

UNIVERSIDADE SAGRADO CORAÇÃO

ANA CAROLINA VIEIRA

**OBTENÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO A
PARTIR DO BAGAÇO DE SORGO SACARINO**

BAURU
2013

ANA CAROLINA VIEIRA

**OBTENÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO A
PARTIR DO BAGAÇO DE SORGO SACARINO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro de Ciências
Exatas como parte dos requisitos para a
obtenção do título de bacharel em
Engenharia Química, sob orientação da
Profa.Dra. Márcia R. M. Chaves.

BAURU
2013

Vieira, Ana Carolina

V658o

Obtenção de etanol de segunda geração a partir do
bagaço de sorgo sacarino / Ana Carolina Vieira -- 2013.
56f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Marcia Rodrigues de Moraes
Chaves.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em
Engenharia Química) – Universidade do Sagrado
Coração – Bauru – SP.

1. Sorgo Sacarino. 2. Etanol de segunda geração. 3.
Biomassa. 5. Aproveitamento de resíduos. 6.
Biocombustível. I. Chaves, Márcia Rodrigues de Moraes.
II. Título.

ANA CAROLINA VIEIRA

**OBTENÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO A PARTIR DO
BAGAÇO DE SORGO SACARINO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Exatas como parte dos requisitos para a obtenção do título de Engenheira Química, sob orientação da Profa.Dra. Márcia R. M. Chaves.

Banca examinadora:

Profa. Dra. Márcia Rodrigues de Moraes Chaves
Universidade do Sagrado Coração

Prof. Dr. Raul Andres Martinez Uribe
Universidade do Sagrado Coração

Prof. Dr. Sandro Megale Pizzo.
Universidade do Sagrado Coração

Bauru, 10 de dezembro de 2012.

Dedico esse trabalho aos meus pais Célia e João e ao meu irmão Leonardo, pelo carinho, amor e dedicação que tiveram desde o início dessa jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me deu força, saúde e sabedoria para chegar até o fim dessa jornada.

Aos meus pais, Célia e Veríssimo, que foram meus maiores incentivadores, meus exemplos de força e determinação, eles que sempre estiveram ao meu lado dando apoio diante das dificuldades, me ajudando a enfrentar todos os obstáculos que surgiam no caminho.

Ao meu irmão Leonardo e ao meu tio Célio que mesmo de longe me incentivaram e sempre torceram pelo meu melhor.

A todos os meus amigos da Engenharia Química, turma de 2009, em especial as minhas grandes amigas, Aline e Micaele, que desde sempre estiveram ao meu lado, me apoiando, ajudando, passando um pouco dos seus conhecimentos, me incentivando a seguir quando a vontade era desistir, passando uma palavra de conforto, um abraço amigo, enfim, elas que foram minhas irmãs que encontrei durante esses cinco anos.

As minhas amigas e irmãs Tais e Letícia, que sempre estiveram ao meu lado, me dando força, apoio, me trazendo a alegria, me incentivando para que eu nunca desistisse, fazendo com que esses cinco anos se tornassem os melhores anos da minha vida.

A todos os meus amigos que encontrei em Bauru, em especial Alessandro, Bruno, Thomas e Ligia que se tornaram meus irmãos e companheiros, que sempre estiveram ao meu lado, me ajudando e dando apoio em qualquer situação.

Aos meus amigos de Jaú, em especial a Gabriela, Diego, Bruna e Lucas, que mesmo com a distância sempre me proporcionaram estímulo, apoio e confiança.

A minha Profa.Dra. e orientadora Márcia Moraes Chaves, que dedicou parte do seu tempo me ajudando e passando seus conhecimentos para que esse trabalho se realizasse.

Ao pessoal do Laboratório de Agronomia da UNESP, em especial ao Prof. Dr. Alcides Lopes Leão, que permitiu que parte desse trabalho se realizasse.

Ao Mateus e a Suelen do Laboratório de Química da Universidade Sagrado Coração – USC, pela colaboração e apoio para que tudo desse certo.

A todos os professores que passaram muito dos seus conhecimentos e dedicou seu tempo para que essa etapa se concluísse. Aos coordenadores André Antunes e Sandro Pizzo, que sempre lutaram pelo nosso curso e por todos os alunos.

E por fim, eu agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização para a conclusão desse trabalho e com a minha formação.

Muito Obrigada!

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades. Lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível”.

(Charles Chaplin)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Rotas tecnológicas para a produção de etanol.....	18
Figura 2 -	Hidrólise enzimática de bagaços.....	21
Figura 3 -	Arranjo da parede celular de um vegetal.....	21
Figura 4 -	Representação da cadeia linear da celulose formada por unidades consecutivas de celobiose.....	22
Figura 5 -	Estrutura molecular da hemicelulose.....	23
Figura 6 -	Estrutura molecular da lignina.....	24
Figura 7 -	Estrutura molecular do etanol.....	24
Figura 8 -	Evolução do consumo de etanol no Brasil e EUA.....	25
Figura 9 -	Processo produtivo nas usinas.....	27
Figura 10 -	Processo geral para a produção de etanol de segunda geração....	28
Figura 11 -	Efeito de pré-tratamento químico em materiais lignocelulósicos para hidrólise enzimática.....	29
Figura 12 -	Métodos de pré-tratamento de materiais lignocelulósicos para hidrólise enzimática.....	30
Figura 13 -	Esquema do processo de produção de etanol por meio da hidrólise da biomassa.....	31
Figura 14 -	Diagrama de hidrólise ácida.....	31
Figura 15 -	Representação esquemática de um sistema celulósico.....	33
Figura 16 -	Rotas de hidrólise e fermentação.....	34
Figura 17 -	Esquema simplificado de SHF.....	35
Figura 18 -	Diagrama de blocos do processo de hidrólise enzimática e fermentação simultânea (SSF).....	36
Figura 19 -	Autoclave vertical.....	41
Figura 20 -	Destilação do etanol.....	42
Figura 21 -	Titulador metrom tritando 852.....	46
Figura 22 -	Celulose obtida após pré tratamento.....	47
Figura 23 -	Hidrólise do bagaço de sorgo em relação ao da cana-de-açúcar.....	48
Figura 24 -	Hidrólise do bagaço de sorgo em relação ao da cana-de-açúcar...	49
Figura 25 -	Fermentação simples e simultânea.....	50

RESUMO

Com a elevação do custo do petróleo, pesquisas concentraram-se em desenvolver insumos básicos de caráter renovável para a produção de combustíveis alternativos. Pesquisas estão sendo realizadas para a produção de etanol através da biomassa vegetal, que contribui para a redução da emissão de dióxido de carbono no ar atmosférico. Essa tecnologia que está sendo estudada é o chamado etanol celulósico ou de segunda geração.

Existe uma diferença entre o etanol utilizado atualmente e esse que vem sendo pesquisado, pois o etanol de primeira geração é produzido a partir da fermentação da sacarose, presente no caldo da cana, e o etanol de segunda geração ou etanol celulósico é produzidos a partir da celulose presente em qualquer parte da planta, como a folha, a palha ou até mesmo o bagaço, ou na matéria orgânica de qualquer outro vegetal.

Neste trabalho foi proposto estudar a biomassa vegetal do sorgo sacarino, a partir de um pré-tratamento com reagentes básicos, e explosão por vapor e baixa pressão e temperatura, hidrólise enzimática e em seguida fermentação simples e simultânea. Através deste estudo foi possível verificar que o sorgo sacarino obteve rendimento de 96%, e a fermentação simples do mesmo durante 100 horas resultou em teor de etanol máximo de 26,8 g/L e a fermentação simultânea resultou em teor máximo de 46,6 g/L de etanol. Com isso foi possível verificar que no caso do bagaço do sorgo sacarino a fermentação simultânea apresentou um maior rendimento na produção de etanol de segunda geração.

Palavras-chave: Sorgo sacarino. Etanol de segunda geração. Biomassa. Aproveitamento de resíduos. Biocombustível.

ABSTRACT

With the rising cost of oil, research has focused on developing renewable character basic inputs for the production of alternative fuels. Research is underway to produce ethanol through plant biomass, which contributes to reducing the emission of carbon dioxide in the atmospheric air. This technology being studied is called cellulosic or second generation ethanol.

There is a difference between ethanol currently used and that it has been researched since the first generation ethanol is produced from the fermentation of sucrose present in cane juice, and the second-generation ethanol or cellulosic ethanol is produced from cellulose present in any part of the plant such as leaf, straw, bagasse or even, or any other organic vegetable matter.

In this paper we proposed to study the plant biomass of sweet sorghum, from a pre-treatment with basic reagents, and burst steam and low pressure and temperature, enzymatic hydrolysis and then simple and simultaneous fermentation. Through this study we found that sweet sorghum obtained in 96% yield, and fermentation of simple even for 100 hours resulted in maximum ethanol content of 26.8 g / L and simultaneous fermentation resulted in a maximum level of 46.6 g / L of ethanol. It was then possible to verify that in the case of sweet sorghum bagasse simultaneous fermentation showed a greater yield of second generation ethanol.

Keywords: Sweet sorghum. Second generation ethanol. Biomass. Waste recovery. Biofuel.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	14
3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA	15
3.1 HISTÓRIA DO ETANOL	15
3.2 PROJEÇÕES FUTURAS DO ETANOL	16
3.3 SORGO SACARINO	18
3.4 BIOMASSA	19
3.5 BAGAÇO DO SORGO SACARINO	20
3.5.1 Celulose	21
3.5.2 Hemicelulose	22
3.5.3 Lignina	23
3.6 ETANOL	24
3.6.1 Etanol de primeira geração	26
3.6.2 Etanol de segunda geração	27
3.7 PRÉ-TRATAMENTO DOS MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS	28
3.8 HIDRÓLISE DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS	30
3.8.1 Hidrólise ácida	31
3.8.2 Hidrólise enzimática	32
3.9 FERMENTAÇÃO	33
3.10 PROCESSOS COMBINADOS	34
3.10.1 Hidrólise enzimática separada da fermentação (SHF)	34
3.10.2 Hidrólise enzimática e fermentação simultânea (SSF)	35
3.11 DESTILAÇÃO	36
4 MATÉRIAS E MÉTODOS	38
4.1 MATERIAL	38
4.1.1 Sorgo sacarino	38
4.1.2 Enzima	38
4.1.3 Levedura	39
4.1 MÉTODOS	39
4.2.1 Teor de umidade	39
4.2.2 Preparo da matéria-prima	39
4.2.2.1 Moagem do sorgo sacarino	39
4.2.2.2 Pré-tratamento químico	40
4.2.2.3 Abertura da amostra	40
4.2.2.4 Branqueamento	40
4.2.3 Hidrólise enzimática	41
4.2.4 Fermentação	41
4.2.4.1 Fermentação simples	41
4.2.4.2 Fermentação simultânea	42
4.2.5 Destilação do etanol	42
4.2.6 Determinação de açúcar total da mistura de biomassa hidrolisada	43

4.2.6.1 <i>Prepara do Fehling A e B</i>	43
4.2.6.2 <i>Análise de açúcar total e reduto – Método de Eynon - Lanea</i>	43
4.2.6.2.1 <u>Preparo das amostras</u>	43
4.2.6.2.2 <u>Clarificação das amostras</u>	44
4.2.6.2.3 <u>Obtenção do açúcar redutor</u>	44
4.2.6.2.4 <u>Determinação volumétrica</u>	44
4.2.7 Determinação do etanol	45
4.2.7.1 <i>Preparo das amostras</i>	45
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1 PRÉ-TRATAMENTO DA BIOMASSA	47
5.2 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA	48
5.2.1 Açúcar redutor total	48
5.3 FERMENTAÇÃO SIMPLES E SIMULTÂNEA	49
6 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

A crise do petróleo, aliada á crescente preocupação com o meio ambiente e o aumento da demanda por biocombustíveis, preconizou a busca por fontes alternativas de energia, não só no Brasil, mas no mundo. Atualmente muitas pesquisas tem se concentrado no desenvolvimento de novos insumos básicos, de caráter renovável, para assim substituir os derivados de petróleo, o que coloca a biomassa em uma posição de destaque, tudo isso por ter uma ampla disponibilidade, ser de natureza renovável e ter um custo baixo. A biomassa vegetal como matéria-prima para produção de etanol contribui para a redução de emissão de dióxido de carbono no ar atmosférico. (ANTCZAKETA *et al.*, 2009).

