



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA**

**APROVEITAMENTO DE BIOMASSA RESIDUAL LIGNOCELULOLÍTICA DA  
INDÚSTRIA DE ABATE DE BOVINOS PARA OBTENÇÃO DE BIOETANOL**

**Aluno:** Lara Neiva de Siqueira

**Orientador:** Emerson Adriano Guarda

**PALMAS – TO**

**2016**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA**

**APROVEITAMENTO DE BIOMASSA RESIDUAL LIGNOCELULOLÍTICA DA  
INDÚSTRIA DE ABATE DE BOVINOS PARA OBTENÇÃO DE BIOETANOL**

**Aluno:** Lara Neiva de Siqueira

**Orientador:** Emerson Adriano Guarda

**Dissertação apresentada à Universidade Federal do Tocantins como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Agroenergia (Área de concentração Tecnologias de transformação).**

**PALMAS – TO**

**2016**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

- S618a     Siqueira, Lara Neiva de .  
            Aproveitamento de biomassa residual lignocelulolítica da indústria de abate de bovinos para obtenção de bioetanol. / Lara Neiva de Siqueira. – Palmas, TO, 2016.  
            75 f.
- Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Agroenergia, 2016.  
Orientador: Emerson Adriano Guarda
1. Biomassa. 2. Produção de etanol. 3. Frigorífico. 4. Hidrólise enzimática. I. Título

**CDD 333.7**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**



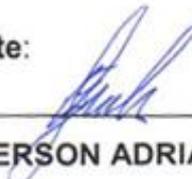
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA

APROVEITAMENTO DE BIOMASSA RESIDUAL LIGNOCELULOLÍTICA DA  
INDÚSTRIA DE ABATE DE BOVINOS PARA OBTENÇÃO DE BIOETANOL

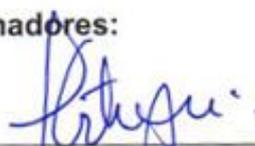
LARA NEIVA DE SIQUEIRA

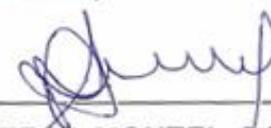
COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. EMERSON ADRIANO GUARDA, DSc.

Examinadores:

  
\_\_\_\_\_  
TARSO DA COSTA ALVIM, DSc.

  
\_\_\_\_\_  
ADÃO LINCON BEZERRA MONTEL, DSc.

Data da Defesa: 04 / 04 / 2016

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas PGA para o formato da  
Dissertação foram contempladas

  
\_\_\_\_\_  
Prof. DSc Emerson Adriano Guarda

## DEDICATÓRIA

*Ofereço: a Deus.*

*Dedico:*

*Aos meus pais Igineraldo e Genainda;*

*Aos meus irmãos Cejana e Cândido;*

*Ao meu esposo Luciano;*

*Pelo carinho e incentivo.*

## AGRADECIMENTOS

É com muita satisfação que agradeço:

À Universidade Federal do Tocantins e ao Programa de Mestrado em Agroenergia, pela oportunidade de participar deste curso na a linha de pesquisa Processos de obtenção de biocombustíveis e avaliação de aproveitamento de seus resíduos.

Ao meu orientador prof. Dr. Emerson Adriano Guarda pela oportunidade, orientação, confiança e incentivo à conclusão deste trabalho, além da agradável convivência durante estes dois anos.

À Geane, secretária executiva do Mestrado em Agroenergia e Cleilda, estagiária do Mestrado em Agroenergia, pela paciência e zelo com todos os discentes.

À empresa Novozymes pela doação das enzimas, e à COOPERFRIGU pela doação das biomassas utilizadas neste projeto.

Aos professores do Programa de Mestrado em Agroenergia pelos conhecimentos transmitidos, amizade e sugestões, que contribuíram muito para minha firmeza em ser pesquisadora.

Aos funcionários do Laboratório de Pesquisa e Ensino de Química; Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia Ambiental e; Laboratório de Instrumentação Científica, pela disposição durante as análises experimentais. Agradeço principalmente à Rachel e ao Álvaro, servidores do Lapeq, que auxiliaram durante toda execução das análises experimentais.

Aos alunos da graduação em Engenharia Ambiental, que sempre estavam no Laboratório, dispostos a aprender e, muitas vezes, auxiliar. Agradeço especialmente à Aluna Roseanne, bolsista de Iniciação Científica, sua ajuda

durante as análises experimentais iniciais foram primordiais para a condução deste trabalho, e com certeza, a amizade fica para sempre.

Agradeço a todos que conheci na Universidade Federal do Tocantins, aos colegas de disciplina, nenhum de vocês sabe a importância que tiveram em minha vida. Ao Dener, Robson e Fabrícia que disponibilizaram grande parte do pouco tempo que tinham, para me auxiliar e ensinar.

À minha amiga doutoranda Thaysi, pelas noites que passamos juntas no laboratório, pois, devido às obrigações com a família e trabalho, nos restavam apenas as noites para condução dos experimentos.

Aos meus pais Igineraldo e Genainda, meus irmãos Cejana e Cândido e meu esposo Luciano, por todo amor, carinho e por tudo o que fizeram e continuam fazendo por mim, não posso esquecer da paciência que todos tiveram comigo, nos dias de desespero para cumprimento dos prazos e pela minha ausência.

À Deus pela minha vida, e ao meu mentor espiritual por estar ao meu lado nos momentos de alegria e dificuldades.

Creio que esta dissertação seja resultado de muito trabalho, cujo merecimento não está somente em um esforço pessoal, pode-se dizer que ele é compartilhado com todos que convivi, pelas ideias, contribuições, ou apenas pela paciência em me ouvir.

A todos do meu convívio, MUITO OBRIGADA.

## RESUMO

SIQUEIRA, Lara Neiva. Aproveitamento de biomassa residual lignocelulolítica da indústria de abate de bovinos para obtenção de bioetanol. 2016. 75 p. Dissertação (Mestrado em Agroenergia) – Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2016.

Devido à busca por biomassas alternativas, de baixo custo e com elevada concentração de celulose, para produção de etanol de 2ª geração – ou lignocelulolítico – realizou-se este estudo com o resíduo proveniente da linha verde de abatedouros de bovinos, resíduo produzido em larga escala no Brasil e no Estado do Tocantins. O maior desafio enfrentado pelas empresas do ramo do abate de bovinos é o grande volume de resíduos gerados. Os resíduos da linha verde compreendem esterco de currais, vômitos, conteúdo estomacais, conteúdo intestinal, resíduos do tanque de purificação de gorduras e outros. Tais resíduos são expedidos, geralmente, para incineradores ou para compostagem. O estudo foi conduzido na Universidade Federal do Tocantins, Palmas – TO, com objetivo de determinar a composição química da biomassa sólida, proveniente da filtragem de todo líquido da linha verde, bem como da biomassa líquida, para avaliar seu uso na produção de etanol lignocelulolítico. Os resultados observados mostraram que a biomassa residual sólida tratada apresentou 57% de celulose e as biomassas, sólida sem pré-tratamento e sólidos suspensos apresentaram 30% e 27%, respectivamente. Isto demonstra que os valores obtidos nas análises laboratoriais ficaram bem próximos do apresentado na literatura para outras biomassas residuais utilizadas como fonte de celulose na produção do etanol de 2º geração. Todas as biomassas foram pré-tratadas em autoclave por 20 minutos a 121° C, sendo que apenas a amostra sólida passou por um pré-tratamento químico antes do início da etapa de hidrólise. Foi realizada a hidrólise enzimática utilizando-se enzima comercial celulase Cellic CTEC2. A quantidade de açúcares na amostra foi determinada por CLAE obtendo-se rendimentos na hidrólise de 0,22% para a amostra Líquida (Li), 2,67% para a amostra Sólida sem Pré-tratamento (SI), 69,83% para a amostra Sólida com pré-tratamento (SII) e 2,40% para a amostra sólidos suspensos (Ss). A concentração de etanol para as biomassas Li e Ss não foi passível de detecção por CLAE e o rendimento de etanol para SII foi de 56%, demonstrando que esta biomassa possui potencial para produção de bioetanol.

**Palavras-chave:** biomassa, produção de etanol, frigorífico, hidrólise enzimática.

## ABSTRACT

SIQUEIRA, Lara Neiva. Exploitation of lignocellulolytic residual biomass from cattle slaughter industry to obtain bioethanol. 2016. 75 p. Dissertation (Master's degree in Agroenergy) - Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2016.

Due to search for alternative biomasses, that are low cost and high in cellulose concentration, for the production of 2nd generation ethanol - or lignocellulolytic - this study was carried out with the waste from the green line of slaughterhouse cattle, which is produced on a large scale in Brazil and in the State of Tocantins. The biggest challenge faced by companies of cattle slaughter is the large volume of waste that is generated, for instance, in the green line it includes cattle manure, vomiting, stomach contents, intestinal contents, residues of fat purification tank and others and these residues are mostly taken to incinerators or composting. This study, which was conducted at the Universidade Federal do Tocantins, in Palmas city – Tocantins state, aimed to determine the chemical composition of solid biomass from the filtration of all the liquid in the green line and the liquid biomass to evaluate its use in the lignocellulolytic ethanol production. The observed results have shown that the treated solid biomass waste had 57% cellulose, the solid biomass waste without pretreatment and the suspended solids had 30% and 27%, respectively. This demonstrates that the values obtained in laboratory tests were very close to what appears in literature for other residual biomass that were used as a source of cellulose for the production of 2nd generation ethanol. All the biomass were pretreated by autoclaving for 20 minutes at 121 ° C, but only the solid sample underwent a chemical pretreatment before the hydrolysis step. Also, the commercial cellulase enzyme: Cellic CTEC2 was used to carry the enzymatic hydrolysis. The amount of sugars in the sample was determined by HPLC (high-performance liquid chromatography) which has shown a hydrolysis yield of 0,22% for the liquid sample (Li), 2,67% for the solid sample without pretreatment (SI), 69,83% for the solid sample with pretreatment (SII) and 2,4% for the one with suspended solids (Ss). The concentration of ethanol for Li and Ss biomasses was not susceptible to detection by HPLC and the yield of ethanol to SII was 56%, which shows that it has the potential for bioethanol production.

**Keywords:** biomass, ethanol production, slaughterhouse, enzymatic hydrolysis.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	17
2.1 PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS NO BRASIL E NO MUNDO.....	17
2.2 RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS .....	19
2.2.1 Sistemas de criação de bovinos e alimentação .....	21
2.2.2 Atividade microbológica no rúmen.....	23
2.2.3 Resíduo da Linha Verde de frigoríficos .....	24
2.3 ETANOL DE 1° E 2° GERAÇÃO .....	25
2.4 COMPOSIÇÃO DE BIOMASSA LIGNOCELULOLÍTICA .....	25
2.5 PRÉ-TRATAMENTO.....	30
2.5.1 Processo alcalino .....	33
2.6 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE MATERIAL LIGNOCELULOLÍTICO .....	33
2.7 FERMENTAÇÃO DO HIDROLISADO .....	36
2.8 ETANOL, SOCIEDADE E O MEIO AMBIENTE .....	36
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.1 FLUXOGRAMA DO PROJETO .....	38
3.2 PREPARAÇÃO DO MATERIAL.....	39
3.2.1 Aquisição da biomassa .....	39
3.2.2 Nomenclatura das amostras .....	40
3.2.3 Preparo inicial da biomassa .....	41
3.2.4 Pré-tratamento .....	41
3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	42
3.3.1 Determinação do teor de celulose.....	42
3.3.2 Determinação do teor de lignina .....	43
3.4 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA.....	44
3.5 FERMENTAÇÃO .....	45
3.6 QUANTIFICAÇÃO DOS AÇÚCARES E DO ETANOL.....	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	48
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA LIGNOCELULOLÍTICA.....	48
4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS GERADOS NAS REAÇÕES DE HIDRÓLISE .....	50
4.3 CONCENTRAÇÃO DE GLICOSE E RENDIMENTO DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA .....	51
4.4 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA.....	55
4.5 PRODUÇÃO ALCOÓLICA.....	57
5 CONCLUSÃO .....	59
6 SUGESTÕES.....	60
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
7 APÊNDICE .....	71

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 7 - Gráfico representativo da evolução do abate de bovinos por trimestre no Brasil. ....	22
FIGURA 8 - Fermentação de carboidratos no rúmen. ....	24
FIGURA 1 - Estrutura simplificada das fibras de material lignocelulolítico. ....	26
FIGURA 2 - Estrutura molecular da celulose, formada por várias unidades consecutivas de celobiose. ....	27
FIGURA 3 - Fibras de celulose na parede das células vegetais. ....	27
FIGURA 4 - Açúcares que compõem as unidades de hemicelulose. ....	29
FIGURA 5 - Efeito do pré-tratamento em materiais lignocelulolíticos. ....	31
FIGURA 6 - Esquema simplificado da hidrólise por celulases. ....	35
FIGURA 9 - Fluxograma de conversão de resíduo lignocelulolítico em açúcares fermentescíveis e etanol. ....	38
FIGURA 10 - (a) detalhe da peneira hidrodinâmica de separação do conteúdo da Linha Verde, todo o resíduo entra na estrutura, e na “carretinha” coleta-se a parte sólida que segue para compostagem e no tanque (que está em constante movimentação) recolhe-se o conteúdo líquido; (b) coleta do resíduo líquido. ....	39
FIGURA 11 - (a) amostra líquida, com detalhe para a decantação dos sólidos suspensos, material que compôs a amostra denominada (sólidos suspensos); (b) amostra sólida. ....	40
FIGURA 12 - Detalhe da Incubadora refrigerada Shaker no início da hidrólise. ..	45
FIGURA 13: Conversão estequiométrica da glicose a etanol e dióxido de carbono (equação de Gay-Lussac). ....	47
FIGURA 14 - Percentual de celulose, lignina e cinzas das biomassas. ....	50
FIGURA 15 - Valores dos rendimentos da hidrólise para cada biomassa, em porcentagem (%). ....	54
FIGURA 16 - Rendimento teórico da produção de etanol. ....	57

## LISTA DE TABELAS

TABELA 3 - Ingestão e desaparecimento da celulose no rúmen. ....	24
TABELA 1 - Composição morfológica de algumas espécies lignocelulolíticas (valores em %). ....	26
TABELA 2 - Processos de pré-tratamento da biomassa para posterior hidrólise enzimática. ....	32
TABELA 4 - Nomenclatura adotada para as biomassas analisadas. ....	40
TABELA 5 - Composição da biomassa lignocelulolítica residual proveniente do abate de bovinos. ....	48
TABELA 6 - Natureza dos possíveis açúcares que foram encontrados ao final da hidrólise enzimática de biomassa residual da linha verde do abate de bovinos...	51
TABELA 7 - Concentrações de glicose após 72 horas de hidrólise enzimática. ..	52
TABELA 8 - Valores de rendimento obtidos após a hidrólise (%). ....	53
TABELA 9 - Concentrações de glicose e etanol ao final da hidrólise enzimática e final da fermentação alcoólica. ....	55
TABELA 10 - Concentração de etanol, rendimentos por grama de biomassa e glicose obtidas da hidrólise enzimática e fermentação das amostras. ....	56

## LISTA DE ABREVIações

<b><math>\mu\text{L}</math></b>	Microlitro
<b>AFEX</b>	Ammonia Fiber Explosion
<b>B100</b>	Concentração 100 % de Biodiesel
<b><math>\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}</math></b>	Etanol
<b><math>\text{Ca}(\text{OH})_2</math></b>	Hidróxido de Cálcio
<b>CLAE</b>	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
<b><math>\text{CO}_2</math></b>	Dióxido de Carbono
<b>COGEN</b>	Associação da Indústria de Cogeração de Energia
<b>COOPERFRIGU</b>	Cooperativa dos Produtores de Carne de Gurupi
<b>ETANOL 1G</b>	Etanol de Primeira Geração
<b>ETANOL 2G</b>	Etanol de Segunda Geração
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América
<b>Flex-Fuel</b>	Do inglês flexible-fuel vehicle - FFV ou veículo de combustível duplo
<b><math>\text{H}_2\text{SO}_4</math></b>	Ácido Sulfúrico
<b>HCl</b>	Ácido Clorídrico
<b>Laptec</b>	Laboratório de Pesquisa e Ensino de Química
<b>Li</b>	Biomassa residual Líquida
<b>MAPA</b>	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
<b>MMA</b>	Ministério do Meio Ambiente
<b>MME</b>	Ministério de Minas e Energia
<b>NaOH</b>	Hidróxido de Sódio
<b>PA</b>	Para Análise: é utilizado para denominação de reagentes de alto grau de pureza e confiabilidade, geralmente padrões primários
<b>Pró-Álcool</b>	Programa Nacional do Álcool
<b>SI</b>	Biomassa residual Sólida sem pré-tratamento
<b>SII</b>	Biomassa residual Sólida com pré-tratamento
<b>Ss</b>	Biomassa residual Sólidos Suspensos

## 1 INTRODUÇÃO

Por motivos econômicos, geopolíticos e ambientais, pesquisadores e sociedade civil organizada têm intensificado a busca por fontes alternativas de energia, em especial os combustíveis verdes, ecologicamente mais aceitáveis, os biocombustíveis. O bioetanol é bastante interessante neste cenário, pois pode utilizar resíduos agrícolas, e a reutilização e reciclagem destes resíduos pode minimizar parte dos problemas ambientais ligados ao seu acúmulo e diminuir a produção de combustíveis de origem fóssil (CARVALHO, 2011).

De acordo com Ferreira (2015), o termo biocombustível é atribuído a combustíveis líquidos ou gasosos que tenham aplicação no setor de transporte e, predominantemente, produzidos a partir de biomassa. Dentre os principais combustíveis produzidos a partir destes recursos naturais, pode-se destacar o etanol.

A utilização de biomassa para uso no setor de transportes tem sido um fato histórico desde 1920, período decorrente da Primeira Guerra Mundial, onde começou a se produzir compostos de álcool, éter etílico e óleo de mamona, como substitutos da gasolina. Posteriormente a esta data, no Brasil houve uma iniciativa do governo para substituir em larga escala os combustíveis veiculares derivados de petróleo por álcool combustível (etanol), programa Pró-álcool na década de 70 (KOHLHEPP, 2010; LACERDA, 2012; FERREIRA, 2015).

Segundo Kohlhepp (2010), o Brasil, com base na discussão mundial sobre a substituição das energias fósseis por energias renováveis, teve em 2002 que retomar os princípios do programa Pró-álcool. Foi uma fase de euforia do etanol, quando então, foram apresentados os veículos com motor flex-fuel, que começaram a ser produzidos em larga escala no país. Atualmente, faz-se a escolha do tipo de combustível para abastecer o veículo de acordo com o preço.

Conforme Furlan (2009), o bioetanol, etanol produzido a partir de resíduos vegetais ou fontes vegetativas não utilizadas para alimentação humana, é o biocombustível com perspectivas mais promissoras para o futuro, pois não é dependente de reservas petrolíferas, é obtido de fontes renováveis e apresenta baixos níveis de emissões de gases relacionados ao efeito estufa. O bioetanol pode ser definido como uma energia proveniente de recursos renováveis, obtido

por meio da fermentação de açúcares, podendo substituir total ou parcialmente a gasolina (GHATAK, 2011; LIN et al., 1998)

Atualmente a produção em larga escala de bioetanol ou etanol de primeira geração, depende de amido e/ou açúcares fermentescíveis, obtido a partir de culturas alimentares ou de culturas que ocupam áreas que poderiam estar sendo ocupadas por grandes culturas que fornecem alimento aos seres humanos. Neste contexto, o bioetanol lignocelulolítico utiliza biomassa residual ou matérias-primas que não competem com as culturas alimentares, podendo ser mais rentáveis economicamente, que matérias-primas agrícolas convencionais (ALVIRA et al., 2010; DEMIRBAS, 2009; DEMIRBAS, 2011).

