se (Figura 4.5) que o ensaio à 1:6,7 no PTH e 25°C no PTA promoveu remoção de 58,63% de lignina; já o ensaio à 1:6,7 no PTH e 65°C, promoveu 65,43% de remoção de lignina, frente a 26,06% no ensaio em que ocorreu apenas o pré-tratamento hidrotérmico. Da mesma forma que na condição de 1:20, a remoção de hemicelulose adicional não foi expressiva quando comparada com a condição onde ocorreu apenas o PTH. Em termos de celulose, a perda detectada para as condições que sofreram pré-tratamento alcalino foi mais branda comparando-se com a condição de 1:20: 17,18% para o ensaio à 1:6,7 no PTH e 25°C no PTA e 21,56 % para o ensaio à 1:6,7 no PTH e 65°C. Na condição onde ocorreu apenas o PTH, houve perda de 11,03% de celulose.

#### 4.3.3 Hidrólise enzimática

Após os pré-tratamentos, todas as frações sólidas geradas foram submetidas à hidrólise enzimática para verificar, em termos de conversão de celulose em glicose, as condições de maior potencial de produção de etanol de segunda geração. Os resultados são apresentados nas Figuras 4.6, 4.7 e 4.8.

**Figura 4.6: Conversão de celulose em glicose durante 72 horas de hidrólise enzimática realizada com biomassa pré-tratada na razão palha-água 1:20 para o PTH e 1:20 para os PTH + PTA. Experimentos de hidrólise realizados com carga de sólidos de 15% m/v.**

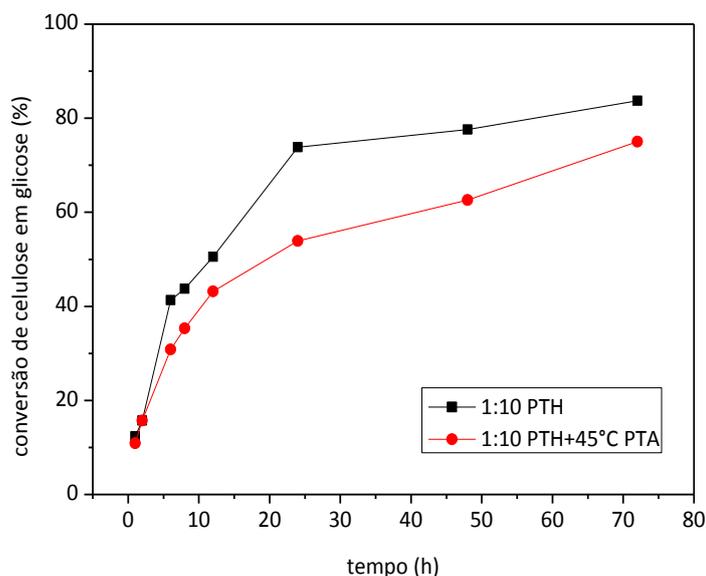


Nota-se pela Figura 4.6 que as conversões obtidas com razão palha-água de 1:20 no PTH, seguido ou não de tratamento alcalino, apresentaram perfis semelhantes; a conversão de celulose em glicose se elevou ao longo do tempo reacional de 72 horas. A biomassa que foi submetida ao pré-tratamento PTH + PTA a 65°C foi a que demonstrou menor conversão ao longo das 72 horas de hidrólise enzimática, 82,49%. Este resultado foi bem próximo daquele em que se empregou biomassa submetida apenas ao PTH, 86,79%. A biomassa que apresentou maior conversão foi a que sofreu PTH seguido de PTA a 25°C, alcançando 93,19%.

Esperava-se que as biomassas submetidas à deslignificação apresentassem maiores conversões na etapa de hidrólise, visto que a presença da lignina dificulta o acesso das enzimas à celulose. Porém esse resultado não foi constatado para todos os ensaios realizados neste trabalho.

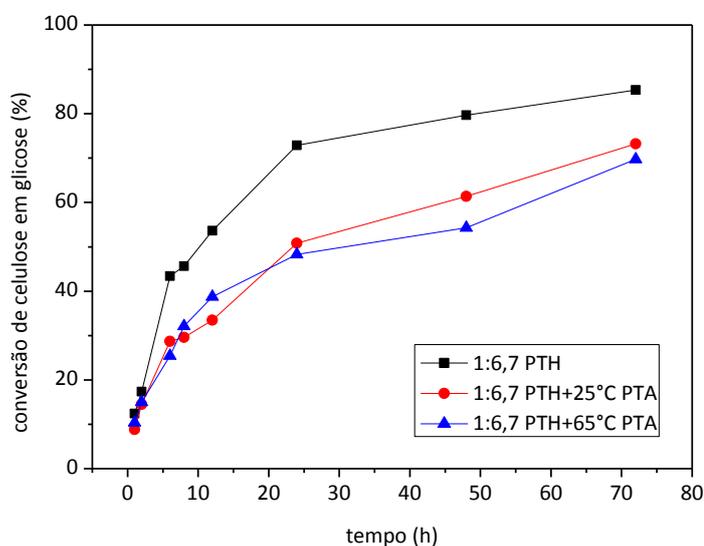
A Figura 4.7 mostra que maior conversão na hidrólise foi alcançada no ensaio em que a biomassa foi submetida apenas ao PTH: 83,72%, frente a 75,01% (média da triplicata) da biomassa submetida ao pré-tratamento PTH+PTA.

**Figura 4.7: Conversão de celulose em glicose durante 72 horas de hidrólise enzimática com biomassa pré-tratada na razão palha-água 1:10 no pré-tratamento hidrotérmico (PTH) e 1:10 no PTH+PTA. Experimentos de hidrólise realizados com carga de sólidos de 15% m/v.**



A Figura 4.8 indica perfil semelhante à condição de 1:20 no PTH. Para o ensaio de PTH+PTA a 65°C, foi detectada a menor conversão entre os ensaios realizados (69,73%). O ensaio em que se empregou biomassa submetida aos pré-tratamentos PTH+PTA a 25°C apresentou 73,23% de conversão. Já o ensaio onde a biomassa sofreu apenas o pré-tratamento PTH, a conversão foi de 85,36%, a maior entre as avaliadas na razão 1:6,7 no PTH.

**Figura 4.8: Conversão de celulose em glicose durante 72 horas de hidrólise enzimática com biomassa pré-tratada na razão palha-água 1:6,7 no pré-tratamento hidrotérmico (PTH) e 1:6,7 no PTH+PTA. Experimentos de hidrólise realizados com carga de sólidos de 15% m/v.**



Nota-se que, de forma geral, as biomassas submetidas apenas a PTH apresentaram maior conversão na etapa de hidrólise. Esse fato pode ser atribuído à eficiência da enzima utilizada, convertendo de forma eficiente a celulose em glicose após o PTH, ainda que na presença de maior teor de lignina (para as biomassas que não sofreram PTA). Portanto, em analogia aos ensaios que não sofreram deslignificação, não houve divergência significativa entre os seus resultados e os resultados obtidos após etapa de deslignificação, visto que nos ensaios em que a biomassa não sofreu tratamento alcalino foram obtidos rendimentos similares. Viikari, Vehmaanpera e Koivula (2012) afirmaram que a hidrólise mostra-se significativamente melhorada após PTH, a despeito da presença da lignina, efeito que esteve em acordo com os resultados obtidos nesse trabalho.

A literatura relata ainda que a fração de lignina, ao ser submetida a elevadas temperaturas, pode sofrer um processo denominado recondensação, sucedido quando a lignina se precipita gerando assim a chamada pseudo-lignina, que apresenta um efeito ainda mais negativo sobre os carboidratos que a própria lignina intrínseca à biomassa. Esse efeito caracteriza-se por aumentar a reatividade da lignina remanescente e assim dificultar o aproveitamento dos açúcares pela enzima aplicada posteriormente na etapa de sacarificação (BORREGA; NIEMINEN; SIXTA, 2011; LESCHINSKY; SIXTA; PATT, 2009; LESCHINSKY et al., 2008). Em face dos resultados obtidos na hidrólise enzimática, sugere-se que essa consequência negativa foi detectada nos ensaios que sofreram deslignificação.

#### 4.3.4 Análise estatística

A Tabela 4.6 apresenta a matriz do planejamento experimental realizado, com todas as combinações entre os fatores e os resultados obtidos para as variáveis-resposta.

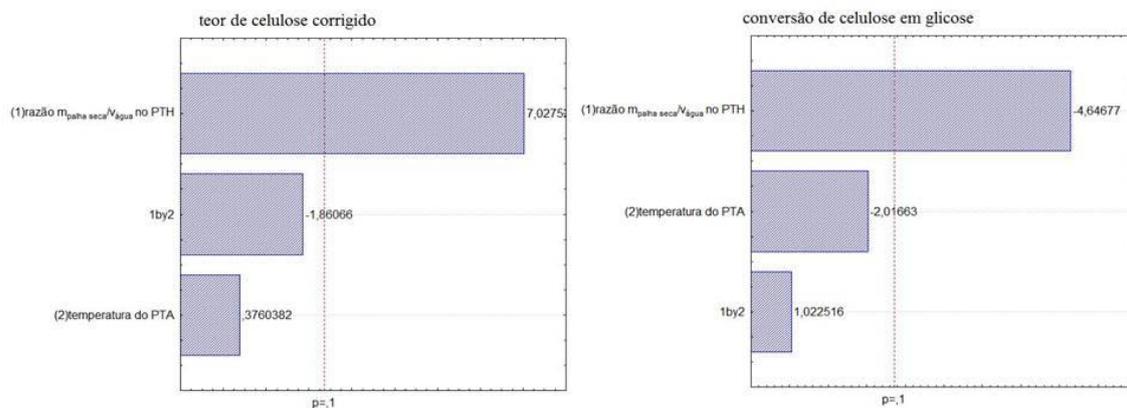
**Tabela 4.6: Matriz de planejamento fatorial e as variáveis-resposta.**

Ensaio	Variável 1: Razão $m_{\text{palha seca}}/V_{\text{água}}$ no PTH (%)	Variável 2: Temperatura do PTA (°C)	Variável Resposta: Teor de celulose corrigido* (%)	Variável Resposta: Conversão de celulose em glicose (%)
1	1:20 (-)	25(-)	19,70	93,19
2	1:6,7 (+)	25(-)	28,80	73,23
3	1:20 (-)	65(+)	21,99	82,49
4	1:6,7 (+)	65(+)	27,28	69,73
5	1:10 (0)	45(0)	23,10±0,06	74,90±0,14
6	1:10 (0)	45(0)	23,20±0,06	75,29±0,14
7	1:10 (0)	45(0)	22,98±0,06	74,84±0,14

\*corrigido pelo rendimento mássico do PTH

Observa-se na Tabela 4.6 que maiores teores de celulose foram encontrados com a maior razão  $m_{\text{palha seca}}/V_{\text{água}}$  no PTH (ensaios 2 e 4). Já com relação à variável resposta conversão de celulose em glicose, o ensaio 1, no qual a razão no PTH foi de 1:20, apresentou maior conversão. A Figura 4.9 apresenta os gráficos de pareto para as duas variáveis-resposta avaliadas.

**Figura 4.9: Gráficos de Pareto para as duas variáveis-resposta avaliadas (teor de celulose e conversão de celulose em glicose).**



Apenas a variável razão  $m_{\text{palha seca}}/V_{\text{água}}$  no PTH mostrou-se significativa, dentro da faixa estudada, a um nível de 90% de confiança. As Equações 4.8 e 4.9 apresentam os coeficientes do modelo matemático, levando-se em conta apenas o fator significativo. A variável-resposta “teor de celulose corrigido (c)” é representada pela Equação 4.8 e a variável-resposta “conversão de celulose em glicose (g)” está representada na Equação 4.9. O

“ $x$ ” em ambas as equações indica a razão  $m_{\text{palha seca}}/v_{\text{água}}$  no PTH (valores não codificados). Ambas as equações apresentaram coeficiente de determinação ajustado ( $R^2$ ) = 1.

$$c = 11,95 + 1,15 * x \quad (4.8)$$

$$g = 110,11 - 2,45 * x \quad (4.9)$$

A análise de variância para a variável-resposta ‘teor de celulose corrigido’ aponta que o fator F (teste de significância que relaciona a média quadrática da regressão/média quadrática do resíduo) calculado foi 9,83 vezes maior que o valor F tabelado, a um nível de 90% de confiança. Já para a variável resposta ‘conversão de celulose em glicose’, o F calculado foi 4,95 vezes superior ao valor F tabelado, indicando ajuste dos dados ao modelo linear (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001; RODRIGUES; LEMMA, 2009).

A partir da Figura 4.9 e das Equações 4.8 e 4.9, nota-se que com relação às duas variáveis-resposta, o modelo ajustou-se bem aos dados experimentais. Por análise da variável ‘teor de celulose corrigido’ na Figura 4.9, o fator ‘razão  $m_{\text{palha seca}}/v_{\text{água}}$  no PTH’ apresentou-se estatisticamente significativo a um nível de 90% de confiança, indicando que maiores teores de celulose são encontrados em elevadas razões palha/água. Com relação à variável ‘conversão de celulose em glicose’, o mesmo fator da variável-resposta anterior (porém com efeito inverso), razão  $m_{\text{palha seca}}/v_{\text{água}}$  no PTH, apresentou-se significativo dentro da faixa estudada, indicando que maior conversão de celulose em glicose foi alcançada ao se trabalhar no nível inferior desse fator.

Para ambas as variáveis-resposta estudadas, os demais fatores (temperatura do PTA e a interação entre os dois fatores) não se mostraram significativos dentro da faixa estudada. Possível explicação está associada aos níveis de temperatura empregados no PTA, que podem não ter sido suficientes para provocar efeito significativo nas variáveis-resposta avaliadas.

O estudo de parâmetros operacionais associados à etapa de pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar apresentado neste trabalho mostrou-se útil para elucidar o comportamento da biomassa lignocelulósica estudada durante o pré-tratamento hidrotérmico

seguido de deslignificação. Foi possível constatar que a hidrólise enzimática não foi melhorada após o pré-tratamento alcalino, logo, diante da elevada eficiência do pré-tratamento hidrotérmico identificada no estudo, custos operacionais concernentes à etapa alcalina podem ser descartados. Dessa forma, a produção de etanol 2G pode ser otimizada em termos econômicos sem causar prejuízos relacionados à conversão de celulose em glicose.

#### 4.4 Considerações finais

Tendo em vista que o pré-tratamento é uma etapa fundamental no processo de produção do etanol de segunda geração, torna-se importante estudar essa etapa com objetivo de otimizar as condições operacionais empregadas.

O trabalho avaliou o emprego de diferentes razões palha/água no pré-tratamento hidrotérmico (1:20; 1-10; 1:6,7), bem como diferentes temperaturas no pré-tratamento alcalino (25; 45; 65 °C), com realização de experimentos de sacarificação enzimática para todas as biomassas submetidas tanto ao pré-tratamento hidrotérmico (PTH) quanto aos pré-tratamentos sequenciais, hidrotérmico e alcalino (PTH+PTA). O estudo mostrou que a etapa de deslignificação alcalina não promoveu efetiva melhora na conversão de celulose em glicose, o que não justifica sua realização. Porém o pré-tratamento hidrotérmico mostrou-se promissor, alcançando conversões na etapa de hidrólise acima de 85%.

O planejamento experimental mostrou que o fator razão  $m_{\text{palha seca}}/V_{\text{água}}$  no PTH se apresentou estatisticamente significativo dentro da faixa estudada, indicando que maior teor de celulose foi obtido ao se trabalhar no nível superior desse fator. Efeito inverso, porém, foi detectado para a variável-resposta conversão de celulose em glicose, visto que maior conversão foi obtida ao se trabalhar no nível inferior do fator razão  $m_{\text{palha seca}}/V_{\text{água}}$  no PTH.

Levando-se em conta os resultados apresentados nesse capítulo, optou-se portanto por dar sequência aos experimentos dessa tese empregando-se apenas o pré-tratamento hidrotérmico (sem a etapa de deslignificação, visto que essa não se mostrou eficiente nas condições empregadas), com carga de sólidos de 10 % m/v.

## CAPÍTULO 5 - UM MODELO CINÉTICO PARA O PRÉ-TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DA PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR

Este capítulo apresenta os modelos cinéticos propostos para a extração da celulose e hemicelulose durante o pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana de açúcar. A biomassa foi tratada nas temperaturas de 180, 195 e 200 °C, usando-se uma razão sólido/líquido de 1:10 m/v. Neste estudo, celobiose, glicose, ácido fórmico e hidroximetilfurfural (da fração celulósica) e xilose, arabinose, ácido acético, ácido glucurônico e furfural (da fração hemicelulósica) foram levados em consideração na determinação dos parâmetros cinéticos. O algoritmo de busca global *Simulated Annealing* foi usado para ajustar os modelos. A 195 °C/15 min, atingiu-se remoção de 85% de hemicelulose e 21% de celulose. Observou-se que as regiões de confiança podem ser amplas, o que é coerente com o fato de que os parâmetros estão altamente correlacionados. Os modelos cinéticos propostos para a degradação da fração celulósica e hemicelulósica se adequaram aos dados experimentais.

### 5.1 Introdução

A utilização de biomassas lignocelulósicas como fontes renováveis de açúcares fermentescíveis apresenta um caminho promissor para aumentar a produção de combustível, biomateriais e uma variedade de produtos químicos. Além disso, o uso desses materiais evita a concorrência com a indústria alimentícia e não há necessidade de expansão de áreas cultivadas (ZHUANG et al., 2009; PARISUTHAM et al., 2014; PEREIRA et al., 2015). Neste contexto, o Brasil é notável em fazer progresso no sentido de substituir os combustíveis fósseis por combustível sustentável (etanol), tendo em vista que esse país é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar. Na safra 2016/2017, foram processados 651,8 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, o que resultou em uma produção de cerca de 27,2 bilhões de litros de etanol (anidro e hidratado) e 38,7 milhões de toneladas de açúcar (CORRÊA et al., 2016; UNICA, 2017). Também estima-se que, para cada tonelada de cana processada, 140 kg de palha em base seca (SAAD et al., 2008) seja gerado, o que resulta na safra 2015/2016, em uma produção de 93,3 milhões de toneladas de palha.

A palha de cana-de-açúcar é um dos resíduos agrícolas mais abundantes e expressivos do processamento da cana-de-açúcar. Geralmente, é usada para cobertura do campo ou pode ser queimada em indústrias para fornecer energia. Esse resíduo é composto de celulose (34-43%), hemiceluloses (23-38%, principalmente xilanas), lignina (11-25%) e pequenas quantidades de compostos extrativos e inorgânicos (OLIVEIRA et al., 2014; PRATTO et al., 2015; PEREIRA et al., 2016).

Devido à complexa estrutura da biomassa lignocelulósica, uma etapa de pré-tratamento é essencial para romper parcialmente a estrutura recalcitrante, diminuir as barreiras físicas e aumentar a acessibilidade da celulose na etapa de hidrólise por celulasas. Portanto, o pré-tratamento é um dos mais importantes estágios para o processo de produção de etanol lignocelulósico (SHEN AND WYMAN, 2011; VARGAS et al., 2015). Diversos estudos mostram que o pré-tratamento hidrotérmico é particularmente interessante devido a ser uma tecnologia ambientalmente amigável, uma vez que o único solvente é a água quente sob alta pressão (150-240 °C; 1-3,5 MPa), eliminando problemas com corrosão e custos operacionais (BOUSSARSAR et al., 2009; SILVA et al., 2011; DA CRUZ et al., 2012; XIAO et al., 2013; ABDULLAH et al., 2014).

