



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENERGIA DA
BIOMASSA**



ADRIANA MARIA DOS SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA BIOMASSA:
Potencial da palha da cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda
geração**

**Rio Largo – AL
2018**

ADRIANA MARIA DOS SANTOS

**Caracterização química da biomassa:
Potencial da palha da cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda
geração**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Energia da Biomassa da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Energia da Biomassa.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Renata Maria Rosas Garcia Almeida

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Martha Suzana Rodrigues dos Santos Rocha

**Rio Largo – AL
2018**

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Bibliotecária Responsável: Myrtes Vieira do Nascimento

S237c Santos, Adriana Maria dos
Caracterização química da biomassa: potencial da palha da cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração / Adriana Maria dos Santos – 2018.
63 f.; il.

Dissertação (Mestrado em Energia da Biomassa) - Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2018.
Orientação: Prof^a. Dr^a. Renata Maria Rosas Garcia Almeida
Coorientação: Prof^a. Dr^a. Martha Suzana Rodrigues dos Santos Rocha

Inclui bibliografia

1. Cana-de-açúcar 2. Fermentação 3. Hidrólise I. Título
CDU: 633.61

TERMO DE APROVAÇÃO


ADRIANA MARIA DOS SANTOS

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA BIOMASSA: POTENCIAL DA PALHA DA CANA-DE-AÇÚCAR PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO.


Esta dissertação foi submetida a julgamento como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre Profissional em Energia da Biomassa, outorgado pela Universidade Federal de Alagoas.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

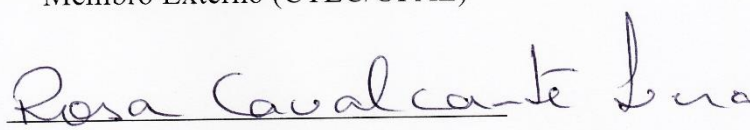
Aprovado em 08/06/2018



Prof^ª. Dr^ª. Renata Maria Rosas Garcia Almeida
Orientadora (/PPGRB/UFAL)



Prof^ª. Dr^ª. Livia Maria Oliveira Ribeiro
Membro Externo (CTEC/UFAL)



Prof^ª. Dr^ª. Rosa Cavalcante Lira
Membro Interno (CECA/UFAL)

Rio Largo/AL

2018

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, por me guiar e sempre iluminar meu caminho.

Ao meu esposo Albany Ferreira Lima, pelo apoio, por estar sempre presente, por não me deixar desistir e por ter sido fundamental em minha caminhada e na elaboração deste trabalho.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Renata Maria Rosas Garcia Almeida, pela paciência, por me aconselhar a não desistir, pelas orientações e ensinamentos dados durante todo esse tempo.

À minha coorientadora, Prof.^a Dr.^a Martha Suzana Rodrigues dos Santos Rocha, por todas as sugestões e orientações dadas em tão pouco tempo.

À minha amiga Jaqueline Castro Laranjeira, pela amizade, conversas e sugestões durante a elaboração desse trabalho.

À minha amiga Jumelice dos Santos Silva, pela amizade, pelo apoio, incentivo e pelas sugestões na elaboração desse trabalho.

Ao meu amigo Kledson Lopes Barbosa, pelas dicas e sugestões para o trabalho.

Aos professores do mestrado que contribuíram para o meu aprendizado durante o curso.

À equipe do Laboratório de Tecnologia de Bebidas e Alimentos – LTBA, pela colaboração na realização dos experimentos.

Aos colegas de mestrado, pela amizade e troca de conhecimentos.

Enfim, os meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram de forma direta e indireta para conclusão deste trabalho.

Obrigada!

*“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada. Caminhando e
semeando, no fim terás o que colher”*

Cora Coralina

RESUMO

Ao longo do tempo, os biocombustíveis vêm ganhando espaço no mercado tendo como alternativa promissora para sua produção o aproveitamento de resíduos lignocelulósicos. Entre esses resíduos, destaca-se a palha da cana-de-açúcar como matéria-prima na produção de etanol de segunda geração (E2G). O uso da palha no processo de produção de E2G envolve as etapas de colheita, seguindo com o enfardamento e armazenamento dessa biomassa antes de seu processamento. Pouco se sabe a respeito da influência do tipo de armazenamento dessa matéria-prima sobre seus componentes estruturais. Por isso, este trabalho tem o objetivo de avaliar o efeito do tempo de armazenamento sobre os carboidratos estruturais da palha da cana-de-açúcar e comparar a fermentabilidade dessa biomassa pelas leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyveromyces marxianus*, visando a produção de E2G. Para isso, foram coletadas três amostras de palha com diferentes tempos de armazenamento. Na metodologia, foi realizada uma caracterização química da palha, seguido de pré-tratamento hidrotérmico, hidrólise enzimática e fermentação. Os resultados obtidos na caracterização química apontam para uma semelhança na composição química das três amostras. A produção de etanol, por sua vez, foi de 2,011g/L com a *Saccharomyces cerevisiae*, de 1,794g/L com a *Kluyveromyces marxianus* e de 1,957g/L com o Mix das duas leveduras. O consumo de glicose durante a fermentação foi semelhante nas três condições de fermentação.

Palavras-chave: armazenamento da palha da cana-de-açúcar, fermentação, hidrólise enzimática, leveduras.

ABSTRACT

Over time, biofuels have been gaining ground in the market, with the use of lignocellulosic residues as a promising alternative for their production. Among these residues, sugarcane straw stands out as the raw material for the production of second-generation ethanol (E2G). The use of straw in the E2G production process involves the harvesting steps, followed by the baling and storage of this biomass before its processing. Little is known about the influence of the type of storage of this raw material on its structural components. Therefore, this work has the objective of evaluating the effect of storage time on the structural carbohydrates of sugarcane straw and to compare the fermentability of this biomass by the yeasts *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces marxianus*, aiming the production of E2G. For this, three samples of straw with different storage times were collected. In the methodology, a chemical characterization of the straw was carried out, followed by hydrothermal pre-treatment, enzymatic hydrolysis and fermentation. The results obtained in the chemical characterization point to a similarity in the chemical composition of the three samples. Ethanol production was 2.011g / L with *Saccharomyces cerevisiae*, 1.794g / L with *Kluyveromyces marxianus* and 1.957g / L with the Mix of the two yeasts. The glucose consumption during fermentation was similar in the three fermentation conditions.

Key words: storage of sugarcane straw, fermentation, enzymatic hydrolysis, yeasts.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura da biomassa lignocelulósica.	15
Figura 2 – Estrutura da celulose.....	17
Figura 3 – Cadeias lineares de polissacarídeos em microfibrilas de celulose.	17
Figura 4 – Alguns componentes da hemicelulose.	18
Figura 5 – Representação esquemática da lignina.....	19
Figura 6 – Estrutura típica da biomassa da cana-de-açúcar.....	20
Figura 7 – Produção de cana-de-açúcar por região.	22
Figura 8 – Comparação entre a cana tradicional e a cana-energia.	22
Figura 9 – Representação da palha da cana-de-açúcar.....	24
Figura 10 – Função do pré-tratamento da biomassa.	25
Figura 11 – Fracionamento dos componentes da biomassa lignocelulósica.	26
Figura 12 – Representação esquemática da produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica.....	27
Figura 13 – Fluxograma de produção de energia elétrica.	30
Figura 14 – Participação de fontes renováveis na matriz energética brasileira.....	31
Figura 15 – Produtos potenciais que podem ser produzidos a partir de biomassa lignocelulósica (palha e bagaço de cana-de-açúcar).....	32
Figura 16 – Separação entre palha e cana.	33
Figura 17 – Formas de armazenamento da palha.	34
Figura 18 – Fluxogramas das etapas envolvidas no estudo.	35
Figura 19 – Palha armazenada coberta com lona plástica	36
Figura 20 – Moinho de facas tipo Willey.....	37
Figura 21 – Curva de calibração do dicromato de potássio.....	44
Figura 22 – Esquema para estimativa de produção de etanol.....	45
Figura 23 – Comparação dos componentes das três amostras.....	47

Figura 24 – Curva padrão de glicose.	49
Figura 25 – Curva padrão da enzima.	50
Figura 26 – Concentração de glicose na hidrólise enzimática.	51
Figura 27 – Consumo de glicose nas três fermentações.	52
Figura 28 – Produção de etanol nos três ensaios de fermentação.	54
Figura 29 – Estimativa de produção de E2G a partir da palha da cana-de-açúcar. ...	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química de algumas biomassas lignocelulósicas que podem ser utilizadas na produção de etanol de segunda geração.....	16
Tabela 2 – Composição básica da cana-de-açúcar.....	20
Tabela 3 – Série histórica da produção dos principais países produtores de cana-de-açúcar, em milhões de toneladas.....	21
Tabela 4 – Composição da cana-de-açúcar e da cana-energia.	23
Tabela 5 – Componentes e derivados da cana-de-açúcar com uso econômico.	23
Tabela 6 – Potencial de produção de etanol a partir da celulose.	28
Tabela 7 – Potencial de produção de etanol a partir da hemicelulose.....	29
Tabela 8 – Identificação das amostras.....	36
Tabela 9 – Rampa de aquecimento da mufla para incineração da amostra.	38
Tabela 10 – Composição química da palha <i>in natura</i>	46
Tabela 11 – Resultados da composição da palha de cana-de-açúcar encontrada por diferentes autores.	47
Tabela 12 – Resultados experimentais do pré-tratamento.	48
Tabela 13 - Resultados experimentais da hidrólise.....	51
Tabela 14 – Consumo de glicose ao longo da fermentação.....	53
Tabela 15 – Resultados obtidos na fermentação.	54
Tabela 16 – Concentrações de celulose e hemicelulose.....	55

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	Objetivos	14
2.1	Geral	14
2.2	Específicos	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1	Biomassas Lignocelulósicas	15
3.2	Cana-de-açúcar	19
3.3	Palha da cana-de-açúcar	24
3.4	Aplicação industrial da palha da cana-de-açúcar	25
3.5	Armazenamento da palha da cana-de-açúcar	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1	Matéria prima	36
4.2	Coleta e preparo da amostra	36
4.3	Caracterização da palha da cana-de-açúcar	37
4.3.1	Determinação de umidade	37
4.3.2	Determinação de cinzas	37
4.3.3	Determinação de extrativos	38
4.3.4	Hidrólise ácida	39
4.3.5	Determinação de lignina solúvel, insolúvel e total	39
4.3.6	Determinação de carboidratos e ácido acético	41
4.4	Pré-tratamento Hidrotérmico	41
4.5	Atividade Enzimática do complexo Cellic[®]CTec2	42
4.6	Hidrólise Enzimática	42
4.7	Fermentação Etanólica	43
4.8	Estimativa de produção de etanol de segunda geração (E2G)	44
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	46

5.1	Composição química da palha da cana-de-açúcar	46
5.2	Pré-tratamento Hidrotérmico	48
5.3	Atividade Enzimática	49
5.4	Hidrólise Enzimática.....	50
5.5	Fermentação Etanólica	52
5.6	Estimativa de produção de etanol de segunda geração (E2G)	55
6	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS	58

1 INTRODUÇÃO

Um dos principais objetivos do uso de biocombustíveis renováveis é a substituição dos combustíveis fósseis, permitindo a diminuição da dependência por recursos não renováveis e a redução dos gases de efeito estufa. (SEABRA, MACEDO e LEAL, 2010). O interesse pela energia da biomassa tem dado ênfase em aplicações que produzem combustíveis líquidos para o setor de transportes (biocombustíveis) (GOLDEMBERG, 2009). Segundo Santos *et al.* (2016) o etanol é, atualmente, uma das mais importantes fontes de combustível renovável com grande potencial para substituir, parcialmente, os combustíveis a base de petróleo.

No Brasil, a produção de etanol se destaca como uma fonte de energia limpa e renovável e seu uso, em substituição à gasolina, representa umas das principais alternativas para a mitigação dos gases do efeito estufa (SEABRA, MACEDO e LEAL, 2010; SANTOS *et al.*, 2012). Nesse cenário, o Brasil se destaca como o país com as tecnologias mais avançadas do mundo, devido à pioneira utilização do etanol obtido a partir da cana-de-açúcar como combustível. É o segundo maior produtor de etanol do mundo, perdendo apenas para os Estados Unidos, que produzem o mesmo a partir do milho (MAPA, 2016; UNICA, 2017).

Na década de 1970, o governo brasileiro deu início ao Programa Nacional do Álcool (Proálcool) para diminuir a dependência nacional do petróleo. Desde então, a utilização de etanol como combustível foi consolidada. Até 2013, 86% dos carros vendidos no país foram *flex-fuel*, que funcionam com qualquer mistura de etanol e gasolina (FURLAN, 2013). Segundo a Agência Nacional de Petróleo - ANP (2016), nosso país é o pioneiro mundial no uso de biocombustíveis e alcançou uma posição almejada por muitos países que buscam fontes renováveis de energia como alternativas estratégicas ao petróleo. Cerca de 45% da energia e 18% dos combustíveis consumidos aqui já são renováveis.

Carvalho (2011) afirma que apesar da grande produção de etanol a partir da sacarose de cana-de-açúcar, a produção de álcool a partir de fontes alternativas de substrato é interessante, principalmente, se associada à indústria já existente. A utilização do bagaço e palha da cana certamente ocupa uma posição de grande destaque, sendo economicamente viável para a produção de combustíveis ambientalmente corretos.

Os governos de países como China, Estados Unidos da América (EUA) e o Brasil vêm, ao longo dos últimos anos, realizando investimentos em pesquisas e desenvolvimento de novas tecnologias para a produção do etanol a partir de materiais lignocelulósicos. Pois, sua viabilidade comercial representa um grande passo na direção da sustentabilidade ambiental e da segurança e independência energética (CATOLICO, 2015).

De acordo com Catolico (2015) o clima, solos apropriados, grande conhecimento no cultivo de cana-de-açúcar e quatro décadas produzindo e utilizando o etanol como combustível são vantagens do Brasil para produção de etanol de segunda geração. Além disso, a própria produção de etanol através da cana é considerada o melhor cenário para o etanol de segunda geração, isso porque dois terços da energia contida na cana não são convertidos em etanol, ficando retidos no bagaço e palha da cana-de-açúcar.

Além do etanol produzido a partir da cana-de-açúcar, o etanol obtido a partir de materiais lignocelulósicos também é aceito como um substituto dos combustíveis fósseis, devido ao seu insignificante impacto ao meio ambiente. A celulose, hemicelulose e lignina totalizam cerca de 90% da composição total do material lignocelulósico. A produção de etanol a partir deste material exige a conversão da celulose e hemicelulose da biomassa em açúcares monoméricos, para serem convertidos em fontes de energia como o etanol. Devido ao interesse na biomassa lignocelulósica como matéria-prima, por seu baixo custo e disponibilidade, estudos foram feitos, por mais de duas décadas, sobre a produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos renováveis (RUEDA, 2010).

Com raras exceções os trabalhos sobre produção de etanol lignocelulósico têm dado pouca ou nenhuma importância sobre a influência do tempo de armazenamento na matéria-prima (LEITE, 2009).

2 Objetivos

2.1 Geral

Avaliar o efeito do tempo de armazenamento sobre os carboidratos estruturais da palha da cana-de-açúcar e o desempenho da fermentação etanólica realizada pelas leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyveromyces marxianus*.

2.2 Específicos

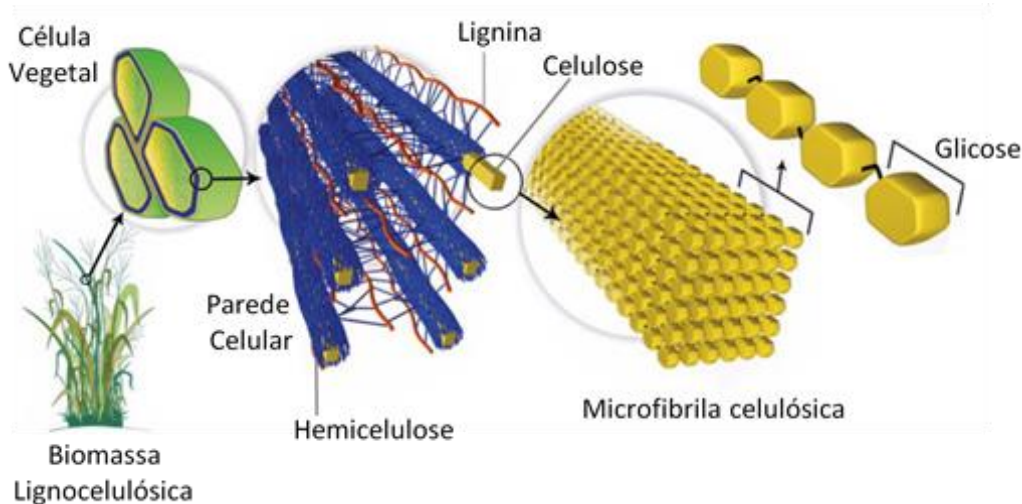
- Verificar se há degradação dos componentes estruturais da palha da cana-de-açúcar em virtude do tempo de armazenamento;
- Avaliar o rendimento do pré-tratamento hidrotérmico da biomassa;
- Examinar o processo de hidrólise enzimática da palha;
- Analisar o desempenho das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyveromyces marxianus* na fermentação etanólica.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Biomassas Lignocelulósicas

A biomassa lignocelulósica é o recurso biológico renovável mais abundante da terra, possui estrutura rígida e fibrosa e dispõe de potencial para produção de calor, eletricidade, combustível e outros produtos químicos. É composta, basicamente, por três componentes principais: celulose, hemicelulose e lignina, conforme ilustrado na Figura 1 e, também, uma pequena quantidade de cinzas e extrativos (SANTOS *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2017).

