



JOYCE DE BASTOS NEVES

**REVISÃO TEÓRICA SOBRE A PRODUÇÃO DE ETANOL DE
SEGUNDA GERAÇÃO**

Lavras – MG

2021

JOYCE DE BASTOS NEVES

**REVISÃO TEÓRICA SOBRE A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA
GERAÇÃO**

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

Prof. Dr. Luciano Jacob Corrêa

Orientador

DEDICATÓRIA

Aos meus pais José Maurício e Dagmar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por estar sempre presente em minha vida e por nunca me deixar desanimar dos meus sonhos e projetos me mostrando que todo esforço vale a pena.

Aos meus pais, que nunca mediram esforços para me apoiar nessa jornada, por todo amor e incentivo na busca daquilo que me faz feliz. Ao meu irmão, por todo o companheirismo e experiências compartilhadas. E ao meu namorado pelo constante apoio e incentivo na realização deste trabalho e no meu dia a dia.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luciano Jacob Corrêa, pela orientação, apoio e conhecimento transmitidos ao longo deste trabalho.

Aos meus amigos que me apoiaram e ajudaram, de forma direta ou indireta, na realização deste trabalho e ao longo da minha jornada acadêmica.

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de realizar um levantamento bibliográfico sobre o tema: etanol de segunda geração. Foram estudadas as principais etapas de produção assim como um estudo sobre as principais biomassas a serem utilizadas na produção do bioetanol. Após um estudo sobre as principais culturas agrícolas no Brasil, os resíduos selecionados a serem avaliados foram: a palha e o bagaço de cana-de-açúcar, resíduos de café, milho e arroz. Por meio dos estudos citados, ficou evidente que os resíduos provenientes do processamento da cana são os mais promissores na produção de etanol de segunda geração pelo fato de o Brasil já possuir domínio do mercado do etanol de primeira geração, isso permite redução de custos como por exemplo com transporte e armazenamento. Em relação às demais biomassas avaliadas, existem dificuldades a serem superadas, como condições otimizadas para cada uma delas de forma específica, visto que suas composições químicas variam.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1– Evolução da matriz energética brasileira no setor de transporte rodoviário. ...	9
Figura 2- Estrutura do material lignocelulósico.	14
Figura 3- Parte de um polímero de celulose.	15
Figura 4- Estrutura da hemicelulose.	16
Figura 5- Representação esquemática da estrutura química da lignina de folhosas.	17
Figura 6- Etapas da produção de etanol celulósico.	18
Figura 7- Representação esquemática da ação do pré-tratamento sobre a biomassa.	19
Figura 8– Representação esquemática da hidrólise enzimática da celulose.	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Caracterização química do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado hidrotêrmicamente.	29
Tabela 2- Caracterização química da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotêrmicamente.	30
Tabela 3- Comparação entre a caracterização química do bagaço pré-tratado por explosão a vapor.	30
Tabela 4- Resumo dos resultados dos autores.	41
Tabela 5- Comparativo da caracterização química da casca de café in natura.	43
Tabela 6- Comparativo da caracterização química da polpa de café, dados baseados em matéria seca.	46
Tabela 7- Resumo dos resultados dos autores citados.	48
Tabela 8- Comparativo da composição química do sabugo de milho in natura.	49
Tabela 9- Comparativo da composição química da palha de milho in natura.	49
Tabela 10 - Resumo dos resultados dos autores citados.	52
Tabela 11- Comparativo da composição química da casca de arroz.	53
Tabela 12- Comparativo da composição química da palha de arroz.	53
Tabela 13- Valores de açúcares redutores (AR) para a hidrólise da palha e casca de arroz.	54
Tabela 14 - Resumo dos resultados dos autores citados.	56

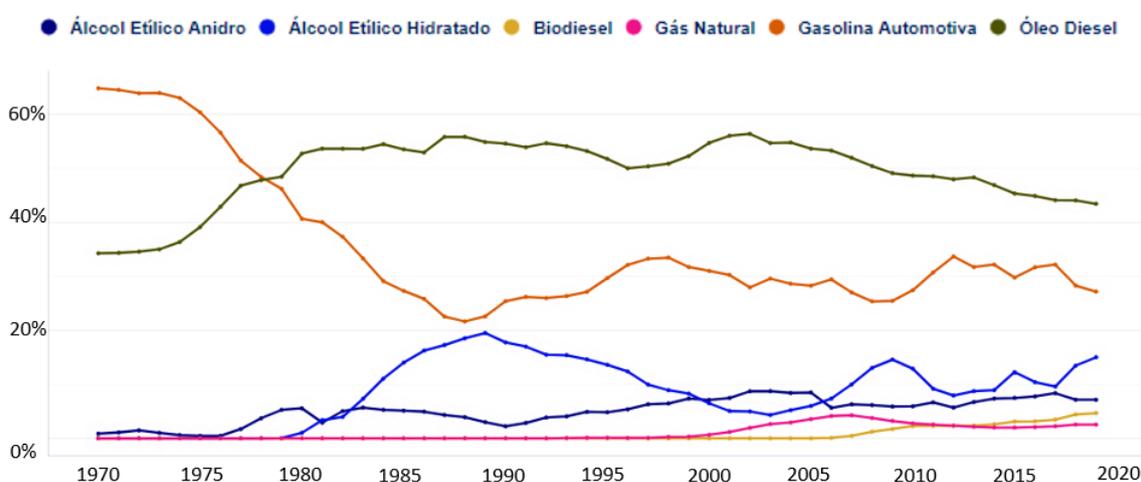
Sumário

1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 HISTÓRICO DA PRODUÇÃO DE ETANOL 2G.....	12
2.2 ESTRUTURA DOS MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS	14
2.2.1 CELULOSE	15
2.2.2 HEMICELULOSE	15
2.2.3 LIGNINA	16
2.3 PRINCIPAIS ETAPAS DE PRODUÇÃO.....	17
2.3.1 PRÉ-TRATAMENTO.....	18
2.3.2 HIDRÓLISE.....	24
2.3.3 FERMENTAÇÃO.....	27
2.3.4 DESTILAÇÃO.....	28
2.4 PROCESSOS A PARTIR DE DIFERENTES MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS ...	28
2.4.1 PALHA E BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR	28
2.4.2 RESÍDUOS DE CAFÉ.....	41
2.4.3 RESÍDUOS DE MILHO	48
2.4.4 PALHA E CASCA DE ARROZ.....	52
3. PERSPECTIVAS DE PRODUÇÃO.....	57
4. CONCLUSÃO	60
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

1. INTRODUÇÃO

Por muito tempo, o combustível proveniente do petróleo dominou o mercado mundial causando grande dependência e crises mundiais acerca do mesmo. A supervalorização do preço do petróleo em meados dos anos 70 pressionou o Brasil a buscar medidas para contenção dessa crise e diminuir sua dependência em relação ao petróleo. Diante desse cenário diversos estudos e projetos foram incentivados a substituir o petróleo como matéria-prima dos combustíveis (CORRÊA, 2016). Este cenário está ilustrado na Figura 1 que mostra o gráfico com a evolução da matriz energética brasileira no setor de transporte rodoviário dos anos 70 até o ano de 2019.

Figura 1– Evolução da matriz energética brasileira no setor de transporte rodoviário.



Fonte: BEN Interativo - Empresa de Pesquisa Energética (2021).

Além da questão econômica, a preocupação com os impactos ambientais vem crescendo continuamente e tem incentivado diversos estudos e pesquisas sobre os chamados biocombustíveis, que são combustíveis de fonte renovável. Isso porque, segundo Corrêa (2016) os biocombustíveis se apresentam como uma das formas mais efetivas de redução da emissão de gases do efeito estufa quando comparados ao consumo energético no setor de transporte. Segundo a Unica (2020) quando avaliado o ciclo de vida completo do combustível, o etanol proporciona uma redução de até 90% dos gases de efeito estufa em relação à gasolina. Segundo cálculos baseados em dados da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) entre março de 2003 (data de lançamento da tecnologia flex) e maio de 2020, o consumo de etanol (anidro e hidratado) evitou a emissão de mais de 515 milhões de toneladas de CO₂, sem considerar

outras emissões, como a de SO₂. Desde a criação do Protocolo de Kyoto, em 1997, que elaborou medidas mais rígidas a serem seguidas, os países vêm buscando formas de mitigar os gases do efeito estufa por meio de políticas nacionais preocupadas com a questão da diminuição da pegada de carbono.

O pontapé inicial para a produção de biocombustíveis no Brasil foi em 1975 com a criação do Programa Nacional do Alcool pelo decreto nº 76.793/75 que inicialmente visava a mistura do etanol anidro à gasolina com uma porcentagem máxima de 20%. No entanto, foi somente em 2003 que o etanol ganhou efetivamente o mercado, por meio do lançamento dos veículos com motores *Flex Fuel* que permitem o funcionamento do mesmo tanto com gasolina quanto com o etanol hidratado, isso para qualquer proporção entre eles.

Atualmente, o Brasil se configura como o maior produtor mundial de cana-de-açúcar. A safra de 2020/2021 produziu aproximadamente 40 mil toneladas de cana-de-açúcar, sendo que haviam 256 unidades em operação (UNICA, 2020). A cana-de-açúcar é usada como matéria-prima principalmente para a produção de açúcar e etanol, sendo o açúcar disponibilizado para o comércio interno e externo e o etanol produzido, apenas para o mercado interno.

O fato de o processamento da cana ser direcionado para diferentes fins, como o setor de alimentação e do transporte, trouxe à tona um problema que pode aparecer a médio e longo prazo, que é o conflito no uso da terra para biocombustíveis e alimentos. Segundo dados da União da Indústria de Cana-de-Açúcar, Unica (2020) o volume de etanol produzido acumulado da safra 2020/2021 totalizou 23,44 bilhões de litros, 7,47% inferior ao assinalado na última safra. Essa questão não se remete somente ao Brasil, nos Estados Unidos também é possível verificar que há um conflito quanto ao processamento do milho, que pode ser direcionado para diferentes finalidades. Segundo Mafioletti et al. (2011) a demanda interna de milho no país subiu de 5 para 121 milhões de toneladas, desde o início da década de 1990. E a partir de 2007 as exportações do milho estabilizaram em cerca de 50 milhões, o consumo atual para o preparo de rações em cerca de 140 milhões e o etanol em 120 milhões de toneladas por ano.

Como forma de evitar esse conflito, surge então a ideia do etanol de segunda geração ou etanol 2G, que é obtido a partir da celulose de matérias-primas

lignocelulósicas. A celulose é o carboidrato mais abundante encontrado atualmente e está presente em sua maioria, em diferentes resíduos agrícolas e florestais, o que o configura como uma matéria-prima de baixo custo. A produção desse biocombustível tem ganhado grande aceitação por ser de fonte renovável além de reduzir o descarte de resíduos agroindustriais no meio ambiente e também agregar valor a certos materiais (RABELO, 2010).

Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo realizar um levantamento bibliográfico a respeito da produção de etanol 2G englobando as principais etapas de produção deste biocombustível e as principais biomassas que podem ser utilizadas neste processo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

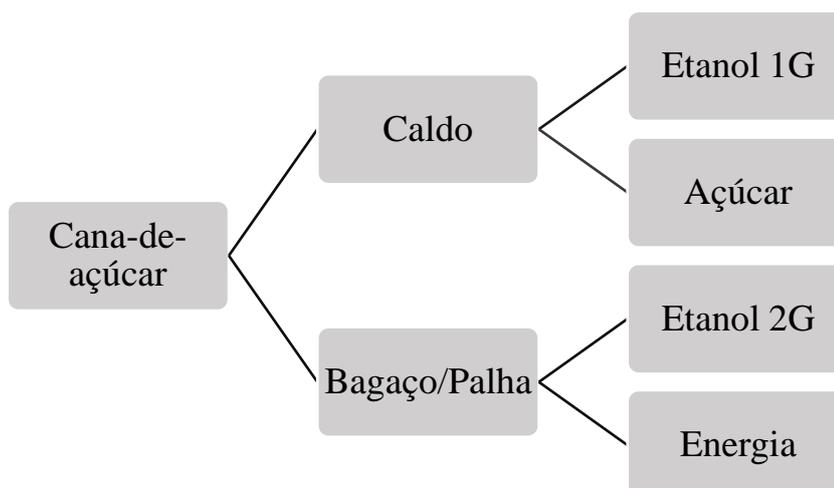
Atualmente, a iniciativa privada e o governo brasileiro têm incentivado a produção de combustíveis de fontes renováveis tanto pela questão ambiental como também pela questão econômica e como forma de evitar possíveis conflitos e crises a longo prazo. Um grande exemplo desse incentivo é a produção do bioetanol no país.

2.1 HISTÓRICO DA PRODUÇÃO DE ETANOL 2G

Desde a crise do petróleo e com o incentivo à produção de etanol por meio de programas governamentais, esse combustível teve um aumento significativo em sua demanda e se tornou uma das mais importantes fontes de energia renovável para o Brasil. O país ocupa uma posição favorável em relação à produção de etanol, pois possui grandes vantagens de tecnologias de produção, além de apresentar grande potencial na agricultura de energia e biocombustíveis sem que haja necessidade de aumentar a área desmatada ou competir com a área destinada à produção de alimentos, isso devido a sua diversidade de matérias-primas e seus diferentes biomas. Segundo estudos de Zhao et al. (2015) o Brasil ocupa a primeira posição em termos de produção de cana e área plantada num ranking com 103 países.

Atualmente o bioetanol brasileiro é proveniente, em sua maior parte, da cana-de-açúcar e tem o menor custo de produção e o maior rendimento em litros por hectare do produto (PETROBRAS, 2014). Esse processamento gera subprodutos com grande potencial para a produção do etanol 2G, como a palha e o bagaço da cana-de-açúcar. A Figura 2 mostra quais são os principais produtos obtidos a partir da cana-de-açúcar.

Figura 2- Principais produtos obtidos a partir da cana-de-açúcar.



Fonte: Acervo pessoal (2021)

Como visto na Figura 1 a produção de etanol é dividida em dois tipos: de primeira geração (1G) que é obtido através da fermentação dos açúcares presentes no caldo da cana, como a sacarose. E o etanol de segunda geração (2G) é aquele obtido pela quebra dos polissacarídeos, como a celulose, presente na biomassa lignocelulósica com o intuito de produzir açúcares mais simples, que poderão ser usados na produção de etanol. Dessa maneira, na produção do etanol 2G são adicionadas as etapas de pré-tratamento e de hidrólise da celulose antes da etapa de fermentação.

Segundo dados da Petrobras (2014), o etanol 2G pode ampliar em até 40% a produção do biocombustível nas usinas, sem aumentar a área plantada, trazendo mais eficiência e maior produtividade contando com a sustentabilidade no ciclo de produção. Atualmente no Brasil, apenas duas usinas operam para produzir o etanol celulósico: a Bioflex, usina da GranBio situada em São Miguel do Campo (AL), que utiliza a palha e a usina Costa Pinto, da Raízen, localizada em Piracicaba (SP) que utiliza o bagaço da cana.

Desde que as usinas iniciaram a produção do etanol de segunda geração, o que aconteceu em 2015, as perspectivas desse mercado foram enfraquecendo, especialmente devido às limitações tecnológicas. Segundo dados da Agência do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), as duas usinas em operação no país processaram um total de 106,36 mil toneladas de bagaço e de palha de cana entre os anos de 2019 e 2020, sendo 81,34 mil em 2019 e 25,03 mil em 2020. O que resultou em 6,11 milhões de litros de etanol 2G produzidos (NOVA CANA, 2020).

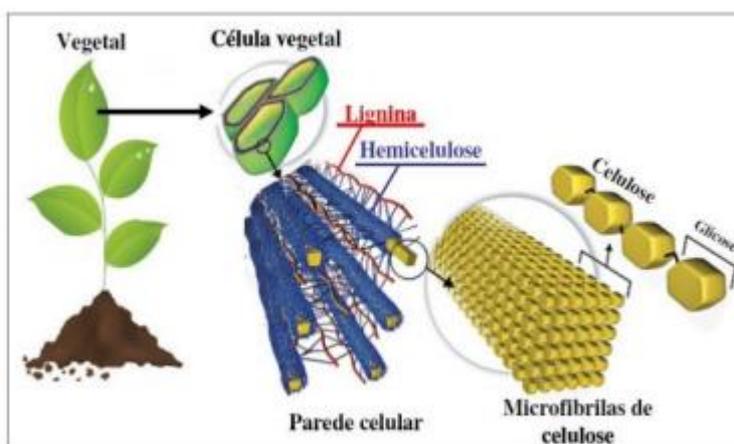
Mesmo se configurando como um país com grande capacidade instalada de segunda geração, as usinas que operam o etanol celulósico encontram grande problema para a operação dessas plantas, onde a maior dificuldade está na etapa de pré-tratamento do material. As enzimas são os elementos centrais para a produção do etanol 2G, pois são responsáveis pela quebra da biomassa e a sua transformação em sacarose, elas representam cerca de 30% a 40% do custo de produção, isso porque as usinas produtoras do etanol celulósico só têm à disposição enzimas produzidas no exterior (UDOP, 2020).

Diante desse cenário, foram realizados estudos para solucionar esse problema, um exemplo muito recente foi a criação de um coquetel enzimático com fungos geneticamente modificados pelo Laboratório Nacional de Biorrenováveis, do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (LNBR/ CNPEM) que poderá ser fabricado dentro das próprias usinas e a custos mais baixos. Essa pesquisa já conseguiu ser replicada em uma planta-piloto e está mais próxima de ser lançada no mercado por ter patentes em processo avançado de registro, sendo um estímulo extra para o incentivo da produção do biocombustível (UDOP, 2020).

2.2 ESTRUTURA DOS MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

Os materiais lignocelulósicos são formados, em sua maioria, por três componentes principais: celulose (40 – 55%), hemicelulose (20 – 35%) e lignina (10 – 25%) (CÔRREA, 2016). A parede celular das plantas é onde encontra-se a maior parte do material lignocelulósico, e é a fração mais expressiva da biomassa (STICKLEN, 2008; ALVES, 2011). A Figura abaixo mostra uma representação esquemática da estrutura do material lignocelulósico.