Durante o pré-tratamento hidrotérmico, também chamado de auto-hidrólise ou pré-tratamento com água quente, a degradação da fração hemicelulósica ocorre através de reações catalisadas por hidrônios. Os íons hidrônios da auto-ionização da água catalisam a reação, quebram as ligações de acetil e liberam acetato a partir da hemicelulose. Como resultado, ácido acético é formado. Essa degradação ocorre seletivamente e facilita a remoção dos monossacarídeos e oligossacarídeos das hemiceluloses, deixando as frações de celulose e de lignina com pequenas alterações (GARROTE et al., 2001; JIANG and XU, 2016).

O bagaço e a palha de cana-de-açúcar apresentam diferenças em sua natureza física e na composição química (MOUTTA et al., 2013; DEL RÍO et al., 2015). Essas diferenças resultam em comportamento diferente durante a etapa de pré-tratamento. Portanto, as condições do pré-tratamento devem ser otimizadas para cada resíduo.

O estudo sistemático de cada etapa no desenvolvimento de tecnologias para o processamento adequado de subprodutos da cana-de-açúcar (bagaço e palha) é um meio importante para produção de etanol lignocelulósico. Na etapa do pré-tratamento, a utilização de modelos matemáticos é muito útil. Eles podem ajudar a encontrar condições ótimas

(temperatura e tempo reacionais), as quais resultam em concentrações de açúcar elevadas e baixa concentração de inibidores das etapas de hidrólise/fermentação. Eles representam uma ferramenta muito útil para otimização e aumento de escala de processos (PRUNESCU et al., 2015). Ademais, é desejável que um modelo cinético proporcione compreensão fundamental para descrever as mudanças que ocorrem na fração celulósica e hemicelulósica submetidas à hidrólise (como uma função da condição do pré-tratamento), ao mesmo tempo em que não seja demasiadamente complexo (PRATTO et al., 2016).

Considerando-se a aplicação do pré-tratamento hidrotérmico, vários modelos foram propostos na literatura para a degradação de hemicelulose de madeira, gramíneas e bagaço de cana-de-açúcar (GARROTE et al., 2001; AGUILAR et al., 2002; CARVALHEIRO et al., 2004; MITTAL et al., 2009a; SANTUCCI et al., 2015; VALLEJOS et al., 2015). Por outro lado, poucos modelos são apresentados para explicar a degradação da fração celulósica com ajuste satisfatório (GULLÓN et al., 2010; BORREGA et al., 2011). Ademais, trabalhos sobre a cinética das reações de auto-hidrólise da palha de cana-de-açúcar, levando em conta as frações celulósica e hemicelulósica, não foram encontrados na literatura.

Dessa forma, este capítulo apresenta um modelo cinético semi-mecanístico para a degradação hidrotérmica da palha de cana-de-açúcar em batelada, considerando as frações celulósica e hemicelulósica. Os experimentos foram realizados em diferentes condições de pré-tratamento para obter dados dos perfis de degradação da palha de cana-de-açúcar sob pré-tratamento hidrotérmico. Esses dados foram utilizados para o ajuste do modelo cinético desenvolvido aqui, uma vez que o comportamento cinético da degradação da celulose e hemicelulose é afetado pela composição específica e pelas características da palha da cana-de-açúcar. O modelo proposto leva em consideração uma sequência de reações irreversíveis da hemicelulose e celulose em oligômeros, monômeros, furanos e produtos de degradação, considerando-se cinética de primeira ordem com dependência de temperatura de acordo com Arrhenius. Além do mais, para o modelo proposto nesse trabalho foi considerado que não há limitações por difusão. Esse modelo foi validado com dados experimentais e análise estatística. Os modelos semi-mecanísticos proposto aqui não levam em consideração as diferenças entre as frações de celulose cristalina e amorfa. O uso dos modelos semi-mecanísticos é motivado devido à sua simplicidade e à menor necessidade de informações experimentais para descrever a etapa de pré-tratamento (por exemplo, difração de raios-X para medições de cristalinidade). Dessa forma os modelos semi-mecanísticos podem

identificar características essenciais do pré-tratamento. A aplicação de modelos dentro de uma estrutura de engenharia de biorreatores tem sido em sua maioria baseada em abordagens semi-mecanísticas.

## 5.2 Material e métodos

### 5.2.1 Matéria-prima

Conforme descrito no item 4.2.1.

### 5.2.2 Composição da material-prima

A matéria-prima foi caracterizada, com relação a sua composição química, de acordo com os procedimentos analíticos descritos por Sluiter et al. (2008a), modificado por Rocha et al. (1997) e validado por Gouveia et al. (2009).

### 5.2.3 Pré-tratamento hidrotérmico (PTH)

O pré-tratamento hidrotérmico foi realizado em um reator de aço inoxidável (modelo 4584, Parr Instrument Company, Moline, Illinois, EUA) equipado com agitador, aquecedor e controle de temperatura. As amostras de palha de cana-de-açúcar (moídas a um tamanho de 10 mesh) foram misturadas com água destilada em um razão sólido/líquido de 1:10 m/v dentro do reator. As reações ocorreram nas temperaturas de 180, 195 e 210 °C e cada temperatura foi avaliada até um tempo de reação total de 40 min. O sistema foi agitado a 200 rpm. Amostras do licor do pré-tratamento foram obtidas em 0, 5, 10, 15, 20, 30 e 40 minutos e foi determinado o teor de seus componentes orgânicos. Quando a reação finalizou, o reator foi resfriado até 40 °C. O sólido foi separado da fração líquido por filtração. A fração sólida foi lavada com água para remover os componentes solúveis, até atingir o pH neutro. A

fração líquida (chamada de licor do pré-tratamento) foi caracterizada por análise composicional.

#### 5.2.4 Análise do licor de pré-tratamento

Os licores do pré-tratamento (LP) foram analisados de acordo com o procedimento padrão do *National Renewable Energy Laboratory's* (NREL), descrito por Sluiter et al. (2008b). A determinação de açúcares totais da hemicelulose e celulose foi realizada por pós-hidrólise de 5 mL do licor de pré-tratamento com 174  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  72% (v/v), autoclavados a 121 °C durante 1 h em tubos de ensaio. Os licores hidrolisados do pré-tratamento (LHPs) e licores não hidrolisados do pré-tratamento (LPs) foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para determinação de carboidratos, ácidos orgânicos, furfural e hidroximetilfurfural (HMF). O teor de oligômeros foi calculado como a diferença entre os conteúdos de monômeros da hemicelulose e celulose contido nos LHPs e LPs. A fração de hemicelulose foi estabelecida como a soma do teor de arabinose, xilose, ácido acético, ácido glucurônico e furfural, corrigido pelo fator estequiométrico para a conversão de cada componente citado em hemicelulose. A celulose foi determinada como a soma da celobiose e glicose e seus produtos de degradação (ácido fórmico e HMF), corrigido pelo fator estequiométrico correspondente (GOUVEIA et al., 2009).

#### 5.2.5 Modelo cinético e ajuste dos dados

Para explicar a degradação dos carboidratos durante o pré-tratamento, modelos cinéticos foram desenvolvidos, baseados nos resultados experimentais. As equações semi-mecanísticas de primeira ordem foram usadas para ajustar os perfis de concentração (para cada temperatura operacional considerada nesse estudo). Elas foram usadas para a solução numérica das equações diferenciais que descrevem a degradação da celulose e hemicelulose em batelada com o tempo.

Foram realizados procedimentos de ajuste (e análise estatística) para a modelagem da celulose e hemicelulose usando um algoritmo de busca global, *Simulated Annealing* (KIRKPATRICK; GELATT; VECCH, 1983), implementado no software *in-house* para compilador MatLab (versão R2016b, MathWorks®). Após os ajustes dos parâmetros, o conjunto de equações diferenciais foi resolvido por um método adaptativo de equações diferenciais ordinárias (Runge–Kutta de 4ª ordem), desenvolvido no Scilab®, apenas para fins de apresentação.

### 5.3 Resultados e discussão

A composição química da palha de cana-de-açúcar *in-natura* utilizada neste trabalho apresentou: 34,8% ( $\pm 0,2$ ) de celulose, 23,0% ( $\pm 0,2$ ) de hemicelulose, 24,1% ( $\pm 0,5$ ) de lignina, 14,9% ( $\pm 0,4$ ) de extrativos e 7,1% ( $\pm 0,4$ ) de cinzas. Os compostos dos licores foram glicose (mais celobiose), xilose, arabinose, ácido fórmico, ácido acético, ácido glucurônico, furfural, hidroximetilfurfural, glicooligômeros, xilooligômeros e arabinooligômeros.

As composições das frações líquidas extraídas em diferentes tempos e para cada temperatura são mostradas nas Tabelas 5.1-5.3. Como esperado, o pré-tratamento hidrotérmico da palha da cana-de-açúcar teve pouco efeito sobre a hidrólise da celulose. Uma pequena fração de glicanas foi hidrolisada durante o pré-tratamento em todas as temperaturas avaliadas. A concentração máxima de glicooligômeros identificada ao longo do tempo de reação foi de 1,02 g/L (a 195 °C e 10 min). No que diz respeito às xilanas, a 180 °C, obteve-se 12,25 g/L de xilooligômeros (a 30 min), a 195 °C, 11,12 g/L (a 15 min) e a 210 °C, 7,07 g/L (a 5 min). Em todos os ensaios, a concentração de xilooligômeros diminuiu após os tempos de concentração máxima acima mencionados, devido à sua degradação progressiva (Tabelas 5.1-5.3).

**Tabela 5.1: Composição dos licores extraídos em diferentes tempos do pré-tratamento hidrotérmico a 180 °C (g/L).**

Tempo (min)	0	5	10	15	20	30	40
Glicose (+celobiose)	0,6	1,91	2,06	2,22	2,25	2,49	2,64
Xilose	0,56	1,13	1,11	1,38	1,03	1,28	2,03
Arabinose	0,15	0,96	0,98	0,37	1,17	1,03	1,01
Ácido Fórmico	0	0,44	0,47	0,50	0,82	0,90	0,94
Ácido Acético	0	0,29	0,35	0,40	0,49	0,68	0,90
Ácido Glucurônico	0	0,23	0,3	0,38	0,40	0,97	2,86
HMF	0,01	0,07	0,08	0,07	0,09	0,15	0,18
Furfural	0,02	0,11	0,13	0,14	0,22	0,39	0,90
Glicooligômeros	0,44	0,45	0,39	0,40	0,32	0,26	0,17
Xilooligômeros	0,57	4,47	5,52	7,03	10,27	12,25	11,91
Arabinooligômeros	0,35	0,67	0,78	0,80	0,89	1,06	0,63

**Tabela 5.2: Composição dos licores extraídos em diferentes tempos do pré-tratamento hidrotérmico a 195 °C (g/L).**

Tempo (min)	0	5	10	15	20	30	40
Glicose (+celobiose)	1,16	2,04	2,26	2,51	2,45	2,13	1,12
Xilose	1,12	1,39	1,92	2,91	3,71	4,93	3,47
Arabinose	0,27	0,92	0,96	1,10	0,97	0,82	0,36
Ácido fórmico	0	0,64	1,10	1,37	1,72	1,95	0,89
Ácido Acético	0,13	0,45	0,80	1,08	1,23	1,66	1,53
Ácido Glucurônico	0	0,51	2,40	3,88	4,72	3,79	1,26
HMF	0,05	0,13	0,22	0,34	0,45	0,60	0,74
Furfural	0,28	0,28	0,64	1,37	2,38	3,97	5,31
Glicooligômeros	0,64	0,97	1,02	0,43	0,21	0,10	0,11
Xilooligômeros	1,45	6,48	9,66	11,12	5,43	3,39	0,65
Arabinooligômeros	0,22	0,70	0,91	0,36	0,11	0,47	0,05

**Tabela 5.3: Composição dos licores extraídos em diferentes tempos do pré-tratamento hidrotérmico a 210 °C (g/L).**

Tempo (min)	0	5	10	15	20	30	40
Glicose (+celobiose)	2,12	2,44	1,38	1,18	0,86	0,82	0,51
Xilose	1,47	4,04	4,16	1,09	0,58	0,57	0,37
Arabinose	0,43	0,86	1,15	1,06	0,35	0,31	0,27
Ácido Fórmico	0,78	1,87	2,12	2,38	2,36	1,98	1,75
Ácido Acético	0,58	1,44	2,00	2,21	2,05	1,70	1,55
Ácido Glucurônico	1,81	4,17	2,05	0,47	0,45	0,42	0,34
HMF	0,49	0,48	0,75	1,17	1,20	1,01	0,98
Furfural	2,74	2,72	5,07	5,40	4,77	4,33	3,79
Glicooligômeros	0,10	0,25	0,62	0,60	0,51	0,29	0,30
Xilooligômeros	4,73	7,07	0,94	0,22	0,24	0,12	0,22
Arabinooligômeros	0,17	0,23	0,05	0,03	0,03	0,01	0,12

Foi obtida remoção significativa de hemiceluloses a 195 °C e 15 min. Sob esta condição, foram atingidos 85% de remoção de hemicelulose e 21% de remoção de celulose. Santucci et al. (2015) relataram 94,5% de remoção de hemicelulose a 190 °C e 67 min. Yu et al. (2013) alcançaram 85% de remoção de xilana em seus estudos com bagaço de cana-de-açúcar pré-tratamento hidrotérmicamente a 180 °C durante 30 min. Em condições mais severas (195 °C e 40 min e 210 °C e 15 min), a concentração de furfural atingiu 5,31 e 5,40 g/L, respectivamente. A 210 °C, a concentração de furfural diminuiu após 15 minutos, indicando a sua degradação (Tabelas 5.1-5.3).

### 5.3.1 Cinética de solubilização

Trabalhos anteriores estudaram o processo de hidrotérmólise de biomassas lignocelulósicas, indicando que a hidrólise de celuloses e hemicelulose leva a oligômeros de açúcares, que atuam como intermediários da reação para gerar monômeros de açúcar e produtos da degradação dos açúcares (GARROTE et al., 2002; MITTAL et al., 2009b; LAU

et al., 2014).

O primeiro modelo utilizado com sucesso para determinar a cinética da hidrólise de materiais lignocelulósicos foi proposto por Saeman (1945). Este modelo considera uma reação em uma única etapa de carboidratos e foi desenhado somente para a hidrólise da celulose, em ácido sulfúrico diluído a alta temperatura.

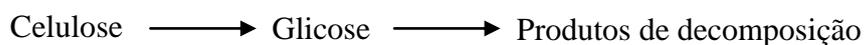
Quanto à fração hemicelulósica, Conner (1984) propôs um esquema para explicar o comportamento bifásico da hidrólise da xilana. Este modelo considera a presença de hidrólise rápida e lenta.

Pronyk and Mazza (2010) propuseram um modelo que descreve a hidrólise da hemicelulose em xilooligômeros antes da formação de açúcares monoméricos.

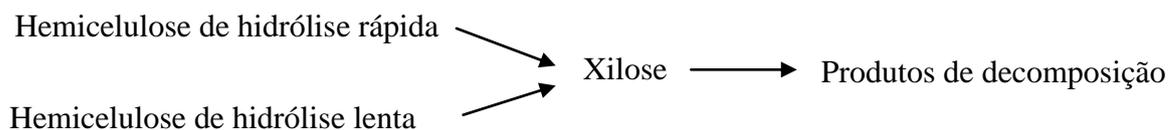
Borrega et al. (2011) desenvolveram modelos cinéticos para explicar a degradação da xilana e glicana da madeira de bétula durante uma extração hidrotérmica. Os modelos assumem uma sequência de reações de primeira ordem incluindo mais de um produto de degradação. Quanto às hemiceluloses, XN1 e XN2 representam as frações da degradação rápida e lenta da xilana; XOS e X representam xilooligômeros e monômeros de xilose no extrato líquido; F e DPx representam furfural e outros produtos da degradação na extrato, respectivamente. Quanto à fração celulósica, GN1 e GN2 representam frações da degradação de glicana rápida e lenta. GOS são os glicooligossacarídeos; G corresponde a glicose; HMF é hidroximetilfurfural; DPx representa produtos secundários de degradação não identificados.

Estes modelos cinéticos são apresentados da seguinte forma:

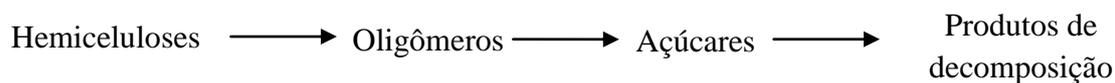
Modelo 1: Hidrólise da celulose (Saeman 1945)



Modelo 2: Hidrólise da hemicelulose rápida e lenta (Conner1984)

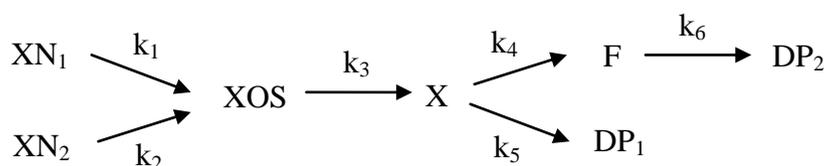


Modelo 3: Hidrólise da hemicelulose em xilooligômeros antes da formação de monômeros (Pronyk and Mazza 2010)

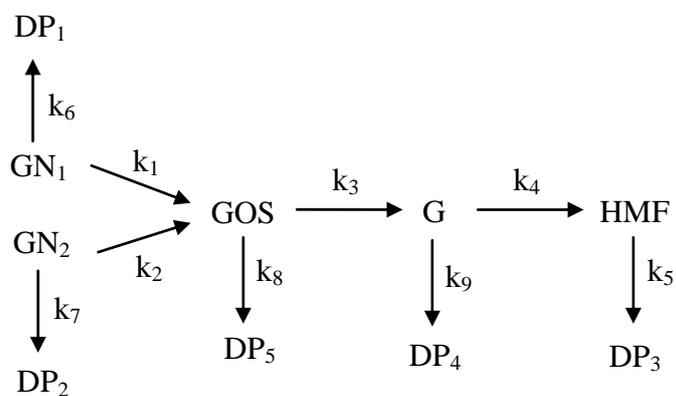


Modelo 4: Hidrólise da celulose e hemicelulose, incluindo mais de uma formação de produtos de degradação (Borrega et al. 2011)

Hidrólise da hemicelulose:



Hidrólise da celulose:

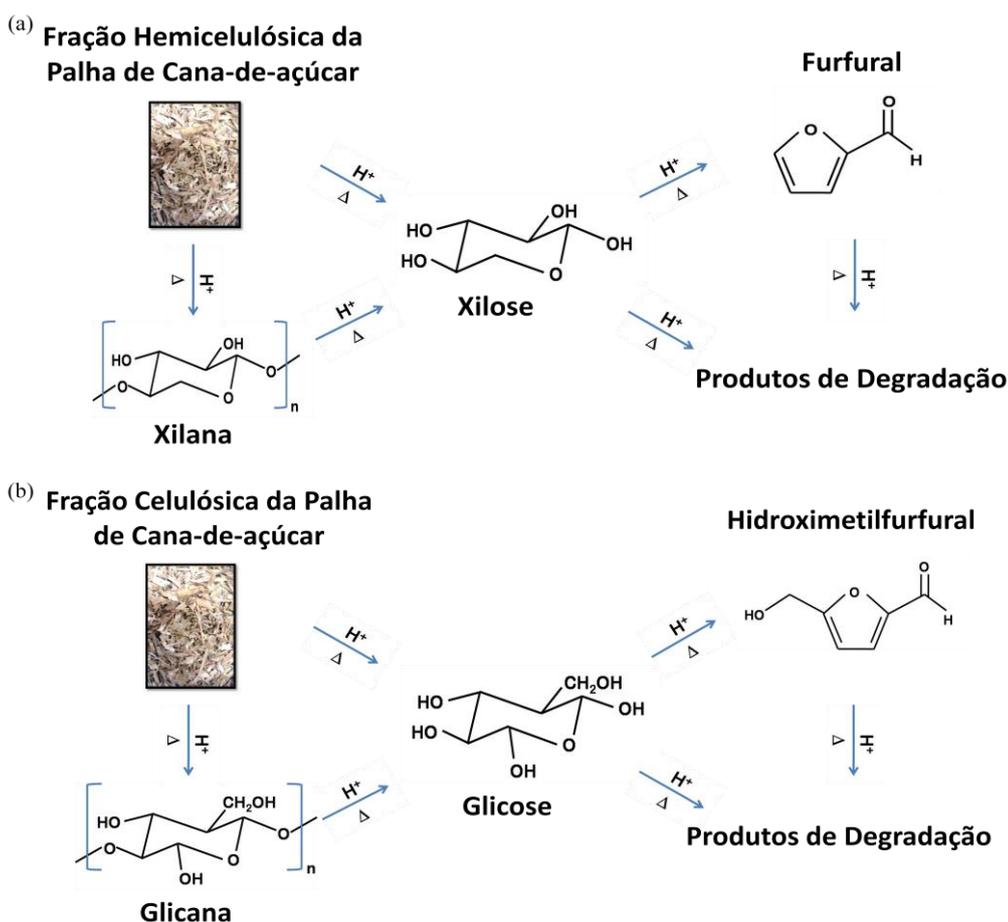


Ademais, a literatura (BORREGA et al., 2011; ZHANG et al., 2013; LAU et al., 2014; VALLEJOS et al., 2015) afirma que a remoção rápida de furfural e HMF da hidrólise ácida pode formar compostos ricos em carbonos, que são livremente denominados como huminas.

