



FERNANDA CARLOS MONTEIRO

**AVALIAÇÃO DA GRANULOMETRIA NA HIDRÓLISE
ENZIMÁTICA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

**LAVRAS - MG
2019**

FERNANDA CARLOS MONTEIRO

**AVALIAÇÃO DA GRANULOMETRIA NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO
BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Engenharia Química, para a obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Luciano Jacob Corrêa
Orientador

Lavras – MG
2019

FERNANDA CARLOS MONTEIRO

**AVALIAÇÃO DA GRANULOMETRIA NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO
BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR**

**EVALUATION OF GRANULOMETRY IN ENZYMATIC HYDROLYSIS OF SUGAR
CANE**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Engenharia Química, para a obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 6 de dezembro de 2019.

Dr. Luciano Jacob Corrêa UFLA

Dr. João Moreira Neto UFLA

Dr. Juliano Elvis de Oliveira UFLA

Prof. Dr. Luciano Jacob Corrêa
Orientador

**Lavras – MG
2019**

*Aos meus pais Flávia e Fernando, com amor, carinho e
toda minha gratidão.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que me deu o dom da vida, sempre me dando forças e esperança.

Aos meus pais Flávia e Fernando que sempre me encheram de amor, carinho e incentivo para que eu pudesse realizar todos os meus sonhos, tenho orgulho de vocês e serei eternamente grata por tudo. Eu amo vocês!

Ao meu irmão Fábio, por estar presente em todos os momentos sempre com muito carinho e amor.

Ao meu orientador Luciano, pelos ensinamentos, oportunidades, paciência, carinho e principalmente pela confiança.

A todos os meus avós, principalmente a minha vó Nilda, por sempre estar do meu lado me acolhendo com todo amor, carinho e companheirismo.

Às minhas tias Vanessa e Cláudia por todo carinho e apoio.

Às minhas primas, em especial minha pequena Luíza, por todo amor e por sempre alegrar o meu dia.

Ao Ivan por sempre acreditar em mim, me incentivando com muito amor e carinho.

À Clara, Marina e Verônica pela amizade, fazendo dos meus dias mais felizes.

A todos os professores da Engenharia Química que dedicaram seu tempo e seus ensinamentos para minha formação.

Ao núcleo de estudos NEnQ e a empresa júnior ProcEQ Jr., pela oportunidade e ensinamentos.

À toda minha família e amigos que de alguma forma contribuíram para que esse sonho se tornasse realidade.

Aos Departamentos de Engenharia Química, Engenharia Mecânica, Engenharia de Materiais e Engenharia de Alimentos que contribuíram para a realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Lavras pela oportunidade.

Essa conquista é de vocês!

MUITO OBRIGADA!

*“Transportai um punhado de terra todos os
dias e fareis uma montanha”
(Confúcio)*

RESUMO

O bagaço de cana-de-açúcar é gerado pela extração do caldo da cana-de-açúcar. É um dos resíduos mais abundantes gerados pela agricultura do país. É usado para a produção de etanol de segunda geração. A biomassa necessita passar por um pré-tratamento antes do processo da etapa de hidrólise. O pré-tratamento pode ser químico, físico, biológico ou a junção de dois ou mais pré-tratamentos, podendo causar alterações como: facilidade em remover a lignina e a hemicelulose, redução do grau de polimerização, aumento da área superficial, diminuição da cristalinidade da celulose e aumento do rendimento de açúcar. Neste trabalho foi avaliando a influência de diferentes granulometrias do bagaço de cana-de-açúcar e a da concentração de sólidos na realização da hidrólise enzimática, visando a produção de etanol, as cargas de sólido avaliadas foram de 2,5 e 5 (m/v) mantendo uma carga de enzima de 10 FPU/g de biomassa. A análise granulométrica foi realizada e os modelos matemáticos de *Gates-Gaudin-Schuman* (GGS) e *Rosin-Rammler-Bennet* (RRB) foram aplicados. Verificou-se que o melhor modelo aplicado para a amostra averiguada foi o modelo RRB, pois seu R^2 foi de aproximadamente 0,98 o que se aproximou mais de 1 (um), tendo assim o melhor ajuste. Após essa análise, foram escolhidos três diâmetros de partículas diferentes para a etapa de hidrólise, uma amostra contendo *mesh* 32, uma com *mesh* 42 e uma amostra inteira, sem passar pelo pré-tratamento. Em seguida foi realizado a quantificação dos açúcares redutores totais, no qual foi baseada no método proposto por Miller, utilizando o reagente DNS. Ao analisar os resultados obtidos verificou-se que a granulometria do bagaço de cana-de-açúcar influencia significativamente na produção de glicose. Quanto menor o diâmetro da partícula, maior a área superficial e maior a concentração de glicose. A porcentagem de sólidos também interfere na produção de glicose, maior a porcentagem de sólidos maior será a produção de glicose.

Palavras-chave: *Hidrólise enzimática. Cana-de-açúcar. Bagaço de cana-de-açúcar. Pré-tratamento*

ABSTRACT

Sugarcane bagasse is generated by the extraction of sugarcane juice. It is one of the most abundant waste generated by agriculture in the country. It is used for production of second generation ethanol. Biomass requires pre-treatment before the hydrolysis step process. Pretreatment may be chemical, physical, biological or a combination of two or more pre-filters, which may cause changes such as: ease of removal of a lineage and hemicellulose, reduction of polymerization degree, increase of surface area, decrease of crystallinity of the pulp and increased sugar yield. In this work it was evaluated the influence of different sugarcane bagasse granulometry and the concentration of substances in the enzymatic hydrolysis during ethanol production, as evaluated mass loads were 2.5 and 5 (m / v) maintain an enzyme loading of 10 FPU / g of biomass. A particle size analysis was performed and the Gates-Gaudin-Schuman (GGS) and Rosin-Rammler-Bennet (RRB) mathematical models were used. The best model applied to an average RRB sample was verified, as its R2 was approximately 0.98 or approached more than 1 (one), having the best fit. After this analysis, three different selection diameters were selected for a hydrolysis step, one sample containing 32 mesh, one with 42 mesh and one whole sample without pre-treatment. Then, the quantification of the complete reducing sugars was performed, none of which was used in the method proposed by Miller, using the reagent DNS. By analyzing the results obtained, it was found that the sugarcane bagasse size influences the production of glucose. The smaller or larger the particle diameter, the larger the surface area and the higher the glucose concentration. A percentage of strength also interferes with glucose production, a higher percentage than glucose production.

Keywords: *Enzymatic hydrolysis. Sugar cane. Sugarcane bagasse. Pretreatment.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Uso de combustível nos carros 0 km no Brasil	16
Figura 2 – Distribuição percentual da produção de etanol anidro e hidratado, segundo Grandes Regiões em 2018	16
Figura 3 – Evolução da produção nacional de etanol anidro e hidratado – 2009-2018	17
Figura 4 – Principais partes da cana-de-açúcar	18
Figura 5 – Produção de cana-de-açúcar no Brasil em mil toneladas de 2010 – 2019	19
Figura 6 – Bagaço de cana-de-açúcar	20
Figura 7 – Composição da biomassa	21
Figura 8 – Parte central da estrutura molecular da cadeia da celulose	21
Figura 9 – Ligações de hidrogênio entre cadeias de celulose.....	22
Figura 10 – Estrutura dos monossacarídeos formadores da hemicelulose	23
Figura 11 – Esquema da estrutura da lignina	24
Figura 12 – Fluxograma da produção do etanol de segunda geração.....	26
Figura 13 – Bagaço de cana-de-açúcar.....	32
Figura 14 – Medidor de umidade	33
Figura 15 – Moinho de facas	33
Figura 16 – Peneira de 2mm.....	34
Figura 17 – Agitador de peneiras magnético.....	35
Figura 18 – Biomassa separada (a) fundo, (b) <i>mesh</i> 42, (c) <i>mesh</i> 35, (d) <i>mesh</i> 32, (e) <i>mesh</i> 20, (f) <i>mesh</i> 16, (g) <i>mesh</i> 12, (h) <i>mesh</i> 9, (i) inteiro.....	36
Figura 19 – Banho maria	37
Figura 20 – Solução (a) após sair do banho maria, (b) após a adição de 10 mL de água.....	38
Figura 21 – Dados obtidos para o modelo GGS	42
Figura 22 –Dados obtidos para o modelo RRB.....	43
Figura 23 – Curva padrão da glicose	46
Figura 24 – Dados de concentração de glicose ao longo da hidrólise com uma concentração de 2,5% de sólidos para o inteiro (I), <i>mesh</i> 32 e <i>mesh</i> 42	48
Figura 25 – Bagaço de cana-de-açúcar após ser hidrolisado por 30 horas para a concentração de 2,5% de sólidos.....	49
Figura 26 – Dados de concentração de glicose ao longo da hidrólise com uma concentração de 5% de sólidos para o inteiro (I), <i>mesh</i> 32 e <i>mesh</i> 42	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Efeito dos diferentes tipos de pré-tratamentos.....	27
Tabela 2 – Análise granulométrica referente ao peneiramento de partículas.....	30
Tabela 3 – Relação entre mesh e a abertura da peneira.....	30
Tabela 4 – Diluições realizadas.....	37
Tabela 5 – Fração mássica retida e fração mássica passante do bagaço de cana-de-açúcar.....	39
Tabela 6 – Desvio padrão, média da massa retida e da massa passante.....	40
Tabela 7 – Dados obtidos para o cálculo dos modelos GGS e RRB.....	40
Tabela 8 – Resultados obtidos para a realização do gráfico linearizado utilizando o modelo GGS.....	41
Tabela 9 – Resultados obtidos para a realização do gráfico linearizado utilizando o modelo RRB.....	42
Tabela 10 – Absorbância coletada e desvio padrão calculado para uma concentração de 2,5% de sólidos.....	43
Tabela 11 – Absorbância coletada e desvio padrão calculado para uma concentração de 5,0% de sólidos.....	43
Tabela 12 – Dados para a obtenção da curva padrão da glicose.....	44
Tabela 13 – Concentração de glicose calculada 2,5%.....	45
Tabela 14 – Concentração de glicose calculada 5%.....	46

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1	Histórico da produção de etanol	15
3.2	Biomassa.....	17
3.3	Cana-de-açúcar	18
3.3.1	Bagaço da cana-de-açúcar	19
3.4	Composição química da biomassa lignocelulósica.....	20
3.4.1	Celulose	21
3.4.2	Hemicelulose	22
3.4.3	Lignina.....	23
3.4.4	Extrativos.....	24
3.5	Produção de etanol.....	24
3.5.1	Produção do etanol de 1ª geração	25
3.5.2	Produção de etanol de 2ª geração	25
3.6	Pré-Tratamentos.....	26
3.6.1	Pré-amento químico.....	27
3.6.2	Pré-tratamento físico.....	27
3.6.3	Pré-tratamento biológico	28
3.7	Hidrólise	29
3.7.1	Hidrólise ácida	29
3.7.2	Hidrólise enzimática	29
3.8	Efeito da granulometria na hidrólise enzimática	30
3.8.1	Granulometria	30
4	MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1	Biomassa.....	31
4.2	Enzima	32
4.3	Determinação da umidade	32
4.4	Pré-tratamento.....	33
4.5	Granulometria	34
4.6	Hidrólise enzimática	37
4.7	Quantificação da glicose.....	37
4.8	Curva padrão.....	39
5	RESULTADOS	40
5.1	Análise granulométrica.....	40
5.1.1	Modelos RRB e GGS.....	41

5.2	Absorbância	44
5.3	Concentração de glicose na hidrólise enzimática	45
6	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

O consumo de etanol aumentou muito durante os últimos anos e novas fontes de matérias-primas estão sendo estudadas para a produção desse combustível. Essas matérias-primas estão presentes na natureza de forma abundante, pois são resíduos da agricultura, como por exemplo o bagaço de cana-de-açúcar. Um novo conceito desse etanol é conhecido como etanol de segunda geração.

O maior produtor de etanol de primeira geração (E1G) utilizando a cana-de-açúcar é o Brasil. Do subproduto gerado a partir da produção do etanol de primeira geração é possível produzir o etanol de segunda geração (E2G). Para a produção do etanol de segunda geração, faz-se necessário o uso de pré-tratamento antes da etapa de hidrólise para facilitar o acesso da enzima ao substrato. A produção do etanol de segunda geração é vantajosa, pois possibilita um máximo aproveitamento do subproduto, utilização de insumos já existente, aumento de até 50% na produção de etanol sem a ampliação da área de cultivo, redução no impacto ambiental, entre outros.

A matéria-prima utilizada na produção de etanol é classificada como fonte de energia renovável. A biomassa lignocelulósica é considerada como o recurso renovável biológico mais abundante existente no nosso planeta. De acordo com a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), o etanol é um biocombustível que pode substituir combustíveis fósseis em motores que necessitam de combustão interna, como por exemplo a gasolina.

Um dos grandes desafios para a obtenção do etanol a partir de materiais lignocelulósicos é a quebra dos principais constituintes químicos presentes na biomassa: celulose, hemicelulose e lignina. Devido a uma estreita associação entre estes constituintes, o material torna-se resistente à conversão, dificultando a hidrólise da celulose e hemicelulose em açúcares fermentescíveis. Então, para facilitar a acessibilidade da celulose pelas enzimas é preciso realizar um pré-tratamento na biomassa (ALVIRA, 2010).