Figura 2- Estrutura do material lignocelulósico.

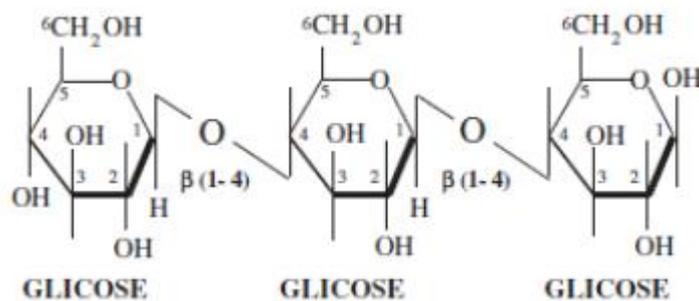


Fonte: Adaptado de RITTER (2008).

2.2.1 CELULOSE

A celulose é um homopolímero linear, formado pela união de subunidades de D-glicose, através de ligações β -1,4 glicosídicas (ZABED et al., 2016). E se configura como o polímero natural de maior ocorrência no mundo, sendo um dos principais componentes da estrutura dos vegetais, formado por uma estrutura complexa e de alto grau de rigidez (SANTOS, 2013). A Figura 3 mostra uma parte de um polímero de celulose.

Figura 3- Parte de um polímero de celulose.



Fonte: Adaptado de RAELE et al. (2014)

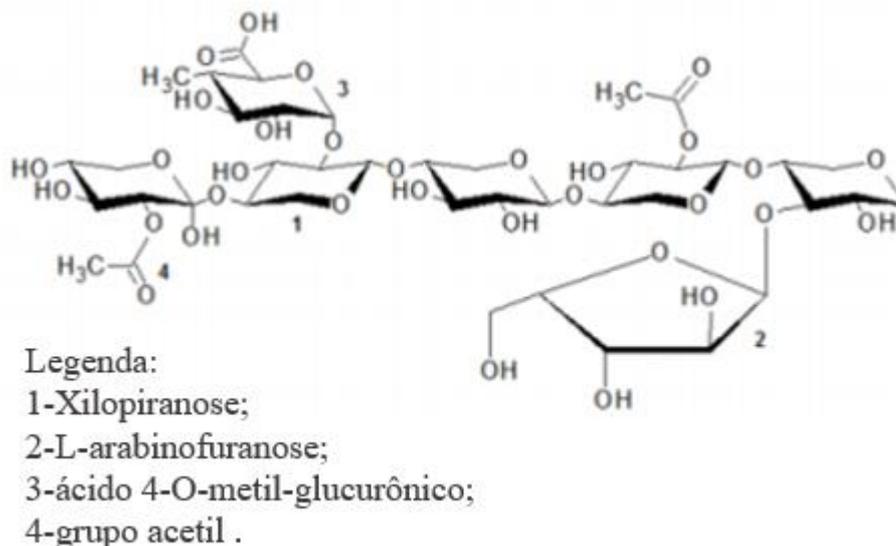
A alta rigidez dessa estrutura se deve à presença dos grupos hidroxilas que formam ligações de hidrogênio intra e intermoleculares. Esse arranjo forma regiões cristalinas e amorfas, onde as regiões cristalinas são extremamente organizadas e conseqüentemente mais resistentes à degradação, já as regiões amorfas são mais susceptíveis à degradação (RABELO, 2010; GARCIA, 2011). A hidrólise da celulose gera os monômeros de glicose, e estes são possíveis de serem fermentados pelo microrganismo *Saccharomyces cerevisiae* (BNDES; CGEE, 2008).

2.2.2 HEMICELULOSE

A hemicelulose é um heteropolissacarídeo amorfo, formado por cadeias lineares com ramificações laterais tais como hexoses (D-glicose, D-galactose, D-manose), pentoses (D-xilose e L-arabinose) e ácidos urônicos (D-glucurônico, D-galacturônico e metilgalacturônico) (CORRÊA, 2016; MARTINS, 2018). As hemiceluloses mais abundantes são as xilanas e glucomanas (GÍRIO et al., 2010), elas têm a função de atribuir rigidez à estrutura por meio das ligações entre a lignina e as fibras de celulose, além de

promover a integração desses três polímeros. A Figura 4 mostra a estrutura de uma hemicelulose.

Figura 4- Estrutura da hemicelulose.



Fonte: Adaptado de Brienzo (2010)

A hidrólise da hemicelulose possui maior facilidade de realização quando comparada com a hidrólise da celulose, porém em relação a fermentação, esta é menos desenvolvida (BNDES; CGEE, 2008).

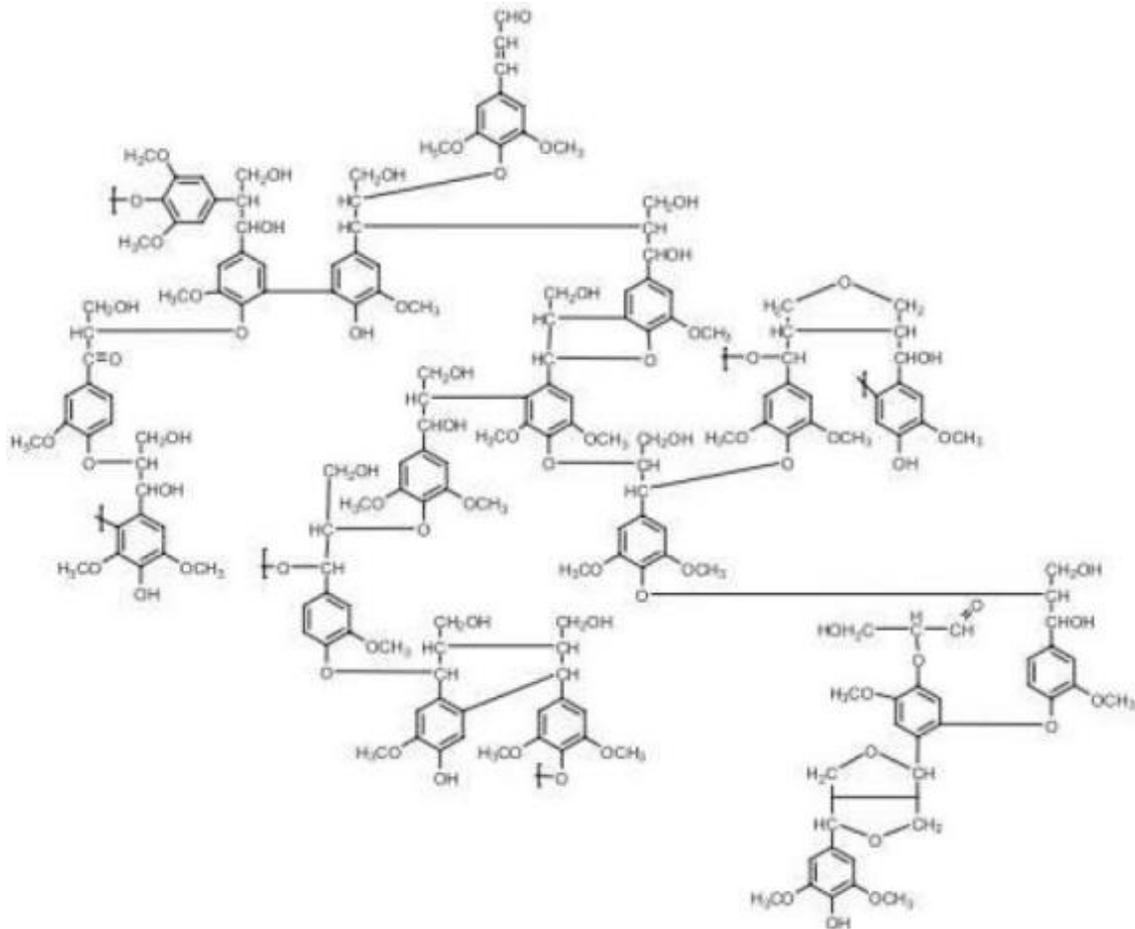
2.2.3 LIGNINA

A lignina é uma macromolécula aromática heterogênea formada por ligações éter biologicamente estáveis (HIGUCHI, 1982). Sua estrutura hidrofóbica é formada por unidades que foram derivadas de três álcoois precursores: trans-p-cumárico, trans conífero e trans sinapílico (CURVELO, 1992). Depois da celulose, a lignina é a macromolécula mais abundante dentre as biomassas de material lignocelulósico e suas principais funções são a sustentação estrutural da planta, impermeabilidade e resistência contra ataques microbianos (SANTOS, 2013).

Por não apresentar açúcar simples em sua composição, a lignina não é de interesse para a realização da fermentação alcoólica (BNDES; CGEE, 2008). Sendo assim, é necessário que o material lignocelulósico passe por um tratamento que permita a separação da lignina para que seja possível realizar a hidrólise da celulose e da

hemicelulose (MARTINS, 2018). A Figura 5 mostra a estrutura da lignina da palha de trigo.

Figura 5- Representação esquemática da estrutura química da lignina de folhosas.

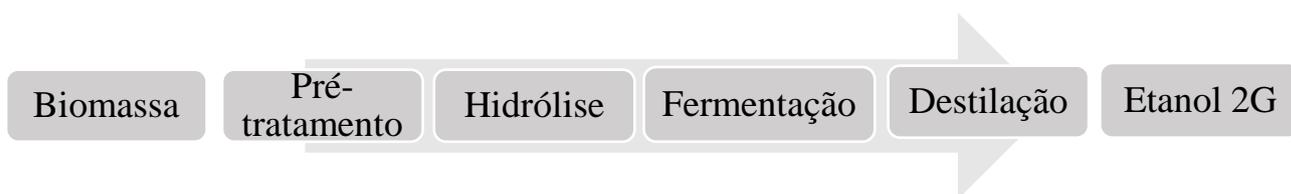


Fonte: Lino (2015)

2.3 PRINCIPAIS ETAPAS DE PRODUÇÃO

O processo de produção do etanol a partir da biomassa lignocelulósica se divide em quatro etapas principais, como está ilustrado na Figura 6.

Figura 6- Etapas da produção de etanol celulósico.



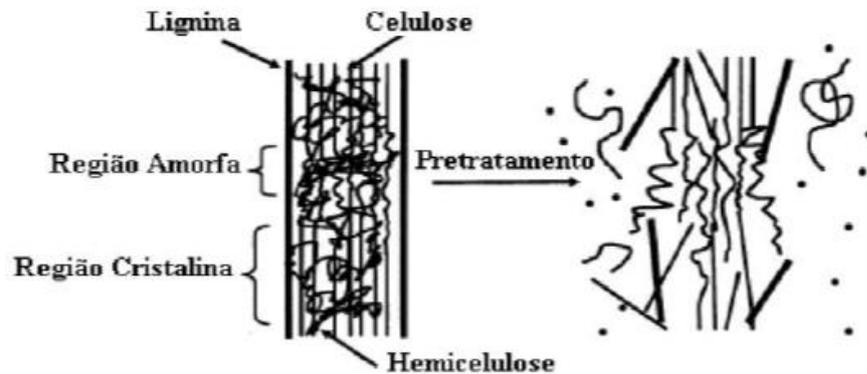
Fonte: Acervo pessoal (2021)

2.3.1 PRÉ-TRATAMENTO

A etapa de pré-tratamento tem como objetivo remover o complexo de lignina-celulose-hemicelulose facilitando o acesso de enzimas hidrolíticas que convertem celulose e hemicelulose em açúcares fermentáveis (ZABED et al., 2016), isso ocorre através de alterações estruturais como a redução do grau de cristalinidade da celulose, o aumento da área superficial da biomassa e a diminuição da formação de compostos inibidores na sequência do processo (RABELO, 2010).

Devido a isso, o pré-tratamento é uma das etapas mais importantes em relação ao custo de produção, pois tem uma influência muito grande nos custos e na eficiência das etapas posteriores do processo (CORRÊA, 2016). A formação de inibidores ocorre por meio da degradação da celulose, hemicelulose ou da lignina, provocando a formação de ácidos fracos, derivados de furano e compostos fenólicos (PALMQVIST; HAHNHÄGERDAL, 2000). A Figura 7 representa a ação do pré-tratamento sobre a biomassa.

Figura 7- Representação esquemática da ação do pré-tratamento sobre a biomassa.



Fonte: Adaptado de Mosier et al. (2005).

Existe uma grande diversidade de pré-tratamentos sugeridos pela literatura atualmente. Os métodos de pré-tratamento propostos e desenvolvidos podem ser classificados como: físicos, químicos, biológicos e físico-químicos.

2.3.1.1 PRÉ-TRATAMENTOS FÍSICOS

Os denominados pré-tratamentos físicos são aqueles que atuam na biomassa com o objetivo de aumentar a área superficial acessível e o tamanho dos poros, além de diminuir o grau de polimerização da celulose e sua cristalinidade (RAMOS, 1993). A técnica a ser utilizada durante a etapa do pré-tratamento físico depende do tamanho final das partículas e da diminuição da cristalinidade do material lignocelulósico (ZABED et al., 2016). São exemplos de pré-tratamentos físicos: o de fragmentação mecânica, pirólise, irradiação e ultrassom.

- Fragmentação mecânica:

Consiste na fragmentação do material com o intuito de reduzir o tamanho da biomassa a ser tratada, por meio de uma combinação de moagem, trituração e lascagem. Os processos de fragmentação podem ser realizados por meio da moagem a seco, moagem úmida, moagem vibratória e moagem por compressão (SARKAR, et al., 2012). O resultado desse processo é a obtenção de materiais geralmente, com 10 a 30 mm após o lascamento e com 0,2 a 2 mm após a moagem (SUN; CHENG, 2002).

- Pirólise:

Segundo Martins (2018) a pirólise consiste em um pré-tratamento onde a biomassa é tratada a uma temperatura acima de 300°C, na qual a celulose presente se decompõe rapidamente gerando produtos gasosos e carvão residual. Posteriormente, esse carvão é tratado por lixiviação com água ou ácido fraco, resultando num composto cujo principal componente é a glicose, matéria-prima de interesse para as próximas etapas da produção do bioetanol (SARKAR, et al., 2012).

- Irradiação:

Processo no qual o tratamento da biomassa é realizado por meio de radiação de alta energia, como raios gamma, ultrassom, feixe de elétrons, UV, micro-ondas, entre outros. Porém, se configura como um processo de alto custo se tornando muitas vezes inviável (ZHENG; PAN; ZHANG, 2009). Um exemplo de aplicação por irradiação é o pré-tratamento por ondas ultrassônicas realizado por Wang et. al. (2008), que observaram que o pré-tratamento por ultrassom promove a destruição das pontes de hidrogênio entre as moléculas de celulose diminuindo seu grau de cristalinidade e elevando a área superficial da mesma.

2.3.1.2 PRÉ-TRATAMENTOS QUÍMICOS

Os pré-tratamentos químicos facilitam o acesso de enzimas à celulose por meio de modificações estruturais na parede celular do vegetal. Os compostos mais utilizados para esse fim são: ácidos, bases e solventes orgânicos. Sendo assim os exemplos mais comuns para o processamento são: o pré-tratamento ácido, básico e organosolv.

- Pré-tratamento ácido:

Este pré-tratamento visa o aumento da acessibilidade da celulose à ação das enzimas através da solubilização da hemicelulose e da lignina por meio da utilização de ácidos. Segundo Balat et al. (2008), este é um pré-tratamento que normalmente, atinge altos rendimentos de açúcares a partir do material lignocelulósico. Porém, estudos de Carli (2011) mostram que existe a possibilidade de ocorrer a formação de inibidores e produtos voláteis que podem degradar o carbono e conseqüentemente reduzir a conversão a etanol.

Uma das vantagens desse pré-tratamento é que sua utilização já foi testada em diversas matérias-primas, desde madeiras duras a gramíneas e resíduos agrícolas (MOSIER, et al., 2005).

- Pré-tratamento básico:

Assim como o pré-tratamento ácido, o alcalino visa à solubilidade da lignina e hemicelulose como forma de aumentar a área superficial. Porém, o pré-tratamento básico apresenta a vantagem de se utilizar baixos valores de pressão e temperatura, apesar de poder ser processado em condições ambientes exige-se um longo tempo de residência de horas ou até dias (BALAT et al., 2008).

As bases mais comumente utilizadas são hidróxido de sódio que possui como característica a remoção da lignina sem causar maiores efeitos em outros componentes (BALAT et al., 2008), e o hidróxido de amônia que apresenta a vantagem de não ser poluente, podendo ser reciclado devido à sua alta volatilidade (CORRÊA, 2016).

- Organosolv:

É um método que utiliza solventes orgânicos para a remoção da lignina e partes da hemicelulose, onde esses solventes devem ser recuperados após sua utilização para evitar que afetem as etapas posteriores. Esse processamento apresenta como vantagem a facilidade de recuperação da lignina pura, sendo considerada coproduto do processo. Algumas aplicações da lignina segundo Komura (2015) são na produção de resina fenólica, uso como dispersantes e em biocompósito, além de aditivos em concreto e cimento, e muitos outros. Dentre as desvantagens, destacam-se o baixo ponto de ebulição dos solventes orgânicos, assim como baixa volatilidade e inflamabilidade dos mesmos (MOOD et al., 2013).

2.3.1.3 PRÉ-TRATAMENTOS BIOLÓGICOS

O pré-tratamento biológico se caracteriza por fazer o uso de microrganismos capazes de degradar a celulose, a hemicelulose e a lignina. Segundo Chiaramonti et al. (2012) as vantagens desse pré-tratamento são a menor necessidade de energia, a ausência de agentes químicos e a possibilidade de ser feito em condições ambientes mais brandas.

Em contrapartida, apresenta uma taxa de processamento muito baixa e um tempo de tratamento muito maior quando comparado a outras tecnologias (ZABED et al., 2016).