Uma vez que o estudo cinético do pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar, levando em conta as frações celulósica e hemicelulósica, não foi encontrado na literatura, este trabalho preenche essa lacuna.

A Fig. 5.1 apresenta o esquema de reação considerado neste trabalho para explicar a degradação das frações de hemicelulose e celulose da palha de cana-de-açúcar, durante o pré-tratamento hidrotérmico em batelada.

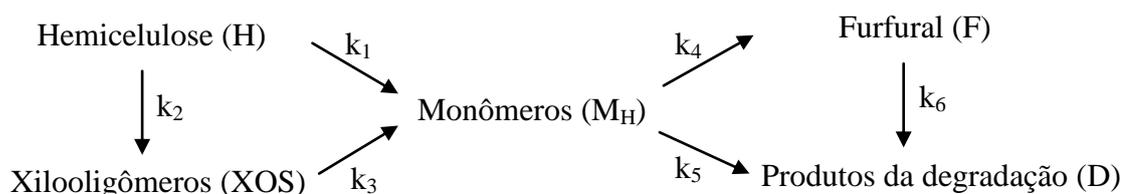
**Figura 5.1: Degradação das frações (a) hemicelulósica e (b) celulósica da palha de cana-de-açúcar propostas neste trabalho.**



Fonte: Acervo do autor (2016).

### 5.3.2 Cinética de solubilização hemicelulósica

De acordo com o esquema geral proposto na Fig. 5.1 (a), a degradação da fração hemicelulósica durante o pré-tratamento hidrotérmico pode ser descrita como:



Assumindo uma sequência de reações de primeira ordem, o esquema proposto para a degradação da fração hemicelulósica pode ser expresso pelas Eq. 5.1 a 5.5:

$$d(H)/dt = -(k_1 + k_2) \cdot H \quad (5.1)$$

$$d(XOS)/dt = k_2 \cdot H - k_3 \cdot XOS \quad (5.2)$$

$$d(M_H)/dt = k_1 \cdot H + k_3 \cdot XOS - (k_4 + k_5) \cdot M_H \quad (5.3)$$

$$d(F)/dt = k_4 \cdot M_H - k_6 \cdot F \quad (5.4)$$

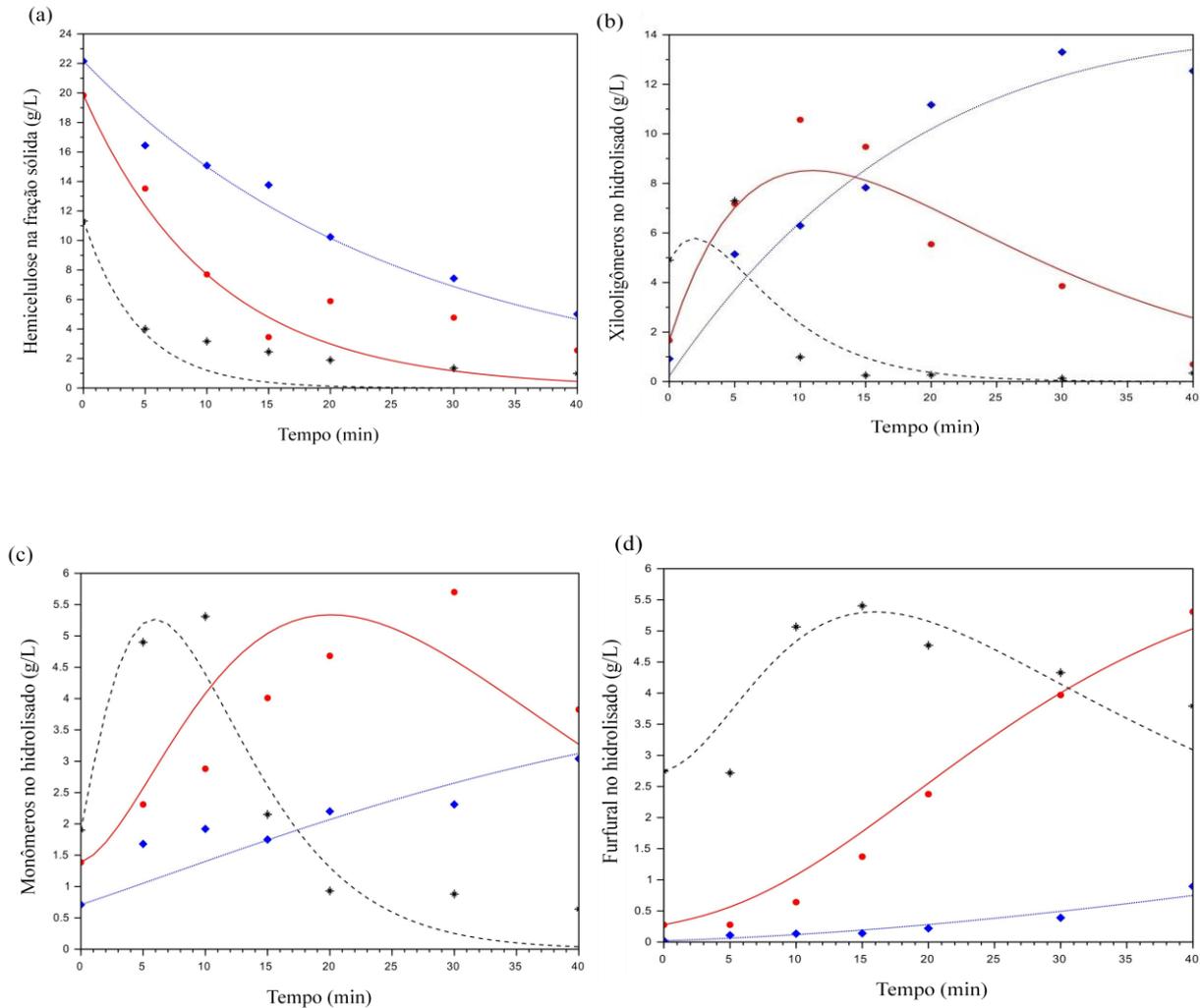
$$d(D)/dt = k_5 \cdot M_H + k_6 \cdot F \quad (5.5)$$

onde:  $k_1$  a  $k_2$  representam as taxas de solubilização para a fração hemicelulósica em monômeros e xilooligômeros, respectivamente,  $k_3$  é a taxa de solubilização de xilooligômeros em monômeros,  $k_4$  é a taxa de transformação de monômeros de xilose em furfural, e  $k_5$  e  $k_6$  representam as taxas de solubilização de xilose e furfural em produtos finais de degradação, respectivamente.

A Fig. 5.2 apresenta os dados experimentais e as previsões do modelo ajustado para a degradação da fração hemicelulósica, formação e consumo de xilooligômeros,

monômeros e furfural durante o pré-tratamento hidrotérmico. O modelo cinético foi ajustado para os dados experimentais levando em conta as Eqs. 5.1 a 5.4.

**Figura 5.2:** Perfil da (a) degradação da hemicelulose, (b) formação e consumo de xilooligômeros, (c) monômeros e (d) furfural durante o pré-tratamento hidrotérmico. Os símbolos correspondem às observações experimentais e as linhas correspondem ao modelo cinético proposto para as temperaturas de 180 °C (diamante azul), 195 °C (círculo vermelho) e 210 °C (asterisco preto).



Os produtos finais de degradação da fração hemicelulósica são principalmente formados pelos ácidos acético e glucurônico, huminas, entre outros compostos não identificados. Nesse trabalho, somente foi possível a quantificação dos ácidos orgânicos. Essa foi a razão pela qual a Eq. 5.5 não foi usada para ajudar o modelo.

O modelo cinético da fração hemicelulósica mostrou boa aderência aos dados experimentais, indicando que pode representar matematicamente o processo. Os resultados da

Fig. 5.2 (a) indicam que o pré-tratamento hidrotérmico foi efetivo na remoção de hemicelulose a 180 °C (78%), 195 °C (89%) e 210 °C (96%). O alto nível de remoção de hemicelulose é uma característica do pré-tratamento hidrotérmico (ALVIRA et al., 2010).

Os valores determinados para os parâmetros cinéticos são apresentados na Tabela 5.4.

**Tabela 5.4: Constantes cinéticas de taxa para a degradação de hemicelulose.**

Temperatura (°C)	$k_1$ (1/min)	$k_2$ (1/min)	$k_3$ (1/min)	$k_4$ (1/min)	$k_5$ (1/min)	$k_6$ (1/min)
180	0,0037	0,0353	0,0073	0,0097	0,0139	0,0043
195	0,0041	0,0988	0,0662	0,0316	0,0655	0,0047
210	0,0105	0,2143	0,2739	0,0730	0,1546	0,0317

Os resultados apresentados na Tabela 5.4 indicam que o pré-tratamento hidrotérmico favorece a conversão de hemicelulose em oligômeros a 180 e 195 °C, porque os valores estimados de  $k_2$  são os mais elevados em relação aos demais parâmetros. Estes resultados estão de acordo com o que foi relatado por Santucci et al. (2015), que estudaram a auto-hidrólise da hemicelulose a partir do bagaço de cana-de-açúcar a 160-190 °C. Por outro lado, a 210 °C, os resultados indicaram que a formação de monômeros é favorecida, tendo em vista que  $k_3$  apresentou o maior valor. Este comportamento sugere que esta temperatura é alta o suficiente para promover uma hidrólise rápida de oligômeros em monômeros. Além disso, para todas as condições experimentais, a formação de produtos finais de degradação de monômeros é mais rápida do que a formação de furfural ( $k_5 > k_4$ ). Borrega et al. (2011) relataram comportamento similar. Além disso, a formação de monômeros a partir da hemicelulose e de produtos de degradação a partir do furfural apresentaram as menores taxas cinéticas ( $k_1$  e  $k_6$ ), para todas as temperaturas avaliadas.

Uma análise geral da Tabela 5.4 mostra que as taxas de reação aumentam com o aumento da temperatura. Um aumento de 2,84 vezes na taxa de reação relacionada à degradação de hemicelulose em monômeros ( $k_1$ ) foi observado quando a temperatura foi elevada de 180 para 210 °C. Além disso, a formação de xilooligômeros, monômeros a partir de oligômeros, furfural, produtos de degradação a partir de monômeros e produtos de

degradação a partir de furfural a 210 °C foi 6,07; 37,52; 7,53; 11,12 e 7,37 vezes mais rápida do que a 180 °C, respectivamente.

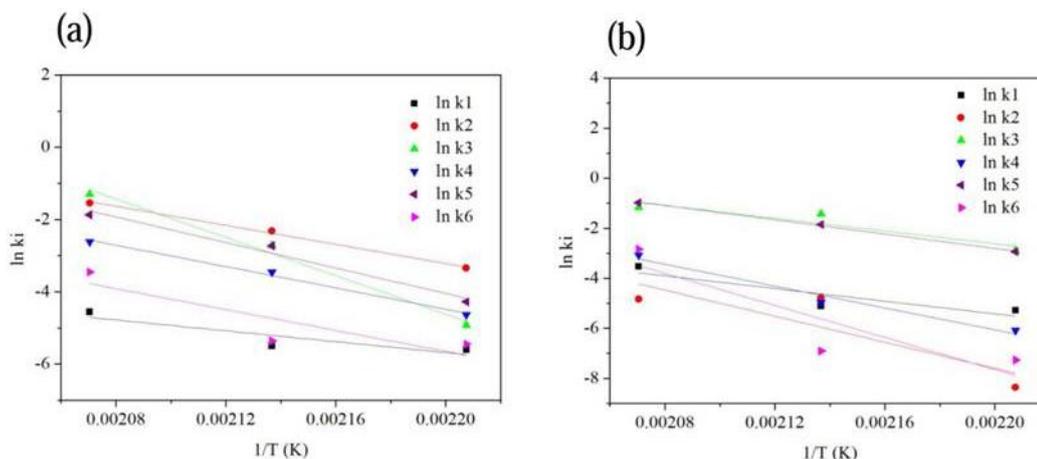
Todos estes valores foram usados para estabelecer a dependência da temperatura dos parâmetros cinéticos  $k_1$ - $k_6$  baseada na relação de Arrhenius, que é apresentada na Tabela 5.5 e Fig. 5.3 (a).

**Tabela 5.5: Parâmetros de Arrhenius da auto-hidrólise de hemicelulose e celulose para a palha de cana-de-açúcar.**

Constantes da taxa de cinética	Hemicelulose			Celulose		
	ln (A)	$E_a$ (kJ/mol)	Arrhenius $R^2$	ln (A)	$E_a$ (kJ/mol)	Arrhenius $R^2$
$k_1$	10,90	62,68	0,808	22,40	105,14	0,803
$k_2$	25,75	109,49	0,996	49,67	216,44	0,755
$k_3$	53,66	220,23	0,988	25,32	105,60	0,870
$k_4$	27,95	122,57	0,993	41,93	181,35	0,973
$k_5$	34,71	146,47	0,978	28,68	118,98	0,998
$k_6$	26,08	119,91	0,767	62,78	266,17	0,795

A Tabela 5.5 ilustra os valores da energia de ativação. O valor mais alto foi calculado para a degradação de xilooligômeros em monômeros (220,23 kJ/mol). Este efeito sugere que, dependendo da temperatura (para temperaturas mais baixas), pode ocorrer um acúmulo de xilooligômeros no licor de pré-tratamento e que a produção completa de monômeros pode exigir uma hidrólise adicional. A Fig. 5.3 (a) mostra o perfil de Arrhenius para a degradação da hemicelulose.

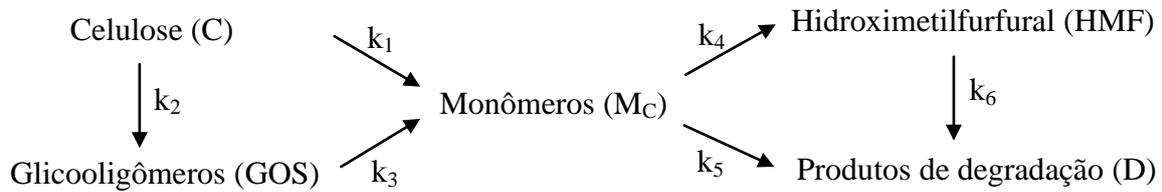
**Figura 5.3: Gráfico de Arrhenius de ln ( $k_i$ ) versus 1/T, mostrando a dependência de temperatura dos parâmetros cinéticos  $k_1$ - $k_6$  para (a) hemicelulose e (b) celulose.**



### 5.3.3 Cinética de solubilização celulósica

Com base na degradação da celulose, a Fig. 5.1 (b) apresenta os componentes da biomassa liberados durante a hidrotérmólise.

De acordo com o esquema geral proposto na Fig. 5.1 (b), a degradação da fração celulósica durante o pré-tratamento hidrotérmico pode ser descrita como:



Semelhantemente as Eqs. 5.1 a 5.5, uma sequência de reações de primeira ordem foi proposta para a degradação da celulose, descrita pelas Eqs. 5.6 a 5.10.

$$d(C)/dt = -(k_1 + k_2) \cdot C \quad (5.6)$$

$$d(GOS)/dt = k_2 \cdot C - k_3 \cdot GOS \quad (5.7)$$

$$d(M_C)/dt = k_1 \cdot C + k_3 \cdot GOS - (k_4 + k_5) \cdot M_C \quad (5.8)$$

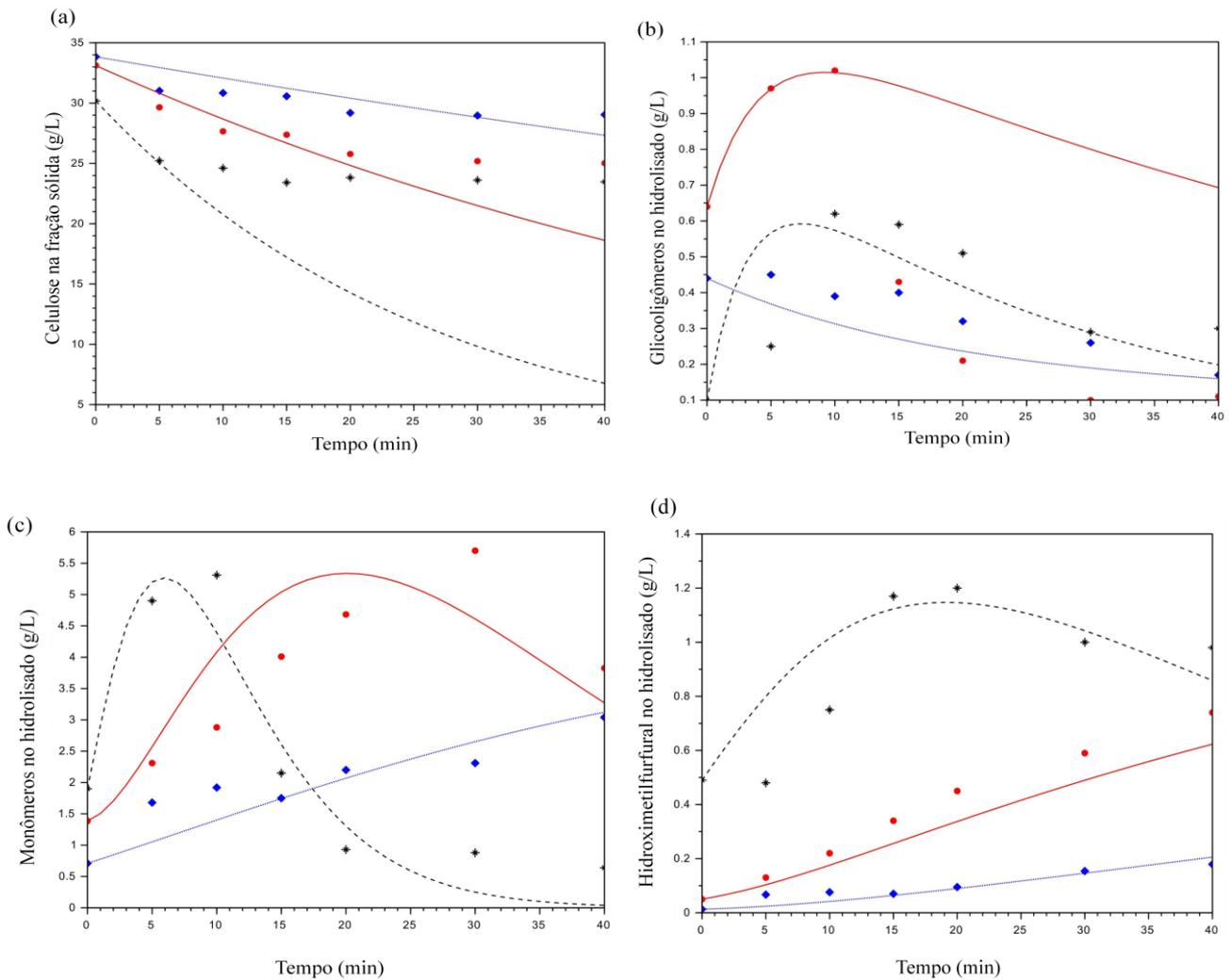
$$d(HMF)/dt = k_4 \cdot M_C - k_6 \cdot HMF \quad (5.9)$$

$$d(D)/dt = k_5 \cdot M_C + k_6 \cdot HMF \quad (5.10)$$

onde:  $k_1$  e  $k_2$  representam as taxas de solubilização da fração celulósica em monômeros e glicooligômeros, respectivamente,  $k_3$  é a taxa de solubilização de glicooligômeros em monômeros,  $k_4$  é a taxa de transformação da degradação de monômeros de glicose em hidroximetilfurfural, e  $k_5$  e  $k_6$  representam as taxas de solubilização monômeros e hidroximetilfurfural em produtos finais de degradação, respectivamente.