O aproveitamento de resíduos lignocelulolíticos, para obtenção de etanol por meio da sacarificação de sua fração celulósica tem sido comumente chamado de etanol de segunda geração. Mas, para que este processo se torne atrativo e viável, é necessário submeter a fração de biomassa a um processo de pré- tratamento e posterior hidrólise. O pré-tratamento pode partir de combinações químicas, processos físicos ou biológicos naturais e/ou comerciais, que visem aumentar o rendimento da biomassa na etapa da hidrólise para que os polímeros de celulose sejam convertidos em unidades fermentescíveis de açúcares (OLIVEIRA, 2010; WATANABE et al., 2015; MILANEZ et al., 2015).

Veras e Povinelli (2004) comentam que os resíduos sólidos compõem hoje um dos problemas mais relevantes enfrentados pela humanidade. O acentuado crescimento demográfico e tecnológico vem aumentando substancialmente a quantidade de resíduos sólidos desprezados pelo homem, e esta questão assume proporções ainda maiores, pois se verifica a redução da disponibilidade de áreas para disposição dos resíduos e o seu alto potencial de contaminação do meio ambiente.

Sendo assim, menciona-se que o aumento da produção de bovinos e subprodutos da atividade agropecuária, bem como da agroindustrial, tem gerado uma grande quantidade de resíduos sólidos e líquidos, constituindo assim um problema de ordem social, econômica e ambiental (VALENTE et al., 2009).

O maior desafio enfrentado pelas empresas do ramo do abate de bovinos é o grande volume de resíduos gerados, visto que os resíduos do frigorífico são diluídos e divididos em tubulações contendo sangue, chamada de

linha vermelha, e a linha verde para onde são encaminhados os despejos de lavagem dos currais, lavagem e preparo do bucho com os conteúdos estomacais, tripas e pança. A designação de linha verde se deve à presença de fezes bovinas que conferem uma cor verde aos despejos (BRAILE, 1971; MARTINS, 2012).

De acordo com Martins (2012), nos abatedouros os resíduos sólidos considerados como rejeitos são aqueles em que não há algum tipo de reaproveitamento para a fabricação de subprodutos, tais como esterco de currais, vômitos, conteúdo estomacal, conteúdo intestinal, resíduos do tanque de purificação de gorduras. Tais resíduos são expedidos, geralmente, para incineradores ou para compostagem.

O uso do conteúdo residual da linha verde pode se tornar uma opção para produção de açúcares de uso industrial ou de biocombustíveis além de propiciar a análise da eficiência da hidrólise enzimática visando à produção de bioetanol.

Neste trabalho, quantificou-se a produção de açúcares fermentescíveis, a partir de hidrólise enzimática com enzima comercial, da biomassa residual de frigorífico, visando avaliar o percentual de hidrólise. Além disto procurou-se quantificar a produção de etanol carburante a partir de fermentação com *Saccharomyces cerevisiae*, do resíduo sólido proveniente da linha verde de abatedouros de bovinos, estabelecendo condições que obedecem a critérios de produtividade e de eficiência.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS NO BRASIL E NO MUNDO

O mundo enfrenta atualmente uma dependência das fontes energéticas fósseis, que são utilizados para a produção de combustível, energia elétrica e outros bens que fazem com que a economia global continue crescendo com intensidade (UIHLEIN; SCHEBEK, 2009). A produção de combustíveis a partir de biomassa é uma alternativa sustentável aos combustíveis fósseis e o etanol tem sido um dos biocombustíveis bastante utilizados em veículos automotores no mundo (DEMIRBAS, 2009).

Os combustíveis produzidos a partir de biomassa, ou mais popularmente conhecidos como biocombustíveis podem e futuramente serão, os mais populares substitutos dos combustíveis fósseis, pois de acordo com o protocolo de Kyoto há metas específicas para cada país no que tange a diminuição nas emissões de gases que poluem a atmosfera (SARKAR et al., 2012). Trata-se de combustíveis renováveis como o bioetanol, biodiesel, biohidrogênio e outros, que são produzidos a partir de fontes de oleaginosas, gramíneas, algas, ou mesmo biomassas residuais (SARKAR et al., 2012).

Segundo Ghatak (2011), há expectativas que haverá um aumento hábil de interesse por parte dos governos, e mesmo da iniciativa privada, para os biocombustíveis líquidos, pois houve grande acréscimo na demanda por veículos com motor de combustão convencional, quer em estado puro ou em mistura, com combustíveis fósseis como a mistura de etanol à gasolina e biodiesel ao diesel combustível.

De acordo com avaliação realizada por Demirbas (2011), o futuro dos combustíveis fósseis está contado, pois os fabricantes de veículos atuais e modernos têm adotado modelos que utilizem mais de um tipo de combustível, dando liberdade de opção ao consumidor, e com características menos poluentes. Sua avaliação denota que a gasolina e o gás natural estão, atualmente com uma disponibilidade excelente, mas que em um futuro próximo esta disponibilidade pode se tornar moderada. Entretanto, o futuro do bioetanol, biodiesel e célula

combustível de hidrogênio são excelentes no que tange a disponibilidade, mas que atualmente o autor avaliou como disponibilidade moderada.

A produção de biocombustíveis a partir de resíduos agrícolas tem crescido bastante em continentes como a Ásia, Europa e América, visto que na América do Norte observa-se uma maior produção a partir de biomassa proveniente da palha do milho e na América do Sul a partir do bagaço da cana-de-açúcar. No continente Asiático tem-se estudado bastante a produção de bioetanol a partir da palha de arroz e palha do trigo, expressamente devido à disponibilidade destas biomassas naquele continente. Concomitantemente, há uma produção considerável de bioetanol a partir da hidrólise da palha de trigo na Europa (BALAT; BALAT; OZ, 2008; KIM; DALE, 2004).

As grandes plantações de oleaginosas colocam o Brasil em uma posição de destaque pelo enorme potencial para a produção do biocombustível líquido conhecido como biodiesel. A matriz energética nacional conta com matérias primas como o óleo de soja, sebo bovino, óleo de frituras, sementes de algodão entre outros (LAVIOLA; ALVES, 2011).

A produção de biodiesel se tornou uma alternativa louvável de substituição aos combustíveis fósseis, e sua utilização em misturas de biodiesel ao diesel vem apresentando um potencial promissor no mundo inteiro, devido a sua enorme contribuição ao meio ambiente, com a redução dos níveis de poluição ambiental, estabelecendo-se como nova fonte de energia renovável em substituição ao diesel puro e outros derivados do petróleo (SOUZA et al., 2009).

No Brasil, a mistura de biodiesel puro (B100) ao óleo diesel passou a ser obrigatória a partir de 2008. Entre janeiro e junho de 2008, a mistura de biodiesel puro (B100) ao óleo diesel foi de 2%; entre julho de 2008 e junho de 2009 foi de 3%; entre julho e dezembro de 2009 foi de 4% e entre janeiro de 2010 e junho de 2014 foi de 5%. Entre julho e outubro de 2014 o teor de mistura de biodiesel ao óleo diesel foi de 6% e a partir de novembro de 2014 passou a ser de 7%, em volume (MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, 2015a).

Pela, a Portaria Nº 516, de 11 de Novembro de 2015 do MME - Ministério de Minas e Energia, publicada no Diário Oficial da União em 12 de Novembro de 2015, atualmente fica estabelecido em seu Artigo 1º que os atuais percentuais autorizados de mistura voluntária de biodiesel ao óleo diesel, ficam

fixados em 20% em frotas cativas ou consumidores rodoviários atendidos por ponto de abastecimento; 30% no transporte ferroviário; 30% no uso agrícola e industrial; e até 100% no uso experimental, específico ou em demais aplicações (MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, 2015b).

Conforme (ASSOCIAÇÃO DA INDÚSTRIA DE COGERAÇÃO DE ENERGIA, 2016), o setor energético tem enfrentado diversas "crises sistêmicas", que estão, cada dia mais deixando de assegurar o abastecimento de energia elétrica à população, à indústria e dificultando o avanço tecnológico do país. As indústrias, o comércio e o setor de serviços estão tendo a oportunidade de adotar sistemas de geração distribuída, onde utilizando fontes primárias de energia (biomassa e/ou gás natural), geram, consomem e administram suas necessidades de energia elétrica e térmica.

O plantio de cana-de-açúcar para produção de açúcar e álcool já é bastante elevado no Brasil, principalmente no Sudeste do país, e o bagaço da cana-de-açúcar, resíduo gerado em grande escala nas usinas, vem sendo utilizado no processo de cogeração, em que o procedimento mais simples consiste na produção de energia térmica a partir da queima do bagaço. (ASSOCIAÇÃO DA INDÚSTRIA DE COGERAÇÃO DE ENERGIA, 2016).

## 2.2 RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

Os resíduos agroindustriais são hoje um dos principais problemas de cunho ambiental enfrentado pela humanidade. O notável crescimento demográfico seguido do grande desenvolvimento tecnológico vem aumentando consideravelmente a quantidade de resíduos sólidos e líquidos refugados pelo homem, problemática que assume proporções ainda maiores, na medida em que se verifica a redução da disponibilidade de áreas para disposição dos rejeitos e o seu alto potencial de contaminação do meio ambiente (VERAS; POVINELLI, 2004).

Este crescimento acelerado na produção de resíduos vem desafiando a natureza e provocando enormes impactos, pois a sua taxa de geração é bem maior que sua taxa de degradação. Entretanto, em razão da implantação de leis ambientais mais severas, que valorizam o gerenciamento ambiental, tem havido

uma conscientização gradual dos efeitos nocivos provocados pelo despejo contínuo de resíduos sólidos e líquidos no meio ambiente (VALENTE et al., 2009; MARTINS, 2012).

A enorme demanda por alimentos ocasionada pelo crescimento populacional e econômico proporcionou aos vários sistemas agropecuários e agroindustriais o aumento da produção, a fim de suprir o grande consumo por parte da população. Concomitantemente, devido à globalização, há possibilidades maiores de exportar produtos, o que tem levado a um crescimento ainda maior destas unidades de produção, principalmente nos países em desenvolvimento (VALENTE et al., 2009).

Existe uma preocupação cada vez maior em todos os setores e classes sociais, pois o respeito que uma empresa precisa ter pelo meio ambiente está diretamente relacionado à sua aceitação pública. A empresa precisa preocupar-se em não gerar poluentes ou gerá-los na menor quantidade possível, sem afetar a qualidade do produto final (LEITE; PAWLOWSKY, 2005). Ligada a esta questão está o mercado, que também exige das empresas uma atuação transparente e concreta na preservação dos componentes do meio ambiente, que deve se materializar pela realização de atividades que apresentem um menor impacto ambiental (VALENTE et al., 2009).

Porém, há certa dificuldade em distinguir resíduo de lixo, visto que os restos de um processo produtivo ou resíduo, em geral, são matérias primas com potencial para compor outro tipo de processo (LEITE; PAWLOWSKY, 2005).

De acordo com Demajorovic (1995) os resíduos se distinguem do termo lixo, pois os rejeitos ou lixo consistem na parte inaproveitável dos resíduos e não possui valor para comercialização, e em sua disposição final deve ser considerada sua inativação, neutralização, descontaminação e/ou desintoxicação. Os resíduos agroindustriais podem ter valor agregado, pois possibilitam o reaproveitamento no próprio processo produtivo, ou podem fazer parte de outros processos.

Os resíduos das atividades agroindustriais e agropecuárias possuem, na grande maioria, grandes concentrações de material orgânico, e seu lançamento em corpos hídricos causa diminuição na concentração de oxigênio

dissolvido, o que provoca a morte dos animais aquáticos por asfixia (MATOS, 2005).

Devido à grande quantidade gerada de resíduos agroindustriais, o aproveitamento destes pode ser vantajoso para a empresa e sociedade em geral, podem agir como substrato ou biomassa em processos biotecnológicos, inclusive na indústria do etanol de segunda geração. As vantagens desta utilização se baseiam nos fatos de serem abundantes e de baixo custo; não liberam gás carbônico e possuem baixo conteúdo de enxofre; há potencial econômico graças ao aumento no preço dos combustíveis fósseis (DEMIRBAS; DEMIRBAS, 2007).

### **2.2.1 Sistemas de criação de bovinos e alimentação**

A pecuária bovina, em especial a de corte, tem por tradição a exploração quase que exclusiva de pastagens, e seu crescimento se deu com a expressiva expansão da fronteira agrícola e a inclusão de novas áreas. Porém passou a assumir maior importância econômica, somente quando se verificou um aumento da proporção de novo sangue exótico, mediante a introdução das raças zebuínas no Brasil Central e as raças europeias especializadas para corte na região Sul do país, que se deu no final do século XIX e início do XX (PIRES, 2010).

A pecuária de corte se tornou estável nos últimos anos, inseriu-se no mercado internacional como fator competitivo e importante produtora de alimentos. A pecuária bovina é desenvolvida em todos os Estados brasileiros e representa importante atividade econômica com papel de destaque no equilíbrio da balança comercial do país (PIRES, 2010).

De acordo com Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2015), no 3º trimestre de 2015 foram abatidas 7,56 milhões de cabeças de bovinos sob algum tipo de serviço de inspeção sanitária. Essa quantidade foi 0,9% menor que a registrada no trimestre imediatamente anterior (7,62 milhões de cabeças) e 10,8% menor que a apurada no 3º trimestre de 2014 (8,47 milhões de cabeças). A figura 7 mostra a evolução do abate de bovinos por trimestre, desde o 1º trimestre de 2010.

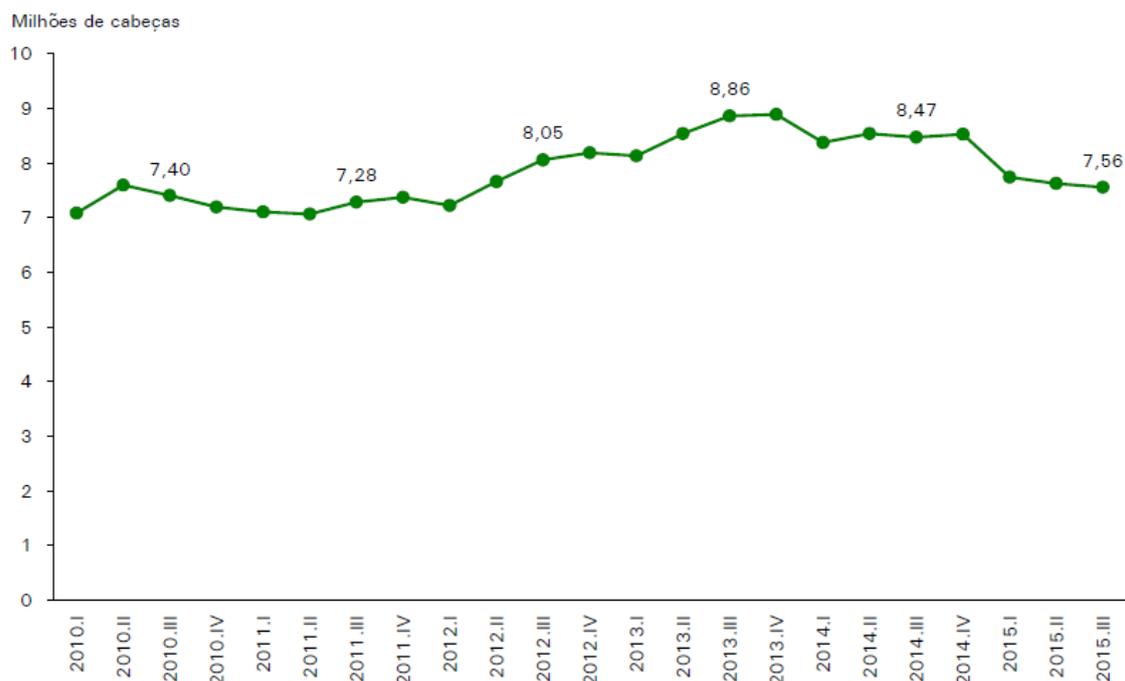


FIGURA 7 - Gráfico representativo da evolução do abate de bovinos por trimestre no Brasil.  
 FONTE: IBGE (2015).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2016) publica, anualmente, dados oficiais brasileiros sobre o rebanho bovino que atualmente, é de cerca de 210,65 milhões de cabeças de bovinos, sendo que 8,11 milhões cabeças se encontram no Estado do Tocantins. De maneira geral, a pecuária de corte é a principal atividade econômica deste Estado, sendo que 42,8% das propriedades adotam a exploração extensiva (67,0% da criação). As raças predominantes na região são as zebuínas destinadas à produção de carne.

O sistema de produção predominante no Estado do Tocantins é o Extensivo que depende basicamente de pastagens, restringindo a suplementação alimentar ao fornecimento de sais minerais. O sistema semi-intensivo é praticado em algumas regiões do Estado, seguido de uma simplória representação do sistema intensivo, visto que se torna necessário a suplementação com silagens, ração, concentrados proteicos, sal mineral, entre outras fontes de suplementos proteico/minerais para garantir a engorda e sobrevivência do animal no período de seca maio-novembro (BARBOSA et al., 2015).

O milho e o sorgo são bastante utilizados no Estado do Tocantins no período de seca como complemento alimentar na forma de silagem ou *in natura*. A conservação de forragem através da ensilagem, embora mais dispendiosa do

que o uso direto de pastagem, já é considerada recomendada e viável nos períodos de estiagem (PEREIRA et al., 2008).

O avanço na nutrição de ruminantes é bastante expressivo. Entretanto, este progresso, na maioria das vezes, baseou-se em determinações empíricas que desconsideravam as múltiplas inter-relações microbianas no rúmen, uma vez que o tipo de alimento altera a população de microrganismos, taxa de passagem do alimento, a motilidade e a velocidade de absorção dos nutrientes com impacto sobre a digestão dos ruminantes (BERCHIELLE; PIRES; OLIVEIRA, 2011).

### **2.2.2 Atividade microbiológica no rúmen**

O sistema digestivo dos animais ruminantes favorece a existência de populações microbianas constituídas por bactérias, protozoários e fungos anaeróbicos, que oferecem a função de fermentação de alimentos fibrosos. O rúmen fornece um ambiente favorável ao desenvolvimento contínuo da população microbiana, atuando como câmara de fermentação, pelos seguintes fatores: a) temperatura média de 39° C; b) anaerobiose; c) pH tampão em torno de 6,8; d) entre outros (BERCHIELLE; PIRES; OLIVEIRA, 2011).

As bactérias atuam em função dos substratos utilizados e dos produtos de fermentação, e são classificadas: a) digestoras de celulose ou celulolíticas; b) digestoras de amido ou amilolíticas; c) digestoras de hemicelulose; d) bactérias fermentadoras de açúcares; e) bactérias que utilizam ácido; f) archaeobactérias metanogênicas; g) bactérias digestoras de proteína ou proteolíticas; h) bactérias digestoras de gordura ou lipolíticas; i) bactérias que hidrolisam a ureia; e j) bactérias produtoras de amônia a partir de compostos nitrogenados (LANA, 2005).

Nos animais ruminantes parte dos carboidratos sofre fermentação microbiana no rúmen (ação das enzimas celulase, celobiase, amilase, sacarase, dentre outras), a figura 8 exemplifica o esquema da fermentação de carboidratos no rúmen.