Figura 1 – Estrutura da biomassa lignocelulósica.



Fonte: Adaptado de Mota *et al.* (2015).

O tamanho e a forma da parede celular dos materiais lignocelulósicos variam de espécie para espécie, apresentando composição química de acordo com a biomassa analisada. Seus três componentes principais são distribuídos em quantidades diferentes. Em geral, a celulose se encontra em proporções maiores, cerca de 35-50%, seguida da hemicelulose, em torno de 20-35% e a lignina com 10-25%, conforme mostra a Tabela 1 (SANTOS *et al.* 2012; SILVA, 2012).

Tabela 1 – Composição química de algumas biomassas lignocelulósicas que podem ser utilizadas na produção de etanol de segunda geração.

Biomassa Lignocelulósica	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
Palha de cana	40-44	30-32	22-25
Bagaço de cana	32-48	19-24	23-32
Espiga de milho	45	35	15
Palha de trigo	30	50	15
Sisal	73,1	14,2	11
Palha de arroz	43,3	26,4	16,3
Fornagem de milho	38-40	28	7-21
Fibra de coco	36-43	15-0,25	41-45
Fibra de bananeira	60-65	6-8	5-10
Palha de cevada	31-45	27-38	14-19
Palha de milho	38	26	23
Sorgo	23	14	11

Fonte: Adaptado de Mussatto e Teixeira (2010); Santos *et al.* (2012).

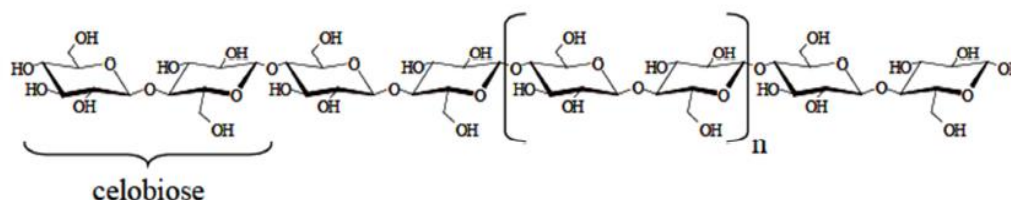
Segundo Mussatto e Teixeira (2010) a biomassa lignocelulósica é uma fonte de energia renovável de baixo custo e compõe resíduos agrícolas, florestais e agroindustriais. Esses resíduos contêm uma grande variedade de materiais, dentre eles, resíduos de papel, bagaço de cana-de-açúcar, palhas, caules, talos, folhas e cascas de cereais como milho, arroz e trigo.

De acordo com Pereira Jr., Couto e Santa Anna (2008) entre os resíduos lignocelulósicos de maior importância se destaca o bagaço e palha da cana, palha e farinha de milho, palha de arroz e de trigo, resíduos de madeira processada e resíduos de papel. No Brasil estima-se que o setor Sucroenergético gera, aproximadamente, 6,6 milhões de toneladas de bagaço de cana excedente e 76 milhões de toneladas de palha (MAPA, 2018).

A celulose, polímero linear e cristalino de alto peso molecular, é o polissacarídeo orgânico mais abundante do planeta, formada por uma longa cadeia de unidades de D-glicose unidas por ligações glicosídicas β -1,4 como mostrado na Figura 2. Essas ligações glicosídicas são fracas e tendem a se decompor sob

condições ácidas e de alta temperatura. Sua fórmula química geral é $(C_6H_{10}O_5)_n$, possui como unidade básica de repetição a D-celobiose, que consiste em duas unidades de D-glicose, e tem como função dar proteção, forma e suporte às células vegetais (ARAÚJO *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2017).

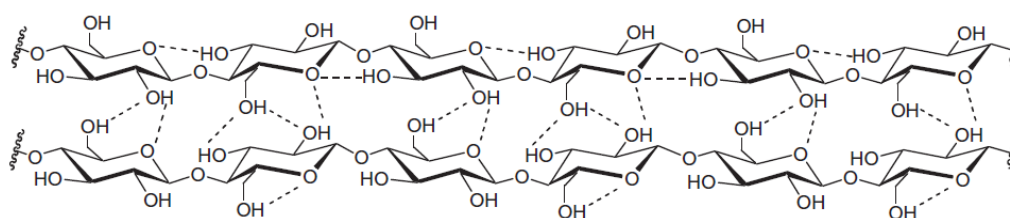
Figura 2 – Estrutura da celulose.



Fonte: Gomes (2015).

As unidades repetidas de D-celobiose compõem pilhas de cadeias lineares, que formam uma estrutura cristalina com ligações de hidrogênio, como mostra a Figura 3. Essas microfibrilas de celulose altamente hidrogenada proporcionam resistência a parede celular, dificultando a desconstrução por solvente ou por tratamentos físicos. A hidrólise da celulose resulta em uma molécula de glicose, açúcar simples de seis carbonos, facilmente fermentado em biocombustíveis se puder ser acessado (NOGUEIRA, 2008; AMARASEKARA, 2014).

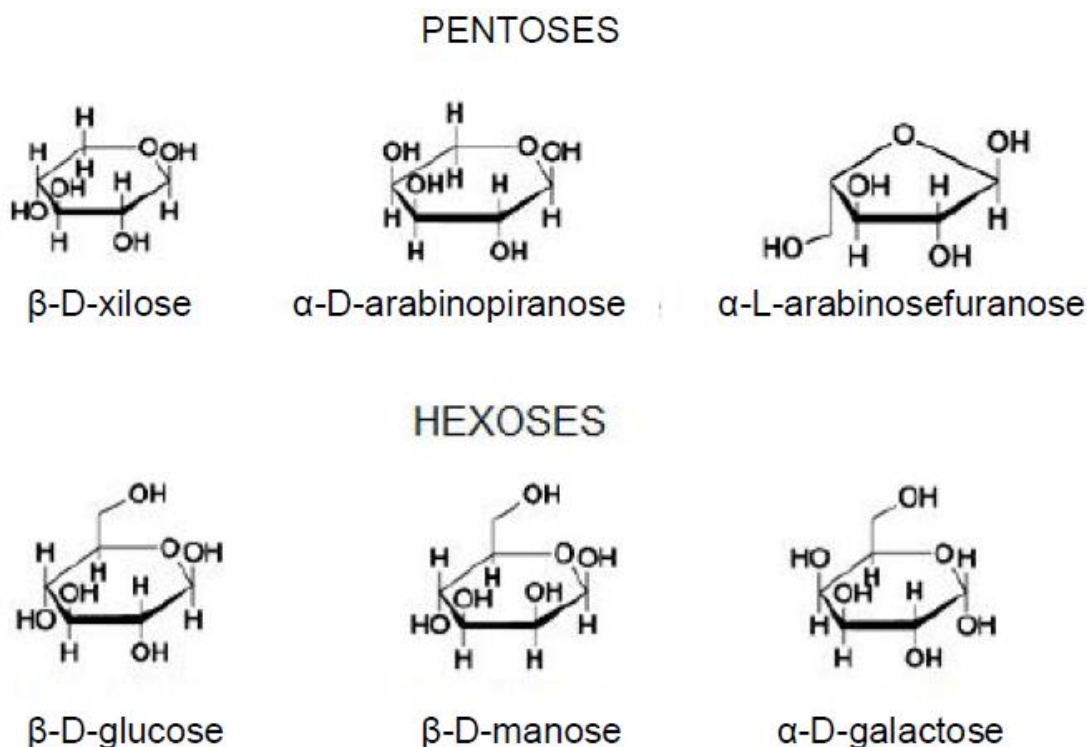
Figura 3 – Cadeias lineares de polissacarídeos em microfibrilas de celulose.



Fonte: Amarasekara (2014).

A hemicelulose, segundo componente da biomassa, é uma estrutura amorfa formada por polímeros heterogêneos de pentoses (xilose, arabinose), hexoses (glicose, manose, galactose) e ácidos de açúcar, conforme representado na Figura 4 (MORAIS, NASCIMENTO e MELO, 2005).

Figura 4 – Alguns componentes da hemicelulose.

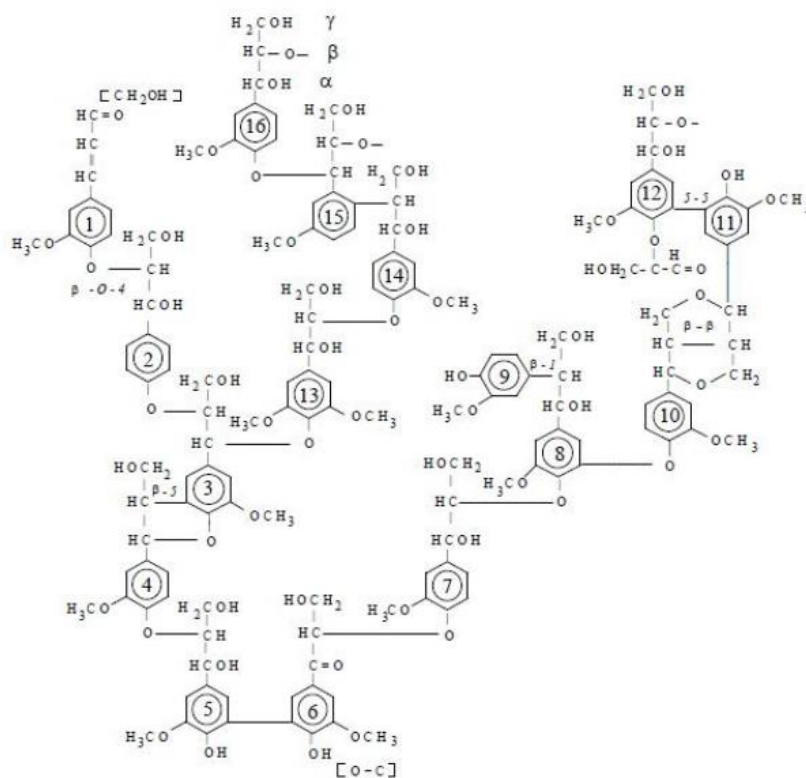


Fonte: Morais, Nascimento e Melo (2005).

Ela serve de conexão entre a celulose e a lignina uma vez que suas cadeias laterais permitem que ela interaja também com a lignina. A variedade de ligações e de ramificações contribui para a complexidade de sua estrutura. Diferente da celulose, sua estrutura não é cristalina e é facilmente hidrolisada. Também ao contrário da celulose, que contém apenas D-glucose, a hemicelulose contém muitos monômeros de açúcares diferentes, a maioria deles são as pentoses, que são açúcares de cinco carbonos. A xilose é o monômero de açúcar presente em maior quantidade na hemicelulose (ARAÚJO *et al.*, 2013; AMARASEKARA, 2014).

A lignina, terceiro constituinte da biomassa, é uma macromolécula aromática que possui uma estrutura polifenólica complexa e rígida sendo composta basicamente de unidades de fenilpropano (Figura 5).

Figura 5 – Representação esquemática da lignina.



Fonte: Araújo *et al.* (2013).

Ela apresenta uma conformação tridimensional e amorfa e age como material adesivo, agente de enrijecimento e como barreira contra a degradação enzimática, microbiana e oxidação da parede celular. A organização e composição de seus componentes variam de uma espécie para outra (CARVALHO, 2011; SANTOS *et al.*, 2012).

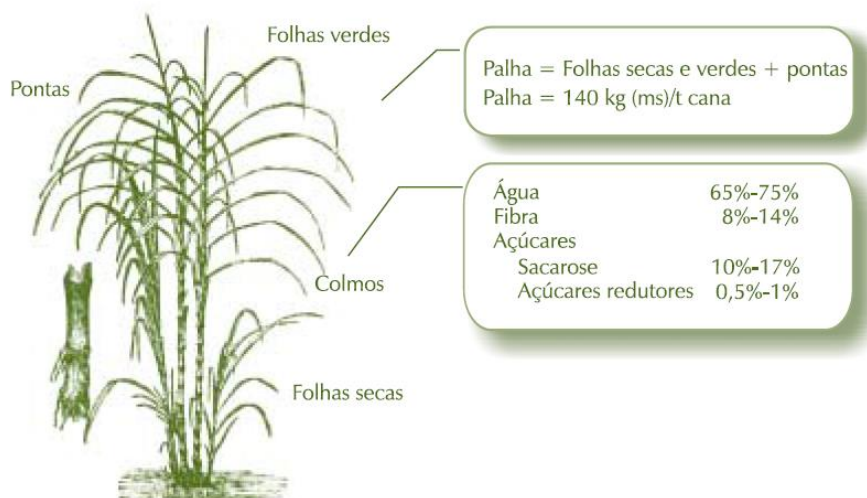
3.2 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar, bastante cultivada no Brasil, é uma cultura semi-perene, ou seja, após seu plantio pode ser cortada várias vezes antes de ser replantada. Seu ciclo produtivo é, em média, de cinco cortes em seis anos (LEITE, 2009). É um recurso agrícola renovável com grande potencial para produção de etanol e subprodutos. Portanto é considerada umas das grandes alternativas para o setor de biocombustíveis (CONAB, 2017).

Esta planta pertence ao gênero *Saccharum* e ao grupo das gramíneas, oriunda de regiões temperadas quentes a tropicais da Ásia. A parte aérea da planta é

composta pelos colmos, onde se concentra a sacarose, e pelas pontas e folhas, que constituem a palha da cana, como mostrado na Figura 6 (NOGUEIRA *et al.*, 2008).

Figura 6 – Estrutura típica da biomassa da cana-de-açúcar.



Fonte: Nogueira *et al.* (2008).

Os colmos da cana são utilizados como matéria-prima para produção de açúcar e etanol. O bagaço é um subproduto do processamento da cana-de-açúcar, constituído por uma fração dos colmos. As pontas, folhas verdes e secas compõem a palha da cana-de-açúcar, que vem sendo, cada vez mais, utilizada na indústria como combustível em caldeiras e produção de etanol de segunda geração (DIAS, 2011).

A composição da cana-de-açúcar varia em função da variedade de cana, do solo, do clima, da disponibilidade de água e da época na safra, dentre outros fatores. A cana-de-açúcar é, essencialmente, uma mistura de caldo e fibra. Sua composição básica é apresentada na Tabela 2 (DIAS, 2011).

Tabela 2 – Composição básica da cana-de-açúcar.

Componente	Teor (% em massa)
Sólidos Totais	27 a 24
Sólidos Solúveis	10 a 16
Fibra (base seca)	11 a 16
Água	73 a 76

Fonte: Dias (2011).

Segundo Souza *et al.* (2013) a cana-de-açúcar é a mais importante matéria-prima para produção de etanol. Devido a extensão de seu cultivo no mundo, sua produtividade em relação à área cultivada, seus baixos custos de produção e seu balanço energético positivo (CORTEZ, LORA e GOMEZ, 2008).

De acordo com o Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA, 2015) o Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, seguido da Índia, China e Tailândia, como ilustra a Tabela 3. No Brasil ela é utilizada, principalmente, na produção de etanol e açúcar. É uma das culturas agrícolas mais importantes em países tropicais, gerando diversos recursos e empregos diretos e, dessa forma, contribuindo para o desenvolvimento, com melhores fontes de renda (SANTOS, 2012).

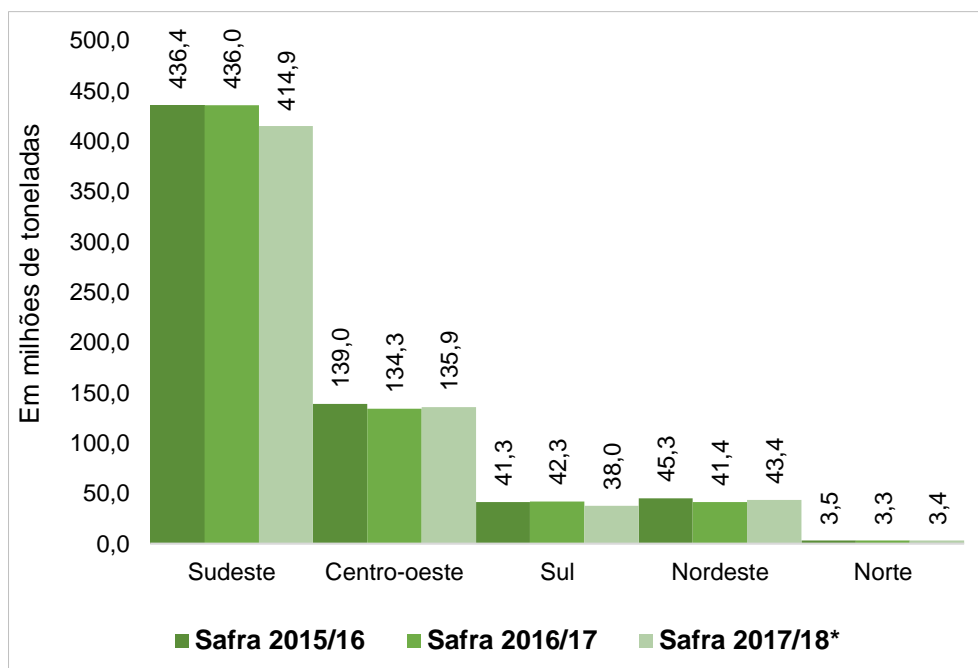
Tabela 3 – Série histórica da produção dos principais países produtores de cana-de-açúcar, em milhões de toneladas.

	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Brasil	349,6	347,7	382,3	428,3	495,5	522,8	622,6	627,3	565,8	549,4
Índia	287,4	233,9	237,1	281,2	355,5	348,2	285,0	292,3	342,4	347,9
China	90,2	89,8	86,6	92,6	113,0	124,2	115,6	110,8	114,4	123,5
Tailândia	74,3	65,0	49,6	47,7	64,4	73,5	66,8	68,8	96,0	96,5

Fonte: Adaptada de MAPA (2015).