Com essa grande demanda por biocombustíveis o governo passou a investir em estudos para novas tecnologias, foi á partir disso, que surgiram as pesquisas em laboratórios voltadas para a utilização do bagaço para produzir o chamado etanol de segunda geração, ou até mesmo etanol celulósico, que é produzido a partir do subproduto (bagaço ou palha) da cana-de-açúcar ou no caso desse trabalho através do bagaço do sorgo sacarino. Essa tecnologia envolve várias etapas, tais como, pré-tratamento, hidrólise e fermentação alcoólica. Essa etapa de pré-tratamento tem como objetivo remover barreiras estruturais e composicionais dos materiais lignocelulósicos, promovendo aumento dos rendimentos de açúcares fermentescíveis a partir da celulose e hemicelulose e uma melhora na porcentagem de hidrólise. (MOSIER *et al.*, 2004).

Existem vários desafios para a produção de etanol lignocelulósico, o mais importante é determinar o melhor processo para a obtenção dos monossacarídeos. Existem, dois tipos de hidrólise, que são: hidrólise ácida e enzimática. Esse processo de hidrólise tem como objetivo hidrolisar hemicelulose e os polissacarídeos em xilose e glicose respectivamente. (BALAT *et al.*, 2008). Portanto esse processo de hidrólise escolhido deve ser economicamente viável, em termos de rendimento glicosídico, custo global e fermentabilidade do hidrolisado. (SILVA, 2009).

Neste trabalho, foi possível verificar a produção de etanol de segunda geração a partir do bagaço do sorgo sacarino, que tem inúmeras vantagens, tais como: o uso de sementes, apresenta um ciclo vegetativo bem mais curto que a cana-de-açúcar, dura de 90 a 140 dias, utiliza menos água e menos fertilizante e alcançam picos de açúcar em diferentes épocas do ano, ele também pode ser

plantado em rotação com outros cultivos anuais e potencialmente semeado em áreas não cultivadas, assim como em terras onde a cana-de-açúcar não se adapta bem. Essa flexibilidade é resultado, em parte do sorgo sacarino ser uma planta de características naturais fortes e de rápido crescimento. (SORGO..., c2010).

Portanto, neste trabalho será possível verificar a produção de etanol lignocelulósico a partir do bagaço do sorgo sacarino, utilizando a hidrólise enzimática.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Obter o etanol de segunda geração em escala laboratorial a partir da hidrólise enzimática do bagaço de sorgo sacarino.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Realizar pré-tratamento utilizando reagentes básicos, e explosão por vapor com baixa pressão e temperatura.
- Realizar a hidrólise e fermentação da biomassa vegetal para produzir o etanol de segunda geração.
 - Avaliar os parâmetros de obtenção.
 - Determinar o açúcar total.
 - Determinar o etanol por método químico.

3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

3.1 HISTÓRIA DO ETANOL

Desde a década de 1970 o Brasil foi considerado o país pioneiro na utilização de etanol a partir da cana-de-açúcar como combustível, por esse motivo ele desponta como o país que tem as tecnologias e políticas mais avançadas do mundo. Atualmente, no Brasil o Estado de São Paulo é considerado o maior produtor de etanol sendo, portanto, o segundo maior do Brasil depois dos EUA com $\frac{1}{4}$ da produção mundial de etanol. (BUCKERIDGE *et al.*, [2005?]).

O Pró-etanol teve início em 1975, após o primeiro choque do petróleo que ocorreu em 1973, onde teve uma elevação dos preços internacionais do petróleo, provocada pelo conflito árabe- israelense. Esse programa do Pró-etanol tinha como objetivo o uso alternativo deste combustível, para assim substituir o petróleo e seus derivados, foi nessa época que foram implantadas diversas destilarias de etanol em todo o Brasil. Com isso o governo brasileiro começou a investir no plantio de cana-de-açúcar a fim de se obter etanol. (HISTÓRIA..., [2013?]).

Nessa época o Brasil importava em torno de 70% do petróleo que consumia o que causava comprometimento no saldo do balanço de pagamentos e o próprio desenvolvimento do país. (HISTÓRIA..., [2013?]).

Em 1979 ocorreu o segundo choque do petróleo, devido à guerra entre Irã e Iraque e esse novo fato impulsionou a produção de etanol anidro em destilarias anexas às usinas, para que fosse posteriormente misturado à gasolina. A partir disso o Pró-etanol começou a ganhar estímulos do governo, para impulsionar a frota veicular, foi com isso que a produção nacional de etanol ganhou maiores dimensões. (HISTÓRIA..., [2013?]).

Com tudo isso, em 1980, o Pró-etanol dá um salto e consolida-se com o aumento repentino da frota de veículos movidos a etanol hidratado. Foi a partir disso que o governo decide pela adição de 22% de etanol anidro à gasolina.

Com essa expansão na produção de etanol os valores do petróleo começaram a cair, causando assim uma ilusão de que a crise já tinha sido superada. (HISTÓRIA..., [2013?]).

A partir disso a produção de veículos movidos a etanol teve uma queda significativa, onde os mesmos passaram a ser produzidos somente sob encomenda. (HISTÓRIA..., [2013?]).

A produção de etanol teve um novo impulso em 2003, com o lançamento dos carros *flex-fue* (bicombustíveis), esses veículos permitem que ele seja abastecido tanto com etanol como com gasolina, ou até mesmo a mistura de ambos em qualquer proporção. (HISTÓRIA..., [2013?]).

Portanto, o etanol tem uma grande importância, não só no Brasil, como em todo o mundo e tudo começou a partir da cana-de-açúcar que foi o primeiro biocombustível que surgiu no Brasil, basicamente por três razões: a tentativa de reduzir a dependência do petróleo importado, a necessidade de amenizar as sucessivas crises do setor e as mudanças climáticas.

3.2 PROJEÇÕES FUTURAS DO ETANOL

A produção de etanol no Brasil provém basicamente da cana-de-açúcar, entretanto, esta matéria-prima tem um período de entressafra, no qual não há produção, isso varia de região para região, no caso do Centro-Sul do país esse período de entressafra vai de dezembro a abril, já na região Nordeste vai de março a setembro, ou seja, nesta região, fica-se quase sete meses sem produção. Uma alternativa para aumentar a produção total do biocombustível, para evitar que as máquinas não fiquem ociosas e melhorar a rentabilidade do negócio é a utilização de outras matérias-primas, tais como o sorgo sacarino e o milho. (DINHEIRO RURAL, 2012 *apud* TEIXEIRA; CARNEIRO, 2013).

No que se diz respeito à produção de etanol, o Brasil encontra-se favorável, por apresentar várias vantagens na tecnologia de produção, mercado de biocombustíveis e liderança na agricultura de energia. Com tudo isso, a questão quem vem sendo colocada no momento é se ainda existe a possibilidade de se obter mais algum tipo de avanço tecnológico na produção de etanol ou se hoje em dia já podemos dizer que o etanol no Brasil já atingiu um estado “maduro” podendo-se assim esperar apenas avanços incrementais, ou ainda temos áreas a explorar com grandes margens de aperfeiçoamento para conseguirmos saltos importantes na competitividade. (MACEDO, 2007).

Hoje em dia está claro que com todos os estudos e pesquisas essas possibilidades não estão excludentes, nota-se que será possível continuar com os avanços graduais com as tecnologias em uso, como também atingir grandes ganhos com as tecnologias que já estão em desenvolvimento.

Segundo Macedo (2007), as possibilidades de incremento de produtividade e redução de custos na cadeia bioenergética a partir da cana-de-açúcar podem ser consideradas em contextos complementares, como a seguir:

- É desejável fazer a implementação completa das tecnologias disponíveis, isso nos próximos anos, já que atualmente o uso ainda é parcial. Isso poderá ocorrer devido a forte competição interna e com mecanismos adequados de transferência de tecnologia.
- Com a evolução tecnológica “contínua” dos processos em uso poderá também levar nos próximos anos a ganhos de produtividade, mediante os fatores, tais como desenvolvimento de melhores variedades (particularmente para as novas áreas), agricultura de precisão, automação industrial, integração da colheita/ carregamento/ transporte, novos processos de separação do etanol, entre outros.
- Deverá ocorrer em médio prazo desenvolvimentos de diversos co-produtos derivados da sacarose e novos subprodutos, principalmente o etanol do bagaço e da palha que já vem sendo estudado.
- Existe também o desenvolvimento e difusão de variedades geneticamente modificadas de cana-de-açúcar mais produtivas e resistentes, isso poderá ocorrer em médio e longo prazo.

O sorgo sacarino é uma matéria-prima também utilizada para a produção de etanol, ele se assemelha a cana-de-açúcar no armazenamento de açúcares que também se localiza nos colmos. O sorgo sacarino também fornece quantidades de bagaço suficiente para a geração de vapor para a operação industrial. Entretanto, ele difere a cana-de-açúcar por apresentarem ciclo vegetativo bem mais curto, de 90 a 140 dias e pelo fato de ser cultivado por sementes. (SOUZA *et al.*, 2005). Com isso é possível verificar que o sorgo tem sua importância, ele pode ser utilizado como matéria-prima complementar à cana-de-açúcar e o seu bagaço para a produção de etanol de segunda geração.

A utilização de biocombustíveis de segunda geração a partir de resíduos de culturas alimentares e culturas dedicadas à produção desse tipo de biocombustível,

permitirá extrair das espécies utilizadas uma maior quantidade de energia por hectare cultivado, sendo vantajoso economicamente. Pode-se dizer também que em relação às questões ambientais teremos grandes vantagens, tais como menores áreas para plantios e o seqüestro de CO₂ da atmosfera. (TORRES, 2012).

Na Figura 1, é possível analisar algumas rotas tecnológicas para a obtenção de etanol e a forma resumida para a obtenção do mesmo, entre eles está o etanol celulósico, ou segunda geração, que é promissor para o futuro.

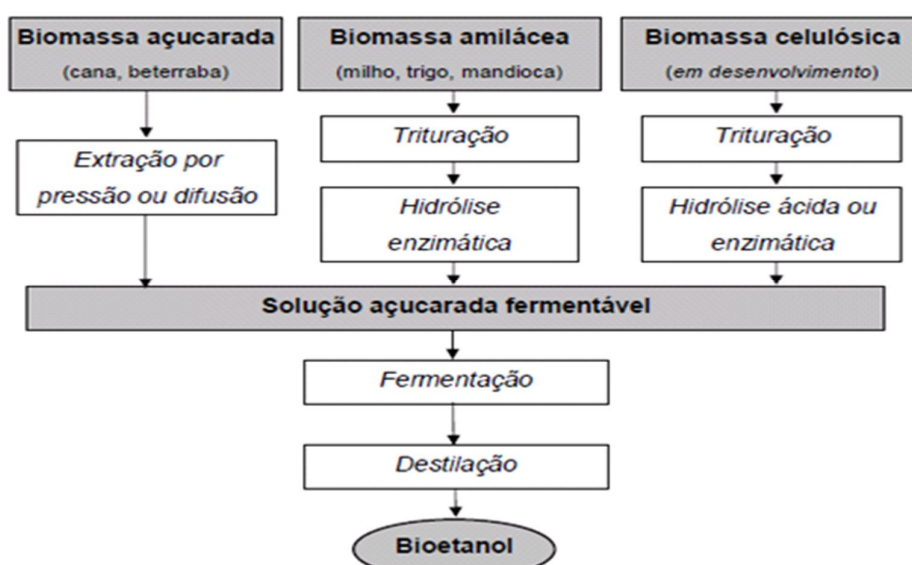


Figura 1 - Rotas tecnológicas para a produção de etanol.
Fonte:BNDES *et al.*(2008, p. 5).

3.3 SORGO SACARINO

Alguns testes foram realizados sobre culturas de grande potencial energético como fontes renováveis de energia, e conseguiram afirmar que as três culturas de maiores destaque são o sorgo sacarino, a beterraba açucareira e a cana-de-açúcar. (TEIXEIRA; JARDINE; BEISMAN, 1997).

Em relação ao sorgo, foi verificado que ele se assemelha a cana-de-açúcar, uma vez que o armazenamento de açúcares se localiza nos colmos, e possui uma vantagem importante, que é o fornecimento de quantidades de bagaço suficiente para a geração de vapor da operação industrial. Em relação ao cultivo ele difere de

maneira acentuada, por ser cultivado a partir de sementes e apresentar ciclo vegetal bem mais curto. (TEIXEIRA; JARDINE; BEISMAN, 1997).