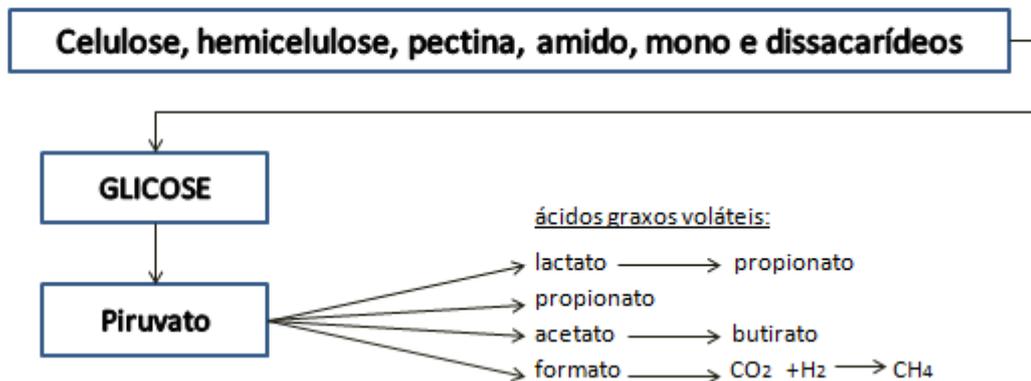


FIGURA 8 - Fermentação de carboidratos no rúmen.  
 FONTE: adaptado de LANA, 2005.

A maior parte da celulose é digerida no rúmen (70 a 90% do total digestível), outros 10 a 30% são digeridos no intestino grosso (Tabela 3).

TABELA 3 - Ingestão e desaparecimento da celulose no rúmen.

Dieta	Celulose ingerida (g/dia)	Desaparecimento da celulose ingerida (%)		
		Rúmen	Intestino Delgado	Intestino Grosso
Feno picado	249	91	0,2	0,8
Capim verde	223	93	-4,2	10,8
Feno (67%), cevada (33%)	179	84	0,4	15,5
Feno (33%), cevada (67%)	107	56	14,4	29,4

FONTE: adaptado de LANA, 2005.

### 2.2.3 Resíduo da Linha Verde de frigoríficos

A pecuária é uma forma de exploração concentradora de dejetos animais, que possuem grande carga poluidora do solo, ar e água. As águas residuárias do processamento de animais como nos abatedouros, são bastante poluidoras e podem conter gordura, sólidos orgânicos e inorgânicos. Os resíduos da linha verde dos abatedouros ou frigoríficos de bovinos são constituídos por esterco da lavagem dos currais, conteúdo estomacal (rúmen, tripa ou seja, todo conteúdo da pança do animal), conteúdo intestinal, o que confere a cor verde a este resíduo (MATOS, 2005).

O resíduo líquido proveniente da filtragem de todo o despejo da linha verde, após a filtragem e separação da parte sólida, que segue para a compostagem, necessita de um tratamento prévio para atender as exigências da legislação ambiental, Resolução do CONAMA nº 430/2011 (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2011), que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, pois é de extrema importância diminuir os riscos de contaminação dos efluentes antes do lançamento no corpo receptor.

### 2.3 ETANOL DE 1º E 2º GERAÇÃO

O álcool etílico ou etanol ( $C_2H_5OH$ ) é produzido há muitos anos pela fermentação dos açúcares encontrados em produtos vegetais como grãos de milho, cereais, beterraba e cana. Este é o etanol conhecido como etanol de primeira geração, ou Etanol 1G, visto que grande parte do etanol industrial produzido atualmente é por meio da sacarificação do amido de milho, principalmente nos EUA (Estados Unidos da América) e por meio da fermentação do caldo de cana-de-açúcar no Brasil (BASTOS, 2007).

Existem dois tipos de etanol o álcool anidro, que é praticamente puro, com um teor alcoólico entre 99,3 e 99,8 (v/v), utilizado atualmente como aditivo na gasolina, e o álcool hidratado que contém um teor alcoólico entre 92,6 e 93,8 (v/v), que é produzido e comercializado para ser utilizado puro nos motores (SCANDIFFIO, 2005).

A produção de bioetanol a partir da biomassa lignocelulolítica é conhecida como a segunda geração de biocombustíveis, ou Etanol 2G, e em seu processamento são envolvidas tecnologias avançadas e promissoras (BASTOS, 2007).

### 2.4 COMPOSIÇÃO DE BIOMASSA LIGNOCELULOLÍTICA

A maior parte da composição das biomassas lignocelulolíticas é de celulose e hemicelulose, aproximadamente 60-70%, o que pode variar entre os diversos tipos de biomassa, pois depende de fatores como origem, composição e estrutura (LIMAYEM; RICKE, 2012; LEE, 1997). São complexos polímeros de

carboidratos que contém lignina, celulose, hemicelulose, proteínas e cinzas. Há também outros compostos, em menor quantidade, como extrativos não nitrogenados (ENN), amido e ácidos graxos (HAMELINCK; VAN HOOIJDONK; FAAIJ, 2005). A proporção de cada componente difere de planta para planta (Tabela 1).

TABELA 1 - Composição morfológica de algumas espécies lignocelulolíticas (valores em %).

	<b>Celulose</b>	<b>Hemicelulose</b>	<b>Lignina</b>	<b>Referências</b>
<b>Bagaço de cana</b>	42,7	21,6	18,4	Hayn et al., (1993); Georgieva et al., (2008); Pandey et al., (2000).
<b>Palha de Trigo</b>	36,5	20,6	17,6	Hayn et al., (1993); Saha; Cotta (2006).
<b>Palha de milho</b>	36	23,9	17,8	Esteghlalian et al., (1997); Saha; Cotta (2006).
<b>Palha de Arroz</b>	34,7	25,9	17,5	Karimi et al., (2006); Lee (1997).

Na Figura 1, está representado um desenho esquemático da estrutura das fibras dos vegetais lignocelulolíticos.

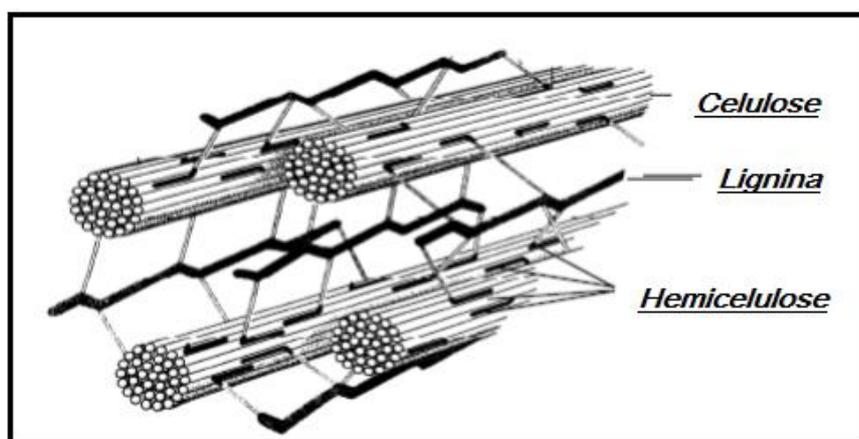


FIGURA 1 - Estrutura simplificada das fibras de material lignocelulolítico. FONTE: VÁSQUEZ (2007).

A fração celulósica é um polímero linear de celobiose (dímero glicose-glicose) (figura 2), que compreende aproximadamente 40-60% da matéria seca, e a posição das ligações e as pontes de hidrogênio adicionais, tornam este polímero rígido e difícil de ser quebrado. A hidrólise da celulose gera glicose, um

açúcar de seis carbonos, cuja fermentação pelo *Saccharomyces cerevisiae* gera como produto o etanol (HAMELINCK; VAN HOOIJDONK; FAAIJ, 2005).

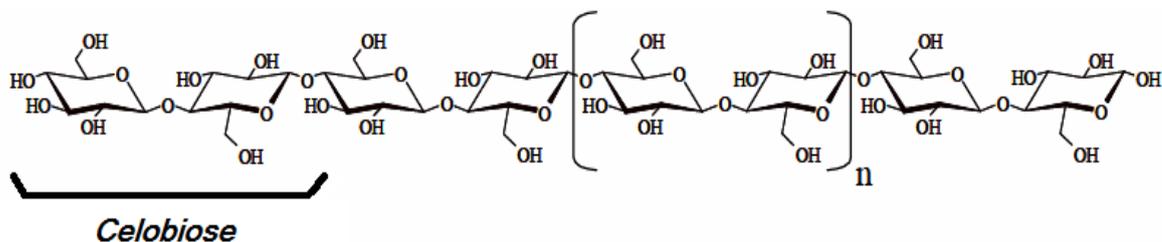


FIGURA 2 - Estrutura molecular da celulose, formada por várias unidades consecutivas de celbiose.

FONTE: adaptado de FURLAN (2009).

O alto grau de cristalinidade da celulose e sua capacidade de formar fibras tornam sua estrutura impenetrável à água, e quanto maior a sua proporção cristalina, maior é a resistência ao ataque enzimático (FURLAN, 2009).

A estrutura da fibra vegetal é formada devido à ocorrência das ligações de pontes de hidrogênio entre os grupos de hidroxilas (celulose), formando as microfibrilas. Estas, por sua vez, se agregam em fibrilas mais robustas, as macrofibrilas (fibras), que se alinham para formar as paredes das células vegetais (LACERDA, 2012). O esquema de formação da parede da célula vegetal está didaticamente esquematizado na Figura 3.

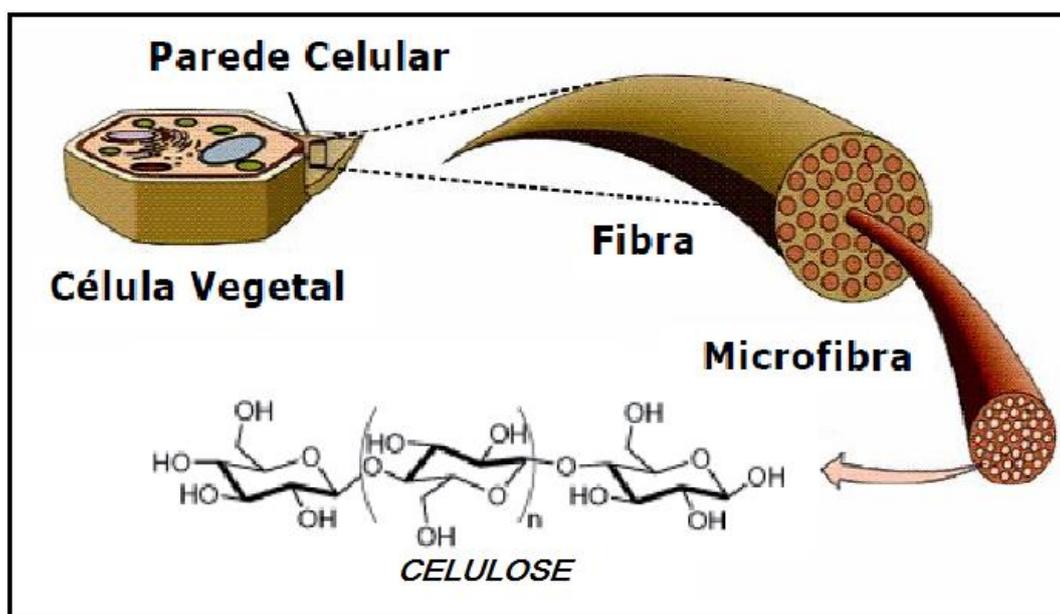


FIGURA 3 - Fibras de celulose na parede das células vegetais.

FONTE: adaptado de FURLAN (2009).

As hemiceluloses são polímeros ramificados compostos por polissacarídeos com baixa massa molecular, depositada na parede celular em um estágio anterior à lignificação. Sua estrutura apresenta ramificações e cadeias laterais que interagem facilmente com a celulose, contribuindo para a rigidez da parede celular das plantas em tecidos lignificados. Apresenta maior susceptibilidade à hidrólise ácida, devido ao caráter relativamente amorfo, com grande polidispersidade e grau de polimerização inferior a celulose. É composta por unidades diferentes de açúcares tais como, manose, galactose, xilose, arabinose, etc, podendo ainda apresentar quantidades variáveis de ácidos urônicos e desoxi-hexoses (KOOTSTRA et al., 2009).

A hemicelulose, também chamada de poliose, não é um composto propriamente químico, mas sim uma classe de componentes poliméricos presentes em vegetais fibrosos, onde cada componente possui propriedades peculiares (AGBOR et al., 2011; VÁSQUEZ, 2007).

Agbor et al., (2011) discutem que graças a combinação dos diversos açúcares e pelo fato de ser uma molécula amorfa, a hemicelulose é mais solúvel em água e mais fácil de ser degradada que a celulose e a lignina. É possível que a hemicelulose funcione como um revestimento às fibrilas de celulose dentro da célula vegetal, por conseguinte, propõe-se que pelo menos 50% da hemicelulose sejam removidos, para aumentar de forma significativa a digestibilidade da celulose. A figura 4 demonstra alguns dos açúcares que compõem as unidades de hemicelulose.

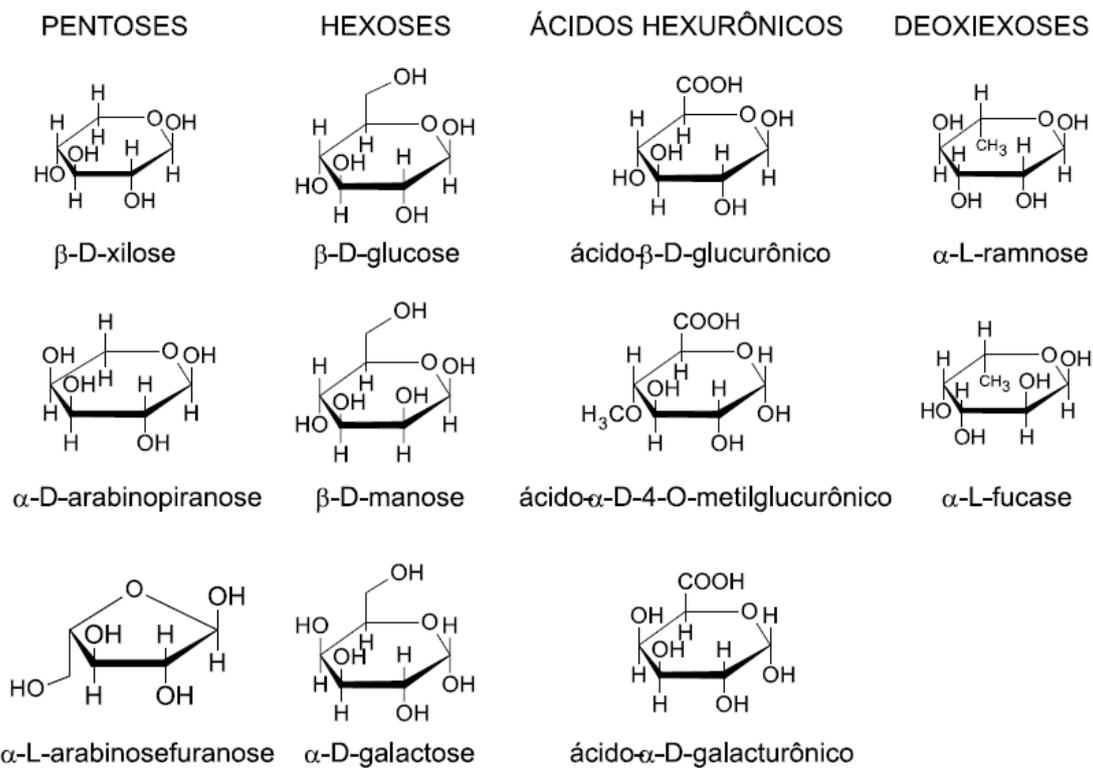


FIGURA 4 - Açúcares que compõem as unidades de hemicelulose.  
 FONTE: MORAIS et al. (2005).

A lignina não possui moléculas simples de açúcar e não é interessante para a produção de bioetanol por vias fermentativas, mas desempenha papel muito importante, pois forma uma matriz rígida que comporta as fibras de celulose e hemicelulose, formando uma barreira à umidade e microorganismos, além de dar a função de coesão às células vegetais (BURTON; GIDLEY; FINCHER, 2010). Trata-se da macromolécula mais importante entre os materiais lignocelulolíticos (AGBOR et al., 2011) e representa 10-25% de todos os materiais lignocelulolíticos, sendo que todo processo de produção de etanol, terá a lignina como resíduo (HAMELINCK; VAN HOOIJDONK; FAAIJ, 2005).

A fibra de lignina apresenta entraves para os processos industriais, logo, para possibilitar o uso de materiais lignocelulolíticos em processos biotecnológicos, torna-se necessário remover a lignina, que pode ser utilizada na produção de quelantes por oxidação enzimática, compor adesivos pela extração da lignina de madeiras, produção de vanilina que é utilizada na criação de aromas artificiais, e muitos outros processos, ou seja, a lignina possui características importantes para a indústria química (GONÇALVES; OVIEDO, 2002; EL

MANSOURI; SALVADÓ, 2006; PRIEFERT; RABENHORST; STEINBÜCHEL, 2001).

A lignina também possui efeitos prejudiciais, apesar de ser considerada uma barreira física da célula vegetal, pois pode causar adsorção irreversível das enzimas hidrolíticas sobre as ligninas; perturbação e adsorção (não-produtiva) das enzimas celulolíticas sobre complexos lignina-carboidrato; e toxicidade dos derivados da lignina aos microrganismos (AGBOR et al., 2011).

De acordo com Hamelinck; Van Hooijdonk; Faaij (2005) a hemicelulose e a lignina atuam como uma capa protetora ao redor da celulose, que deve ser removida antes do processo de hidrólise para produção de etanol, pois a estrutura cristalina da celulose a torna insolúvel e resistente ao ataque de enzimas. Portanto, para tornar o processo de hidrólise e produção de açúcares eficiente e economicamente viável é necessário submeter a biomassa a um processo de pré-tratamento.

## 2.5 PRÉ-TRATAMENTO

O pré-tratamento da biomassa é o processo mais importante na produção de biocombustíveis (SARKAR, 2012). Tem a função de aumentar a área de superfície da biomassa modificando as microfibras de celulose, ou seja, reduzindo sua cristalinidade, removendo hemicelulose e lignina, para torná-la digerível por enzimas (Figura 5). A modificação nas características estruturais da matriz lignocelulolítica pode ser realizada por vários tipos de pré-tratamentos, os quais são classificados em físicos, químicos, físico-químicos e biológicos. O pré-tratamento deve ser escolhido com base no componente que se deseja isolar, e se será mantida ou não a sua integridade física (LYND; ELANDER; WYMAN, 1996).