2.3.1.4 PRÉ-TRATAMENTOS FÍSICO-QUÍMICOS

Como o próprio nome sugere, esse pré-tratamento faz o uso de recursos físicos e químicos para realizar a transformação do material lignocelulósico. Alguns exemplos mais comuns desse método são: o pré-tratamento com água quente (LHW- *Liquid Hot Water*), explosão a vapor e explosão da fibra com amônia (AFEX- *Ammonia fiber explosion*) e explosão com CO_2 .

- Pré-tratamento com água quente (LHW):

Também chamado de pré-tratamento hidrotérmico, este método realiza as modificações estruturais do material lignocelulósico por meio da aplicação de uma pressão para manter a água no estado líquido a altas temperaturas, entre 160 a 240 °C, na qual ocorre a solubilização da hemicelulose (CORRÊA, 2016). Ao final do tratamento, é formada uma corrente sólida rica em celulose e lignina e outra corrente líquida, rica em açúcares da hemicelulose (SILVA et al., 2013).

As vantagens desse método são muitas: por não fazer uso de reagentes químicos se torna muito interessante do ponto de vista ambiental e econômico, dispensando o uso de equipamentos resistentes à corrosão e a neutralização da biomassa resultante do pré-tratamento (SILVA et al., 2013). Além disso, por hidrolisar grande parte da fração hemicelulósica, a possibilidade de degradação dos açúcares obtidos e formação de inibidores é muito baixa.

Em um estudo acerca do pré-tratamento hidrotérmico na liberação de glicose, Santos (2013) avaliou a influência do tempo, da temperatura e da relação palha/água. O método se mostrou bastante eficiente na remoção da hemicelulose, além de fornecer substratos com alta susceptibilidade à hidrólise enzimática. Os maiores rendimentos, próximos de 100%, na hidrólise da celulose foram apresentados pelo processo realizado com temperaturas entre 190 e 210°C, se mostrando bastante eficiente e com grande potencial para a produção do bioetanol (CORRÊA, 2016).

- Explosão a vapor:

Segundo Corrêa (2016) a explosão a vapor é um método em que a biomassa é triturada e rapidamente aquecida por vapor de alta pressão, onde a temperatura varia de 190 a 205°C e a pressão de 13 a 17 Kgf. Essa condição é mantida por um período de 15 a 20 minutos (ROCHA et al., 2012; CTC, 2015). Logo em seguida, acontece uma descompressão, reduzindo o valor da pressão até atingir a pressão atmosférica (SUN; CHENG, 2002). Como consequência da despressurização, a água que estava em equilíbrio com o vapor a alta pressão evapora rapidamente, provocando uma explosão no interior das fibras do material, causando uma ruptura nas ligações da lignina, da hemicelulose e da celulose (SAAD, 2010).

Segundo Moro (2015) após o processo de explosão a vapor é formada uma fração sólida rica em celulose e lignina uma corrente líquida rica em açúcares da hemicelulose. Resultados disponíveis da literatura demonstram que este método solubiliza em torno de 70 a 90% da hemicelulose (PITARELO, 2003).

A vantagem da aplicação deste método é a não necessidade de gastar com tratamento de efluentes e também por haver um baixo consumo de energia (BALAT et al., 2008). Porém há a possibilidade de formação de inibidores da fermentação (ALVIRA et al., 2010; MORO, 2015).

- Explosão da fibra com amônia (AFEX):

De modo semelhante ao que ocorre na explosão a vapor, no método de explosão da fibra com amônia, o material entra em contato com amônia a alta pressão e temperatura moderada (na faixa de 1,72 a 2,06 Mpa de pressão e temperatura entre 60 e 120°C) (MARTINS, 2018). Essa condição é mantida por 30 minutos até que ocorra a descompressão concomitantemente com a explosão que irá facilitar o acesso à celulose e a hemicelulose (MOOD et al., 2013).

Apesar deste método ter como desvantagem o alto custo da amônia, a mesma pode ser recuperada do processo facilmente (MARTINS, 2018).

- Explosão com CO₂:

O pré-tratamento por explosão com CO₂ utiliza condições termodinâmicas supercríticas durante o processo. Um fluido supercrítico é aquele que se encontra acima da temperatura crítica e da pressão crítica onde o líquido e

o gás podem coexistir (CHEMMÉS et. al., 2013). O CO₂, como fluido supercrítico, não é inflamável, não é tóxico, porém é muito volátil. Por esse motivo, é capaz de penetrar na estrutura do material lignocelulósico diminuindo sua cristalinidade. Ele perturba as ligações entre a celulose e a hemicelulose aumentando a área acessível para o ataque enzimático. A fácil recuperação do solvente utilizado permite o reaproveitamento do CO₂, após o processo (BRODEUR et. al., 2011).

2.3.2 HIDRÓLISE

A etapa posterior ao pré-tratamento é a hidrólise cuja função é a despolimerização da celulose em moléculas de glicose, que serão usadas na fermentação e convertidas a etanol, juntamente com os oligômeros solubilizados na etapa do pré-tratamento (MARTINS, 2018). A hidrólise pode ser realizada por duas rotas: a química e a enzimática. A rota química se trata da hidrólise ácida que pode utilizar ácidos concentrados ou diluídos como catalisador, já na rota enzimática a hidrólise é feita com um complexo de enzimas (CORRÊA, 2016).

2.3.2.1 HIDRÓLISE ÁCIDA

A hidrólise ácida tem como objetivo expor a biomassa lignocelulósica a um produto químico, por um determinado período de tempo e a condições específicas de temperatura e pressão com o intuito de se obter monômeros de açúcar a partir dos polímeros de celulose e hemicelulose (MARTINS, 2018).

Um dos problemas envolvendo esse método é a necessidade de recuperar ou neutralizar os ácidos antes da etapa de fermentação, além de produzir uma grande quantidade de resíduos (ZABED et al., 2016). Existem também as desvantagens em relação às condições de manuseio severas como pH e temperatura, que acabam elevando o custo de manutenção devido a problemas de corrosão (CORRÊA, 2016).

A hidrólise ácida ocorre em dois estágios, o primeiro normalmente ocorre sob condições moderadas de temperatura a fim de liberar os açúcares da hemicelulose, que se hidrolisa mais rapidamente. No segundo estágio ocorre a conversão da celulose em glicose onde são aplicadas temperaturas mais altas (CORRÊA, 2016; MARTINS, 2018).

- Hidrólise com ácido diluído

Neste método é usado um ácido diluído como por exemplo, uma solução de H₂SO₄ a 1%, nos dois estágios da hidrólise. Segundo Corrêa (2016) o processo com ácido diluído faz uso de altas temperaturas e pressões, com tempo de reação que pode durar segundos ou alguns minutos, o que facilita o uso de processos contínuos.

- Hidrólise com ácido concentrado

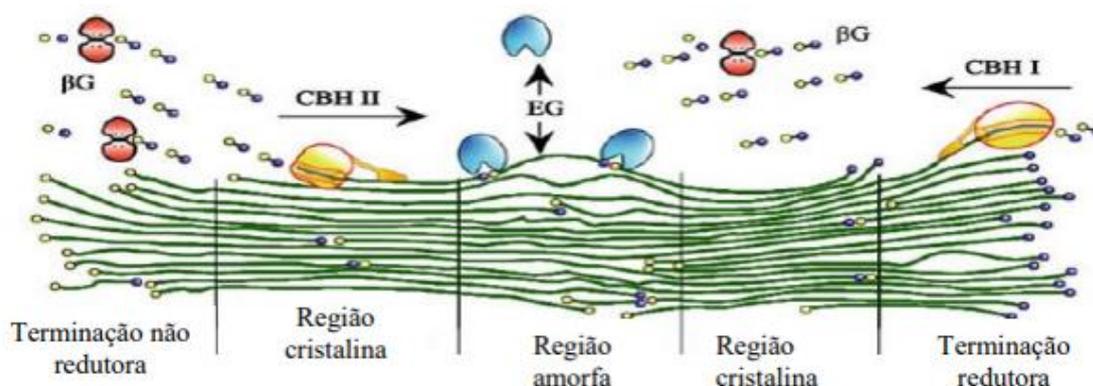
Na hidrólise com ácido concentrado é aceitável que o primeiro estágio seja realizado por ácido diluído ou concentrado, por se tratar da hidrólise da hemicelulose. Já no segundo estágio é utilizado um ácido concentrado, como por exemplo o ácido sulfúrico (MARTINS, 2018). Nesse processo, são utilizadas condições mais brandas e tempos de reação mais longos (SILVA, 2010).

2.3.2.2 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

A hidrólise enzimática é um processo que utiliza enzimas específicas para realizar a quebra do polímero de celulose e hemicelulose. É realizado em condições mais brandas quando comparada à hidrólise ácida, cujo pH gira em torno de 4,0 a 5,0 e temperaturas entre 40 e 50°C (CORRÊA, 2016). Sendo assim, uma grande vantagem desse método é que ele não apresenta problemas de corrosão, e devido à grande especificidade da enzima para o substrato esse processo se torna mais efetivo e promissor, apresentando altos rendimentos.

Segundo Pitarello (2013), a hidrólise de materiais lignocelulósicos por meio da ação de enzimas ocorre em três etapas: (1) adsorção da enzima sobre a superfície do substrato, (2) hidrólise da ligação glicosídica e (3) dessorção da superfície e retorno para o meio. A Figura 8 representa como a hidrólise enzimática da celulose se processa.

Figura 8— Representação esquemática da hidrólise enzimática da celulose.



CBHI e CBHII – celobioidrolases; EG – endoglucanases; βG – β-glicosidases.

Fonte: Adaptado de Wang et al. (2012)

As enzimas que agem na conversão da celulose em glicose são chamadas de celulases. E para realizar essa conversão são necessárias três enzimas em ação sinérgica, são elas: a endo-1,4-β-glucanases que atacam as cadeias de celulose para produzir polissacarídeos de menor comprimento, a exo-1,4-β-glucanases que atacam os terminais não redutores dessas cadeias mais curtas e removem a celobiose e a β-glicosidases que hidrolisam a celobiose e outros oligômeros à glicose (HORN et al., 2012).

Para que ocorra a degradação das hemiceluloses são necessários sistemas de enzimas mais específicos, com proporções determinadas para que ocorra a completa hidrólise da hemicelulose. Quanto à lignina, devido a sua complexidade estrutural, é necessário que enzimas oxidantes atuem em conjunto com enzimas hidrolíticas, para quebrar a barreira física em torno dos polissacarídeos do complexo lignocelulósico (MARTINS, 2018).

O rendimento da hidrólise enzimática, depende de muitos fatores, alguns deles listados por Corrêa (2016) são: o tipo e a concentração de substrato, pré-tratamento, inibição das enzimas pelos produtos finais da biodegradação, termoestabilidade das enzimas, tempo de reação, pH e agitação do meio. Embora, de maneira geral, a hidrólise enzimática apresenta bons índices de rentabilidade, ela se caracteriza como um processo muito lento devido a parâmetros estruturais do substrato, diante dessa dificuldade existem

estudos e estratégias para a busca de enzimas mais eficientes, que além de reduzir o tempo de hidrólise deve reduzir consideravelmente a carga de enzimas utilizadas.

2.3.3 FERMENTAÇÃO

A fermentação é a etapa que ocorre após a hidrólise e segundo Corrêa (2016) se trata de um processo biológico, onde os açúcares são transformados pelos microrganismos em compostos de interesse comercial, como o etanol. A determinação de um microrganismo para realizar a fermentação deve levar em conta diversos parâmetros como faixa de temperatura, pH, taxa de crescimento, produtividade, especificidade, rendimento, tolerância a inibidores entre outros (MARTINS, 2018).

Segundo Lynd (1996), existem diversos microrganismos capazes de realizar a fermentação dos carboidratos em etanol, como bactérias, leveduras ou fungos. Atualmente, o microrganismo mais apropriado para a fermentação da glicose é a levedura *Sacharomyces cerevisiae*, que devido ao seu uso intensivo na fermentação industrial passou por um processo de seleção natural, apresentando os melhores desempenhos em conversão de glicose à etanol, além da produtividade e tolerância alcoólica (KIRALLY et al., 2003).

De acordo com Rabelo (2010), poucos microrganismos são capazes de fermentar as pentoses à etanol, cuja transformação é de fundamental importância para atingir uma tecnologia eficiente de hidrólise. Três espécies de leveduras foram identificadas com grande potencial de fermentação alcoólica das pentoses, são elas: *Pichia stipitis*, *Candida shehatae* e *Pachysolen tannophilus*. Porém, o desempenho das mesmas é muito limitado uma vez que o metabolismo das pentoses exige a presença de um baixo nível de oxigênio e que deve ser rigorosamente controlado (DU PREEZ et al., 1989).

Diante deste cenário, uma das dificuldades encontradas na produção do etanol 2G segundo Olsson e Hahn Hagerdal (1996) é a conversão eficiente do hidrolisado lignocelulósico. Pois o meio reacional apresenta, além dos açúcares fermentescíveis, outros compostos com efeitos inibidores sobre os microrganismos utilizados na etapa de fermentação.

2.3.4 DESTILAÇÃO

A destilação é um processo de separação muito utilizado nas indústrias químicas. É esse o processo usado para realizar a separação do etanol e da água, principais constituintes do vinho que é proveniente da etapa de fermentação. Ao final da etapa de destilação obtém-se o etanol hidratado que é comercializado como combustível, cujo teor alcoólico deve estar entre 92,5 e 93,8% em massa (JARDIM, 2014).

2.4 PROCESSOS A PARTIR DE DIFERENTES MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

Um dos maiores desafios na viabilidade da produção do etanol 2G é a etapa de hidrólise, e segundo Corrêa (2016) existem três fatores primordiais para a realização desta etapa: a concentração de sólidos, o custo do complexo enzimático e o consumo de energia necessário para proporcionar as condições adequadas de mistura. Diante disso, é imprescindível que o material lignocelulósico passe por uma caracterização para verificar sua viabilidade econômica na produção de etanol.

Neste tópico serão abordados alguns estudos já realizados com os principais materiais lignocelulósicos utilizados para a produção do bioetanol, analisando suas composições e viabilidade no processo. Os materiais estudados são: a palha e o bagaço de cana-de-açúcar, resíduos de café, palha e sabugo de milho e palha e casca de arroz.

2.4.1 PALHA E BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

Como já citado anteriormente, o Brasil é um dos maiores produtores de etanol proveniente da cana-de-açúcar, e esse processo gera muitos resíduos, os quais a palha e o bagaço da cana-de-açúcar são os mais conhecidos e com grande potencial energético. Sendo assim, existem diversos estudos sobre a utilização desse material lignocelulósico para a produção do etanol de segunda geração.

Corrêa (2016) avaliou a hidrólise enzimática do bagaço e palha de cana-de-açúcar em termos de eficiência energética do processo, isto é, massa de glicose obtida pela energia total consumida. O material utilizado foi a palha e o bagaço de cana-de-açúcar *in natura*, onde o bagaço de cana-de-açúcar foi submetido a dois tipos de pré-tratamento: explosão à vapor e hidrotérmico; e a palha de cana-de-açúcar submetida ao pré-tratamento hidrotérmico

Os materiais *in natura* foram submetidos ao pré-tratamento hidrotérmico que consistiu em misturá-los com água na proporção de 1:10 (m/m) em um reator de aço inoxidável. Previamente, esses materiais foram moídos em um micro moinho de facas com granulometria de 2 mm. As condições do processo foram temperatura de 195 °C por 10 minutos sob agitação constante de 200 rpm e pressão máxima de 12 Kgf.cm⁻². Ao final do processo, a fração sólida foi filtrada e lavada para a remoção da hemicelulose, uma amostra foi coletada e usada para realizar a caracterização química da biomassa dos materiais conforme a metodologia apresentada e validada por Gouveia et al. (2009) sendo que os carboidratos, ácidos orgânicos, furfural e hidroximetilfurfural foram analisados por cromatografia líquida, lignina insolúvel e cinzas por gravimetria e lignina solúvel por espectrofotometria. A outra amostra seguiu para o processo de hidrólise enzimática.

A Tabela 1 mostra um comparativo da caracterização química do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado hidrotérmicamente em um estudo realizado por Corrêa (2016), Zhang et al. (2011) e Silva (2015).

Tabela 1- Caracterização química do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado hidrotérmicamente.

Componentes	Corrêa (2016) (%)	Zhang et al. (2011) (%)	Silva (2015) (%)
Celulose	61,20	68,00	55,70
Hemicelulose	5,90	--	6,30
Lignina/Cinzas	31,00	28,10	31,70
Total	98,10	96,10	93,70

A Tabela 2 mostra um comparativo da caracterização química da palha de cana-de-açúcar após o pré-tratamento hidrotérmico em um estudo realizado por Corrêa (2016) e Oliveira et al. (2014) e Oliveira (2012).

Tabela 2- Caracterização química da palha de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotêrmicamente.

Componentes	Corrêa (2016) (%)	Oliveira et al. (2014) (%)	Oliveira (2012) (%)
Celulose	57,05	62,20	61,40
Hemicelulose	5,80	3,50	5,00
Lignina/Cinzas	35,42	34,80	34,40
Total	98,27	100,50	100,80

Além do pré-tratamento hidrotérmico o autor analisou o pré-tratamento por explosão a vapor do bagaço de cana-de-açúcar, que foi doado pelo Centro de Tecnologia Canavieira. As condições operacionais utilizadas neste processo foram: pressão de 17 kgf/cm² e temperatura de 205°C durante 20 minutos. A caracterização química do bagaço explodido realizada por Corrêa (2016) se encontra na Tabela 3, juntamente com a caracterização química realizada por outros autores.

Tabela 3- Comparação entre a caracterização química do bagaço pré-tratado por explosão a vapor.