É possível dizer que o sorgo sacarino surgiu como uma alternativa para complementar a cultura da cana-de-açúcar no fornecimento de colmos destinados à produção de álcool etílico, pois uma das alternativas de algumas destilarias era o corte antecipado da cana-de-açúcar, permitindo acelerar o início da operação, mas com essa alternativa poderia ocorrer uma redução no rendimento industrial, pelo fato de se cortar a cana-de-açúcar antes dos colmos terem atingido a maturação completa, apresentando um teor mais baixo de açúcares fermentescíveis. (TEIXEIRA; JARDINE eBEISMAN, 1997).

3.4 BIOMASSA

Os problemas em relação aos combustíveis fósseis torna consistente a perspectiva por uma fonte renovável, pois além de serem recursos não renováveis, eles também são as principais fontes causadoras do aquecimento global e de gases causadores das mudanças climáticas. Assim a biomassa é uma fonte renovável atrativa para diminuir a dependência dos combustíveis a base de o petróleo, gás natural e seus derivados. (WOLF, 2011).

A biomassa pode ser definida como sendo todo recurso renovável proveniente de matéria orgânica, sendo ela de origem animal ou vegetal, que pode ser processado para fornecer formas bioenergéticas mais elaboradas e adequadas para o uso final. A biomassa se desenvolve na célula vegetal e sua produção depende essencialmente de energia solar e da presença de dióxido de carbono (CO_2) e água. (WOLF, 2011).

A biomassa vegetal se diferente da animal, pois, ela é composta por lignina, hemicelulose e principalmente pela celulose, que é um polímero formado por cadeias de glicose. Para acontecer a fermentação para a produção do etanol é necessário fazer a quebra da celulose em moléculas simples de glicose. (TORRES, M., 2012).

O sorgo sacarino, além de possuir acessos genéticos com alta produtividade que em média podem chegar a mais de 30ton/h de matéria seca, possui alta biomassa que tem grande potencial para ser uma cultura destinada á produção de etanol de segunda geração. O sorgo é considerado uma cultura com tolerância a

vários tipos de estresses bióticos e abióticos, além de ser mecanizável e propagar-se por semente. Alguns experimentos realizados pela Embrapa verificaram que o sorgo sacarino apresenta menor teor de lignina em comparação com a cana-de-açúcar, além de possuir mutantes de lignina que podem apresentar até 50% menos lignina que a cultivar original. (DAMASCENO, 2011).

3.5 BAGAÇO DO SORGO SACARINO

A Embrapa realizou uma pesquisa com o objetivo de estudar a produção de etanol de segunda geração a partir de diferentes biomassas vegetal. Nessa pesquisa foi verificado que os teores de lignina do milho e do sorgo sacarino estão abaixo de 12%, enquanto no bagaço de cana-de-açúcar, os valores estão entre 20 e 22%. Para a produção de etanol de segunda geração, essa diferença é considerada importante, pois quanto menor o teor de lignina presente no material, mais fácil o processo de obtenção de etanol e com isso maior o rendimento do mesmo. (MACHADO, 2011).

A Embrapa está realizando testes com diferentes tipos de biomassa para analisar o potencial de cada uma na produção de etanol. Dentre as matérias-primas analisadas, o sorgo sacarino foi o que apresentou a melhor alternativa para a produção de etanol celulósico. (MACHADO, 2011). Na Figura 2, são apresentados os resultados da hidrólise enzimática de bagaços pré-tratados de cana-de-açúcar e sorgo sacarino.

Hidrólise enzimática de bagaços pré-tratados

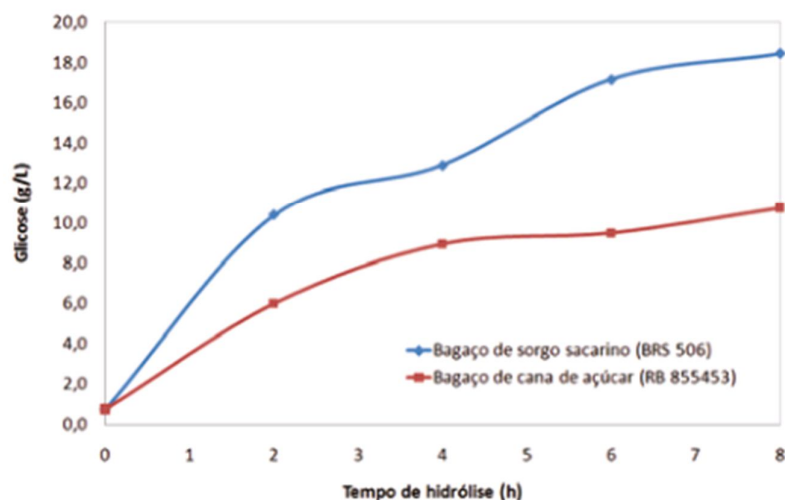


Figura 2 - Hidrólise enzimática de bagaços pré-tratados.
Fonte: MACHADO (2011, p. 28).

A estrutura da biomassa consiste em feixes de fibras e outras estruturas elementares como, vasos parênquima e células epiteliais. O arranjo típico da parede celular de um vegetal é apresentado na Figura 3.

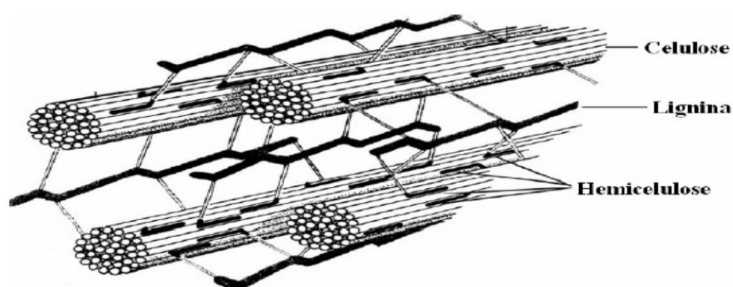


Figura 3 - Arranjo da parede celular de um vegetal.
Fonte: (MURPHI e MCCARTHY, 2009 *apud* SILVE, 2012, p. 16)

3.5.1 Celulose

Dentre os polissacarídeos, a celulose é o mais abundante da terra, o que a torna matéria-prima potencial para atender as necessidades de produção de biocombustível. Um dos grandes desafios da biotecnologia atualmente é hidrolisar essa molécula a açúcares fermentescíveis para produzir etanol, a preços competitivos com os que estão no mercado atualmente. (MAICHE, HUBER, 2010).

A celulose ((C₆H₁₀O₅)_n), é um homopolissacarídeo, sendo ele o principal componente da parede celular vegetal, é linear formado por unidades de monossacarídeos, unidos por ligações glicosídicas, sendo que a celobiose é sua unidade repetitiva. (FENGEL; WEGNER, 1980 *apud* por WOLF, 2011). A principal função da celulose é servir como estrutura das plantas, pois ela está empregnada com a lignina e entrelaçada por polissacarídeos. (GOLDSTEIN, 1981 *apud* WOLF, 2011). Na Figura 4, é possível verificar a estrutura da cadeia linear da celulose.

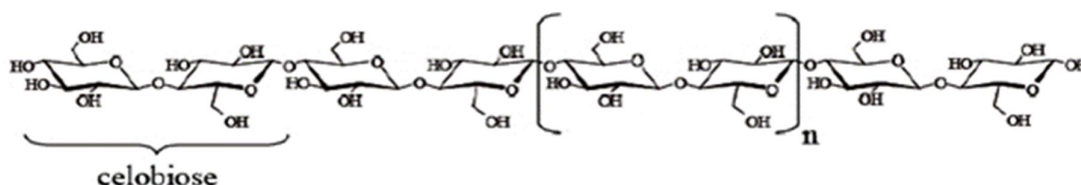


Figura 4 - Representação da cadeia linear da celulose formada por unidades consecutivas de celobiose

Fonte: WOLF (2011, p. 33).

3.5.2 Hemicelulose

A hemicelulose difere da celulose, por serem amorfas compostas pela combinação de vários açúcares, dentre eles pentoses, hexoses, ácidos hexurônicos e desoxiexoses e também possui sua estrutura ramificada. (FENGEL; WEGENER, 1989 *apud* SILVA, 2009).

A hemicelulose tem como função garantir a flexibilidade e elasticidade ao agregado, por possuir as cadeias laterais que interagem tanto com a celulose quanto com a lignina, funcionando como um ligante entre esses dois polímeros, sendo o primeiro polar e o segundo apolar. (MARTINS, 2005). A hemicelulose pode ser hidrolisada mais facilmente que a celulose, porém, quando a biomassa é pré-tratada, parte deste material é degradado. A estrutura molecular da hemicelulose está representada na Figura 5.

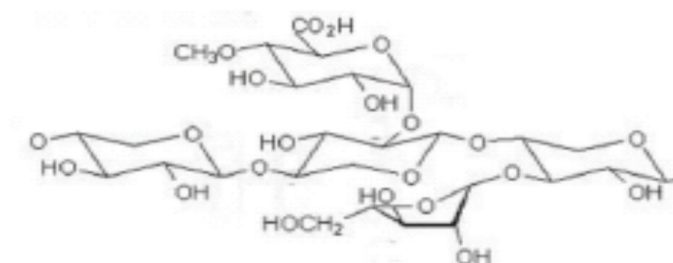


Figura 5 - Estrutura molecular da hemicelulose.
Fonte: ROSA e GARCIA (2009, p. 77).

3.5.3 Lignina

Segundo Fengel e Wegner (1989) “A lignina aumenta a resistência mecânica das plantas, de tal forma que árvores de mais de cem metros podem se manter em pé.”

A lignina é a segunda macromolécula orgânica mais abundante dentre os materiais lignocelulósicos, a primeira é a celulose. A lignina tem como função aumentar a resistência mecânica das plantas. (FENGEL; WEGENER 1989 *apud* SILVA, 2009). Suas principais características é ser, altamente complexa, amorfa e ramificada tridimensionalmente, gerada a partir da polimerização desidrogênativa dos alcoóis hidroxicinâmicos: p-cumarílico, coniferílico e sinapílico. (FENGEL; WEGENER, 1989 *apud* SILVA, 2009).

Existe um problema que está relacionado com as enzimas que é o efeito de inibição que elas podem causar, tanto na fermentação quanto na hidrólise, isso pode ocorrer devido à ruptura incorreta da matriz carboidrato-lignina na etapa de pré-tratamento. (SUN; CHEN, 2002). A estrutura molecular da lignina está representada na Figura 6.

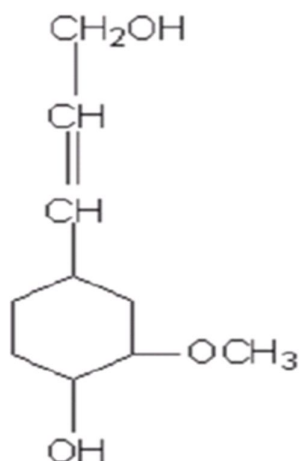


Figura 6 - Estrutura molecular da lignina.
Fonte: ROSA; GARCIA (2009, p.130).

3.6 ETANOL

O etanol é um combustível que vem de fontes renováveis, possui como fórmula química C_2H_5OH , é uma substância orgânica, que pode ser obtido por meio da fermentação de açúcares, hidratação do etileno (hidrocarboneto alceno) ou redução ao acetaldeído. Ele também é conhecido como álcool etílico e é uma substância pura, ou seja, composto por um único tipo de molécula, e tem seu arranjo representado pela Figura 7. (OLIVEIRA, 2010).

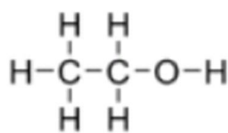


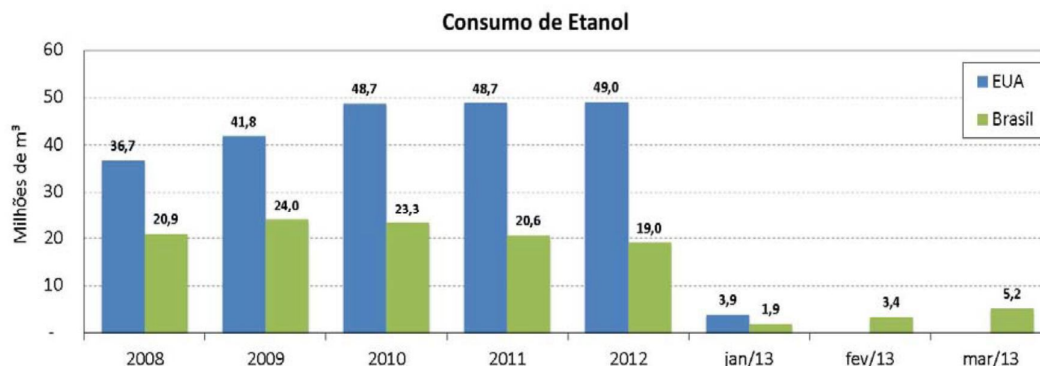
Figura 7- Estrutura molecular do etanol.
Fonte: OLIVEIRA (2010, p. 22)

O etanol obtido por fermentação de açúcares é um combustível renovável, e tem como vantagem contribuir para diminuição da poluição do ar e redução do efeito estufa. Atualmente esse bicomcombustível corresponde por 10% da energia mundial. Estimativas indicam que em 2050 a utilização mundial do mesmo passará a ser de 27%. (IEA, 2008).