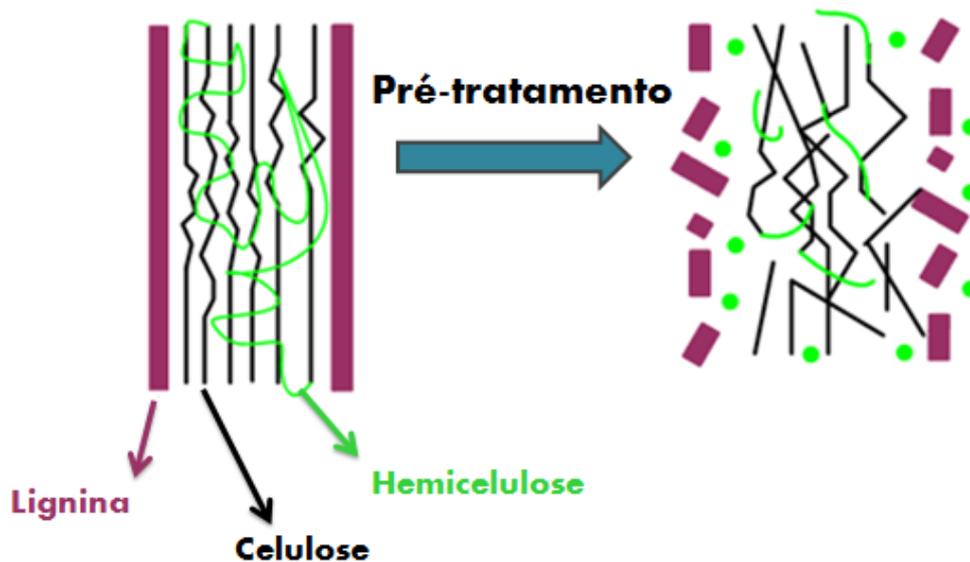


FIGURA 5 - Efeito do pré-tratamento em materiais lignocelulolíticos.  
 FONTE: adaptado de SANTOS et al. (2012).

Lee (1997) discute que o pré-tratamento é uma das etapas mais onerosas do processamento de biomassa para produção de etanol. O pré-tratamento só será considerado hábil se a acessibilidade ao ataque das enzimas for maximizada e a formação dos co-produtos inibidores for minimizada. Entretanto, só será considerado ideal se: proporcionar uma boa desagregação da estrutura do material lignocelulolítico; evitar a formação de produtos que degradam os açúcares; impedir a formação de microrganismos inibidores da fermentação; não produza resíduos sólidos; tenham um grau simples de operacionalização e; que tenham um custo operacional reduzido (MOSIER et al., 2005; SUN; CHENG, 2002; LYND; ELANDER; WYMAN, 1996).

Alguns autores, tais como Sun e Cheng (2002), Mosier et al. (2005), Balat (2011) e Sarkar et al. (2012), Santos et al. (2012), Hamelinck; van Hooijdonk; Faaij (2005) estudaram e aperfeiçoaram alguns métodos de pré tratamento (Tabela 2), à citar: explosão a vapor, explosão com amônia (AFEX), explosão com CO<sub>2</sub>, que são exemplos de processos físico-químicos de pré-tratamento. Os tratamentos químicos incluem hidrólise com ácido diluído, por meio alcalino, ozonólise, deslignificação oxidativa e os processos de pré-tratamento *Organosolv*. Os processos biológicos são utilizados em uma frequência menor, mas nem por isso são menos importantes, e envolvem, em sua maioria, o uso de fungos.

TABELA 2 - Processos de pré-tratamento da biomassa para posterior hidrólise enzimática.

Pré-tratamento	Reagente Químico	Descrição	Tempo de Reação	Temperatura /Pressão
<b>Tratamento Térmico</b>	Não	Utiliza água quente e alta pressão (pressões acima do ponto de saturação) para hidrolisar a hemicelulose.	45s -4 min.	190-230°C
<b>Explosão a vapor</b>	Não	A biomassa triturada é tratada com vapor, seguido de uma rápida descompressão.	2 min.	160-269°C
<b>Hidrólise Ácida</b>	Ácido	Utiliza ácido sulfúrico, clorídrico, ou nítrico concentrados ou diluídos.	2-10 min.	>160°C
<b>Hidrólise Alcalina</b>	Base	Utiliza bases como hidróxido de sódio ou cálcio.	2-10 min.	160-260°C
<b>Explosão a vapor catalisada</b>	Ácido	Adição de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ou CO <sub>2</sub> .	-	160-220°C
<b>AFEX (ammonia fiber explosion)</b>	Amônia	Exposição à amônia líquida a alta temperatura e pressão por certo tempo, seguida de uma rápida descompressão.	30 min.	90°C
<b>Explosão de CO<sub>2</sub></b>	CO <sub>2</sub>	Similar à explosão a vapor.	-	56,2 bar

FONTE: adaptado de (HAMELINCK; VAN HOOIJDONK; FAAIJ, 2005).

Em experimentos com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluído constatou-se que foram alcançadas altas taxas de hidrólise; em tratamentos com NaOH e Ca(OH)<sub>2</sub> verificou-se a remoção de grupos acetil da hemicelulose e também houve remoção da lignina, diminuindo o impedimento estérico provocado por tais grupos e aumentando o acesso da enzima à fibra (ALVIRA et al., 2010).

Nada obstante à existência de vários tipos e métodos de pré-tratamento, não há evidências de que algum deles atingiu um nível técnico superior e suficientemente com alto rendimento, para que seja tomado como uma técnica altamente viável em escalas comerciais. Na maioria dos casos uma técnica é utilizada para complementar outra e aumentar a eficiência da primeira, ou seja, uma técnica de moagem pode ser empregada para melhorar o pré-

tratamento por explosão a vapor em função da redução no tamanho das partículas da biomassa (TAHERZADEH; KARIMI, 2007).

Ainda no tocante à escolha do tipo de pré-tratamento ao qual a biomassa será submetida Taherzadeh; Karimi (2007) mencionam que o método escolhido para o pré-tratamento deverá ser compatível como o método selecionado para a hidrólise da celulose. Como exemplo, um método de pré-tratamento alcalino não é sugerido no caso de uma hidrólise ácida.

A inexistência de um processo de pré-tratamento pode inferir em uma hidrólise lenta e com rendimentos inferiores a 20% do valor teórico (LYND et al., 2002; TAHERZADEH; KARIMI, 2007).

### **2.5.1 Processo alcalino**

O pré-tratamento alcalino consiste na remoção da lignina da biomassa, para que seja reduzida a cristalinidade da celulose, e que esta fique disponível à enzima. Trata-se de um dos processos químicos de pré-tratamento mais estudados, pois separa as ligações entre lignina e carboidratos, reduz o grau de polimerização e porosidade da matéria prima (SARKAR et al., 2012; SUN; CHENG, 2002).

As bases mais utilizadas neste processo são hidróxido de sódio, potássio, cálcio e amônio, sendo que são utilizadas menores temperatura e pressão, quando comparado com outros processos. O efeito do pré-tratamento alcalino varia de acordo com as concentrações de álcalis empregadas, tempo reacional, bem como das combinações de pH e temperatura em condições moderadas (SARKAR et al., 2012).

## **2.6 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE MATERIAL LIGNOCELULOLÍTICO**

A hidrólise é um processo que visa o máximo aproveitamento dos polímeros da biomassa, quebrando as macromoléculas de celulose e hemicelulose, e oferecendo a possibilidade, de maneira seletiva, de conversão de hemicelulose em monossacarídeos (principalmente xilose e manose) e de celulose em D-glicose (ARAUJO; WANG, 1980).

A hidrólise enzimática já está bastante consolidada e seu uso é bastante vantajoso devido à alta especificidade das reações enzimáticas, em razão das condições amenas de reação, além de ter pouca modificação química e formação de subprodutos. A hidrólise enzimática ocorre mediante contato direto da enzima com a biomassa, para então poder catalisar a hidrólise (CHANG; HOLTZAPPLE, 2000).

Para Lehninger (1991) a conversão enzimática da celulose para glicose ocorre devido às especificidades das enzimas que degradam a celulose, que são chamadas de enzimas celulolíticas ou de celulases. Para que ocorra total quebra da celulose durante o processo de hidrólise são necessários três tipos de celulase: endocelulase, celobio-hidrolases e  $\beta$ -glicosidase.

Cada celulase tem papel fundamental na degradação da celulose. A endocelulase quebra a cadeia de celulose nas regiões amorfas aleatoriamente, o que produz oligômeros curtos (ou seja, ficam expostas mais extremidades). A celobiohidrolase se liga nas extremidades das cadeias e forma em caráter mais importante, glicose e celobiose. Em seguida, a  $\beta$ -glicosidase cliva a celobiose e libera duas moléculas de glicose (BALAT, 2011; TAHERZADEH; KARINI, 2007; ZHANG; LYND, 2004). Este esquema está disposto na Figura 6.

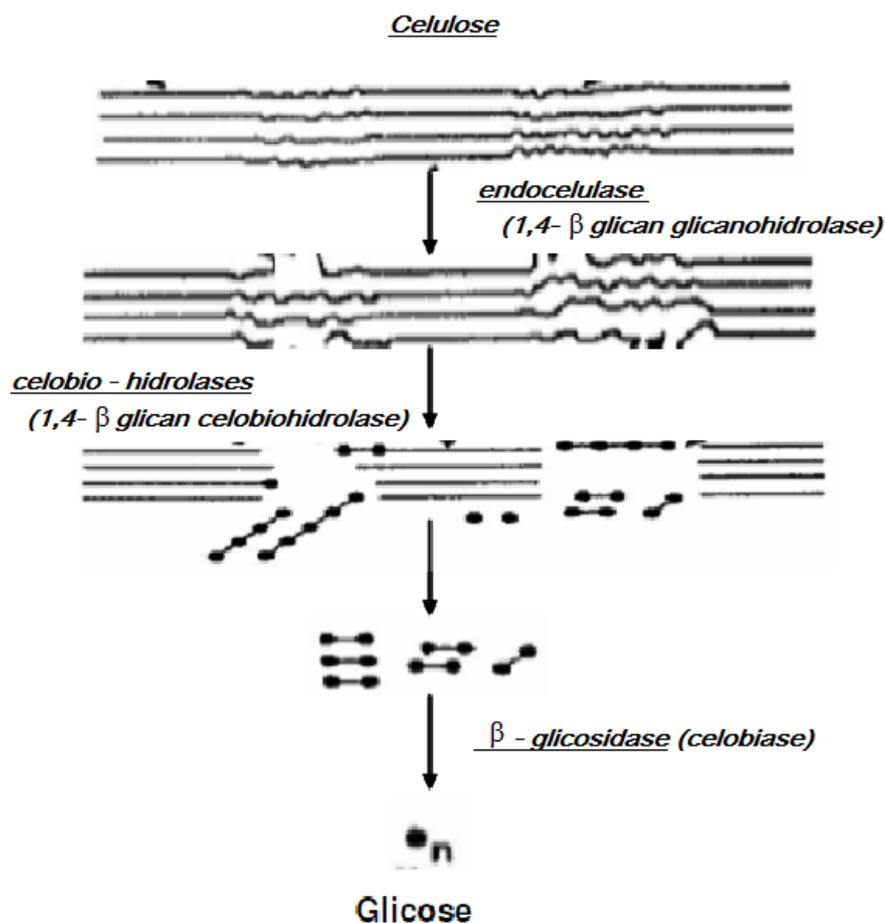


FIGURA 6 - Esquema simplificado da hidrólise por celulases.  
 FONTE: adaptado de FURLAN (2009).

A hidrólise enzimática não leva à formação de resíduos tóxicos da catálise tais como, ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural (CHANG; HOLTZAPPLE, 2000). Alguns fatores podem afetar o processo de hidrólise da celulose, como a atividade da celulase que é influenciada pela temperatura, pH, concentração do substrato e outros parâmetros. Logo, é muito importante que sejam otimizados os processos de hidrólise reforçando a atividade das enzimas, pois isto melhora, substancialmente, o rendimento do processo (SUN; CHENG, 2002)

São fatores que influenciam para a recalcitrância dos materiais lignocelulolíticos no momento da hidrólise: grau de polimerização e cristalinidade da celulose; a área superficial acessível da biomassa; proteção da celulose pela lignina; característica heterogênea da biomassa e; revestimento da celulose pela

hemicelulose (MOSIER et al., 2005; AGBOR et al., 2011). A heterogeneidade da biomassa influencia diretamente na hidrólise enzimática (BERLIN et al., 2006).

## 2.7 FERMENTAÇÃO DO HIDROLISADO

A fermentação da glicose é, em suma, realizada por meio do uso da levedura *Sacharomyces cerevisiae*, que já é bastante utilizada no meio industrial por ter apresentado melhores resultados de desempenho na conversão de glicose a etanol e melhores rendimentos no que tange a produtividade (LEE, 1997). A partir do momento que os inibidores são controlados, a fermentação ocorre sem maiores problemas (LIMAYEM; RICKE, 2012).

Os açúcares liberados após o processo de hidrólise são formados por uma mistura de hexoses e pentoses, e para que a conversão da biomassa a etanol seja sustentável e economicamente viável torna-se necessário a utilização de linhagens capazes de fermentar não somente glicose, mas também outros açúcares tais como xilose e arabinose (HAHN-HÄGERDAL et al., 2006)

## 2.8 ETANOL, SOCIEDADE E O MEIO AMBIENTE

O setor de transporte é o que mais cresce nos países em desenvolvimento, visto que a demanda mundial por petróleo tende a crescer substancialmente até 2030, especialmente em países populosos e em expansão como China e Índia (FULTON, 2004). Portanto, encontrar fontes complementares e substitutas à gasolina e ao diesel é uma questão de segurança e de estratégia global.

O etanol causa menos impacto ao meio ambiente, em caso de vazamentos, que o petróleo e seus derivados. Trata-se de um combustível biodegradável, miscível em água, higroscópico e volátil quando exposto ao ar. Visando reduzir a emissão de poluentes por veículos automotores, adiciona-se, em média 22% de álcool etílico anidro combustível à gasolina, mundialmente conhecida como gasolina brasileira, pois o país é o que adotou um percentual maior de etanol adicionado à gasolina (CORDAZZO; MALISKA; CORSEUIL, 2000).

Strapasson e Job (2006) alertam que, devido ao aumento das preocupações ambientais, o etanol torna-se uma alternativa bastante vantajosa em relação aos combustíveis fósseis, em especial à gasolina, pois a emissão de gases poluentes geralmente são inferiores às geradas por combustíveis derivados do petróleo. Os gases poluentes provenientes de emissões pelos motores de automóveis causa sérios danos à qualidade do ar nas cidades.

O etanol é uma das melhores ferramentas para combater a poluição urbana veicular e pode, inclusive, melhorar os horizontes econômicos do agricultor, pois o uso de biomassa para produção do bioetanol traz vantagens para o desenvolvimento econômico do produtor, por meio de técnicas sustentáveis de retirada da matéria prima, dando início a uma condição de vida melhor (STRAPASSON; JOB, 2006).

Para Chandel et al., (2007) o bioetanol pode dar um impulso de 20-30% na redução dos gases prejudiciais à saúde humana em grandes centros urbanos. Contudo, o uso do etanol também incita danos ao meio ambiente devido à emissão de aldeídos (principalmente acetaldeído) quando comparado com a gasolina; porém os danos causados a saúde humana pelos aldeídos são bem menores em relação aos formaldeídos emitidos pelos motores a gasolina, este pode causar danos na pele como rachaduras, necrose, desidratação e outras alterações.

O setor da agroenergia evidencia um novo modelo para a produção de energia e abre caminhos para a modernização da agricultura no mundo, expondo a cada país, desenvolvido ou não, que há maneiras para não depender internacionalmente do petróleo. Portanto, a agroenergia surge para promover uma maior distribuição de renda entre os países, reduzir conflitos internacionais ligados à produção e consumo de energia, e mostrar que é possível conviver em harmonia com o desenvolvimento sustentável e a geração de empregos, principalmente no meio rural (STRAPASSON; JOB, 2006).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 FLUXOGRAMA DO PROJETO

A figura 9 mostra o fluxograma onde estão representadas as vias executadas neste trabalho para a obtenção de açúcares e bioetanol a partir de biomassa lignocelulolítica.

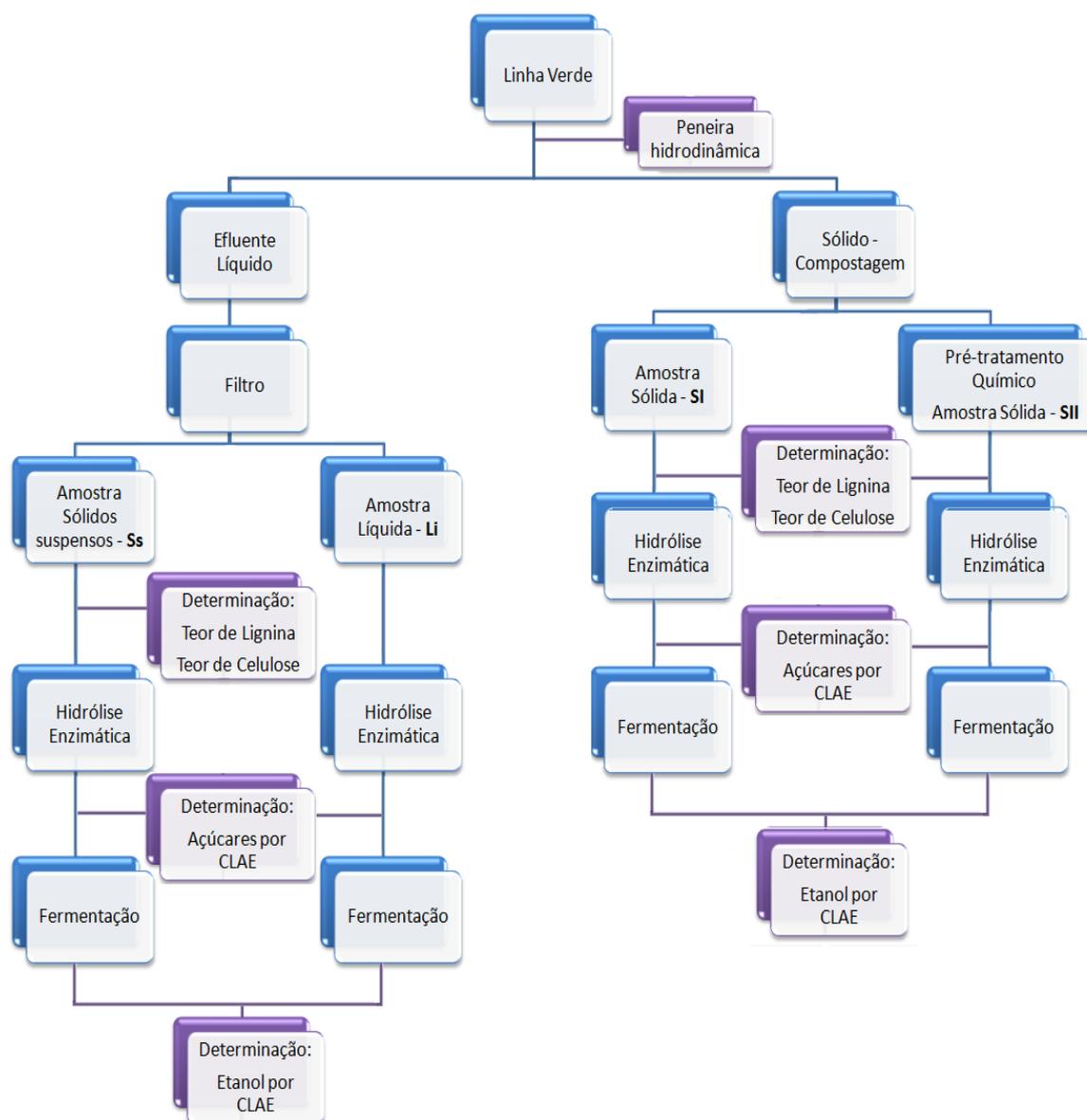


FIGURA 9 - Fluxograma de conversão de resíduo lignocelulolítico em açúcares fermentescíveis e etanol.  
Fonte: próprio autor.

## 3.2 PREPARAÇÃO DO MATERIAL

### 3.2.1 Aquisição da biomassa

Neste trabalho foi utilizado o resíduo proveniente da linha verde do abate de bovinos. As amostras foram gentilmente fornecidas pela empresa COOPERFRIGU (Cooperativa dos Produtores de Carne de Gurupi) durante o desenvolvimento do projeto.