Componentes	Corrêa (2016) (%)	Pereira et al. (2011) (%)	Wanderley et al. (2013) (%)
Celulose	43,16	43,60	49,66
Hemicelulose	12,44	8,75	7,94
Lignina/Cinzas	34,54	33,75	34,59
Total	90,14	86,10	92,19

Posteriormente à etapa de caracterização química, foi realizada a hidrólise enzimática da palha e bagaço pré-tratados hidrotêrmicamente e do bagaço explodido, para essa etapa Corrêa (2016) utilizou o complexo enzimático Cellic CTec 2. Os experimentos foram realizados em um reator do tipo tanque agitado, em regime de batelada e volume reacional de 3L. As condições de processo foram: concentração de sólidos de 10% (m/v), carga enzimática de 10 FPU.g⁻¹ de biomassa, solução tampão citrato (50mM, pH 4,8) e temperatura controlada de 50 °C por um período de 96 horas com uma frequência de agitação de 470 rpm.

Para a quantificação da concentração da glicose, Corrêa (2016) coletou amostras de 1 mL em tempos pré-determinados: 30 minutos, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 60, 72 e 96 horas. As amostras coletadas foram centrifugadas durante 7 minutos com rotação de 10.000 rpm a 4°C. Para a inativação das enzimas e posterior quantificação dos açúcares, foram coletados 0,5 mL do sobrenadante e misturados com 0,1 mL de uma solução de NaOH (0,2N).

Após 96 horas de hidrólise o autor encontrou as seguintes concentrações de glicose: 35,96 kg.m⁻³ para o bagaço explodido a vapor, 45,40 kg.m⁻³ para o bagaço hidrotérmico e 50,34 kg.m⁻³ para a palha pré-tratada hidrotermicamente. Diante desses resultados constatou-se que a hidrólise enzimática com palha de cana-de-açúcar obteve uma maior concentração de glicose, sendo 40 e 11%, maior que a concentração de glicose nos experimentos com bagaço explodido e bagaço hidrotérmico, respectivamente. Por outro lado, obteve-se também maior consumo de energia comparado com estudos das demais biomassas, sendo 97% maior que a hidrólise com bagaço explodido e 7% superior que o experimento com bagaço hidrotérmico. Segundo o autor, este maior consumo de energia constatado neste estudo com as biomassas submetidas ao processo hidrotérmico pode estar relacionado com uma maior granulometria das fibras que estes materiais lignocelulósicos apresentaram frente ao bagaço pré-tratado por explosão a vapor

Estudos de Dasari e Berson (2017) mostraram que o tamanho das partículas iniciais tem um impacto importante na conversão da celulose e também na viscosidade da suspensão. Sendo assim, a redução do tamanho das partículas seria uma forma de diminuir a viscosidade da suspensão e conseqüentemente reduzir o consumo de energia e custos de funcionamento. Mais uma vez, isso justifica a importância da escolha correta do melhor pré-tratamento na produção do etanol celulósico.

Por fim, ao analisar a eficiência energética dos processos, a qual leva em consideração a concentração de glicose pelo consumo de energia gasto no processo, Corrêa (2016) constatou que a hidrólise enzimática com bagaço explodido foi 46% e 41% maior que o processo com bagaço e palha hidrotérmico, respectivamente.

Silva (2015) realizou um estudo onde avaliou e comparou diversas condições nas etapas envolvendo o processamento do bagaço de cana. O primeiro deles é a avaliação da melhor condição de pré-tratamento hidrotérmico, para isso a autora fez uso de um reator com volume de 5,0 L (Parr Instrument Company, modelo 4580 HP/HT) onde os pré-

tratamentos hidrotérmicos foram realizados nas condições de 170°C por 15 minutos, 195°C por 10 minutos e 195°C por 60 minutos na proporção de 1:10 (m/v) sob agitação de 200 rpm. Após os ensaios de pré-tratamento hidrotérmico a autora verificou que, dentre as condições avaliadas, a condição de temperatura a 195°C por 10 minutos mostrou ser a melhor condição na obtenção de açúcares fermentescíveis para a produção de etanol 2G, com um teor de celulose de 55,7% como mostrado na Tabela 1. Além disso, essa condição apresentou baixa concentração de inibidores.

Outra comparação realizada por Silva (2015) foi em relação às etapas posteriores ao pré-tratamento, onde se comparou diferentes configurações dos ensaios de hidrólise e fermentação. As configurações utilizadas foram: Ensaio de pré-sacarificação e fermentação simultânea (PSSF), sacarificação e fermentação simultâneas (SSF) e a sacarificação e fermentação separadas (SHF). Além disso, a autora testou e comparou diferentes cargas de sólidos em seus ensaios.

O primeiro ensaio foi realizado na configuração PSSF em reator encamisado com agitação de 300 rpm, 10% de carga de bagaço seco e 20 FPU/g bagaço tratado. A pré-sacarificação do bagaço pré-tratado hidrotérmicamente (195°C/10 min) foi realizada por 12 h a 50 °C e, em seguida, foi hidrolisado e fermentado por 24 h a 35 °C utilizando a levedura *S. cerevisiae* SA-1. O resultado dessa configuração nas condições citadas apresentou 57,5% de rendimento em etanol.

Na configuração SSF os ensaios foram conduzidos em *shaker* com agitação de 250 rpm a 37 °C por 72 h. Utilizando o bagaço pré-tratado hidrotérmicamente (195°C/10 minutos), uma carga enzimática de 20 FPU.g⁻¹ bagaço tratado e a levedura *S. cerevisiae* comercial. Para avaliar o efeito da carga de sólidos, foram realizados ensaios nas condições de 10% e 15% de bagaço. Os resultados obtidos pela autora mostraram que o ensaio que utilizou 10% de sólidos obteve 55,9% de conversão enzimática e rendimento em etanol de 53,8% em 48 h de SSF. E o ensaio que utilizou 15% de sólidos a máxima concentração de etanol foi de 28,4 g.L⁻¹ e rendimento em etanol de 60,0% em 72 h. Sendo assim, Silva (2015) verificou que o aumento da carga de sólidos favoreceu uma maior concentração de etanol.

Por fim, o experimento de SHF foi realizado com o bagaço pré-tratado hidrotérmicamente e seguidos de deslignificação. A hidrólise enzimática foi realizada em *shaker* com rotação de 250 rpm a 50 °C por 72 h utilizando carga enzimática de 20 FPU.

g^{-1} bagaço tratado. A fermentação foi realizada a 32 °C por 3,5 h utilizando a levedura *S. cerevisiae* comercial. As cargas de sólidos utilizadas foram de 10% e 15% de bagaço. Com um rendimento de 84,0% em etanol e concentração igual a 39,9 g.L^{-1} a configuração que apresentou o melhor resultado foi a SHF que utilizou 15% de bagaço. Devido ao fato de se operar nas temperaturas ótimas da enzima e da levedura independentemente.

A autora constatou que o bagaço da cana-de-açúcar apresenta grande quantidade de celulose que pode ser convertida a etanol, todavia a recalcitrância da biomassa lignocelulósica impossibilita a acessibilidade das celulases a celulose o que torna o pré-tratamento da biomassa fundamental para aumentar a digestibilidade enzimática.

Em seu trabalho, Oliveira (2012) propôs avaliar o efeito de tecnologias de pré-tratamento dos subprodutos sucroalcooleiros (bagaço e palha de cana), seguida ou não de uma etapa de deslignificação. Os materiais lignocelulósicos foram pré-tratados por explosão a vapor (bagaço), hidrotérmico (palha) e por ultrassom (bagaço e palha).

A etapa de pré-tratamento a vapor foi realizada na Usina de Açúcar, Álcool e Biodiesel Vale do Rosário em um reator industrial de 5 m^3 sob condição de 200°C por 7 minutos. Para as condições de pré-tratamento empregadas, o rendimento foi de 68%. Analisando a composição química do bagaço *in natura* e do bagaço pré-tratado, o autor verificou que o pré-tratamento por explosão a vapor tem a característica de remover preferencialmente as hemiceluloses em relação à celulose.

O bagaço pré-tratado por explosão foi submetido a deslignificação, por meio da extração alcalina convencional: NaOH 1% (m/v) em meio aquoso, onde o rendimento de extração foi de 59,1% proporcionando um decréscimo de 90,6% da lignina presente no bagaço pré-tratado. A perda calculada de celulose foi de 2,4% (valor considerado não significativo) sendo possível afirmar que não houve a degradação deste componente. Sendo assim, a condição empregada na extração alcalina é bem adequada ao bagaço de cana pré-tratado por explosão a vapor.

A etapa de pré-tratamento hidrotérmico foi realizada em reator de 20 L sob as condições de 180, 185, 190, 195 °C por 10 minutos e 190°C por 15 minutos, com relação de sólido líquido de 1:10. A etapa de deslignificação com soda cáustica não teve um efeito positivo sobre a conversão enzimática da celulose, pois a mesma sofreu uma degradação de 36%. Sendo assim, o autor verificou que a maior conversão global de celulose foi para a palha pré-tratada na condição de 195°C/10 min, cerca de 50%.

A etapa de pré-tratamento por ultrassom foi realizada em banho de ultrassom a 55°C por 40 min e radiação de 40 kHz/120W. As análises de rendimento desta etapa mostraram que somente uma pequena fração do material *in natura* foi solubilizada, 5% para o bagaço e 7% para a palha, valores que quando comparados a outros tipos de pré-tratamento são considerados baixos. Diante disso, o autor concluiu que este método provocou o aumento da recalcitrância dos materiais lignocelulósicos tanto para o agente deslignificante (soda cáustica) quanto para as celulases, sendo, portanto, um método não indicado, dentro da faixa das condições avaliadas.

Sendo assim, Oliveira (2012) verificou que das três técnicas de pré-tratamento avaliadas, somente os métodos baseados em vapor foram eficientes na desagregação dos constituintes dos subprodutos sucroalcooleiros e que, de forma geral o bagaço de cana apresenta um potencial ligeiramente maior para a conversão em açúcares fermentáveis em comparação com a palha de cana. Este possui menor resistência à perda de celulose durante os processos de conversão em bioetanol.

Com o objetivo de avaliar o pré-tratamento e a hidrólise enzimática do bagaço de cana, Benazzi (2012) utilizou CO₂ supercrítico com a tecnologia de ultrassom em seus estudos. Para isso, o autor construiu uma unidade experimental do extrator a alta pressão utilizado para obtenção dos dados, composto por: cilindro de CO₂, banhos termostáticos, extrator, coletor de amostra (Becker 250ml), controlador de alta pressão, transdutor de pressão analógico e aquecedor elétrico. As condições de pré-tratamento com CO₂ supercrítico foram: pressão 250 bar, temperatura 80°C, umidade 65%, tempo de reação de 2h e taxa de despressurização 200 kg/m³min.

Visando aumentar a eficiência de hidrólise do bagaço de cana, foi empregado também o tratamento combinado de ultrassom com CO₂ supercrítico. O tratamento com ultrassom consistiu de um banho ultrassônico (USC - 1800A, UNIQUE, com frequência ultrassônica de 40 KHz e potência total de 155 W), além da unidade de pré-tratamento com CO₂ supercrítica descrita acima. As amostras foram divididas em duas frações, onde uma fração era usada para a realização de hidrólise imediatamente após o tratamento com ultrassom e a outra levada ao pré-tratamento com CO₂ supercrítico antes do processo de hidrólise.

Para as reações de hidrólise foram empregados 1 g de material sólido seco à 50°C, usando tampão acetato de sódio 0.1M pH 4.5 durante 8 horas sob agitação de 100 rpm e

enzima celulase. Todos os resultados foram expressos em termos de g de açúcares redutores totais (ART) por grama de bagaço seco pré-tratado (g ART/g ds).

Na etapa de pré-tratamento usando CO₂ supercrítico, o autor verificou um aumento na concentração de açúcares redutores totais de 0,29 a 0,40 g por grama de bagaço seco. E em todas as condições experimentais avaliadas o autor observou um aumento aproximado de 11% na liberação de ART para o bagaço pré-tratado comparado com o não tratado. Os melhores resultados foram obtidos após 90 minutos de pré-tratamento, nas condições de temperatura de 75°C e pressão de 230 bar.

Por fim, o autor encontrou um aumento de 10% na liberação de ART empregando o tratamento combinado (ultrassom + CO₂ supercrítico) em comparação com o tratamento com CO₂ supercrítico. Além disso, o tratamento combinando ultrassom seguido do tratamento com CO₂ supercrítico resultou no aumento de 20% na liberação de ART comparando com o bagaço de cana não tratado.

Pitarelo (2013) realizou a explosão a vapor do bagaço de cana-de-açúcar na ausência (autohidrólise) e na presença de ácido fosfórico como catalisador, com o objetivo de avaliar os efeitos da temperatura, da concentração de ácido fosfórico e do tempo de permanência no reator sobre a estrutura e a reatividade do material lignocelulósico. Na etapa de pré-tratamento por explosão a vapor foram utilizadas diferentes condições de temperatura (180, 195 e 210°C) e tempo de reação (5; 7,5 e 10 min), com e sem adição do catalisador ácido fosfórico. Posteriormente, o material foi dividido em duas partes, onde uma delas foi submetida à lavagem antes das próximas etapas e a outra não. Os resultados revelaram que, para os experimentos de autohidrólise, o aumento da drasticidade do pré-tratamento (210°C por 10 min) aumentou a solubilização das hemiceluloses e a acessibilidade da celulose à hidrólise enzimática, ao passo que, para os experimentos de catálise fosfórica, resultados equivalentes foram obtidos em condições mais suaves de pré-tratamento (180°C por 5 min).

Os ensaios enzimáticos foram realizados em uma concentração de 8% (m/v) em tampão acetato de sódio 50 mmol. L⁻¹, (pH 4,8) a 45°C e 150 rpm por 96 h. A hidrólise foi realizada com a enzima comercial Cellic CTec 2 (Novozymes) na concentração de 30 mg de enzima/g de substrato seco. Considerando a sacarificação total obtida para as diferentes condições de pré-tratamento, a autora escolheu os experimentos nas condições: 5 min, 180°C, 19 mg H₃PO₄/ g de bagaço seco e autohidrólise de 7,5 min e 195 °C e o ponto central do planejamento 195°C por 7,5 min com 9,5 mg H₃PO₄/ g de bagaço seco,

que proporcionaram respectivamente, rendimentos totais de 77,93, 80,58% e 68,27% de anidroglicose, para serem testados na etapa de fermentação.

A produção do etanol celulósico foi realizada por meio de dois processos, um onde a sacarificação e fermentação são processadas em separado (SHF) e o outro onde a sacarificação e fermentação são processadas simultaneamente (SSF), ambos os processos foram realizados a partir dos substratos produzidos por autohidrólise e por catálise fosfórica. No experimento SHF os ensaios de hidrólise enzimática foram realizados a uma concentração de 12% de substrato (m/v) e 62,5 mg de enzima/de substrato seco, nas mesmas condições descritas anteriormente. Os ensaios de fermentação foram realizados em tampão acetato de sódio 50 mmol. L⁻¹ (pH 4,8), suplementado com extrato de levedura (1,0 g.L⁻¹, (NH₄)₂PO₄ 0,5 g.L⁻¹, (MgSO₄)₇H₂O 0,025 g.L⁻¹ e 1,0 g.L⁻¹ de células), em incubadora de agitação orbital a 35°C e 150 rpm por 24 h.

No experimento SSF foram utilizados os mesmos substratos que nos experimentos de SHF descritos anteriormente, com volume final de reação de 20 mL contendo bagaço de cana pré-tratado (12% m/v), enzima (62,5 mg de Cellic CTec 2 por grama de substrato seco), extrato de levedura (1,0 g.L⁻¹), (NH₄)₂PO₄ (0,5 g.L⁻¹) e (MgSO₄)₇H₂O (0,025 g.L⁻¹) em tampão acetato de sódio 50 mmol.L⁻¹ (pH 4,8), mais o inóculo contendo levedura na concentração de 1,0 g.L⁻¹. Os ensaios foram realizados em incubadora de agitação orbital a 35°C e 150 rpm por 96 h.

Os maiores rendimentos de fermentação foram obtidos para o substrato autohidrolisado nas condições de 195°C e 7,5 min previamente lavado com água, que produziu 25,02 g.L⁻¹ de etanol em processo SHF e 21,68 g.L⁻¹ de etanol em processo SSF. Por outro lado, os ensaios de SHF e SSF obtidos para os substratos não lavados com água foram muito inferiores aos experimentos realizados com os substratos lavados. Por meio desses resultados, a autora constatou que altos rendimentos de fermentação são obtidos quando o material pré-tratado é submetido a uma etapa de lavagem para a remoção dos compostos solúveis gerados durante o pré-tratamento.

Pereira et al. (2014) em um estudo financiado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, avaliou o uso integral da biomassa de cana-de-açúcar para a produção de etanol 2G. Os autores utilizaram três resíduos (bagaço, palha e ponteiros) do processamento de uma variedade comercial (SP791011) da cana-de-açúcar. Para a

hidrólise enzimática foi usado o extrato enzimático comercial Cellic CTec2 e a cepa industrial *Saccharomyces cerevisiae* usada no processo de fermentação alcoólica.

Para estudarem a viabilidade de aplicação, os autores realizaram uma comparação entre os materiais de forma separada, que foram pré-tratados com uma solução de ácido sulfúrico 1,5% (*m/m*) a 121 °C por 30 minutos empregando uma carga de sólidos de 10% e entre os materiais de forma combinada e para isso preparou-se uma mistura bagaço-palha-ponteiras (1:1:1) em base seca, onde o pré-tratamento foi realizado sob as mesmas condições descritas anteriormente. Tanto os resíduos pré-tratados de forma separada quanto os resíduos pré-tratados de forma combinada foram hidrolisados enzimaticamente em tampão citrato pH 5,0 empregando uma relação sólido/líquido de 1:10 e uma carga enzimática de 30 FPU/g de celulose residual. Os ensaios foram realizados a 50 °C e agitação de 200 rpm por 24 horas. A etapa de fermentação ocorreu a 31°C e agitação de 100 rpm por 8 horas, depois dos hidrolisados serem centrifugados, filtrados e inoculados com 25g.L⁻¹ de levedura.