No Brasil, a cana-de-açúcar é cultivada em diferentes regiões. Na safra 2016/2017, a área cultivada foi pouco mais de 9 milhões de hectares, distribuídas em todas as regiões produtoras do país, com concentração maior na região Sudeste, conforme mostra a Figura 7. A estimativa de produção para safra de 2017/18 é de 635,6 milhões de toneladas, um decréscimo de 3,3% comparado com a safra anterior (CONAB, 2017).

Figura 7 – Produção de cana-de-açúcar por região.

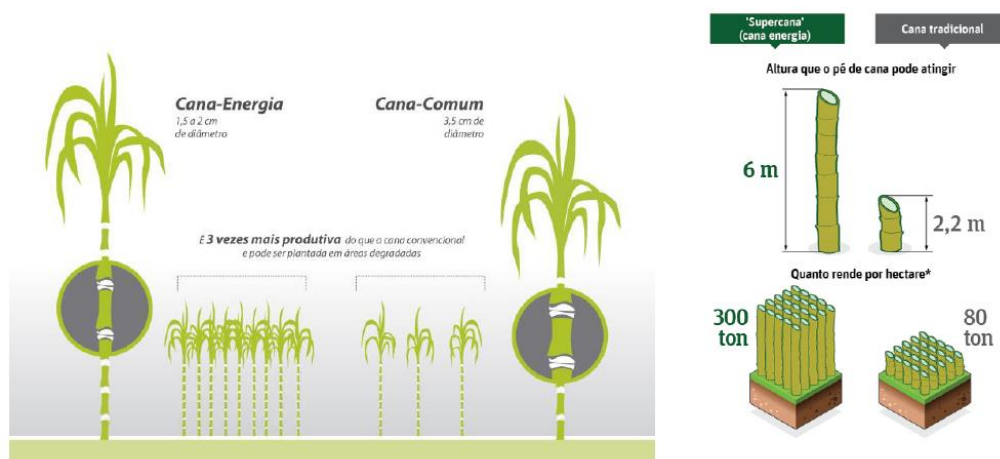


*Previsão em dezembro de 2017.

Fonte: Companhia Nacional de Abastecimento - Conab (2017).

Por estar cada vez mais presente na matriz energética brasileira e ser uma fonte importante de biomassa, a cana-de-açúcar vem sendo o foco de estudos que almejam seu melhor aproveitamento. Esses esforços são muito importantes para o cenário agroenergético e econômico do Brasil. Neste contexto, diversas empresas de melhoramento genético das variedades de cana-de-açúcar realizaram estudos a fim de desenvolver variedades de cana com alto teor de fibras e maior produtividade (Figura 8) (VAZ-JÚNIOR, 2013; SILVEIRA, 2014).

Figura 8 – Comparação entre a cana tradicional e a cana-energia.



Fonte: Lima (2016).

Em sua composição, a cana-de-açúcar tradicional (*Saccharum officinarum*), predominante nos canaviais brasileiros, possui elevado teor de açúcar e baixo teor de fibras. Já a cana-energia (*Saccharum spp. hybrids*), uma variedade produzida por melhoramento genético, destaca-se por apresentar alto teor de fibras e alta produtividade (OKUNO, 2016). A Tabela 4 ilustra as diferenças de composição entre a cana-energia e cana-de-açúcar tradicional.

Tabela 4 – Composição da cana-de-açúcar e da cana-energia.

Características	Cana-de-açúcar	Cana-energia
Teor de fibras (%)	17,4	27
Teor de açúcar (%)	12,6	8,5
ATR (kg de ATR/ton de cana)	135	93
Produtividade (ton/ha)	100	180
Número de colheitas por ciclo	5	10
Bagaço (ton/ha)	25	92,6
Açúcar (ton/ha)	13,5	17,2

Fonte: Delgado, Sousa e Roitman (2017).

Os diversos produtos que são produzidos a partir da biomassa da cana-de-açúcar possuem grande potencial em agregar valor à cadeia produtiva energética. Dentre esses produtos, ilustrados na Tabela 5, destacam-se o bagaço e a palha da cana pelo seu amplo potencial energético (VAZ-JÚNIOR, 2013).

Tabela 5 – Componentes e derivados da cana-de-açúcar com uso econômico.

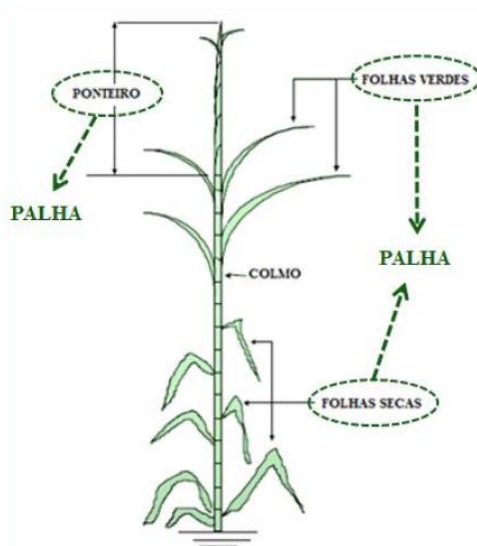
Resíduo	Constituinte Principal	Uso
Sacarose	Glicose e Frutose	Açúcar Comercial, Etanol, Sucroquímica.
Bagaço	Lignina, Celulose, Hemicelulose, Inorgânicos e Água	Alimentação Animal, Bioeletricidade Via Cogeração, Etanol De Segunda Geração, Fibras e Polímeros.
Palha	Lignina, Celulose, Hemicelulose, Inorgânicos e Água	Bioeletricidade Via Cogeração, Etanol De Segunda Geração, Compostos Químicos A Partir Da Celulose, Hemicelulose e Lignina.
Vinhaça	Matéria Orgânica Solubilizada, Sólidos Inorgânicos Insolúveis, Sais Inorgânicos Solúveis e Água	Biogás, Fertilizantes.

Fonte: Adaptado de Vaz-Júnior (2013).

3.3 Palha da cana-de-açúcar

A palha é um subproduto muito importante da cana-de-açúcar, compreende a parte aérea da planta, é composta pelas pontas, folhas verdes e secas, conforme ilustra a Figura 9.

Figura 9 – Representação da palha da cana-de-açúcar.



Fonte: Georges (2011).

Seus açúcares encontram-se na forma de polímeros de celulose, hemicelulose e são recobertos por uma macromolécula denominada lignina (DIAS, 2011; SANTOS *et al.*, 2012). Silva (2009) demonstrou que a palha *in natura* apresenta em sua composição 38% de celulose, 29% de hemicelulose e 24% de lignina e de acordo com Santos *et al.* (2012), uma tonelada de palha é equivalente a 1,2 a 2,8 EBP (Equivalentes Barris de Petróleo).

De acordo com Santos *et al.* (2012) a palha se destaca como fonte energética entre os diferentes tipos de biomassa lignocelulósica, por apresentar um grande potencial para geração de energia e produção de etanol celulósico (etanol de segunda geração). Seu aproveitamento deverá ocupar nos próximos anos um lugar de destaque como matéria-prima para a produção de etanol combustível.

Grande parte da palha de cana-açúcar era queimada antes da colheita. Porém, a colheita mecanizada vem aumentando, devido a um Decreto Federal n. 2.661/98 que estabelece o fim gradativo da queima de cana-de-açúcar nos 20 anos seguintes a sua promulgação. Portanto, o prazo se extingue em 2018. Com isso, haverá um aumento na disponibilidade de palha, que poderá ser utilizada como fonte

de energia para diversos processos, dentre eles, a produção de etanol celulósico e a produção de energia (SANTOS *et al.*, 2012). Entretanto, de acordo o Sindaçúcar-AL (2017) apenas 10% da colheita de cana em Alagoas é feita de maneira mecanizada, ou seja, 90% é realizada manualmente. Isso ocorre, principalmente, devido ao tipo de solo acidentado, o que leva a necessidade de queimar a cana antes da colheita manual.

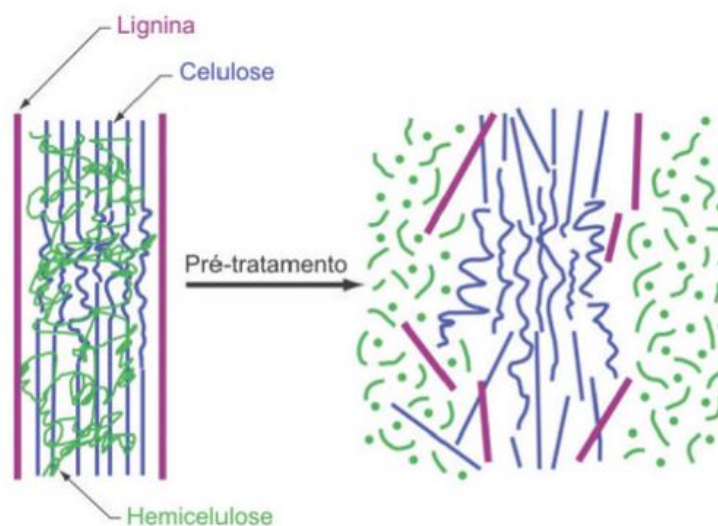
3.4 Aplicação industrial da palha da cana-de-açúcar

A palha da cana é fonte de uma energia limpa, renovável e sustentável, representa um terço do conteúdo energético da cana-de-açúcar (EPE, 2017). Seus componentes (celulose, hemicelulose e lignina) podem ser utilizados de forma integral em Biorrefinarias na produção de diversos produtos (CGEE, 2010).

De acordo com Cherubini (2010), uma biorrefinaria se caracteriza por utilizar um conjunto de tecnologias e processos através dos quais as matérias-primas renováveis e seus resíduos são transformados em bicomcombustíveis, energia e produtos químicos de alto valor agregado.

Para a utilização da palha em diversos processos produtivos é necessário que seus componentes sejam separados, transformando-os em matéria-prima. Nesta separação é imprescindível a etapa de pré-tratamento, que visa romper a estrutura lignocelulósica (Figura 10).

Figura 10 – Função do pré-tratamento da biomassa.

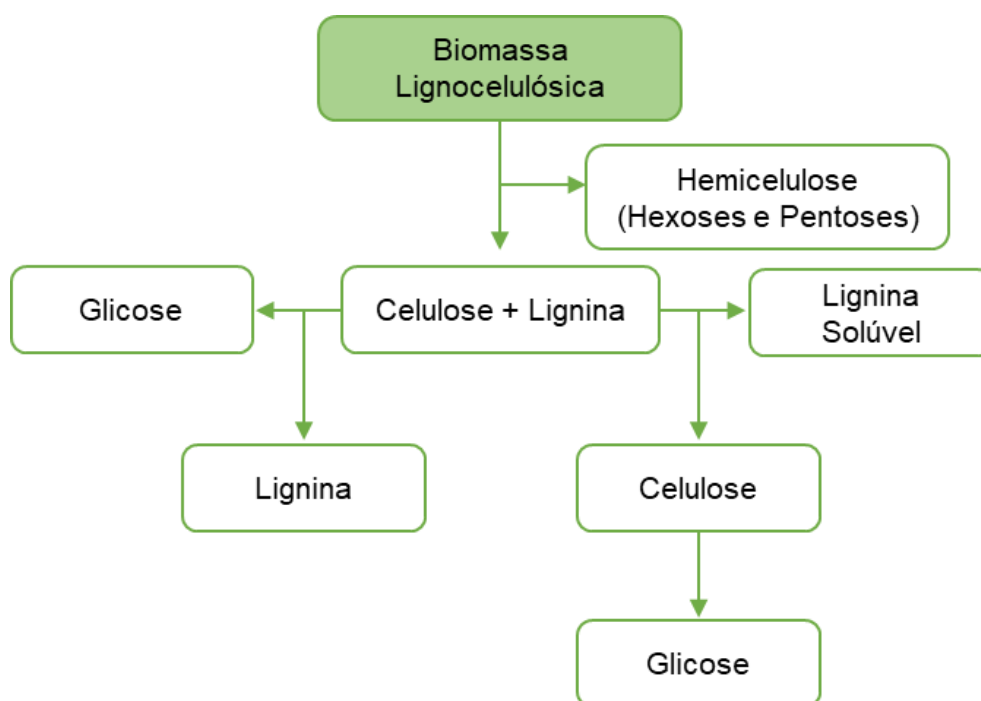


Fonte: Santos *et al.* (2012).

O pré-tratamento pode ser térmico, químico, físico, biológico ou uma combinação de todos esses, seguido do processo de hidrólise para gerar uma alta concentração de monômeros de açúcar, que podem ser usados em processos biotecnológicos e químicos (BETANCUR e PEREIRA JR, 2010; CGEE, 2010).

A Figura 11 ilustra um esquema simplificado do fracionamento dos componentes da biomassa lignocelulósica.

Figura 11 – Fracionamento dos componentes da biomassa lignocelulósica.



Fonte: Adaptado de Pereira Jr, Couto e Santa Anna (2008).

Os componentes extraídos da palha podem dar origem a diversos produtos, tais como: biocombustíveis (etanol de segunda geração), energia elétrica, materiais (fibras, papel e etc.) e alguns produtos químicos (resinas, adesivos, lubrificantes, ácidos e etc.) (ALVIM *et al.*, 2014). A seguir são listados alguns destes produtos.

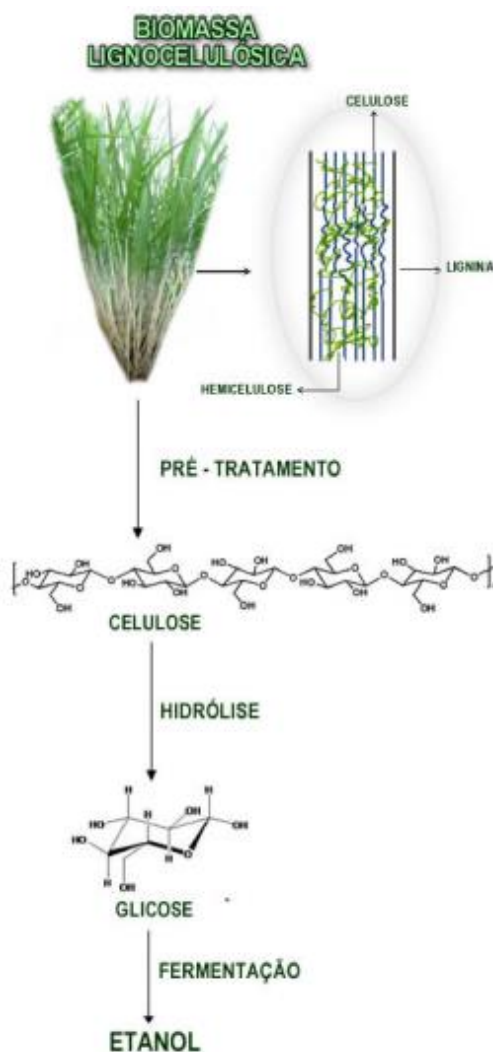
▪ **Produção de etanol de segunda geração**

Na área de biocombustíveis, a palha pode ser utilizada na produção de etanol de segunda geração, que segundo Jardine, Dispatto e Peres (2009), recebe esta denominação por ser obtido de matéria-prima não convencional. Este etanol vem sendo produzido pela hidrólise e fermentação de materiais lignocelulósicos desde o fim do século XIX, mas, somente nos últimos 20 anos essa tecnologia tem sido

proposta em escala industrial e vem sendo considerada como uma alternativa promissora para aumentar a produção e atender à demanda mundial de biocombustíveis (NOGUEIRA *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2014).

Contudo, um dos principais desafios dessa tecnologia é a dificuldade de obtenção dos açúcares a partir dos componentes principais da biomassa (celulose e hemicelulose), devido às suas estruturas complexas e rígidas (SANTOS *et al.*, 2016). Portanto, são necessárias algumas etapas para tornar esses açúcares disponíveis à fermentação. As principais etapas são: pré-tratamento da biomassa, hidrólise ácida ou enzimática da celulose para posterior fermentação desse açúcar (MOREIRA *et al.*, 2014). A Figura 12 apresenta uma configuração simplificada do processo.

Figura 12 – Representação esquemática da produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica.



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

Durante o pré-tratamento a lignina é removida e a hemicelulose é quebrada nos seus monômeros constituintes, uma mistura de hexoses e pentoses. Posteriormente, essa biomassa pré-tratada é submetida à hidrólise, que pode ser ácida ou enzimática. A hidrólise ácida consiste na quebra das moléculas de celulose por meio da adição de um ácido diluído ou concentrado, dependendo das condições da reação (temperatura, concentração de ácido), outros produtos poderão ser formados, resultantes da degradação da glicose e do furfural. Na hidrólise enzimática, o catalisador é de origem biológica, um complexo de enzimas chamadas de celulases (CORTEZ, 2010). Por fim, ocorre a fermentação, que é realizada por microrganismos, usualmente uma levedura, que converte o açúcar em etanol. A levedura mais utilizada é a *Saccharomyces cerevisiae* (GALBE e ZACCHI, 2010).

Rocha, Almeida e Cruz (2017) listaram o potencial de produção de etanol de diversas biomassas lignocelulósicas a partir das concentrações de celulose e hemicelulose de cada umas delas. Nas Tabelas 6 e 7 é possível observar um grande potencial de produção de etanol a partir dessas biomassas, destacando-se a casca do coco, a palha e o bagaço da cana-de-açúcar.

Tabela 6 – Potencial de produção de etanol a partir da celulose.