As amostras sólidas foram coletadas logo após a passagem de todo o líquido proveniente da linha verde nas peneiras hidrodinâmicas, como mostrado na figura 10a. As amostras líquidas foram coletadas em um tanque (figura 10b), antes de seguirem para as Lagoas de tratamento.



FIGURA 10 - (a) detalhe da peneira hidrodinâmica de separação do conteúdo da Linha Verde, todo o resíduo entra na estrutura, e na “carretinha” coleta-se a parte sólida que segue para compostagem e no tanque (que está em constante movimentação) recolhe-se o conteúdo líquido; (b) coleta do resíduo líquido.

FONTE: próprio autor.

### 3.2.2 Nomenclatura das amostras

Para a realização deste trabalho optou-se pela divisão da amostra sólida coletada no frigorífico em amostra sólida sem pré-tratamento (SI) e amostra sólida com pré-tratamento (SII), mostrada na figura 11b. A amostra líquida (figura 11a) foi novamente filtrada em peneira granulométrica em inox de malha fina 0,02 mm, obtendo-se mais dois tipos de amostras, a amostra líquida (Li) e o resíduo que ficou na peneira, chamado de sólidos suspensos (Ss). A tabela 4 sistematiza a nomenclatura das amostras adotada neste trabalho.

TABELA 4 - Nomenclatura adotada para as biomassas analisadas.

Biomassa Lignocelulolítica	Nomenclatura adotada
Sólida sem pré-tratamento	<b>SI</b>
Sólida com pré-tratamento	<b>SII</b>
Líquida	<b>Li</b>
Sólidos suspensos	<b>Ss</b>



FIGURA 11 - (a) amostra líquida, com detalhe para a decantação dos sólidos suspensos, material que compõe a amostra denominada (sólidos suspensos); (b) amostra sólida.

FONTE: próprio autor.

As análises realizadas neste trabalho ocorreram graças à parceria entre os seguintes laboratórios da Universidade Federal do Tocantins, Laboratório de Pesquisa em Química (LAPEQ); Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia Ambiental e; Laboratório de Instrumentação Científica.

### **3.2.3 Preparo inicial da biomassa**

Assim que chegaram ao laboratório as amostras, líquida (Li) e sólida (SI e SII) foram levadas à autoclave a 121° C por 20 minutos, a fim de inibir a possível ação de bactérias ou fungos, que por ventura estivessem na biomassa, e que poderiam, portanto, causar malefícios à saúde ou agir como inibidores durante os procedimentos de análise.

A amostra líquida (Li) foi filtrada para obtenção da biomassa de sólidos suspensos (Ss) e posteriormente congelada até o momento de sua preparação (correção do pH) para hidrólise enzimática. A amostra de sólidos suspensos (Ss) foi desidratada em estufa a 65° C até massa constante.

Toda a amostra sólida (SI e SII) foram desidratadas em estufa a 65° C até peso constante e trituradas em moinho de facas com peneiras de 1 (um) milímetro (mm) de diâmetro. As amostras sólidos suspensos (Ss) e sólidas (SI e SII) foram acondicionadas em sacos plástico e mantidas em dessecador com sílica-gel até o momento das análises. Parte da amostra sólida passou por um pré-tratamento alcalino, que será descrito adiante.

### **3.2.4 Pré-tratamento**

Além do pré-tratamento em autoclave realizado em todas as amostras como relatado anteriormente, foi também realizado pré-tratamento químico (MENEZES e HENNIES, 1991) em parte da amostra sólida (SII).

O material amostra sólida (SII) foi pré-tratado utilizando uma solução de hidróxido de sódio 4%, 1:20 (m/v), em autoclave a 121° C, por 15 minutos, nas seguintes condições de reação: 100 (cem) gramas (g) de biomassa (base seca), com 2000 mililitros (mL) de solução de hidróxido de sódio a 4%, 1:20 (m/v). O

material obtido, foi levado a um pH 2,0 (dois), por 30 minutos, utilizando ácido fosfórico PA e logo neutralizado com hidróxido de sódio PA (97%).

O material foi filtrado, e em seguida um volume proporcional de água destilada foi adicionado ao volume do material sólido lignocelulolítico e essa mistura foi novamente autoclavada a 121° C por 15 minutos, a suspensão foi filtrada e o material sólido desidratado em estufa a 65° C até massa constante, obtendo-se assim a biomassa seca pré-tratada. Este procedimento foi realizado com a finalidade de tornar a celulose mais acessível ao ataque enzimático.

### 3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

#### 3.3.1 Determinação do teor de celulose

A determinação do teor de celulose se deu com base em adaptações dos trabalhos realizados por RODRIGUES (2010) E PINTO; CALLONI; SILVA (2013).

Para a quantificação de celulose presentes nas biomassas utilizadas, pesou-se acuradamente 1 (um) grama (g) das amostras em tubo de ensaio, e adicionou-se reagente ácido (composto por 72,73% de ácido acético glacial; 18,18% de água destilada e 9,09% de ácido nítrico). Os tubos de ensaio foram tampados e levados ao banho Maria por 30 min. Após este processo, os tubos foram retirados do banho Maria e adicionou-se álcool etílico.

Após o resfriamento procedeu-se com a filtração a vácuo, sendo que o material foi lavado com etanol, tolueno e éter sulfúrico todos quentes. Após a filtração o papel de filtro com a amostra foi colocado em um cadinho (previamente calcinado) e levado à estufa a 105° C, por 4 horas. Passado o tempo o sistema (cadinho; papel de filtro e amostra) foi pesado e em seguida submetido a calcinação em forno mufla a 550° C.

O teor de celulose foi determinado com base na equação descrita a seguir:

$$\text{Celulose (\%)} = \left[ \frac{(M_i - P - M_f)}{M_A} \right] \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

Mi: massa do cadinho + papel + amostra;

P: massa do papel de filtro (papel quantitativo);

Mf: massa do cadinho+ cinzas;

MA: massa da amostra.

### 3.3.2 Determinação do teor de lignina

O teor de lignina foi estimado com adaptações realizadas com base nos procedimentos descritos por Moraes; Rosa; Marconcini (2010), onde, são adicionados 17 mililitros (mL) de ácido sulfúrico 72% em acuradamente 1 (um) grama (g) de amostra seca e, após 15 minutos de agitação vigorosa e cuidadosa, começou-se a marcar 24 horas de espera para o início da próxima etapa. Depois de decorrido esse tempo, adicionou-se água destilada até a diluição do ácido sulfúrico a 4%, e o conteúdo foi transferido, quantitativamente, para um balão e levado à manta aquecedora por um período de 4 horas.

Transcorrido o tempo, o conteúdo do balão foi filtrado a vácuo e o balão foi sendo lavado com mais água destilada, sob agitação constante, para evitar perda de precipitado. O conteúdo retido no filtro foi lavado com mais água destilada até que o pH do filtrado ficasse neutro. Em seguida, o filtrado foi mantido em estufa a 105° C até peso constante, posteriormente em mufla a 550° C a fim de se obter o teor de cinzas dado pela equação 2 e teor de lignina pela equação 3.

$$\text{Teor de Cinzas \%} = \left( \frac{MFC - MF}{MA} \right) \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\text{Teor de Lignina \%} = \left( \frac{MFL - MF}{MA} \times 100 \right) - \text{TC\%} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde:

MF: massa do funil limpo e seco;

MA: massa da amostra;

MFL: massa do funil + lignina (após secagem em estufa);

MFC: massa do funil + cinzas (após calcinação em mufla);

TC%: teor de cinzas.

### 3.4 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

Nesta etapa do trabalho as reações de hidrólise enzimática foram realizadas visando à produção de açúcares fermentescíveis, visto que esta é a primeira etapa para produção do etanol 2G. Assim, submeteu-se diretamente a amostra líquida (Li) à hidrólise enzimática, após a correção do pH da mesma com ácido clorídrico (HCl) que ficou entre 4,75-5,25. A amostra sólida (SI) foi dividida em duas parcelas, ficando amostra sem pré-tratamento (SI) e amostra com pré-tratamento (SII), que foram submetidas à hidrólise, bem como a amostra de sólidos suspensos (Ss), após correção do pH e ajustes na temperatura.

A enzima utilizada na etapa de hidrólise enzimática foi a Cellic CTec2, batch VCNI0013, que foi uma doação cortês da empresa Novozymes Bioenergy ao Laboratório de Pesquisa de Química da Universidade Federal do Tocantins.

De acordo com descrições da empresa, esta enzima é um complexo de celulasas agressivas (com alto percentual de  $\beta$ -glucosidase e hemicelulase) que visa degradar celulose em açúcar fermentescível.

Para início da hidrólise enzimática colocou-se as amostras em erlenmeyer e corrigiu-se o pH de todas as amostras, até aproximadamente 5,0 (cinco). O conjunto foi encaminhado para a incubadora tipo Shaker conforme figura 12, com temperatura na faixa de 50-55° C e agitação de 200 rpm, adicionando-se então a enzima comercial celulase CTec2 (12 $\mu$ L), o sistema ficou encubado por 72 horas.



FIGURA 12 - Detalhe da Incubadora refrigerada Shaker no início da hidrólise.  
FONTE: próprio autor.

Após este processo a solução foi filtrada, sendo que a biomassa residual foi descartada e alíquotas do líquido filtrado, onde se encontram os carboidratos, foram estocadas em tubos eppendorf, em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ , para posterior análise de açúcares por cromatografia líquida (CLAE). O restante do líquido foi submetido à fermentação.

### 3.5 FERMENTAÇÃO

Após a sacarificação da celulose em glicose durante a hidrólise enzimática, a fase líquida foi fermentada com a estirpe comercial da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Fleischmann®) empregada no processo de panificação.

O pH de todas as amostras foi ajustado para 5,5 e adicionou-se aproximadamente 0,09 gramas (g) da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, em 20 (vinte) mililitros (mL) de amostra hidrolisada, permanecendo em reação a aproximadamente  $30^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.

Nenhuma alteração do meio foi feita para o processo fermentativo, como utilização de sais e nutrientes para enriquecimento do meio.

### 3.6 QUANTIFICAÇÃO DOS AÇÚCARES E DO ETANOL

Para quantificação dos açúcares redutores obtidos na hidrólise e o etanol obtido após a fermentação utilizou-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As análises foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência marca Shimadzu (LC-10 Series Avp; desgaseificador: DGU-14A, integrador: CLASS LC-10), com eluição isocrática, pelo bombeamento (LC-10AD) de uma fase móvel composta de 5 mM de ácido sulfúrico em água ultrapura (destilada e deionizada). O fluxo do eluente foi de 0,6 mL/min, a 35°C (forno de coluna CTO-10A), com corrida de tempo total de 25 minutos. A detecção se deu em detector de índice de refração (Shimadzu, modelo RID-10A).

Uma alíquota de 20,0 µl da amostra foi injetada manualmente (injetor Rheodyne - iL malha 20) em coluna de exclusão iônica da marca Phenomenex Rezex ROA-Organic Acid H+ (300 x 7,8 mm) com conexão direta a um cartucho de segurança Phenomenex Carbo-H (4 x 3 mm) preenchida com material semelhante ao da coluna principal. Padrões, de cada substância, foram utilizados para construção das curvas de calibração, que forneceram as equações, utilizadas para calcular as concentrações de cada substância a ser determinada.

As amostras foram analisadas em triplicata. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 1% de probabilidade.

Considerando o total de celulose na amostra, e sua massa inicial, foi possível calcular o rendimento das reações de hidrólise. Para isso, tomaram-se os valores máximos obtidos da concentração de glicose e o fator de conversão de glicose em celulose, tal qual Silva (2013); Lu et al., (2013); Oliveira (2010). Os cálculos do rendimento da hidrólise foram realizados pela seguinte equação:

$$RH (\%) = \frac{[Gli.]}{[Cel.]} 0,9 \times 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

Sendo:

RH (%): rendimento da hidrólise;

[Gli.]: concentração de glicose da biomassa (g/L);

[Cel.]: concentração de celulose da biomassa (g/L);

0,9: fator de conversão da celulose.

Os teores de etanol ao final da fermentação, obtidos a partir de análise por cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE foram expressos em grama por litro. Estes valores foram relacionados com a massa inicial de glicose obtida na hidrólise para o cálculo do rendimento de etanol.

Pra tanto, o rendimento da produção de etanol, em porcentagem, foi determinado utilizando-se a relação estequiométrica entre a quantidade de etanol produzido e a quantidade de glicose consumida, figura 13.

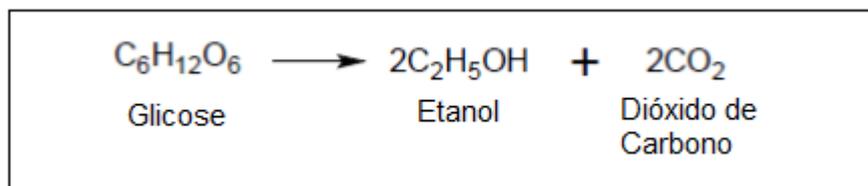


FIGURA 13: Conversão estequiométrica da glicose a etanol e dióxido de carbono (equação de Gay-Lussac).

FONTE: adaptado de LIMA et al., 2001.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA LIGNOCELULOLÍTICA

A tabela 5 apresenta os resultados experimentais da composição química das biomassas SI, SII e Ss.

TABELA 5 - Composição da biomassa lignocelulolítica residual proveniente do abate de bovinos.

Biomassa Lignocelulolítica	Composição (% massa seca)		
	Celulose	Lignina	Cinzas
Sólida sem pré-tratamento - <b>SI</b>	30,18 ± 0,59	30,51 ± 0,38	5,08 ± 0,42
Sólida com pré-tratamento - <b>SII</b>	57,04 ± 4,46	11,36 ± 0,61	4,80 ± 0,13
Sólidos suspensos - <b>Ss</b>	27,76 ± 0,32	33,69 ± 1,13	5,97 ± 0,19

\*Valores médios ± desvio médio (triplicata).

Com o intuito de verificar os teores de celulose e lignina foram realizadas análises do resíduo de frigorífico sólido pré-tratado com solução de hidróxido de sódio, seguido de ácido fosfórico, resíduo sólido sem pré-tratamento e resíduo proveniente da filtragem do conteúdo líquido, os sólidos suspensos. Os resultados apontam que a amostra submetida ao pré-tratamento com NaOH 4%, 1:20 (m/v) a 121° C por 15 min., seguido de abaixamento do pH com ácido fosfórico por 30 min., ocasionou em uma diminuição de aproximadamente 2,7 vezes no teor da fração de lignina, enquanto que a fração de celulose teve um aumento de aproximadamente 1,9 vezes em relação a amostra sólida sem pré-tratamento.

Essa elevação ocorreu devido ao rompimento das fibras de lignina e hemicelulose na parte interna da biomassa, acabando por liberar mais celulose. No pré-tratamento alcalino parte da fração de hemicelulose foi removida e posteriormente a reatividade da celulose na fase da hidrólise foi significativamente aumentada.

Os pré-tratamentos alcalinos são geralmente mais eficazes na solubilização de uma maior fração da lignina, deixando parte da hemicelulose insolúvel (HAMELINCK; VAN HOOIJDONK; FAAIJ, 2005).

Para Hahn-hägerdal et al. (2006), a fração de hemicelulose é alterada durante a ação do tratamento ácido, que promove a ruptura das fibras de hemicelulose, gerando açúcares, como xilose, em maiores quantidades. Logo, o pré-tratamento é uma etapa importante, pois quando se trabalha com materiais lignocelulolíticos, esta etapa pode facilitar o acesso às fibras de celulose, promovendo modificações na cristalinidade das mesmas.

Vale ressaltar que os produtos da biomassa não foram alterados com o pré-tratamento em autoclave a 121° C por 20 min., pois alguns autores afirmam que a degradação da celulose só começa a se tornar importante em temperaturas em torno de 220° C (BOONSTRA; TJEERDSMA, 2006; LI; HENRIKSSON; GELLERSTEDT, 2005).

A fim de se verificar a viabilidade da biomassa proveniente da linha verde, foram realizadas algumas comparações com trabalhos voltados para o uso de resíduos com potencial lignocelulolítico com foco na produção de etanol de segunda geração, etanol 2G, visto que, até o momento, não foram encontrados trabalhos com a mesma finalidade deste. Observou-se que o percentual de celulose da biomassa designada neste trabalho como sólidos suspensos (Ss), pode ser considerado baixo e o teor de lignina ficou um pouco acima dos padrões, se comparado com outras biomassas lignocelulolíticas.

Os valores obtidos para o percentual de celulose (figura 14) da biomassa denominada sólida sem pré-tratamento (Sl) se mostraram similares à faixa reportada em outros trabalhos que utilizaram biomassas residuais como o bagaço de cana de açúcar, que apresenta teor de celulose em torno de 32-45% (PANDEY et al., 2000; ALKASRAWI et al., 2003; GONÇALVES et al., 2008; RODRIGUES et al. 2010), palha de cana de açúcar 36-38% (MORIYA, 2007; OLIVEIRA, 2010), palha de arroz 40% (REYES; PERALTA-ZAMORA; DURÁN, 1998; SUN et al., 2000) e serragem de madeira em torno de 37-62% (BARBOSA et al., 2014).

Entretanto, o percentual de lignina para esta amostra ficou acima do apresentado na literatura que é de aproximadamente 19-24% para o bagaço de

cana de açúcar (PANDEY et al., 2000) e 24-26% para palha de cana de açúcar (SILVA, 2009; OLIVEIRA 2010).

A amostra sólida com pré-tratamento (SII) apresentou teor de celulose (57,04 %) bem acima do verificado em outros trabalhos (PANDEY et al., 2000; ALKASRAWI et al., 2003; GONÇALVES et al., 2008; RODRIGUES et al. 2010; MORIYA, 2007; OLIVEIRA, 2010; REYES; PERALTA-ZAMORA; DURÁN, 1998; SUN et al., 2000; BARBOSA et al., 2014), esta expressiva quantidade de celulose pode ser devido à natureza do capim ou mesmo silagens que são consumidos pelos bovinos, trata-se de um material pouco lignificado, logo a biomassa sólida (SI) já possui boa quantidade de celulose e o Pré-tratamento da SII tornou a celulose bem mais disponível.

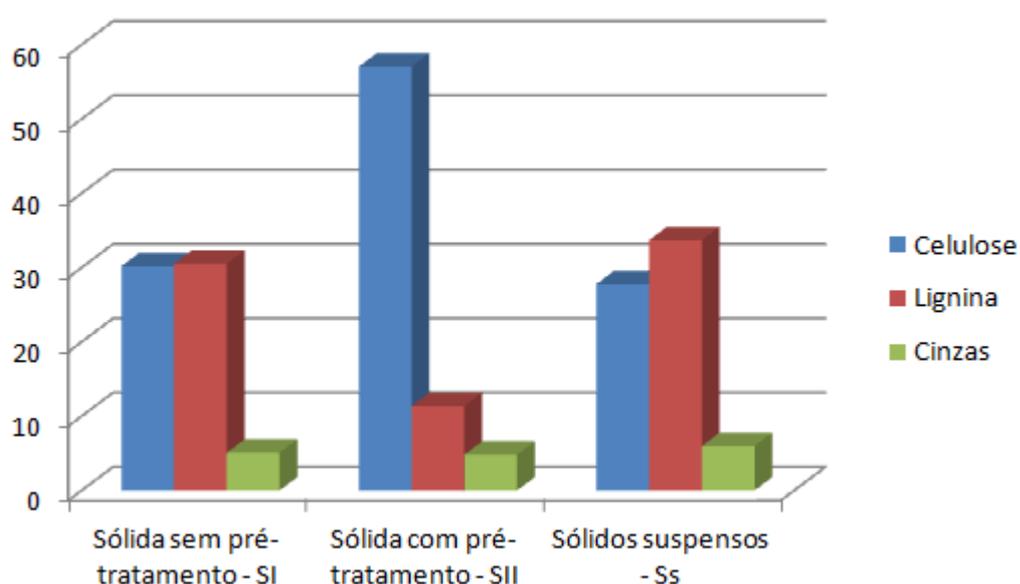


FIGURA 14 - Percentual de celulose, lignina e cinzas das biomassas.  
FONTE: próprio autor.