Pereira et al. (2014) verificaram que as ponteiras foram as mais susceptíveis à degradação enzimática alcançando a conversão de celulose de 65% enquanto o mais alto rendimento de etanol foi exibido pelos hidrolisados provenientes da palha (75%). O bagaço alcançou resultados mais baixos do que as outras partes. Em relação à mistura dos resíduos, os mesmos apresentaram 55 % de conversão na etapa de hidrólise e 25% de conversão na fermentação alcoólica. Resultados superiores ao apresentado pelo bagaço individualmente. Sendo assim, é possível inferir que os resultados encontrados pelos autores podem contribuir para o desenvolvimento de processos de produção de bioetanol usando toda a biomassa de cana-de-açúcar, onde o potencial inferior do bagaço pode ser equilibrado e aperfeiçoado com o uso combinado dos demais resíduos da cana.

Como é possível observar, os melhores resultados de conversão estão relacionados com a palha da cana-de-açúcar. Diante disso, diversos estudos foram realizados com o intuito de explorar melhor esse potencial. Um exemplo é o estudo feito por Ferreira (2018), que avaliou o pré-tratamento ácido e a hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração.

O preparo do material foi realizado por meio da moagem em um moinho de facas (SL-31, SOLAB) com peneira de 10 mesh e a peneiração mecânica com o mesh de 20. O pré-tratamento com ácido diluído foi realizado em autoclave a 121 °C e relação sólido/líquido de 1:10 (*m/v*). O ácido utilizado foi o H₃PO₄ em diferentes concentrações

(0,5, 1,5 e 2,5%) e com variação de tempo de 10, 20 e 30 minutos, essas variações foram baseadas nos estudos de Bezerra (2016). A hidrólise enzimática foi realizada utilizando um Complexo Celulase (NS-22086) nas seguintes condições: 50°C, pH 4,8 (tampão citrato de sódio 0,5mM), concentração de palha de 2% (m/v), volume reacional de 100 mL e agitação de 150 rpm, 15 FPU.g⁻¹ de palha com um tempo total de hidrólise de 72 horas, determinações baseadas nos estudos de Vasconcelos (2012).

Ferreira (2018) observou que após o pré-tratamento empregado, a concentração de açúcares redutores liberados no hidrolisado ácido variaram de 2,34 a 8,23 g.L⁻¹, onde a maior concentração foi obtida através do ensaio onde foram aplicadas as condições de 30 minutos e 2,5% de H₃PO₄. Em relação à solubilização dos componentes macromoleculares, o máximo alcançado foi de 23,80% coincidindo com o ensaio onde ocorreu a maior liberação de açúcares redutores. Quanto à hidrólise enzimática o autor quantificou a eficiência da mesma em termos de açúcares redutores, e o máximo valor obtido foi de 5,20 g.L⁻¹ coincidindo também com o ensaio no qual ocorreu a maior solubilização dos componentes macromoleculares.

O autor observou que concentrações de açúcares redutores liberados após a etapa de hidrólise enzimática foram inferiores aos obtidos após o pré-tratamento. Ele explica que isto pode ter ocorrido devido à presença de lignina residual na fração sólida após o pré-tratamento, o que segundo Silva (2009) pode afetar negativamente a etapa subsequente de hidrólise enzimática.

Diante da problemática envolvendo a presença de lignina no processo, Lucarini et al. (2017) estudaram a hidrólise enzimática da palha da cana para a obtenção de açúcares fermentescíveis, onde o material passou por processos físicos para sua preparação e foi submetido à deslignificação com H₂O₂ em meio alcalino para posterior hidrólise. Além disso, foi quantificada a atividade enzimática da celulase de *T. reesei* e comercial *CellicCTec2*.

O autor utilizou o pré-tratamento químico com peróxido de hidrogênio alcalino para a deslignificação, método descrito por Azzam (1989). Primeiramente, 10 g de amostras da palha triturada foram pesadas e adicionadas a 250 mL de solução de H₂O₂ 2% (m) na proporção 1:25. O pH da suspensão foi ajustado para 11,5 e posteriormente a mistura foi agitada a 200 rpm a 30°C por 24 horas. A partir da palha deslignificada, iniciou-se o estudo da hidrólise enzimática com as enzimas descritas anteriormente. A atividade enzimática das mesmas foi realizada através do método de determinação da atividade de papel filtro (FPU- Filter Paper Activity) proposto por Ghose (1987). Como

forma de encontrar os valores de maior rendimento nos ensaios, foram realizadas a determinação da concentração de açúcares redutores pelo método do DNS proposto por Miller (1959) e da concentração de glicose pelo método enzimático (reativo enzimático LABTEST Glicose Liquiform®).

Por fim, os ensaios de hidrólise foram realizados sob as seguintes condições: 150 rpm, 45°C durante 48 horas, a mistura que foi submetida a essas condições continha 5g de palha deslignificada, 100 mL de solução tampão citrato de sódio (50mM) ou fosfato de sódio (50mM) dependendo do pH em estudo e a quantidade de enzima que forneceu a atividade desejada (10 FPU.g⁻¹ de palha).

Lucarini et al. (2017) verificou a eficácia do pré-tratamento utilizado, que resultou numa redução de cerca de 50% do teor de lignina presente na palha da cana de açúcar. O estudo da hidrólise enzimática para a palha de cana deslignificada foi realizada com duas celulasas, sendo uma purificada, a celulase de *Trichoderma reesei* e uma celulase comercial CellicCTec2, que apresentaram uma atividade enzimática de 960 FPU/g enzima e 307 FPU.g⁻¹ enzima, respectivamente.

O autor também verificou que o pH ótimo, onde há a maior liberação de açúcares fermentescíveis, para a celulase de *T.reesei*, é o pH 4,0, tanto para a obtenção de maior quantidade de glicose (4,65 g.L⁻¹) como açúcares redutores (4,98 g.L⁻¹). Para a Cellic CTec2 os valores de pH ótimo se mantêm em uma faixa de operação de pH de 4,0 a 5,5, com liberação de 5,5 a 6,2 g.L⁻¹ de açúcares redutores e 5,2 a 5,6 g.L⁻¹ de glicose nesta faixa.

As concentrações de enzima que liberaram a maior concentração de açúcares foram de 20 FPU.g⁻¹ de palha deslignificada para a enzima *T.reesei* e 10 FPU.g⁻¹ de palha deslignificada para a enzima CellicCTec2. Em relação ao estudo do tempo de reação, o melhor resultado obtido para a sacarificação com ambas as celulasas estudadas foi para o tempo de 24 horas. Os resultados mostraram que ocorreu redução no teor de glicose após 24 horas de hidrólise e o autor acredita que isto ocorreu devido à presença de microrganismos contaminantes.

Santos (2013) avaliou o pré-tratamento hidrotérmico visando à produção de etanol celulósico, através do planejamento experimental. O autor coletou amostras da palha de cana-de-açúcar cultivar RB867515 após a colheita mecanizada nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Alagoas e Mato Grosso. O material passou pelo processo de secagem e posteriormente pela moagem para caracterização da sua composição química,

tais como: teor de celulose, hemiceluloses, lignina total, extrativos totais, cinzas e minerais.

Visando à otimização do pré-tratamento, foram realizados planejamentos experimentais para esta etapa, com o intuito de determinar a maior concentração de glicose liberada em determinada condição de pré-tratamento. Para isso, o autor realizou o pré-tratamento hidrotérmico de acordo com o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) que foi realizado com seis repetições no ponto central e a interação de três variáveis independentes: temperatura (°C), tempo (min) e relação palha/água (%). A matriz DCCR gerada pelo software Design-Expert 7.0, para as três variáveis gerou vinte ensaios. Com base na revisão de literatura o autor definiu três níveis de cada variável analisada: (1) temperatura (°C): 170, 190 e 210; (2) tempo (min): 5, 10 e 15; relação palha/água (%): 10, 12,5 e 15 em 200 mL de água. A hidrólise enzimática foi conduzida a 50°C utilizando-se a enzima comercial (Celluclast 1.5 L, Novozymes) na concentração 15 FPU por grama de substrato e foi acompanhada por 72 horas.

Com os resultados da caracterização química, Santos (2013) verificou que as condições edafoclimáticas dos estados avaliados pouco influenciaram na composição química da palha. O autor observou que a concentração média da celulose encontrada na palha de cana-de-açúcar foi de 44,26% e é comparável aos valores publicados na literatura. Santos (2013) verificou que após o pré-tratamento hidrotérmico a maior remoção de hemicelulose (93,43%) ocorreu na condição de 223°C por 10 minutos e na condição de 210°C por 15 minutos com 92,54% de hemicelulose. Esses resultados corroboram com os encontrados por Silva (2009), que avaliou o bagaço de cana em diferentes condições de pré-tratamento hidrotérmico e encontrou 88,7% de hemicelulose removida na condição de 195°C por 10 minutos.

Santos (2013) acompanhou o processo de hidrólise e concluiu que a liberação de glicose foi rápida nas primeiras 12 horas e após esse período a velocidade de hidrólise diminuiu, tendendo a estabilizar após 48 horas de sacarificação. O autor encontrou o maior valor de glicose liberada (43,36 g.L⁻¹) sob as condições de 120°C em um tempo de 18,41 minutos e relação palha/água de 1:12,5%. O ponto central do planejamento experimental (ensaios de 15 a 20) proporcionou um rendimento médio de 34,22 g.L⁻¹ de glicose em 48 horas de processo. Por fim, o autor concluiu que, nas condições de seu trabalho, os ensaios do planejamento experimental com temperaturas de 190 e 210°C proporcionaram maior rendimento de hidrólise da celulose, chegando a valores próximos de 100%, mostrando a

eficiência do pré-tratamento hidrotérmico sobre a recalcitrância da palha de cana-de-açúcar e seu potencial na produção de etanol celulósico.

A Tabela 4 apresenta um resumo com as biomassas, tipo de pré-tratamento, tipo de hidrólise e configurações de sacarificação e fermentação utilizadas nos trabalhos estudados neste item, bem como os melhores resultados obtidos por cada autor citado.

Tabela 4- Resumo dos resultados dos autores.

	Biomassa	Pré-tratamento	Hidrólise	Fermentação	Resultados
Oliveira (2012)	Palha	Hidrotérmico	Enzimática	-	48,3% Conversão Celulose
		Ultrassom		-	47,4% Conversão Celulose
	Bagaço	Explosão a vapor		-	62,4% Conversão Celulose
		Ultrassom		-	54,9% Conversão Celulose
Pitarelo (2013)	Bagaço	Explosão a vapor	Enzimática	SSF	21,68 g.L ⁻¹ etanol
				SHF	25,02 g.L ⁻¹ etanol
Santos (2013)	Palha	Hidrotérmico	Enzimática	-	43,36 g.L ⁻¹ glicose
Pereira et al. (2014)	Bagaço	Ácido	Enzimática	SHF	20 g.L ⁻¹ etanol
	Palha				38,4 g.L ⁻¹ etanol
	Ponteiras				28,4 g.L ⁻¹ etanol
	Mistura				31,7 g.L ⁻¹ etanol
Silva (2015)	Bagaço	Hidrotérmico	Enzimática	PSSF	16,4 g.L ⁻¹ etanol
				SSF	28,4 g.L ⁻¹ etanol
				SHF	39,9 g.L ⁻¹ etanol
Corrêa (2016)	Palha	Hidrotérmico	Enzimática	-	50,34 kg.m ⁻³ glicose
	Bagaço	Hidrotérmico		-	45,4 kg.m ⁻³ glicose
		Explosão a vapor		-	35,96 kg. m ⁻³ glicose
Lucarini et al. (2017)	Palha	Alcalino	Enzimática	-	6,2 g AR. L ⁻¹
Ferreira (2018)	Palha	Ácido	Enzimática	-	5,20 g AR. L ⁻¹

2.4.2 RESÍDUOS DE CAFÉ

Segundo Saenger et al. (2001) o café se destaca como um dos produtos agrícolas mais relevantes para o Brasil e para o estado de Minas Gerais. O volume da produção para a safra de 2020 foi em torno de 61,62 milhões de sacas de 60 kg (soma das espécies arábica e conilon) contra 61,7 milhões de sacas beneficiadas na produção da safra de 2018. Em relação à produtividade, alcançou em 32,7 sacas/há em 2020 (CONAB, 2020).

O café passa por um processo cujo objetivo é secá-lo da forma mais rápida e efetiva possível, de forma a retirar a água até o ponto em que ele possa ser armazenado e

beneficiado de forma segura. Esse processo pode ser feito por duas rotas diferentes, por via seca e por via úmida, e dependendo da rota escolhida os sólidos residuais gerados possuem diferentes terminologias, sendo polpa para o processo úmido ou casca para o processo seco (PANDEY et al., 2000).

A casca de café é proveniente da limpeza do café em coco, e é composta por epicarpo (casca), mesocarpo (mucilagem), endocarpo (pergaminho) e película prateada. Já a polpa é o resíduo da despolpa úmida do café cereja, composta de epicarpo e parte do mesocarpo (BARCELOS et al., 2002). As diferenças básicas entre casca e polpa de café é que a casca é obtida seca e contém o pergaminho, enquanto a polpa é úmida e não tem o pergaminho, pois esse fica envolto no grão de café, como forma de proteção.

Por muito tempo as cascas de café foram utilizadas diretamente nos solos como fertilizante. Porém, depois de um tempo descobriu-se que alguns compostos tóxicos constituintes da casca de café podem acabar prejudicando o solo. Esse fato deu origem a novos estudos sobre o uso da casca de café para outras finalidades (SILVA, 2019). A composição da casca de café pode variar de acordo com a espécie do fruto, região de plantio e época do ano (ROSSETTI, 2007).

Além dos componentes principais da biomassa lignocelulósica (celulose, hemicelulose e lignina) a casca de café possui outros componentes como proteínas, cafeína e taninos. Alguns estudos foram desenvolvidos para aplicação da casca de café em ração animal, porém, o alto teor de taninos, proteínas de difícil degradação e cafeína acabaram limitando essa aplicação (SILVA, 2019).

Devido à grande geração deste resíduo e à sua limitação de utilização, diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos na busca de usos mais nobres para os resíduos gerados durante o beneficiamento do café. Um exemplo deste estudo é a aplicação dos resíduos do processo de beneficiamento do café para a produção do etanol 2G.

A faixa de valores reportada na literatura segundo Santos (2017) acerca da composição da casca de café é bastante ampla variando entre 24,5 a 43% de celulose; 7 a 29,7% de hemicelulose; 9 a 30,2% de lignina e 3 a 10,7% de cinzas. Essa grande diferença composicional é decorrente do tipo de processamento e das condições de cultura do café.

Santos (2017) e Silva (2019) realizaram a caracterização química da casca de café *in natura* em base seca (% em peso) e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 5 abaixo.

Tabela 5- Comparativo da caracterização química da casca de café *in natura*.

Componentes	Santos (2017) (%)	Silva (2019) (%)
Celulose	32,5 ± 1,1	36,0 ± 0,9
Hemicelulose	20,8 ± 1,5	20,4 ± 1,3
Lignina	27,1 ± 0,8	31,1 ± 1,2
Cinzas	4,5 ± 1,7	4,1 ± 0,6
Extrativos	22,0 ± 1,6	16,6 ± 0,9

Analisando os valores obtidos pelos autores observa-se que os mesmos estão de acordo com os valores reportados pela literatura. Após realizar a caracterização química da casca de café, os autores seguiram diferentes caminhos até chegar à análise da biomassa para produção do etanol.

Santos (2017) realizou o pré-tratamento oxidativo, que tem como objetivo principal solubilizar as hemiceluloses e a lignina, como forma de gerar uma fração sólida rica em glicose que, após a hidrólise enzimática, pode ser direcionada para a produção do etanol 2G.

Os ensaios de oxidação foram realizados por Santos (2017) em diferentes condições, foi fixada uma amostra de 25 g (em base seca) de cascas de café, previamente moída (40-60 mesh). Essa amostra foi submetida a oxidação em um reator com volume de 500 mL de mistura completa, operando em batelada com alimentação de ozônio contínua.

Após o pré-tratamento, a autora observou que as condições de ozonização que levaram à maior remoção de lignina e hemicelulose foram: razão de líquido-sólido (RLS) de 15 mL. g⁻¹; pH igual a 11 e carga de ozônio específica aplicada (COEA) igual a 19,14 mg O₃/ g de cascas. Sob essas condições, a composição da fração sólida após o pré-tratamento foi: 46,18% de celulose, 30,34% de lignina e 21,42% de hemiceluloses.

A fração sólida gerada no pré-tratamento oxidativo das cascas de café foi submetida a ensaios de hidrólise enzimática, onde foram utilizados dois coquetéis

enzimáticos comerciais, denominados Cellic CTec2 e Cellic HTec2 numa proporção de 85:15% respectivamente. As condições de operação foram: agitação de 150 rpm, temperatura de 50°C por 72 horas. A razão líquido-sólido foi de 10:1 (mL.g⁻¹), onde a massa da fração sólida foi de 1g (base seca) e o pH foi de 4,8 mantido com tampão citrato 0,05 mol. L⁻¹.

A produção estimada de etanol foi realizada pela autora com base na conversão da glicose a etanol, e para isso, foi utilizada a massa de glicose quantificada ao final do ensaio de hidrólise enzimática e considerada que a eficiência da conversão de glicose em etanol pelas leveduras seria de 100%. Sendo assim, o ensaio que apresentou o maior rendimento (12%) e a maior produção estimada de etanol (36,04 mg de etanol/g casca pré-tratada) foi aquele que obteve o maior teor de celulose na fração sólida após o pré-tratamento, como esperado.

Porém, os ensaios de hidrólise enzimática não tiveram bons rendimentos e segundo a autora, estes podem estar atrelados ao fato de esta etapa ter sido baseada em condições otimizadas para o bagaço de cana-de-açúcar, e para as cascas de café seria necessário um coquetel enzimático contendo pectinases, já que esta biomassa pode conter pectina. Uma outra explicação seria a presença de lignina e hemicelulose que não foram efetivamente removidas durante o pré-tratamento e que dificultam o acesso das enzimas ao substrato.