A Fig. 5.4 apresenta os dados experimentais e a previsões de ajuste do modelo para a degradação da fração celulósica, formação e consumo de glicooligômeros, monômeros e hidroximetilfurfural durante o pré-tratamento hidrotérmico. O modelo cinético foi ajustado aos dados experimentais levando em conta as Eqs. 5.6 a 5.9.

**Figura 5.4: Perfil da (a) degradação da celulose, (b) formação e consumo de glicooligômeros, (c) monômeros e (d) hidroximetilfurfural durante o pré-tratamento hidrotérmico. Os símbolos correspondem às observações experimentais e as linhas correspondem ao modelo cinético proposto para as temperaturas de 180 °C (diamante azul), 195 °C (círculo vermelho) e 210 °C (asterisco preto).**



Os produtos finais de degradação da fração celulósica são principalmente formados por ácido fórmico, huminas, entre outros compostos não identificados. Neste trabalho, apenas foi possível a quantificação dos ácidos orgânicos. De forma similar a hemicelulose, esta foi a razão pela qual a última equação não foi usada para ajustar o modelo. Foi utilizado somente para ter alguma previsão do comportamento esperado para estes

componentes (produtos finais de degradação – dados não mostrados). Naturalmente, os valores previstos pelo modelo para os produtos finais de degradação foram maiores que os ácidos orgânicos quantificados.

Com relação à degradação da celulose a 180 °C (Fig. 5.4a), o modelo mostra boa aderência para os dados experimentais ao longo do tempo de reação. Contudo, a 195 °C o modelo prevê os dados experimentais até 20 minutos. Além disso, a 210 °C apenas os primeiros 5 minutos são previstos pelo modelo. Após estes tempos avaliados, a celulose obtida experimentalmente permanece constante. De acordo com Zhao et al. (2015), o pré-tratamento hidrotérmico pode remover levemente a celulose amorfa em temperaturas inferiores a 190 °C. Em temperaturas mais elevadas, a cristalinidade da matriz lignocelulósica pode ser mais facilmente reduzida. No entanto, os autores também observaram que a 210 e 220 °C o índice de cristalinidade permanece constante após algum tempo. Comportamento semelhante também foi verificado por Zheng et al. (2016). O modelo proposto não leva em conta nenhuma diferença entre a fração de celulose cristalina e amorfa. Portanto, o modelo superestimou a degradação da celulose a 210 °C, uma vez que não considera nem o teor máximo de celulose amorfa nem a elevada recalcitrância da celulose cristalina. Contudo, o modelo descreveu bem os dados experimentais nas temperaturas mais baixas (180 e 195 °C).

Com relação a Fig. 5.4 (b), a 195 °C, um desvio significativo entre os dados experimentais e o modelo proposto foi observado após 10 minutos. Xiao et al. (2013) estudaram o pré-tratamento hidrotérmico do *Tamarix ramosissima* na faixa de 180-240 °C, e os resultados obtidos mostram que os glicooligômeros alcançaram máximo rendimento a 190 °C. O ajuste insatisfatório dos dados após 10 minutos a 195 °C mostra que o modelo não prevê a rápida degradação dos oligômeros, que apresenta um declínio mais pronunciado para os dados experimentais quando comparado com o simulado.

Os valores para os parâmetros cinéticos são apresentados na Tabela 5.6.

**Tabela 5.6: Constates cinéticas de taxa para a degradação da celulose.**

Temperatura (°C)	k <sub>1</sub> (1/min)	k <sub>2</sub> (1/min)	k <sub>3</sub> (1/min)	k <sub>4</sub> (1/min)	k <sub>5</sub> (1/min)	k <sub>6</sub> (1/min)
180	0,0051	0,0002	0,0550	0,0023	0,0531	0,0007
195	0,0060	0,0084	0,2400	0,0070	0,1573	0,0010
210	0,0294	0,0080	0,3100	0,0460	0,3772	0,0588

Os resultados (Tabela 5.6) indicam que o pré-tratamento hidrotérmico a 180 e 195 °C favorecem a solubilização de glicooligômeros em monômeros. A taxa de formação de monômeros a partir de glicooligômeros é maior do que sua decomposição em produtos de degradação ( $k_3 > k_5$ ) a 180 e 195 °C. Por outro lado, a 210 °C, o oposto é observado ( $k_5 > k_3$ ). Esse fato sugere que há uma temperatura ótima. A partir desse ponto, aumentar a temperatura implica em um aumento dos produtos de degradação. Além do mais, para todas as condições experimentais, a formação dos produtos finais de degradação a partir de monômeros é mais rápida do que a formação de hidroximetilfurfural ( $k_5 > k_4$ ). Esse efeito foi, de forma similar, observado para a fração hemicelulósica. Ademais, a taxa de conversão de celulose em glicooligômeros ( $k_2$ ) apresentou o menor valor a 180 e 210 °C. A 195 °C, a cinética dos produtos de degradação a partir de hidroximetilfurfural ( $k_6$ ) apresentou o menor valor. Borrega et al. (2011) reportaram resultado similar.

Uma análise geral da Tabela 5.6 mostra que as taxas de reação aumentam com o aumento da temperatura. Um aumento de 5,76 vezes na taxa de reação da degradação de celulose em monômeros ( $k_1$ ) foi observado quando a temperatura foi elevada de 180 para 210 °C. Além do mais, a formação de glicooligômeros, monômeros a partir de oligômeros, hidroximetilfurfural, produtos de degradação a partir de monômeros e produtos de degradação a partir de hidroximetilfurfural a 210 °C foi 40,00; 5,64; 20,00; 7,10 e 84,00 vezes mais rápida do que a 180 °C, respectivamente.

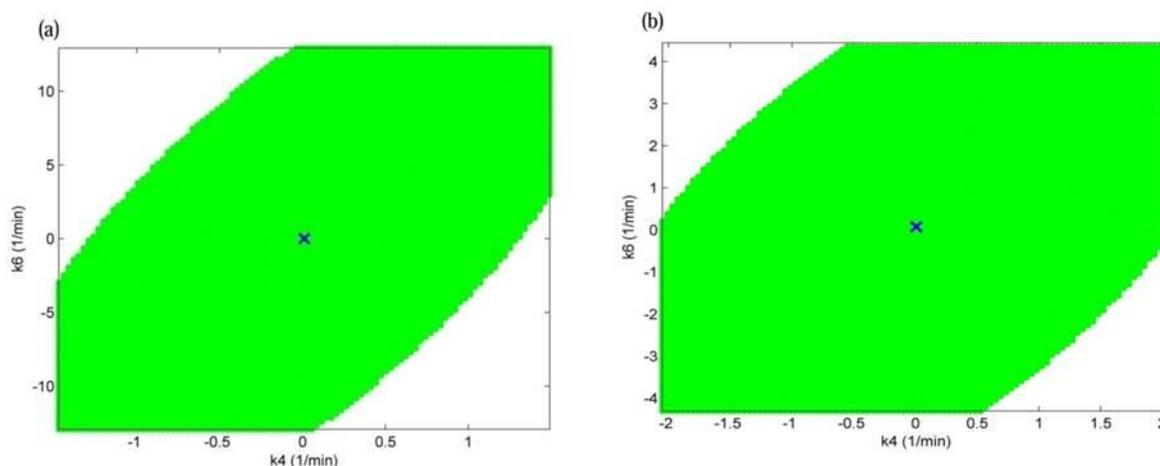
Da mesma forma que a hemicelulose, todos esses valores foram utilizados para estabelecer a dependência da temperatura dos parâmetros cinéticos  $k_1$ - $k_6$  com base na relação de Arrhenius para a celulose, o qual é apresentado na Tabela 5.5 e na Fig. 5.3 (b).

De acordo com a Tabela 5.5, o valor da energia de ativação foi o mais alto para a reação de hidroximetilfurfural aos produtos de degradação (266,17 kJ/mol). Além disso, o valor mais baixo da energia de ativação foi para a reação de celulose a monômeros (105,14 kJ/mol). A Fig. 5.3 (b) mostra o perfil de Arrhenius para a celulose.

A ferramenta do Matlab, Simulated Annealing, utilizada neste trabalho também pode fornecer regiões de confiança para os parâmetros cinéticos (representados em duas dimensões, correspondendo a combinações de pares de parâmetros na proximidade do ponto de soma mínima de erros quadráticos). A abordagem clássica, aproximando a região de confiança por uma função quadrática, foi considerada. Essa é uma abordagem bastante

adequada para este estudo, uma vez que os modelos apresentam dependência linear com seus parâmetros. A Fig. 5.5 mostra os resultados para  $k_4$  e  $k_6$ , obtidos para (a) hemicelulose e (b) celulose a 180 °C.

**Figura 5.5:** Regiões de confiança para os parâmetros  $k_4$  e  $k_6$  para a (a) hemicelulose e (b) celulose a 180 °C.



A partir da Fig. 5.5, observa-se que as regiões de confiança podem ser amplas. Isso é coerente com o fato de que o conjunto de parâmetros está altamente correlacionado. Comportamento semelhante foi verificado por Carvalho et al. (2013) ao ajustar os parâmetros do modelo de hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar. Além disso, a forma elíptica obtida é conforme o esperado. Ademais, pares de parâmetros incluíram valores negativos, que são combinações matemáticas satisfatórias, embora fisicamente impraticáveis.

Os modelos ajustados apresentados neste trabalho foram capazes de fornecer entendimento fundamental para identificação e previsão do processo de pré-tratamento hidrotérmico. Portanto, o estudo cinético foi útil para elucidar o comportamento de degradação da palha de cana-de-açúcar durante o pré-tratamento hidrotérmico, utilizando modelos semi-mecanísticos.

Os modelos propostos neste trabalho podem ser utilizados em estudos de engenharia, incluindo análise de viabilidade técnica e econômica da produção de etanol 2G (integrado à biorrefinarias). Furlan et al. (2012), por exemplo, implementaram uma ferramenta computacional que combina a simulação da produção de bioetanol de primeira e segunda geração através de um algoritmo de otimização global. Um segundo estudo

(FURLAN et al., 2013) visou à avaliação da viabilidade econômica de uma biorefinaria flexível. Em ambos os trabalhos, a etapa de pré-tratamento foi modelada por relações de rendimento. Nesse sentido, o modelo semi-mecanístico apresentado aqui agrega conhecimento a esse assunto.

#### 5.4 Considerações finais

A hemicelulose foi seletivamente solubilizada durante o pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar. A 195 °C/15 min, o pré-tratamento atingiu 85% de remoção de hemicelulose. Esta condição promoveu uma pequena degradação da fração celulósica, apenas 21%. Uma análise geral mostrou que as taxas de reação aumentaram com o aumento da temperatura. O pré-tratamento hidrotérmico favorece principalmente a conversão de carboidratos em oligômeros e monômeros. Em geral, os modelos cinéticos propostos foram capazes de se adequar aos dados experimentais. Além disso, os modelos propostos neste trabalho descrevem as frações ( $C_5$  e  $C_6$ ) da palha de cana-de-açúcar, podendo ampliar o conhecimento para outros tipos de biomassas lignocelulósicas.

## CAPÍTULO 6 – AVALIAÇÃO DE DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE ALIMENTAÇÃO DE BIOMASSA PARA MELHORAR A HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA PALHA DA CANA-DE-AÇÚCAR

Este capítulo apresenta melhorias na etapa de hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotermicamente. Os ensaios foram conduzidos em volume reacional de 50-mL e 3-L, aplicando-se cargas de sólidos de 10, 20 e 30 % m/v. Os experimentos foram realizados em batelada e batelada alimentada. Ensaios em batelada alimentada apresentaram melhores resultados, em termos de produção de glicose e conversão de celulose em glicose, quando comparados aos ensaios em batelada. Com relação aos experimentos conduzidos em volume reacional de 3-L, as análises de conversão de celulose em glicose, consumo de potência e viscosidade aparente mostraram que o melhor ensaio foi aquele em que o perfil de alimentação de substrato foi mais distribuído, aplicando-se menor teor de massa seca e enzima durante o tempo de hidrólise enzimática. Essa estratégia produziu 108,8 g/L de glicose e 58,2 % de conversão de celulose em glicose, o que significa um teor de etanol potencial de 55,6 g/L (aprox. 7,0 °GL). Além do mais, o consumo de potência por unidade de volume e a viscosidade aparente foram inferiores a 5 kW/m<sup>3</sup> e 35 mPa·s, respectivamente, durante todo o tempo de hidrólise. Levando isso em consideração, essa estratégia requer um motor menos potente para fornecer energia para a etapa de hidrólise.

### 6.1 Introdução

Quando se trata da produção de etanol a partir de biomassas, processar altas cargas de sólidos na etapa de hidrólise enzimática, como por exemplo, 20-25 % em massa seca (HUANG et al., 2013; DU et al., 2014; CARDONA et al., 2015), apresenta um caminho viável para tornar a etapa de destilação eficiente em termos energéticos (XIMENES et al., 2010; FUJII et al., 2014). Esse fato pode ser afirmado tendo em vista a alta concentração de açúcar obtida no licor proveniente de uma hidrólise conduzida com altas cargas de sólidos. Por outro lado, quando um sistema com alto teor de sólidos lignocelulósicos é empregado, a conversão dos carboidratos a açúcares monoméricos pode ser afetada devido a dificuldades de mistura e inibição/desativação das enzimas (XIMENES et al., 2011; XUE et al., 2012; FUJII

et al., 2014; CARDONA et al., 2015). Nesse contexto, muitos trabalhos tem sido apresentados na literatura com o objetivo de contornar essas questões (PEREIRA et al., 2011; SANCHEZ; GOMEZ, 2014; CORRÊA; BADINO; CRUZ, 2016a; CORRÊA; BADINO; CRUZ, 2016b). Entretanto, em termos de eficiência energética, a produção de etanol de segunda geração apresenta, até o momento, um grande desafio para ser aplicado em larga escala.

Durante a etapa de hidrólise enzimática, altas concentrações de sólidos insolúveis em água podem causar problemas de transferência de calor e massa devido à mistura ineficiente do material. Para garantir uma homogeneidade adequada da suspensão, é necessária uma elevada demanda de energia nessa etapa de produção de etanol a partir de biomassas. Portanto, existem dificuldades para o desenho apropriado de reatores que operem com máxima eficiência consumindo menor quantidade possível de energia (CARDONA ALZATE; SÁNCHEZ TORO, 2006; PALMQVIST; WIMAN; LIDÉN, 2011). Uma vez que a reologia é fortemente dependente da concentração de sólidos insolúveis, o desafio de processar altas cargas de biomassa em reatores de hidrólise enzimática é encontrar condições ótimas, que resultem em alta conversão de açúcares com baixa viscosidade e consumo de potência (PEREIRA et al., 2011; HOU et al., 2016).

Nesse sentido, o modo de operação em batelada alimentada tem se mostrado um caminho promissor para conduzir a hidrólise enzimática em altas cargas de sólidos, enquanto se mantêm satisfatórias condições relevantes como o consumo de potência, o comportamento reológico e a conversão de celulose em glicose. Essa estratégia permite uma mistura ideal no caso do processamento de grandes quantidades de massa seca durante os ensaios de hidrólise (CAVALCANTI-MONTAÑO et al., 2013; CORRÊA; BADINO; CRUZ, 2016b; SOTANIEMI et al., 2016).

Uma grande variedade de substratos lignocelulósicos tem sido aplicada em estudos de hidrólise enzimática, tais como palha de milho, lascas de madeira, palha de trigo e bagaço de cana-de-açúcar (XUE et al., 2012; DU et al., 2014; PIHLAJANIEMI et al., 2014; KUMAR et al., 2015). No melhor do nosso conhecimento, não tem sido encontrado na literatura um estudo sistemático da produção de etanol 2G levando em conta o consumo de potência e o comportamento reológico durante a hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotermicamente com elevadas cargas de sólidos. Nesse sentido, esse estudo preenche essa lacuna.

Portanto, esse capítulo apresenta um estudo de melhorias da etapa de hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotêrmicamente em batelada e batelada alimentada, nas cargas de sólidos de 10, 20 e 30 % m/v. Experimentos foram conduzidos com o intuito de encontrar a melhor estratégia de alimentação de substrato durante a etapa de hidrólise enzimática em batelada alimentada com volume de trabalho de 3-L e carga de sólidos de 30 % m/v.

Resultados de reologia, consumo de potência e conversão guiaram a seleção da estratégia de alimentação mais adequada para ser aplicada em biorreatores agitados em um escalonamento da hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar. Além do mais, a estratégia de batelada alimentada pode vir a preencher algumas lacunas para tornar a etapa de hidrólise factível em termos econômicos. Estratégias operacionais dentro da estrutura de engenharia de biorreatores têm sido majoritariamente baseadas em abordagens de batelada alimentada.

## 6.2 Materiais e métodos

### 6.2.1 Materiais

Conforme descrito no item 4.2.1.

### 6.2.2 Pré-tratamento hidrotêrmico (PTH)

Conforme descrito no item 4.2.2, exceto pelo fato de que a palha foi pré-tratada apenas na carga de sólidos 1:10 m/v.

### 6.2.3 Caracterização química

A palha submetida ao PTH foi caracterizada conforme descrito no item 4.2.4.

## 6.2.4 Atividade enzimática

A determinação da atividade do complexo enzimático utilizado nos ensaios de hidrólise foi realizada conforme descrito no item 4.2.6.1.

## 6.2.5 Estratégias dos ensaios de hidrólise em batelada e batelada alimentada

As cargas de sólidos empregadas nos ensaios em batelada bem como as diferentes estratégias de alimentação avaliadas nos ensaios em batelada alimentada estão detalhadas na Tabela 6.1.

**Tabela 6.1: Estratégias de alimentação (substrato e enzima) avaliadas durante a etapa de hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar.**

	Batelada (S)	Carga de sólidos (% , m/v) e enzima (E)	Tempo de alimentação (h)
Volume reacional de 50-mL	S1	10 (E)	0
	S2	20 (E)	0
	S3	30 (E)	0
	Batelada alimentada (S)	Carga de sólidos (% , m/v) e enzima (E)	Tempo de alimentação (h)
Volume reacional de 3-L	S4	10 [5(E)+5(E)]	0, 24
	S5	20 [5(E)+5(E)+5(E)+5(E)]	0, 2, 12, 24
	S6	30 [5(E)+5(E)+5(E)+5(E)+5(E)+5(E)]	0, 2, 4, 8, 12, 24
	Batelada alimentada (S)	Carga de sólidos (% , m/v) e enzima (E)	Tempo de alimentação (h)
Volume reacional de 3-L	S7	30 [5(E)+5(E)+5(E)+5(E)+5(E)+5(E)]	0, 2, 4, 8, 24, 30
	S8	30 [5(E)+5(E)+5(E)+5(E)+5(E)+5(E)]	0, 2, 12, 24, 36, 48
	S9	30 [2,5(E)+2,5(E)+2,5(E)+2,5(E)+2,5(E)+2,5(E)+2,5(E)+2,5(E)+2,5(E)+2,5(E)+2,5(E)]	0, 1, 2, 4, 8, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48

\* A carga enzimática foi mantida constante ao longo de todos os experimentos, em 10 FPU/g<sub>substrato</sub>.