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS GERADOS NAS REAÇÕES DE HIDRÓLISE

Observa-se, na tabela 6, que mesmo para as biomassas que não foram realizados pré-tratamento houve a formação de glicose, ou seja, em qualquer condição ocorreu clivagem das ligações 1,4- $\beta$ -glicosídicas pela enzima Cellic Ctec, diferindo apenas na extensão em que ocorreram.

TABELA 6 - Natureza dos possíveis açúcares que foram encontrados ao final da hidrólise enzimática de biomassa residual da linha verde do abate de bovinos.

<b>Produtos da hidrólise da biomassa</b>	<b>Li</b>	<b>SI</b>	<b>SII</b>	<b>Ss</b>
Celobiose	x	x	x	x
Glicose	x	x	x	x
Xilose	x	x	x	-

x: detectado; -: não detectado.

Na clivagem da hemicelulose são liberadas substâncias como a xilose (SUN;CHENG, 2002), logo a falta desta substância no produto da hidrólise enzimática da amostra de sólidos suspensos, pode ter ocorrido devido a inexistência de um pré-tratamento químico nesta amostra. Na literatura, menciona-se a dificuldade de encontrar microrganismos fermentadores de xilose, sendo a bactéria gram-negativa *Zymomonas mobilis* uma das mais empregadas na atualidade (LEE; HUANG, 2000). Entretanto, para os cálculos do rendimento da hidrólise deste trabalho, foram desconsiderados os valores de concentração encontrados para xilose, por ser esta uma substância não fermentescível pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

#### 4.3 CONCENTRAÇÃO DE GLICOSE E RENDIMENTO DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

Na tabela 7 podem ser visualizadas as concentrações de glicose, quantificadas através da curva padrão de glicose por cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE, após 72 horas de hidrólise enzimática das biomassas residuais lignocelulolíticas, antes do processo de fermentação alcoólica, com a finalidade de avaliar o potencial destas biomassas para a produção de etanol.

TABELA 7 - Concentrações de glicose após 72 horas de hidrólise enzimática.

Biomassa	Concentração de Glicose (g/L) <sup>1</sup>
SII	8,850 ± 0,758 a
SI	0,179 ± 0,017 b
Ss	0,148 ± 0,030 b
Li	0,013 ± 0,002 b

\*Valores médios ± desvio médio (triplicata).

<sup>1</sup> Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 1% de significância pelo teste Tukey.

Analisando a tabela 7, observa-se que a biomassa líquida (Li) apresentou a concentração mais baixa de glicose, fato plausível devido à natureza desta amostra, que se encontrava com uma quantidade de água muito elevada, e devido à baixa solubilidade de celulose e oligômeros de glicose em água. Há resquícios de açúcares já clivados de celulose e hemicelulose no líquido filtrado, caso contrário não haveria concentração de glicose detectável por CLAE.

Verificou-se que as biomassas Sólida (SI) e (SII) bem como a dos sólidos suspensos (Ss) mostraram boas concentrações de glicose após a hidrólise enzimática, que foram diretamente proporcionais à concentração de celulose presente nas amostras. A biomassa Ss nada mais é que a amostra onde toda a água da biomassa Li fora retirada, ou seja, trata-se de um concentrado de biomassa da amostra Li. A concentração de glicose da biomassa Ss foi cerca de 11,4 vezes superior à da Li.

As biomassas SI e Ss apresentaram concentrações de celulose e glicose imediatamente próximas, e ao aplicar o teste de tukey observou-se que estas amostras não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 1% de significância. A biomassa SII conferiu concentração de glicose 49 vezes maior que SI, tal como maior teor de celulose e valor expressivamente menor de lignina, características conferidas pelo processo de deslignificação, que de fato, tornou as moléculas de celulose um pouco mais suscetíveis ao ataque enzimático.

A tabela 8 apresenta os valores de rendimento da hidrólise enzimática, em porcentagem.

TABELA 8 - Valores de rendimento obtidos após a hidrólise (%).

Biomassa	Rendimento da hidrólise para cada biomassa (%)	Rendimento médio da hidrólise (%) *
Li 1	0,18	
Li 2	0,26	<b>0,22 ± 0,04</b>
Li 3	0,22	
SI 1	2,46	
SI 2	2,59	<b>2,67 ± 0,27</b>
SI 3	2,97	
SII 1	74,29	
SII 2	72,15	<b>69,83 ± 5,98</b>
SII 3	63,03	
Ss 1	2,93	
Ss 2	1,97	<b>2,40 ± 0,49</b>
Ss 3	2,32	

\*Valores médios ± desvio médio (triplicata).

A biomassa SII, obteve a maior concentração de glicose 8,85 g/L, correspondendo a uma eficiência de hidrólise próximo a de 70%. A maior conversão obtida para este experimento foi com a biomassa SII repetição 1, com uma eficiência de 74,29%. O menor rendimento obtido na conversão de glicose foi verificado na amostra Li repetição 1, que obteve um rendimento de hidrólise de apenas 0,18%, fato este já esperado para este experimento, devido às características desta biomassa líquida já mencionadas neste trabalho.

Na figura 15 pode-se visualizar de maneira imediata o comportamento das biomassas, mediante o rendimento da hidrólise enzimática.

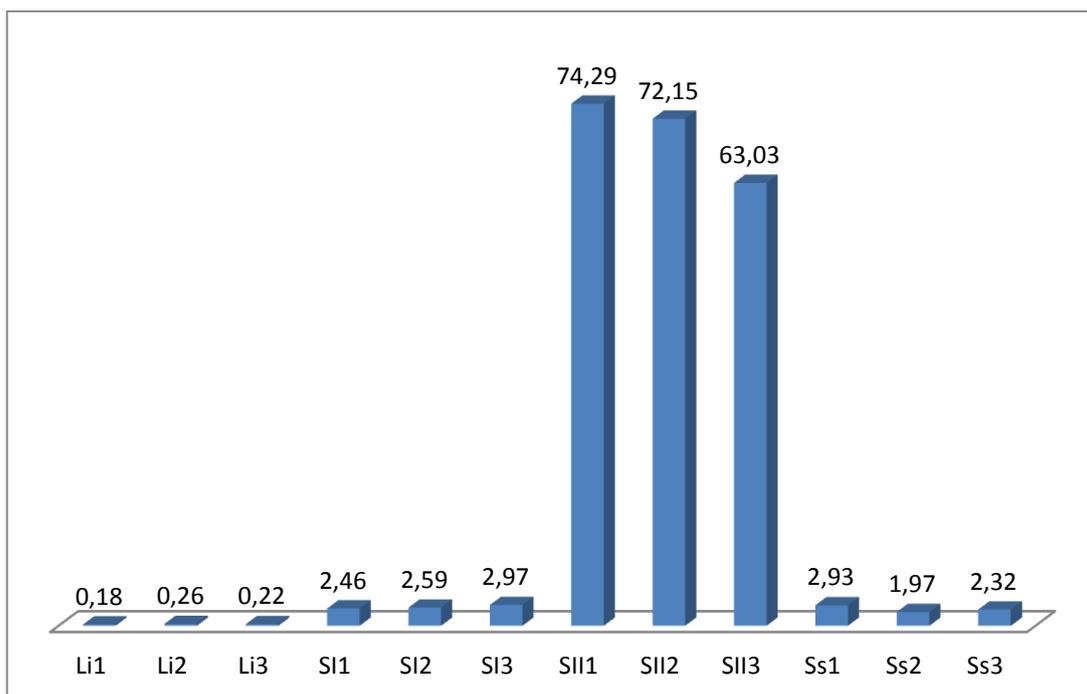


FIGURA 15 - Valores dos rendimentos da hidrólise para cada biomassa, em porcentagem (%).  
 FONTE: próprio autor.

Apenas a biomassa SII ficou em harmonia com os percentuais de hidrólise obtidos em trabalhos que utilizaram outras biomassas residuais. Na literatura encontram-se percentuais de hidrólise para a palha de arroz de 46,2% (AMIRI; KARIMI; ZILOUEI, 2014); 50,0% (MILLER; HESTER, 2007) e 52,0% (BAK et al., 2009) e para o bagaço de cana-de-açúcar em torno de 62% (KRISHNAN et al., 2010); 74,9% (CARDONA; QUINTERO; PAZ, 2010); 76,9% (VELMURUGAN; MUTHUKUMAR, 2011); 87,0% (QIU; AITA, 2013) e 91,4% (ZHU; ZHU; WU, 2012). Estes resultados demonstram o grande potencial da biomassa residual sólida da linha verde, quando pré-tratada, para produção de açúcares fermentescíveis.

As biomassas Li, SI e Ss apresentaram valores de rendimento de hidrólise muito abaixo da literatura, podendo inferir na baixa aplicabilidade deste resíduo na sua forma líquida ou sem a premissa de um pré-tratamento.

Estes resultados denotam que deve existir uma concordância entre as variáveis concentrações de glicose e eficiência de hidrólise. Ambas, no entanto, podem ser aumentadas à medida que haja a cooperação de outro processo de transformação, já que é fato conhecido que as enzimas do complexo celulósico sofrem inibição pelos seus produtos finais de hidrólise.

#### 4.4 FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Estes resultados são de grande relevância no contexto deste trabalho, pois se trata de um estudo que objetiva a produção de açúcares fermentescíveis como via de produção de etanol. Atualmente os resíduos da linha verde geram um produto de baixo valor agregado, o composto orgânico da biomassa, que é utilizado como adubo.

A quantificação do álcool foi realizada pela equação obtida da curva padrão de álcool obtida por cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE, que se deu no tempo de retenção de 22 minutos.

Pode-se constatar, após verificação da tabela 9, que as concentrações de glicose foram suficientemente reduzidas ao final da fermentação alcoólica, denotando que este açúcar foi satisfatoriamente fermentado pela levedura no tempo de 24 horas. Contudo, ainda houve sobras deste açúcar nas amostras SI e SII ao final da fermentação, o que poderia ser estimulado por um tempo maior de fermentação, ou mesmo submeter a amostra a processos fermentativos com estirpes mais adequadas na conversão de açúcares em etanol, como as utilizadas industrialmente.

A biomassa Li ficou fora do limite de detecção para álcool. Acredita-se que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* utilizou o açúcar disponível apenas para o início de sua atividade metabólica, e como não havia uma concentração expressiva de glicose nesta amostra, não houve a possibilidade da levedura prosseguir com a fermentação.

TABELA 9 - Concentrações de glicose e etanol ao final da hidrólise enzimática e final da fermentação alcoólica.

Biomassa	Final da Hidrólise		Final da fermentação	
	Concentração (g/L)		Concentração (g/L)	
	Glicose	Etanol	Glicose	Etanol
Li	0,0136 ± 0,0024	-	-	-
SI	0,1792 ± 0,0177	-	0,0219 ± 0,0041	0,0678 ± 0,0141
SII	8,8502 ± 0,7585	-	3,5758 ± 0,0860	2,5525 ± 0,2946
Ss	0,1482 ± 0,0300	-	-	0,0044 ± 0,0004

\*Valores médios ± desvio médio (triplicata).

Para efeito de comprovação estão apresentados na tabela 10 os cálculos do rendimento de etanol.

TABELA 10 - Concentração de etanol, rendimentos por grama de biomassa e glicose obtidas da hidrólise enzimática e fermentação das amostras.

<b>Biomassas</b>	<b>Concentração de Glicose (g/L)<sup>(1)</sup></b>	<b>Etanol Produzido (g/L)<sup>(1)</sup></b>	<b>Rendimento da produção de etanol (%)</b>	<b>Produção de etanol por grama de biomassa (g/g)</b>
<b>Li</b>	0,0136 ± 0,0024	-	-	-
<b>SI</b>	0,1792 ± 0,0177	0,0678 ± 0,0141	<b>23,9</b>	0,0326
<b>SII</b>	8,8502 ± 0,7585	2,5525 ± 0,2946	<b>56,4</b>	0,1276
<b>Ss</b>	0,1482 ± 0,0300	0,0044 ± 0,0004	<b>5,8</b>	0,0000

(1) Valores médios ± desvio médio (triplicata).

Analisando a produção de etanol a partir de biomassas alternativas, como fonte de celulose, amplamente citadas na literatura, pode-se inferir que a biomassa SII apresentou uma conversão de glicose em etanol próximo do apresentado por Anderson et al., (2008), que obteve 0,11 g/g no que tange á produção de etanol por grama de biomassa para o capim elefante (*Pennisetum purpureum*). Há trabalhos onde a produção pelo bagaço de cana de açúcar avaliado foi de 0,14 g/g e para o capim mombaça (*Panicum maximum*) 0,13 g/g (PEREIRA, 2013).

A biomassa SI apresentou rendimento para produção de etanol 42,6% menor que SII. Tal valor pode ser decorrente de vários fatores, inclusive, devido à inexistência de pré-tratamento químico para essa amostra. A recalitrância da matéria prima utilizada, além do desempenho da enzima e da levedura, também poderiam ser fatores, que favoreceram para a pequena produção de etanol por grama de biomassa para a amostra SI, quando comparada a SII.

Embora Ss tenha apresentado uma concentração de glicose, de certa maneira, expressiva, quando comparada com Li, o rendimento de etanol desta amostra foi baixo, apenas 5,8%. Por conseguinte, a conversão de biomassa em

etanol, ou seja, a produção de etanol por grama de biomassa foi praticamente zero, o que já era esperado devido à baixa quantidade de glicose obtida para esta amostra.

O rendimento de 56% conferido à amostra SII, ficou próximo a rendimentos observados para outras biomassas como serragem de madeira 63,9 – 81,7% (KIM et al., 2013) e 32 – 35% (DEMIRBAS, 2005), e para palha de arroz há rendimentos em torno de 40 – 74% (KARIMI et al., 2006; FURLAN, 2009).

#### 4.5 PRODUÇÃO ALCOÓLICA

A figura 16 demonstra um esquema, onde, considerando-se que toda a glicose da biomassa SII, fosse convertida em etanol, ter-se-ia, por tonelada do resíduo da linha verde tratado quimicamente e seco, um volume de aproximadamente 97 Litros de etanol.

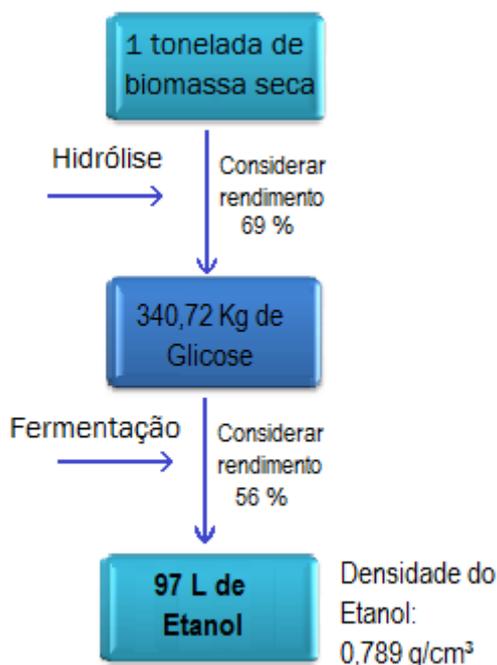


FIGURA 16 - Rendimento teórico da produção de etanol.  
FONTE: próprio autor.

A empresa COPERFRIGU produz, aproximadamente, 700 (setecentos) mil litros de resíduo que seguem para a linha verde, por dia de abate, sendo que o conteúdo residual sólido, aquele que é obtido após a passagem pelas peneiras hidrodinâmicas, utilizado neste trabalho, é produzido em uma escala de

aproximadamente 5 (cinco) toneladas por dia. Tomando-se por base a biomassa sólida SII, analisada a princípio em estado seco e pré-tratada quimicamente, poder-se-ia obter cerca de 436,5 Litros de etanol por dia de abate.

Cabe ressaltar que os estudos associados à produção de etanol de segunda geração estão rodeados de uma extensa variedade de condições que dificultam a realização de comparações direta dos rendimentos, tanto quando se refere ao tipo de matéria-prima, quanto às etapas de pré-tratamento, hidrólise e fermentação. Apesar disto este experimento obteve 97 L/ton. de etanol, produção esta que pode ser considerada relevante quando comparada a outras biomassas como a palha de cana-de-açúcar 287 L/ton. (SANTOS et al., 2012) e palha de arroz, 389 L de etanol por tonelada (FURLAN, 2009).

Destaca-se que não foi realizado nenhum enriquecimento do meio para auxiliar a fermentação, restando ao crescimento da levedura e a produção de etanol apenas o meio original.

## 5 CONCLUSÃO

As biomassas lignocelulolíticas sofrem uma influência muito grande dos processos a que são submetidas. O pré-tratamento empregado na amostra SII facilitou a ação da enzima comercial, fato constatado pelo expressivo rendimento obtido na hidrólise enzimática desta biomassa, superior a 77%. Logo, pode-se inferir que a biomassa sólida proveniente do abate de bovinos pode ser utilizada para aproveitamento e produção de açúcares fermentescíveis e etanol, desde que seja empregado um pré-tratamento, tornando a celulose disponível à ação enzimática.

As biomassa Li, Ss e SI apresentaram baixos rendimentos na hidrólise, no tocante à produção de açúcares fermentescíveis, ficando bem abaixo de 3 %, fato este que comprova a baixa probabilidade de utilização do líquido filtrado da linha verde, sem tratamento inicial da biomassa, para produção de etanol.

No geral, a biomassa sólida avaliada, destacou-se com potencial para aplicação na produção de açúcares fermentescíveis e etanol, afinal, trata-se de uma biomassa residual, que comumente é tratada como material com baixo valor agregado. Quando estudado quanto à produção de etanol e seu rendimento, o resíduo analisado mostrou-se significativamente propício ao desenvolvimento de metodologias para uso em escalas experimentais maiores.

## 6 SUGESTÕES

A utilização desta biomassa em processos de fermentação e produção efetiva de etanol carece de estudos mais detalhados, como foi pretendido neste trabalho, entretanto é louvável o interesse por estudos minuciosos no que tange ao pré-tratamento desta biomassa residual, utilização de enzimas, concentração de biomassa e/ou tempo decorrido da fermentação alcoólica.

Não se pode descartar a probabilidade da presença de agentes inibidores dissolvidos na biomassa de toda a linha verde do abate de bovinos, e também, a presença de ácidos e bases que são utilizados na limpeza do local. Trata-se de um resíduo que possui agentes contaminantes com várias funções, fato este que pode fazer parte de linhas de pesquisa futuras.

Logo, visando obter um rendimento significativo do biocombustível e aperfeiçoamento do processo produtivo, sugere-se estudar mais detalhadamente a etapa de fermentação e também a etapa da hidrólise da biomassa, a fim de investigar e analisar quanto à sua composição química e a presença de compostos inibidores da fermentação.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBOR, V.B.; CICEK, N.; SPARLING, R.; BERLIN, A.; LEVIN, D.B. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 6, p. 675-685, 2011.