Por outro lado, Silva (2019) utilizou o pré-tratamento hidrotérmico, que tem como principal objetivo a remoção da hemicelulose, visando a obtenção de uma fração sólida rica em celulose para a fermentação a etanol 2G. Em diversos ensaios realizados que variaram tempo, temperatura e razão líquido-sólido, a autora concluiu que as condições de maior severidade, ou seja, maiores tempos e temperaturas, apresentaram um maior percentual de celulose nas frações sólidas. Foi observado que para todas as temperaturas superiores a 200°C, o percentual de celulose foi superior a 45%.

A autora observou que, embora as maiores temperaturas tenham promovido a obtenção de uma fração sólida mais rica em celulose, estas condições também levam a uma grande perda de massa e uma elevada remoção de celulose para a fração líquida. Fato que não é interessante quando o objetivo é a produção de etanol 2G por meio da fração sólida pré-tratada, pois o rendimento global do processo será afetado.

Após a realização do pré-tratamento hidrotérmico, a fração sólida foi submetida a ensaios de hidrólise enzimática cujas condições utilizadas pela autora foram exatamente iguais às condições descritas anteriormente usadas por Santos (2017) e os rendimentos de hidrólise enzimática foram calculados também com base na massa de glicose teórica, considerando uma conversão de 100% da celulose em glicose.

A autora observou que o rendimento da hidrólise enzimática para a casca de café foi relativamente baixo, quando comparado ao rendimento de outras biomassas também pré-tratadas hidrotérmicamente. O rendimento da hidrólise enzimática alcançou 41,4 % para a condição que gerou a casca de café pré-tratada mais adequada para a etapa de hidrólise enzimática, (200°C, 55 min e razão líquido-sólido de 5 mL.g⁻¹;). Um dos motivos para o baixo rendimento obtido também está relacionado com a carga das enzimas utilizadas na hidrólise, uma vez que o protocolo adotado não foi otimizado para a biomassa em estudo.

Alguns trabalhos anteriores também utilizaram a casca do café para produzir etanol e obtiveram melhores resultados, como exemplo é possível citar GOUVEA et al. (2009) que avaliaram a produção de etanol a partir da casca de café inteira, moída e do extrato aquoso da casca de café. Os autores utilizaram como microrganismo fermentativo a *Saccharomyces cerevisiae*, onde os meios foram compostos por 13 g de substrato/100 mL de água). Eles concluíram que a casca de café inteira se apresentou como melhor substrato para a produção de etanol, proporcionando a produção de 13,6 g de etanol.L⁻¹ por meio de concentração 3 g de levedura.L⁻¹ e temperatura de 30°C.

A aplicação de resíduos de café para obtenção do bioetanol não se limita apenas à casca de café, existem estudos que também exploram essa viabilidade através da polpa e da borra do café. Como citado anteriormente a composição química da casca e da polpa de café se diferenciam, a Tabela 6 mostra um comparativo entre a composição química da polpa de café de acordo com diferentes autores.

Tabela 6- Comparativo da caracterização química da polpa de café, dados baseados em matéria seca

Componentes	Menezes 2012 (%)	Barcelos et al (2002) (%)
Celulose	20,6 ± 3,2	36,68
Hemicelulose	17,2 ± 1,2	23,63
Lignina	15,5 ± 2,5	11,7
Cinzas	7,9 ± 1,9	8,5
Extrativos	27,5 ± 2,6	-

Como é possível observar na Tabela 6, a polpa de café também é um resíduo rico em matéria orgânica o que a torna um substrato interessante para processos microbianos no intuito de obter produtos de valor agregado (PANDEY et al., 2002). Sendo assim, diversos estudos foram realizados a fim de comprovar esse potencial relacionado à polpa de café. Choi et al. (2012) obtiveram rendimento de 87,2% na produção de etanol a partir da borra de café após a hidrólise enzimática, com produção de etanol de 15,3 g.L⁻¹.

Shenoy et al. (2011) avaliaram a polpa de café seca e úmida na obtenção de etanol, utilizando a hidrólise ácida a quente em condições de temperatura a 120°C por 10 minutos e ácido sulfúrico a 2% (v/v), em autoclave, seguida de aquecimento durante 90 minutos a 90°C em pressão ambiente. Os autores obtiveram teores de açúcares redutores iguais a 0,71g/100mL de hidrolisado para a polpa seca e 0,23 g/100mL de hidrolisado para a polpa úmida. Por fim, verificaram que após 48 horas de fermentação a *Saccharomyces cerevisiae* produziu 0,48 g de etanol/g de açúcar para ambos os materiais, polpa seca e polpa úmida.

Menezes (2012) realizou o pré-tratamento da polpa de café com NaOH 4% (m/v) durante 25 minutos a uma temperatura de 121 °C em autoclave. Posteriormente realizou a hidrólise enzimática utilizando concentrações de celullase 22.5 FPU.g⁻¹ de substrato e celobiase 20CBU/g de substrato) e tampão citrato 0.05 mol L e pH 4,8 a uma temperatura de 50°C e 150 rpm durante 72 horas. Para a fermentação o autor utilizou a *Saccharomyces cerevisiae*, codificada como CAT 1, isolado de usina de álcool (BASSO et al., 2008). E obteve, após 24 horas de fermentação, 25,63 g etanol.L⁻¹.

Com o intuito de variar e verificar a viabilidade de outros tipos de microrganismos, Mussato et al. (2012) avaliaram a produção de etanol, a partir da película

prateada ou borra de café, realizada por três tipos diferentes de leveduras, foram elas: *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia stipitis* e *Kluyveromyces fragilis*. O material passou por um pré-tratamento com ácido sulfúrico, a uma temperatura de 170°C durante 45 minutos. Segundo o autor, o melhor resultado confirmou a eficiência da *S. cerevisiae*, que produziu 11,7 g.L⁻¹ em termos de produção de etanol, utilizando a borra de café. A fermentação com *Pichia stipitis* apresentou resultados semelhantes ao da *S. cerevisiae* porém necessitou mais tempo para atingi-los. E por fim, *Kluyveromyces fragilis* apresentou os valores mais baixos de produção, durante todo o tempo de fermentação.

Um estudo realizado por Carmo (2013) utilizou a fase sólida da polpa de café com o intuito de avaliar a produção de etanol. Para realizar o pré-tratamento, a autora utilizou as condições otimizadas definidas anteriormente em seus estudos, sendo hidróxido de sódio a 4% (m/v) (20% m/v de sólidos) a uma temperatura de 121 °C e pressão de 1 atm em autoclave, por 25 minutos. Na etapa de hidrólise enzimática foram utilizadas três enzimas: celulase (Celluclast 1.5L), B-glicosidase (NS 22118) e endoxilânase (NS 22083). Utilizando uma proporção de 20 g de fase sólida da polpa de café prensada para 40 mL de tampão citrato (pH=4,8), com dosagens de 25,78 FPU de celulase/g de substrato, 58,95 CPU de β-glicosidase/g de substrato e 487,6 U/g. E na etapa de fermentação o microrganismo utilizado foi *Kluyveromyces marxianus* CCT 4086.

A autora realizou os processos de hidrólise e fermentação separadas (SHF), hidrólise fermentação semissimultâneas (SSSF) e hidrólise e fermentação simultâneas (SSF). E segundo a mesma, todos os processos foram avaliados quanto aos teores de açúcares redutores, glicose e etanol e acompanharam-se a concentração celular e o pH. Para fins de comparação dos processos foram escolhidos os fatores conversão da celulose em etanol, concentração final de etanol e produtividade volumétrica. Por fim, Carmo (2013) verificou por meio dos resultados obtidos que o processo SHF e SSSF foram os que proporcionaram maiores concentrações de etanol (21,77 e 21,66 g.L⁻¹, respectivamente).

Sendo assim, é possível concluir que os resíduos do café possuem um grande potencial para a produção de etanol desde que se faça o uso de um pré-tratamento eficiente na remoção de lignina e hemicelulose. Além disso, é importante realizar a otimização das condições da etapa de hidrólise bem como a adaptação da carga enzimática de acordo com a biomassa utilizada.

A Tabela 7 apresenta um resumo com as biomassas, tipo de pré-tratamento, tipo de hidrólise e configurações de sacarificação e fermentação utilizadas nos trabalhos estudados neste item, bem como os melhores resultados obtidos por cada autor citado.

Tabela 7- Resumo dos resultados dos autores citados.

	Biomassa	Pré-tratamento	Hidrólise	Fermentação	Resultados
Shenoy et al. (2011)	Polpa	-	Ácida	SHF	0,48 g.g ⁻¹ etanol
Menezes (2012)	Polpa	Alcalino	Enzimática	SHF	25,63 g.L ⁻¹ etanol
Mussato et al. (2012)	Borra	-	Ácida	SHF	11,7 g.L ⁻¹ etanol
Carmo (2013)	Polpa	Alcalino	Enzimática	PSSF	21,66 g.L ⁻¹ etanol
				SSF	15,24 g.L ⁻¹ etanol
				SHF	21,72 g.L ⁻¹ etanol
Santos (2017)	Casca	Oxidativo	Enzimática	SHF	36,04 mg.g ⁻¹ etanol
Silva (2019)	Casca	Hidrotérmico	Enzimática	-	41,4 % Rendimento Hidrólise

2.4.3 RESÍDUOS DE MILHO

O milho, conhecido botanicamente como cariopse é originário do México. Pertence à família Poaceae e pode alcançar até dois metros de altura cujos grãos inseridos em fileiras no sabugo formam a espiga, sendo revestida por pericarpo (CABRAL et al., 2012). No Brasil, seu cultivo abrange muitas regiões e sua produção vem progredindo a cada ano. O país é, no ranking mundial, o terceiro produtor e segundo exportador de milho (SILVA JR, 2015).

Segundo boletim da CONAB, a safra de 2020/21 do milho alcançou uma produção de 105.481,6 mil toneladas, correspondendo a uma área de 19.092,4 mil hectares e uma produtividade de 5.525 kg/ha. O principal destino da safra do milho são as indústrias de rações para animais e para alimentação humana e após a utilização dos grãos de milho são gerados resíduos com grande potencial celulósico.

Os principais resíduos do processamento do milho são a palha e sabugo, e podem ser utilizados para vários fins, especialmente para a produção do etanol 2G devido à presença de açúcares em sua composição (CARVALHO, 2016). Segundo Rocha (2017), para cada tonelada de milho processado são gerados, aproximadamente, 180 kg de sabugo e 700 kg de palha.

O sabugo localiza-se na parte central das espigas, onde os grãos ficam presos, é o rejeito que se obtém após a espiga ser debulhada para a retirada dos grãos de milho (SILVA, 2018). A Tabela 8 mostra um comparativo entre a composição química do sabugo de milho *in natura* realizado por diferentes autores.

Tabela 8- Comparativo da composição química do sabugo de milho *in natura*.

Componentes	Aguiar (2010) (%)	Rocha et al (2017) (%)
Celulose	31,7	35,4
Hemicelulose	34,7	26,9
Lignina	20,3	18,0
Cinzas	2,3	2,4

A palha do milho está presente na parte mais externa do sabugo e sua composição química pode ser observada na Tabela 9, que mostra um comparativo entre a caracterização da palha do milho *in natura*, realizada por diferentes autores.

Tabela 9- Comparativo da composição química da palha de milho *in natura*.

Componentes	Santos (2014) (%)	Silva et al (2010) (%)
Celulose	36,7	37,6
Hemicelulose	34,2	34,5
Lignina	14,0	12,6
Cinzas	2,34	-

Diante da caracterização da composição química da palha e do sabugo de milho é possível perceber um possível potencial para a produção do etanol lignocelulósico a partir dessa biomassa.

Carvalho (2016) avaliou a produção de etanol 2G a partir da palha e do sabugo de milho. A etapa de pré-tratamento foi realizada com ácido diluído por meio de uma solução de H₂SO₄ 0,5% na proporção de 1:10, o procedimento foi realizado em duplicata e utilizou a autoclave a uma temperatura de 121°C durante 15 minutos. A média do rendimento mássico obtido após o pré-tratamento foi de 74,10 para a palha do milho e de 73,25 para o sabugo, classificando como efetivo o pré-tratamento empregado. Santos (2014) também realizou o pré-tratamento com ácido diluído (H₂SO₄0,5%) a partir dos

resíduos de milho com temperatura de 120°C durante 15 minutos e obteve rendimentos de 46,7% e 46,5% para a palha e sabugo de milho, respectivamente.

O procedimento de hidrólise enzimática realizado por Carvalho (2016) utilizou a enzima Cellic CTech 2. As condições de processamento foram: proporção de 1 g de biomassa/110 mL de solução; temperatura de 50°C e 150 rpm. A solução continha tampão citrato (50mM), pH igual a 4,8 e 0,5 mL de enzima. Após a hidrólise enzimática, a autora determinou o ART do hidrolisado através do método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS) proposto por Miller (1959).

A autora observou que, em termos de ART o melhor ensaio foi aquele que obteve concentração de 30,68 g.L⁻¹ utilizando 5 g de palha durante 48 horas de hidrólise, vale ressaltar que outro ensaio apresentou ART 10% menor e utilizou metade do tempo do ensaio citado anteriormente, o que pode vir a ser mais viável considerando o consumo de energia, insumos e serviços. Este estudo apresentou melhores valores de ART quando comparados ao estudo de Santos (2014) que realizou a hidrólise com 2 mL de enzima comercial Accellerase1500 a uma temperatura de 50°C, 150 rpm por 72 horas obtendo um hidrolisado com concentrações de ART iguais a 19,6 g.L⁻¹ e 6,1 g.L⁻¹ para a palha e o sabugo, respectivamente.

Carvalho (2016) obteve valores acima de 73% de eficiência de fermentação para ambas as biomassas, e após a destilação obteve um bom teor alcoólico para o ensaio citado anteriormente, com 3,9 g.L⁻¹ de álcool produzido.

Em outro estudo, Rocha et al. (2017) avaliou o potencial de produção de bioetanol a partir da palha e do sabugo de milho, que foram submetidos ao pré-tratamento hidrotérmico (PTH), hidrólise enzimática e fermentação. O PTH foi realizado em duas condições: 1) 170°C por 15 min e 2) 195°C por 10 min, ambos sob agitação de 200 rpm. O pré-tratamento realizado nas condições 1 apresentou 70,7% de remoção de hemicelulose da palha e 58,7% do sabugo. Já o PHT realizado nas condições 2 apresentou 89,7% de remoção de hemicelulose da palha e e 67,8% do sabugo.

Os autores submeteram à hidrólise enzimática apenas as amostras pré-tratadas que resultaram em menor perda de celulose. Nesta etapa foi utilizado o extrato enzimático Accellerase1500. Os ensaios ocorreram sob as seguintes condições:10% (m/v) de carga de sólidos, extrato enzimático de 20 FPU.g⁻¹ de biomassa seca e tampão citrato pH 4,8 (50mM), temperatura de 50°C, 150 rpm por 72 horas. A etapa de fermentação ocorreu em

Shaker (30°C e 200 rpm) por 24 horas. Os autores observaram 87,5% de eficiência na fermentação para a palha pré-tratada a 170°C e 15 min (Condição 1) e 86,9% para o sabugo pré-tratado a 195°C e 10 min (Condição 2).

Por fim, analisando os resultados de hidrólise e fermentação, Rocha et al. (2017) obtiveram 5,5 g.L⁻¹ de etanol a partir do sabugo de milho e 3,3 g.L⁻¹ de etanol a partir da palha. E constataram que os resultados indicam que os resíduos do milho são promissores para a obtenção de etanol de segunda geração poderá diversificar a matriz energética brasileira sem que haja competição com a indústria de alimentos ou expansão das áreas agricultáveis.

Vieira et al. (2015) estudaram a influência das condições de hidrólise enzimática na conversão de açúcares presentes nos resíduos do milho. Inicialmente, foi feito o pré-tratamento com 0,5% de H₂SO₄ a uma temperatura de 121°C por 15 minutos. Em seguida, foram realizados ensaios de hidrólise enzimática, com 16,7 g.L⁻¹ de substrato, utilizando 1,0 e 2,0 mL da enzima comercial celulase *Aspergillus niger*, em tampão acetato com pH 4,5, nas condições de 50°C durante 48 e 72 horas. Logo em seguida foi realizada a análise dos açúcares redutores (AR) e açúcares redutores totais (ART) para cada ensaio. A melhor condição encontrada para os dois resíduos foi 48 horas de hidrólise e 1,0 mL da enzima comercial, onde se obteve 0,14 g de ART /g de palha hidrolisada e 0,13 g de ART/g de sabugo de milho hidrolisado.

Sendo assim, a produção do etanol a partir dos resíduos de milho se mostrou bastante promissora, pois se trata de uma cultura muito importante economicamente para o Brasil e que possibilita o desenvolvimento do país gerando emprego e renda, agregando valor a essa cultura tão comum nacionalmente. Além disso é uma oportunidade de enriquecimento da matriz energética por meio de fontes limpas e renováveis.

A Tabela 10 apresenta um resumo com as biomassas, tipo de pré-tratamento, tipo de hidrólise e configurações de sacarificação e fermentação utilizadas nos trabalhos estudados neste item, bem como os melhores resultados obtidos por cada autor citado.

Tabela 10 - Resumo dos resultados dos autores citados.

	Biomassa	Pré-tratamento	Hidrólise	Fermentação	Resultados
Vieira et al. (2015)	Palha	Ácido	Enzimática	-	0,14 g ART.g ⁻¹
	Sabugo			-	0,13 g ART.g ⁻¹
Carvalho (2016)	Palha	Ácido	Enzimática	SHF	3,90 g.L ⁻¹ etanol
Rocha et al. (2017)	Palha	Hidrotérmico	Enzimática	SHF	3,3 g.L ⁻¹ etanol
	Sabugo				5,5 g.L ⁻¹ etanol

2.4.4 PALHA E CASCA DE ARROZ

O arroz é uma gramínea subaquática e pode ser cultivada em uma grande variedade de condições climáticas. Sua cultura é muito comum no Brasil e segundo boletim da CONAB, a safra de 2020/21 do arroz alcançou uma produção de 10.935 mil toneladas, correspondendo a uma área de 1.704,9 mil hectares e uma produtividade de 6.414 kg/ha.