Alguns países se destacam com iniciativas que envolvem o uso do álcool combustível, tais como, Tailândia, Austrália, Índia, Guatemala, União Européia, Nicarágua, Japão e Nova Zelândia.

Diversos são os países com interesse em iniciativas que envolvam o uso do álcool combustível, entre os quais se destacam: Austrália, Guatemala, União Européia, Índia, Japão, Nova Zelândia, Nicarágua e Tailândia. Segundo Castro (2005) os importadores tradicionais são os EUA, a União Européia, Japão e Coreia. (CASTRO, 2005).

Um acordo foi implementado pela PEA (Policy Energy Act) e pela EISA (Energy Independence and Security Act), com o objetivo de produzir a partir de 2022, 36 bilhões de galões de bioetanol por ano. (LIMAYEM; RICKE, 2012). A União Européia estabeleceu um objetivo para 2020 que é utilizar 10% de biocombustível de segunda geração no setor de transporte. (PORZIO *et al.* 2012 *apud* SANTOS, 2012). O Brasil e os Estados Unidos são os maiores produtores mundiais de etanol, juntos respondem por 89% da produção global, eles utilizam matéria-prima diferente para a produção de etanol, sendo o Brasil a partir da cana-de-açúcar e os Estados Unidos a partir do milho. De acordo com a Associação de Combustíveis Renováveis, a produção de etanol foi de 10,9 e 12,82 bilhões de galões nos anos de 2009 e 2010, respectivamente (LIMAYEM; RICKE, 2012), representando assim, 55% da produção mundial. Na Figura 8 é possível observar a evolução do consumo de etanol no Brasil e EUA de 2008 até março de 2013.



Elaboração: MME

Fontes: MAPA, EIA/DOE Obs.: Os valores mensais são acumulados.

Figura 8 – Evolução do consumo de etanol no Brasil e EUA.

Fonte: MME (2013, p. 28).

3.6.1 Etanol de Primeira Geração

O etanol, ou álcool etílico, é uma substância incolor, volátil, inflamável, totalmente solúvel em água, apresentam fórmula molecular C_2H_6O . (BNDES *et al.* 2008), ele pode ser obtido por três maneiras gerais: via sintética, via destilatória e por via fermentativa. Para o Brasil a via destilatória não tem significado econômico. Por via sintética, obtém-se o etanol a partir de hidrocarbonetos não saturados, como o eteno e o etino, e de gases de petróleo e da hulha. Portanto a forma de obtenção de etanol mais importante e econômica no Brasil é por via fermentativa, por ter grande número de matérias-primas naturais existente em todo o País. (SILVA, 2009).

A obtenção de etanol por via fermentativa é feito através da sacarose, da seguinte forma: a partir da cana-de-açúcar moída é feito um procedimento de extração, esterilização e purificação do caldo, posteriormente fermentado, e para isso é utilizado linhagens selecionados de leveduras. Para finalizar o processo, o etanol produzido é separado da água por destilação. (TEIXEIRA; CARNEIRO, 2013).

Para se obter o etanol é necessário que a matéria-prima contenha açúcar ou outro carboidrato, portanto é necessário verificar se é viável economicamente, com isso é importante analisar o volume de produção, o rendimento industrial e o custo de fabricação. Algumas matérias-primas utilizadas para a produção de etanol são: cana-de-açúcar, beterraba, sorgo sacarino, milho, entre outros. O processo de produção de etanol de primeira geração é apresentado na Figura 9.

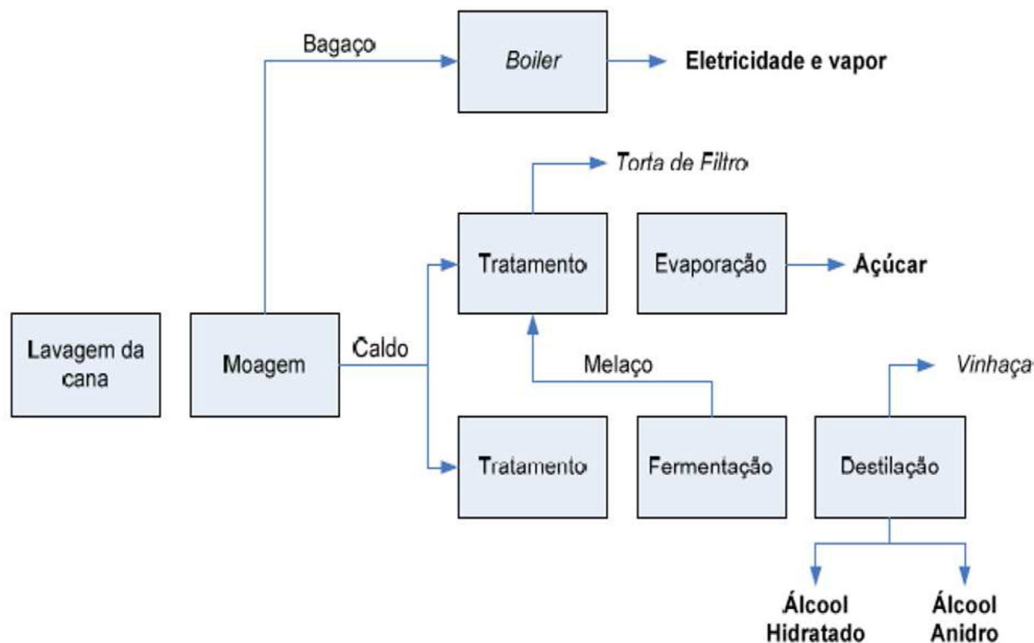


Figura 9 - Processo produtivo nas usinas.

Fonte: FIEP – Federação das Indústrias do Estado do Paraná ([2013?], p. 2).

3.6.2 Etanol de Segunda Geração

O etanol de segunda geração ou até mesmo etanol lignocelulósico é a denominação dada ao álcool etílico obtido a partir da hidrólise e fermentação da biomassa vegetal. (ALMEIDA, 2012).

O etanol de segunda geração e o etanol de primeira geração são as mesmas coisas, a única diferença está na forma de produção, pois uma é a partir do caldo e a outra a partir dos resíduos (bagaço).

A produção do etanol de segunda geração a partir de resíduos agrícolas geralmente apresenta-se em quatro etapas principais: pré-tratamento da biomassa, hidrólise enzimática e/ou ácida dos carboidratos (celulose e hemicelulose) em seus açúcares monoméricos, fermentação por microrganismos dos açúcares liberados seguida de recuperação e destilação do bioetanol. (WOLF, 2009). O processo de produção de etanol de segunda geração é apresentado na Figura 10.

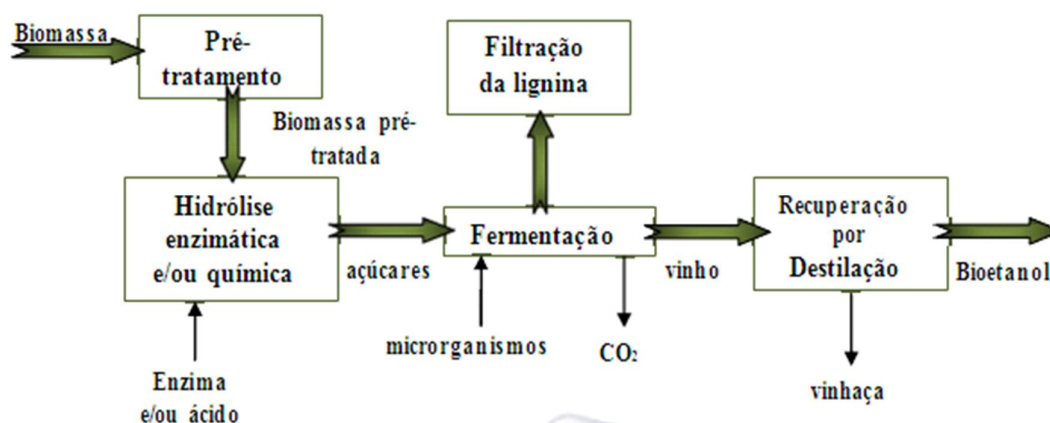


Figura 10 – Processo geral para produção de etanol de segunda geração.
Fonte: WOLF (2009, p. 44)

A principal etapa em uma biorrefinaria, para a produção de etanol de segunda geração é a de pré-tratamento, pois é nessa etapa que se consegue realizar a conversão da celulose em açúcar, ou seja, conversão da biomassa lignocelulósica em combustíveis e produtos químicos. (COSTA SOUSA *et al.*, 2009 *apud* WOLF, 2009).

Segundo Hamelinck *et al.* (2005), ao realizar a hidrólise da celulose na biomassa nativa sem antes executar a etapa de pré-tratamento significa obter um rendimento inferior a 20% no processo, devido a suas características estruturais, tais como, hemicelulose, cristalinidade, porosidade, área superficial acessível e revestimento por lignina. Portanto, antes de dar continuidade ao processo de produção do etanol de segunda geração é indispensável a realização do pré-tratamento da biomassa, pois terá como objetivo romper a barreira protetora da lignina e converter a estrutura recalcitrante da biomassa, tornando-se assim os carboidratos mais acessíveis ao ataque enzimático e/ou químico, aumentando assim o rendimento em açúcares fermentescíveis. (WOLF, 2009).

3. 7 PRÉ-TRATAMENTO DOS MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

Os principais objetivos do pré-tratamento são: aumentar a área superficial da biomassa, evitar ou minimizar a formação de compostos inibidores do processo tanto na etapa de hidrólise quanto na etapa de fermentação, preservar as pentoses maximizando os rendimentos em açúcares e reduzir o grau de cristalinidade da

celulose. (HSU, 1996 apud RABELO, 2010). O efeito que o pré-tratamento químico causa em materiais lignocelulósicos é apresentado na figura 11.

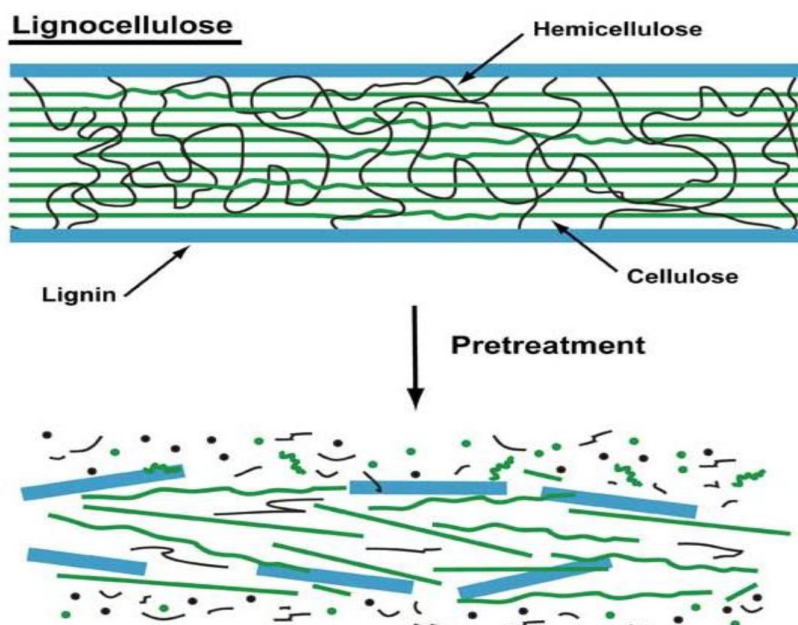


Figura 11 - Efeito de pré-tratamento químico em materiais lignocelulósicos.
Fonte: HECTOR (2009) *apud* SANTOS (2012, p. 26).

Existem vários tipos de pré-tratamento de biomassa lignocelulósicas (Figura 12), esses podem ser classificados em três grupos principais: físicos, químicos, biológico e o combinado. (MOSIER. *et al.* 2004).