ALKASRAWI, M.; ERIKSSON, T.; BÖRJESSON, J.; WINGREN, A.; GALBE, M.; TJERNEDLD, F.; ZACCHI, G. The effect of Tween-20 on simultaneous saccharification and fermentation of softwood to ethanol. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 33, p. 71-78, 2003.

ALVIRA, P.; TOMÁS-PEJÓ, E.; BALLESTEROS, M.; NEGRO, M.J. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Technology**, v.101, n. 13, p. 4851-4861, 2010.

AMIRI, H.; KARIMI, K.; ZILOUEI, H. Organosolv pretreatment of rice straw for efficient acetone, butanol and ethanol production. **Bioresource Technology**, v. 152, p. 450-456, 2014.

ANDERSON, W. F.; DIEN, B. S.; BRANDON, S. K.; PETERSON, J. D. Assessment of Bermudagrass and Bunch Grasses as Feedstock for Conversion to Ethanol. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 145, p. 13-21, 2008.

ARAUJO, G. C.; WANG, D. I. C. Production of biomass from enzymatic hydrolysate of agricultural waste. **Journal of Fermentation and Technology**, Nagoya, v. 58, p. 399-401, 1980.

ASSOCIAÇÃO DA INDÚSTRIA DE COGERAÇÃO DE ENERGIA - COGEN. Conceito e tecnologias. Disponível em: <  
[http://www.cogen.com.br/cog\\_conceito.asp](http://www.cogen.com.br/cog_conceito.asp) >. Acesso em: 16 de jan. 2016.

BAK, J. S.; KO, J. K.; HAN, Y. H.; LEE, B. C.; CHOI, I. G.; KIM, K. H. Improved enzymatic hydrolysis yield of rice straw using electron beam irradiation pretreatment. **Bioresource Technology**, v.100, n. 3 , p. 1285-1290, 2009.

BALAT, M.; BALAT, H.; OZ, C. Progress in bioethanol processing. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 34, p. 551-573, 2008.

BALAT, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. **Energy Conversion and Management**, v. 52, n. 2, p. 858-875, 2011.

BARBOSA, F. A.; SOARES-FILHO, B. S.; MERRY, F. D.; AZEVEDO, H. de O.; COSTA, W. L. S.; COE, M. T.; BATISTA, E.L. da S.; MACIEL, T. G.; SHEEPERS, L. C.; de OLIVEIRA, A. R.; RODRIGUES, H. O. **Cenários para a pecuária de corte amazônica**. Belo Horizonte, IGC/UFMG, 1. Ed, 2015. 146 p.

BARBOSA, L. C.; PEDRAZZI, C. P.; FERREIRA, E. S.; SCHNEID, G. N.; WILLE, V, K. D. Avaliação dos resíduos de uma serraria para a produção de celulose kraft. **Ciência Florestal**. Santa Maria, v. 24, n. 2, p. 491-500, 2014.

BASTOS, V. D. Etanol, álcoolquímica e biorrefinarias. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 25, p. 5-3, 2007.

BRAILE, P. M. **Despejos Industriais**. 1ª edição - Rio de Janeiro: Editora Livraria Freitas Bastos S.A., 1971. 254 p.

BERLIN, A.; BALAKSHIN, M.; GILKES, N.; KADLA, J.; MAXIMENKO, V.; KUBO, S.; SADDLER, J. Inhibition of cellulase, xylanase and  $\beta$  -glucosidase activities by softwood lignin preparations. **Journal of Biotechnology**, v. 125, n. 2, p. 198-209, 2006.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. de. **Nutrição de Ruminantes**. 2ª edição - Jaboticabal: FUNEP, 2011. 616p.

BOONSTRA, M.J.; TJEERDSMA, B. Chemical analysis of heat treated softwoods. **European Journal of wood and wood products**, v.64, p. 204-211, 2006.

BURTON, R. A.; GIDLEY, M. J.; FINCHER, G. B. Heterogeneity in the chemistry, structure and function of plant cell walls. **Nature Chemical Biology**, v. 6, p. 724-732, 2010.

CARDONA, C. A.; QUINTERO, J. A.; PAZ, I. C. Production of bioethanol from sugarcane bagasse: status and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4754-4766, 2010.

CARVALHO, M. L. **Estudo cinético da hidrólise enzimática de celulose de bagaço de cana de açúcar**. 2011. 103 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. 2011.

CHANDEL, A.K.; ES, C.; RUDRAVARAM, R.; NARASU, M.L.; RAO, L.V.; AVINDRAS, P. Economics and environmental impacts of bioethanol production technologies: an appraisal. **Biotechnology and Molecular Biology Review**, v. 2, n.1, p. 14-32, 2007.

CHANG, V. S.; HOLTZAPPLE, M. T. Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 84-86, p. 5-37, 2000.

CORDAZZO, J.; MALISKA, C. R.; CORSEUIL, H. X. Modelagem e simulação numérica do derramamento de Gasolina acrescida de álcool em águas subterrâneas. **Revista Roteiro: Revista Científica da UNOESC**, Joaçaba, v. 24, n. 44, p. 57-70, 2000.

DEMAJOROVIC, J. Da política tradicional de tratamento do lixo à política de gestão de resíduos sólidos: as novas prioridades. **Revista de Administração de empresas**, v. 35, n.3, p. 88-93, 1995.

DEMIRBAS, A. Bioethanol from cellulosic materials: a renewable motor fuel from biomass. **Energy Sources**, v. 27, p. 327-337, 2005.

DEMIRBAS, A. H.; DEMIRBAS, I. Importance of rural bioenergy for developing countries. **Energy Conversion and Management**, v. 48, p. 2386-2398, 2007.

DEMIRBAS, A. Biofuels securing the planet's future energy needs. **Energy Conversion and Management**, v. 50, p. 2239-2249, 2009.

DEMIRBAS, A. Competitive liquid biofuels from biomass. **Applied Energy**, v. 88, p. 17-28, 2011.

EL MANSOURI, N-E.; SALVADÓ, J. Structural characterization of technical lignins for the production of adhesives: Application to lignosulfonate, kraft, soda-anthraquinone, organosolv and ethanol process lignins. **Industrial Crops and Products**, v. 24, p. 8-16, 2006.

ESTEGHLALIAN, A.; HASHINGMOTO, A.G.; FENSKE, J.J.; PENNER, M.H. Modeling and optimization of the dilute-sulfuric-acid pretreatment of corn stover, poplar and switchgrass. **Bioresource Technology**, v. 59, n. 2-3, p. 129-136, 1997.

FERREIRA, J. Etanol de segunda geração: definição e perspectivas. **Revista Conexão Eletrônica**, Três Lagoas, MS, v. 12, n. 1, 2015.

FULTON, L.M. **Reducing oil consumption in transport**: combining three approaches. Paris: International Energy Agency, p. 01-24, 2004.

FURLAN, V. J. M. **Produção de bioetanol a partir de resíduos celulósicos da agroindústria do arroz**. 2009. 101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS. 2009.

GEORGIEVA, T. I.; MIKKELSEN, M. J.; AHRING, B. K. Ethanol production from wet exploded wheat straw hydrolysate by thermophilic anaerobic bacterium *Thermoanaerobacter* BG1L1 in a continuous immobilized reactor. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 145, p. 99-110, 2008.

GHATAK, H. R. Biorefineries from the perspective of sustainability: Feedstocks, products, and processes. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 8, p. 4042-4052, 2011.

GONÇALVES, A.R.; OVIEDO, M.A.S. Production of chelating agents through the enzymatic oxidation of acetosolv sugarcane bagasse lignin. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 98-100, p. 365-371, 2002.

GONÇALVES, A.R.; MORIYA, R.Y.; OLIVEIRA, L.R.; SAAD, M.B. Xylanase recycling for the economical biobleaching of sugarcane bagasse and straw pulps. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 43, n. 2, p. 157-163, 2008.

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

HAHN-HÄGERDAL, B. ; GALBE, M.; GORWA-GRAUSLUND, M.F.; LIDE´N, G.; ZACCHI, G. Bio-ethanol – the fuel of tomorrow from the residues of today. **Trends in Biotechnology**, v.24, n.12, p. 549-556, 2006.

HAYN, M.; STEINER, W.; KLINGER, R.; STEINMULLER, H.; SINNER, M.; ESTERBAUER, H. Basic Research and Pilot Studies on the Enzymatic Conversion of Lignocellulosics. In: SADDLER, J.N. **Bioconversion of Forest and Agricultural Plant Residues**, 1993, cap. 2, p. 33-72.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. Indicadores IBGE- Estatística da produção pecuária. Dezembro, 2015. Disponível em: < [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br) >. Acesso em: 19 de jan. 2016.

KARIMI, K.; KHERADMANDINIA, S.; TAHERZADEH, M. J. Conversion of rice straw to sugars by dilute acid hydrolysis. **Biomass and Bioenergy**, v. 30, p. 247-253, 2006.

KIM, S.; DALE, B. E. Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues. **Biomass and Bioenergy**, v. 26, p. 361-375, 2004.

KIM, T. H.; CHOI, C. H.; OH, K. K. Bioconversion of sawdust into ethanol using dilute sulfuric acid-assisted continuous twin screw-driven reactor pretreatment and fed-batch simultaneous saccharification and fermentation. **Bioresource Technology**, v. 130 p. 306-313 ,2013.

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

KOOTSTRA, A. M. J.; BEEFTINK, H. H.; SCOTT, E. L.; SANDERS, J. P. M. Optimization of the dilute maleic acid pretreatment of wheat straw. **Biotechnology for Biofuels**, v. 2, p. 1-14, 2009.

KRISHNAN, C.; DA COSTA SOUSA, L.; JIN, M.; CHANG, L.; DALE, B. E.; BALAN, V. Alkali-based AFEX pretreatment for the conversion of sugarcane bagasse and cane leaf residues to ethanol. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 107, p. 441-450, 2010.

LACERDA, T. M. **Hidrólise de polpa de sisal como via de produção de etanol e materiais**. 2012. 258f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2012.

LANA, R. de P. **Nutrição e alimentação animal: mitos e realidades**. 2ª edição revisada - Viçosa: Editora UFV, 2005. 344 p.

LAVIOLA, B. V.; ALVES, A. A. **Matérias-primas oleaginosas para Biorrefinarias**. In: SOUZA JR. M. T. Biorrefinarias: Cenários e Perspectivas, Embrapa Agroenergia, Brasília, 2011.

LEE J. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. **Journal of Biotechnology**, v. 56, p. 1-24, 1997.

LEE, W.G.; HUANG, C.T. Modeling of ethanol fermentation using *Zymomonas mobilis* ATTC 10988 grown on the media containing glucose and fructose. **Biochemical Engineering Journal**, v. 4, n. 3, p. 217-227, 2000.

LEHNINGER, A.L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Savier, 1991. 839 p.

LEITE, B. Z.; PAWLOWSKY, U. Alternativas de minimização de resíduos em uma indústria de alimentos da região metropolitana de Curitiba. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.10, n. 2, p. 96-105, 2005.

LI, J.; HENRIKSSON, G.; GELLERSTEDT, G. Carbohydrate reactions during high-temperature steam treatment of aspen wood. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 125, p.175-188, 2005.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia industrial - Processos fermentativos e enzimáticos**. v. 3, Editora Edgard Blücher, São Paulo, 2001.

LIMAYEM, A.; RICKE, S. C. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 38, p. 449-467, 2012.

LIN, W. R.; PENG, Y.; LEW, S.; LEE, C. C.; HSU, J. J.; HAMEL, J. F.; DEMAIN, A. L. Purification and characterization of acetate kinase from *Clostridium thermocellum*. **Tetrahedron**, v. 54, n.52, p. 15915-15925, 1998.

LU, J.; LI, XueZhi; ZHAO, J.; QU, Y. Enzymatic Saccharification and Ethanol Fermentation of Reed Pretreated with Liquid HotWater. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 144, p. 539-547, 2013.

LYND, L. R.; ELANDER, R. T.; WYMAN, C. E. Likely features and costs of mature biomass ethanol technology. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 57/58, p. 741-761, 1996.

LYND, L. R.; WEIMER, P. J.; VAN ZYL, W. H.; PRETORIUS, I. S. Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 66, n.3, p. 506-577, 2002.

MARTINS, M. V. L. **Proposta de metodologia para análise de eficiência hidroenergética e ambiental: estudo de caso da agroindústria.** 2012. 138 f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Área de Transmissão e Conversão de Energia, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, Guaratinguetá, 2012.

MATOS, A. T. **Curso sobre Tratamento de resíduos agroindustriais.** Fundação Estadual do Meio Ambiente. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2005. 34p.

MENEZES, T. J. B., HENNIES, P. T. Influência do pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com peróxido alcalino e hidróxido de sódio no sistema celulolítico de *A. níger*. **Coletânea ITAL**, v. 21, n. 2, p. 213-219, 1991.

MILANEZ, A.Y.; NYKO, D.; VALENTE, M.S.; SOUZA, L.C.; BONOMI, A.; JESUS, C.D.F.; WATANABE, M.D.B.; CHAGAS, M.F.; REZENDE, M.C.A.F.; CAVALETT, O.; JUNQUEIRA, T.L.; GOUVEIA, V.L.R. De promessa a realidade: como o etanol celulósico pode revolucionar a indústria da cana-de-açúcar – uma avaliação do potencial competitivo e sugestões de política pública. **BNDES Setorial**, v. 41, p. 237-294, 2015.

MILLER, S.; HESTER, R. Concentrated acid conversion of pine sawdust to sugars. Part II; high temperature batch reactor kinetics of pretreated pine sawdust. **Chemical Engineering Communications**, v. 194, n. 1, p. 103-116, 2007.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO-MAPA. Dados-animais-mercado-produção. Disponível em: < [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br) >. Acesso em 18 de jan. 2016.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - MMA ; CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE-CONAMA. Resolução CONAMA Nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução n. 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 mai. 2011, n.92, p. 89.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA - MME. Adição de biodiesel ao diesel aumenta para 6 por cento. Disponível em: < [www.mme.gov.br](http://www.mme.gov.br) >. Acesso em: 30 de dez. 2015a.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA - MME. Portaria nº 516, de 11 de novembro de 2015. Estabelece os percentuais autorizados de mistura voluntária de biodiesel ao óleo diesel e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 216, 12 nov. 2015. Seção 1, p.67-68. 2015b.

MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. de F.; MARCONCINI, J. M. **Procedimentos para análise Lignocelulósica.** Documentos 236, Centro Nacional de Pesquisa do Algodão, Campina Grande-PB, 2010.

MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; MELO, D. C. Análise da madeira de *Pinus oocarpa* parte I – estudo dos constituintes macromoleculares e extrativos voláteis, **Revista Árvore**, v. 29, n. 3, p. 461-470, 2005.

MORIYA, R.Y. **Uso de xilanases e lacases de microrganismos no branqueamento de polpas organosolv de palha de cana-de-açúcar e estudo dos derivados celulósicos obtidos**. 2007. 141 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2007.

MOSIER, N.; WYMAN, C.; DALE, B.; ERLAND, R.; LEE, Y.Y.; HOLTZAPPLE, M.; LADISCH, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Biotechnology**, v. 96, n. 6, p. 673-686, 2005.

OLIVEIRA, F. M. V. **Avaliação de diferentes pré-tratamentos e deslignificação alcalina na sacarificação da celulose de palha de cana**. 2010. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Industrial na área de Conversão de Biomassa, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, SP. 2010.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V. T. Biotechnological potential of agroindustrial residues. I: sugarcane baggase. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 69-80, 2000.

PEREIRA, D. G. S. **Rendimentos da hidrólise enzimática e fermentação alcoólica de capim-elefante, capim-andropogon, capimmombaça e bagaço de cana-de-açúcar para produção de Etanol de segunda geração**. 2013. 66 f. Dissertação (Mestrado em ciência e tecnologia de alimentos) – Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia De Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2013.

PEREIRA, R. G. de A.; TOWNSEND, C. R.; COSTA, N. de L.; MAGALHÃES, J. A. **Processos de ensilagem e plantas a ensilar**. Documentos 124, Embrapa Rondônia, Porto Velho-RO, 2008.

PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, v.I, 2010. 760 p.

PINTO, B.; CALLONI, G.; SILVA, S. A. da. Obtenção de acetato de celulose a partir da casca de arroz (*Oryza sativa*) Im: **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 14, n. 21, p. 1-112, 2013.

PRIEFERT, H.; RABENHORST, J.; STEINBÜCHEL, A. Biotechnological production of vanillin. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, p. 296-314, 2001.

QIU, Z. H.; AITA, G. M. Pretreatment of energy cane bagasse with recycled ionic liquid for enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 532-537, 2013.

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

RODRIGUES, R. C. **Métodos de análises bromatológicas de alimentos: métodos físicos, químicos e bromatológicos**. Documentos 306, Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, 2010.

RODRIGUES, R.C.L.B.; ROCHA, G. J.; RODRIGUES, D.; FILHO, H. J.; FELIPE, M.G.; PESSOA, A., Scale-up of diluted sulfuric acid hydrolysis for producing sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate (SBHH). **Bioresource Technology**, v. 101, n. 4, 1247-1253, 2010.

SAHA, B. C.; COTTA, M. A. Ethanol production from alkaline peroxide pretreated enzymatically saccharified wheat straw. **Biotechnology Progress**, v. 22, p. 449-453, 2006.

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

SARKAR, N.; GHOSH, S. K.; BANNERJEE, S.; AIKAT, K. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. **Renewable Energy**, v. 37, p. 19-27, 2012.

SCANDIFFIO, M. I. G. **Análise prospectiva do álcool combustível no Brasil – cenários 2004-2024**. 2005. 201 f. Tese (Doutorado Planejamento de Sistemas Energéticos) - Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 2005.

SILVA, V.F.N. **Estudos de pré-tratamento e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapas no processo de obtenção de etanol celulósico**. 2009. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP, 2009.

SILVA, A. S. A. da. **Pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com líquidos iônicos: efeito na desestruturação da parede celular e na eficiência da hidrólise enzimática**. 2013. 127f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química - Programa de Pós-graduação em Bioquímica, Rio de Janeiro, 2013.

SOUZA, C.D.R.; CHAAR, J.S.; SOUZA, R.C.R.; JEFFREYS, M.F.; SOUZA, K.S.; COSTA, E.J.C.; SANTOS, J.C. Caracterização físico-química das misturas binárias de biodiesel e diesel comercializados no Amazonas. **Revista Acta Amazônica**, vol. 39, n.2, p. 383-387, 2009.

STRAPASSON, A. B.; JOB, L. C. M. A. Etanol, meio ambiente e tecnologia: reflexões sobre a experiência brasileira. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, ano 15, n. 3, p. 51-63, 2006.

SUN, R. C.; TOMKINSON, J.; MA, P. L.; LIANG, S. F. Comparative study of hemicelluloses from rice straw by alkali and hydrogen peroxide treatments. **Carbohydrate Polymers**, v. 42, p. 111-122, 2000.

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

TAHERZADEH, M.J.; KARIMI, K. Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review. **BioResources**, v. 2, n. 4, p. 707-738, 2007.

UIHLEIN, A.; SCHEBEK, L. Environmental impacts of a lignocellulosic feedstock biorefinery system: an assessment. **Biomass and Bioenergy**, v. 33, p. 793-802, 2009.

VALENTE, B. S.; XAVIER, E. G.; MORSELLI, T. B. G. A.; JAHNKE, D. S.; BRUM JR, B. de S.; CABRERA, B. R.; MORAES, P. de O.; LOPES; D. C. N. Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos. **Archivos de Zootecnia**, v.58, n.1, p.59-85, 2009.