\* Os experimentos foram realizados em duplicata.

Os experimentos de hidrólise enzimática foram conduzidos nas cargas de sólidos de 10, 20 e 30 % m/v, em batelada e batelada alimentada. Os ensaios foram realizados em reator tipo tanque agitado, com volume reacional de 50-mL (250 rpm, 72 h, com três impelidores do tipo pá, cada um com duas lâminas retas) e 3-L (470 rpm, 168 h, com dois impelidores do tipo orelha de elefante, cada um com três lâminas de inclinação de 45°), a 50 °C em tampão citrato (50 mM, pH 4,8). Para os ensaios realizados em 50-mL, os três impelidores foram empregados com o intuito de minimizar problemas de transferência de calor e massa. Com relação aos ensaios em reator de 3-L, a escolha da configuração dos impelidores foi baseada em uma condição otimizada apresentada em um estudo anterior do nosso grupo de pesquisa (CORRÊA; BADINO; CRUZ, 2016a).

As Figuras 6.1, 6.2, 6.3 e 6.4 ilustram os impelidores, reator com volume de trabalho de 50-mL, reator com volume de trabalho de 3-L e a representação esquemática do aparato experimental para os ensaios com 3-L, respectivamente, utilizados nesse capítulo. As medidas aplicadas para os experimentos conduzidos em volume de trabalho de 50-mL são descritas a seguir: espaço entre os impelidores de 0,015 m; comprimento das pás de 0,020 m; altura dos impelidores de 0,010 m; altura de líquido de 0,030 m; diâmetro do tanque de 0,050 m, diâmetro do impelidor de 0,045 m. De forma similar aos ensaios em volume menor, as medidas aplicadas para os experimentos conduzidos em volume de trabalho de 3-L são descritas a seguir: espaço entre os impelidores de 0,070 m; comprimento das pás de 0,073 m; altura dos impelidores de 0,050 m; altura de líquido de 0,210 m; diâmetro do tanque de 0,160 m; diâmetro do impelidor de 0,080 m.

**Figura 6.1:** À esquerda, o impelidor utilizado nos ensaios conduzidos em volume reacional de 3-L; à direita, o impelidor empregado nos ensaios conduzidos em volume reacional de 50-mL.



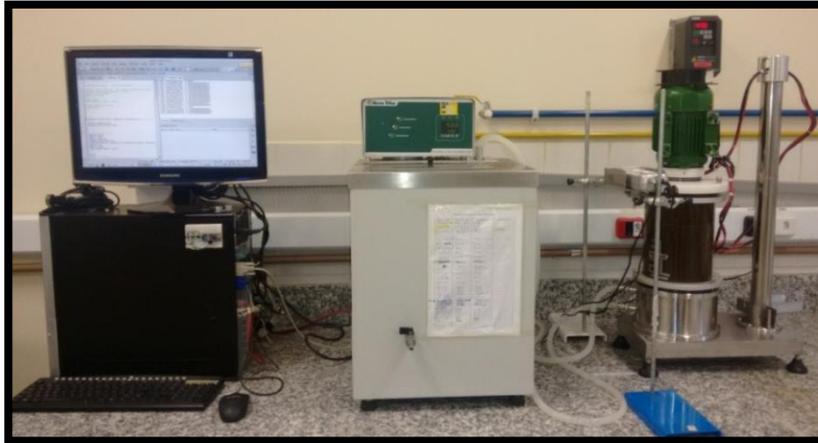
Fonte: Acervo do autor (2017).

Figura 6.2: Reator utilizado nos ensaios com volume de trabalho de 50-mL.



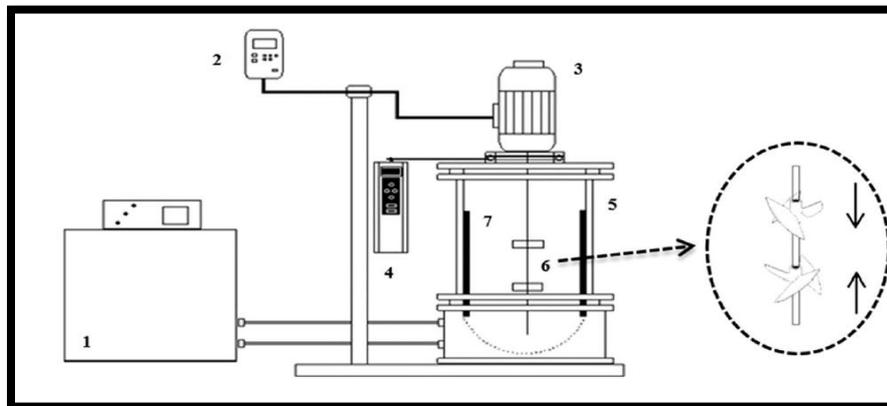
Fonte: Acervo do autor (2017).

Figura 6.3: Reator com chicanas utilizado nos ensaios com volume de trabalho de 3-L.



Fonte: Acervo do autor (2017).

Figura 6.4: Representação esquemática do aparato experimental para os ensaios conduzidos com 3-L. (1) Banho termostático, (2) inversor de frequência, (3) motor, (4) dinamômetro, (5) reator, (6) impelidores do tipo “orelha de elefante” (fluxo descendente e fluxo ascendente), (7) chicanas.



Fonte: Adaptado de Corrêa, Badino e Cruz (2016b).

#### 6.2.6 Quantificação de glicose e ácidos orgânicos

As amostras retiradas durante a hidrólise enzimática foram analisadas com relação ao teor de glicose e ácidos orgânicos conforme descrito no terceiro parágrafo do item 4.2.6.

#### 6.2.7 Quantificação dos compostos fenólicos

O procedimento para análise dos compostos fenólicos totais foi adaptado de Xu e Chang (2009) com pequena modificação. As amostras (20  $\mu\text{L}$ ) foram diluídas em 1.580  $\mu\text{L}$  de água ultrapura, seguida pela adição de 100  $\mu\text{L}$  de Folin-Ciocalteu 2N e incubadas por 3 min no escuro a temperatura ambiente. A reação foi parada pela adição de 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (200 g/L) e a mistura foi novamente incubada por 25 min. Os compostos fenólicos foram medidos a 765 nm, em um espectrofotômetro UV visível (Pharmacia Biotech, Ultrospec 2000). O branco utilizado com controle foi preparado com água. O teor total de fenólicos para cada amostra foi determinado pelo uso de uma curva padrão de ácido gálico (5-500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,  $R^2 = 0,998$ ) e expresso como  $\text{mg}_{\text{ácido gálico}} / \text{g}_{\text{biomassa seca}}$ . A análise foi realizada em triplicata.

#### 6.2.8 Análise reológica

As propriedades reológicas do hidrolisado obtidas a partir da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotermicamente, baseando-se no modelo da “lei da potência”, índice de consistência do fluido (K) e índice de comportamento de escoamento do fluido (n), foram determinadas em intervalos de tempo durante a hidrólise enzimática (2, 4, 6, 8, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 144 e 168 h). Os reogramas (tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento) foram obtidos usando-se um reômetro digital (LV-DVIII+, Brookfield Engineering Laboratories, Inc.), com os *spindles* SC4-25, SC4-34 e SC4-31, a 50 °C. K e n foram determinados pelo ajuste do modelo da “lei da potência” aos dados experimentais usando-se o software Rheocalc 3.3<sup>®</sup>. Empregou-se um volume de 20 mL do hidrolisado em

cada análise. A Figura 6.5 ilustra o reômetro e os *spindles* utilizados para as determinações de reologia.

**Figura 6.5:** À esquerda, o reômetro digital. À direita, os *spindles* SC4-25, SC4-34 e SC4-31 (da esquerda para a direita).



Fonte: Acervo do autor (2017).

Destaca-se que a escolha dos *spindles* utilizados neste trabalho foi baseada nas recomendações do manual do equipamento, que aconselha o uso dos *spindles* de acordo com a faixa de torque requerido para cisalhar o líquido, isto é, o torque (%) tem que estar entre 10 e 100%. Na estratégia S1, o *spindle* SC4-31 foi utilizado nas primeiras 4 horas de experimento devido à viscosidade da suspensão. As análises entre 6 e 24 h, foram realizadas com o *spindle* SC4-34, bem como as análises finais de 96 a 168 h. De 36 a 84 h, o *spindle* SC4-25 foi utilizado pois era o mais adequado para a faixa de viscosidade em que se encontrava a suspensão. No caso da estratégia S2, o *spindle* SC4-31 foi utilizado nas primeiras 4 horas de experimento e também no final, em 168 h. As análises entre 6 e 24 horas foram realizadas com o *spindle* SC4-34, bem como as análises entre 84 e 144 horas. Nas análises de 60 e 72 horas, o *spindle* SC4-25 foi utilizado. Por fim, na estratégia S3 o *spindle* SC4-31 foi utilizado nas primeiras 8 horas de experimento e também nas horas finais, de 144 e 168 h. As análises de 24 e 84 h foram conduzidas com o *spindle* SC4-34. O *spindle* SC4-25 foi utilizado nas análises de 36 a 72 horas.

Baseando-se nas propriedades reológicas ( $K$  e  $n$ ), foi possível se obter os valores da taxa de cisalhamento média ( $\dot{\gamma}_m$ ), utilizando-se a Equação 6.1 (SÁNCHEZ PÉREZ et al., 2006).

$$\dot{\gamma}_m = \left( \frac{4 \cdot N_P \cdot \rho \cdot D_i^2}{27 \cdot \pi \cdot K} \right)^{\frac{1}{1+n}} \cdot N^{\frac{3}{1+n}} \quad (6.1)$$

A viscosidade aparente ( $\mu_{app}$ ) do hidrolisado da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotermicamente foi calculada usando-se a Equação 6.2.

$$\mu_{app} = K \cdot \dot{\gamma}_m^{n-1} \quad (6.2)$$

A análise reológica foi realizada apenas nos ensaios de hidrólise conduzidos em volume reacional de 3-L.

#### 6.2.9 Consumo de potência

O consumo de potência ( $P$ ) foi calculado como o produto do torque ( $T$ ) requerido para a mistura e a velocidade angular do eixo do agitador ( $\omega = 2 \cdot \pi \cdot N$ ), conforme Equação 6.3.

$$P = T \cdot \omega \quad (6.3)$$

O torque requerido para a mistura foi calculado pelo produto entre a força ( $F$ ) medida pelo dinamômetro e o comprimento do braço ( $b$ ) acoplado ao eixo do motor ( $T = F \cdot$

*b*) (CORRÊA; BADINO; CRUZ, 2016b). Para este aparato experimental, o braço foi  $b = 0,15$  m. O consumo de potência foi calculado pela Equação 6.4:

$$P = 0.94 \cdot F \cdot N \quad (6.4)$$

onde: A Força ( $F$ ) é dada em Newton, a rotação ( $N$ ) em  $s^{-1}$  e a potência ( $P$ ) em watts.

Essa análise foi realizada apenas nos ensaios de hidrólise conduzidos em volume reacional de 3-L.

### 6.3 Resultados e discussão

#### 6.3.1 Caracterização da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotermicamente

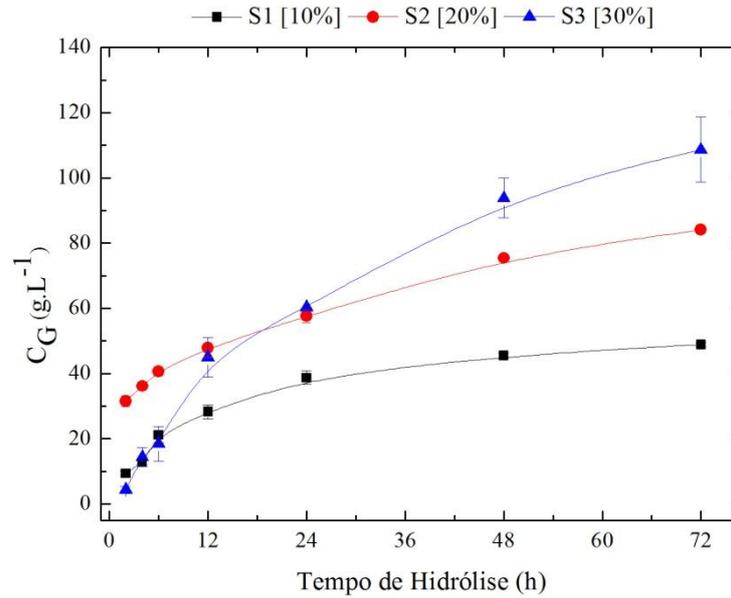
A palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotermicamente utilizada nesse capítulo apresentou a seguinte composição química: 54,7 ( $\pm 0,2$ ) % de celulose, 8,2 ( $\pm 0,0$ ) % de hemicelulose, 26,7 ( $\pm 0,5$ ) % de lignina e 6,7 ( $\pm 0,0$ ) % de cinzas. Esses resultados estão de acordo com o que foi reportado na literatura por Pratto et al. (2016), que alcançaram 58,04; 8,23; 24,98 e 5,54 % de celulose, hemicelulose, lignina e cinzas, respectivamente, após submeter a palha de cana-de-açúcar ao pré-tratamento hidrotérmico nas mesmas condições empregadas nesse capítulo (195 °C e 10 min). Santos et al. (2014) também reportaram composição química similar.

#### 6.3.2 Quantificação de glicose, ácidos orgânicos e compostos fenólicos: inibidores/desativadores de celulasas

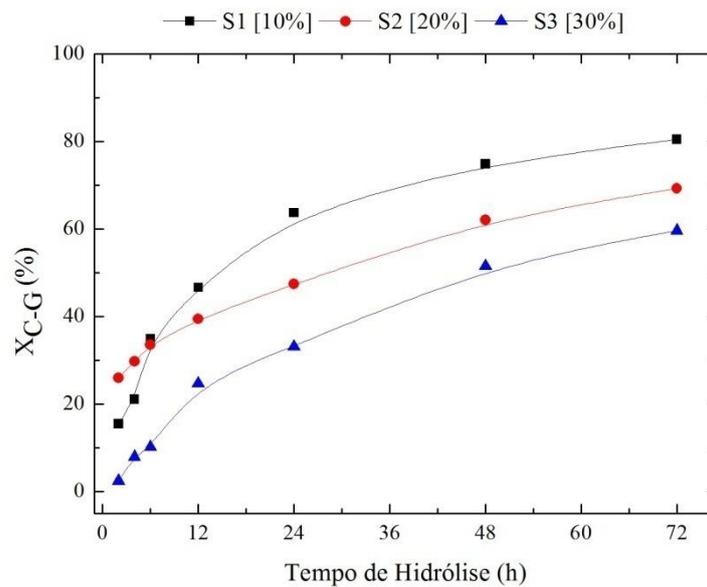
As Figuras 6.6 e 6.7 mostram os perfis da concentração de glicose e da conversão de celulose em glicose, respectivamente, ao longo dos ensaios de hidrólise

enzimática para as diferentes estratégias de batelada em volume de trabalho de 50-mL: 10% (S1), 20% (S2) e 30% (S3) m/v de carga de sólidos. As barras de erro representam o desvio padrão das réplicas.

**Figura 6.6: Concentração de glicose ( $C_G$ ) durante a hidrólise enzimática em batelada, realizada em volume de trabalho de 50-mL. S1: 10% m/v (quadrado preto), S2: 20% m/v (círculo vermelho) e S3: 30% m/v (triângulo azul).**



**Figura 6.7: Conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) durante a hidrólise enzimática em batelada, realizada em volume de trabalho de 50-mL. S1: 10% m/v (quadrado preto), S2: 20% m/v (círculo vermelho) e S3: 30% m/v (triângulo azul).**

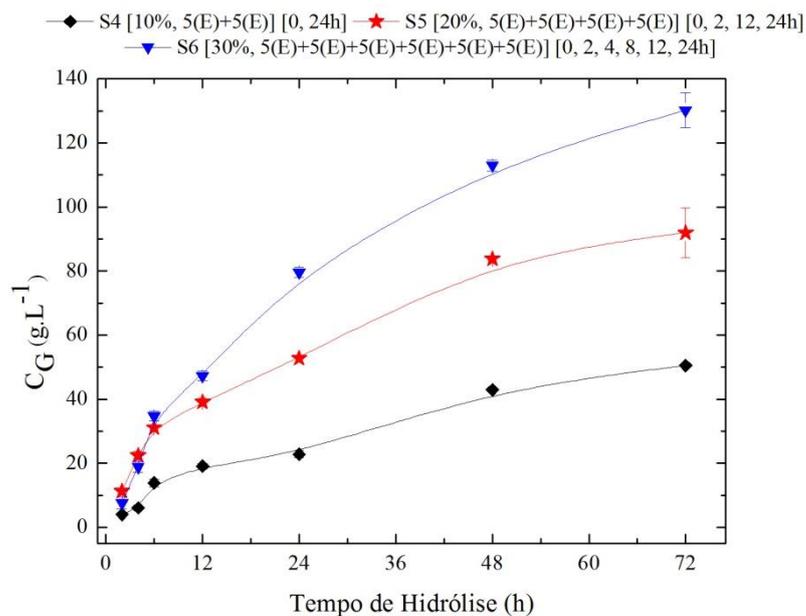


A partir das Figuras 6.6 e 6.7, pode-se verificar que à medida que a carga de sólidos aumenta há um aumento na concentração de glicose. Por outro lado, porém, a conversão de celulose em glicose diminui com o aumento da carga de sólidos. Após 72 h de reação, a concentração de glicose atingiu 48,9; 84,1 e 108,7 g/L para as estratégias S1, S2 e S3, respectivamente. Com relação à conversão, os valores obtidos foram de 80,5; 69,3 e 59,6%, para S1, S2 e S3 respectivamente. Liu, Zhang e Bao (2015) reportaram tendência similar quando realizaram a hidrólise enzimática da palha de milho em batelada, nas cargas de sólidos de 20, 25 e 30 % m/v. Após 48 h de hidrólise, 84, 73 e 62 % de conversão de celulose em glicose foram alcançadas para as cargas de sólidos de 20, 25 e 30 % m/v, respectivamente. Xue et al. (2012) também verificaram esse comportamento anteriormente ao realizar estudos de hidrólise enzimática em regime de batelada com madeira.