O pré-tratamento da biomassa lignocelulósica é uma etapa importante e influencia, na maioria das vezes, de maneira positiva as próximas etapas utilizadas no processo. Os pré-tratamentos podem ser divididos em físico, biológico, químico e físico-químico.

Logo após realizar o pré-tratamento ocorre a etapa de hidrólise. Esta é a responsável pela quebra da celulose, podendo ser hidrólise química ou enzimática. Sendo que a química utiliza ácidos diluídos ou concentrados e na enzimática utiliza-se complexos enzimáticos.

A via enzimática apresenta menor consumo de energia, uma vez que opera em condições mais brandas de temperatura, pH e pressão do que a rota química. No entanto, a implementação da hidrólise enzimática em larga escala ainda apresenta dificuldades técnicas e econômicas. Dentre estas limitações está o problema de concentração e granulometria da biomassa utilizada no processo.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a influência de diferentes granulometrias do bagaço de cana-de-açúcar e a da concentração de sólidos na realização da hidrólise enzimática, visando a produção de etanol.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Histórico da produção de etanol

A cana-de-açúcar teve início de cultivo no Brasil no século XVI, trazida pelos portugueses. Sendo introduzida na região de São Paulo na Capitania de São Vicente e no Nordeste no estado de Pernambuco com uma maior predominância (RUSSEL-WOOD, 1998).

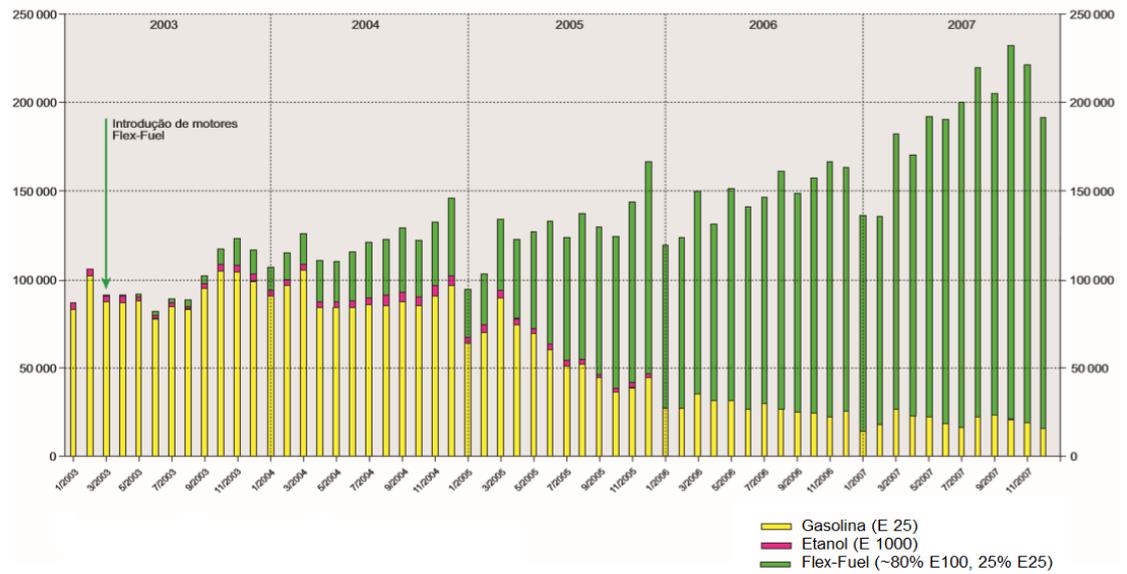
Segundo Michel Junior (2010) o cultivo da cana-de-açúcar no país sofreu dois impactos negativos. O primeiro ocorreu com a introdução dessa cultura no Caribe, pelos holandeses, franceses, ingleses e espanhóis, favorecendo o colapso do cultivo da cana no Brasil. Entretanto não foi o suficiente para acabar com a produção de cana no Brasil. O segundo impacto ocorreu com a tecnologia francesa de produzir açúcar através da beterraba, reduzindo drasticamente a dependência dos europeus de importar a cana-de-açúcar.

No início de 1920 ocorreu as primeiras experiências utilizando álcool como combustível. Já no final dessa década, foram feitas várias misturas de álcool para introduzir no mercado e serem usados como combustíveis, como por exemplo a USGA com composição de 75% etanol e 25% éter. Em 1931 o governo oficializou um decreto de nº19.717, no qual a adição de álcool na gasolina se tornava obrigatória (KOHLHEPP, 2010)

Logo em seguida, em 1975, o governo brasileiro criou o decreto nº76.593/75, o Programa Nacional do Álcool, conhecido como Proálcool, no qual a adição de etanol anidro na gasolina seria de até 20%, substituindo outros produtos importados (KOHLHEPP, 2010).

Alguns anos depois, em 2003, com o lançamento de veículos com motores Flex, ou seja, que aceitam tanto gasolina quanto álcool, a produção de etanol expandiu e desde 2005 os automóveis do tipo Flex são os mais utilizados, como mostra a Figura 1.

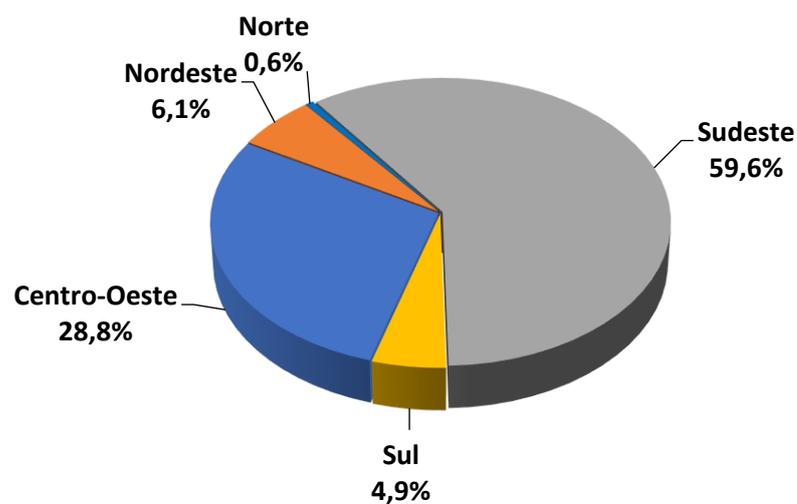
Figura 1 – Uso de combustível nos carros 0 km no Brasil



Fonte adaptada: Gerd Kohlhepp (2010)

A Figura 2 apresenta a distribuição em porcentagens da produção de etanol anidro e hidratado no Brasil.

Figura 2 – Distribuição percentual da produção de etanol anidro e hidratado, segundo Grandes Regiões em 2018

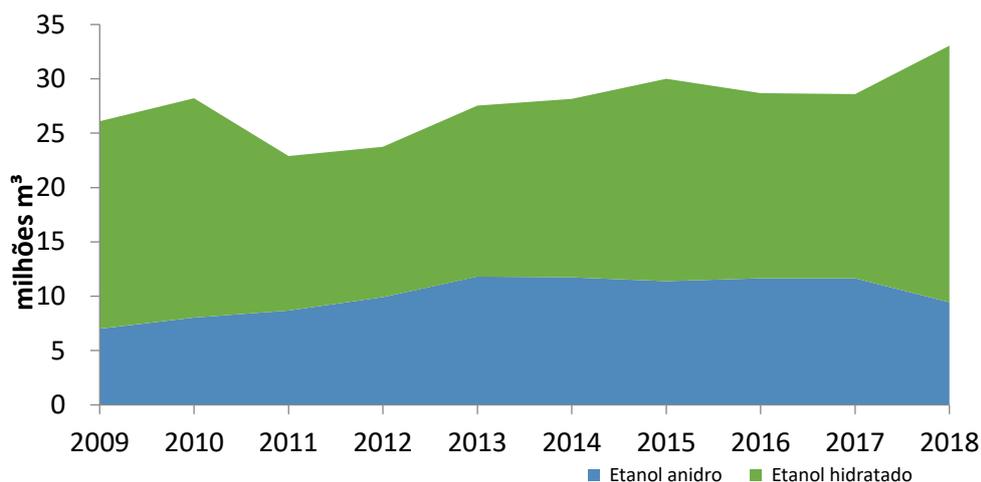


Fontes: Mapa/Sapcana e ANP (2018)

No Brasil no ano de 2018 a maior produção de etanol anidro e hidratado ocorreu na região sudeste seguida pela região centro-oeste, nordeste, sul e norte.

A Figura 3 mostra o avanço da produção de etanol anidro e hidratado ao longo dos últimos anos.

Figura 3 – Evolução da produção nacional de etanol anidro e hidratado – 2009-2018



Fonte: ANP (2018)

Como mostra a Figura 03, nos anos de 2009 e 2010, a produção de etanol estava em expansão, no entanto por conta de eventos climáticos em 2010/2011 sua produção decresceu, pois afetou a produção de cana-de-açúcar. Já na safra de 2013 e 2014 houve um aumento comparado aos anos anteriores, isso se deve ao fato do aumento na porcentagem de etanol na gasolina (25% de etanol anidro, 75% gasolina). No final de 2014, essa porcentagem aumentou cerca de 2,5%, nos anos seguintes a produção se manteve estável, e ocorreu um aumento de aproximadamente 15% do ano de 2017 para 2018, atingindo a maior produção dos últimos anos.

Segundo Silva *et al.* (2010) os principais fatores para a produção de biocombustíveis provenientes da cana-de-açúcar são devido ao seu rendimento energético e à realidade brasileira, uma vez que o Brasil ocupa a primeira posição na produção mundial de tecnologia desse tipo de cultura.

3.2 Biomassa

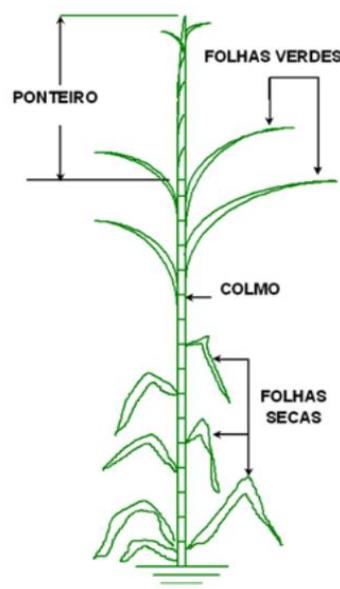
O termo biomassa é designado para um grupo de matéria prima renovável e de produtos capazes de produzir energia, pode ser proveniente de matéria orgânica vegetal ou matéria orgânica animal.

Já a biomassa lignocelulósica é constituída por celulose, hemicelulose e lignina, sendo assim, é toda de origem vegetal, apresenta 90% da massa seca total. A disponibilidade de biomassa lignocelulósica despertou o interesse para seu uso como matéria prima para produção de etanol de segunda geração (AYALA, 2012). É utilizada para se obter bioenergia, aumentando seu valor agregado, sendo a mais antiga forma de energia renovável existente no mundo.

3.3 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum L.*) é de origem asiática e pertencente à família das framináceas, principalmente utilizada na produção de açúcar e etanol. Apresenta colmo, ponteiros, folhas secas e verdes (Figura 4). É um cultivo duradouro, varia de acordo com as condições locais, onde a cana pode ter entre 4 e 12 colmos, crescer entre 3 e 5 metros de altura e o conteúdo de açúcar oscilar de 11 a 16% (AUGSTBURGER *et al.*, 2000).

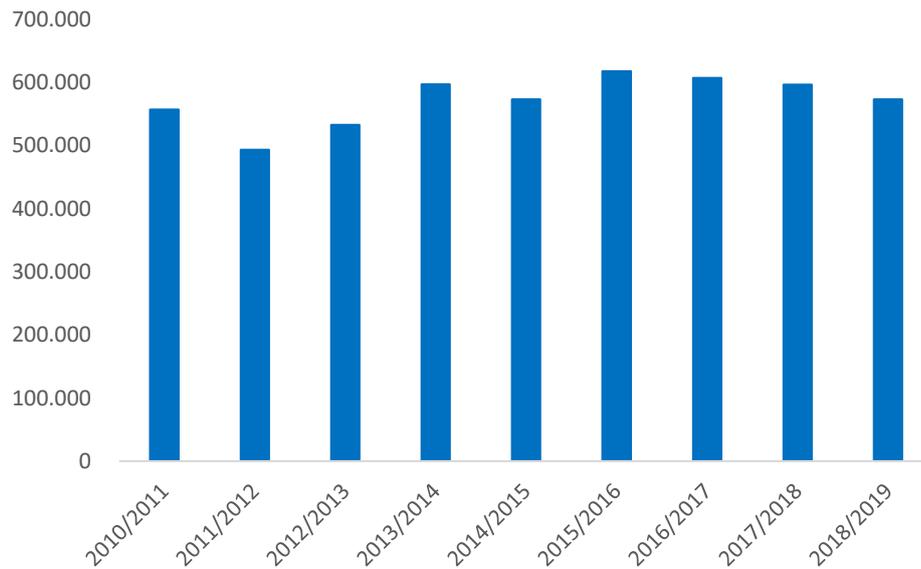
Figura 4 – Principais partes da cana-de-açúcar



Fonte: Suvre (2016)

O Brasil é hoje considerado o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, com sua maior produção em São Paulo, cerca de 55% nos últimos anos, seguido por Goiás com 10% e Minas Gerais com 9%. A Figura 5 mostra a produção de cana-de-açúcar nos últimos dez anos em mil toneladas.