Métodos	Operações (fatores) que ocasionam mudança na estrutura do substrato	Tipo de mudança	Referências
Físico	Moagem e trituração (bola, energia vibratória, rolo duplo, pressão, martelo); radiação (raios de elétrons, raios γ , micro-ondas); altas temperaturas (pirólises, explosão a vapor).	Aumento da área superficial e tamanho dos poros da partícula, diminuição do grau de polimerização.	AZUMA <i>et al.</i> (1985), KOULLAS <i>et al.</i> (1992), RAMOS <i>et al.</i> (1993b).
Químico	Bases, ácidos, gases, agentes oxidantes e redutores, solventes orgânicos.	Deslignificação, diminuição do grau de polimerização e cristalinidade da celulose associada com o inchaço da amostra, aumento da porosidade.	FARID <i>et al.</i> (1983), SZCZODRAK <i>et al.</i> (1986), BES <i>et al.</i> (1989).
Biológico	Bolor branco (<i>Pleurotus</i> , <i>Pycnoporus</i> , <i>Ischnoderma</i> , <i>Phlebia</i> , etc.).	Deslignificação e redução do grau de polimerização da celulose e hemicelulose.	ROLZ <i>et al.</i> (1986), MES-HARTREE <i>et al.</i> (1987)
Combinado	Tratamento alcalino associado com explosão a vapor, moagem acompanhada com tratamento alcalino ou tratamento ácido.	Degradação da hemicelulose, deslignificação, aumento da área superficial e tamanho dos poros.	PURI e PEARCE (1989).

Figura 12 - Métodos de pré-tratamento de materiais lignocelulósicos para hidrólise enzimática. Fonte: SZCZODRAK e FIEDUREK (1996) *apud* RABELO (2010, p. 35).

3.8 HIDRÓLISE DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

Os processos para a produção de combustível com a utilização de resíduos lignocelulósicos envolvem a hidrólise dos polissacarídeos, que convertem os mesmo em monossacarídeos e posteriormente a fermentação para a produção do etanol lignocelulósico. Para realizar esse processo de hidrólise são necessárias tecnologias complexas e multifásicas, com a utilização de rotas ácidas ou enzimáticas para a separação dos açúcares e remoção da lignina. Uma configuração genérica é apresentada na Figura 13. (BNDES *et al.* 2008).

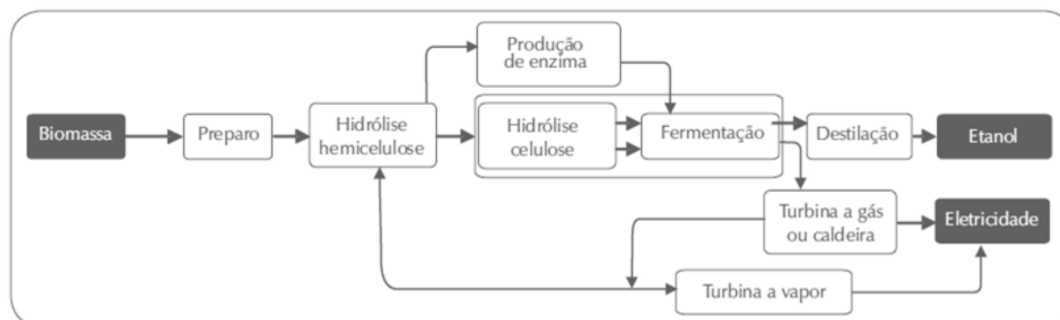


Figura 13 - Esquema do processo de produção de etanol por meio da hidrólise da biomassa.
Fonte: HAMELINCK *et al.* 2005 *apud* SILVA, 2010, p. 27).

3.8.1 Hidrólise ácida

O processo básico de hidrólise ácida consiste em utilizar um ácido forte para atacar as ligações glicosídicas entre os monossacarídeos de um polissacarídeo. Os ácidos, normalmente utilizados para a obtenção de hidrólise em laboratório, são os ácidos trifluoroacético, ácido clorídrico e ácido sulfúrico. Esses ácidos se comportam de maneiras diferentes. O ácido trifluoroacético quebra preferencialmente as ligações mais fracas, e as ligações do tipo alfa (α) presente nas ramificações das hemiceluloses, já o ácido sulfúrico e clorídrico, discriminam pouco as ligações glicosídicas de diferentes tipos, atacando celulose e hemiceluloses. (BUCKERIDGE, *et al.* [2013?]). Na Figura 14 é apresentado o diagrama da hidrólise ácida.

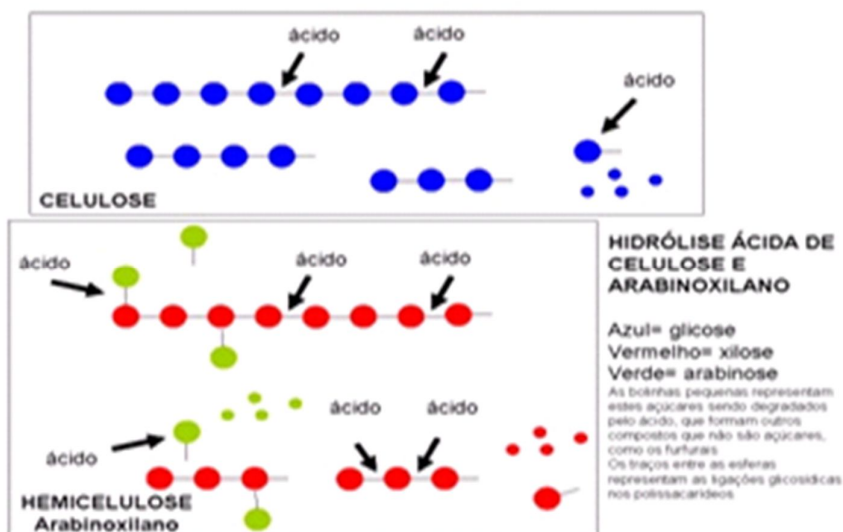


Figura 14 - Diagrama da hidrólise ácida.
Fonte: BUCKERIDGE *et al.* ([2013?], p. 10).

Esse método de hidrólise ácida existe uma grande desvantagem, ela necessita de equipamentos altamente resistentes a corrosão, o que ocasiona o aumento do custo do produto final, que é o etanol. Além disso, é necessária a recuperação do ácido utilizado nesse processo, devido a razões econômicas e problemas ambientais. (SZENGYEL, 2000 *apud* RABELO, 2010).

3.8.2 Hidrólise enzimática

Quando utilizamos as enzimas para a produção de etanol celulósico o processo se torna mais complexo, pois a celulose é protegida por materiais resistentes ao ataque químico, como é o caso da lignina e a hemicelulose, pois a quebra desses polímeros que são as maiores dificuldades no processo de hidrólise. (ROSA; GARCIA, 2009 *apud* SILVA, 2010). A enzima utilizada nesse tipo de hidrólise normalmente é a celulase, que tem como função catalisar a reação, ou seja, acelerar a conversão da celulose à glicose. (DILLON, 2004 *apud* SANTOS, 2012).

Esse processo enzimático é realizado em condições brandes, ou seja, com pH entre 4 e 5 e temperatura entre 45°C e 50°C, o custo utilidade é relativamente baixo (SUN e CHENG, 2002), além disso ele possibilita a fermentação simultânea à hidrólise (SSF), permite maiores rendimentos e apresenta baixo custo de manutenção. (KOVÁCS *et al.*, 2009 *apud* SILVA, 2010).

A hidrólise enzimática é realizada para converter os polissacarídeos da celulose para açúcares fermentescíveis. (SILVA, 2010). A Figura 15 representa esquematicamente um sistema celulósico.

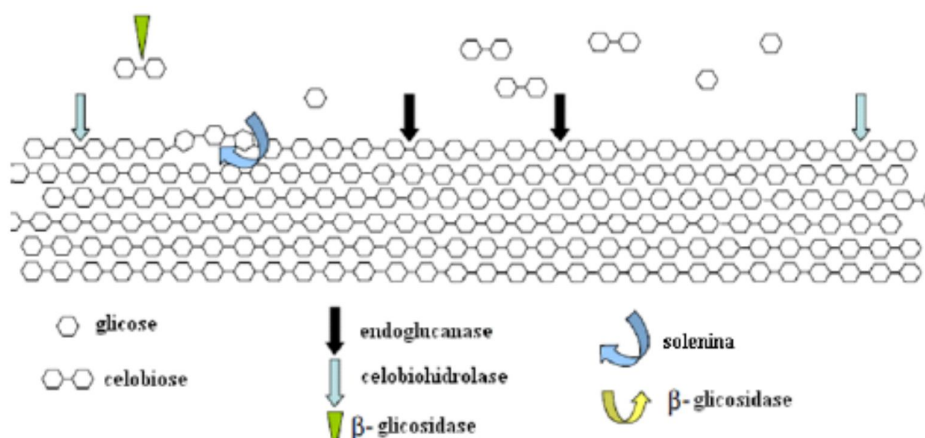


Figura 15 - Representação esquemática de um sistema celulósico.
 Fonte: ARO *et al.* 2005 *apud* SILVA, 2010, p. 30).

3.9 FERMENTAÇÃO

Fermentação alcoólica é quando transformamos a matéria-prima em álcool, isto é realizado por ação de microorganismos, usualmente leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*. Para que a fermentação possa ter um bom rendimento, é necessário que se misture ao mosto uma quantidade de levedura capaz de converter açúcares em álcool e gás carbônico. (ALCARDE, 2011).

Para escolhermos as leveduras que vamos utilizar no processo de fermentação, é necessário levar em conta vários fatores, tais como: velocidade da fermentação; tolerância ao álcool; rendimento; resistência e estabilidade. A velocidade é a característica mais importante que deve ser levado em conta e ela é determinada pela quantidade de açúcar fermentado por uma quantidade de leveduras durante certo tempo. (ALCARDE, 2011).

Essa etapa de fermentação dos materiais lignocelulósicos pode ser realizada de duas maneiras, que são: simultaneamente, ou seja, a hidrólise juntamente com a fermentação, ou seqüencialmente em duas etapas, ou seja, a hidrólise separada da fermentação. (RABELO, 2010). As rotas de hidrólise e fermentação para a produção de etanol de segunda geração é apresentado na Figura 16.

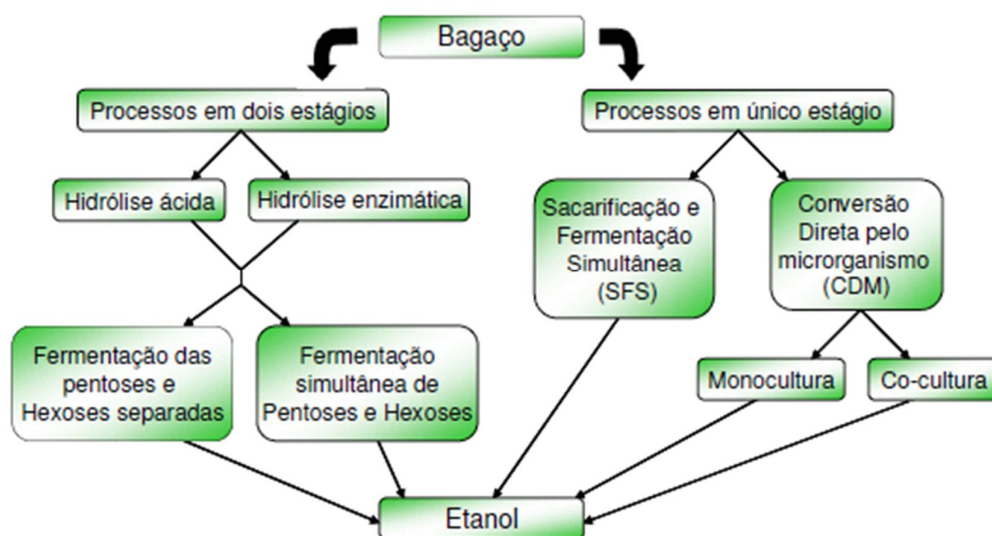


Figura 16 - Rotas de hidrólise e fermentação
 Fonte: (OGIER.1990 *apud* RABELO, 2010, p. 70).

Dentre esses dois processos o que tem mostrado maior vantagem é o realizado sequencialmente em duas etapas, onde ocorre primeiramente a hidrólise, sendo ela ácida ou enzimática, e em seguida a fermentação. Portanto a maior vantagem deste processo é que quando separadas as etapas podem ser realizadas em condições ótimas, pois para a hidrólise enzimática, a temperatura considerada ótima é da enzima, que é em torno de 50 °C, já a da fermentação é entre 30 °C e 34°C. (RABELO, 2010).