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

1: 1,111 g/g; assumindo 80% de eficiência no pré- tratamento e 90% de eficiência na hidrólise;

2: Yp/s = 0,51 g/g; assumindo 90% de eficiência na fermentação; 3: densidade do etanol 0,79

Fonte: Adaptado de Rocha, Almeida e Cruz (2017).

Tabela 7 – Potencial de produção de etanol a partir da hemicelulose.

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

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

Fonte: Adaptado de Rocha, Almeida e Cruz (2017).

Um exemplo de indústria que vem aplicando técnicas de conversão de biomassas lignocelulósicas é a Granbio que foi inaugurada em abril de 2013 no Estado de Alagoas. Ela foi a primeira usina de etanol celulósico da América Latina. Seu objetivo era produzir 20% a mais de etanol em 2014 utilizando apenas a palha de cana, sem precisar aumentar a área de plantio de cana-de-açúcar (G1, 2013).

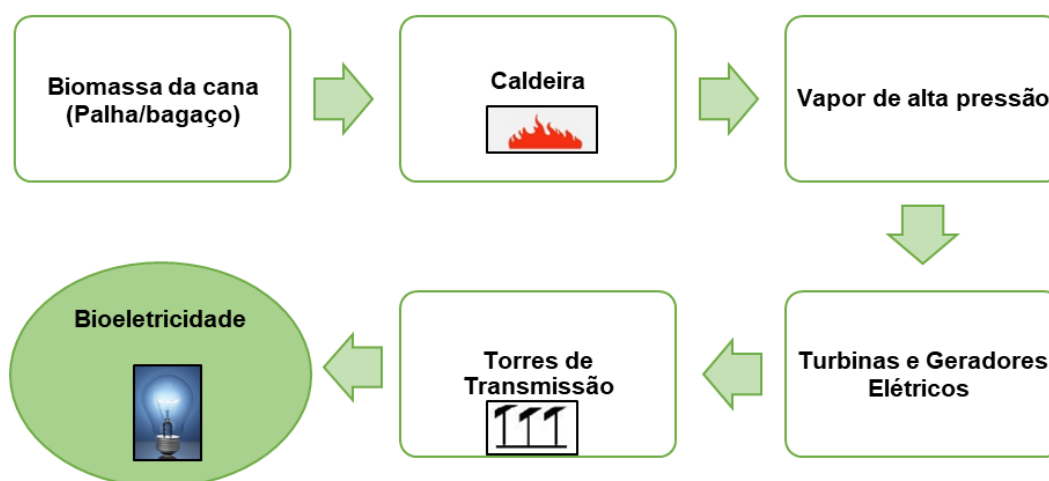
De acordo com a Granbio (2017) sua planta industrial tem capacidade de produzir 82 milhões de litros do biocombustível por ano, através de um processo produtivo que não compromete a lavoura. Isto só é possível em áreas onde a colheita da cana-de-açúcar é mecanizada, uma vez que após a colheita da cana, a palha é recolhida e transportada para a usina ou para o estoque, onde pode ficar armazenada por vários meses.

Outro exemplo desse tipo de indústria é a Raizen, na região Sudeste, que iniciou a operação de sua primeira planta de etanol celulósico em escala comercial utilizando o bagaço e palha da cana-de-açúcar, com capacidade de produção de 40 milhões de litros por ano (RAIZEN, 2017).

▪ Produção de energia elétrica

Devido ao seu alto potencial energético, a palha vem sendo utilizada na produção de energia térmica e elétrica em sistemas de cogeração de energia instalados na maioria das usinas sucroalcooleiras (DIAS, 2011). As primeiras usinas implementaram este processo no início do século XX, que consiste em aproveitar o vapor produzido pela queima da palha e/ou bagaço de cana, em caldeiras, para funcionamento dos seus equipamentos (Figura 13) (CASSULA *et al.*, 2012).

Figura 13 – Fluxograma de produção de energia elétrica.



Fonte: Adaptado de Santos (2016); Cassula *et al.* (2012).

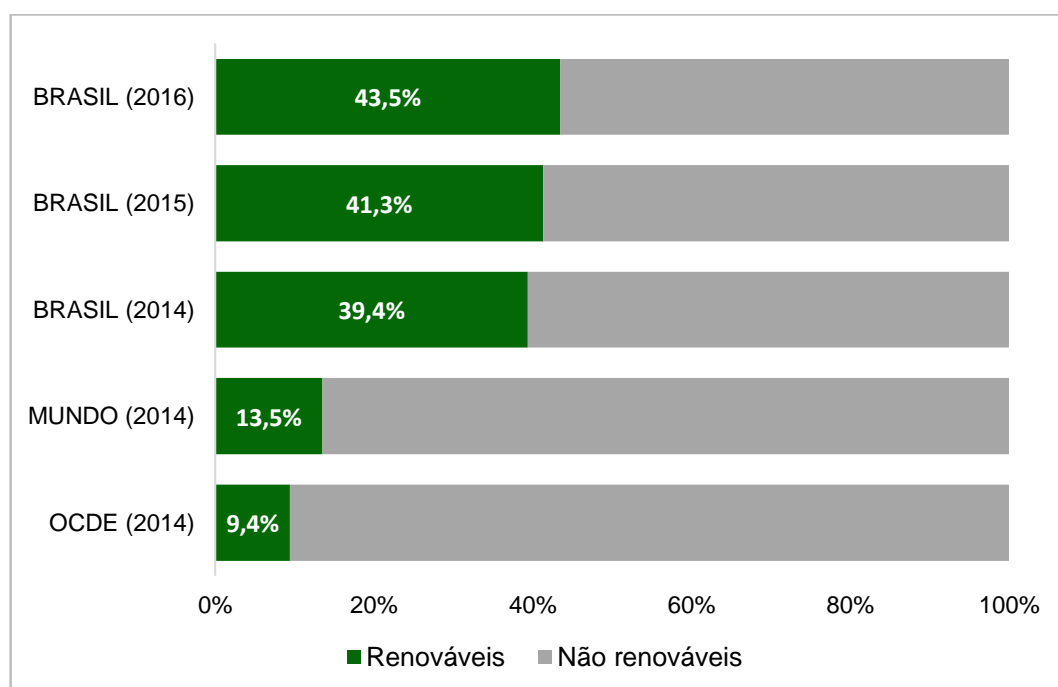
De acordo com Miranda (2013) com o aperfeiçoamento das caldeiras tornou-se possível uma produção de vapor suficiente para garantir o funcionamento dos equipamentos e gerar energia elétrica, também chamada de bioeletricidade, que é destinada a comercialização no Sistema Elétrico Brasileiro.

Estudos realizados no Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE) indicam que a geração de bioeletricidade, a partir da palha de cana-de-açúcar, tem o potencial de produção de 35,5 TWh por ano. Esse potencial considera a produção de 140 kg de palha (base seca) por tonelada de cana-de-açúcar e de recolhimento de metade de toda a palha gerada na colheita da safra 2016/2017 (CNPEM, 2017).

De acordo com a Empresa de Pesquisas Energéticas (EPE, 2017) em 2016 a participação de fontes renováveis na matriz energética brasileira manteve-se entre as mais elevadas do mundo, com a participação de 43,5%. Dentre as fontes renováveis

de energia se destaca a biomassa da cana com 17,5%, como ilustra a Figura 14. Com o grande potencial da queima da palha, a produção de energia elétrica tende a aumentar, considerando que este resíduo representa 1/3 do potencial da cana-de-açúcar (MENANDRO, 2016).

Figura 14 – Participação de fontes renováveis na matriz energética brasileira.

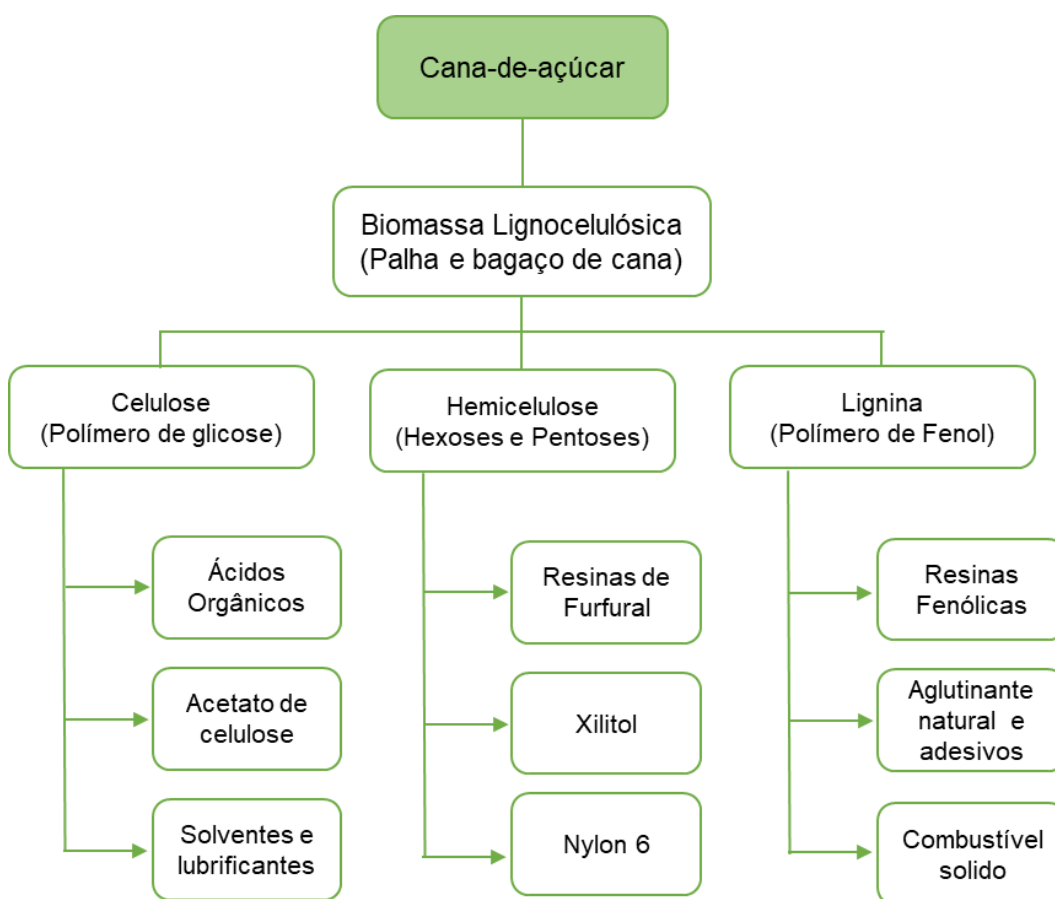


Fonte: Empresa de Pesquisa Energética – EPE (2017).

▪ Produção de Bioquímicos/Biopolímeros

Com o desenvolvimento de processos de Biorrefinaria é possível produzir diversos produtos derivados da biomassa lignocelulósica, que podem substituir os produtos derivados do petróleo e proporcionar o crescimento da indústria química (MENON e RAO, 2012). A partir dos constituintes básicos da palha da cana (celulose, hemicelulose e lignina) pode-se produzir uma grande variedade de Biopolímeros (Figura 15) destinados a diversas aplicações industriais (PEREIRA JR, COUTO e SANTA ANNA, 2008; MORAIS *et al.*, 2013).

Figura 15 – Produtos potenciais que podem ser produzidos a partir de biomassa lignocelulósica (palha e bagaço de cana-de-açúcar).



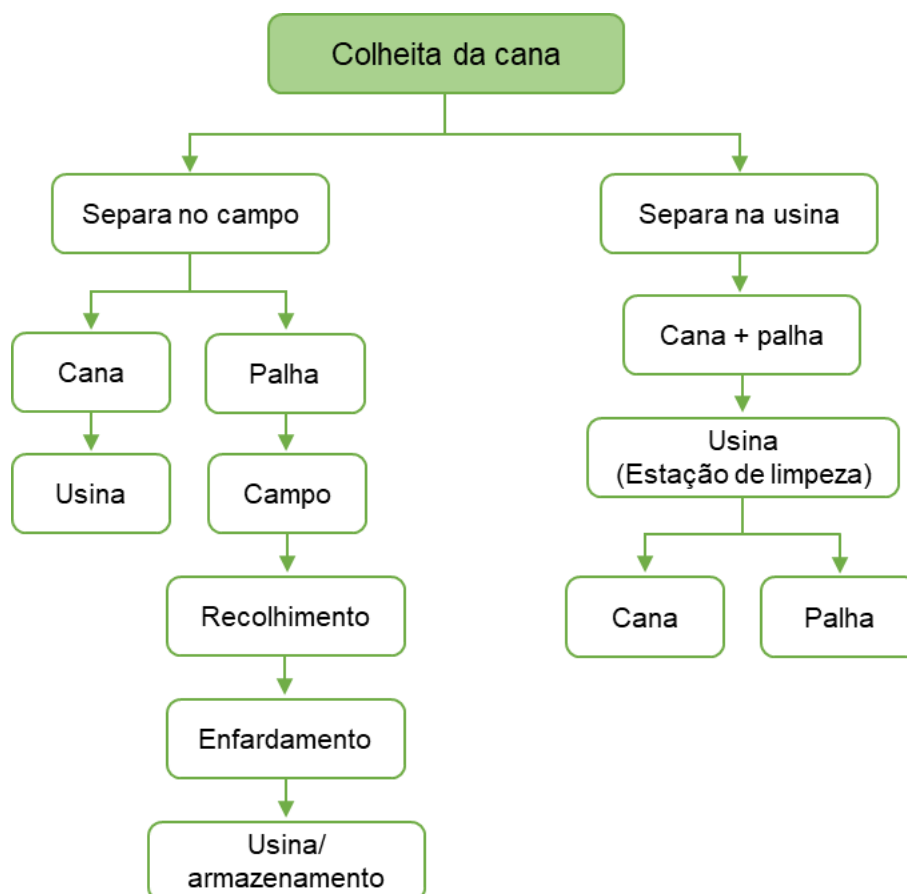
Fonte: Adaptado de Morais *et al.* (2013).

De acordo com Vaz-Júnior (2013) os produtos químicos obtidos a partir de biomassa são os que possuem maior potencial em agregar valor a uma cadeia produtiva agroenergética. A produção destes produtos tem grande potencial para reduzir a dependência de produtos à base de petróleo, para melhorar a economia das indústrias químicas e da agricultura (MENON e RAO, 2012).

3.5 Armazenamento da palha da cana-de-açúcar

Após a colheita mecanizada da cana, a palha precisa ser separada, colhida e armazenada antes de seu processamento. A separação entre palha e cana pode ser efetuada no campo ou na usina, como ilustra a Figura 16. Quando esta separação é realizada no campo, a palha é enfardada e transportada para a usina, onde é descarregada já no sistema de processamento ou armazenada (LEAL *et al.*, 2013).

Figura 16 – Separação entre palha e cana.



Fonte: Adaptado de Leite (2009).

São diversas as formas que podem ser utilizadas para armazenar a palha da cana-de-açúcar. Um estudo realizado pelo Centro de Tecnologia Canavieira (CTC, 2015) sobre formas de armazenamento da palha cana, por meio do Projeto BRA/96/G31, avaliou três condições de armazenamento da palha com o objetivo de identificar o melhor custo-benefício. As três condições estudadas foram: palhiço empilhado a céu aberto, palhiço armazenado em galpão de lona inflável e o palhiço armazenado em silos plásticos (silo bolsa) como mostra a Figura 17. Neste estudo, foi observado que o armazenamento a céu aberto é a alternativa mais conveniente. Contudo, não foram consideradas as perdas de material por deterioração (LEITE, 2009).

Figura 17 – Formas de armazenamento da palha.



Fardos empilhados a céu aberto



Galpão de lona inflável



Silos plásticos (silo bolsa)

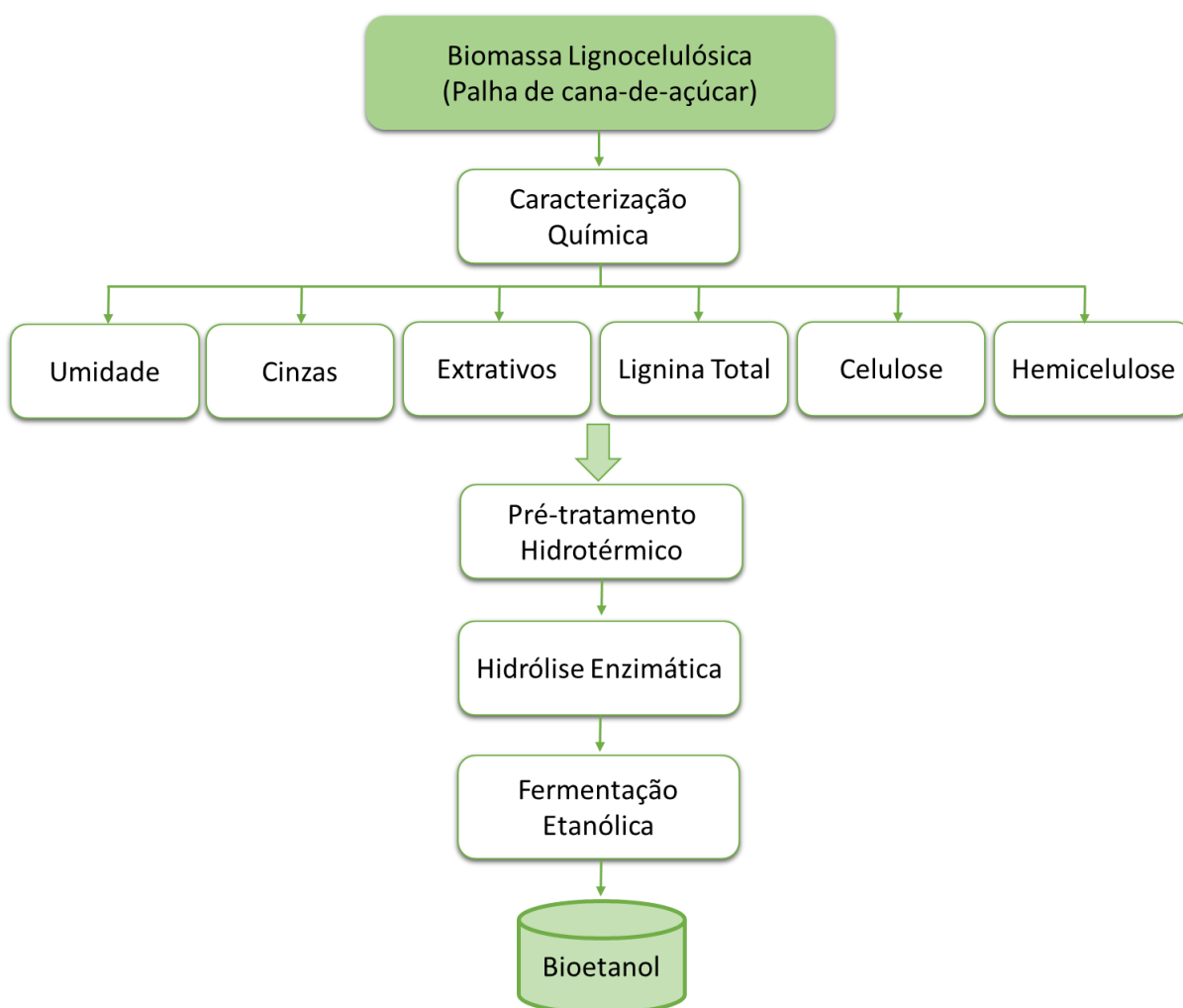
Fonte: Adaptado de CTC (2015).