Figura 5 – Produção de cana-de-açúcar no Brasil em mil toneladas de 2010 – 2019



Fonte: UNICADATA (2019)

3.3.1 Bagaço da cana-de-açúcar

O bagaço da cana-de-açúcar (Figura 6) é um dos mais abundantes subprodutos gerados na agricultura. Este tipo de subproduto é gerado após a extração do suco (caldo). É constituído por fibras exteriores (50%), células parenquimatosas (30%), segmentos de vasos (15%) e células epidérmicas (5%).

O bagaço não é uma biomassa homogênea, apresenta variações em sua composição, assim como na sua estrutura morfológica em função dos procedimentos de corte e de processamento (CGEE, 2009). A celulose e a hemicelulose representam uma grande fonte de xilose e glicose.

Figura 6 – Bagaço de cana-de-açúcar

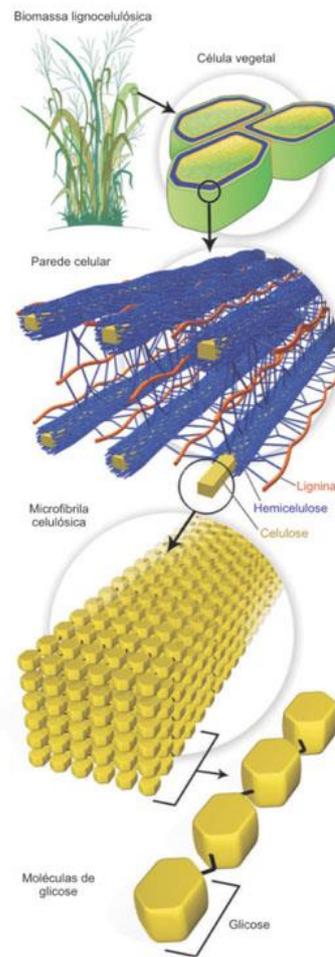


Fonte: Cachaça Mazzaropi (2018)

3.4 Composição química da biomassa lignocelulósica

A biomassa lignocelulósica (Figura 7) constitui a maior fonte de carboidratos naturais do mundo. A dificuldade de converter a biomassa lignocelulósica em insumos químicos é atribuída às suas características químicas e morfológicas. Esses materiais lignocelulósicos são constituídos de fibras de celulose envolvidas em uma matriz amorfa de polioses e lignina. Essa matriz amorfa age como uma barreira natural ao ataque de micro-organismos e/ou enzimas e torna esses materiais estruturalmente rígidos e pouco reativos. A composição química da biomassa lignocelulósica, geralmente contém 35-50% de celulose, seguido de 20-35% de hemicelulose, 10-25% de lignina e uma pequena quantidade de cinzas e extrativos. Esta composição química varia em função do tipo de biomassa (SANTOS, 2012).

Figura 7 – Composição da biomassa

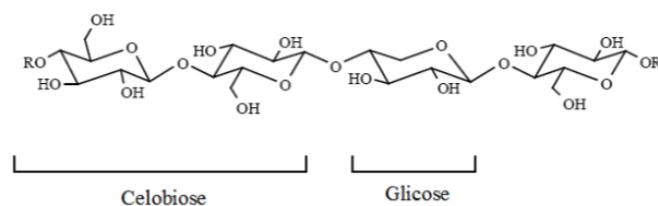


Fonte: Santos (2012)

3.4.1 Celulose

O principal constituinte de materiais lignocelulósicos é a celulose que está presente em todas as plantas. É considerada uma molécula simples quimicamente formada por anéis de β -D-glicopiranosose unidas por ligação β -D (1,4) glicosídicas, de fórmula geral $(C_6H_{10}O_5)_n$ (Figura 8).

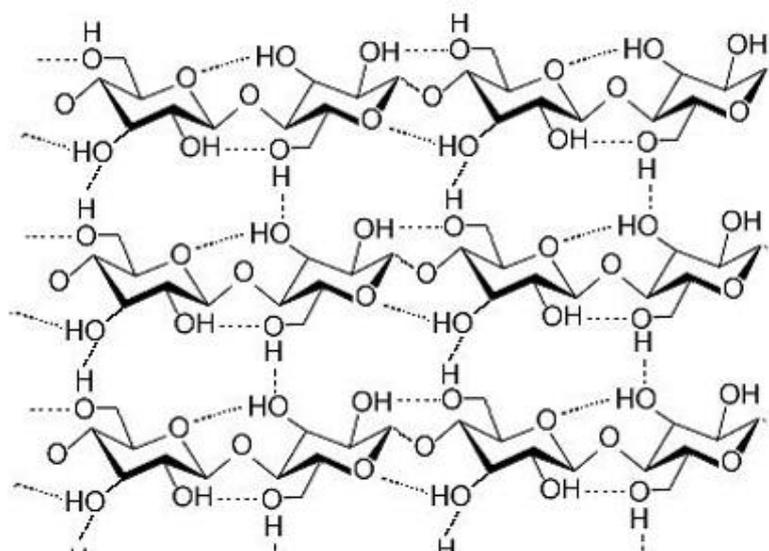
Figura 8 – Parte central da estrutura molecular da cadeia da celulose



Fonte: Rabelo (2010)

As ligações glicosídicas do tipo β -(1 \rightarrow 4) presentes na molécula de celulose são de difícil hidrólise, sendo que apenas alguns fungos e bactérias são capazes de tal função. Além dessas ligações, são encontradas forças de Van der Waal's e ligações de hidrogênio intra e inter cadeias (Figura 9), as quais permitem a combinação de cadeias de celulose para formar os cristalitos (AYALA, 2012).

Figura 9 – Ligações de hidrogênio entre cadeias de celulose



Fonte: Ayala (2012)

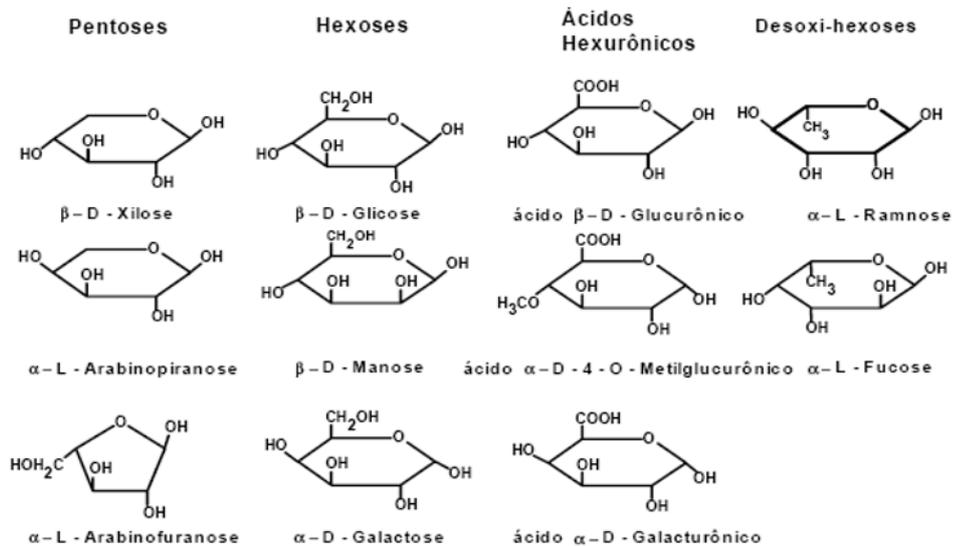
A celulose ao passar pelo processo de hidrólise sofre a quebra, formando polímeros menores, oligossacarídeos de cadeias redutoras e não redutoras, que após passar por uma hidrólise mais extensa, dá origem a celobiose e a glicose. Apesar da simplicidade química, existe uma complexa gama de formas físicas da celulose devido principalmente à diversidade de origem e aos processamentos tecnológicos subsequentes a que a biomassa celulósica é sujeita. A descrição destes substratos inclui propriedades como o tamanho, forma, a porosidade, o grau de polimerização, a área superficial, a associação com compostos não celulósicos, a conformação molecular e cristalinidade, sendo todas elas relevantes para o processo de hidrólise (RABELO, 2010).

3.4.2 Hemicelulose

A hemicelulose (Figura 10) é um carboidrato de cadeia curta e ramificada, encontrado na parede celular das plantas, cerca de 30% dos polissacarídeos presentes na parede celular é

de hemicelulose. A polioses são formados por açúcares e pode se dividir em grupos como: pentoses (xilose e arabinose), hexoses (glucoses, manoses e galactoses) e ácidos urônicos (4-O-metilDglucoronico, ácido D-galacturônico, e ácido D-glucurônico).

Figura 10 – Estrutura dos monossacarídeos formadores da hemicelulose

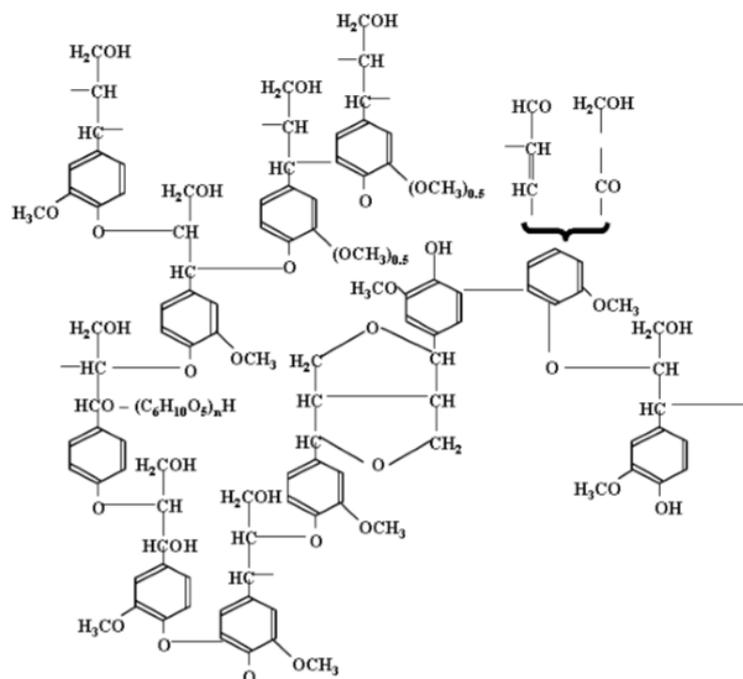


Fonte: Rabelo (2010)

3.4.3 Lignina

A lignina (Figura 11) é a segunda substância orgânica polimérica mais abundante presente nas plantas. Essa substância é a que proporciona rigidez para a parede celular, além de estar relacionada ao transporte interno de água e nutrientes. Apresenta uma estrutura química complexa e hidrofóbica, sua principal ligação é aril-aril do tipo éter.

Figura 11 – Esquema da estrutura da lignina



Fonte: Freudenberg (1968)

3.4.4 Extrativos

Os extrativos são substâncias encontradas na matéria vegetal em quantidade reduzida. Segundo Fengel e Wegener (1989) a soma desses outros componentes representa aproximadamente de 5 a 20% de todo o material. Essas substâncias são terpenóides, gorduras, ceras, alguns compostos fenólicos e algumas proteínas, podem ser extraídas na presença de solventes apolares e polares.

3.5 Produção de etanol

A produção de etanol por via fermentativa é o processo mais utilizado e aplicado pelas indústrias produtoras desta matéria-prima. No Brasil, a cana de açúcar se destaca, pela sua disponibilidade e custo, como principal meio utilizado na fermentação, pois se trata de uma fonte rica em carbono com elevada concentração de açúcares de sacarose, seguido pela glicose e frutose (FARIAS, 2014).

O etanol pode ser dividido em dois tipos: de primeira geração (E1G) e o de segunda geração (E2G).

3.5.1 Produção do etanol de 1ª geração

Ao chegar à usina, a cana colhida no campo passa por uma etapa de limpeza, que pode ser realizada utilizando água ou a seco. A cana picada é enviada para extração do caldo em moendas. O caldo extraído é enviado aos processos de produção de açúcar e etanol enquanto o bagaço é utilizado em um sistema de cogeração, operando com um ciclo a vapor. O caldo encaminhado para a produção de açúcar e etanol é tratado em processos distintos para a remoção de impurezas solúveis e insolúveis. A principal diferença entre os dois processos de tratamento é a realização da sulfitação do caldo para fabricação do açúcar. O caldo clarificado para produção de açúcar é concentrado utilizando evaporadores de múltiplo efeito obtendo-se o xarope. Este passará pelas etapas de cozimento, cristalização e secagem para obtenção do açúcar. A mistura do caldo clarificado com melaço e parte do xarope forma o mosto. Dependendo da concentração do mosto, ele é concentrado em um evaporador de simples efeito para atingir a concentração adequada para a fermentação. O vinho obtido após a fermentação é encaminhado para destilação, onde ocorre a obtenção de etanol hidratado, o qual passa por uma etapa posterior de desidratação para obtenção de etanol anidro (ALBARELLI, 2013).