3.10 PROCESSOS COMBINADOS

Nesse tipo de processo a hidrólise enzimática é utilizada em diferentes rotas, os dois métodos mais utilizados são: a hidrólise simultânea a fermentação e a hidrólise separada da fermentação.

3.10.1 Hidrólise enzimática separada da fermentação (SHF)

SHF – separate hydrolysis and fermentation: a hidrólise da celulose, separada da fermentação e da glicose são realizadas em reatores diferentes; a fermentação da pentose ocorre em outro reator. O esquema simplificado da hidrólise enzimática separada da fermentação é apresentado na Figura 17.

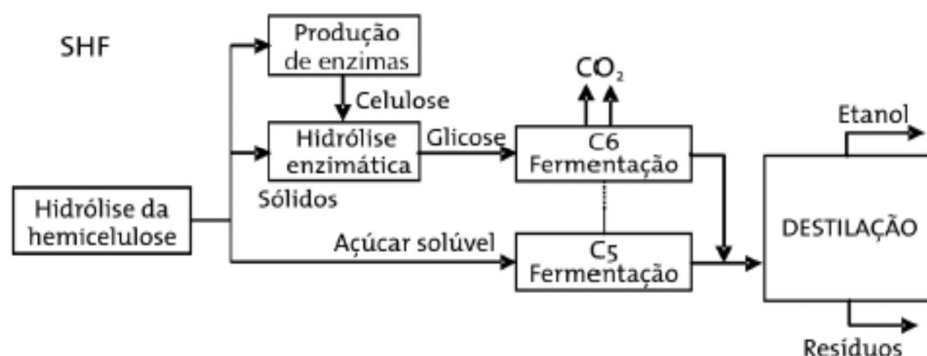


Figura 17 -Esquema simplificado do SHF.

Fonte: (HAMELINCK. et al. 2005 *apud* SILVA, 2010, p. 33).

Algumas estimativas vêm sendo feitas no que se refere à eficiência da hidrólise da celulose, umas delas é que usando o método SHF podemos ter uma eficiência de 75 a 80%. Isso significa que com uma tonelada de bagaço, que representa 37% de celulose, conseguiremos obter de 300 a 350 litros de etanol. Essas estimativas foram feitas levando em consideração 90% de eficiência da fermentação da glicose. (ROSA; GARCIA, 2009).

Uma das grandes vantagens quando utilizamos esse método é que o mesmo permite que a hidrólise e a fermentação sejam conduzidas em condições ótimas para cada etapa. A temperatura ideal para as celulasas está entre 45°C e 50°C. (OLSSON et al., 2006 *apud* SANTOS, 2012). Uma das desvantagens desse mesmo método está relacionada à inibição das enzimas do complexo celulásico pelos seus produtos finais de hidrólise que é a glicose e celobiose; com isso pode ocorrer a contaminação, pois o tempo envolvido nesse processo de hidrólise é longo, e a solução de açúcares formado torna-se um fonte disponível ao ataque de microorganismos indesejados. Além de tudo isso as próprias enzimas se não utilizadas corretamente podem ser uma fonte com grande potencial de contaminação. (TAHERZADEH; KARIMI, 2007 *apud* SANTOS, 2012).

3.10.2 Hidrólise enzimática e fermentação simultânea (SSF)

Esse tipo de processo é a combinação da hidrólise enzimática dos materiais pré-tratados e a fermentação em um único evento. Essa reação tem como umas das

principais vantagens à consumação da glicose, que é feita imediatamente pelos microorganismos fermentadores, essa glicose é produzida através da atividade das celulasas, a consumação da glicose minimiza os efeitos inibitórios causados pela mesma. Com isso esse processo apresenta outras duas vantagens importantes que são o aumento na produção de etanol, pois menos cargas enzimáticas são utilizadas no processo e a redução do risco de contaminação, pois a presença de etanol reduz essa possibilidade. (McMILLANet al., 1999 *apud* SANTOS,2012). Na Figura 18 é apresentado um diagrama de blocos do processo de hidrólise enzimática e fermentação simultânea.

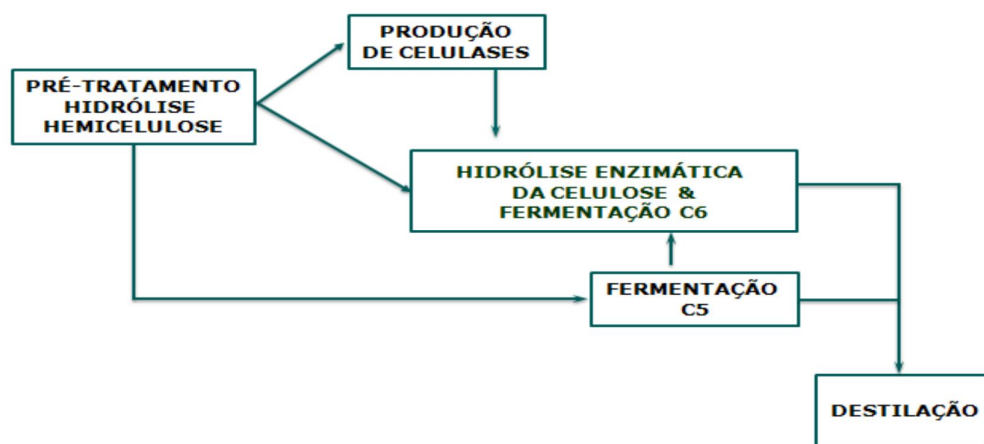


Figura 18 - Diagrama de blocos do processo de hidrólise enzimática e fermentação simultânea (SSF).

Fonte: (PEREIRA. et al. [2012?] *apud* SANTOS, 2012,p. 53).

3.11 DESTILAÇÃO

A destilação é a parte final para a produção do etanol. Esse processo funciona da seguinte maneira: um líquido, que está sendo aquecido, passa para a fase gasosa e em seguida ele é condensado, voltado para seu estado líquido. (DESTILAÇÃO..., c2007).

A destilação acontece após a fermentação, onde os meios açucarados passam a ser chamados de vinho, que é uma mistura hidro-alcoólica, essa mistura é composta por substâncias gasosas, sólidas e líquidas; e é desse material que conseguimos separar o etanol por meio de destilação, com isso gerando vapores de

álcool e água, que após ser condensado formam um líquido de concentração superior ao vinho, e sem substâncias sólidas. (LIMA *et al.*, 2001).

4 MATERIAIS EMÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Química da Universidade do Sagrado Coração, Bauru-SP e no Laboratório de Resíduos Sólidos e Compósitos, da Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista (FCA-UNESP), Botucatu-SP.

4.1 MATERIAL

4.1.1 Sorgo Sacarino

Para o desenvolvimento deste trabalho utilizou-se o bagaço do sorgo sacarino, fornecido pela fazenda experimental da Universidade Sagrado Coração (USC), denominada “Recanto do Sagrado Coração”, localizada no município de Agudos no Estado de São Paulo.

4.1.2 Enzima

A enzima utilizada nesse trabalho foi Accellerase® 1500 celulase, fornecida pelo Prof.Dr. Alcides Lopes Leão, do Departamento de Engenharia Rural da FCA-UNESP. A celulase é um complexo enzimático utilizado para a biomassa lignocelulósica, pois tem a capacidade de fermentar monossacarídeos, além de ter altos níveis de atividade beta-glicosidase que assegura a conversão quase completa da celobiose á glicose. (ACCELLERASE..., 2013).

Essas enzimas celulases são próprias para degradar e estrutura complexa da celulose, pois é um polímero constituído de glicose com unidades de repetição $C_6H_{10}O_5$ com ligações glicosídicas β -1,4 (NREL, 2011 *apud* CINELLI, 2012). Portanto, como já dito, esse complexo é composto por grupos de enzimas e são divididos em três grupos (LYND *et al.*, 2002 *apud* CINELLI, 2012): o primeiro são as endoglucanases, como a β -1,4-endoglucanase (EC 3.2.1.4), que tem como objetivo dividir as ligações internas da fibra celulósica, o segundo são as exoglucanases, como a 1,4- β -D-glucanaglucanohidrolase (EC 3.2.1.74) e a celobiosidase (EC 3.2.1.91), que agem na região externa da celulase e o terceiro grupo que são as β -

glicosidases, como a β -1,4-glucosidase (EC 3.2.1.21), que tem como objetivo hidrolisar oligossacarídeos solúveis a glicose. (CINELLI, 2012).

4.1.3 Levedura

A levedura utilizada para a realização deste trabalho foi leveduras *Saccharomyces cerevisiae* a cepa usada foi a Fleischmann®.

Essa linhagem Fleischmann® foi à escolhida por apresentar seu amplo uso em processo indústrias, como a produção de etanol. (CHERUBIN, 2003).

4.2 MÉTODO

4.2.1 Teor de umidade

A biomassa utilizada para a hidrólise estava em estado úmido. Desse modo, foi necessário determinar o teor de umidade para se determinar a eficiência da hidrólise, em base seca.

O teor de umidade da amostra foi determinado por diferença de peso antes e após secagem da amostra a 105°C.

O cálculo utilizado pra a determinação do teor de umidade é descrito na equação (01)

$$U\% = (P_u - P_s / P_u) \times 100\% \quad (1)$$

4.2.2 Preparo da matéria-prima

4.2.2.1 Moagem do sorgo sacarino

O bagaço do sorgo sacarino, como recebido, foi moído em um moinho de facas, secado a 60°C em uma estufa e armazenado em sacos plásticos até o momento do uso.

4.2.2.2 Pré-Tratamento Químico

O pré-tratamento químico é uma das partes mais importantes do processo de produção de etanol de segunda geração. Nessa etapa acontece a abertura das fibras vegetais, com exposição das microfibras de celulose e parcial perda da lignina e hemicelulose existente na biomassa.

4.2.2.3 Abertura da Amostra

Para a abertura da amostra foi utilizado um tratamento básico associado à explosão a vapor. Em um béquer foram adicionados 100 g de bagaço em 2 L de solução NaOH 2% (m/v). A mistura foi colocada em uma autoclave vertical por 30 minutos a temperatura de 133°C e 2 atm de pressão. Após o tempo desejado, a pressão da autoclave foi rapidamente liberada, no que se constitui a “explosão por vapor”. Por fim as amostras foram retiradas, lavadas e passadas por uma peneira, removendo-se manualmente o excesso de água das fibras.

4.2.2.4 Branqueamento

Essa é a última etapa de pré-tratamento do bagaço, onde a amostra que passou pelo processo de abertura das fibras é adicionada em 2 L de solução NaOH 2% e NaClO 2% (v/v). A mistura foi colocada em uma autoclave vertical por 30 minutos a temperatura de 133°C e 2atm de pressão. Após o tempo desejado foi feita a explosão por vapor. Por fim as amostras foram retiradas, lavadas e passadas por uma peneira, removendo-se manualmente o excesso de água das fibras. O processo foi repetido por mais uma vez. Após a etapa de branqueamento, as amostras foram filtradas a vácuo, recolhidas em frascos fechados e armazenadas em geladeira até o uso para a hidrólise. Na Figura 19 é apresentada a autoclave vertical, equipamento utilizado para realizar a etapa de branqueamento da amostra.



Figura 19 - Autoclave vertical.
Fonte: Elaborado pela autora.

4.2.3 Hidrólise enzimática

Para a hidrólise enzimática, aproximadamente 14 g (base seca) da biomassa pré-tratada foram adicionadas em 500 ml de água destilada. O pH foi ajustado para 4,8 utilizando-se ácido cítrico. O ajuste desse pH foi necessário para que a mistura apresentasse em condições de pH ideais para a realização da hidrólise enzimática.

Posteriormente, foi adicionado em cada amostra 3,5 ml de enzima Accellerase 1500 e por fim os frascos foram fechados e encubados a temperatura de 50°C, em agitação magnética constante durante todo o tempo desejado. A hidrólise enzimática foi analisada em 25 horas, 50 horas e 100 horas.

4.2.4 Fermentação

Na fermentação foram utilizados dois métodos, o SHF (fermentação simples) e SSF (fermentação simultânea).

4.2.4.1 Fermentação simples

A fermentação simples ocorreu a partir da solução da biomassa hidrolisada, obtida como descrita em 4.2.3. Ao material hidrolisado, foi adicionada 2% (m/v) de levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Em seguida, os frascos foram fechados e encubados a temperatura de 38°C, em agitação magnética constante durante todo o

tempo desejado. A fermentação simples foi realizada por 25 horas, 50 horas e 100 horas. Após a fermentação, o etanol foi separado da mistura através de destilação fracionada.