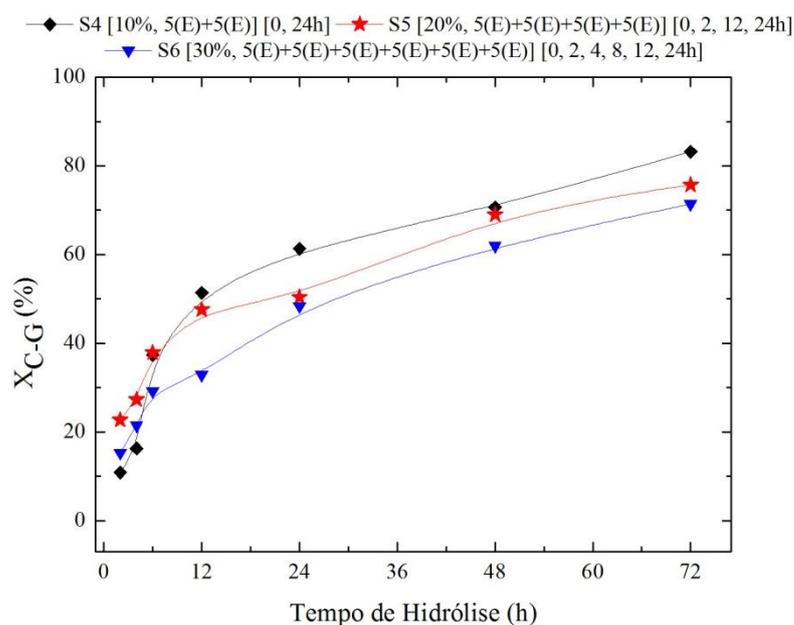
Muitas razões são propostas com o intuito de explicar esse fenômeno, correlacionado com a liberação de inibidores durante o processo de hidrólise e também com as ligações não específicas da enzima com a lignina. A literatura reporta que o teor de inibidores solúveis depende de vários fatores, incluindo a concentração de sólidos lignocelulósicos durante a hidrólise. Esse teor torna-se mais pronunciado quando a concentração de biomassa durante a hidrólise se eleva. Esse fato indica que os componentes liberados durante a hidrólise enzimática em elevadas cargas de sólidos podem promover inibição das enzimas (KIM et al., 2008; KIM et al., 2009). Portanto, uma vez que a concentração de fenólicos se elevou da estratégia S1 para a S3 (conforme será apresentado mais tarde na Tabela 6.2), esse comportamento confirma a presença de algum tipo de inibição por fenólicos, liberados durante a hidrólise enzimática. A mesma razão, elevado teor de sólidos dentro do reator de hidrólise, promove uma transferência de massa insatisfatória e uma mistura ineficiente, o que também conduz aos resultados aqui obtidos (Liu, Zhang e Bao (2015; CORRÊA; BADINO; CRUZ, 2016a). Além disso, existe uma razão ainda mais importante a ser considerada, que é o efeito de inibição das celulasas devido ao açúcar produzido no meio reacional. Esse efeito torna-se mais pronunciado quando a carga de sólidos se eleva (LIU et al., 2014b; LIU; CHEN, 2016). Essa tendência foi observada de forma marcante nesse estudo, uma vez que a concentração de açúcares obtida na estratégia S3 foi 2,2 vezes maior quando comparada com a que foi obtida em S1. Ademais, a adsorção de enzima na fração de lignina é também um fator chave que afeta a eficiência da hidrólise enzimática com o aumento da carga de sólidos (XIMENES et al., 2011; LIU; CHEN, 2016).

As Figuras 6.8 e 6.9 mostram os perfis da concentração de glicose e da conversão de celulose em glicose, respectivamente, ao longo da hidrólise enzimática para as diferentes estratégias de batelada alimentada em volume de trabalho de 50-mL: 10% (S4), 20% (S5) e 30% (S6) m/v de carga de sólidos.

**Figura 6.8: Concentração de glicose ( $C_G$ ) durante a hidrólise enzimática em batelada alimentada, realizada em volume de trabalho de 50-mL. S4: 10% m/v (diamante preto), S5: 20% m/v (estrela vermelha) e S6: 30% m/v (triângulo azul).**



**Figura 6.9: Conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ) durante a hidrólise enzimática em batelada alimentada, realizada em volume de trabalho de 50-mL. S4: 10% m/v (diamante preto), S5: 20% m/v (estrela vermelha) e S6: 30% m/v (triângulo azul).**



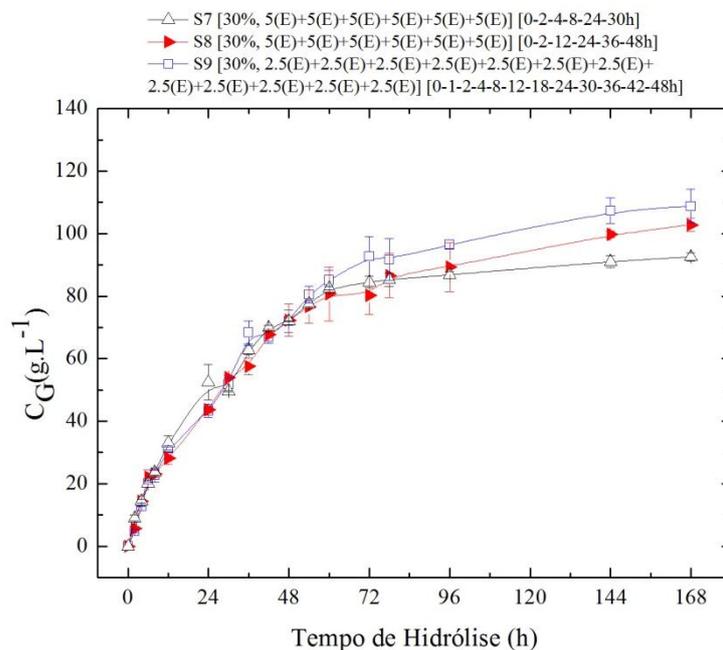
Nota-se que os perfis apresentados para os ensaios conduzidos em batelada alimentada tiveram tendência similar aos experimentos em batelada, uma vez que a maior carga final de sólidos empregada alcançou maior concentração final de glicose e menor conversão de celulose em glicose. (Figuras 6.8 e 6.9). Após 72 h de reação, a concentração de glicose atingiu 50,5; 92,0 e 130,2 g/L para as estratégias S4, S5 e S6, respectivamente. Com relação à conversão, os valores obtidos foram de 83,2; 75,7 e 71,4 %, para S4, S5 e S6, respectivamente.

Melhor desempenho foi verificado quando a hidrólise enzimática foi conduzida em batelada alimentada. Aumentos de 3,4 % (S1 comparada com S4), 9,2 % (S2 comparada com S5) e 19,8 % (S3 comparada com S6) foram obtidos para a conversão de celulose em glicose. Cavalcanti-Montaña et al. (2013) estudaram políticas operacionais para a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar e concluíram que a batelada alimentada leva a maiores concentrações finais de glicose. Pode ser notado também que nos experimentos em batelada alimentada (S4, S5 e S6), os perfis de conversão durante a hidrólise enzimática foram mais próximos do que os perfis referentes aos ensaios em batelada (S1, S2 e S3). Esse comportamento enfatiza que o modo de operação batelada alimentada pode ser um caminho promissor para realizar a hidrólise enzimática com altas cargas de sólidos sem promover danos relacionados à conversão de celulose em glicose.

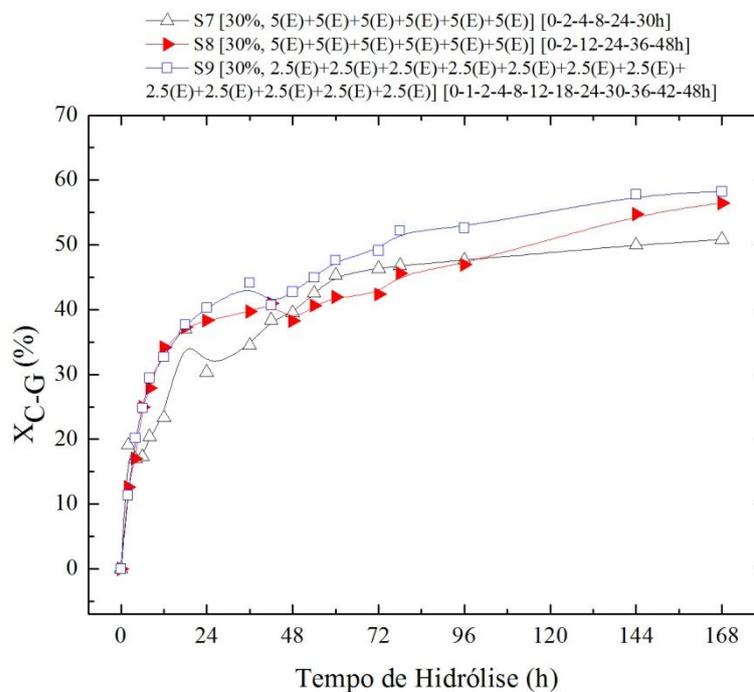
Os resultados obtidos, conduzidos em volume de trabalho de 50-mL, motivaram a aplicação da estratégia de batelada alimentada em um volume de trabalho maior. Nesse sentido, ensaios foram realizados em volume de trabalho de 3-L, conduzidos na carga de sólidos de 30 % m/v em batelada alimentada. Três estratégias com diferentes intervalos de alimentação foram avaliadas. Ademais, dados de consumo de potência e viscosidade aparente foram obtidos durante os experimentos.

As Figuras 6.10 e 6.11 mostram o perfil da concentração de glicose e da conversão de celulose em glicose, respectivamente, ao longo da hidrólise enzimática para as diferentes estratégias de batelada alimentada em volume de trabalho de 3-L.

**Figura 6.10: Concentração de glicose ( $C_G$ ) durante a hidrólise enzimática em batelada alimentada, realizada em volume de trabalho de 3-L. S7: 30% m/v, 6 alimentações de 5% m/v ao longo de 30 h (triângulo preto vazio), S8: 30% m/v, 6 alimentações de 5% m/v ao longo de 48 h (triângulo vermelho cheio) e S9: 30% m/v, 12 alimentações de 2,5% m/v ao longo de 48 h (quadrado azul).**



**Figura 6.11: Conversão de celulose em glicose ( $X_{C-G}$ ), durante a hidrólise enzimática em batelada alimentada, realizada em volume de trabalho de 3-L. S7: 30% m/v, 6 alimentações de 5% m/v ao longo de 30 h (triângulo preto vazio), S8: 30% m/v, 6 alimentações de 5% m/v ao longo de 48 h (triângulo vermelho cheio) e S9: 30% m/v, 12 alimentações de 2,5% m/v ao longo de 48 h (quadrado azul).**



A estratégia S9 apresentou a maior concentração de glicose (108,8 g/L) e a maior conversão de celulose em glicose (58,2%), quando comparada às estratégias S7 e S8 (Figuras 6.10 e 6.11). Esses resultados podem ser justificados devido ao perfil mais distribuído de alimentação conduzido na estratégia S9 (menor concentração de sólidos adicionada a cada alimentação, porém mais adições de substrato foram realizadas durante o experimento). Alimentações mais distribuídas são mais adequadas do ponto de vista de processo, alcançando resultados industrialmente factíveis em termos de teor de glicose e consumo de energia.

As Figuras 6.9 e 6.11 mostram que a conversão de celulose em glicose para a estratégia S9 (58,2%) foi 1,2 vezes menor do que a conversão obtida em S6 (71,4%). Uma possível explicação para esse resultado é que os impelidores foram capazes de promover uma eficiente agitação da mistura para os ensaios em volume de trabalho de 50-mL. Por outro lado, problemas associados com eficiência de mistura, como a formação de uma zona estagnada, conhecido como “efeito caverna” (CORRÊA; BADINO; CRUZ, 2016a) foram detectados quando o volume de trabalho foi elevado. Esse fenômeno ocorre quando o meio reacional não está totalmente homogêneo. Dessa forma, somente uma pequena porção, próxima aos impelidores, alcança uma mistura eficiente. O meio reacional próximo às paredes do reator encontra-se em uma região estagnada, diminuindo de forma considerável a conversão de celulose em glicose (CORRÊA; BADINO; CRUZ, 2016b). Esse efeito é consequência das características não homogêneas do meio reacional, que representam um grande desafio para os processos em grande escala.

A Tabela 6.2 mostra as concentrações de compostos fenólicos e ácido acético, liberados durante a hidrólise enzimática para todas as estratégias avaliadas. O ácido acético foi o único ácido orgânico detectado nos ensaios. Uma vez que a biomassa foi lavada após a etapa de pré-tratamento, compostos derivados do furano não foram detectados. Esse comportamento confirma que esses inibidores são solúveis em água, o que já foi anteriormente reportado na literatura (HODGE et al., 2008; KIM et al., 2008).

**Tabela 6.2: Concentração de fenólicos e ácido acético, liberados na hidrólise da palha de cana-de-açúcar.**

Estratégias	Concentração de fenólicos (g/L)		Concentração de ácido acético (g/L)	
	1h	Final	1h	final
S1	0,243	0,553	0,098	0,256
S2	0,267	0,541	0,262	0,581
S3	0,556	0,721	0,316	0,888
S4	0,165	0,549	0,130	0,948
S5	0,241	0,794	0,125	0,994
S6	0,219	0,872	0,160	1,222
S7	0,183	0,773	0,125	0,889
S8	0,169	0,930	0,095	1,032
S9	0,107	0,984	0,044	1,121

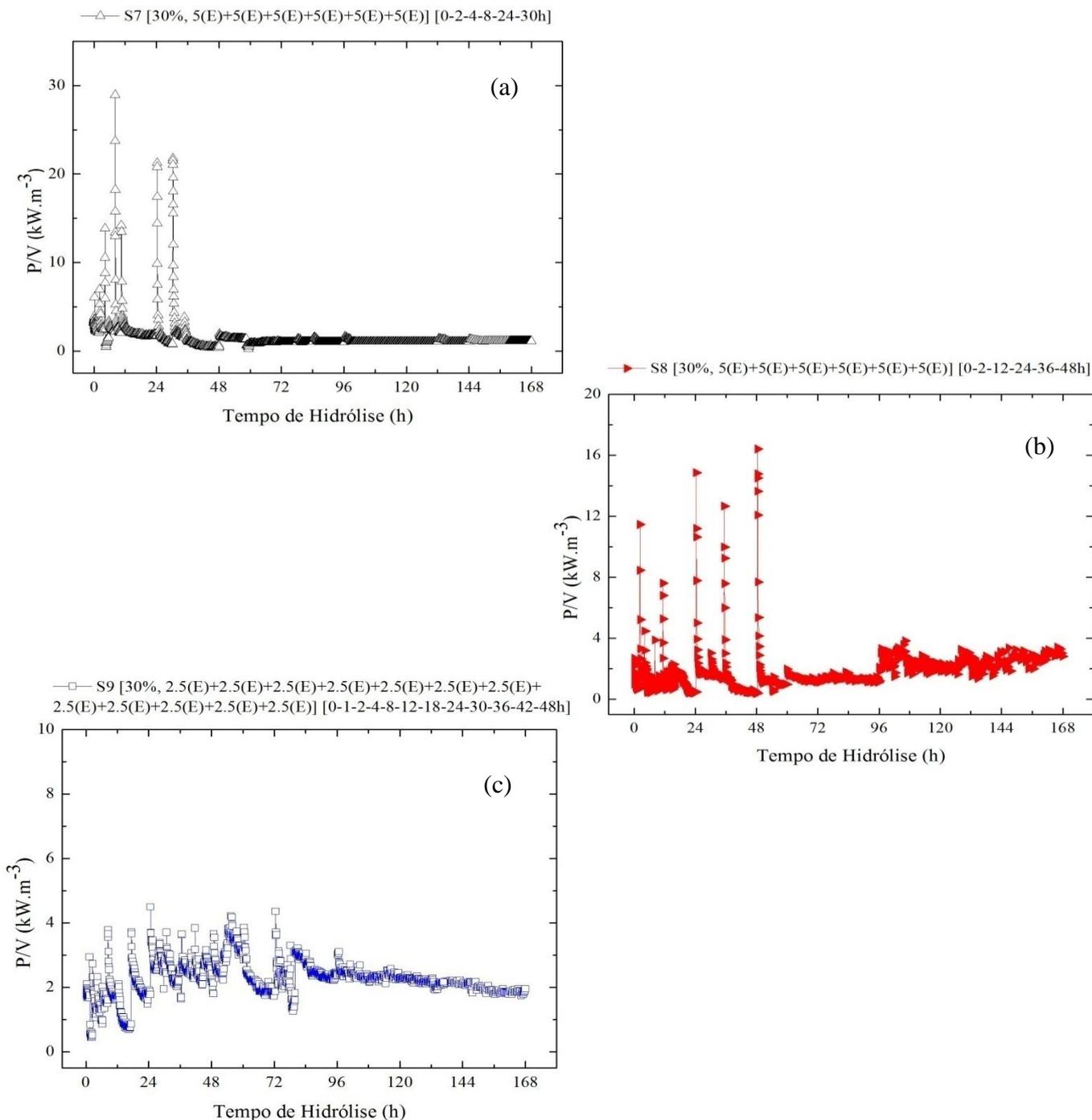
\* Dados experimentais quantificados em triplicata.

Uma análise global da Tabela 6.2 mostra que a concentração de fenólicos e ácido acético aumentou durante os experimentos de hidrólise. O teor de fenólicos na hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotérmicamente determinado pelo método Folin-Ciocalteu variou dentro faixa de 0,107-0,984 g/L. Kim et al. (2011) realizaram um estudo para identificar inibidores solúveis, liberados durante pré-tratamento hidrotérmico e seus efeitos na hidrólise da celulose. Os resultados mostraram que a concentração de 1,3 g/L de fenólicos promoveu inibição das enzimas celulolíticas. Portanto, levando-se em conta as concentrações de fenólicos obtidas nesse estudo, é possível que tenha ocorrido alguma inibição, particularmente no final dos ensaios onde as concentrações de fenólicos foram maiores do que no início do tempo reacional. Com relação ao ácido acético liberado durante as reações de hidrólise (Tabela 6.2), as concentrações variaram dentro da faixa de 0,044-1,222 g/L. A literatura indica que o ácido acético é inibidor de leveduras e bactérias. Por outro lado, ele apresenta pouco efeito para as celulasas (KIM et al., 2011; PALMQVIST; ALMEIDA; HAHN-HÄGERDAL, 1999). Ademais, o estudo de Kim et al. (2011) mostrou que 13 g/L de ácido acético não foi inibitório para a hidrólise. Levando isso em consideração, as concentrações de ácido acético obtidas aqui, inferiores a 1,5 g/L em todos os ensaios, não podem ser consideradas inibitórias para as celulasas.

### 6.3.3 Consumo de potência

A Figura 6.12 (a-c) mostra o consumo de potência das três estratégias de alimentação.

**Figura 6.12: Consumo de potência por unidade de volume (P/V) medido durante a hidrólise enzimática das estratégias S7 (a), S8 (b) e S9 (c). S7: 30% m/v, 6 alimentações de 5% m/v ao longo de 30 h (triângulo preto vazio), S8: 30% m/v, 6 alimentações de 5% m/v ao longo de 48 h (triângulo vermelho cheio) e S9: 30% m/v, 12 alimentações de 2,5% m/v ao longo de 48 h (quadrado azul).**



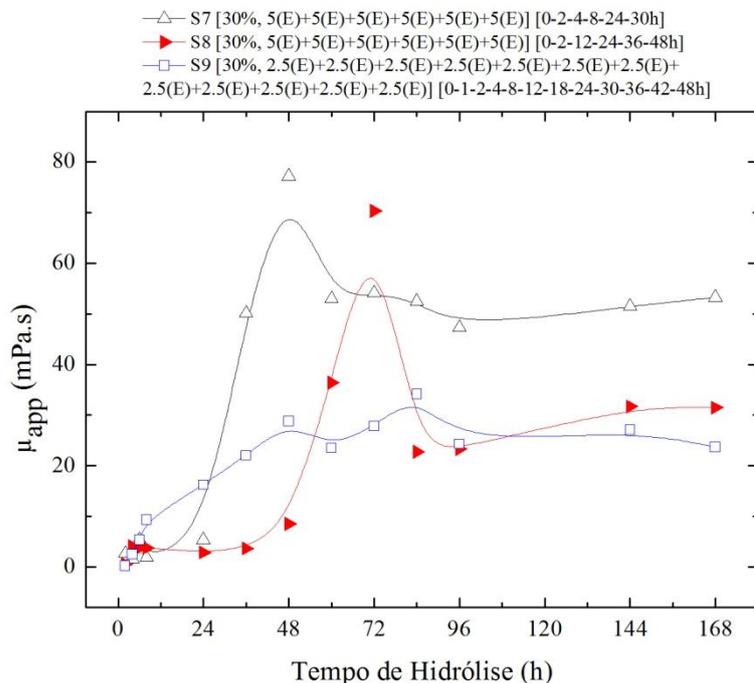
A Figura 6.12-a (estratégia S7) mostra que o consumo de potência alcançou  $29,0 \text{ kW/m}^3$  após a quarta alimentação de substrato/enzima, em 8 h de experimento. Com relação às duas alimentações seguintes, o consumo de potência ainda atingiu valores elevados,  $21,3 \text{ kW/m}^3$  em 24 h e  $21,8 \text{ kW/m}^3$  em 30 h, porém menores que o valor obtido em 8 h. A estratégia S8, apresentada na Figura 6.12-b, mostra que  $16,4 \text{ kW/m}^3$  foi alcançado após a última alimentação, em 48 h de experimento. Em 24 e 36 h, os valores obtidos foram também elevados,  $14,9$  e  $12,7 \text{ kW/m}^3$ , respectivamente. Por fim, o consumo de potência para a estratégia S9 (Figura 6.12-c) apresentou valores menores que  $5 \text{ kW/m}^3$  durante todo o tempo de hidrólise, indicando que essa estratégia é a mais adequada para o processo, com o menor custo operacional. O maior valor ( $4,5 \text{ kW/m}^3$ ), obtido em 24 h, é 6,4 e 3,6 vezes menor do que o máximo consumo de potência alcançado para as estratégias S7 e S8, respectivamente.