Os resíduos sólidos gerados, como o bagaço da cana-de-açúcar, também podem ser utilizados como biomassa na produção do etanol de 2ª geração.

3.5.2 Produção de etanol de 2ª geração

Na produção do etanol de segunda geração, a biomassa (palha e/ou bagaço da cana-de-açúcar) é transportada para a indústria. Ao chegar, passa por pré-tratamento, podendo ser químico, físico, biológico ou a junção deles. Em seguida ocorre a hidrólise enzimática, nessa etapa, enzimas atuam como catalisadores, transformando as fibras de celulose em açúcares fermentáveis. Na fermentação os açúcares são transformados em etanol pelas ações de microrganismos. O caldo fermentado passa pela destilação, onde ocorre o processo de purificação do etanol, tornando este ideal para o consumo. A Figura 12 ilustra as principais etapas para a produção do etanol e segunda geração.

Figura 12 – Fluxograma da produção do etanol de segunda geração



Fonte: Do autor (2019)

Alguns dos benefícios do etanol de segunda geração são: Máximo aproveitamento dos subprodutos da cana-de-açúcar, possibilidade de utilização de insumos já disponíveis nas unidades, aumento da fabricação de etanol em até 50% sem ampliar a área de cultivo e a possibilidade em produzir biocombustível mesmo durante a entressafra da cana.

3.6 Pré-Tratamentos

A produção de etanol a partir de celulose exige várias etapas que envolvem basicamente pré-tratamento, hidrólise e fermentação. Efetivamente, devido à natureza recalcitrante da biomassa, a etapa de pré-tratamento consiste em uma das etapas operacionais mais relevantes em termos de custo direto, além de influenciar diretamente os custos das etapas anteriores e subsequentes do processo (SANTOS, 2012).

A utilização do pré-tratamentos para a produção de etanol é relacionada a alterar ou remover a lignina e a hemicelulose, reduzir o grau de polimerização, aumentar a área superficial, diminuir a cristalinidade da celulose e por consequência aumentar o rendimento de açúcar. Pode ser classificado de formas diferentes, pré-tratamento químico, físico, biológico ou então uma combinação entre eles, como o pré-tratamento físico-químico.

O pré-tratamento comumente utilizado para a palha de cana tem sido o pré-tratamento físico, baseado na redução do tamanho das partículas. Este método visa agregar valor a esses materiais por meio de sua classificação mecânica, o que permitirá obter um material de adequada composição físico-química para posterior conversão bioquímica ou termoquímica (SANTOS *et al.*, 2012).

Segundo Mosier *et al.*, (2005) ao realizar um pré-tratamento deve-se avaliar suas vantagens junto com os custos da aplicação e suas consequências nas próximas etapas do processo levando em consideração o tipo de biomassa que é utilizada.

3.6.1 Pré-tratamento químico

O pré-tratamento químico remove a lignina sem degradar a cadeia celulósica que deve apresentar propriedades adequadas à sua posterior utilização. Como a lignina está quimicamente ligada às hemiceluloses, uma degradação parcial das hemiceluloses ocorre no processo de pré-tratamento. Além disso, há uma diminuição do grau de polimerização e cristalinidade da celulose associada com o inchaço da amostra, aumentando assim a porosidade do material. (RABELO, 2007). Esse pré-tratamento tem como principal objetivo aumentar a área superficial por inchamento das fibras, utilizando agentes químicos como solventes orgânicos, ácidos e bases.

O pré-tratamento ácido pode ser conduzido em duas condições diferentes. A primeira que utiliza ácido concentrado não é tão atrativa quanto a segunda que utiliza ácido diluído, pois apresenta diversos problemas como formação de inibidores, toxicidade, corrosão e necessidade de equipamentos resistentes. Já o tratamento com ácido diluído, em geral com concentração de ácido entre 0,1 e 2% ($m. v^{-1}$), costuma ser mais efetivo, pois apresenta menor degradação de açúcares e com isso menor formação de inibidores (MORO, 2015).

Já o pré-tratamento em meio básico facilita a acessibilidade da celulose. Aumenta a porosidade, reduz o grau de polimerização e a cristalinidade. Os tipos de bases mais utilizadas são amônia, ureia, hidróxido de cálcio e hidróxido de sódio. Esse tipo de tratamento não exige altas condições de pressão e temperatura, mas dependem de um tempo maior (MORO, 2015).

3.6.2 Pré-tratamento físico

O pré-tratamento físico é aquele no qual ocorre a quebra do material por ação mecânica, porém sua composição química permanece a mesma.

SILVA *et al.* (2010) comparam dois diferentes tipos de moagem, moinho de faca e moinho criogênico, para analisar a eficiência do pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar e da palha. Os materiais que passaram por esses processos, foram analisados por difração de raios X, granulometria, microscopia eletrônica de varredura, e avaliação através da hidrólise enzimática e fermentação. A glicose e xilose do bagaço pré-tratado pela moagem convencional apresentaram rendimento de 78,7% e 72,1%, respectivamente, já para a palha os rendimentos foram de 77,6% e 56,8%. Usando o moinho criogênico, o rendimento de glicose e xilose foram

de 49,3% e 36,7% para bagaço e 68,0% e 44,9% para palha. Após as análises verificou-se que a moagem melhora a hidrólise enzimática através da diminuição da cristalinidade da celulose.

3.6.3 Pré-tratamento biológico

No pré-tratamento biológico ocorre a degradação da lignina e da hemicelulose devido a presença de uma enzima ou microrganismo, principalmente na presença de fungos, facilitando o posterior ataque a celulose. A vantagem desse tipo de pré-tratamento é que não há necessidade de utilizar produtos químicos ou altas temperatura.

De forma geral, os pré-tratamentos descritos acima e diversos outros não citados podem ser empregados combinados uns com os outros. Essa alternativa tem o propósito de aproveitar as vantagens de ambos os pré-tratamentos e reduzir ou eliminar os problemas associados a cada um (MORO, 2015). A Tabela 1, apresenta um resumo dos efeitos causados por cada tipo de pré-tratamento.

Tabela 1 - Efeito dos diferentes tipos de pré-tratamentos

Pré-tratamento	Características composicionais			Vantagens	Desvantagens	
	Celulose	Hemicelulose	Lignina			
Físico	Moinho de bolas	Intensiva diminuição do grau de cristalinidade	Não remove	Não remove	Redução de cristalinidade	Alto consumo de energia
	Ácido diluído	Pouca despolimerização	80-100% de remoção	Pouca remoção, mas ocorre mudança da estrutura	Condições médias, alta produção de xilose	Difícil recuperação do ácido, corrosivo e relativamente custoso
Químico	Hidróxido de sódio	Inchação significativa	Considerável solubilidade	Considerável solubilização	Remoção efetiva de ésteres	Reagente caro, recuperação alcalina
	ARP	Menor de 5% de despolimerização	50% de solubilidade	70% de solubilização	Efetiva deslignificação	Recuperação alcalina, relativamente caro
	Hidróxido de cálcio	Pouca despolimerização	Significativa solubilização	Solubilização parcial (40%)	Efetiva remoção de lignina e acetil, baixo custo	Menor efetividade devido a pouca solubilidade de cal
	Ozonólise	Não foi observada despolimerização	Pequena solubilização	Solubilização acima de 70%	Efetiva deslignificação em condições suaves	Caro, necessidade de mais ozônio
	Organosolv	Considerável inchação	Significativo, quase completa	Significativo, pode ser quase completa	Alta produção de xilose, efetiva deslignificação	Recuperação de solvente cara
Biológico	Biológico	20-30% de despolimerização	Acima de 80% de solubilização	40% de deslignificação	Baixo requerimento de energia, efetiva deslignificação	Perda de celulose, baixa taxa de inibitório

Tabela 1 - Efeito dos diferentes tipos de pré-tratamentos (continua)

Pré-tratamento	Características composicionais			Vantagens	Desvantagens
	Celulose	Hemicelulose	Lignina		
Explosão a vapor	Pouca despolimerização	80-100% de remoção	Pouca remoção, mas ocorre mudança da estrutura	Energia eficiente, nenhum custo de reciclagem	Degradação da xilana como produto inibitório
Combinado					
AFEX	Diminuição do grau de cristalinidade	Acima de 60% de solubilidade	10-20% de solubilização	Menor perda de xilanas, não formação de inibidores	Recuperação de amônia, não é efetivo para alta concentração de lignina

Fonte: Santos (2012)

3.7 Hidrólise

A hidrólise pode ser de dois tipos: hidrólise com ácido, podendo ser com ácido diluído ou concentrado e a hidrólise enzimática.

3.7.1 Hidrólise ácida

O processo de hidrólise ácida pode ocorrer de duas maneiras, a hidrólise com ácido diluído e a com ácido concentrado.

A hidrólise utilizando o ácido diluído, faz com que parte da celulose e da hemicelulose se hidrolisam de forma separadas. Sendo que a hemicelulose pode ser removida após o término da primeira etapa. Como na segunda etapa há uso de altas temperaturas, grande parte de açúcares e de lignina solúvel são degradadas no decorrer do processo de fermentação.

Já na hidrólise com ácido concentrado, a celulose e a hemicelulose são fragmentadas na presença de soluções aquosas de ácidos minerais fortes, como por exemplo o ácido sulfúrico, em baixas temperaturas. Uma das grandes desvantagens de usar o ácido concentrado é a necessidade de equipamentos resistentes a corrosão.

3.7.2 Hidrólise enzimática

No processo enzimático, a biomassa lignocelulósica é primeiramente pré-tratada para aumentar a acessibilidade ao ataque enzimático. Durante o pré-tratamento, a hemicelulose é hidrolisada em um processo similar ao primeiro passo da hidrólise com ácido diluído. No segundo passo, a hidrólise propriamente dita, a celulose é quebrada através das enzimas

celulases. Devido a condições mais suaves aplicadas durante o processo, uma menor quantidade de subprodutos é liberada, resultando em um alto rendimento de açúcares fermentescíveis. Porém, para atingir uma alta conversão da celulose é necessárias altas concentrações da enzima, o que aumenta o custo de produção (RABELO, 2007).

Efetivamente, devido à natureza recalcitrante da biomassa, a hidrólise enzimática é muito lenta, sendo difícil atingir elevados rendimentos em açúcar se a biomassa não for previamente pré-tratada. O pré-tratamento é provavelmente a etapa mais crucial, uma vez que tem forte impacto em todas as outras etapas do processo, por exemplo, na hidrólise enzimática e na fermentação, em termos de digestibilidade da celulose e toxicidade da fermentação (SANTOS *et al.*, 2012).

3.8 Efeito da granulometria na hidrólise enzimática

A composição da biomassa e seus variados tamanhos de partículas interferem no pré-tratamento. O fracionamento das biomassas em tamanho de partículas diferentes, separa as frações mais recalcitrantes, de frações menos recalcitrantes, baseando-se nas diferenças composicionais e anatômicas dessas biomassas (FERNANDES, 2018).

A moagem é um tipo de tratamento físico utilizado para a redução do tamanho das partículas. Quando o tamanho da partícula é reduzido, sua superfície de contato aumenta, melhorando assim, a transferência de calor e massa no processo, melhora o acesso das enzimas ao substrato, aumenta a adsorção de enzimas no substrato, que por consequência aumenta a taxa de hidrólise da celulose.

A moagem também causa algumas alterações na estrutura que pode reduzir a cristalinidade das fibras presentes na celulose, aumentando as conversões. Esse tipo de pré-tratamento faz com que a matriz lignocelulósica seja mais acessível às enzimas do complexo celulolítico. A redução gerada no tamanho das partículas de celulose pode trazer um aumento na afinidade entre a enzima e a celulose aumentando assim a taxa de hidrólise.

3.8.1 Granulometria

A análise granulométrica é um método que utiliza o peneiramento. Essa técnica faz-se passar uma quantidade de material através das peneiras de aberturas diferentes, porém padronizadas, estas peneiras devem ser agrupadas de maneira que haja um decréscimo em sua abertura. Os dados do peneiramento são coletados de acordo com a na Tabela 02.

Tabela 02 - Análise granulométrica referente ao peneiramento de partículas

<i>Mesh</i>	x_i	X_i	$-D_i$ (μm)	$+D_i$ (μm)	D_i (μm)
-------------	-------	-------	--------------------------	--------------------------	-------------------------

Fonte: Do autor (2019)

Sendo que “*mesh*” é relacionado a abertura da peneira (Tabela 03), “ x_i ” é a fração de massa retida na peneira, que pode ser obtida pela divisão da massa individual pela massa total, “ X_i ” é a fração de massa passante para a próxima peneira, $-D_i$ é referente ao diâmetro da peneira superior e $+D_i$ a peneira inferior, “ D_i ” é a média de $-D_i$ e $+D_i$ que são tabelados de acordo com a Tabela 03.