VÁSQUEZ, MARIANA PEÑUELA. **Desenvolvimento de Processo de Hidrólise Enzimática e Fermentação Simultâneas para a Produção de Etanol a Partir de Bagaço de Cana-de-Açúcar**. 2007, 205 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Escola de Química, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Rio de Janeiro, RJ. 2007.

VELMURUGAN, R.; MUTHUKUMAR, K. Utilization of sugarcane bagasse for bioethanol production: sono assisted acid hydrolysis approach. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 14, p. 7119-7123, 2011.

VERAS, L. R. V.; POVINELLI, J. A vermicompostagem do lodo de lagoas de tratamento de efluentes industriais consorciada com composto de lixo urbano. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v.9, n.3, p.218-224, 2004.

WATANABE M.D.B.; CHAGAS M. F.; CAVALETT O.; GUILHOTO J.J.M.; GRIFFIN W. M.; CUNHA M.P.; BONOMI A. Hybrid input-output life cycle assessment of first and second generation ethanol production technologies in Brazil. **Journal of Industrial Ecology**. Published online: 12 Aug 2015, v. 00, n.0, 2015.

ZHANG, Y.P.; LYND, L.R. Toward an Aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: noncomplexed cellulose systems. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 88, n. 7, 2004.

ZHU, Z.; ZHU, M.; WU, Z. Pretreatment of sugarcane bagasse with  $\text{NH}_4\text{OH-H}_2\text{O}_2$  and ionic liquid for efficient hydrolysis and bioethanol production. **Bioresource Technology**, v. 119, p. 199-207, 2012.

## 7 APÊNDICE

Segue como parte integrante deste estudo, os cromatogramas das amostras analisadas.

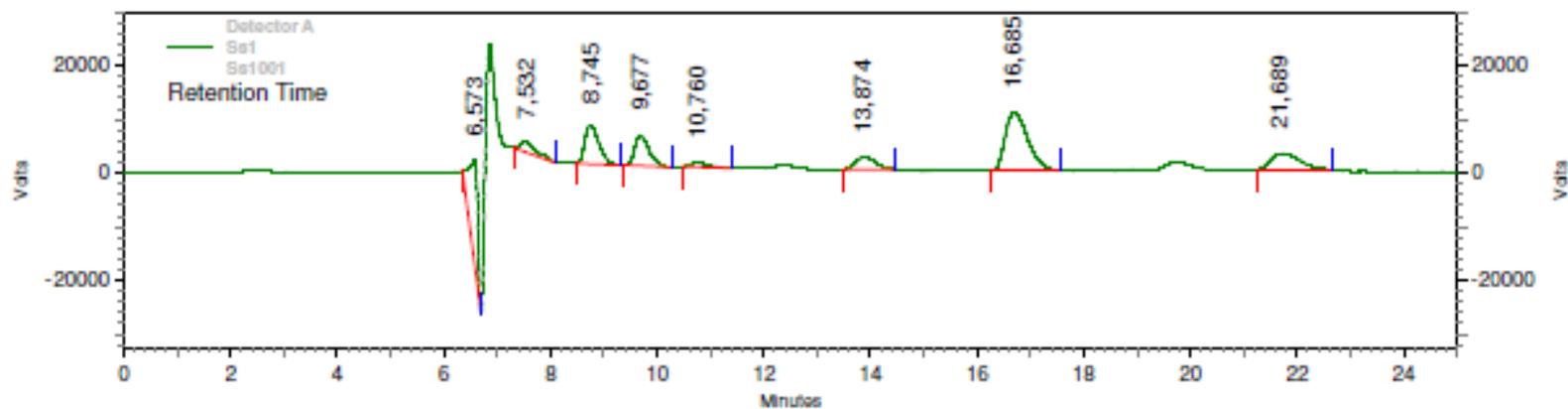
As concentrações dos materiais e componentes presentes na amostra, são observados por CLAE de acordo com o tempo de retenção, assim temos:

<b>Celobiose</b>	8,3 a 9,4	minutos
<b>Glicose</b>	10,0 a 10,7	minutos
<b>Xilose</b>	10,8 a 11,5	minutos
<b>Arabinose</b>	12,0 a 12,7	minutos
<b>Ácido acético</b>	17,0 a 18,5	minutos
<b>Etanol</b>	22,0 a 24,0	minutos

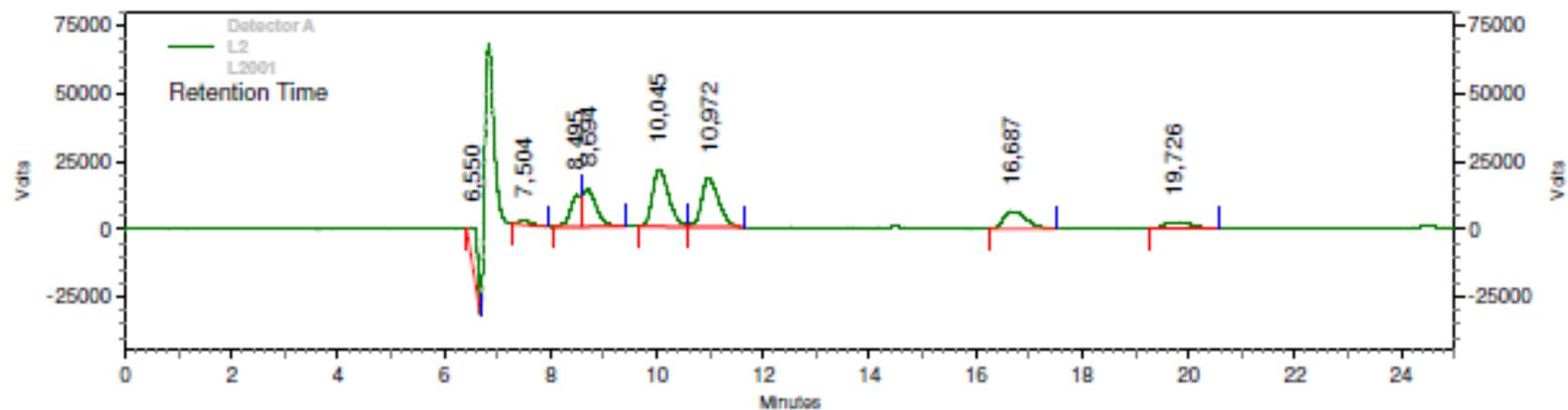
\*Pode haver uma variação de 15 segundos.

Observação:

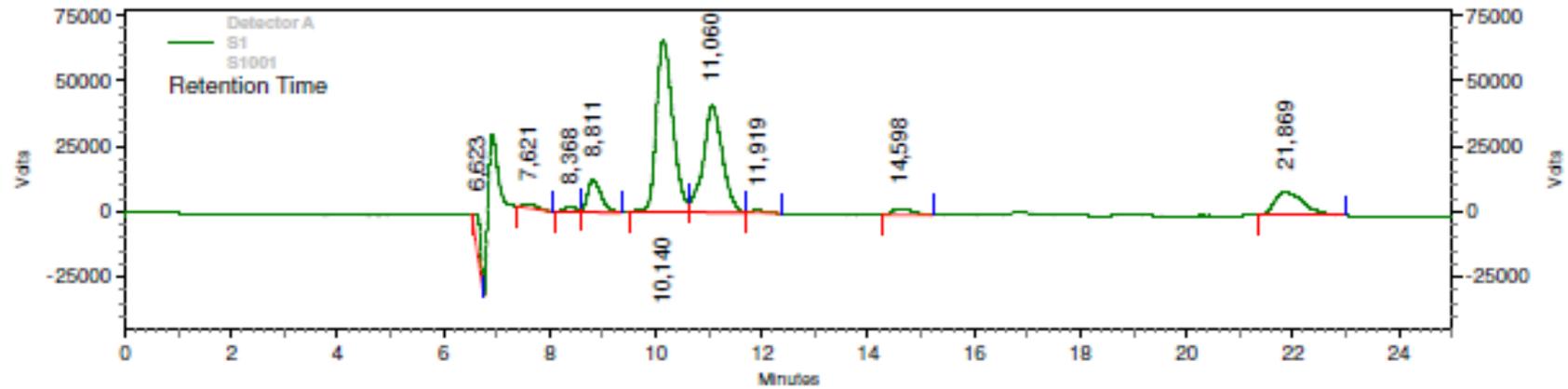
Por definição chamamos de TEMPO DE RETENÇÃO (TR), de uma substância ao tempo decorrido do instante em que a amostra foi introduzida até o instante do máximo do pico. Na análise cromatográfica, mantido constantes a vazão da fase móvel e a temperatura da coluna, o tempo de retenção é constante.



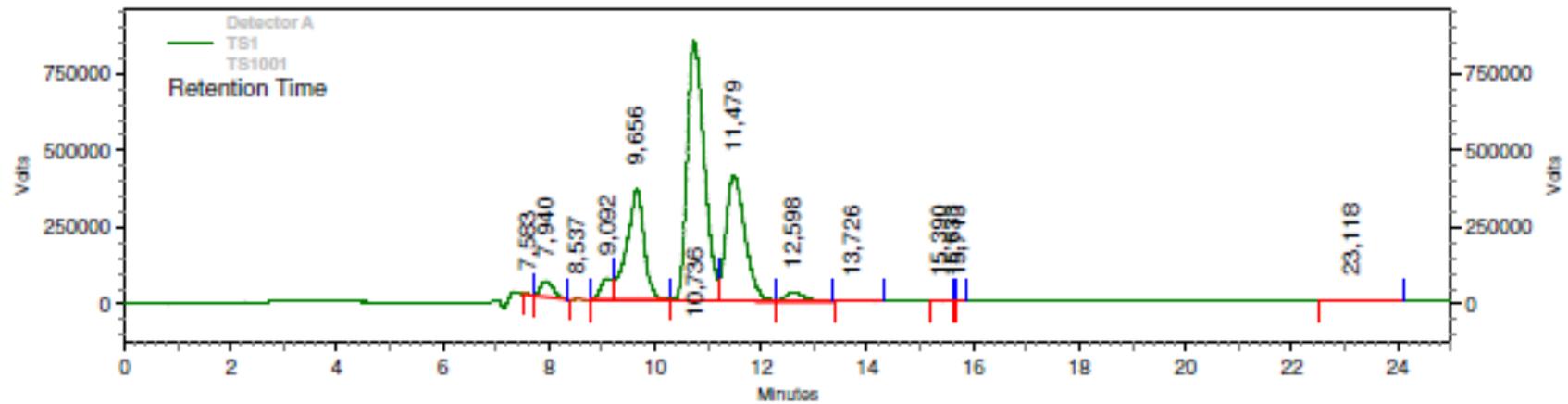
Cromatograma referente à amostra Líquida (Li), antes da fermentação.



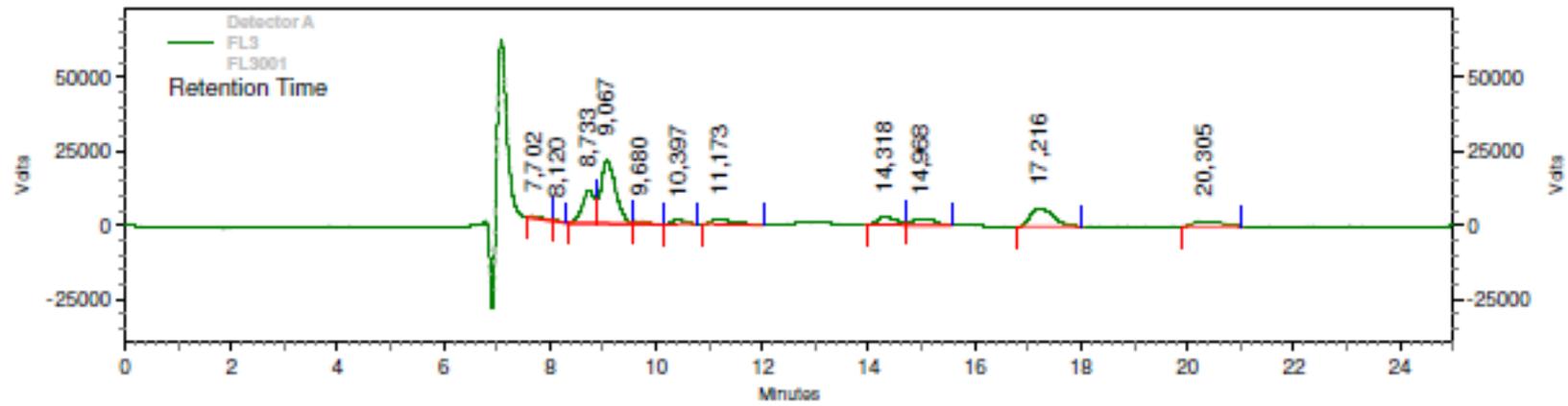
Cromatograma referente à amostra Sólidos suspensos (Ss), antes da fermentação.



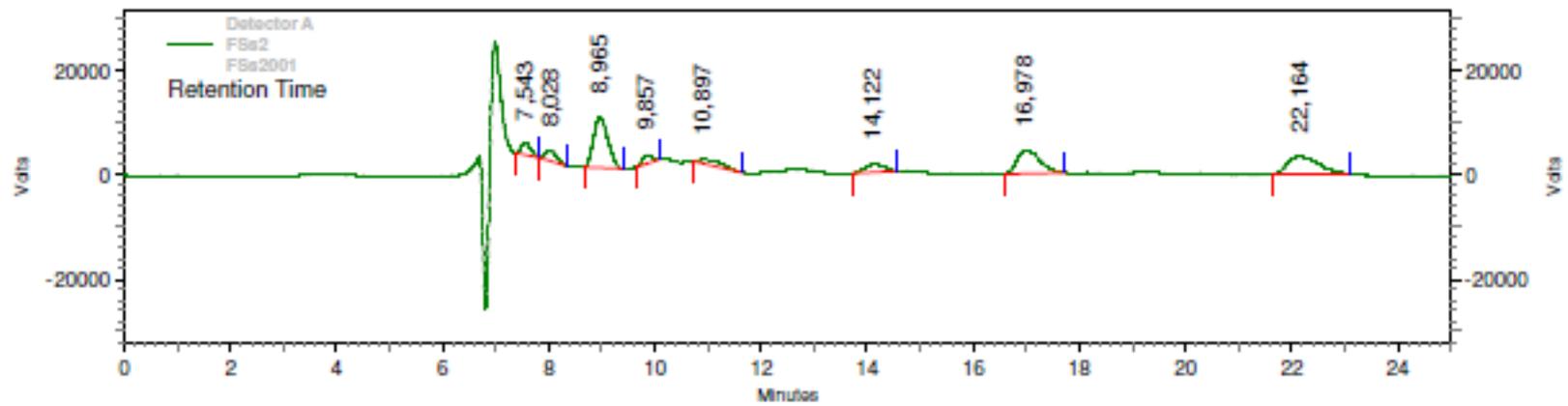
Cromatograma referente à amostra Sólida sem pré-tratamento (SI), antes da fermentação.



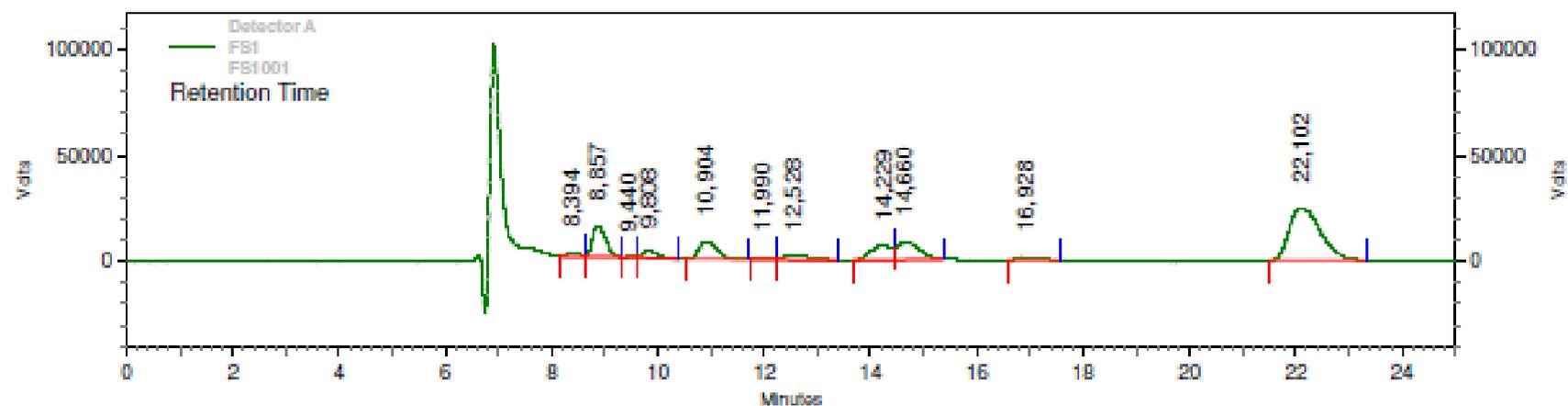
Cromatograma referente à amostra com pré-tratamento (SII), antes da fermentação.



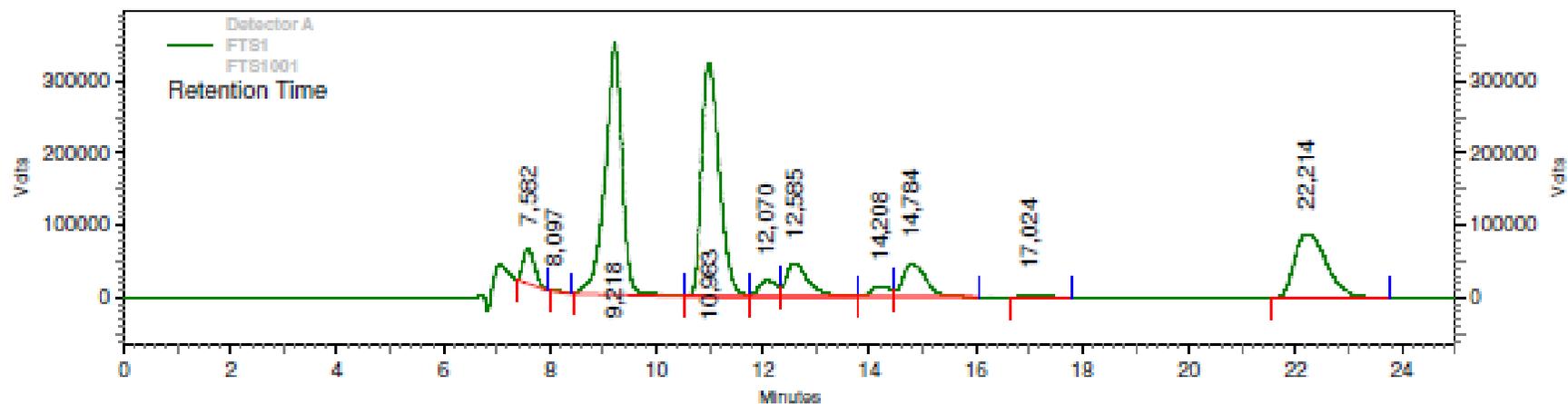
Cromatograma referente à amostra Líquida (Li), após fermentação.



Cromatograma referente à amostra Sólidos suspensos (Ss), após fermentação.



Cromatograma referente à amostra Sólida sem pré-tratamento (S1), após fermentação.



Cromatograma referente à amostra com pré-tratamento (SII), após fermentação.