A cultura do arroz está associada a uma grande quantidade de geração de resíduos sólidos, dentre estes destacam-se a palha, o farelo e a casca de arroz. Após o processo de beneficiamento, seus resíduos surgem como um rejeito agrícola que os fazem um subproduto de pouco valor nutritivo. Algumas estimativas segundo Reis, Silva e Neves (2015) apontam uma geração de 2,74 milhões de toneladas de casca de arroz em todo o país, esse resíduo é comumente eliminado através da queima em campos abertos, o que pode desencadear problemas ambientais e de saúde, além do desperdício de energia (LIM et al., 2012).

Alguns autores realizaram análises para definir a composição química dos subprodutos gerados no processamento do arroz, e estudos sobre suas biomassas têm sido realizados como forma de valorização destes resíduos. As Tabelas 11 e 12 mostram uma comparação dos estudos da composição química da casca e palha de arroz respectivamente, realizada por diferentes autores.

Tabela 11- Comparativo da composição química da casca de arroz.

Componentes	Reyes et al. (1998) (%)	Pedroso et al. (2017) (%)
Celulose	38,4	32,4
Hemicelulose	-	16,3
Lignina	29,4	27,9
Cinzas	8,5	17,2

Tabela 12- Comparativo da composição química da palha de arroz.

Componentes	Castro (2016) (%)	Mussato (2002) (%)
Celulose	35,3	43,5
Hemicelulose	22,8	22,0
Lignina	19,0	17,2
Cinzas	11,3	11,4

Diante disso, observa-se um grande potencial na empregabilidade destas biomassas como matéria-prima proveniente de resíduos do arroz para a produção do etanol 2G, por ser encontrada em grande quantidade e abundância.

Furlan (2009) realizou um estudo dos processos de hidrólise (ácido ou enzimática) de palha e casca de arroz para a obtenção de bioetanol. Para a hidrólise ácida o autor utilizou uma concentração de material lignocelulósico de 3% (p/v) em uma solução de ácido sulfúrico 72% (p/p) sob agitação de 150 rpm a 72°C durante 1 minuto.

O pré-tratamento foi realizado com uma solução de NaOH 0,1M a 121°C e concentração de casca e palha de arroz igual a 10% (p/v) onde permaneceu por 1 hora em autoclave, seguidas de 24 horas de repouso. A fração sólida foi lavada até atingir a neutralidade. A partir da biomassa deslignificada realizou-se a hidrólise enzimática nas seguintes condições: foram utilizadas enzimas celulase suplementada com β -glucosidase na proporção (10:1), solução tampão acetato de sódio 0,2 M (pH 4,8) sob agitação constante de 150 rpm, temperatura de 41,6 °C por um período de 48 horas. Foram utilizadas concentrações de 5% (p/v) de palha, 4,05% (p/p) de enzimas, 7,5% (p/v) de casca de arroz e 4,05% (p/p) de enzimas.

A Tabela 13 mostra a concentração média obtida de açúcares redutores (AR) das hidrólises ácida e enzimática, da palha e da casca de arroz.

Tabela 13- Valores de açúcares redutores (AR) para a hidrólise da palha e casca de arroz.

Matéria-prima	Hidrólise	AR (%)*
Palha	Ácida	53,85 ± 0,92
Palha	Enzimática	79,90 ± 0,24
Casca	Ácida	43,92 ± 0,75
Casca	Enzimática	31,60 ± 0,43

*Valores médios ± desvio padrão (4 repetições).

Observando os resultados da Tabela 13 é possível verificar que a palha de arroz foi a matéria-prima que apresentou maior sacarificação em ambos os processos, ácido e enzimático. Segundo Furlan (2019) isso pode ser explicado devido a este resíduo possuir conteúdo de carboidratos e celulose amorfa mais elevado do que a casca. E quanto à casca de arroz, a mesma apresentou maior concentração de AR utilizando a hidrólise ácida, isto se deve ao fato de que, segundo o autor, o pré-tratamento empregado antes da hidrólise enzimática removeu apenas 20% do conteúdo da lignina. Como citado anteriormente, este componente forma uma barreira física que dificulta a ação dos catalisadores.

Por fim, a fermentação do hidrolisado enzimático contendo 130 g.L⁻¹ de açúcares foi realizada pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* produzindo 23,3 g.L⁻¹ de etanol, o que corresponde a uma conversão de 41%. O autor considerou que anualmente são gerados 731 milhões de toneladas de palha de arroz em todo o planeta e que a partir disso, é possível obter 150 bilhões de litros de bioetanol.

Castro (2016) estudou o processo de produção de etanol por meio da sacarificação e fermentação simultânea a partir da palha de arroz em um reator não convencional, denominado Moinho de Bolas Vertical (MBV). Primeiramente, o autor avaliou uma sequência de pré-tratamentos com base nas modificações estruturais da palha de arroz e no rendimento de conversão de celulose em cada sólido obtido. Essa sequência constituiu-se de duas etapas, a primeira delas foi a desacetilação alcanina seguida pela etapa de hidrólise com ácido diluído. Com base nos resultados, o autor definiu as condições ótimas para cada uma das etapas: 80 mg de NaOH/g de palha *in natura*, a 70°C por 45 minutos para a etapa de desacetilação e 100 mg de H₂SO₄/g de palha desacetilada, a 121°C por 85

minutos com carga enzimática de 21,5 FPU e 26,5 UI de β -glicosidase/g de celulose na etapa de hidrólise ácida.

Após a definição das variáveis significativas para o processo em separado, Castro (2016) conduziu os experimentos de sacarificação e fermentação simultânea em um reator MBV que foi adaptado para o processamento da biomassa lignocelulósica, utilizando esferas de vidro com 23 mm de diâmetro e massa igual a $8,16 \pm 0,35$ g. O autor utilizou 8% (m/v) de teor de sólidos com a carga enzimática previamente otimizada (21,5 FPU de Cellubrix e 26,5 UI de β -glicosidase/g de celulose), 40 g de celulignina desacetilada, 25 mL de tampão citrato de sódio 1M (para concentração final de 50 mM pH 4.8). A mistura foi então agitada a 50 rpm por 2 min para homogeneizar o sistema.

O reator foi inoculado com 1 g.L^{-1} de *A. marstanus* NRRL Y-6860. Em seguida, para dar início ao processo simultâneo foram adicionados 35,4 mL da Cellubrix diluída (1:2) e 10 75 ml de B-glicosidase diluída (1:10). Para o acompanhamento do processo, foram coletadas amostras de 2 ml periodicamente até 24 horas de processamento. O autor ainda realizou os experimentos em batelada simples e batelada alimentada. Os resultados obtidos foram $23,1 \text{ g.L}^{-1}$ de etanol, com eficiência de 89,8% em batelada simples, nas condições operacionais de 200 rpm, 18 esferas e $41,5^\circ\text{C}$. Visando melhorar os parâmetros do processo, o autor realizou ensaios em batelada alimentada com 24% de teor de sólidos, onde foi produzido $52,3 \text{ g.L}^{-1}$ de etanol.

Em outro estudo, Michel Jr. (2016) avaliou o aumento de escala do processo de produção de etanol a partir de farelo de arroz, para isso, o autor estudou o efeito das variáveis agitação e temperatura na produção de etanol em um biorreator de volume útil igual a 3L. Primeiramente, realizou a caracterização da composição química em base seca do farelo de arroz obtendo 9,2%(m/m) de celulose, 22,9% de hemicelulose e 5,4% de lignina.

As enzimas utilizadas neste estudo foram, o complexo celulolítico de *Trichoderma resey* NS50013 (Novozymes Latin American) e um complexo amilolítico STARGENT 001 e 002 (Genencor, Brazil). Além disso, o autor utilizou a levedura desidratada *Saccharomyces cerevisiae* (Fleishmann). A fermentação foi conduzida em um biorreator onde as concentrações de inóculo, farelo de arroz, celulase e amilase foram de 15% (v/v), 150 g.L^{-1} , 3%(m/m) e 1%(m/m) respectivamente. Inicialmente, o farelo de arroz e as enzimas foram adicionadas ao meio reacional, com a reação sendo conduzida

por 19 horas. Após este período foi adicionado o inóculo e o processo acompanhado até 48 h.

Michel Jr. (2016) utilizou o método DNS (MILLER, 1959) para determinar a quantidade de açúcares fermentáveis, e a determinação do conteúdo de etanol foi realizada usando um Alcoômetro. Os resultados obtidos foram expressos em g (de etanol) por Kg (de substrato seco). As variáveis (agitação e temperatura) foram estudadas através de um delineamento composto central (DCCR) para duas variáveis independentes, onde a faixa de temperatura avaliada foi de 30-70°C e agitação na faixa de 100-300 rpm.

O autor verificou que a única variável que apresentou efeito estatisticamente significativo foi a temperatura, a qual apresentou influência negativa na produção de etanol, o que demonstra claramente que altas temperaturas são deletérias para o microrganismo. Por fim, o trabalho desenvolvido apresentou a máxima produção de etanol igual a 182,52 g.kg⁻¹, nas condições de 140 rpm e 35,8°C. Dessa forma, o autor observou que foi possível manter a produção mesmo quando o processo foi escalonado em 30 vezes.

Portanto, é possível considerar os resíduos do arroz como matéria-prima para a produção de biocombustíveis e como forma de contribuição para a produção sustentável de energias renováveis. A Tabela 14 apresenta um resumo com as biomassas, tipo de pré-tratamento, tipo de hidrólise e configurações de sacarificação e fermentação utilizadas nos trabalhos estudados neste item, bem como os melhores resultados obtidos por cada autor citado.

Tabela 14 - Resumo dos resultados dos autores citados.

	Biomassa	Pré-tratamento	Hidrólise	Fermentação	Resultados
Furlan (2009)	Palha	Alcalino	Enzimática	SHF	23,3 g.L ⁻¹ etanol
Castro (2016)	Palha	Ácido	Enzimática	SSF	52,3 g.L ⁻¹ etanol
Júnior (2016)	Farelo	-	Enzimática	SHF	182,52 g.kg ⁻¹ etanol

3. PERSPECTIVAS DE PRODUÇÃO

Com o intuito de promover uma destinação mais nobre para os resíduos agrícolas, os materiais lignocelulósicos no Brasil configuram uma perspectiva positiva e relevante para o seu uso na produção de bioetanol. Além disso, a grande extensão territorial e o clima brasileiro oferecem condições e diversas possibilidades para exploração de uma série de matérias-primas (SILVA, 2008).

Vale ressaltar que, ao contrário do que ocorre em outros países, o Brasil já tem uma matéria-prima “vencedora”: a cana-de-açúcar. Que além de ser a mais expressiva na produção do etanol de primeira de geração, processo ao qual o país já tem uma estrutura bastante consolidada, o bagaço e a palha gerados nesse processo também se apresentam como os insumos mais promissores para o etanol de segunda geração. E por se tratarem de matéria-prima disponível na usina, os gastos com coleta, transporte e armazenagem seriam consideravelmente reduzidos (NYKO et al., 2010).

Além de substituir parte do petróleo, o etanol tem como vantagem o fato de que não contribui para o efeito estufa, uma vez que, quando o gás carbono for liberado pela combustão do álcool em um ano, será reabsorvido pelas plantas na safra seguinte. Tudo isso sem avançar sobre as florestas e culturas alimentares, ocorrendo de forma sustentável. (ERENO, 2007).

As perspectivas brasileiras segundo Ereno (2007) são de que: a produção do etanol 2G reduza a dependência por fontes não renováveis de energia, expanda o período de produção industrial do etanol e que o uso dessa matéria-prima tenha impactos positivos sobre o crescimento econômico e significativos em relação ao meio ambiente.

A perspectiva é de que a produção de etanol lignocelulósico aumente em até 50% a produção de álcool e sem necessitar expandir o plantio. A viabilidade do etanol 2G está intimamente relacionada com a demanda do mercado e com o desenvolvimento de tecnologias de produção de etanol a partir da biomassa. Um exemplo de nova tecnologia desenvolvida no país é a cana-energia, uma variedade que foi desenvolvida especialmente para a produção do etanol de segunda geração, que possui maior quantidade de fibras e é capaz de aumentar a produção de etanol por hectare em 250% quando comparado com etanol produzido pela cana-de-açúcar convencional (MORAIS et al, 2017).

Atualmente existem duas usinas de etanol de segunda geração no Brasil, a Bioflex, usina da GranBio localizada em São Miguel dos Campos (AL), que utiliza a palha, e a Costa Pinto, da Raízen, em Piracicaba (SP), utilizando o bagaço da cana. Essas usinas adotaram diferentes rotas tecnológicas, enquanto a GranBio utiliza uma usina dedicada exclusivamente à produção de etanol 2G, conhecida como rota stand-alone. A Raízen optou por construir uma usina integrada. As duas usinas possuem capacidade de produção de pouco mais de 100 milhões de litros por ano, porém, ainda não estão operando em sua capacidade máxima devido a alguns obstáculos (NOVACANA, 2020).

De acordo com dados inéditos divulgados pela Agência do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), as duas usinas produziram 6,11 milhões de litros de etanol 2G em 2019. Para chegar a estas quantias, foram processadas um total de 106,36 mil toneladas de bagaço e de palha de cana entre os dois anos, sendo 81,34 mil em 2019 e 25,03 mil em 2020 (NOVACANA, 2020).

O custo estimado de produção do etanol de segunda geração calculado por pesquisadores em julho de 2014 gira em torno de R\$ 1,50 por litro, enquanto o custo de etanol de primeira geração é de, aproximadamente, R\$ 1,15. Segundo pesquisas do Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE), perspectivas mostram que até 2025, o custo do etanol de segunda geração poderá cair para R\$ 0,75 por litro, podendo chegar, até 2030, a R\$ 0,52. O estudo foi realizado a pedido do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES) em parceria com o CTBE, onde se projetou a evolução do custo de produção do etanol celulósico e a data em que a tecnologia se tornaria economicamente viável no Brasil (NOVACANA, 2017).

Como já citado anteriormente, uma das maiores dificuldades em relação à viabilidade da produção do etanol lignocelulósico está ligado às dificuldades tecnológicas associadas sobretudo ao processo de separação da lignina do material celulósico e à quebra da hemicelulose por leveduras em um tempo adequado. Porém, em um estudo recente o Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) foram patenteados coquetéis enzimáticos de alta eficiência que reduzem os custos da produção de etanol de 2G (a partir de bagaço e palha de cana). Em um estudo de Fonseca et al. (2020) publicado no periódico **Biotechnology for Biofuels**, pesquisadores do Laboratório Nacional de Biorrenováveis (LNBR/CNPEM) desenvolveram o coquetel a partir de uma linhagem do fungo *Trichoderma reesei*.

Com modificações no fungo, os cientistas observaram uma produção de cerca de 80 g L^{-1} de enzimas, a mais alta já descrita em uma publicação científica a partir de fontes de carbono (açúcar) de baixo custo. Além da alta concentração de enzimas por g L^{-1} , o coquetel produzido pelo fungo geneticamente modificado também apresentou eficiência de sacarificação da ordem de 60-70%, números próximos aos vistos em coquetéis comerciais, muito mais caros (FONSECA, et al. 2020).

A tecnologia em questão encontra-se em estágio avançado de desenvolvimento e está na fase final de escalonamento em planta piloto. A produção do coquetel enzimático vem sendo acompanhada periodicamente e avaliações técnico-econômicas tem sido realizada detalhadamente, visto que a sua competitividade econômica é crucial para o desenvolvimento, consolidação e sucesso da tecnologia do etanol de segunda geração. Previsões otimistas indicam que a tecnologia poderia injetar mais 15 bilhões de litros do produto no mercado nacional.

4. CONCLUSÃO

O bagaço e a palha da cana-de-açúcar se apresentam como as biomassas mais promissoras para a produção do bioetanol, isso porque o Brasil já domina o mercado de etanol de primeira geração a partir da cana. Fato que aumentou o interesse pela utilização dos resíduos desse processo gerando diversos estudos acerca do tema. E foi justamente essa gama de estudos disponíveis que possibilitou a instalação de uma usina com produção industrial crescente de etanol 2G no país. A maior vantagem da utilização dessa biomassa é o fato de que as condições das etapas de produção do etanol lignocelulósico a partir dos resíduos da cana estão praticamente estabelecidos, facilitando sua aplicação em escala industrial. Entre os desafios, estão a otimização do processo para alcançar maiores eficiências e redução de custos em relação ao uso das enzimas. Além disso, há um gargalo nesse processo, que mostra que entre os resíduos da cana-de-açúcar, a palha apresenta melhores resultados quando comparada ao bagaço, em termos de conversão de celulose.

Os resíduos de café apresentaram, em geral, resultados inferiores aos da palha e bagaço de cana. Porém, são resultados satisfatórios levando-se em consideração o contexto dessa biomassa. Os resíduos de café podem ser explorados por meio da casca e da polpa, sendo assim essa é uma vantagem juntamente com o fato do Brasil ser um grande produtor desse insumo, visto que esses resíduos encontram certa dificuldade de aplicação em outros meios devido à presença de componentes adicionais. Essa composição, acaba dificultando também a produção do bioetanol, a maior dificuldade encontrada pelos autores foi a escolha do melhor complexo enzimático e sua carga.

Em relação às demais biomassas apresentadas, tanto os resíduos de milho como os de arroz possuem etapas a serem superadas, pois seus estudos ainda estão relativamente recentes. Apesar de já existirem estudos promissores que deram o pontapé inicial para explorar melhor o processamento dessas biomassas, são necessários mais estudos para definir e estabelecer as melhores condições de tratamento de cada biomassa de forma individual, pois cada uma delas possuem composições diferentes que podem dificultar as etapas do processo. Além disso, o direcionamento desses resíduos para a produção de etanol 2G enfrenta algumas dificuldades visto que em muitas lavouras são adotadas as técnicas de plantio direto, que pode acabar sendo mais viável para o produtor.