Tabela 03 - Relação entre *mesh* e a abertura da peneira

<i>Mesh</i>	μm								
3,5	5600	10	1700	32	500	100	150	325	45
4	4760	12	1400	35	425	115	125	400	38
5	4000	14	1180	42	355	150	106	500	25
6	3350	16	1000	48	300	170	90	635	20
7	2800	20	850	60	250	200	75		
8	2300	24	710	65	212	250	63		
9	2000	28	600	80	180	270	53		

Fonte: Cremasco (2012)

A partir da análise granulométrica, é possível calcular o diâmetro médio da partícula para se obter os modelos *Gates-Gaudin-Schuman* (GGS) e *Rosin-Rammler-Bennet* (RRB) (CREMASCO, 2012).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Biomassa

A biomassa utilizada no presente trabalho foi o bagaço de cana-de-açúcar (Figura 13), resíduo gerado na região norte de Lavras-MG.

Figura 13 – Bagaço de cana-de-açúcar



Fonte: Do autor (2019)

4.2 Enzima

Utilizou-se o complexo enzimático Cellic CTec 2 nos ensaios de hidrólise, cedido pela Novozymes Latin America - Araucária, PR. A determinação da atividade do complexo enzimático foi baseada na metodologia proposta por GHOSE (1987). A atividade da enzima é de 241 FPU/ml (CORREA, 2016).

4.3 Determinação da umidade

A biomassa utilizada para estudo passou pelo processo de secagem em uma estufa por 24 horas à 60°C. Após a secagem sua umidade foi obtida através de uma balança determinadora de umidade (Marca Weblaborsp, modelo i-Thermo 163L) (Figura 14) com precisão de $\pm 0,01$ (%umidade). Pesou-se aproximadamente 1 (um) grama de amostra e acionou-se o medidor. A biomassa foi seca até que seu peso não variasse mais.

Figura 14 – Medidor de umidade



Fonte: Do autor (2019)

4.4 Pré-tratamento

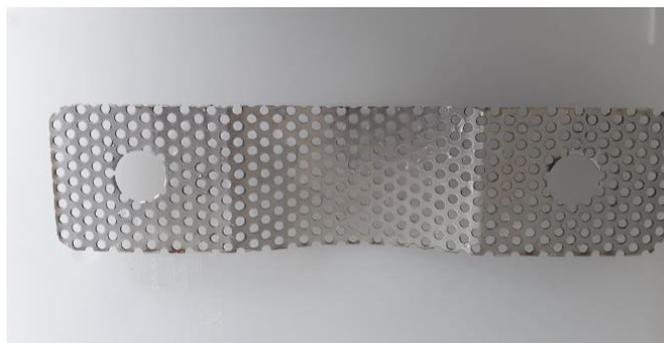
Foi realizado o pré-tratamento físico no bagaço através do moinho de facas. Para a realização da moagem, foi utilizado um moinho de facas (tipo Willey, da marca Eco Educacional) (Figura 15) com uma tela de 2mm de diâmetro (Figura 16).

Figura 15 – Moinho de facas



Fonte: Do autor (2019)

Figura 16 – Peneira de 2mm



Fonte: Do autor (2019)

A moagem foi realizada da seguinte forma: primeiramente fechou-se a tampa do moinho e acoplou-se o recipiente plástico na parte inferior da câmara. Ajustou-se a velocidade de rotação para 60Hz e então ligou-se o moinho. A alimentação da amostra de biomassa foi inserida no cone metálico na parte superior, colocando pouco a pouco até que toda a amostra fosse moída, a tampa do cone foi utilizada para que a amostra não fosse jogada para fora. Após a moagem completa o próximo passo foi a análise granulométrica.

4.5 Granulometria

Para a análise granulométrica primeiramente pesou-se as peneiras individualmente de *mesh* 9, 12, 16, 20, 32, 35 e 42. Em seguida posicionou as peneiras de forma decrescente no agitador de peneiras (marca Lucadema e modelo LUCA 04/01) (Figura 17) com uma velocidade média por 20 minutos, ou seja, a peneira com o maior diâmetro na parte superior e a menor na parte inferior. No fundo, posicionou-se o prato de fundo a fim de reter o material passante.

Figura 17 – Agitador de peneiras magnético

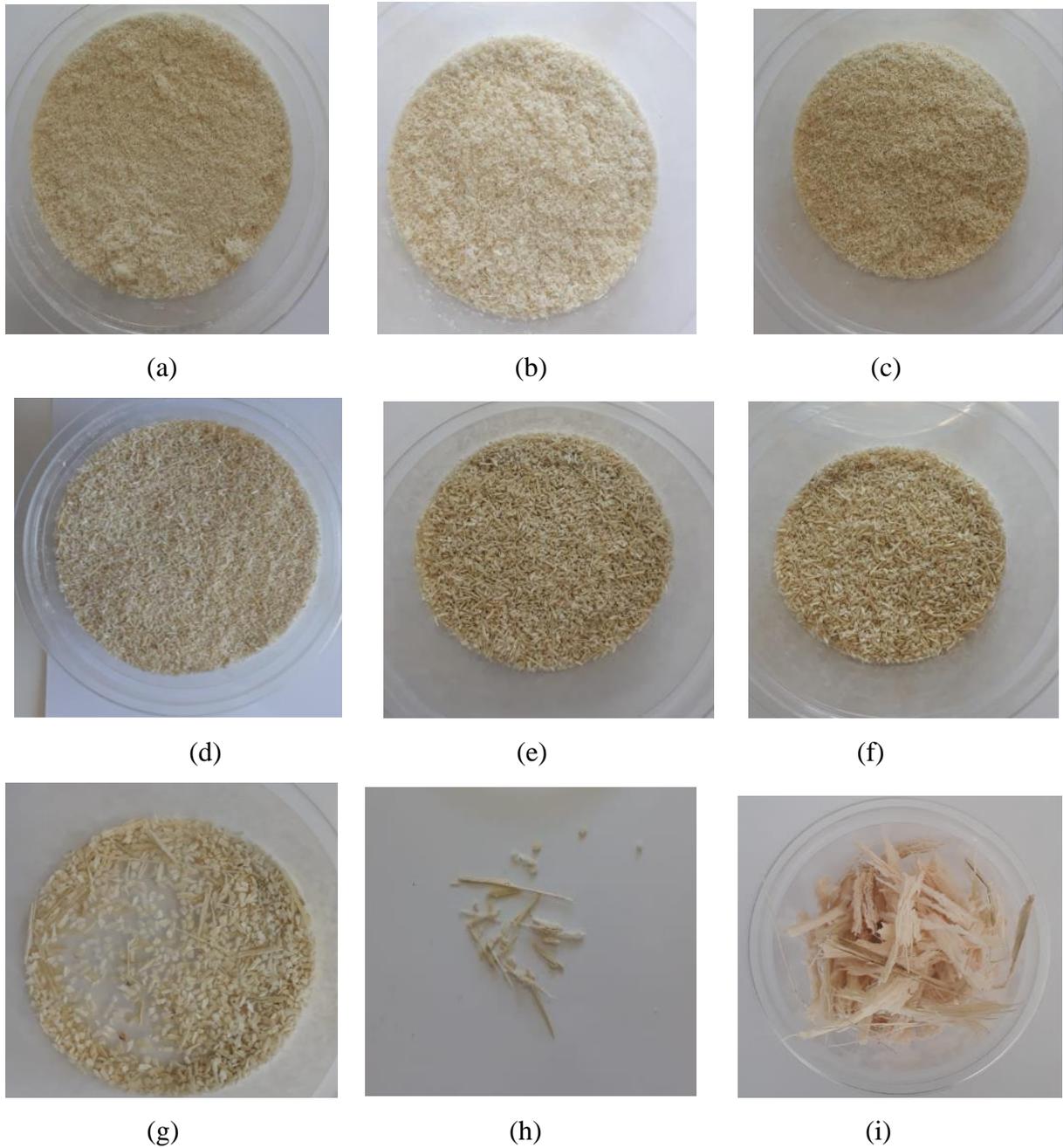


Fonte: Do autor (2019)

Uma amostra da biomassa de $70 \pm 0,27$ g foi pesada e em seguida colocada na peneira do topo, posicionou-se a tampa e rosqueou os manípulos presentes nas hastes metálicas, afim, de manter o equipamento firme e ligou-se o agitador.

Após os 20 minutos, desligou-se o agitador e pesou-se individualmente cada peneira, para o cálculo da massa retida em cada uma delas. A Figura 18 mostra a biomassa retirada em cada peneira e a amostra inteira, ou seja, sem ter passado pelo moinho de facas. Esse experimento foi realizado em triplicata.

Figura 18 – Biomassa separada (a) fundo, (b) *mesh* 42, (c) *mesh* 35, (d) *mesh* 32, (e) *mesh* 20, (f) *mesh* 16, (g) *mesh* 12, (h) *mesh* 9, (i) inteiro.



Fonte: Do autor (2019)

Após a realização da análise granulométrica, foram separados 3 (três) diferentes diâmetros de partículas de acordo com os que tiveram maior porcentagem de massa retida e o que tem menor diâmetro de partícula, para que houvesse uma maior diferença em sua área superficial. Os *meshes* escolhidos para a realização da hidrólise são: 32, 42 e o inteiro.

4.6 Hidrólise enzimática

Para a hidrólise enzimática do bagaço pré-tratado utilizou-se frascos de 250 ml em uma incubadora Shaker (marca QUIMIS, modelo Q315IA), com meio contendo tampão citrato (50 mM, pH 4,8) em um volume total de reação de 50 ml. Para os cálculos da solução tampão foi utilizado a plataforma *Citrate Buffer* (2,264g de ácido acético e 3,884g de citrato de sódio). Nos frascos foram adicionados o bagaço de cana-de-açúcar, a solução tampão e a enzima.

As cargas de sólido avaliadas foram de 2,5 e 5 (m/v) e a carga de enzima de 10 FPU/g de biomassa. A hidrólise enzimática foi realizada com uma agitação de 150 rpm, temperatura de $50 \pm 1,0^\circ\text{C}$, durante 30h. Todos os experimentos foram realizados em duplicata. Alíquotas de 1mL foram retiradas para quantificação da concentração de glicose nos tempos de 30 minutos, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 e 30 horas. Cada amostra foi centrifugada (marca FANEM, modelo Excelsa® i 2206) por 5 minutos, com rotação de 3500 rpm. Em seguida, foram coletados o sobrenadante de cada amostra e armazenados no freezer, até a realização da quantificação dos açúcares.

4.7 Quantificação da glicose

A quantificação dos açúcares redutores totais, foi baseada no o método proposto por Miller (1959), utilizando o reagente DNS.

Em um tubo de ensaio adicionou-se $1000\mu\text{L}$ da amostra que foi retirada do sobrenadante e $1000\mu\text{L}$ de solução DNS, tomando cuidado para que as soluções não encostassem pela parede do tubo. Deixou-se reagir por 5 minutos em banho maria (Figura 19) à 100°C .

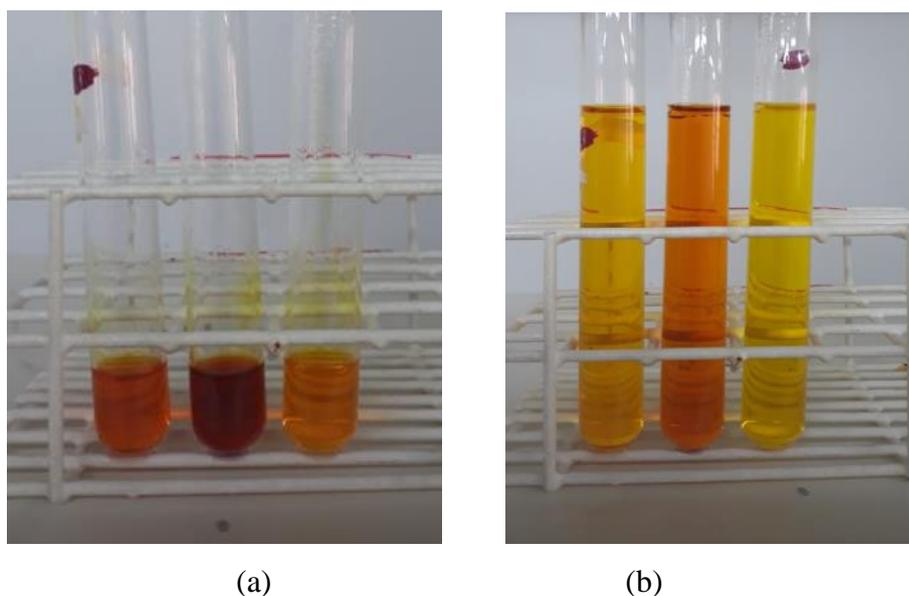
Figura 19 – Banho maria



Fonte: Do autor (2019)

Após este tempo (Figura 20 (a)), retirou-se os tubos do banho maria e adicionou-se 10 mL de água destilada (Figura 20 (b)) em cada e agitou-se os tubos. Após isto, realizou-se a leitura no espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-22) na intensidade de 540 nm. Também foi feito o branco, o qual continha 1 mL de água destilada e 1 mL de reagente DNS, submetido às mesmas condições de processo das amostras.

Figura 20 – Solução (a) após sair do banho maria, (b) após a adição de 10 mL de água



Fonte: Do autor (2019)

Para algumas amostras foi necessário fazer diluições de 10, 20, 40 e 50 vezes, como mostrado na Tabela 04. Os valores de absorbância observados foram anotados. Esse procedimento foi realizado para todas as amostras coletadas.