Esse comportamento mostra que quando o substrato é alimentado mais vezes em menor quantidade, o acúmulo de biomassa é evitado, o que pode contribuir para a redução do consumo de potência requerido para promover a agitação do meio reacional. Tendência similar foi também verificada por Correia, Badino e Cruz (2016b) em estratégias de batelada e batelada alimentada para a hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar. A avaliação da adição de bagaço em diferentes tempos mostrou que menor consumo de potência é requerido quando as alimentações são mais espaçadas. Liu, Zhang e Bao (2015) avaliaram a hidrólise enzimática da palha de milho em batelada nas cargas de sólidos de 20-30 % m/v. O consumo de potência inicial foi 1,9 vezes maior para a carga de sólidos de 30 % m/v, quando comparado com a carga de 20 % m/v. Esse comportamento sugere que a batelada alimentada pode ser uma estratégia promissora para se atingir alta carga de sólidos na etapa de hidrólise, enquanto se mantém o consumo de potência baixo. Levando isso em consideração, a estratégia S9 requer um motor menos potente do que S7 e S8 para suprir a energia necessária durante a hidrólise. Como resultado, uma redução significativa nos custos operacionais (consumo de energia do processo) e de capital (motor) é obtida.

#### 6.3.4 Análise de reologia

A Figura 6.13 mostra o comportamento reológico do hidrolisado durante as três estratégias de alimentação avaliadas.

**Figura 6.13: Viscosidade aparente ( $\mu_{app}$ ) determinada durante a hidrólise enzimática para as estratégias S7, S8 e S9. S7: 30% (m/v), 6 alimentações de 5% (m/v) ao longo de 30 h (triângulo preto vazio), S8: 30% (m/v), 6 alimentações de 5% (m/v) ao longo de 48 h (triângulo vermelho cheio) e S9: 30% (m/v), 12 alimentações de 2,5% (m/v) ao longo de 48 h (quadrado azul).**



A viscosidade aparente variou dentro da faixa de 1,6-77,2 mPa·s (S7), 0,7-70,4 mPa·s (S8) e 0,2-34,1 mPa·s (S9). Após 96 h de reação, a viscosidade aparente permanece constante até o final da hidrólise. Esse comportamento ocorre devido ao fato de que a suspensão do hidrolisado se torna homogênea. Demirci et al. (2017) apresentam resultados similares para a hidrólise de resíduos de pão. A viscosidade aparente diminuiu durante o estágio de liquefação de diferentes quantidades de resíduos de pão. No trabalho de Pereira et al. (2011), a viscosidade aparente diminuiu ao longo do tempo de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar. As estratégias S8 e S9 apresentaram viscosidades aparentes semelhantes no final da hidrólise. Porém, a estratégia S7 apresentou valores maiores da viscosidade aparente quando comparada a S8 e S9.

As estratégias estudadas nesse capítulo foram capazes de fornecer características importantes do processo de hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotermicamente. Portanto, o estudo foi útil para elucidar o comportamento da sacarificação da palha de cana durante a hidrólise enzimática, utilizando-se as cargas de sólidos de 10, 20 e 30 % m/v, nos modos de operação em batelada e batelada alimentada. Com o intuito de se alcançar uma produção adequada de etanol, em termos de consumo de

energia do processo, uma concentração de monossacarídeos de pelo menos 100 g/L é desejada (XIMENES et al., 2010). A estratégia S9 alcançou 108,8 g/L de glicose. Nesse caso, um teor de etanol teórico final de 55,6 g/L (aprox. 7,0 °GL) pode ser obtido, indicando que a estratégia S9 apresentou um caminho promissor para a condução da etapa de hidrólise enzimática em altas cargas de sólidos. Além disso, essa estratégia foi conduzida mantendo-se baixos os valores de consumo de potência e viscosidade aparente durante todo o tempo de hidrólise.

Os dados de consumo de potência, análise reológica e concentração de glicose apresentados nesse trabalho podem ser úteis em estudos de engenharia, incluindo análises de viabilidade técnica e econômica da produção de etanol de segunda geração (integrada a biorrefinarias). Nesse sentido, as melhorias apresentadas aqui adicionam conhecimento a esse assunto.

#### 6.4 Considerações finais

Considerando-se os ensaios de hidrólise conduzidos em volume de trabalho de 50-mL, o uso das estratégias propostas nesse trabalho torna factível o aumento da carga de sólidos para 30 % m/v, em batelada alimentada, enquanto se mantêm eficiente a conversão e a concentração de glicose, quando se compara aos resultados obtidos a 10 % m/v de sólidos em batelada. Essa análise mostra um aumento na concentração de glicose de 48,9 para 130,2 g/L, o que significa uma melhoria de 2,7 vezes. Os ensaios realizados em volume de trabalho de 3-L mostraram que os melhores resultados foram alcançados quando o teor de sólidos totais foi adicionado de forma mais suave (estratégia S9). Essa estratégia atingiu concentração de glicose de aprox. 109 g/L, o que corresponde a uma conversão de celulose em glicose em torno de 58 %. Ademais, esse ensaio apresentou o menor valor de consumo de potência e viscosidade aparente, o que resulta em uma expressiva redução dos custos de processo e de capital.

## CAPÍTULO 7 – CONCLUSÕES

Diante do que foi exposto no conteúdo dessa tese, apresentam-se as seguintes conclusões:

- A biomassa lignocelulósica, palha de cana-de-açúcar, mostra-se promissora para obtenção de E2G;
- O pré-tratamento hidrotérmico (PTH) apresenta-se vantajoso na solubilização da fração hemicelulósica da biomassa (85% de remoção em 195°C, 15 min, 200 rpm);
- A deslignificação com peróxido de hidrogênio (realizada como etapa sequencial ao PTH) não se mostrou eficiente nas condições estudadas, o que não justifica a adição de mais uma operação unitária no processo;
- Os modelos cinéticos propostos para representar as reações na etapa de pré-tratamento descreveram o comportamento das duas frações da palha de cana-de-açúcar, C<sub>5</sub> e C<sub>6</sub>, podendo ampliar o conhecimento obtido no estudo para outros tipos de biomassas lignocelulósicas;
- Os ensaios de sacarificação enzimática mostraram que o modo de operação batelada alimentada apresentou desempenho superior, em termos de conversão de celulose em glicose, em relação à batelada. Além do mais, esse modo de operação (batelada alimentada) pode melhorar significativamente as propriedades de mistura, visto que, com a liquefação parcial da biomassa, o meio reacional obtido apresenta considerável redução da viscosidade, permitindo a execução da hidrólise enzimática em elevadas cargas de sólidos;
- Nos ensaios realizados em volume de meio reacional de 3-L, a melhor estratégia de alimentação mostrou que o consumo de potência por unidade de volume pôde ser reduzido em 84,5 % quando as alimentações foram executadas de forma mais suave (12 alimentações de 2,5 % m/v de substrato, em comparação as 6 alimentações de 5 % m/v de substrato).

## CAPÍTULO 8 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Identificar experimentalmente os índices de cristalinidade da palha de cana-de-açúcar após cada condição de pré-tratamento (tempo e temperatura) e realizar a modelagem da fração celulósica do PTH adicionando-se esse fator ao modelo. Espera-se assim obter uma melhoria na resposta da previsão do modelo cinético proposto para a fração celulósica;
- Realizar um estudo para avaliar a influência da velocidade de agitação ao longo de experimentos de hidrólise enzimática em batelada alimentada que atinjam 30 % m/v de sólidos;
- Realizar a etapa de modelagem da hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar, com base nos resultados obtidos neste trabalho, visando à obtenção de um perfil ótimo de alimentação. A viabilidade técnica e econômica da produção de E2G está associada à obtenção de condições que permitam atingir elevado teor de glicose, mantendo-se o consumo de potência em níveis baixos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAH, R.; UEDA, K.; SAKA, S. Hydrothermal decomposition of various crystalline celluloses as treated by semi-flow hot-compressed water. **Journal of Wood Science**, v. 60, n. 4, p. 278–286, 2014.

AGUILAR, R. et al. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. **Journal of Food Engineering**, v. 55, n. 4, p. 309–318, 2002.

ALVIRA, P. et al. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4851–4861, 2010.

ASSUMPCÃO, S. M. N. Pré-tratamento químico combinado do bagaço da cana visando a produção de etanol de segunda geração. **Dissertação de mestrado-UFBA, Salvador-BA**, 2015.

AYENI, A. O. et al. Utilization of lignocellulosic waste for ethanol production: Enzymatic digestibility and fermentation of pretreated shea tree sawdust. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 31, n. 7, p. 1180–1186, 2014.

Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social-BNDES; Centro de Gestão e Estudos Estratégicos-CGEE; Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura-FAO; Comissão Econômica para a América Latina e Caribe-CEPAL. **Bioetanol de cana-de-açúcar energia para o desenvolvimento sustentável**, Resumo Executivo, 2008.

BACH, F. et al. Estudo da influência de variáveis no processo de produção de bioetanol de soro de leite. **Engevista**, v. 16, n. 3, p. 392–409, 2014.

BANERJEE, G. et al. Scale-up and integration of alkaline hydrogen peroxide pretreatment, enzymatic hydrolysis, and ethanolic fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 109, n. 4, p. 922–931, 2012.

BARBOSA, K. L. Produção de etanol 2G através de *Opuntia ficus-indica* utilizando *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyveromyces marxianus*. **Dissertação de mestrado-UFAL, Maceió-AL**, 2015.

BEHERA, S. et al. Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, p. 91–106, 2014.

BEN. Balanço energético nacional 2017 - Relatório Final, Ano base 2016. **Empresa de Pesquisa Energética**, 2017.

BIANCHI, M. L. Polpação de palha de Milho utilizando-se diferentes processos Organosolv. **Dissertação de mestrado-UNICAMP, Campinas**, p. 93, 1995.

BORREGA, M.; NIEMINEN, K.; SIXTA, H. Degradation kinetics of the main carbohydrates in birch wood during hot water extraction in a batch reactor at elevated temperatures. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 22, p. 10724–10732, 2011.

BOUSSARSAR, H.; ROGÉ, B.; MATHLOUTHI, M. Optimization of sugarcane bagasse conversion by hydrothermal treatment for the recovery of xylose. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 24, p. 6537–6542, 2009.

BRAGATTO, J. Avaliação do potencial da casca de Eucalyptus spp. para a produção de bioetanol. **Tese de doutorado-USP, Piracicaba-SP**, p. 156, 2010.

BRAMMER, S. P. Mapeamento de genes de resistência parcial à ferrugem da folha em cultivares brasileiras de trigo (*Triticum aestivum* L. em Thell). **Tese de doutorado-UFRGS, Porto Alegre-RS**, p. 105, 2000.

BRIANE, D.; DOAT, J. **Guide technique de la carbonisation: la fabrication du charbon de bois. Aix-en-Provence, Édisud**, 1985.

CANILHA, L. et al. Sacarificação da biomassa lignocelulósica através de pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática: uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal. **Revista Analytica**, v. 44, p. 48–54, 2009.

CARDONA, M. J. et al. A process for energy-efficient high-solids fed-batch enzymatic liquefaction of cellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 488–496, 2015.

CARDONA ALZATE, C. A.; SÁNCHEZ TORO, O. J. Energy consumption analysis of integrated flowsheets for production of fuel ethanol from lignocellulosic biomass. **Energy**, v. 31, n. 13, p. 2111–2123, 2006.

CARVALHEIRO, F. et al. Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain. **Bioresource Technology**, v. 91, n. 1, p. 93–100, 2004.

CARVALHO, M. L. et al. Kinetic study of the enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse.

**Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, n. 3, p. 437–447, 2013.

CARVALHO, W. et al. Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2191–2195, 2009.

CAVALCANTI-MONTAÑO, I. D. et al. Optimal Bioreactor Operational Policies for the Enzymatic Hydrolysis of Sugarcane Bagasse. **Bioenergy Research**, v. 6, n. 2, p. 776–785, 2013.

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

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Décimo segundo levantamento, setembro de 2017. 158 p. 2017.

CONNER, A. H. Kinetic modeling of hardwood prehydrolysis. Part I. Xylan removal by water prehydrolysis. **Wood and Fiber Science**, v. 16, n. 2, p. 268–277, 1984.

CORRÊA, L. J. **Estudos de melhorias no processo de hidrólise enzimática de biomassas para produção de etanol**. [s.l.] Universidade Federal de São Carlos, 2016.

CORRÊA, L. J.; BADINO, A. C.; CRUZ, A. J. G. Mixing design for enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse: Methodology for selection of impeller configuration. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 39, n. 2, p. 285–294, 2016a.

CORRÊA, L. J.; BADINO, A. C.; CRUZ, A. J. G. Power consumption evaluation of different fed-batch strategies for enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 39, n. 5, p. 825–833, 2016b.

COSTA, D. A. Caracterização de leveduras termotolerantes para produção de etanol celulósico. **Dissertação de mestrado-UFOP, Ouro Preto-MG**, p. 74, 2011.

CRUZ, S. H. DA et al. Hydrothermal pretreatment of sugarcane bagasse using response surface methodology improves digestibility and ethanol production by SSF. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 3, p. 439–447, 2012.

DAGNINO, E. P. et al. Optimization of the acid pretreatment of rice hulls to obtain fermentable sugars for bioethanol production. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 363–368, 2013.

DANTAS-FILHO, P. L. Análise de custos na geração de energia com bagaço de cana-de-açúcar: Um estudo de caso em quatro usinas de São Paulo. **Dissertação de mestrado -USP, São Paulo-SP**, p. 175, 2009.

DEL RÍO, J. C. et al. Differences in the chemical structure of the lignins from sugarcane bagasse and straw. **Biomass and Bioenergy**, v. 81, p. 322–338, 2015.

DEMIRCI, A. S. et al. Waste Bread as a Biomass Source: Optimization of Enzymatic Hydrolysis and Relation between Rheological Behavior and Glucose Yield. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, n. 3, p. 775–782, 2017.

DIAS, J. M. C. S. et al. Produção de briquetes e péletes a partir de resíduos agrícolas, agroindustriais e florestais. **Embrapa Agroenergia**, p. 132, 2012.

DÍAZ, A. B. et al. An effective process for pretreating rice husk to enhance enzyme hydrolysis. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 53, p. 10870–10875, 2014.

DODD, D.; CANN, I. K. O. Enzymatic deconstruction of xylan for biofuel production. **Glob Change Biol Bioenergy**, v. 1, n. 1, p. 2–17, 2009.

DU, J. et al. Enzymatic liquefaction and saccharification of pretreated corn stover at high-solids concentrations in a horizontal rotating bioreactor. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 37, n. 2, p. 173–181, 2014.

DUTTA, S. K.; HALDER, G.; MANDAL, M. K. Modeling and optimization of bi-directional delignification of rice straw for production of bio-fuel feedstock using central composite design approach. **Energy**, v. 71, p. 579–587, 2014.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA-EPE. Ministério de Minas e Energia: Matriz Energética Nacional 2030. p. 254, 2007.

ESTEVES, M. R. L. Estudo do potencial energético e aproveitamento das cascas de coco verde para a produção de briquete em Maceió-AL. **Dissertação de mestrado -UFAL, Maceió-AL**, 2014.

FAO. **Food and agriculture organization of the United Nations: Organização das Nações Unidas para a agricultura e alimentação**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 1 dez. 2014.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood chemistry, ultrastructure, reactions**. Berlin: Walter de Gruyter, 1989.

FERNANDES, F. R. C.; LUZ, A. B.; CASTILHOS, Z. C. Agrominerais para o Brasil. **Agrominerais para o Brasil. Centro de Tecnologia Mineral, Rio de Janeiro**, p. 61–88, 2010.

FERNANDES, M. I. B. DE M. et al. Cytogenetics and immature embryo culture at Embrapa Trigo breeding program: Transfer of disease resistance from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 4, p. 1051–1062, 2000.

FUJII, T. et al. Bench-scale bioethanol production from eucalyptus by high solid saccharification and glucose/xylose fermentation method. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 37, n. 4, p. 749–754, 2014.

FURLAN, F. F. et al. Assessing the production of first and second generation bioethanol from sugarcane through the integration of global optimization and process detailed modeling. **Computers and Chemical Engineering**, v. 43, p. 1–9, 2012.

FURLAN, F. F. et al. Bioelectricity versus bioethanol from sugarcane bagasse: is it worth being flexible? **Biotechnology for biofuels**, v. 6, n. 1, p. 142, 2013.

FURTADO, T. S. et al. Correlação entre teor de umidade e eficiência energética de resíduos de *Pinus Taeda* em diferentes idades. **Revista Árvore**, v. 36, n. 3, p. 577–582, 2012.

GARROTE, G.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. C. Kinetic modelling of corncob autohydrolysis. **Process Biochemistry**, v. 36, p. 571–578, 2001.

GARROTE, G.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. C. Autohydrolysis of corncob: Study of non-isothermal operation for xylooligosaccharide production. **Journal of Food Engineering**, v. 52, n. 3, p. 211–218, 2002.

GHOSE, T. K. Measurement of cellulase activities. **Pure and Applied Chemistry**, v. 59, n. 2, p. 257–268, 1987.

GONÇALVES, F. A. et al. Comparison of delignified coconuts waste and cactus for fuel-ethanol production by the simultaneous and semi-simultaneous saccharification and fermentation strategies. **Fuel**, v. 131, p. 66–76, 2014.