No capítulo a seguir, serão descritos os materiais e métodos utilizados neste trabalho para realização das etapas de caracterização química da palha, pré-tratamento hidrotérmico, hidrólise enzimática e fermentação etanólica. E por fim, foi apresentado o modelo utilizado para fazer uma estimativa de produção de etanol baseada nos dados da biomassa estudada.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Tecnologia de Alimentos e Bebidas (LTBA) localizado no Centro de Tecnologia (CTEC) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), em parceria com uma usina de produção de etanol localizada em São Miguel dos Campos – AL. As etapas empregadas neste estudo são apresentadas na Figura 18.

Figura 18 – Fluxogramas das etapas envolvidas no estudo.



Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

4.1 Matéria prima

A palha da cana-de-açúcar utilizada neste estudo foi proveniente do Centro de Armazenamento de uma usina que produz etanol a partir da palha da cana, localizada em São Miguel dos Campos – AL. Essas palhas foram armazenadas em fardos empilhados cobertos com lona plástica por vários meses antes de seu processamento (Figura 19).

Figura 19 – Palha armazenada coberta com lona plástica



Fonte: Acervo do autor (2017).

4.2 Coleta e preparo da amostra

Foram coletadas três amostras de palha conforme ilustrado na Tabela 8. As coletas foram realizadas da parte externa dos fardos.

Tabela 8 – Identificação das amostras.

Amostra	Safra
Amostra 1	2014/2015
Amostra 2	2015/2016
Amostra 3	2016/2017

Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

A amostra da safra 2014/2015 estava armazenada há dois anos, a amostra da safra 2015/2016 passou um ano armazenada e a amostra da safra 2016/2017 foi coletada logo após sua colheita.

As amostras de palha levadas ao laboratório foram trituradas em moinho de facas tipo Willey (Figura 20) para diminuir sua granulometria e posterior caracterização química.

Figura 20 – Moinho de facas tipo Willey.



Fonte: Acervo do autor (2017).

4.3 Caracterização da palha da cana-de-açúcar

As análises da composição química da palha da cana-de-açúcar foram realizadas na amostra *in natura*. Foram determinados o teor de umidade, cinzas e extrativos, lignina total, celulose e hemicelulose.

4.3.1 Determinação de umidade

Para determinar o teor de umidade foram pesadas, em triplicata, 20g da amostra e colocadas para secar em estufa à 105°C ± 3°C até peso constante. Esta análise foi baseada na norma do National Renewable Energy Laboratory (NREL) (SLUITER *et al.*, 2008a). O teor de umidade das amostras foi calculado através da Equação 1:

$$\text{Umidade (\%)} = 100 - \left[\left(\frac{\text{Massa}_{\text{amostra seca}}}{\text{Massa}_{\text{amostra bruta}}} \right) \times 100 \right] \quad (1)$$

4.3.2 Determinação de cinzas

O teor de cinzas foi determinado pesando-se em triplicata 10g da amostra, previamente moída e peneirada, em seguida colocada para incinerar em forno de

mufra equipado com um programador de rampa. As amostras foram incineradas seguindo o programa de rampa de temperatura descrito na Tabela 9. Esta análise foi baseada na norma do NREL (SLUITER *et al.*, 2008b).

Tabela 9 – Rampa de aquecimento da mufla para incineração da amostra.

Temperatura (°C)	Velocidade (°C/min)	Permanência (min)
105	10	12
250	10	30
575	20	180

Fonte: Adaptado de Sluiter *et al.* (2008b).

Para calcular o teor de cinzas foi utilizada a Equação 2.

$$\text{Cinzas (\%)} = \left(\frac{\text{Massa}_{\text{amostra incinerada}}}{\text{Massa}_{\text{amostra bruta pesada}}} \right) \times 100 \quad (2)$$

4.3.3 Determinação de extrativos

Na determinação de extrativos, a metodologia foi baseada na norma NREL (SLUITER *et al.*, 2008c). Foram utilizadas amostras de 3g de palha moída e não peneirada, colocadas em cartuchos de celulose previamente seco em estufa a 105°C. A extração foi realizada em aparelho de *sox/let* em duas etapas: a primeira etapa foi feita com 200mL de água deionizada por 24h com temperatura ajustada para 8°C; a segunda etapa foi realizada com 180mL de etanol absoluto PA por 8h, com temperatura ajustada para 15°C. Após a extração, os cartuchos de celulose foram colocados em estufa a 105°C para secagem até peso constante. As amostras finais e iniciais foram pesadas e o teor de extrativos foi determinado pela diferença dessas massas conforme Equação 3.

$$\text{Extrativos (\%)} = \left(\frac{M1-M2}{M1} \right) \times 100 \quad (3)$$

Em que:

$M1$ = Massa da amostra seca inicialmente pesada, em g;

$M2$ = Massa da amostra livre de extrativos, em g.

4.3.4 Hidrólise ácida

A hidrólise ácida tem o objetivo de fracionar a biomassa em estruturas mais fáceis de quantificar. Durante a hidrólise ácida os carboidratos poliméricos são hidrolisados em suas formas monoméricas solúveis no hidrolisado e então medidas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Esse procedimento foi baseada na norma NREL (SLUITER *et al.*, 2008d). Pesou-se em triplicata 300mg da amostra livre de extrativos em tubos de pressão. A cada tubo foi adicionado 3mL de ácido sulfúrico 72% e foram colocados em banho-maria com temperatura ajustada a 30°C por 60 minutos. Durante essa etapa de hidrólise, as amostras foram agitadas utilizando agitador do tipo *vórtex* a cada 10 minutos. A agitação é essencial para garantir uma hidrólise uniforme. Após 60 minutos de hidrólise, os tubos foram retirados do banho-maria e colocados em banho de gelo. Foi pesado 84g de água deionizada e adicionado a cada tubo.

A mistura foi autoclavada por 1 hora a 121°C, resfriada e filtrada em um cadinho de *Gooch* contendo filtros de fibra de vidro previamente secos e pesados. O filtrado foi fracionado em duas partes: uma para a determinação da lignina solúvel e a outra para a quantificação dos carboidratos e ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os sólidos retidos no cadinho de *Gooch* foram lavados com água deionizada em abundância e secos em estufa a 105°C até massa constante para posterior determinação da lignina insolúvel.

4.3.5 Determinação de lignina solúvel, insolúvel e total

Os sólidos obtidos no procedimento descrito no item 3.3.4 foram levados à estufa a 105°C até massa constante. A lignina insolúvel foi obtida pela diferença entre o peso inicial e o resíduo seco ao término do processo, conforme ilustrado na Equação 4. Após secos e pesados, os cadinhos de *Gooch* foram levados a mufla e incinerados a uma temperatura de 575°C por 4 horas, para determinação das cinzas da lignina, calculada conforme mostra a Equação 5.

$$\text{Lignina Insolúvel (\%)} = \left(\frac{(M_f - M_p) - M_c}{M_a} \right) \times 100 \quad (4)$$

Em que:

M_f = massa do cadinho de *Gooch* + filtro de fibra de vidro + resíduo sólido após secagem a 105°C;

M_p = massa do cadinho de *Gooch* + filtro de fibra de vidro, calcinado a 575°C;

M_a = massa inicial de amostra seca;

M_c = massa de cinzas da lignina.

$$\text{Cinzas da Lignina (\%)} = \left(\frac{(M_f - M_c)}{M_a} \right) \times 100 \quad (5)$$

Em que:

M_f = massa do cadinho de *Gooch* + filtro de fibra de vidro contendo as cinzas obtido após calcinação em mufla, em gramas;

M_c = massa do cadinho de *Gooch* + filtro de fibra de vidro secos, em gramas;

M_a = massa inicial de amostra seca, em gramas.

A lignina solúvel foi determinada fazendo-se a leitura do líquido gerado no processo descrito no item 3.3.4 em espectrofotômetro UV-Visível. As leituras foram feitas em um comprimento de onda de 240 nm. A lignina solúvel foi calculada através da Equação 6. Através da soma do teor de lignina solúvel e insolúvel obteve-se a lignina total, conforme ilustra a Equação 7.

$$\text{Lignina Solúvel (\%)} = \left(\frac{(\text{Abs } 240 \times D) \times V_f}{(m_a \times \epsilon \times CO)} \right) \times 100 \quad (6)$$

Em que:

Abs 240 = valor de absorbância lida a 240 nm;

D = fator de diluição utilizado para a leitura das amostras;

M_a = massa de amostra inicial livre de umidade, em gramas;

V_f = volume total filtrado (0,08673 L);

ϵ = Absortividade molar para o comprimento de onda utilizado = 25 L/g cm;

CO = caminho óptico da cubeta utilizada = 1 cm.

$$\text{Lignina Total (\%)} = \% \text{ Lignina solúvel} + \% \text{ lignina insolúvel} \quad (7)$$

4.3.6 Determinação de carboidratos e ácido acético

O filtrado obtido no procedimento descrito no item 3.3.4 foi submetido a filtração em filtro 0,22µm, diluído e analisado em um sistema de CLAE para quantificação dos açúcares e ácido acético. A concentração dos açúcares e do ácido acético foi determinada através de curvas de calibração preparadas com padrões de grau analítico para cada componente. Para determinação de carboidratos foi utilizado uma coluna Aminex HPX-87P (Bio-rad) e para determinação do ácido acético foi utilizado uma coluna Aminex HPX-87H (RID-PDA).

Desta forma, as concentrações de celulose e hemicelulose foram calculadas pelas Equações 8 e 9, respectivamente.

$$\% \text{ Celulose} = \% \text{ Glucanas} \quad (8)$$

$$\% \text{ Hemicelulose} = \% \text{ Xilanas} + \% \text{ Arabinanas} + \% \text{ Acetil} + \% \text{ Galactanass} \quad (9)$$

4.4 Pré-tratamento Hidrotérmico

O pré-tratamento hidrotérmico foi realizado de acordo com metodologia utilizada por Rocha (2017). Uma amostra seca e triturada da palha da cana *in natura* foi misturada com água em um erlenmeyer utilizando uma carga de sólidos de 10% (m/v). O material foi pré-tratado em autoclave vertical durante 30 minutos a 121°C. Ao final da etapa de pré-tratamento, a fração sólida foi separada da fração líquida por meio de filtração em papel de filtro. A fração sólida foi submetida à lavagem com água para a remoção de inibidores, solubilizados durante a etapa de pré-tratamento, até pH neutro. Em seguida, o sólido foi seco em estufa a 45°C até sua umidade atingir um valor igual ou inferior a 10% para posterior hidrólise enzimática.

O rendimento da etapa de pré-tratamento hidrotérmico foi calculado utilizando a Equação 10.

$$R = \frac{m_{\text{final}}}{m_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (10)$$

Em que:

m_{inicial} = massa inicial seca de material lignocelulósico, em gramas;

m_{final} = massa final seca de material lignocelulósico, em gramas;

R = rendimento mássico (%).

4.5 Atividade Enzimática do complexo Cellic®CTec2

A atividade enzimática da Cellic®CTec2 foi determinada conforme metodologia descrita por Ghose (1987). O método baseia-se em determinar a atividade celulósica total da enzima, visando averiguar a quantidade utilizada nas hidrólises. A atividade é dada em unidades de papel filtro, FPU (do inglês *Filter Paper Units*) por mL de enzima.

Para a determinação da atividade enzimática foi adicionado 1mL de solução tampão citrato 50mM pH 4,8 em tubos de ensaios Folin Wu. Em seguida foram adicionados 0,5mL de enzima, previamente diluída em tampão citrato, e tiras de papel filtro Whatman nº 1 (1,0 x 6,0cm) como substrato. Os tubos foram incubados em banho termostatizado à 50°C por 60 minutos a uma rotação de 150rpm.

Após o período de incubação, adicionou-se 3mL de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) a cada tubo e agitou-se para parar a reação enzimática. Em seguida os tubos foram colocados em água fervente no banho-maria por 5 minutos, e depois resfriados até atingir a temperatura ambiente. Foi adicionado 20mL de água destilada e agitou-se, dando sequência a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 540nm.

Para quantificação dos açúcares redutores liberados durante a reação construiu-se uma curva padrão de glicose. Para construção da curva padrão, foi preparada uma solução estoque de glicose 10,0mg/mL. Partindo dessa solução, foram produzidas outras 5 soluções padrão por meio de novas diluições em tampão citrato 50mmol/L pH 4,8, abrangendo a faixa de concentração 0 – 10 mg/mL. As diluições foram feitas em triplicata. A curva de glicose foi obtida com valores de concentração de glicose versus a absorbância.

4.6 Hidrólise Enzimática

As amostras de palha pré-tratadas foram submetidas à hidrólise enzimática. Foi utilizado o complexo de enzimas comercial CelliC® Ctec2. Os experimentos foram realizados com uma carga enzimática de 20 FPU/g de biomassa pré-tratada, uma carga de sólidos de 10% (m/v) e 50mL de tampão citrato, pH 4,8 (50 mM). As hidrólises foram realizadas em erlenmeyer de 250mL em shaker sob agitação de 100rpm, a 50°C por 72 horas. Durante a reação foram coletadas alíquotas nos tempos de 6, 24, 30, 48, 54 e 72 horas para posterior quantificação de glicose.

A concentração de glicose foi quantificada através do teste laboratorial LabTest, usando-se reagente e padrão de glicose. Em tubos, foram adicionado 0,03mL da amostra e 3mL do reagente. Para o padrão, foi adicionado 0,03mL do mesmo a 3mL do reagente. A mistura foi colocada em banho termostático por 10 min à 37°C. Em seguida, foi feita a leitura das absorvâncias das amostras em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 505nm. A concentração de glicose foi calculada de acordo com a Equação 11.

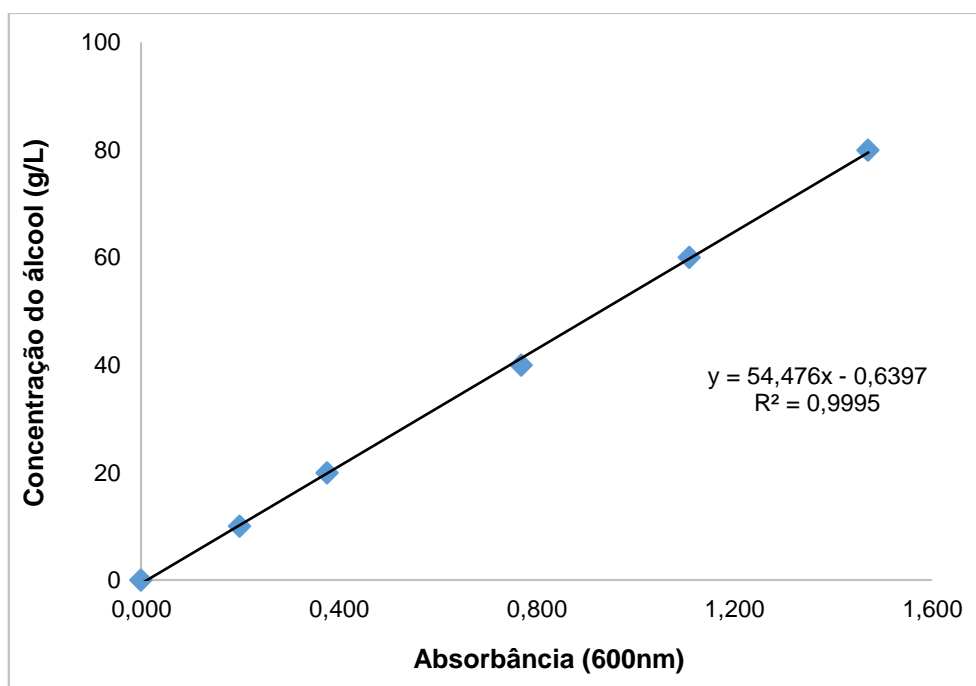
$$C_{GLICOSE} \text{ (g/L)} = \left(\frac{\text{Absorvância}_{amostra}}{\text{Absorvância}_{padr\tilde{a}o}} \right) \times \text{Dilui\c{c}\~{a}o}_{amostra} \quad (11)$$

4.7 Fermentação Etanólica

Os microrganismos utilizados na fermentação etanólica foram as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyveromyces marxianus*. Foram cultivadas em meio líquido YPD (Yeast Peptone Dextrose) contendo 40g/L de glicose, 20g/L de extrato de levedura e 20g/L de peptona bacteriológica. Para o preparo da suspensão, após atingir a fase exponencial de crescimento, as leveduras foram centrifugadas a 9000rpm por 10 minutos, eliminando o meio sobrenadante e lavadas com água destilada esterilizada para remoção de açúcares. A fermentação foi realizada utilizando uma alíquota de 15mL do licor hidrolisado, 0,75mL de levedura (equivalente a 5% do volume do hidrolisado) e 0,075mL de antibiótico para evitar contaminações durante a fermentação.