Tabela 04 – Diluições realizadas

Diluição (X)	Amostra (µL)	Água (µL)
10	100	900
20	50	950
40	25	975
50	20	980

Fonte: Do autor (2019)

Para o experimento contendo 2,5% de sólidos a amostra de inteiro foi diluída 10 vezes até o ponto de 4 (quatro) horas e 20 vezes para os demais pontos. A amostra de *mesh* 32 passou por uma diluição de 40 vezes e a amostra de *mesh* 42 por uma de 50 vezes em todos os pontos.

Já para o experimento com 5% de sólidos a amostra com inteiro passou por uma diluição de 20 vezes, a de *mesh* 32 por 40 vezes e a de *mesh* 42 por 50 vezes em todos os pontos.

4.8 Curva analítica

Para a realização da curva analítica de glicose foram feitas soluções com concentrações de 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 e 1 g/L. Em um tubo de ensaio adicionou-se 1 ml da solução de glicose e 1 ml da solução de DNS, foi deixado em banho maria por 5 minutos. Após este tempo adicionou-se 10 ml de água destilada e a quantificação dos açúcares redutores totais, foi baseada no o método proposto por Miller (1959), utilizando o reagente DNS. Esse procedimento foi realizado para todas as soluções preparadas com concentrações diferentes de glicose. Os dados foram anotados para a construção da curva padrão.

5 RESULTADOS

5.1 Análise granulométrica

Para a classificação do pré-tratamento físico, a moagem. Foi usado como referência para se obter a distribuição do tamanho de partículas do bagaço de cana-de-açúcar a análise granulométrica.

Após a realização da análise granulométrica calculou-se a fração de massa retida na peneira (x_i) e a fração de massa que passou para a próxima peneira (X_i) para as duas amostras analisadas, denominadas de 1 e 2. Os resultados estão dispostos na Tabela 05.

Tabela 05 – Fração mássica retida e fração mássica passante do bagaço de cana-de-açúcar

<i>Mesh</i>	Diâmetro (μm)	<i>Massa retida</i>₁ (g)	x_{i1} (%)	X_{i1} (%)	<i>Massa retida</i>₂ (g)	x_{i2} (%)	X_{i2} (%)
9	2000	0,0353	0,050	99,95	0,0268	0,0379	99,96
12	1400	1,017	1,448	98,50	0,9110	1,290	98,67
16	1000	4,049	5,764	92,74	4,785	6,775	91,90
20	850	5,831	8,302	84,44	7,500	10,62	81,28
32	500	29,02	41,32	43,12	30,36	42,99	38,29
35	435	8,205	11,68	31,44	7,034	9,960	28,33
42	355	5,465	7,780	23,66	4,120	5,834	22,49
Fundo	-	17	23,66	0,00	15,88	22,49	0,000
Total	-	70,24	100,0		70,62	100,0	-

Fonte: Do autor (2019)

Ao analisar os dados da Tabela 05, pode-se observar que a maior quantidade de massa retirada foi no *mesh* 32. Sendo assim, para as posteriores análises escolheu-se o *mesh* 32 por ter maior porcentagem de massa retirada e o *mesh* 42 por ser o menor diâmetro de partícula analisado. O bagaço de cana-de-açúcar inteiro, sem ter passado pela moagem, também será analisado para a comparação da influência da produção de glicose com e sem o pré-tratamento.

Para os cálculos de modelos GGS e RRB, calculou-se a média da fração passante e da fração retida. O desvio padrão foi calculado para efeito de comparação entre as análises 1 e 2, como mostra a Tabela 06.

Tabela 06 – Desvio padrão, média da massa retida e da massa passante

<i>Mesh</i>	$x_{i(médio)}$	Desvio	$X_{i(médio)}$	Desvio
9	0,0312	0,0060	70,40	0,2755
12	0,9639	0,0749	69,44	0,3503
16	4,417	0,5205	65,02	0,1701
20	6,665	1,179	58,35	1,349
32	29,69	0,9487	28,66	2,298
35	7,619	0,8281	21,04	1,470
42	4,792	0,9509	16,25	0,5194
Fundo	16,25	0,5194	0	0

Fonte: Do autor (2019)

Ao analisar os desvios entre os valores, das amostras 1 e 2 representados na Tabela 06, pode-se concluir com base nos valores calculados para o desvio padrão, com média de 0,63 para x_i e 0,80 para X_i , que seus desvios apresentaram um baixo valor. Isso significa que os pontos estão próximos da média, ou seja, apresentam características uniformes e satisfatórias.

5.1.1 Modelos RRB e GGS

Para descrever qual análise granulométrica é mais satisfatória, utilizou-se modelos matemáticos que relacionam o seu tamanho de partículas com a fração de partículas passantes. Aplicou-se a realização do ajuste da curva de distribuição granulométrica utilizando as regressões lineares referente aos modelos *Gates-Gaudin-Schuman* (GGS) e *Rosin-Rammler-Bennet* (RRB), estes foram calculados com os dados coletados presentes na Tabela 07. Com esses dados, pode-se analisar qual método melhor se ajusta à distribuição acumulada da amostra que está sendo analisada.

Tabela 07 – Dados obtidos para o cálculo dos modelos GGS e RRB

<i>Mesh</i>	x_i	X_i	$-D_i(\mu\text{m})$	$+D_i(\mu\text{m})$	$D_{i(médio)}(\mu\text{m})$
9	0,0004	0,9996	2300	2000	2150
12	0,0137	0,9859	2000	1400	1700
16	0,0627	0,9232	1400	1000	1200
20	0,0946	0,8285	1000	850,0	925,0
32	0,4216	0,4070	850,0	500,0	675,0
35	0,1082	0,2988	500,0	435,0	467,5
42	0,0680	0,2307	435,0	355,0	395,0
Fundo	0,2307	0	-	-	-

Fonte: Do autor (2019)

Os dados calculados para os modelos estudados estão representados na Tabela 08 e 09 e os gráficos linearizados pelas Figuras 21 e 22.

A Equação 01 é a utilizada para obter os parâmetros do modelo de Gates-Gaudin-Schuman (GGS).

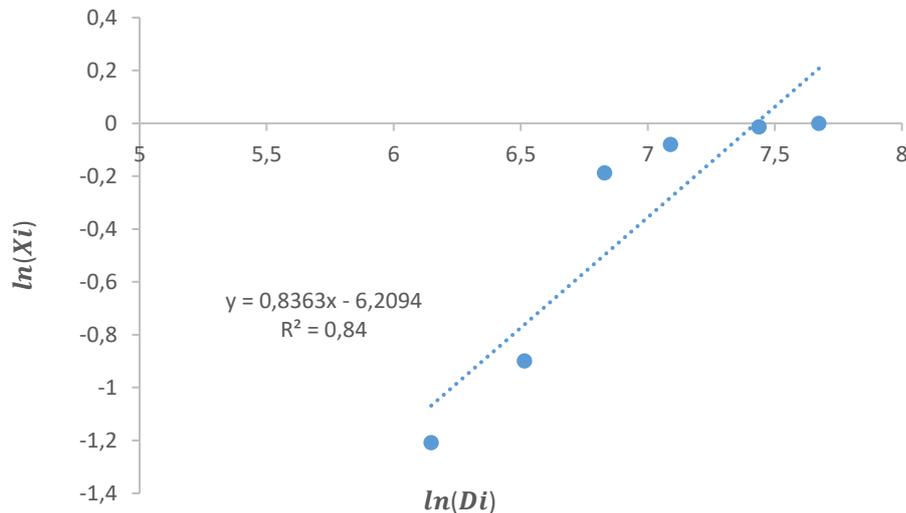
$$\ln X = -m \cdot \ln K + m \cdot \ln D \quad (01)$$

Tabela 08 – Resultados obtidos para a realização do gráfico linearizado utilizando o modelo GGS

<i>Mesh</i>	$D_i(\mu\text{m})$	X_i	$\ln(D_i)$	$\ln(X_i)$
9	2150	0,9996	7,673	-0,0004
12	1700	0,9859	7,438	-0,0142
16	1200	0,9232	7,090	-0,0800
20	925,0	0,8285	6,830	-0,1881
32	675,0	0,4070	6,515	-0,8990
35	467,5	0,2988	6,147	-1,208
42	395,0	0,2307	5,979	-1,466

Fonte: Do autor (2019)

Figura 21 – Dados obtidos para o modelo GGS



Fonte: Do autor (2019)

A Equação 02 é utilizada para calcular o modelo de Rosin-Rammler-Bennet (RRB).

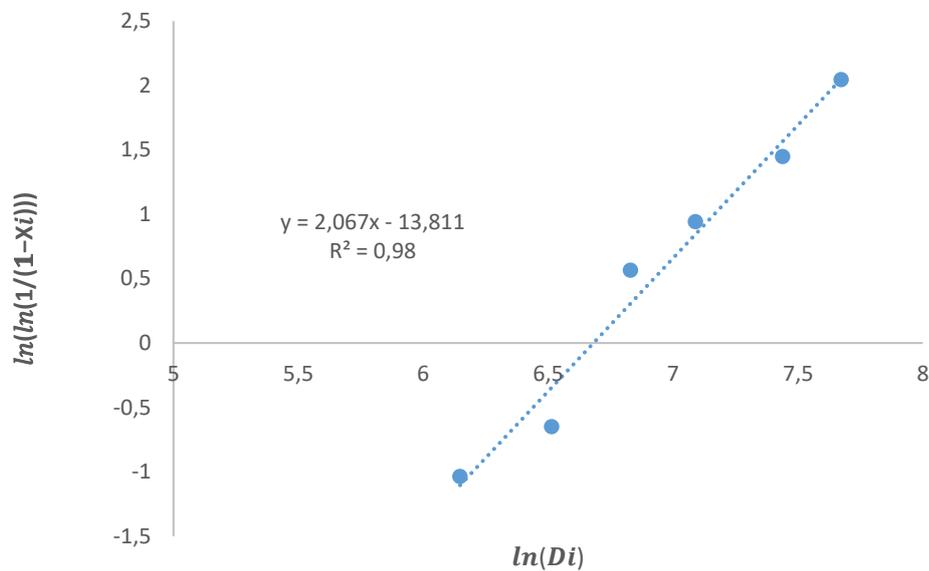
$$\ln \left(\ln \left(\frac{1}{1-X} \right) \right) = -n \cdot \ln D' + n \cdot \ln D \quad (02)$$

Tabela 09 – Resultados obtidos para a realização do gráfico linearizado utilizando o modelo RRB

<i>Mesh</i>	D_i (μm)	X_i	$\ln(D_i)$	$\ln(\ln(1/(1 - X_i)))$
9	2150	0,9996	7,673	2,045
12	1700	0,9859	7,438	1,449
16	1200	0,9232	7,090	0,942
20	925,0	0,8285	6,830	0,567
32	675,0	0,4070	6,515	-0,649
35	467,5	0,2988	6,147	-1,036
42	395,0	0,2307	5,979	-1,338

Fonte: Do autor (2019)

Figura 22 –Dados obtidos para o modelo RRB



Fonte: Do autor (2019)

Para analisar qual modelo melhor se ajusta a distribuição amostral obtida, neste caso, basta analisar o R^2 , quanto mais próximo de 1, melhor é o seu ajuste. Para essa amostra o modelo RRB é o que apresentou maior valor, com R^2 de aproximadamente 0,98. Sendo assim, pode-se concluir que este modelo é o que melhor se aplica para esse tipo de amostra, quando comparado com o GGS. As perdas obtidas na realização do peneiramento não foram significativas.

5.2 Absorbância

O experimento foi realizado para avaliar a influência dos tamanhos de partículas da biomassa na hidrólise como também a carga de sólidos. Após o pré-tratamento de moagem foi utilizado 3 (três) diferentes tamanhos de partículas 675 μm (*mesh* 32), 395 μm (*mesh* 42) μm e a biomassa inteira (I). Os dados coletados de absorbância estão representados pela Tabela 10 e Tabela 11, juntamente com os desvios de cada duplicata.