- GONZALEZ, R. et al. Economics of cellulosic ethanol production in a thermochemical pathway for softwood, hardwood, corn stover and switchgrass. **Fuel Processing Technology**, v. 94, n. 1, p. 113–122, 2012.
- GOUVEIA, E. R. et al. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Quim. Nova**, v. 32, n. 6, p. 1500–1503, 2009.
- GULLÓN, B. et al. Production of oligosaccharides and sugars from rye straw: A kinetic approach. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 17, p. 6676–6684, 2010.
- HICKERT, L. R. Otimização da hidrólise da casca de arroz (*Oryza sativa*) e avaliação da capacidade de bioconversão deste hidrolisado a etanol e xilitol por leveduras. **Dissertação de mestrado-UFRGS, Porto Alegre-RS**, 2010.
- HODGE, D. B. et al. Soluble and insoluble solids contributions to high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 18, p. 8940–8948, 2008.
- HORST, D. J. Avaliação da produção energética a partir de ligninas contidas em biomassas. **Dissertação de mestrado -UTFPR, Ponta Grossa-PR**, p. 103, 2013.
- HOU, W. et al. Rheology evolution and CFD modeling of lignocellulose biomass during extremely high solids content pretreatment. **Biochemical Engineering Journal**, v. 105, p. 412–419, 2016.
- HUANG, J. et al. Dynamic characteristics and speed control strategy of cellulose hydrolysis reactor at high solids loading. **International Journal of Chemical Reactor Engineering**, v. 11, n. 1, p. 417–429, 2013.
- IROBA, K. L. et al. Pretreatment and fractionation of barley straw using steam explosion at low severity factor. **Biomass and Bioenergy**, v. 66, p. 286–300, 2014.
- JARA, E. R. P. **O poder calorífico de algumas madeiras que ocorrem no Brasil. IPT - Comunicação Técnica, São Paulo**, 1989.
- JIANG, W.; XU, J. A novel stepwise pretreatment on corn stalk by alkali deacetylation and liquid hot water for enhancing enzymatic hydrolysis and energy utilization efficiency. **Bioresource Technology**, v. 209, p. 115–124, 2016.
- KAPARAJU, P.; FELBY, C. Characterization of lignin during oxidative and hydrothermal

- pre-treatment processes of wheat straw and corn stover. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 9, p. 3175–3181, 2010.
- KIM, D. S. et al. Evaluation of hot compressed water pretreatment and enzymatic saccharification of tulip tree sawdust using severity factors. **Bioresource Technology**, v. 144, p. 460–466, 2013.
- KIM, Y. et al. Enzyme hydrolysis and ethanol fermentation of liquid hot water and AFEX pretreated distillers' grains at high-solids loadings. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 12, p. 5206–5215, 2008.
- KIM, Y. et al. Liquid Hot Water Pretreatment of Cellulosic Biomass. In: MIELENZ, J. R. (Ed.). **Biofuels: Methods and Protocols**. Totowa, NJ: Humana Press, 2009. p. 93–102.
- KIM, Y. et al. Soluble inhibitors/deactivators of cellulase enzymes from lignocellulosic biomass. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 48, n. 4–5, p. 408–415, 2011.
- KIRKPATRICK, S.; GELATT, C. D.; VECCH, M. P. Optimization by Simulated Annealing. **Science**, v. 220, n. 4598, p. 671–680, 1983.
- KULOYO, O. O. Ethanol production by yeast fermentation of an *Opuntia Ficus-Indica* biomass hydrolysate. n. February, p. 1–174, 2012.
- KULOYO, O. O. et al. *Opuntia ficus-indica* cladodes as feedstock for ethanol production by *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces cerevisiae*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 12, p. 3173–3183, 2014.
- KUMAR, S. et al. Kinetic studies of two-stage sulphuric acid hydrolysis of sugarcane bagasse. **Renewable Energy**, v. 83, p. 850–858, 2015.
- LAU, C. S. et al. Kinetic modeling of xylose oligomer degradation during pretreatment in dilute acid or in water. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 53, n. 6, p. 2219–2228, 2014.
- LENNARTSSON, P. R.; ERLANDSSON, P.; TAHERZADEH, M. J. Integration of the first and second generation bioethanol processes and the importance of by-products. **Bioresource Technology**, v. 165, n. C, p. 3–8, 2014.
- LESCHINSKY, M. et al. Effect of autohydrolysis of *Eucalyptus globulus* wood in lignin

structure. Part 1: Comparison of different lignins fractions formed during water prehydrolysis. **Holzforschung**, v. 62, n. 6, p. 653–658, 2008.

LESCHINSKY, M.; SIXTA, H.; PATT, R. Detailed mass balances of the autohydrolysis of eucalyptus globulus at 170°C. **BioResources**, v. 4, n. 2, p. 687–703, 2009.

LIU, C. G. et al. Assessment and regression analysis on instant catapult steam explosion pretreatment of corn stover. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 368–372, 2014a.

LIU, K.; ZHANG, J.; BAO, J. Two stage hydrolysis of corn stover at high solids content for mixing power saving and scale-up applications. **Bioresour Technol**, v. 196, p. 716–720, 2015.

LIU, Z.-H. et al. Simultaneous saccharification and fermentation of steam-exploded corn stover at high glucan loading and high temperature. **Biotechnology for Biofuels**, v. 7, n. 1, p. 167, 2014b.

LIU, Z. H.; CHEN, H. Z. Simultaneous saccharification and co-fermentation for improving the xylose utilization of steam exploded corn stover at high solid loading. **Bioresource Technology**, v. 201, p. 15–26, 2016.

LSPA-IBGE. Levantamento sistemático da produção agrícola - LSPA, agosto de 2017. 115 p. 2017.

LU, X.; ZHANG, Y.; ANGELIDAKI, I. Optimization of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-catalyzed hydrothermal pretreatment of rapeseed straw for bioconversion to ethanol: Focusing on pretreatment at high solids content. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 12, p. 3048–3053, 2009.

MAPA. **Ministério da agricultura, pecuária e do abastecimento. Boletim informativo.** Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal>>. Acesso em: 1 out. 2015.

MARTÍNEZ, J. D. A. Modelagem cinética da hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotermicamente. **Dissertação de mestrado-UFRJ, Rio de Janeiro-RJ**, 2014.

MARTINS, C. A. P. Avaliação do efeito do inóculo e do perfil de alimentação do mosto na produção em escala piloto e industrial de etanol. **Dissertação de mestrado-UFSCar, São Carlos-SP**, p. 86, 2009.

MATOS, E. H. S. F. **Dossiê técnico cultivo do milho verde. Centro de apoio ao**

**desenvolvimento técnico, Brasília, UNB, 2007.**

MATSUOKA, S.; GARCIA, A. A. F.; ARIZONO, H. Melhoria da cana-de-açúcar. **Programa de melhoria da cana-de-açúcar da Universidade Federal de Viçosa**, p. 225–274, 2005.

MAURYA, D. P.; SINGLA, A.; NEGI, S. An overview of key pretreatment processes for biological conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol. **3 Biotech**, v. 3, n. 5, p. 415–431, 2015.

MITTAL, A. et al. Modeling xylan solubilization during autohydrolysis of sugar maple wood meal: Reaction kinetics. **Holzforschung**, v. 63, n. 3, p. 307–314, 2009a.

MITTAL, A. et al. Modeling xylan solubilization during autohydrolysis of sugar maple and aspen wood chips: Reaction kinetics and mass transfer. **Chemical Engineering Science**, v. 64, n. 13, p. 3031–3041, 2009b.

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

MOUTTA, R. DE O. et al. Comparative Response and Structural Characterization of Sugarcane Bagasse, Straw and Bagasse-Straw 1:1 Mixtures Subjected to Hydrothermal Pretreatment and Enzymatic Conversion. **Journal of Microbial & Biochemical Technology**, v. 1, n. S12, p. 1–8, 2013.

NASCIMENTO, V. M. Pré-tratamento alcalino (NaOH) do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol e obtenção de xilooligômeros. **Dissertação de mestrado-UFSCar, São Carlos-SP**, p. 138, 2011.

NETO, B. DE B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos. Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. Brasil: 2ª Ed., Editora Unicamp – Campinas, SP. 412 p.** [s.l: s.n.].

OLIVEIRA, L. R. M. et al. Combined process system for the production of bioethanol from sugarcane straw. **Industrial Crops and Products**, v. 58, p. 1–7, 2014.

OVEREND, R. P.; CHORNET, E. Fractionation of lignocellulosics by steam-aqueous pretreatments. **Philos. Trans. R. Soc. Lond.**, v. 321, p. 523–536, 1987.

PALMQVIST, B.; WIMAN, M.; LIDÉN, G. Effect of mixing on enzymatic hydrolysis of steam-pretreated spruce: a quantitative analysis of conversion and power consumption. **Biotechnology for biofuels**, v. 4, n. 1, p. 10, 2011.

Palmqvist E, Almeida JS, Hahn- Hägerdal B (1999) Influence of furfural on anaerobic glycolytic kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* in batch culture. *Biotechnol Bioeng* 62:447–454. doi: 10.1002/(SICI)1097-0290(19990220)62:4<447::AID-BIT7>3.0.CO;2-0.

PARISUTHAM, V.; KIM, T. H.; LEE, S. K. Feasibilities of consolidated bioprocessing microbes: From pretreatment to biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 161, p. 431–440, 2014.

PEREIRA, C. L. **Aproveitamento do resíduo do coco verde para produção de compósitos destinados à construção rural. Tese de doutorado - USP, Pirassununga-SP, 2012.**

PEREIRA, L. T. C. et al. Sugarcane bagasse enzymatic hydrolysis: Rheological data as criteria for impeller selection. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 8, p. 901–907, 2011.

PEREIRA, S. et al. 2G ethanol from the whole sugarcane lignocellulosic biomass. **Biotechnol. Biofuels**, v. 8, n. 1, p. 44, 2015.

PEREIRA, S. C. et al. Physical-chemical-morphological characterization of the whole sugarcane lignocellulosic biomass used for 2G ethanol production by spectroscopy and microscopy techniques. **Renewable Energy**, v. 87, p. 607–617, 2016.

PÉREZ, J. A. et al. Effect of process variables on liquid hot water pretreatment of wheat straw for bioconversion to fuel-ethanol in a batch reactor. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 82, p. 929–938, 2007.

PETERSEN, M. Ø.; LARSEN, J.; THOMSEN, M. H. Optimization of hydrothermal pretreatment of wheat straw for production of bioethanol at low water consumption without addition of chemicals. **Biomass and Bioenergy**, v. 33, n. 5, p. 834–840, 2009.

PIHLAJANIEMI, V. et al. Enzymatic saccharification of pretreated wheat straw: Comparison of solids-recycling, sequential hydrolysis and batch hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 153, p. 15–22, 2014.

PITARELO, A. P. Avaliação da Susceptibilidade do Bagaço e da Palha de Cana-de-Açúcar à

Bioconversão via Pré-Tratamento a Vapor e Hidrólise Enzimática. **Dissertação de mestrado-UFPR, Curitiba-PR**, p. 142, 2007.

PITARELO, A. P. Produção de etanol celulósico a partir do bagaço de cana pré-tratado por explosão a vapor. **Tese de doutorado-UFPR, Curitiba-PR**, p. 162, 2013.

PRATTO, B. Hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar: estudo cinético e modelagem matemática semi-mecanística. **Dissertação de mestrado-UFSCar, São Carlos-SP**, 2015.

PRATTO, B. et al. Enzymatic Hydrolysis of Pretreated Sugarcane Straw: Kinetic Study and Semi-Mechanistic Modeling. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 178, n. 7, p. 1430–1444, 2016.

PRONYK, C.; MAZZA, G. Kinetic modeling of hemicellulose hydrolysis from triticale straw in a pressurized low polarity water flow-through reactor. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 49, n. 14, p. 6367–6375, 2010.

PRUNESCU, R. M. et al. Dynamic Modeling and Validation of a Biomass Hydrothermal Pretreatment Process—A Demonstration Scale Study. **American Institute of Chemical Engineers Journal**, v. 61, n. PART 1, p. 4235–4250, 2015.

PURSEGLOVE, J. W. **Tropical crops: Monocotyledons**. 2<sup>a</sup> ed. London: Longman, 1975.

**RAÍZEN**. Disponível em: <[www.raizen.com.br](http://www.raizen.com.br)>. Acesso em: 1 set. 2015.

RAMOS E PAULA, L. E. et al. Characterization of residues from plant biomass for use in energy generation. **Cerne**, v. 17, n. 2, p. 237–246, 2011.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. **Como a planta de milho se desenvolve**. **Arquivo do agrônomo-Nº15. Encarte de informações agronômicas**, 2003.

ROCHA, G. et al. **A fast and accurate method for determination of cellulose and polyoses by HPLC**. **Fifth brazilian symposium on the chemistry of lignins and other wood components**, 1997.

ROCHA, N. R. A. F. et al. **Avaliação da Produção de Etanol empregando Complexo Enzimático gerado por *Aspergillus niger* com Hidrólise Separada**. Resumos do XVIII Simpósio Nacional de Bioprocessos - SINAFERM, 2011, Caxias do Sul, Brasil. **Anais...2011**

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de**

**Processos.** Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, 2ª ed., Campinas, SP, 2009.

ROJAS, M. J. Produção de etanol e hidrolisado protéico da casca de soja. **Dissertação de mestrado-UFSCar, São Carlos-SP**, p. 93, 2012.

SAAD, M. B. W. et al. Preliminary studies on fungal treatment of sugarcane straw for organosolv pulping. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 43, n. 2, p. 220–225, 2008.

SAEMAN, J. F. Hydrolysis of Cellulose and Decomposition of Sugars in Dilute Acid at High Temperature. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 37, n. 9, p. 43–52, 1945.

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.** Resumos do VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. Campinas-SP. **Anais...2005**

SANCHEZ, A. et al. Parametric analysis of total costs and energy efficiency of 2G enzymatic ethanol production. **Fuel**, v. 113, p. 165–179, 2013.

SANCHEZ, A.; GOMEZ, D. Analysis of historical total production costs of cellulosic ethanol and forecasting for the 2020-decade. **Fuel**, v. 130, n. January 2001, p. 100–104, 2014.

SÁNCHEZ PÉREZ, J. A. et al. Shear rate in stirred tank and bubble column bioreactors. **Chemical Engineering Journal**, v. 124, n. 1–3, p. 1–5, 2006.

SANTOS-ROCHA, M. S. R. et al. A kinetic model for hydrothermal pretreatment of sugarcane straw. **Bioresource Technology**, v. 228, p. 176–185, 2017.

SANTOS-ROCHA, M. S. R.; ALMEIDA, R. M. R. G.; CRUZ, A. J. G. Evaluation of energy potential of the agroindustrial residues from different brazilian regions. **Engevista**, v. 19, n. 1, p. 217–235, 2017.

SANTOS, F. A. et al. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Quim. Nova**, v. 35, n. 5, p. 1004–1010, 2012.

SANTOS, F. A. Avaliação do pré-tratamento hidrotérmico de palhas de cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração. **Tese de doutorado-UFV, Viçosa-MG**, p. 112, 2013.

SANTOS, F. A. et al. Otimização do pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar visando à produção de etanol celulósico. **Quim. Nova**, v. 37, n. 1, p. 56–62, 2014.

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

SANTUCCI, B. S. et al. Autohydrolysis of Hemicelluloses from Sugarcane Bagasse During Hydrothermal Pretreatment: a Kinetic Assessment. **Bioenergy Research**, v. 8, n. 4, p. 1778–1787, 2015.

SHEN, J.; WYMAN, C. E. A novel mechanism and kinetic model to explain enhanced xylose yields from dilute sulfuric acid compared to hydrothermal pretreatment of corn stover. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 19, p. 9111–9120, 2011.

SILVA, V. F. N. et al. Fermentation of cellulosic hydrolysates obtained by enzymatic saccharification of sugarcane bagasse pretreated by hydrothermal processing. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 7, p. 809–817, 2011.

SILVEIRA, M. S. Aproveitamento das cascas de coco verde para produção de briquete em Salvador - BA. **Dissertação de mestrado-UFBA, Salvador-BA**, p. 164, 2008.

SLUITER, A. et al. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Technical Report NREL/TP-510-42618. [s.d.].

SLUITER, A. et al. Determination of sugars, byproducts, and degradation products in liquid fraction process samples. **Technical Report NREL/TP-510-42623**, n. January, p. 1–14, [s.d.].

SOTANIEMI, V. H. et al. Controlled feeding of lignocellulosic substrate enhances the performance of fed-batch enzymatic hydrolysis in a stirred tank reactor. **Biomass and Bioenergy**, v. 91, p. 271–277, 2016.

SOUZA, R. B. A. DE. Estudo do pré-tratamento hidrotérmico e hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar. **Tese de doutorado-UFSCar, São Carlos-SP, 2016.**

SUAREZ, C. A. G. Otimização da produção de etanol 2G a partir de hexoses e pentoses. **Tese de doutorado-UFSCar, São Carlos-SP**, p. 165, 2014.

TORRE, P. et al. Release of ferulic acid from corn cobs by alkaline hydrolysis. **Biochemical Engineering Journal**, v. 40, n. 3, p. 500–506, 2008.

TSAI, W. T. et al. Preparation of activated carbons from corn cob catalyzed by potassium

salts and subsequent gasification with CO<sub>2</sub>. **Bioresource Technology**, v. 78, n. 2, p. 203–208, 2001.

TZVELEV, N. N. The system of grasses (Poaceae) and their evolution. **Botanical Review**, v. 55, n. 3, p. 141–204, 1989.

UNICA. União da Indústria de Cana-de-açúcar. <http://www.unica.com.br/unicadata>. Acessado em 24 de setembro de 2017, 2017.

VALLEJOS, M. E. et al. Kinetic study of the extraction of hemicellulosic carbohydrates from sugarcane bagasse by hot water treatment. **Industrial Crops and Products**, v. 67, p. 1–6, 2015.

VARGAS, F. et al. Agricultural residue valorization using a hydrothermal process for second generation bioethanol and oligosaccharides production. **Bioresource Technology**, v. 191, p. 263–270, 2015.

VIKARI, L.; VEHEMAANPERA, J.; KOIVULA, A. Lignocellulosic ethanol: From science to industry. **Biomass and Bioenergy**, v. 6, n. 46, p. 13–24, 2012.

WANG, Q. et al. Pretreating lignocellulosic biomass by the concentrated phosphoric acid plus hydrogen peroxide (PHP) for enzymatic hydrolysis: Evaluating the pretreatment flexibility on feedstocks and particle sizes. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 420–428, 2014.

WOLF, L. D. Pré-tratamento organossolve do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol e obtenção de xilooligômeros. **Dissertação de mestrado-UFSCar, São Carlos-SP**, p. 148, 2011.

XIAO, L. P. et al. Hydrothermal treatment and enzymatic hydrolysis of *Tamarix ramosissima*: Evaluation of the process as a conversion method in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 73–81, 2013.

XIMENES, E. et al. Inhibition of cellulases by phenols. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 46, p. 170–176, 2010.

XIMENES, E. et al. Deactivation of cellulases by phenols. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 48, n. 1, p. 54–60, 2011.

XU, B.; CHANG, S. K. C. Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol, and

flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 11, p. 4754–4764, 2009.

XUE, Y. et al. Split addition of enzymes in enzymatic hydrolysis at high solids concentration to increase sugar concentration for bioethanol production. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 18, n. 2, p. 707–714, 2012.

YU, Q. et al. Pretreatment of sugarcane bagasse with liquid hot water and aqueous ammonia. **Bioresource Technology**, v. 144, p. 210–215, 2013.

ZENG, Y. et al. Lignin plays a negative role in the biochemical process for producing lignocellulosic biofuels. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 27, p. 38–45, 2014.

ZHANG, T.; KUMAR, R.; WYMAN, C. E. Enhanced yields of furfural and other products by simultaneous solvent extraction during thermochemical treatment of cellulosic biomass. **RSC Advances**, v. 3, n. 25, p. 9809, 2013.

ZHAO, Y.; ZHANG, S.; CHEN, J. Mechanisms of sequential dissolution and hydrolysis for lignocellulosic waste using a multilevel hydrothermal process. **Chemical Engineering Journal**, v. 273, p. 37–45, 2015.

ZHENG, A. et al. Effect of Hydrothermal Treatment on Chemical Structure and Pyrolysis Behavior of Eucalyptus Wood. **Energy and Fuels**, v. 30, n. 4, p. 3057–3065, 2016.

ZHUANG, X. et al. Kinetic study of hydrolysis of xylan and agricultural wastes with hot liquid water. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 5, p. 578–582, 2009.