A fermentação ocorreu durante 24 horas em shaker a 30°C e 150 rpm. Após a fermentação, as amostras foram destiladas e o teor alcoólico foi determinado pelo método espectrofotométrico utilizando solução de dicromato de potássio proposto por AOAC (2002), adaptado por Abud (1997). A concentração de etanol foi determinada a partir da curva de calibração do dicromato de potássio, com amostras de etanol com concentrações conhecidas, conforme mostra o gráfico da Figura 21.

Figura 21 – Curva de calibração do dicromato de potássio.



Fonte: Elaborado pelo autor (2018).

A concentração de glicose foi determinada pelo teste laboratorial LabTest. A eficiência da fermentação (E_f) foi determinada pela relação entre o rendimento real e o rendimento teórico de 0,511 (Equação 12) (NOGUEIRA e VENTURINI-FILHO, 2005). O etanol potencial (E_p) foi calculado através do produto entre a quantidade de glicose inicial e o rendimento teórico de 0,511 (Equação 13) (PRATTO *et al.*, 2017).

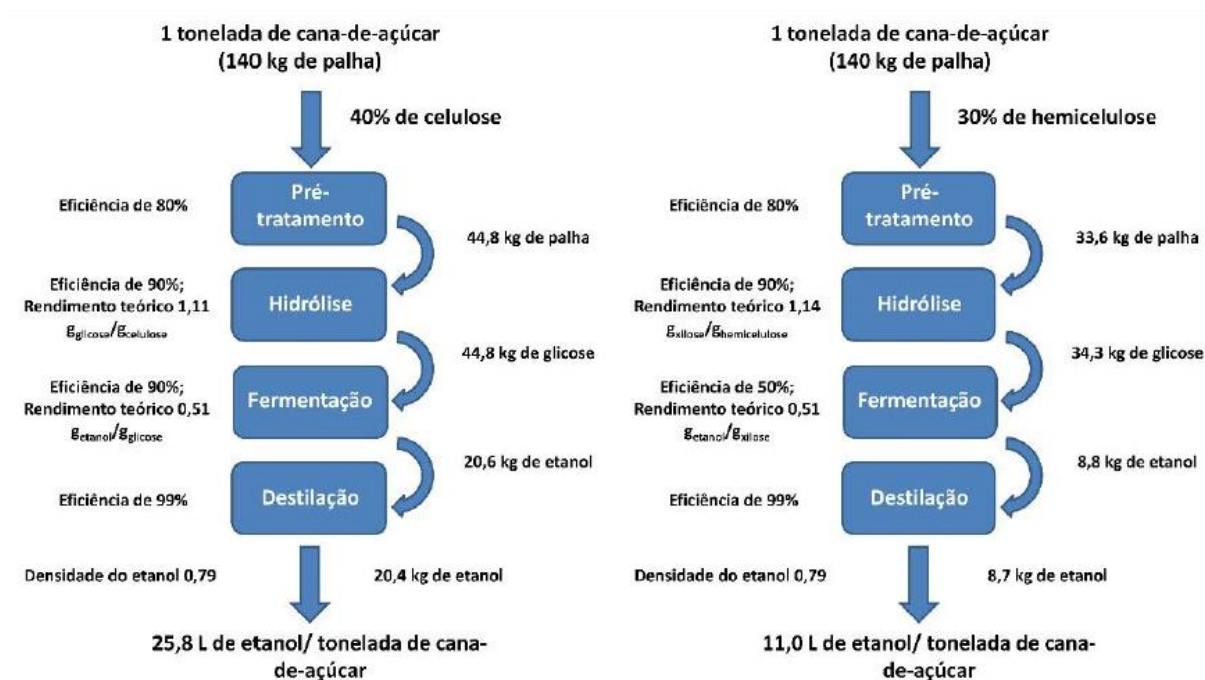
$$E_f = \frac{\text{rendimento real}}{\text{rendimento teórico}(0,511)} \quad (12)$$

$$E_p = \text{glicose inicial} \times \text{rendimento teórico} (0,511) \quad (13)$$

4.8 Estimativa de produção de etanol de segunda geração (E2G)

A estimativa de produção de etanol foi determinada considerando que para cada 1 tonelada de cana-de-açúcar processada são gerados cerca de 140Kg de palha (SANTOS *et al.* 2012). Os cálculos foram realizados seguindo o esquema apresentado na Figura 22.

Figura 22 – Esquema para estimativa de produção de etanol.



Fonte: Rocha, Almeida e Cruz (2017).

O capítulo seguinte apresenta os resultados da composição química da palha da cana-de-açúcar, do pré-tratamento hidrotérmico, da atividade enzimática, da hidrólise e da fermentação etanólica. Em suma, a análise dos resultados foi feita utilizando-se estatística descritiva. Por fim apresenta-se uma estimativa de produção de etanol de segunda geração a partir da palha da cana-de-açúcar estudada.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Composição química da palha da cana-de-açúcar

A palha *in natura* foi caracterizada quanto à sua composição química de acordo com o procedimento descrito no item 3.3. Os teores de polissacarídeos, umidade, extrativos, cinzas, lignina e umidade obtidos são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Composição química da palha *in natura*.

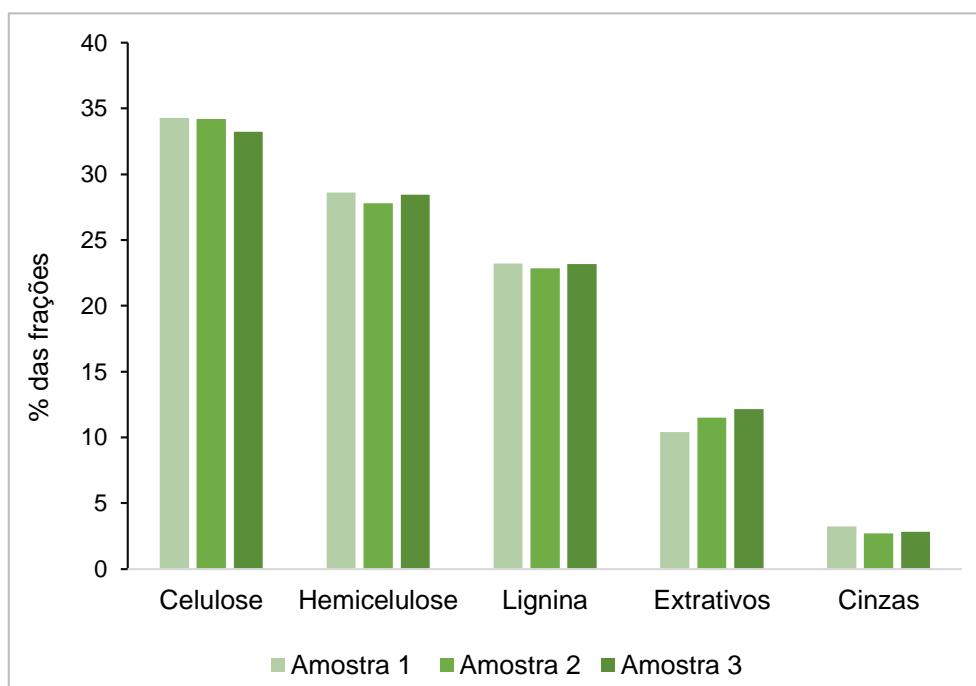
Palha <i>in natura</i> ^(a)			
Componentes	Amostra 1 (%)	Amostra 2 (%)	Amostra 3 (%)
Celulose	34,29 ± 1,64	34,21 ± 1,22	33,25 ± 0,33
Hemicelulose	28,62 ± 1,46	27,79 ± 0,97	28,45 ± 0,64
Lignina total	23,23 ± 0,34	22,84 ± 0,26	23,19 ± 0,41
Extrativos	10,41 ± 0,30	11,49 ± 0,17	12,14 ± 0,44
Cinzas	3,22 ± 0,01	2,71 ± 0,10	2,83 ± 0,06
Umidade	9,10 ± 0,63	8,97 ± 1,08	9,60 ± 0,94

^(a) Concentrações de celulose, hemicelulose e lignina determinada após remoção de extrativos. Dados são médias de três repetições.

O teor de umidade não é componente estrutural da biomassa e pode mudar dependendo do tipo de armazenamento. Sua determinação é necessária para calcular os valores dos componentes estruturais em base seca. O teor de cinzas corresponde à quantidade de silicatos, sulfatos e carbonatos. Os extrativos representa a quantidade de taninos, alcaloides, resinas e graxas presentes na palha. A lignina total é a soma da lignina solúvel e insolúvel. A lignina solúvel é a que permanece no filtrado após a hidrólise ácida e a lignina insolúvel é o resíduo sólido que fica retido no papel de filtro.

A Figura 23 apresenta os valores de celulose, hemicelulose e lignina das três amostras. Observa-se semelhança nos resultados. Em todas as amostras, a celulose e hemicelulose representam mais de 60% da composição química da palha da cana. Menos de 4% é composto por cinzas.

Figura 23 – Comparação dos componentes das três amostras.



A Tabela 11 reúne os resultados obtidos da composição química da palha neste trabalho e por outros autores.

Tabela 11 – Resultados da composição da palha de cana-de-açúcar encontrada por diferentes autores.

Composição Química					Autor
Celulose	Hemicelulose	Lignina	Extrativos	Cinzas	
34,29	28,62	23,23	10,41	3,22	Este trabalho (AM1)
34,21	27,79	22,84	11,49	2,71	Este trabalho (AM2)
33,25	28,45	23,19	12,49	2,83	Este trabalho (AM3)
41,40	34,08	16,20	12,20	7,91	Carvalho <i>et al.</i> , 2014
29,25	30,34	29,90	8,41	2,68	Moutta <i>et al.</i> , 2014
38,10	29,20	24,20	5,90	2,50	Oliveira <i>et al.</i> , 2014
34,75	24,32	20,17	10,33	8,75	Pratto, 2015
44,26	31,10	19,04	5,90	2,50	Santos <i>et al.</i> , 2014
33,77	27,38	21,28	7,02	6,23	Szczerbowski <i>et al.</i> 2014

Resultados semelhantes para o teor de extrativos também foram obtidos por Carvalho *et al.* (2014) e Pratto (2015). O primeiro realizou a extração com álcool:tolueno (1:2); o segundo realizou a extração somente com etanol 95%, enquanto que neste trabalho a extração foi realizada com água e etanol P.A.

Os valores de cinzas deste trabalho foram similares aos resultados encontrados por Moutta *et al.* (2014), Oliveira *et al.* (2014) e Santos *et al.* (2014). Os componentes celulose, hemicelulose e lignina foram semelhantes aos resultados encontrados por Pratto (2015) e Szczerbowski *et al.* (2014).

A variação na composição química da biomassa ocorre, visto que existe variação na composição química da biomassa para mesma espécie vegetal devido à diferentes fatores, como: condições climáticas, idade da cana, características do solo e modo de armazenamento. Além disso, metodologias diferentes podem ser utilizadas na caracterização química da biomassa, que podem resultar em valores divergentes para celulose, hemicelulose, lignina, cinzas e extrativos (PRATTO, 2015).

Tendo em vista que os resultados de caracterização química não demonstraram diferenças significativas, as etapas posteriores (Pré-tratamento, hidrólise e fermentação) foram realizadas juntando-se as 3 amostras.

5.2 Pré-tratamento Hidrotérmico

O pré-tratamento hidrotérmico teve um rendimento mássico de 93,05%. Apesar de um rendimento bom, a concentração de glicose encontrada foi de apenas 0,151g/L, conforme ilustra a Tabela 12.

Tabela 12 – Resultados experimentais do pré-tratamento.

Amostra	Pré-tratamento	Rendimento (%)	Glicose (g/L)
Palha da cana-de-açúcar	Hidrotérmico	93,05	0,151

De acordo com a literatura, o pré-tratamento hidrotérmico geralmente é realizado em condições mais severas. Devido a esse fato, o resultado obtido nesse trabalho não foi tão eficiente, tendo em vista que se empregou condições de 30 minutos e 121°C, devido às limitações dos equipamentos empregados.

Outros trabalhos obtiveram resultados melhores ao utilizar condições diferentes das empregadas aqui. Rocha (2017) realizou pré-tratamento hidrotérmico

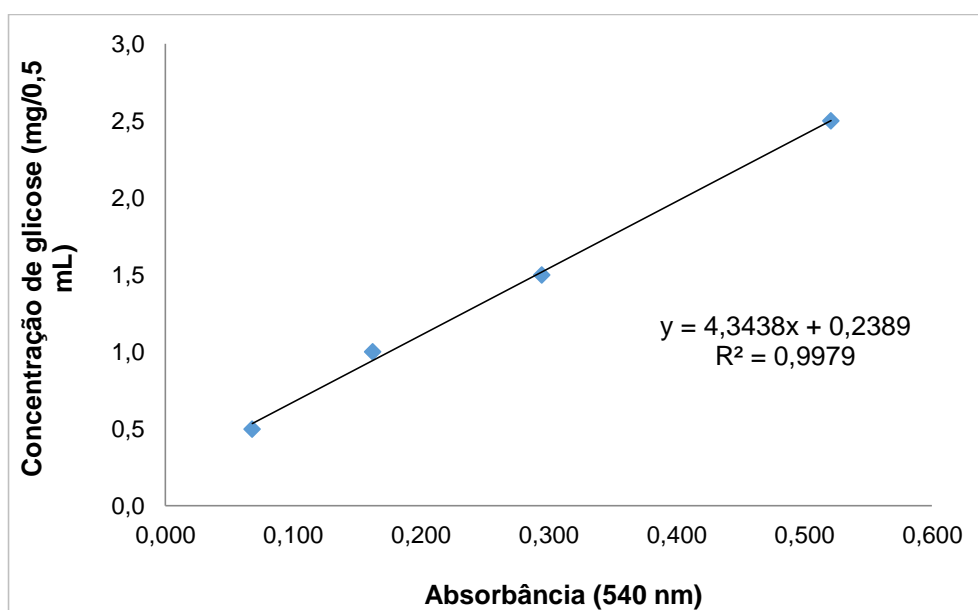
(PTH) seguido de alcalino (PTA) com H₂O₂ na palha da cana-de-açúcar. Os melhores resultados foram obtidos no PTH nas condições a 195°C, 10 minutos, rotação de 200 rpm e razão de 1:6,7 m/v, em combinação com o PTA nas temperaturas de 25 e 65°C.

Pratto (2015), por sua vez, realizou pré-tratamento hidrotérmico seguido de alcalino com NaOH, também na palha de cana-de-açúcar. A remoção de hemicelulose e lignina foi mais eficiente quando o pré-tratamento alcalino foi realizado sucessivamente ao hidrotérmico, 99,46 e 91,88% de remoção de hemicelulose e lignina, respectivamente. É possível que em condições similares a estes dois trabalhos os resultados pudessem ser mais satisfatórios. Visto que os melhores resultados foram encontrados em condições mais severas e com pré-tratamento combinado.

5.3 Atividade Enzimática

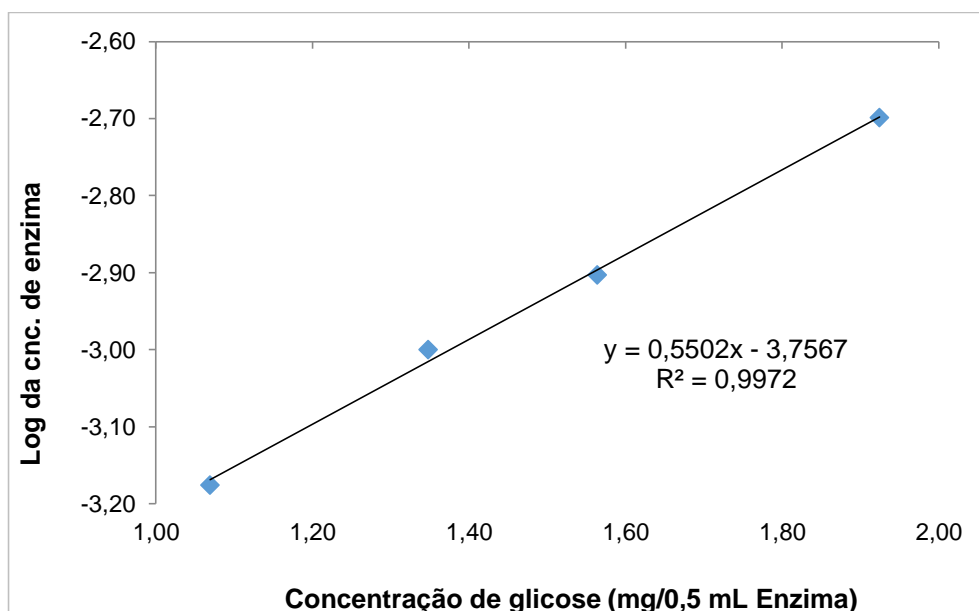
Inicialmente, para determinar a atividade enzimática foi plotada a curva de glicose, a qual está representada na Figura 24. Assim, foi possível determinar a concentração liberada em cada reação enzimática. A concentração de enzima foi estimada para exatamente 2,0mg de glicose liberada durante a reação enzimática, definida como *Filter Paper Unity* (FPU).