4.2.4.2 Fermentação simultânea

Nesse caso, a fermentação aconteceu simultaneamente com a hidrólise. Foi realizado o mesmo procedimento experimental aplicado para a hidrólise simples, porém, foram adicionados 2% (m/V) da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e 3,5 mL da enzima Accellerase® 1500. Em seguida as amostras foram levadas para a estufa a 38°C, durante 25 horas, 50 horas e 100 horas.

4.2.5 Destilação do etanol

O etanol foi separado da mistura por destilação fracionada, como ilustrado na Figura 20. A destilação da mistura de etanol foi realizada a uma temperatura em torno de 95°C para todas as amostras.



Figura 20 - Destilação do etanol.
Fonte: Elaborado pela autora.

4.2.6 Determinação de açúcar total na mistura de biomassa hidrolisada

O teor de açúcar redutor total presente na amostra hidrolisada foi determinado utilizando-se o método de Eynon-Lanea.

4.2.6.1 *Preparo do Fehling A e B para a análise de açúcar total e redutor*

Para a preparação do Fehling A, foi dissolvido 35,639 g de sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) em água. Em seguida acrescentou 0,5 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), e por fim, completou-se com água destilada um balão volumétrico de 500 ml.

Para a preparação do Fehling B foi dissolvido 174 g de tartarato de sódio e potássio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) e 50 g de hidróxido de sódio (NaOH) em água, completando com água destilada um balão volumétrico de 500 ml.

Essas duas soluções foram preparadas para serem utilizadas na análise de açúcares totais e redutores.

4.2.6.2 *Análise de açúcares totais e redutores – Método de Eynon-Lanea*

Após o processo de hidrólise da celulose, que teve com objetivo converter as amostras em açúcares, foram realizados testes em cada material para analisar açúcares redutores totais.

4.2.6.2.1 Preparo das amostras

Nessa etapa de preparo das amostras foram adicionadas 125 ml de cada (25h, 50h, 100h) em béquer de 250 ml, cada uma delas com o pH próximo de 7.

4.2.6.2.2 Clarificação das amostras

Foi adicionado em cada amostra 5 ml de ferrocianeto de potássio ($K_4[Fe(CN)_6]$) 0,25M e 5 ml de acetato de zinco ($Zn(C_2H_3O_2)_2$) 1M, após isso agitado e filtrado.

4.2.6.2.3 Obtenção do açúcar redutor

Após a clarificação, o filtrado das três amostras (25h, 50h, 100h) foi recolhido separadamente em balão volumétrico de 250 ml, completado com água destilada, e por fim obtido o açúcar redutor das amostras.

4.2.6.2.4 Determinação volumétrica

Primeiramente, a solução de Fehling foi padronizada utilizando-se uma solução de glicose a 1%. A partir disso, calculou-se o fator de conversão para ser usado como parâmetro das análises das amostras, e deu-se continuidade nos estudos para tais determinações.

A reação utilizando o Fehling se baseia no poder de redução que os açúcares redutores tem sobre o cobre que está presente nas soluções de Fehling tituladas. A titulação é realizada com aquecimento de modo que o erlemeyer apresente a todo momento uma solução em ebulição. Com isso é possível criar um ótimo meio para que os açúcares redutores reduzam o cobre inicialmente o estado de oxidação +2 para o estado de oxidação +1, isso quando o pH do meio básico, ditado pela presença de hidróxido de sódio que está presente também nas soluções de Fehling. (LIRIO, 2010).

Portanto a determinação volumétrica foi realizada em triplicata para cada amostra. Foram separados três erlemeyer para cada uma delas, de 25 horas, 50 horas e 100 horas, e nos mesmos adicionados 5 ml da solução de Fehling A e 5 ml de Fehling B, juntamente com 30 ml de água destilada (titulado). Essas soluções foram aquecidas, por um agitador magnético com aquecimento, até atingir a fervura.

Em uma bureta foram adicionados 50 ml da solução clarificada de açúcar redutor (titulante) e após o titulado atingir o ponto de fervura foram adicionados 4 mL do titulante.

Depois de adicionados os 4 ml da solução clarificada foi necessário esperar com que a mesma atingisse o ponto de fervura novamente. Logo foram adicionadas 4 gotas da solução de azul de metileno 2% e se iniciou a titulação até a mesma atingir seu ponto final. Possibilitando identificar com a mudança de cor, quando o sobrenadante ficou incolor, ou seja, quando a cor azul desapareceu.

Esta determinação volumétrica procede-se da mesma maneira para a solução clarificada de açúcares totais.

4.2.7 Determinação do etanol

O etanol obtido na destilação foi quantificado a partir do método de oxidação por dicromato de potássio e retrotitulação com solução de tiosulfato de sódio.

4.2.7.1 Preparo das amostras

As amostras foram inicialmente diluídas; uma alíquota de 5 ml de cada amostra foi diluída para um volume de 250 ml com água destilada, em balão volumétrico. Cada amostra foi submetida à oxidação, através do procedimento:

- 1) Em um béquer de 250 mL, adicionou-se 10 mL de amostra diluída;
- 2) Em seguida foi adicionado 10 mL de solução dicromato de potássio (0,05M);
- 3) A mistura foi colocada em banho de gelo, em seguida foram adicionados 20 mL de solução de ácido sulfúrico 50%;
- 4) A mistura foi removida do banho de gelo e foram adicionados 10 mL de solução de iodeto de potássio (0,5M), sendo imediatamente titulada com solução de tiosulfato de sódio (0,1 M).

A titulação foi realizada em um equipamento titulador automático Metrom Tritando 852 (Figura 21), utilizando-se o *software* Tiamo, para a determinação direta da concentração de etanol na amostra.



Figura 21 – Titulador Metrom Tritando 852.

Fonte: Laboratório de Resíduos Sólidos e Compósitos, da Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista (FCA-UNESP).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PRÉ-TRATAMENTO DA BIOMASSA

A produção do etanol de segunda geração é um processo um pouco mais complexo que a do comum, devido à necessidade de hidrólise do material celulósico, indispensável para a obtenção dos açúcares fermentescíveis.

O pré-tratamento é considerado de vital importância no processo de hidrólise, uma vez que a celulose está associada a outras substâncias (hemicelulose, lignina, extrativos, cinzas) na biomassa vegetal, sendo necessários processos que exponham a celulose à enzima.

Para a produção de etanol a partir da hidrólise enzimática, observa-se que os pré-tratamentos mais utilizados são ácidos e a explosão por vapor em altas pressões e temperaturas sem a adição de reagentes químicos.

Neste trabalho foi utilizada a metodologia de explosão por vapor em baixa pressão e temperatura, associada à adição de hidróxido de sódio e hipoclorito de sódio em baixas concentrações (2%) como pré-tratamento do sorgo sacarino. Esta metodologia é potencialmente vantajosa por utilizar menos energia do que a explosão em altas pressões e por resultar em biomassa com baixo teor de lignina. A lignina é conhecida por ter propriedades de inibição do processo de hidrólise enzimática. Como fator indesejável, existe a produção de resíduos químicos no processo, que necessitam ser gerenciados.



Figura 22 - Celulose obtida após o pré-tratamento.
Fonte: Elaborado pela autora.

5.2 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

A hidrólise enzimática foi realizada como descrito no procedimento experimental. A seleção das condições de hidrólise (tempo, pH e temperatura) foram baseadas nos resultados apresentados na ficha técnica da enzima Accellerase 1500[®] Duppont, considerando a cana-de-açúcar, devido suas características semelhantes às do sorgo sacarino.

Os resultados da hidrólise são apresentados na Figura 24. Observa-se o que a celulose de sorgo sacarino hidrolisou com facilidade, obtendo-se o rendimento de 96% da biomassa após 118h.

A hidrólise feita com o bagaço do sorgo sacarino foi maior que os valores descritos para a hidrólise do bagaço da cana-de-açúcar. Este fato é explicado pela diferença no pré-tratamento, (ácido para a cana-de-açúcar, básico para o sorgo), e na concentração de sólidos maior na hidrólise de cana de açúcar, o que diminui o rendimento em comparação com o sorgo.

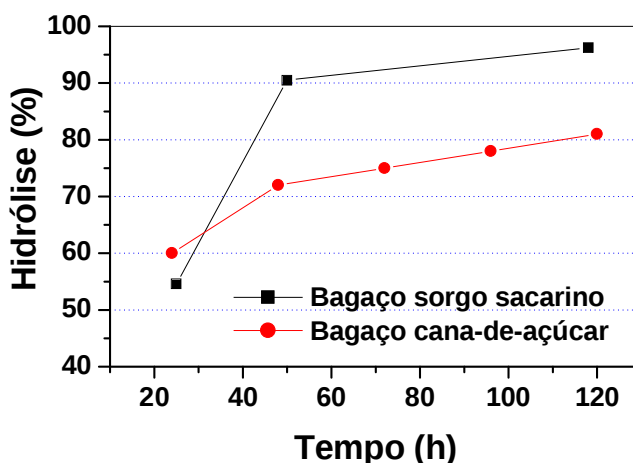


Figura 23 - Hidrólise do bagaço sorgo em relação ao da cana-de-açúcar.
Fonte: Elaborada pela autora.

5.2.1 Açúcar redutor total

Após a realização da hidrólise enzimática, foi retirada uma alíquota de cada amostra para determinação do açúcar redutor total. Através do teor de açúcar

reduzidor total é possível avaliar o processo de hidrólise, bem como o processo de fermentação, para a obtenção do etanol.

As concentrações de açúcares redutores totais foram determinadas de acordo como descrito nos materiais e métodos, sendo os resultados apresentados na Figura 25.

Tempo de hidrólise (h)	ART (g)
25	6,579
50	8,621
118	10,0

Figura 24 - Valores de açúcares redutores total após hidrólise do bagaço do sorgo.
Fonte: Elaborada pela autora.

5.3 FERMENTAÇÃO SIMPLES E SIMULTÂNEA

Após a hidrólise do bagaço do sorgo sacarino, em diferentes tempos, foi realizada a fermentação simples. A fermentação simultânea foi realizada para determinar a sinergia do processo de hidrólise e fermentação. Os resultados são apresentados na Figura 26.

A fermentação simples em 100 horas, resultou em teor de etanol máximo de 26,8 g/L, enquanto a fermentação simultânea resultou em teor máximo de 46,6 g/L de etanol.

O maior rendimento da fermentação simultânea em comparação à simples, é explicado através da dinâmica do processo, ou seja, à medida que a celulose é transformada em açúcares de cadeia curta pelas enzimas, estes são transformados em etanol pelo microorganismo. Portanto todo esse processo tende a aumentar a conversão de etanol pela diminuição da produção de compostos inibidores do crescimento dos microorganismos.

A fermentação simultânea ainda apresenta outra vantagem importante, no caso de produção industrial: a eliminação de dois reatores diferentes, ou seja, um pra ser realizada a hidrólise e outro para a fermentação, diminuindo assim os custos.

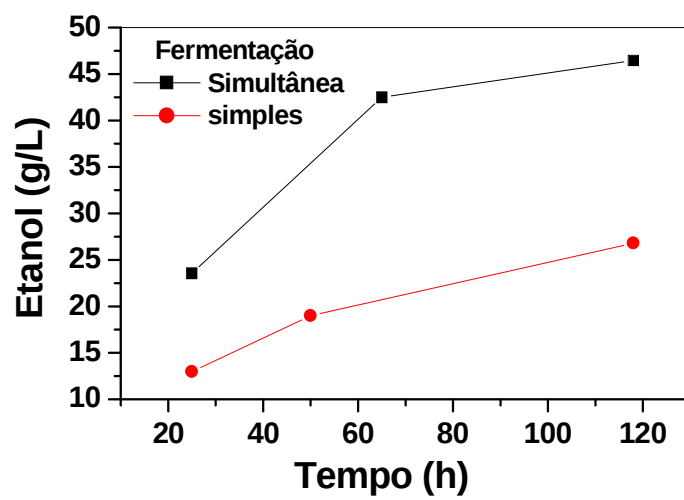


Figura 25 - Comparação entre hidrólise simples e simultânea.
Fonte: Elaborada pela autora.

6 CONCLUSÕES

O sorgo sacarino é uma biomassa com elevado potencial para a produção de etanol de primeira e segunda geração, devido ao curto ciclo de cultivo, e produção de açúcares fermentescíveis de origem do caldo bem como da hidrólise do bagaço;

O pré-tratamento, com reagentes básicos e explosão por vapor em baixa pressão e temperatura, foi eficiente na remoção de lignina, deixando exposta a celulose para o ataque enzimático;

A fermentação simultânea mostrou-se a melhor rota para obtenção do etanol, de acordo com a metodologia proposta;

O método utilizado para a análise de açúcar total redutor não se mostrou vantajoso em comparação ao usado com equipamento específico, isso foi possível perceber comparando os resultados pelo gráfico de hidrólise;

São necessários estudos mais detalhados para a determinação de viabilidade econômica da obtenção do etanol a partir do bagaço do sorgo, utilizando-se a metodologia proposta neste estudo.