Tabela 10 – Absorbância coletada e desvio padrão calculado para uma concentração de 2,5% de sólidos

Tempo (h)	Inteiro		Mesh 32		Mesh 42	
	$ABS_{média}$	Desvio padrão	$ABS_{média}$	Desvio padrão	$ABS_{média}$	Desvio padrão
0,5	0,1722	0,0520	0,0325	0,0021	0,0690	0,0099
1	0,3180	0,1640	0,0500	0,0085	0,0715	0,0007
2	0,4145	0,0361	0,0600	0,0028	0,0620	0,0099
3	0,4220	0,0495	0,0615	0,0064	0,0695	0,0106
4	0,4500	0,0750	0,0815	0,0064	0,0740	0,0071
6	0,3525	0,0361	0,0805	0,0106	0,0895	0,0106
8	0,4130	0,0948	0,0821	0,0013	0,0910	0,0099
9	0,3440	0,0481	0,0830	0,0141	0,1070	0,0283
24	0,4850	0,1117	0,1300	0,0919	0,2265	0,0601
30	0,5820	-	0,1450	0,0198	0,2295	0,0474

Fonte: Do autor (2019)

Tabela 11 – Absorbância coletada e desvio padrão calculado para uma concentração de 5,0% de sólidos

Tempo (h)	Inteiro		Mesh 32		Mesh 42	
	$ABS_{média}$	Desvio padrão	$ABS_{média}$	Desvio padrão	$ABS_{média}$	Desvio padrão
0,5	0,0640	0,0778	0,1165	0,0120	0,0625	0,0191
1	0,1200	0,0212	0,1575	0,0417	0,1010	0,0269
2	0,1730	0,0354	0,1635	0,0290	0,1145	0,0134
3	0,1395	0,0714	0,1500	0,0057	0,1605	0,0134
4	0,2730	0,0410	0,2175	0,0587	0,1830	0,0396
6	0,3335	0,0460	0,2490	0,0170	0,2035	0,0276
8	0,4315	0,0460	0,2915	0,1096	0,1980	0,0141
9	0,4265	0,0332	0,2595	0,0035	0,1855	0,0035
24	0,4895	0,0191	0,4400	0,0552	0,3910	0,0127
30	0,5420	0,0693	0,5350	0,0481	0,3995	0,0021

Fonte: Do autor (2019)

O desvio padrão calculados referentes às duplicatas das absorvâncias medidas, foram baixos, sendo que para 2,5% de sólido após 30 horas na amostra de inteiro não foi possível realizar o cálculo de desvio, devido ao fato de uma nas amostras já estar completamente seca.

5.3 Concentração de glicose na hidrólise enzimática

Para a determinação da concentração de glicose presente na realização da hidrólise enzimática, foi necessário a plotagem dos dados presentes na Tabela 12.

Com os valores da Tabela 12, pode-se traçar um gráfico cujo seu perfil é conhecido como curva-padrão. Este gráfico corresponde à relação entre os valores de absorvância e concentração. Analisando graficamente é possível verificar a linearidade dos dados e calcular a concentração.

Tabela 12 – Dados para a obtenção da curva padrão da glicose

C(g/L)	ABS
0,200	0,100
0,400	0,211
0,600	0,338
0,800	0,475
1,000	0,618

Fonte: Do autor (2019)

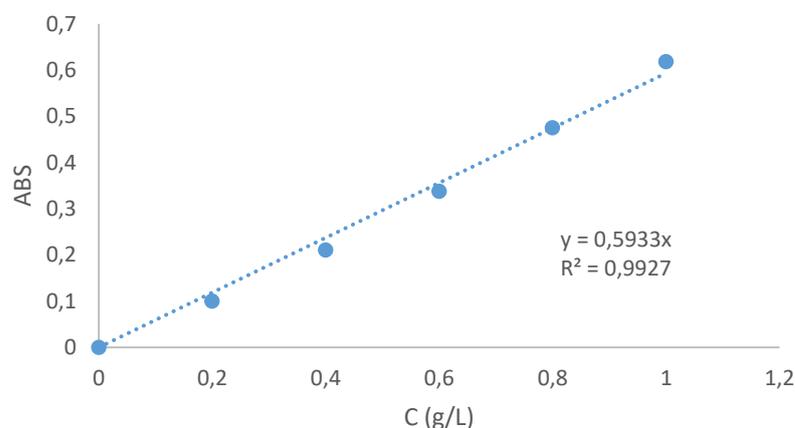
A Figura 23 representa o gráfico da curva-padrão, a reta indica a proporcionalidade entre o aumento da concentração e da absorvância e a porção linear corresponde ao limite de sensibilidade do método para o soluto estudado.

A equação da reta (Equação 03) relaciona duas variáveis absorvância e concentração.

$$y = a \cdot x \quad (03)$$

Sendo: “y” a absorvância, “x” a concentração e “a” a inclinação da curva analítica.

Figura 23 – Curva padrão da glicose



Fonte: Do autor (2019)

Após a hidrólise enzimática, o material recolhido foi quantificado para determinar a quantidade de glicose e como o pré-tratamento influencia nessa produção. O resultado da concentração de glicose está apresentado na Tabela 13 para uma concentração de 2,5% de sólidos e na Tabela 14 para uma concentração de 5% de sólidos, para a biomassa inteira e a que passou por pré-tratamento de moagem com *mesh* de 32 e 42.

Tabela 13 – Concentração de glicose calculada 2,5%

Tempo (h)	Inteiro		Mesh 32		Mesh 42	
	C(g/L)	Desvio padrão	C(g/L)	Desvio padrão	C(g/L)	Desvio padrão
0,5	2,9024	0,8772	2,1911	0,1430	5,8149	0,8343
1	5,3599	2,7650	3,3710	0,5721	6,0256	0,05959
2	6,9863	0,6078	4,0452	0,1907	5,2250	0,8343
3	7,1128	0,8343	4,1463	0,4291	5,8571	0,8939
4	7,5847	1,2633	5,4947	0,4291	6,2363	0,5959
6	5,9413	0,6078	5,4273	0,7151	7,5426	0,8939
8	6,9611	1,5970	5,5351	0,0858	7,6690	0,8343
9	5,7981	0,8104	5,5958	0,9535	9,0174	2,3836
24	8,1746	1,8831	8,7645	6,1975	19,0882	5,0652
30	9,8095	6,9364	9,7758	1,3348	19,3410	3,9926

Fonte: Do autor (2019)

Tabela 14 – Concentração de glicose calculada 5%

Tempo (h)	Inteiro		Mesh 32		Mesh 42	
	C(g/L)	Desvio padrão	C(g/L)	Desvio padrão	C(g/L)	Desvio padrão
0,5	2,1574	2,6220	7,8544	0,8104	4,2137	1,2872
1	4,0452	0,7151	10,6186	2,8127	6,8094	1,8116
2	5,8318	1,1918	11,0231	1,9546	7,7195	0,9058
3	4,7025	2,4075	10,1129	0,3814	10,8208	0,9058
4	9,2028	1,3825	14,6637	3,9568	12,3378	2,6697
6	11,2422	1,5495	16,7875	1,1441	13,7199	1,8592
8	14,5458	1,5494	19,6528	7,3893	13,3491	0,9534
9	14,3772	1,1203	17,4954	0,2384	12,5063	0,2384
24	16,5009	0,6436	29,6646	3,7185	26,3610	0,8581
30	18,2707	2,3360	36,0694	3,2416	33,6676	0,1430

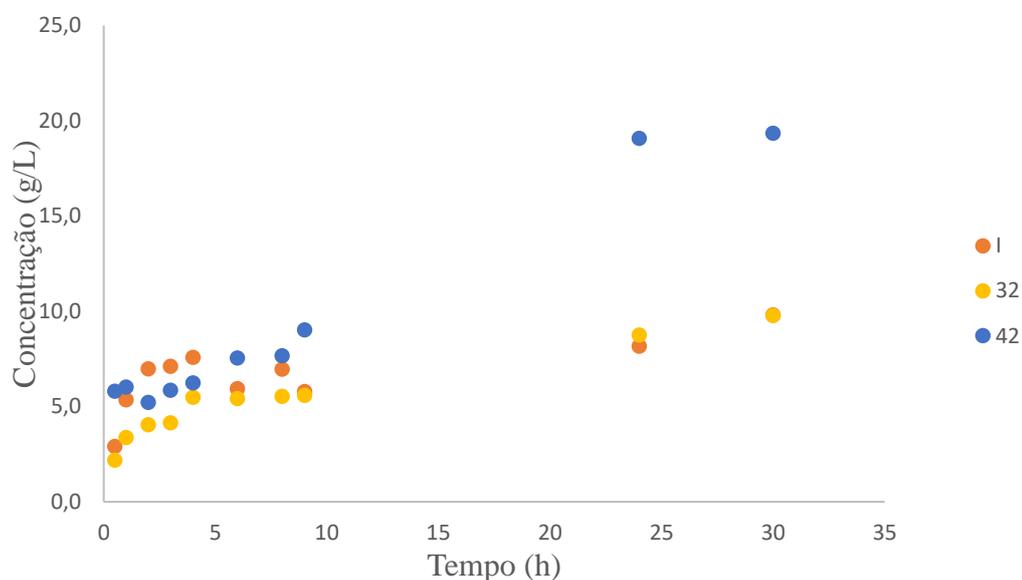
Fonte: Do autor (2019)

Quando analisado o valor das concentrações obtida pela hidrólise enzimática em relação ao tempo, é possível observar que essa concentração é crescente com o tempo, sendo mais acentuada nas duas primeiras horas.

Nas primeiras 6 (seis) horas de hidrólise enzimática, a produção de glicose não é tão influenciada pelo tamanho da partícula, mas em grandes intervalos de tempos, as amostras com menores diâmetros apresentam quase o dobro de produção quando comparado com a amostra sem ter passado pelo pré-tratamento.

A Figuras 24 mostra os perfis de concentração da glicose na hidrólise enzimática do bagaço da cana-de-açúcar pré-tratada fisicamente ao decorrer de 30 horas.

Figura 24 – Dados de concentração de glicose ao longo da hidrólise com uma concentração de 2,5% de sólidos para o inteiro (I), *mesh* 32 e *mesh* 42



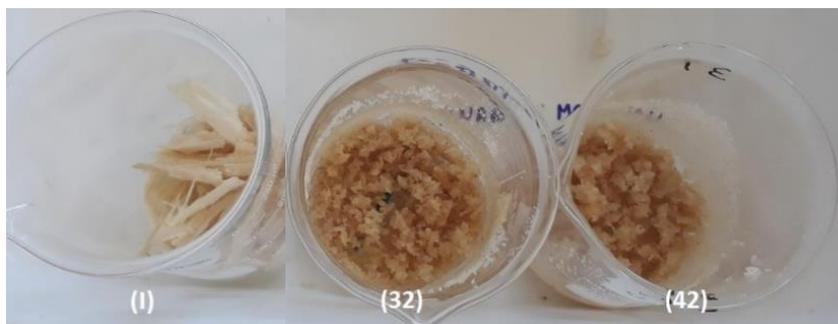
Fonte: Do autor (2019)

Ao analisar o experimento de hidrólise enzimática contendo 2,5% de sólidos, o *mesh* que apresentou um melhor desempenho em termos de concentração de glicose foi o de *mesh* 42. Isso comprova o esperado, menor diâmetro de partícula, maior sua área superficial, facilitando o acesso de enzimas no substrato e por consequência a produção de glicose.

Embora em alguns pontos a amostra com o bagaço de cana-de-açúcar inteira tenha se destacado, quando comparado com os outros, o *mesh* de 42 se sobressaiu em relação a todos os pontos analisados. Após 30 horas de hidrólise enzimática a concentração de glicose no *mesh* de 42 é aproximadamente 2 (duas) vezes a concentração presente na amostra de inteiro e na de *mesh* 32.

Na Figura 25 pode-se observar amostras após 30 horas. As amostras ficaram secas, não sendo possível estender o experimento por mais algumas horas.

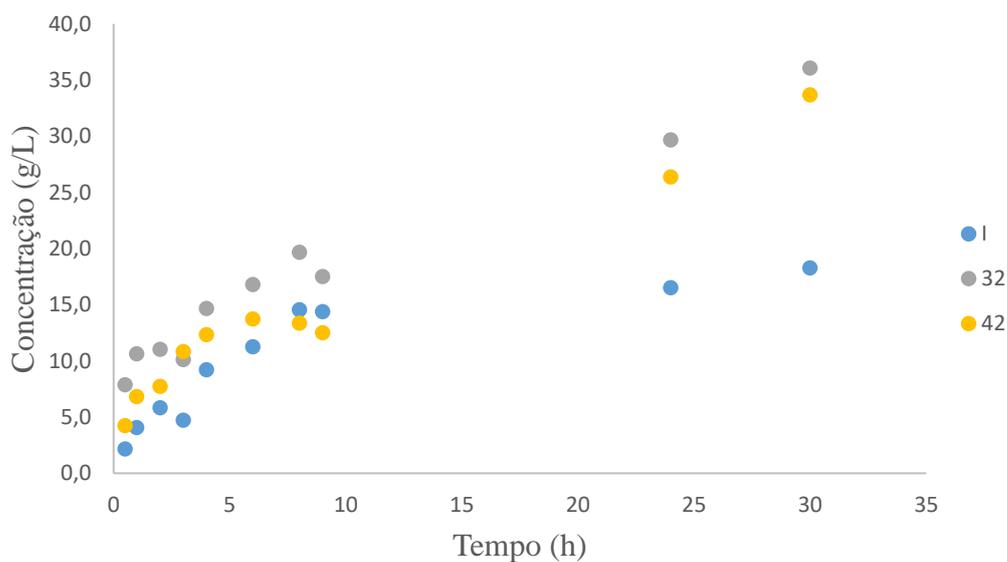
Figura 25 – Bagaço de cana-de-açúcar após ser hidrolisado por 30 horas para a concentração de 2,5% de sólidos.



Fonte: Do autor (2019)

A Figura 26 apresenta os perfis de concentração da glicose na hidrólise enzimática do bagaço da cana-de-açúcar pré-tratada fisicamente por 30 horas.