Figura 24 – Curva padrão de glicose.



A curva da enzima foi obtida com valores da concentração de glicose versus o log da concentração da enzima, conforme ilustra o gráfico da Figura 25. A partir da equação apresentada na Figura 25, encontrou-se a concentração de enzima necessária para a liberação de 2mg de glicose.

Figura 25 – Curva padrão da enzima.



O complexo enzimático apresentou atividade enzimática de 167,57 FPU/mL. Valor de 203 FPU/mL foi encontrado por Gomes (2015), que utilizou o mesmo lote de enzima. A diferença nos resultados pode ser explicado tendo em vista que a análise realizada neste trabalho foi feita três anos após a análise de Gomes (2015), pois sabe-se que o complexo enzimático tende a diminuir a sua atividade com o passar do tempo (ABREU, 2018). Dessa forma, o resultado aqui obtido encontra-se dentro do esperado.

5.4 Hidrólise Enzimática

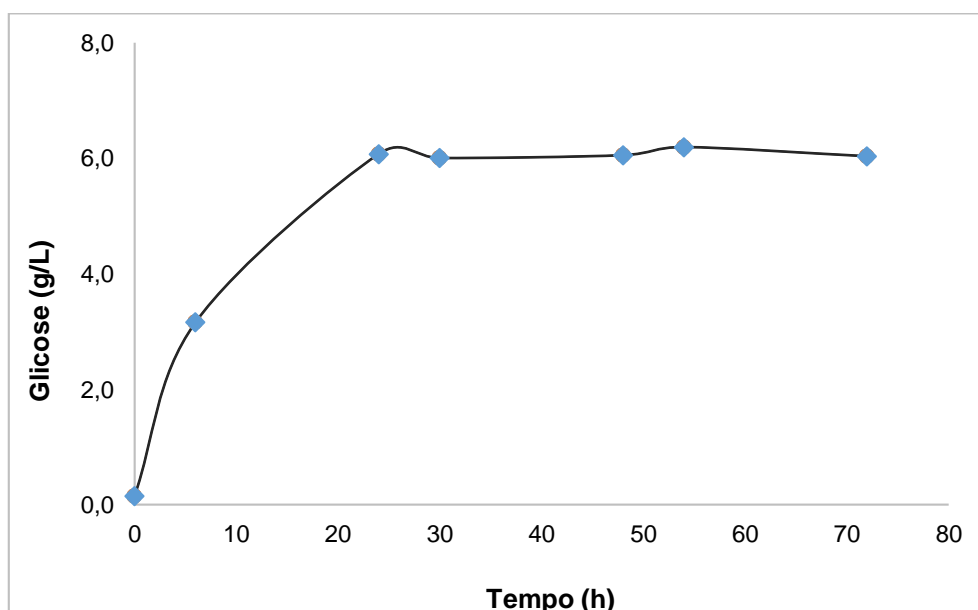
Durante a hidrólise enzimática foram retiradas amostras nos tempos de 0, 6, 24, 30, 48, 54 e 72 horas para um acompanhamento cinético da bioconversão da celulose em glicose. A glicose do tempo 0 equivale a glicose obtida no pré-tratamento. Os resultados estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Resultados experimentais da hidrólise.

Tempo (h)	Glicose (g/L)
0	0,151
6	3,162
24	6,076
30	6,005
48	6,055
54	6,195
72	6,036

Ao longo do tempo da hidrólise enzimática, foi verificado um aumento na concentração de glicose. Observa-se que em 6 h, houve um aumento de 2094% na concentração de glicose, comparando-se com o pré-tratamento, sendo então comprovada a eficácia do processo.

Na Figura 26, observa-se que a bioconversão de celulose em glicose ocorreu nas primeiras 24 horas, onde foi registrado uma concentração de glicose de 6,076 g/L, mantendo-se com poucas variações, atingindo uma concentração máxima de 6,195 g/L com 54 horas de processo, seguindo com poucas variações até seu término com 72 horas.

Figura 26 – Concentração de glicose na hidrólise enzimática.

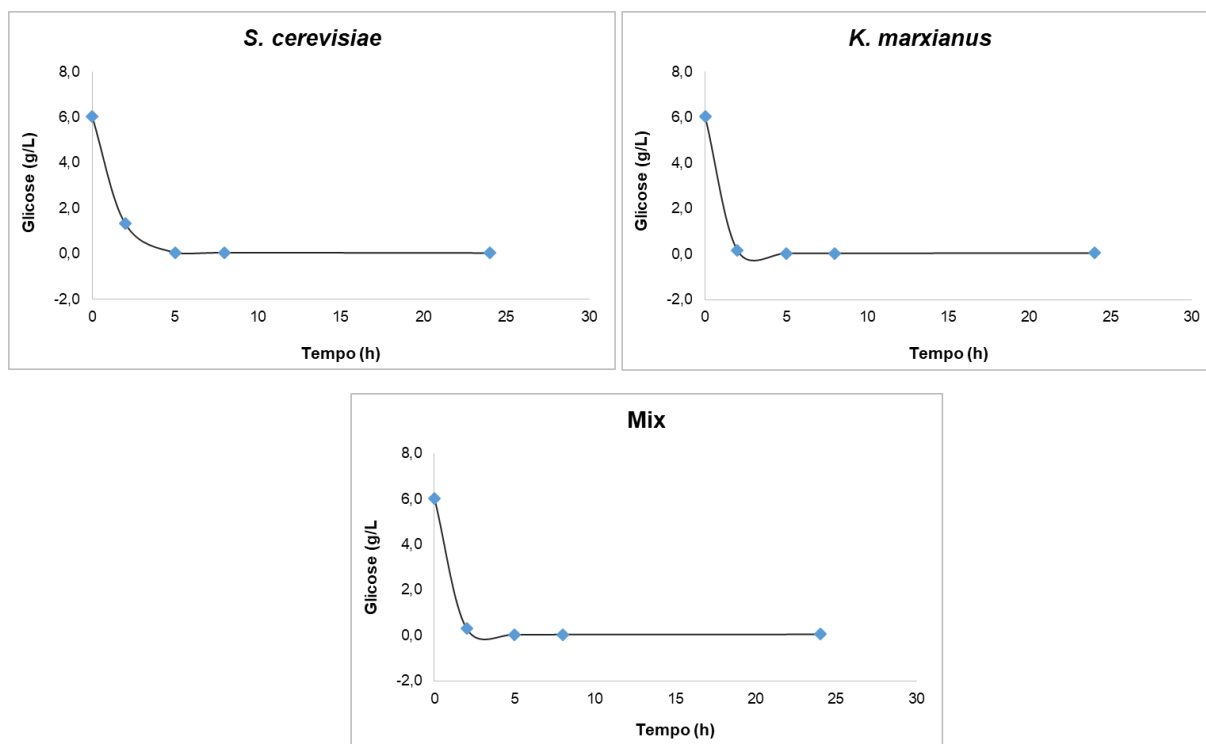
Diante do resultado apresentado na Figura 26, pode-se afirmar que a hidrólise poderia ter sido encerrada em 30 horas, visto que a quantidade de glicose se manteve praticamente estável. Isso tornaria o processo mais curto e com menos custos. Além disso, a hidrólise seguiu comportamento esperado, de acordo com o que pode ser observado na literatura (Cf. ROCHA, 2017; SILVA, 2017; ABREU, 2018).

5.5 Fermentação Etanólica

As fermentações foram realizadas utilizando os microrganismos *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) e *Kluyveromyces marxianus* (*K. marxianus*). Foram realizados três ensaios de fermentação. O primeiro ensaio foi realizado com a *S. cerevisiae*, o segundo com a *K. marxianus* e o terceiro ensaio com um Mix das duas leveduras na proporção de 1:1.

O licor sacarificado da hidrólise enzimática foi utilizado como substrato nas fermentações. A conversão dos carboidratos em etanol, pelas leveduras iniciaram nas primeiras horas (Figura 27), confirmando a disponibilidade desses açúcares aos microrganismos.

Figura 27 – Consumo de glicose nas três fermentações.



Ao longo das 24 horas de fermentação, observa-se que a quantidade de glicose foi reduzida, indicando consumo da mesma pelas leveduras. Decorridas 5 horas de fermentação, constata-se que não houve diferença na assimilação dos açúcares para as 3 condições de fermentação realizadas. A glicose foi consumida quase que completamente com 5 horas de fermentação. A glicose residual foi de 0,034g/L para *S. cerevisiae*, 0,041g/L para *K. marxianus* e 0,047g/L para o Mix, conforme apresentado na Tabela 14.

Tabela 14 – Consumo de glicose ao longo da fermentação.

Tempo (h)	Glicose (g/L)		
	<i>S. cerevisiae</i>	<i>K. marxianus</i>	Mix
0	6,036	6,036	6,036
2	1,327	0,149	0,304
5	0,053	0,037	0,042
8	0,051	0,036	0,040
24	0,034	0,041	0,047

Ainda pode ser observado na Tabela 14, que em 2 horas de fermentação, o consumo de glicose pela *S. cerevisiae* foi de 78,02%, a *K. marxianus* consumiu 97,53% de toda glicose disponível e o Mix de leveduras consumiu 94,96% da glicose inicial. Apesar do consumo da glicose pela *Saccharomyces* ser mais lento comparado às outras fermentações, ela apresentou melhor rendimento, eficiência e melhor produção de etanol.

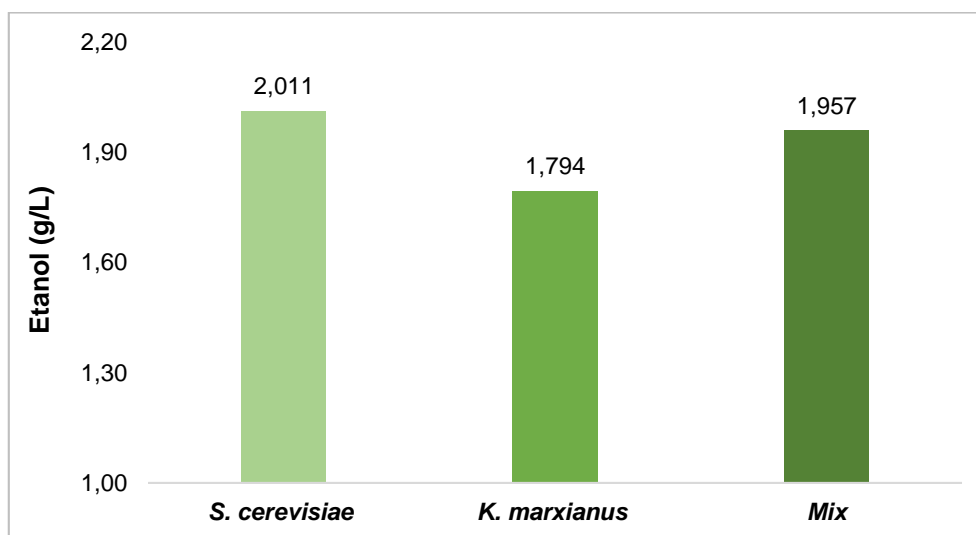
A Tabela 15 apresenta os resultados obtidos nos três ensaios da fermentação. O etanol potencial que poderia ser produzido com uma eficiência de 100% seria de 3,084g/L. Verifica-se assim, que a *K. marxianus* apresentou um menor rendimento fermentativo, conseqüentemente obteve uma produtividade de etanol menor, comparado aos outros ensaios. O Mix de leveduras teve uma eficiência e rendimento semelhantes ao da *S. cerevisiae*.

Tabela 15 – Resultados obtidos na fermentação.

Ensaio	Concentração de Glicose (g/L)	Etanol potencial (g/L)	Etanol produzido (g/L)	Eficiência Fermentação (%)
<i>S. cerevisiae</i>	6,036	3,084	2,011	65,21
<i>K. marxianus</i>	6,036	3,084	1,794	58,15
Mix	6,036	3,084	1,957	63,45

Como pode ser observado na Figura 28, o teor de etanol produzido foi muito semelhante nas três fermentações. Contudo, de acordo com esses resultados, a *K. marxianus* apresentou menor resultado, que foi de 1,794g/L. Justificando sua baixa eficiência (58,15%) comparado com os valores de 65,21% e 63,45 da *S. cerevisiae* e do Mix, respectivamente. A *S. cerevisiae* apresentou uma produtividade de etanol superior comparado às outras fermentações, que foi de 2,011g/L.

Figura 28 – Produção de etanol nos três ensaios de fermentação.



A maior produtividade de etanol encontrada pela *S. cerevisiae* pode ser explicada por um fator *Killer* que a mesma possa ter sobre a *K. marxianus* (BARBOSA, 2015). O fator *Killer* é caracterizado por leveduras que produzem e excretam toxinas capazes de matar células sensíveis pertencentes à mesma espécie ou gênero, sendo que, a levedura produtora é imune à sua toxina. (FERRAZ, 2018). Por outro lado, sabe-se que a levedura *S. cerevisiae* é naturalmente mais tolerante as altas concentrações de etanol do que a *K. marxianus* (COSTA, 2011).

5.6 Estimativa de produção de etanol de segunda geração (E2G)

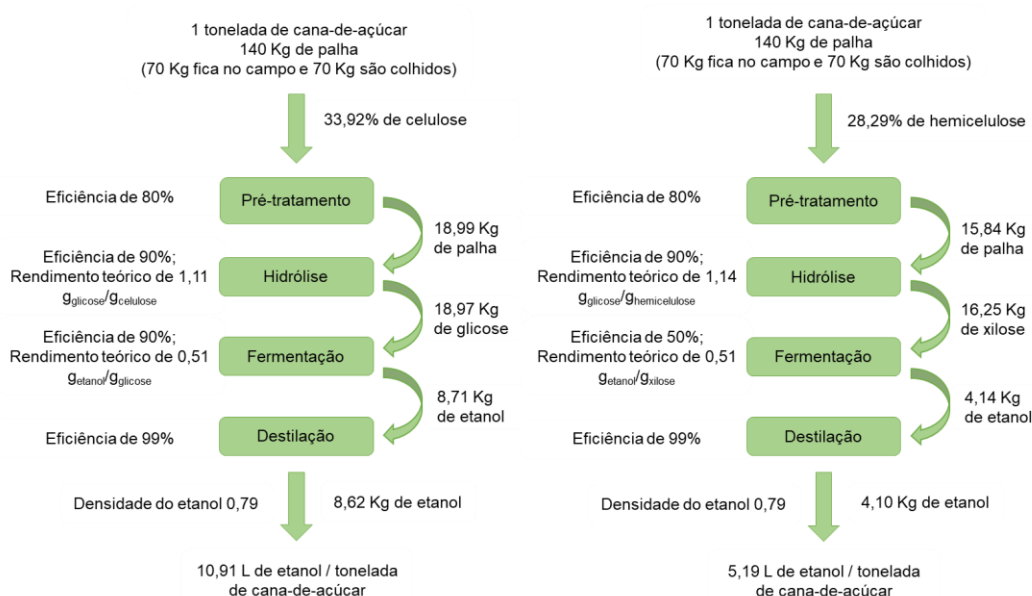
Com base nos resultados encontrados neste trabalho para composição química da palha da cana-de-açúcar foi feita uma simulação do aproveitamento dessa palha para produção de etanol de segunda geração. A Tabela 16 apresenta os valores encontrados de celulose e hemicelulose utilizados na estimativa de produção de etanol.

Tabela 16 – Concentrações de celulose e hemicelulose.

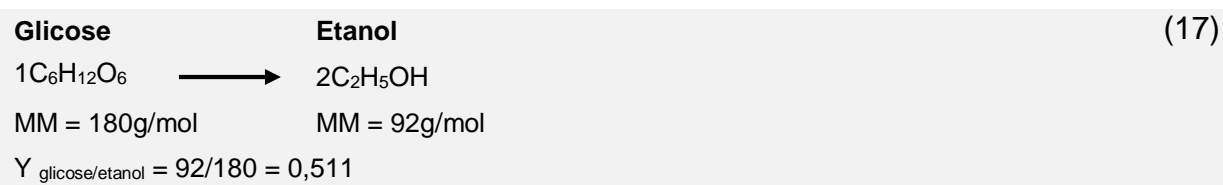
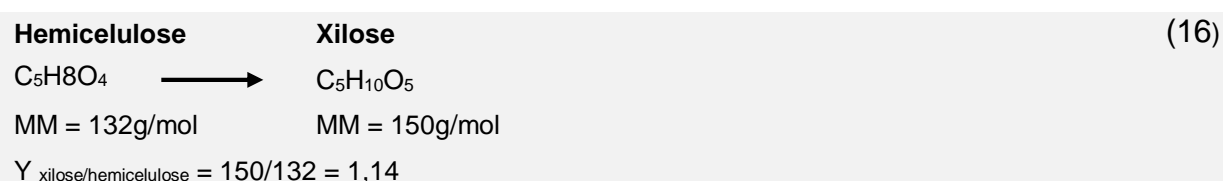
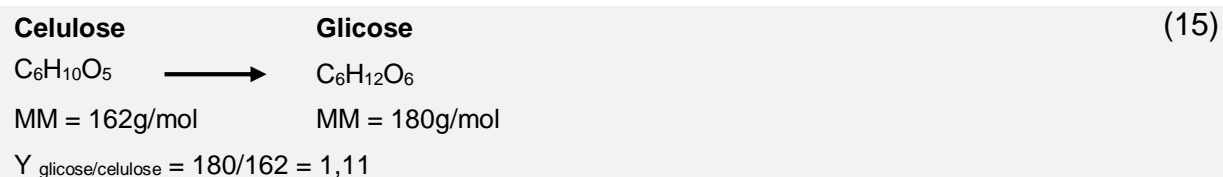
Palha <i>in natura</i>				
Componentes (%)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
Celulose	34,29	34,21	33,25	33,92
Hemicelulose	28,62	27,79	28,45	28,29

A Figura 29, apresenta as etapas do processo de produção de etanol de segunda geração, bem como as operações unitárias a partir das frações celulósicas e hemicelulósicas presentes na palha. No processamento da cana-de-açúcar são gerados 140Kg de palha (SANTOS *et al.* 2012). Vale ressaltar que desses 140Kg de palha gerados, 50% é colhido e 50% é deixado no campo para proteção do solo. É importante destacar também que os teores de celulose e hemicelulose foram encontrados neste trabalho e que as demais etapas são referentes a valores teóricos.