Por fim, é possível verificar que o etanol de segunda geração se apresenta como uma alternativa promissora no quesito biocombustíveis. Isso porque, além de representar uma das formas mais efetivas de reduzir as emissões de gases do efeito estufa, o etanol 2G pode, a longo e médio prazo, evitar o conflito no uso de terras para fins alimentícios.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, C. M. Hidrólise enzimática de resíduos lignocelulósicos utilizando celulasas produzidas pelo fungo *Aspergillus niger*. Dissertação (Mestrado) – Unioeste, Toledo, p. 106. 2010.

ALVES, R. E. Caracterização de fibras lignocelulósicas pré-tratadas por meio técnicas espectroscópicas e microscópicas ópticas de alta resolução. São Carlos, USP. p. 115, 2011.

ALVIRA, P, et al. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*, 101:4851-4861, 2010.

ANP- Agência Nacional de Petróleo, Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 2020.

AZZAM, A. M. Pretreatment of cane bagasse with hydrogen peroxide for enzymatic hydrolysis of cellulose and ethanol fermentation. *Journal of Environmental Science and Health B*, p.421-423. (DOI: 10.1080/03601238909372658) ,1989

BALAT, M., et al. - Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science*, 2008.

BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL; CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS. Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para desenvolvimento sustentável/organização. Rio de Janeiro, 2008.

BARCELOS, A. F. et al. Parâmetros Bromatológicos da casca e polpa desidratada de café em diferentes períodos. *Ciência Agrotecnologia*. Lavras, v. 26. n. 4. p. 780-790. 2002.

BASSO, L. C. et al. Yeast selection for fuel ethanol production in Brazil. *FEMS Yeast Research*, Amsterdam, v. 8, n. 7. p. 1155-1163,2008.

BEN Interativo. Disponível em: <<http://shinyepe.brazilsouth.cloudapp.azure.com:3838/ben/>>. Acesso em 25/05/2021.

BEZERRA, G. S. Avaliação da produção simultânea de xilitol e etanol a partir do bagaço de sisal Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCEN. João Pessoa, 2016.

BRIENZO, M. Extração de hemicelulose do bagaço de cana-de-açúcar para produção de xilo-oligossacarídeos. Tese de Doutorado. Lorena, USP, 137p. 2010.

BRODEUR,G. et al. Chemical and Physicochemical Pretreatment of Lignocellulosic Biomass: A Review. *Enzyme Research*, Tallahassee, p.1-17, 2011.

- CABRAL, A. C. et al. Milho (*Zea mays*) uma cultura energética. *Acta Iguazu*. Cascavel, vl. n.4. p. 47-54, 2012
- CARLI, C. M – Hidrólise e fermentação do bagaço de cana-de-açúcar em escala de bancada para a produção de etanol de 2G. Dissertação (Mestrado), UFSCAR, São Carlos, 2011.
- CARMO, J. R., Produção de etanol e pectinase por *Kluyveromyces marxianus* CCT 4086 utilizando resíduos do processamento de café (*Coffea arabica* L.). Tese de Doutorado. Lavras: UFLA, 2013.
- CARVALHO, L. L. M. Estudo da hidrólise e fermentação de resíduos de milho (*Zea mays*) para produção de etanol de segunda geração. 67p, 2016.
- CASTRO, R. C. A. Produção de etanol a partir da palha de arroz por sacarificação e fermentação simultânea empregando um reator agitado não convencional. Tese de Doutorado. USP, 223 p. 2016.
- CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS, Brasília. Bioetanol combustível: uma oportunidade para o Brasil. Brasília, 536p. 2009.
- CHOI, I. S. et al. Conversion of coffee residue waste into bioethanol with using popping pretreatment. *Bioresource Technology*, v. 125, p. 132–137, 2012.
- CHEMMÉS, C.S. et.al. Estudo de métodos físico-químicos no pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos para a produção de etanol de segunda geração. XII SEPA - Seminário Estudantil de Produção Acadêmica, UNIFACS, 2013.
- CORRÊA, L. J. Estudos de melhorias no processo de hidrólise enzimática de biomassas para produção de etanol. Tese de Doutorado, UFSCar, 113 p, 2016.
- CONAB- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira Café. V.6 – Safra 2020 – N.3 – Terceiro levantamento. Setembro de 2020. Disponível em: http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/levantamento/conab_safra_2020n3.pdf <>. Acesso em: 07/02/2021.
- CURVELLO, A. A. S. - Processos de deslignificação organossolve. Tese de Doutorado, USP, 110p, 1992.
- DASARI, R.K., BERSON, R.E. - The effect of particle size on hydrolysis reaction rates and Rheological Properties in cellulosic slurries. *Appl. Biochem. and Biotech.*, p. 288-299, 2007.
- DU PREEZ, J. C. et al. D-xylose fermentation by *Candida shehatae* and *Pichia stipitis* at low dissolved oxygen levels in fed-batch cultures. *Biotechnology Letters*, p.131-136, 1989.
- ERENO, D. Álcool de celulose: bagaço e palha de cana são cotados para aumentar a produção de etanol. *Revista Pesquisa FAPESP*, São Paulo, n. 133, mar. 2007. Disponível

em: <<http://revistapesquisa2.fapesp.br/extras/imprimir.php?id=3169&bid=1>>. Acesso em: 07/02/2021.

FACUNDES, B. C. Fungos filamentosos produtores de holocelulases prospectados em mata de galeria do cerrado tocantinense. Gurupi, UFT, 108p. 2014.

FERNANDES, I. et al. Caracterização do resíduo industrial casca de arroz com vistas a sua utilização como biomassa. Fórum Internacional de Resíduos Sólidos. São José dos Campos. Anais eletrônicos. São José dos Campos: Instituto Venturi, 2015. Disponível em: <<http://www.institutoventuri.org.br/ojs/index.php/firs/article/view/616/476>>. Acesso em: 20/12/2020.

FERREIRA, J.P.L. Avaliação do pré-tratamento ácido e hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração. UFP, Centro de Tecnologia em Desenvolvimento Regional. João Pessoa, 2018.

FIEDUREK, J. Technology for conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. Biomass and Bioenergy, v. 10, n. 5/6, p. 367-375, 1996.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAOSTAT), 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 18/01/2021.

FONSECA, L. M. et al. Engenharia racional da cepa *Trichoderma reesei* RUT-C30 em uma plataforma industrialmente relevante para a produção de celulase. *Biotechnol Biofuels* 13, 93 (2020). Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13068-020-01732-w>>. Acesso em: 21/02/2021.

FURLAN, V.J.M. Produção de bioetanol a partir de resíduos celulósicos da agroindústria do arroz. Dissertação (Mestrado). UFRG, Rio Grande- Rio Grande do Sul. 2009.

GARCIA, A.P.C. – Desenvolvimento de um processo integrado de pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar. Programa bolsa de verão. Curitiba, 2011.

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

GÍRIO, F. M. et al. Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. Bioresource technology, v. 101, p. 4775-4800, jul., 2010.

GOMES, M. A. Destoxificação de Hidrolisados Lignocelulósicos Visando à Obtenção de Etanol 2G. 94p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió - Alagoas, 2015.

GOUVEA, B. M., Torres, C., Franca, A. S., Oliveira, L. S., & Oliveira, E. S. (2009). Feasibility of ethanol production from coffee husks. *Biotechnology Letters*, 31(9), 1315–1319. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10529-009-0023-4>>. Acesso em: 07/01/2021.

- HIGUCHI, T. Biodegradation of lignin: biochemistry and potential applications. *Experientia*, 38(2):159-166, 1982.
- HORN, S. J., VAAJE-KOLSTAD, G., WESTERENG, B., EIJSINK, V.G.H. - Novel enzymes for the degradation of cellulose. *Biotechnology for Biofuels*, 5:45, 2012.
- JARDIM, H.A.S.P.M. - Projeto, construção e desenvolvimento metodológico de um aparelho de destilação. Estudo de caso: produção de etanol anidro via destilação extrativa utilizando glicerol. Dissertação (Mestrado). UFSCar,2014.
- KIRALLY, C. et al. Fermentability of hydrolyzate from sugarcane bagasse. Report on Semester Project, March-August, 2003.
- KOMURA, R.K. Investigação dos métodos de separação, uso e aplicação da Lignina proveniente da biomassa lignocelulósica. UNESP. p.50, 2015.
- LIM, J.S. et al. A review on utilisation of biomass from rice industry as a source of renewable Energy. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 16: 3084- 3094.
- LINO, A. G. Composição química e estrutural da lignina e lipídios do bagaço e palha da cana-de-açúcar. Viçosa, UFV, 97p.2015.
- LUCARINI, A. C. et al. Estudo da hidrólise enzimática da palha da cana de açúcar para produção de etanol de segunda geração. *The Journal of Engineering and Exact Sciences – JCEC* ISSN: 2446-9416. Vol. 03 N. 02 242–25. (2017)
- LYND, L. R. Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass: technology, economics, the environment, and policy. *Annual reviews, energy environment*, v. 21, p. 403–465, 1996.
- MAFIOLETTI, ROBSON, et al. “Produção de etanol nos Estados Unidos da América”. *Revista de Política Agrícola* , vol. 20, n ° 3, p. 96–107. 2011,
- MARTINS, C. Z. Avaliação da produção de etanol de segunda geração. Uberlândia, UFU, 2018.
- MENEZES, E.G. T. Produção de etanol utilizando resíduos do processamento úmido do café. Dissertação (Mestrado). UFLA. 235p. 2012
- MICHEL, Jr. R.J.S. Viabilidade técnica da produção de etanol a partir de farelo de arroz. Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola. Santa Maria, RS,2016.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, v.31, p. 426-428, 1959.
- MOOD, S. H. et al. Lignocellulosic Biomass to Bioethanol, a Comprehensive Review with a Focus on Pretreatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 27, p. 77–93, 2013.

MORO, M. K. Pré-tratamento da biomassa de cana-de-açúcar por extrusão com dupla-roscas. Rio de Janeiro, UFRJ, 107p. 2015.

MOSIER, N. et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.*, 96:673-686, 2005.

MUSSATO, S. I.; ROBERTO, I. C. Produção biotecnológica de xilitol a partir da palha de arroz. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, n. 28, p. 34-39, 2002.

MUSSATO, S. I. Sugars metabolism and ethanol production by different yeast strains from coffee industry wastes hydrolysates. *Applied Energy*, London, v. 92, p. 763-768, 2012.

NOVA CANA, 2020. Levantamento inédito detalha produção de etanol celulósico de Raízen e GranBio. Disponível em: <<https://www.novacana.com/>>. Acesso em 15/12/2020.

NOVA CANA, 2017. Etanol de segunda geração poderá ser economicamente viável a partir de 2025. Disponível em: <<https://www.novacana.com/>>. Acesso em 27/01/2021.

NYKO, D. et al. A corrida tecnológica pelos biocombustíveis de segunda geração: uma perspectiva comparada. *BNDES Setorial* 32, p. 5-48. 2010.

OLIVEIRA, L. R. M. Estudo de alternativas de pré-tratamento e hidrólise do bagaço e palha de cana-de-açúcar para obtenção de etanol a partir de celulose. USP - Lorena, 2012.

OLSSON, L., HAHN-HÄGERDAL, B., - Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production. *Enzyme and Microbial Technology*, 1996.

PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology*, v. 74, p. 25-33, 2000.

PANDEY, A. et al. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. *Biochemical Engineering Journal*, Amsterdam, v. 6, n. 2, p. 153-162. Oct. 2000.

PEDROSO, G. B. et al. Building block itaconic acid from left-over biomass. *Biomass Convers. Biorefin.* 2017.

PEREIRA, L.T.C. et al. Sugarcane bagasse enzymatic hydrolysis: rheological as criteria for impeller selection. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 38:901-907, 2011.

PEREIRA, S.C. et al. Uso integral da biomassa de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração. *Simpósio Nacional de Instrumentação Agropecuária. Ciência, Inovação e Mercado*. São Carlos, SP, 2014.

PEREZ, A. J. et al. Effect of process variables on liquid hot water pretreatment of wheat straw for bioconversion to fuel-ethanol in a batch reactor, 938(September), 929–938. 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jctb>> Acesso em: 19/12/2020.

PETROBRAS-Etanol Sem Fronteira. *Petrobras biocombustível*, 2014.

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

RABELO, S.C., Avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração, Unicamp. Tese de Doutorado, 447p, 2010.

RAELE, R. et al. Scenarios for the second generation ethanol in Brazil. *Technological Forecasting & Social Change*, v. 87, p. 205-223, set., 2014.

REIS, A. S. et al. Produção de carvão ativado a partir de casca de arroz. *Desafios*, v. 2, p. 89-103, dez. 2015.

REYES, J.; PERALTA-ZAMORA, P.; DURÁN, N. Hidrólise enzimática de casca de arroz utilizando-se celulases. Efeito de tratamentos químicos e fotoquímicos. *Química Nova*, v. 21, n. 2, p. 140-143, 1998.

ROCHA, G.J.M.et al. - Steam explosion pretreatment reproduction and alkaline delignification reactions performed on a pilot scale with sugarcane bagasse for bioethanol production. *Industrial Crops and Products*, 35:274-279, 2012.

ROCHA, M.S.R. et al. Pré-tratamento hidrotérmico de resíduos do milho visando à produção de etanol de segunda geração. *Scientia Plena*.VOL. 13, NUM. 03. 2017

ROSSETTI, R. P. Determinação de Fenóis Totais em Frutos do Café: Avaliações em Diferentes Fases de Maturação, 72. 2007.

SAAD, M. B. W. Avaliação técnica e econômica preliminar da produção de etanol via hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar. Lorena, EEL-USP, 138p. 2010.

SAENGER, M. et al. Combustion of coffee husks. *Renewable Energy*, Oxford, v. 23, n. 1, p. 103-121, 2001.

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

SANTOS, L. C. dos. Tratamento oxidativo de cascas de café com ozônio com vistas à produção de biogás e etanol 2G. Universidade Federal de Ouro Preto. 2017.

SANTOS, M. S. R. Estudo de Pré-Tratamentos de Palha e Sabugo de Milho Visando a Produção de Etanol 2G. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió Alagoas, 2014.

SARKAR, N. et al. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy*, v. 37, n. 1, p. 19-27, jan., 2012.

SILVA, A. S. et al. Sugarcane and Woody Biomass Pretreatments for Ethanol Production. *Sustainable Degradation of Lignocellulosic Biomass – Techniques, Applications and Commercialization*, 1 ed., chapter 3, Rijeka, Croatia, Intech, 2013.

SILVA, C. E. F. Avaliação do Potencial de uso de Resíduos do Processamento de Frutas na Produção de Etanol 2G. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió - Alagoas. 2014.

SILVA, G. A. Perspectivas para a produção de etanol lignocelulósico. In: simpósio estadual de agroenergia, 2008, Porto Alegre. Palestra... Porto Alegre, 2008. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/livro/agroenergia_2008/Agroener/palestras/quarta-feira/agroenergia_RS.pdf>.

SILVA, G.M. Avaliação de diferentes configurações de hidrólise enzimática e fermentação utilizando bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol 2G. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos-SP. 2015.

SILVA JR. J. M. Água e agronegócio. Canal do Produtor. São Paulo - SP. 2015.

SILVA, M.D., Produção de etanol de segunda geração por *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 26602 a partir da hidrólise ácida de sabugo de milho (*Zea mays* L.). São José do Rio Preto, 2018.

SILVA, M.G.E. et al. Produção de Etanol de Segunda Geração: Uma Revisão. *Pensamento Plural: Revista Científica da UNIFAE*, v.4, n.2, 2010.

SILVA, N. C. S. Avaliação do pré-tratamento hidrotérmico da casca de café na hidrólise enzimática e produção de Biogás. Manuscrito, 123p, 2019.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, v. 83, p.1-11, maio, 2002.

SILVA, N. L. C. Produção de bioetanol de segunda geração a partir de biomassa residual da indústria de celulose. *Dissertação de mestrado do programa de Pós-graduação em tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos*. Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, 2010.

SILVA, V.F.N. Estudos de prétratamento e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapas no processo de produção do etanol celulósico Dissertação (Mestrado) Lorena, SP, 2009.

UDOP, 2020. Novo impulso ao etanol celulósico no país. Disponível em: <<https://www.udop.com.br/>>. Acesso em: 15/12/2020.

UNICA, 2020. Atualização quinzenal da safra 2020/2021-2ª quinzena de dezembro. Disponível em: <<https://unica.com.br/>>. Acesso em: 19/02/2021.

UNICA, 2020. Uso do etanol evita 515 milhões de toneladas de CO2 na atmosfera. Disponível em: <<https://unica.com.br/noticiasnew/uso-do-etanol-evita-515-milhoes-de-toneladas-de-co2-na-atmosfera/>>. Acesso em 26/05/2021.

VASCONCELOS, S. M. Pré-tratamento hidrotérmico e com ácido fosfórico diluído de bagaço de cana-de-açúcar para aplicação em biorrefinarias. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2012.

VIEIRA, R. C. et al. Estudo do processo de hidrólise de resíduos lignocelulósicos do milho para produção de bioetanol. In: XX congresso brasileiro de engenharia química, v. 1, n. 2, 2015, Florianópolis. Blucher Chemical Engineering Proceedings, 2015.

WANDERLEY, M.C.A. et al. - Increase in ethanol production from sugarcane bagasse based on combined pretreatments and fedbatch enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 128:448–453, 2013

WANG, M. et al. *Advances Biochemistry Engineering Biotechnology* 128: p.1-24. 2012.

WANG, X. et al. Application of Ultrasonic Waves in Activation of Microcrystalline Cellulose. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 109, n. 5, p.2762-2767, 2008.

ZABED, H. et al. Fuel ethanol production from lignocellulosic biomass: An overview on feedstocks and technological approaches. *Renewable and sustainable energy reviews*, v. 66, p. 751-774, dez., 2016.

ZHANG, B. et al. - Hot-water pretreatment of cattails for extraction of cellulose. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 38:819–824, 2011.

ZHAO, D; LI, Y.R. Climat e change and sugarcane production: potential impact and mitigation strategies. *International Journal of Agronomy*, 2015.

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