Figura 26 – Dados de concentração de glicose ao longo da hidrólise com uma concentração de 5% de sólidos para o inteiro (I), *mesh* 32 e *mesh* 42



Fonte: Do autor (2019)

De acordo com a Figura 27 que representa a concentração de glicose para uma porcentagem de sólidos de 5%, um baixo diâmetro favorece o aumento na produção de glicose na hidrólise enzimática, o que já era esperado. Embora o menor diâmetro de partícula tenha apresentado um bom desempenho, o de *mesh* 32 foi o que se sobressaiu em relação aos outros. A amostra com *mesh* de 32 apresentou quase o dobro da produção de glicose em relação ao inteiro e cerca de 7% mais que a amostra com *mesh* de 42.

No tempo de 6, 8 e 9 horas a concentração de glicose começa a aumentar de maneira mais lenta em relação aos outros tempos de coleta, dando um salto na produção de 24 para 30 horas, principalmente nas amostras com os dois menores diâmetros.

Segundo Cesário (2014) há influência de amostras que passaram por um pré-tratamento físico (diminuição do tamanho das partículas) de amostras não tratadas na hidrólise enzimática. Pode-se notar uma diferença de solubilidade de cerca de 5% maior nas amostras moídas em comparação com bagaço não moído.

Alves (2018), concluiu em seu trabalho que a granulometria do bagaço de cana-de-açúcar tem influência na extração/solubilização de hemicelulose na forma de macromolécula (xilana) e monossacarídeo (xilose). Também observou que, quanto menor o tamanho da partícula, maior a quantidade de xilana solubilizada. Comprovando que, um menor tamanho de partícula resulta em uma maior extração de hemicelulose.

No trabalho de Hsu *et al.* (1996), analisou-se o capim Tanzânia e observou um aumento na digestibilidade de 60 para 80% quando a partícula diminuiu de tamanho de 10 para 3 mm.

Todos os trabalhos citados acima comprovam que há uma influência positiva em seu objetivo, quando há a diminuição do tamanho das partículas com o uso de pré-tratamento físico na hidrólise enzimática.

A relação sólido-líquido é um fator importante para aumentar a conversão da celulose em glicose. A produção de açúcar que é proveniente da hidrólise enzimática interfere na quantidade de etanol produzido pela etapa de fermentação.

Segundo Banerjee *et al.* (2009) altas cargas de sólidos contribuem para a redução dos custos global de produção como consequência do baixo consumo de água e do menor processamento de purificação e de recuperação. Entretanto, quando há um aumento excessivo na carga de sólidos, pode gerar dificuldades, como por exemplo a inibição do produto final, pobre agitação, alta concentração de inibidores e dificuldades para ocorrer a transferência de massa.

6 CONCLUSÃO

Ao analisar a metodologia aplicada no experimento realizado, observou-se que a granulometria do bagaço de cana-de-açúcar influencia na produção de glicose. Quanto menor o diâmetro da partícula, maior a área superficial e maior será a concentração de glicose no decorrer da hidrólise enzimática. A concentração de sólidos também causa uma interferência na produção de glicose na hidrólise enzimática. Quanto maior a concentração de sólidos maior será a concentração de glicose e menor será o consumo de água para a produção do etanol.

Sendo assim, para uma concentração de 2,5% de sólidos, a melhor estratégia para se obter uma maior produção de glicose é a diminuição do seu diâmetro. Para este caso, a melhor amostra analisada é a de *mesh* 42. Para o experimento com concentração de 5 % de sólidos o diâmetro da partícula também influencia. Menores diâmetros apresentam maiores produções de glicose. Porém, neste caso, a amostra que apresentou uma maior concentração de glicose após 30 horas é a de *mesh* 32, logo em seguida com 7% a menos a de *mesh* 42.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Anuário estatístico**. 2019. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/publicacoes/anuario-estatistico/5237-anuario-estatistico-2019#Seção 4>>. Acesso em: 05 setembro 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS – ANP. **Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis**. 2016. Disponível em: http://www.anp.gov.br/images/publicacoes/Anuario_Estatistico_ANP_2016.pdf> Acesso em: 22 de junho de 2019.

ALBARELLI, Juliana Queiroz. **Produção de açúcar e etanol de primeira e**. 2013. 244 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

ALVES, Rosângela Cristina. **Influência da granulometria do bagaço de cana-de-açúcar na solubilização de hemicelulose e produção de açúcares fermentáveis**. 2019. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2018.

ALVIRA, P. Pretreatment technologies for efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review, **Bioresource Technology**. 2010.

AUGSTBURGER, F. et al.; **Asociación Naturland Agricultura Orgánica en el Trópico y Subtrópico Guías de 18 cultivos**, Caña de Azúcar, 1ª Edição; 1; 2000.

AYALA, Olga Lucia Bayona. **Avaliação de pré-tratamentos para a hidrólise enzimática de palha de cana-de-açúcar considerando a produção de etanol**. 2012. 173 f. Tese (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Campinas, Campinas, 2012.

BAERJEE, S. et al. **Commercializing lignocellulosic bioethanol: technology bottlenecks and possible remedies**. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 4:77-93, 20019.

BELLALOUI, Nacer et al. Soybean Seed Phenolics, Sugars, and Minerals Are Altered by Charcoal Rot Infection in MG III Soybean Cultivars Nacer Bellaloui,. **Food And Nutrition Sciences**, Berlin, v. 5, n. 19, p.129-147, 14 out. 2014.

BRASSOLATTI, Tatiane Fernandes Zambrano et al. Etanol de Primeira e Segunda Geração. **Revista Interdisciplinar de Tecnologias e Educação**, Boituva, v. 2, n. 1, p.2-10, jun. 2016. Disponível em: <http://rinte.ifsp.edu.br/index.php/RInTE/article/view/224/pdf_61>. Acesso em: 15 out. 2019.

CACHAÇA MAZZAROPI. **Só o bagaço.** 2018. Disponível em: <<https://www.cachacamazzaropi.com.br/o-bagaco/>>. Acesso em: 15 novembro 2019.

CARVALHO, Leidiane Coelho; BUENO, Regiane Cristina Oliveira de Freitas; CARVALHO, Marina Mouzinho. **CANA-DE-AÇÚCAR E ÁLCOOL COMBUSTÍVEL: HISTÓRICO, SUSTENTABILIDADE E SEGURANÇA ENERGÉTICA.** 2013. 14 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2013.

CENTRO NACIONAL DE PERSQUISA EM ENERGIA E MATERIAS. **Brasil planeja despoluir a água utilizando bagaço de cana.** 2017. Disponível em: <<http://cnpem.br/brasil-planeja-despoluir-a-agua-utilizando-bagaco-da-cana/>> Acesso em: 06 setembro 2019.

CESÁRIO, André L.I.; COSTA, Aline C. da; RABELO, Sarita C.. Effect of Particle Size on Dilute Acid Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Sugarcane Bagasse. **Chemical Engineering Transactions**, Itália, v. 37, n. 9, p.409-414, jun. 2014.

CGEE. **Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. Bioetanol combustível: uma oportunidade para o Brasil** In:CGEE(Ed.). Brasília 2009.p.536.

COMPRE RURAL. **Palha de cana pode gerar energia para suprir 70% do consumo residual.** 2017. Disponível em: <<https://www.comprerural.com/palha-de-cana-pode-gerar-energia-para-suprir-70-do-consumo-residencial/>>. Acesso em: 10 setembro 2019.

CORREA, Luciano Jacob. **Estudos de melhorias no processo de hidrólise enzimática de biomassas para produção de etanol**. 2016. 131 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2016.

CREMASCO, Marco Aurélio. **Operações unitárias em sistemas particulados e fluidomecânicos**. 1. ed. São Paulo: Edgard Blucher Ltda, 2012.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. **Fontes de Energia**. 2017. Disponível em: <<http://www.epe.gov.br/pt/abcdenergia/fontes-de-energia#FONTES-RENOVAVEIS>>. Acesso em: 17 de julho de 2019.

FARIAS, Daniele. **Produção de etanol de segunda geração por Scheffersomyces stipitis a partir de pentoses em processo extrativo a vácuo**. 2014. 263 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Campinas, Campinas, 2014.

FENGEL, D.; WEGENER, G. Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. Berlin, v.2, n5, p.613-221: **Walter de Gruyter**, dez. 1989.

FERNANDES, Erika Squisato. **Efeito da granulometria no pré-tratamento ácido, acessibilidade, superfície exposta da lignina e sacarificação enzimática do bagaço de cana-de-açúcar**. 2016. 68 f. Tese (Doutorado) - Curso de Microbiologia, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2016.

GEORGES, Fernando. **Caracterização da palha da cana-de-açúcar do Rio Grande do Sul e de seus produtos de pirólise**. 2011. 120 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

GHOSE, T.K - **Measurement of cellulase activities**. Pure & Appl. Chem., 59(2):257- 268, 1987.

Hsu T.A., Himmel M., Schell D., Farmer J., Berggren M., 1996, **Design and initial operation of a high solids, pilot-scale reactor for dilute-acid pretreatment of lignocellulosic biomass**, Appl. Biochem. Biotechnol, 57, 3-18.

INFORMATIVO SEMANAL AÇÚCAR. Valor bruto da produção de cana-de-açúcar para R\$55 Bilhões em 209. 2018. Disponível em: <https://www.udop.com.br/download/estatistica/cma_safras__mercado_semanal__acucar/2018/754_03dez18_relatorio_semanal_acucar_cma.pdf>. Acesso em: 15 setembro 2019.

KOHLHEPP, Gerd. Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil. **Estudos avançados**, v. 24, n. 68, p. 223-253, 2010.

MASSARANI, Giulio. **Fluidodinâmica em Sistemas Particulados**. 2. ed. Rio de Janeiro: UFRJ, 2001.

MICHEL JUNIOR, Raul José dos Santos. **Obtenção do álcool etílico hidratado, com graduação alcoólica para uso automotivo: validação de um processo em batelada**. 2010. 146 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Processos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

MORO, Mariana Kuster. **Pré- tratamento da biomassa de cana-de-açúcar por estrusão com dupla-rosca**. 2015. 119 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

MOSIER, N., WYMAN, C. E., DALE, B., ELANDER, R., LEE, Y. Y., HOLTZAPPLE, M. T., LADISCH, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**. 96: 6, 673 – 686, 2005.

Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzapple, M., & Ladisch, M. 2005. **Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass**. *Bioresource technology*, 96, 6, 673-686.

OGEDA, Thais Lucy; PETRI, Denise F. S.. Hidrólise enzimática de biomassa. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 7, n. 33, p.1549-1558, 20 jul. 2010.

OLIVEIRA, Mauro Wagner de et al. Decomposição e liberação de nutrientes da palhada de cana-de-açúcar em campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 35, p.2359-2362, dez. 1999.

PIRES, Aureliano José Vieira et al. Bagaço de cana-de-açúcar tratado com hidróxido de sódio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Jaboticabal, v. 3, n. 35, p.953-957, 14 nov. 2006.

RABELO, Sarita Cândida. **Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar**. 2007. 180 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

RABELO, Sarita Cândida. **Avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração**. 2010. 447 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Campinas, Campinas, 2010.

RUSSEL-WOOD, Anthony John R. Centros e periferias no mundo luso-brasileiro, 1500-1808. **Revista brasileira de história**, v. 18, n. 36, p. 187-250, 1998.

SAMPAIO, J. A.; SILVA, F. A. N. G.. **Análise granulométrica por peneiramento**. IN: Tratamento de Minérios: práticas laboratoriais. Rio de Janeiro: CETEM/MCTI, 2007.

SANTOS, Fernando A. et al. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Quim. Nova**, Viçosa, v. 35, n. 5, p.1004-1010, 13 jan. 2012

SILVA, Gisele Mota da. **Avaliação de diferentes configurações de hidrólise enzimática e fermentação utilizando bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol 2G**. 2015. 142 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2015.

SILVA, M.G.E., SILVA JÚNIOR J.L., PINTO JÚNIOR C.R.T. **Produção de Etanol de Segunda Geração: Uma Revisão**. Pensamento Plural: Revista Científica da UNIFAE, v.4, n.2, 2010.

STENNER, Claudio et al. **A geografia da cana-de-açúcar**. Rio de Janeiro: IBGE, 2017.

SUCRE. **Ponteiros no campo e folhas secas na indústria, demonstra pesquisa: embasamento para a SUCRE.** 2016. Disponível em: <<https://pages.cnpem.br/sucres/2016/06/13/ponteiros-campo-folhas-secas-industria-demonstra-pesquisa-embasamento-projeto-sucres/>>. Acesso em: 06 setembro 2019.

ÚNICA. **Histórico de produção e moagem.** 2019. Disponível em: <<http://www.unicadata.com.br>>. Acesso em: 20 novembro 2019.

VALIRE, S. B. e Wennen, J. E. **Screening in Mineral Processing Operations.** 190. In: Mular, A.L., Bhappu, R.B. Mineral Processing Plant Design, 2nd Edition. Littleton, USA: SME, p.917-928.

VÁSQUEZ, Mariana Peñuela. **Desenvolvimento de processo de hidrólise enzimática e fermentação simultâneas para a produção de etanol a partir de bagaço de cana-de-açúcar.** 2007. 205 f. Tese (Doutorado) - Curso de Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007