Figura 29 – Estimativa de produção de E2G a partir da palha da cana-de-açúcar.



Os dados da produção de etanol foram calculados considerando o fator de conversão de celulose em glicose de 1,11 e o fator de conversão de hemicelulose em xilose de 1,14. Sendo a conversão em etanol utilizada a teórica formulada por Gay-Lussac, onde 1 molécula de glicose é convertida a 2 moléculas de etanol (51,1% em massa). De acordo com as seguintes expressões:



Pode ser verificado pela Figura 29 que seriam produzidos cerca de 16,1 litros de etanol por tonelada de cana processada, utilizando 50% da palha gerada no processamento da cana-de-açúcar.

De acordo com o Ministério da Agricultura e Abastecimento (2018) na safra 2016/2017 foram produzidas 657,18 milhões toneladas de cana-de-açúcar. Dessa produção foram gerados 92,00 milhões toneladas de palha. Metade dessa palha, 46 milhões de toneladas, poderia ser utilizada na produção de E2G. Se fosse utilizadas as 46 milhões de toneladas de palha geradas na safra 2016/2017, seriam produzidos cerca de 10,580 milhões de m³ de etanol a mais a partir desse resíduo, sem precisar aumentar a área cultivada de cana-de-açúcar.

Assim, a produtividade de E2G a partir da palha da cana-de-açúcar proporcionaria um ganho de 38% na safra 2016/2017, considerando a produção de etanol registrada que foi de 27,80 bilhões de litros (MAPA, 2018). Essa energia limpa e renovável contribui para o meio ambiente na redução dos gases do efeito estufa e na economia aumentando a demanda de produção e com isso geração de emprego e renda.

6 CONCLUSÃO

Comparando-se os resultados obtidos nas três amostras de palha, armazenadas por tempos diferentes, verifica-se que elas apresentaram composição química semelhante. Logo é possível afirmar que o tempo de armazenamento não é responsável por degradar os componentes da biomassa testada, pelo menos dentro das condições avaliadas. Além disso, os resultados obtidos na fermentação mostram que as leveduras *S. cerevisiae* e a *K. marxianus* são capazes de consumir a glicose e produzir etanol nas mesmas condições.

Com uma palha de cana com composição química semelhante a utilizada neste trabalho seriam produzidos 16,1 litros de etanol por tonelada de cana processada. Assim, com base nos dados da safra 2016/2017, seriam produzidos cerca de 10,580 milhões de m³ de etanol a partir da palha. Portanto, um aumento de 38% na produção de etanol pode ser verificado, sem necessidade de aumentar a área cultivada. Logo, a palha da cana-de-açúcar se destaca como uma matéria-prima importante e promissora para produção de etanol de segunda geração.

REFERÊNCIAS

ABREU, I. B. S. **Estudo da cinética das etapas de produção de etanol 2G**. Centro de Tecnologia. Universidade Federal de Alagoas. Maceió, 2018.

ABUD A. K. S. **Estudo do comportamento cinético e da estabilidade de uma linhagem recombinante de *Saccharomyces cerevisiae* no processo de fermentação alcoólica de amiláceos**. Dissertação de Mestrado. Escola Politécnica da Universidade de São Paulo- USP. São Paulo, 1997.

ALVIM, J. C. *et al.* Biorrefinarias: conceitos, classificação, matérias primas e produtos. **Journal of Bioenergy and Food Science**. Macapá, 2014.

AMARASEKARA, A. S. **Handbook of Cellulosic Ethanol**. .Scrivener Publishing LLC. Department of Chemistry, Prairie View A&M, University, Texas, USA, 2014.

ANP. **Biocombustíveis**. Disponível em <http://www.anp.gov.br>. Acesso em: 09 de abril de 2016.

AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 17th ed. Gaithersburg: Ed. William Horwitz, 2002.

ARAÚJO, C. R. *et al.* **Estudo das rotas de hidrólise química e biológica para a produção de etanol de segunda geração a partir de resíduos lignocelulósicos**. II SEPA - Seminário Estudantil de Produção Acadêmica, UNIFACS, 2013.

BARBOSA, K. L. **Produção de etanol 2g através de *Opuntia ficus-indica* utilizando *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyveromyces marxianus***. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Energia da Biomassa, Universidade Federal de Alagoas. Maceió, 2015.

BETANCUR, G. J. V.; PEREIRA JR. N. Sugar cane bagasse as feedstock for second generation ethanol production. Part I: Diluted acid pretreatment optimization. **Electronic Journal of Biotechnology** ISSN: 0717-3458. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Chile, 2010.

CARVALHO, D. M. *et al.* Ethanol-soda pulping of sugarcane bagasse and straw. **Cellulose Chemistry and Technology**, v. 48, n. 3-4, p. 355-364, 2014.

CARVALHO, M. Lucas de. **Estudo cinético da Hidrólise Enzimática de celulose de bagaço de cana-de-açúcar**. 2011. 103 f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2011.

CASSULA, D. A. *et al.* **Estudo de caso sobre a eficiência energética de fontes Renováveis no Brasil: avaliação da utilização da biomassa da Cana-de-açúcar na cogeração de energia elétrica no setor Sucroalcooleiro**. IBEAS – Instituto Brasileiro de Estudos Ambientais. VI Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental. Porto Alegre, 2012.

CATOLICO, A. C. *et al.* Análise de Sustentabilidade do Etanol 2G e Bioenergia da Cana. **XI Fórum Ambiental da Alta Paulista**. São Paulo, 2015.

CGEE - Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. **Química verde no Brasil: 2010-2030**. Brasília, 2010.

CHERUBINI, F. The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. **Energy Conversion and Management**. Trondheim, Noruega, 2010.

CNPEM – Cento Nacional de Pesquisas em Energia e Materiais. **Palha de cana pode gerar energia para suprir 70% do consumo residencial no país**. São Paulo, 2017. Disponível em: <http://cnpem.br/palha-de-cana-pode-gerar-energia-para-suprir-70-do-consumo-residencial-no-pais/>. Acesso em: 09 de novembro de 2017.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Levantamento de safra**. 2017. Disponível em: www.conab.gov.br. Acesso em: 20 dez. 2017.

CORTEZ, A. B.; LORA, E. E. S.; GÓMEZ, E. O. **Biomassa para energia**. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2008.

CORTEZ, L. A. B. **Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade**. São Paulo: Editora Blucher, 2010.

COSTA, D. A. **Caracterização de leveduras termotolerantes para produção de etanol celulósico**. 2011. 73 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2011.

CTC – Centro de Tecnologia Canavieira. Aproveitamento de palha de cana de açúcar. **Seminário Brasileiro Agroindustrial**. Ribeirão Preto, 2015. Disponível em: <http://new.ctc.com.br/> Acesso em: 14 de maio de 2017.

DELGADO, F.; SOUSA, M. E.; ROITMAN, T. Biocombustíveis. **Cadernos FGV Energia**. Ano 4. Nº 8. Rio de Janeiro. Agosto, 2017.

DIAS, M. O. S. **Desenvolvimento e otimização de processos de produção de etanol de primeira e segunda geração e eletricidade a partir da cana-de-açúcar**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual De Campinas. Campinas, 2011.

EPE – Empresa de Pesquisa Energética. **Balanco Energético Nacional 2017**. Ano base 2016. 13 p. Rio de Janeiro, 2017.

FERRAZ, L. P. **Detecção, caracterização e purificação Parcial de toxina Killer produzida por *Sporobolomyces koalae***. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2018.

FURLAN, F. F. *et al.* Bioelectricity versus bioethanol from sugarcane bagasse: is it worth being flexible? **Biotechnology for Biofuels**. London, UK, 2013.

G1. 2013. Empresa de biotecnologia vai gerar etanol com palha da cana em Alagoas. Obtido em: <http://g1.globo.com/al/alagoas/noticia/2013/04/empresa-de->

biotecnologia-vai-gerar-etanol-com-palha-da-cana-em-alagoas.html.> Acesso em: 02 de fevereiro de 2016.

GALBE, M.; ZACCHI, G. Produção de etanol a partir de materiais lignocelulposicos. In **Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade**. São Paulo: Blucher, 2010.

GEORGES, F. **Caracterização da palha da cana-de-açúcar do Rio Grande do Sul e de seus produtos de pirólise**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2011.

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

GOLDEMBERG, J. Biomassa e energia. **Química Nova**. Vol. 32, No. 3, 582-587, São Paulo, 2009.

GOMES, M. A. **Destoxificação de hidrolisados lignocelulósicos visando à produção e etanol 2G**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal de Alagoas. Maceió, 2015.

GRANBIO. Bioflex e o etanol de segunda geração: produção de biocombustível de forma tecnológica e inovadora. 2017. Disponível em: <<http://www.granbio.com.br/conteudos/biocombustiveis/>>. Acesso em: 27 de outubro de 2017.

JARDINE, J. G.; DISPATO, I.; PERES, M. R. **Considerações Sobre o Bioetanol Lignocelulósico para Subsidiar a Elaboração de Conteúdo da Árvore do Conhecimento Agroenergia**. Campinas - SP. Novembro, 2009.

LEAL, M. R. L. V. *et al.* Outras matérias-primas para produção de etanol. In **Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade**. São Paulo: Blucher, 2010.

LEAL, M. R. L. V. *et al.* Sugarcane straw availability, quality, recovery and energy use: A literature review. **Biomass & Bioenergy**, v. 53, p. 11-19, 2013.

LEITE, R. C. C. **Bioetanol combustível: uma oportunidade para o Brasil**. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, Brasília – DF, Outubro de 2009.

LIMA, E. C. T. **Cana-energia como potencial fonte energética: Caracterização dos subprodutos (frações sólida, líquida e gasosa) provenientes da pirólise**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica. Universidade Estadual De Campinas. Campinas, 2016.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Anuário Estatístico da Agroenergia**. Secretaria de Produção e Agroenergia. Brasília, 2015.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Produção Brasileira de Cana-de-açúcar, Açúcar e Etanol**. Departamento de Café, Cana-de-Açúcar e Agroenergia. Brasília, 2018.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2016. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 28 de maio de 2018.

MENANDRO, L. M. S. **Caracterização e aproveitamento agrônomico e industrial de ponteiros e folhas secas de cana-de-açúcar**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical de Subtropical. Instituto Agrônomico. Campinas, 2016.

MENON, V.; RAO, M. Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. **Progress in Energy and Combustion Science**. Division of Biochemical Sciences, National Chemical Laboratory. India, 2012.

MIRANDA, E. E. Aspectos ambientais da cana-de-açúcar. In **Bioenergia e Biorrefinaria: cana-de-açúcar e espécies florestais**. São Paulo, 2013.

MORAIS, P. H. D. *et al.* Biopolímeros da cana-de-açúcar. In **Bioenergia e Biorrefinaria: cana-de-açúcar e espécies florestais**. São Paulo, 2013.

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

MOREIRA, R. F. *et al.* **Produção de bioetanol a partir da hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar**. XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis – SC, 2014.

MOTA, F. A. S. *et al.* Pirólise da biomassa lignocelulósica: uma revisão. **Revista GEINTEC**. Vol. 5/n. 4/ p.2511-2525. São Cristóvão – SE, 2015.

MOUTTA, R. D. O. *et al.* Enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse and straw mixtures pretreated with diluted acid. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 32, n. 1, p. 93-100, 2014.

MUSSATTO, S. I.; TEIXEIRA, J. A. Lignocellulose as raw material in fermentation processes. Formatex. **Institute for Biotechnology and Bioengineering**. Center of Biological Engineering. University of Minho. Portugal, 2010.

NOGUEIRA, A. M. P.; VENTURINI-FILHO, W. G. **Aguardente de cana**. Botucatu: UNESP/Faculdade de Ciências Agrônomicas, 2005. Disponível em: <<http://www.fca.unesp.br/Home/Instituicao/Departamentos/Horticultura/aguardente-de-cana-2005.pdf>>. Acesso em: 14 de maio de 2018.

NOGUEIRA, L. A. H. *et al.* **Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento Sustentável**. Organização BNDES e CGEE. Rio de Janeiro, 2008.

OKUNO, F. M. **Desempenho econômico de um sistema de produção de biomassa da cana energia**. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2016.

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

PEREIRA JR, N.; COUTO, M. A. P. G.; SANTA ANNA, L. M. M. Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production within the context of biorefinery. **Series on Biotechnology**. V.2 1 ed, 2008.

PRATTO, B. *et al.* **Comparing performance of *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces marxianus* on SSF process using hydrothermally pretreated sugarcane straw**. XXI Simpósio Nacional de Bioprocessos. Aracaju, 2017.

PRATTO, B. **Hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar: estudo cinético e modelagem matemática semi-mecanística**. Dissertação de Mestrado. Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos-SP, 2015.

RAIZEN. **Etanol de Segunda Geração**. Disponível em: <<https://www.raizen.com.br/energia-do-futuro-tecnologia-em-energia-renovavel/etanol-de-segunda-geracao>>. Acesso: em 30 de outubro de 2017.

ROCHA, M. S. R. S. **Estudo integrado das etapas de pré-tratamento e hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação Em Engenharia Química. Universidade Federal De São Carlos. São Carlos, 2017.

ROCHA, M. S. R. S.; ALMEIDA, R. M. R. G.; CRUZ, A. J. G. Avaliação do potencial energético de resíduos agroindustriais provenientes de diferentes regiões brasileiras. **Engvista**. V. 19, n.1, p. 217-235, Janeiro 2017.

RUEDA, S. M. G. **Pré-tratamento e Hidrólise Enzimática do Bagaço de Cana-de-açúcar**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual De Campinas. Campinas, 2010.

SANTOS, D. S. **Produção De Etanol de Segunda Geração: por *Zymomonas Mobilis* naturalmente ocorrente e Recombinante, empregando Biomassa Lignocelulósica**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, 2012.

SANTOS, F. A. *et al.* Optimization of hydrothermal pretreatment of cane sugar straw for cellulosic ethanol production. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 56-62, 2014.

_____. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2012.

SANTOS, L. V. *et al.* Second-Generation Ethanol: The Need is Becoming a Reality. **Industrial Biotechnology**. ISSN: 1931-8421. New Rochelle, NY, 2016.

SEABRA, J. E. A.; MACEDO, I. C.; LEAL, M. R. L. V. Emissões de gases de efeito estufa relacionados ao etanol de cana-de-açúcar. In **Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade**. São Paulo: Blucher, 2010.

SILVA, A. A. **Otimização do pré-tratamento ácido de torta de caroço de algodão e bagaço de malte com farinha de pupunha para produção de bioetanol de segunda geração**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina, 2012.

SILVA, J. S. **Estudo da hidrólise enzimática e fermentabilidade em resíduos lignocelulósicos de *manihot esculenta* para a produção de biocombustível.** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Energia da Biomassa, Universidade Federal de Alagoas. Maceió, 2017.

SILVA, V. F. N.; **Dissertação de Mestrado**, Universidade de São Paulo, 2009.

SILVEIRA, L. C. I. **Melhoramento Genético da cana-de-açúcar para obtenção de cana energia.** Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2014.

SINDAÇÚCAR-AL. 2017. **Safra: 10% da cana que chega as usinas é colhida por máquinas.** Disponível em: <<http://www.sindacucar-al.com.br/2017/12/safra-10-da-cana-que-chega-as-usinas-e-colhida-por-maquinas/>>. Acesso em: 29 de maio de 2018.

SLUITER, J. *et al.* Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples (NREL/TP-510-42621). **National Renewable Energy Laboratory** – NREL. Golden, 2008a

_____. Determination of Ash in Biomass Technical (NREL/TP-510-42622). **National Renewable Energy Laboratory** – NREL. Golden, 2008b.

_____. Determination of Extractives in Biomass (NREL/TP-510-42619). **National Renewable Energy Laboratory** – NREL. Golden, 2008c.

_____. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. (NREL/TP-510-42618). **National Renewable Energy Laboratory** – NREL. Golden, 2008d.

SOUZA, A. P. *et al.* Sugarcane as a bioenergy source: history, performance, and perspectives for second-generation bioethanol. **BioEnergy Research**. 2013.

SZCZERBOWSKI, D. *et al.* Sugarcane biomass for biorefineries: Comparative composition of carbohydrate and non-carbohydrate components of bagasse and straw. **Carbohydrate Polymers**. v. 114, p. 95-101, 2014.

UNICA – União da Indústria de Cana-de-açúcar. 2017. Disponível em: <www.unica.com.br>. Acesso em: 28 de maio de 2018.

VAZ-JÚNIOR, S. Estratégias Tecnológicas para biorrefinaria da cana-de-açúcar. In **Bioenergia e Biorrefinaria: cana-de-açúcar e espécies florestais**. São Paulo: Editora Independente, 2013.

WANG, S. *et al.* Lignocellulosic biomass pyrolysis mechanism: A state-of-the-art review. **Progress in Energy and Combustion Science**. 2017.