REFERÊNCIAS

- ALCARDE, A. R. Fermentação. **Ageitec, Brasília**, 2011. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/canadeacucar/arvore/CONTAG01_maio_22122006154841.html>. Acesso em: 26 nov. 2013.
- ALMEIDA, C. L. **Etanol celulósico: obtenção do álcool de madeira**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2012. 25 dispositivos. Disponível em: http://www.ppgea.ufc.br/arquivos_download/Etanol%20Celulosico.pdf>. Acesso em: 25. set. 2013.
- ANTCZAK, M.S.etal.Enzymaticbiodiesel synthesis-key factors affecting efficiencyoftheprocess. **Renewable Energy**, Oxford, v. 34, n. 5, p. 1185-1194, maio, 2009. Disponível em:<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096014810800431X>>.Acesso em: 11 nov.2013.
- BALAT, M.; BALAT, H.; ÖZ, C. Progress in bioethanol processing.**Progress in Energy andCombustionScience**. v. 34, n. 25, p. 551-553, 2008. Disponível em: <<http://www.biotech.lu.se/fileadmin/biotechnik/Utbildning/Kurser/KKKA05/ProgressETOHprocess.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2013.
- BNDES et al. Bioetanol de cana-de-açúcar Energia para odesenvolvimento sustentável: resumo executivo. **Bioetanol**, 2008.Disponível:<http://www.bioetanoldecana.org/pt/download/resumo_executivo.pdf>Acesso em: 25 set. 2013.
- BRASIL. Ministério de Minas e Energia. SecretariadePetróleo,GásNaturaleCombustíveisRenováveis. Departamento de Combustíveis Renováveis. **Boletim mensal dos combustíveis renováveis**. 63. ed. maio. 2013. Disponível em: <<http://www.biomercado.com.br/imagens/publicacao/arquivo57.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2013.
- BUCKERIDGE, M. S., SANTOS, W. D., SOUZA, A. P. As rotas para o etanol celulósico no Brasil.**Apta**, [2013?]. Disponível em: <<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:2taz3Y6AskJ:www.apta.s.p.gov.br/cana/coletanea/Buckeridge%255B1%255D.doc+&cd=1&hl=ptBR&ct=clnk&gl=br&client=firefox-a>>. Acesso em 04 out. 2013.
- CALADO, V. M. N., DILLON, A. J.P., SALGUEIRO, A. M. Produção de celulasas por linhagens de Humicolagrisea sob cultivo submerso. 2007. Disponível em: <http://www.unicap.br/revistas/revista_e/artigo3.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2013
- CASTRO, A. M. **Produção e propriedades de celulasas de fungos filamentosos, obtidas a partir de celulignina de bagaço de cana-de-açúcar Saccharum spp.** 2006. 212 f. Dissertação (Mestrado emTecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de

Janeiro, RJ, 2006. Disponível em:
<http://teses.ufrj.br/EQ_M/AlineMachadoDeCastro.pdf>. Acesso em: 12 set. 2013.

CHERUBIN, R. A. **Efeitos da viabilidade da levedura e da contaminação bacteriana na fermentação alcoólica**. 2003. 124 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Microbiologia Agrícola)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2003. Disponível em:
<<http://mcdesinfeccaoindustrial.com.br/Site/biblioteca/EFEITO%20DA%20VIAB%20DA%20LEVED%20E%20DA%20CONTAMINA%C3%87OA%20BACT%20NA%20FERMENTA%C3%87O%20-RUDIMAR.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2013.

CINELLI, B. A. **Produção de etanol a partir da fermentação simultânea à Hidrólise do amido granular de resíduo agroindustrial**. 2012. 183 F. Dissertação (mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ, 2012. Disponível em:
<http://objdig.ufrj.br/60/teses/coppe_m/BernardoAlvesCinelli.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2013.

DAMASCENO, C. M. B. Genômica do sorgo sacarino e análise de marcadores genéticos moleculares para características de interesse agrônomo e industrial. **Embrapa Agroenergia**, Brasília, v.2, n. 3, p. 10-11, 2011. Disponível em:
<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/56043/1/BolfeAgroeRevis.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2013.

DUPONTE. **Accellerase® 1500: Cellulase enzyme complex for lignocellulosic biomass hydrolysis**: catálogo. Estados Unidos. [2010?]. Disponível em:
http://accellerase.dupont.com/fileadmin/user_upload/live/accellerase/documents/DUP-00413_ProdSheet_1500_web.pdf>. Acesso em: 10 out. 2013.

FEDERAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DO ESTADO DO PARANÁ (FIEP). Cadeia Produtiva do Setor Sucroalcooleiro. **Fiep**, [2013?]. Disponível em:
<[http://www.fiepr.org.br/fomentoeddesenvolvimento/cadeiasprodutivas/uploadAddress/sucroalcooleiro\[19592\].pdf](http://www.fiepr.org.br/fomentoeddesenvolvimento/cadeiasprodutivas/uploadAddress/sucroalcooleiro[19592].pdf)>. Acesso em: 10 out. 2012.

GOMES. A.; RODRIGUES. D.; OLIVEIRA. P. Caracterização do sorgo para a produção de etanol. **Embrapa Agroenergia**, Brasília, v. 2, n. 3, p. 26, ago. 2011. Disponível em:
<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/56043/1/BolfeAgroeRevis.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2013.

História do etanol. **SIAMIG**, [2013?]. Disponível em:
<http://www.siamig.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=79&Itemid=77>. Acesso em: 25 set. 2013.

Internacional Energy Agency (IEA). 2008. Disponível em: <<http://www.geografiaparatodos.com.br>>. Acesso em: 25 set. 2013.

LIMA, U.A. et al (Coord). **Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. São Paulo, Edgard Blucher, 2001. 593 p.

LIMAYEM, A.; RICKE, S.C. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. **Progress in Energy and Combustion Science**. V. 38, 2012. Disponível em: <http://kfrserver.natur.cuni.cz/studium/prednasky/vyberclanku/pdf/p68_ucit/7_LIMAYEM.pdf>. Acesso em: 4 out. 2013.

MACEDO, I. C. Situação atual e perspectivas do etanol. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 21, n. 59, p. 157-165, jan. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ea/v21n59/a11v2159.pdf>>. Acesso em: 04 out. 2013.

MACHADO, C. M. M. Produção de etanol de sorgo sacarino. Embrapa Agroenergia, Brasília, v. 2, n. 3, p. 27-28, 2011. Disponível em: <http://www.cnpae.embrapa.br/imprensa/agroenergiaemrevista/AgroenergiaEmRevista_ed03.pdf>. Acesso em: 15 out. 2013.

MAICHE, R.; HUBER, C. Desenvolvimento da produção e pesquisa de bioetanol nos Estados Unidos: um enfoque nas rotas bioquímicas. **Revista Thema**, Pelotas, v. 7, n. 2, 2010. Disponível em: Acesso em: <<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:lwn2UZVhbLYJ:revistathema.ifsul.edu.br/index.php/thema/article/viewFile/29/24+&cd=1&hl=en&ct=clnk&gl=br>>. Acesso em: 14 out. 2013.

MARTINS, L. F. **Caracterização do complexo celulásico de *Penicillium echinulatum***. 2005. 121 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, SP, 2005. Disponível em: <http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/8807/Disserta%C3%A7%C3%A3o_Leonardo_vers%C3%A3o_final_segura.pdf?sequence=1>. Acesso em: 26 out. 2013.

MOSIER, N. et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, Texas, v. 96, n. 6, p. 673-686, jun, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852404002536>>. Acesso em: 11 nov. 2013.

MURPHY, J.D., MCCARTHI, K. Ethanol production from energy crops and wastes for use as transport fuel in Ireland. **Applied Energy**, n. 82, p. 148-166, out, 2009. Disponível em: <<http://aoatools.aua.gr/pilotec/files/bibliography/Ethanol%20pdn%20from%20energy%20crops%20&%20wastes%20for%20use%20as%20transport%20fuel%20in%20Ireland1662640128/Ethanol%20pdn%20from%20energy%20crops%20&%20wastes%20for%20use%20as%20transport%20fuel%20in%20Ireland.pdf>>. Acesso em: 5 out. 2013.

OLIVEIRA, E. C. **Balanço energético na produção de álcool da cana-de-açúcar: comparativo com a produção Norte Americana de etanol por meio da utilização de milho**. Dourados: Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2010. Disponível em: <http://www.uems.br/porta/biblioteca/repositorio/2012-06-18_18-31-21.pdf>. Acesso em: 5 out. 2013.

RABELO, C. D. **Avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração.** 2010. 447 f. Tese (Doutorado de Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2010. Disponível em: <<http://pct.capes.gov.br/teses/2010/33003017034P8/TES.PDF>>. Acesso em 23 out. 2013.

ROSA, S. E. S., GARCIA, J. L F., 2009. O etanol de segunda geração: limites e oportunidade. **Revista do BNDES**, v. 32, 2009. Disponível em: <http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/revista/rev3204.pdf>. Acesso em: 5 out.2013.

SANTOS, D. S. **Produção de etanol de segunda geração por Zymomonas mobilis naturalmente ocorrente e recombinante, empregando biomassa lignocelulósica.** 2012. 218 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2012. Disponível em: <<http://tpqb.eq.ufrj.br/download/etanol-de-2a-geracao-por-zymomonas-mobilis.pdf>>. Acesso em: 25 out. 2012.

SILVA, O. G. **Produção de etanol com a utilização do bagaço de cana-de-açúcar.** 2010. 45 f. Trabalho (Graduação em Tecnologia em Biocombustíveis) - Faculdade de Tecnologia de Araçatuba, Araçatuba, SP, 2010. Disponível em: <<http://www.fatecaracatuba.edu.br/suporte/upload/Biblioteca/BIO%2017701020012.pdf>>. Acesso em: 04 out.2013.

SILVA, V. F. N. **Estudos de pré-tratamento e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapas no processo de obtenção de etanol celulósico.** 2009. 116 f. Dissertação (Mestre em Ciências Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Conversão de Biomassa) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2009. Disponível em: <http://bd.eel.usp.br/tde_arquivos/2/TDE-2003-03-07T182126Z-129/Publico/BID09005.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2013.

Sorgo Sacarino tem vantagens que o diferenciam da cana de açúcar. **Ceres sementes**, 2010. Disponível em: <<http://www.ceres.net/ceressementes/Etanol/Etanol-Vantagens.html>>. Acesso em 11 out. 2013.

SOUZA, C. C. et al. Produtividade do Sorgo granífero cv. sacarino e qualidade de produtos formulados isoladamente ou combinados ao caldo de cana-de-açúcar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.25, n.3, p. 512-517, jul./set., 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n3/27020.pdf>>. Acesso em 10 out. 2013.

SUN, Y.; CHENG, J. **Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review.** Bioresource Technology, v. 83, n. 1, p. 1-11, 2002. Disponível em: <http://stl.bee.oregonstate.edu/courses/ethanol/restricted/suncheng2002.pdf>. Acesso: 10 nov. 2013.

TEIXEIRA, C. G., JARDINE, J. G., BEISMAN, D. A. Utilização do Sorgo sacarino como matéria-primacomplementar à cana-de-açúcar para obtenção de etanol emmicrodestilaria. **Ciência e Tecnologia de alimentos**. Campinas, v17, 1997. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010120611997000300011&script=sci_arttext> . Acesso em: 04 out. 2013.

TEIXEIRA, L. P. B.; CARNEIRO, R. A. F. Bioetanol: novos rumos e os desafios de sua regulação. **Diálogos**, Maringá, v.3, n. 1, p. 59-72, jan./jun. 2013. Disponível em: <<http://www.fatecpiracicaba.edu.br/revista/index.php/bioenergiaemrevista/article/view/78/pdf.>>. Acesso em: 15 out. 2013.

WOLF, L. D. **Pré-tratamento organossolve do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol e obtenção de xilooligômeros**. 2011. 147 f.Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 2011. Disponível em:<http://www.bdt.d.ufscar.br/htdocs/tedeSimplificado//tde_busca/arquivo.php?codArquivo=4127>. Acesso em: 15 nov. 2013.