



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E AMBIENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

ADRIANA GUIMARÃES COSTA

**ESTRATÉGIAS DE PRÉ-TRATAMENTOS PARA A PRODUÇÃO DE METANO A
PARTIR DOS RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS DOS BIOCOMBUSTÍVEIS**

FORTALEZA

2013

ADRIANA GUIMARÃES COSTA

**ESTRATÉGIAS DE PRÉ-TRATAMENTOS PARA A PRODUÇÃO DE METANO A
PARTIR DOS RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS DOS BIOCOMBUSTÍVEIS**

Tese apresentada a Coordenação do Curso de
Doutorado do Programa de Pós-graduação em
Engenharia Civil Área de Concentração:
Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. André Bezerra dos
Santos

Co-orientador: Dr. Renato Carrhá Leitão

FORTALEZA

2013

ADRIANA GUIMARÃES COSTA

ESTRATÉGIAS DE PRÉ-TRATAMENTOS PARA A PRODUÇÃO DE METANO A
PARTIR DOS RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS DOS BIOCOMBUSTÍVEIS

Tese apresentada a Coordenação do Curso de
Doutorado do Programa de Pós-graduação em
Engenharia Civil Área de Concentração:
Saneamento Ambiental.

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. André Bezerra dos Santos (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Renato Carrhá Leitão (Coorientador)
Embrapa Agroindústria Tropical

Dra. Morsyleide de Freitas Rosa
Embrapa Agroindústria Tropical

Dr. Alexandre Colzi Lopes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Adrianus Cornelius van Haandel
Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

A meus pais Edir e Alice (in memoriam) e meus
filhos Enzo e Eloísa.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter acompanhado meus passos nesta jornada e por me amparar sempre;

À minha família, por torcerem pelo meu sucesso e incentivar a minha escolha;

Aos meus filhos Enzo e Eloisa pela compreensão pelos muitos momentos de ausência;

Aos meus pais que dedicaram suas vidas à minha educação e minha felicidade, sempre me dando muito amor, confiança e força. Em especial ao meu pai, Edir, por ter ficado ao meu lado sempre, principalmente nos momentos mais difíceis;

Aos meus irmãos, Cristina, Silvana, Bruna e Vitor, pelo apoio, amizade e amor;

Ao meu marido, Vicente Saboia, pelo amor, companheirismo, incentivo e colaboração na execução do trabalho;

Ao Departamento de Hidráulica e Saneamento da Universidade Federal do Ceará pela oportunidade de realização do doutorado;

Aos meus orientadores, em especial ao Dr. Renato Carrhá Leitão, pela oportunidade e dedicação na orientação deste trabalho e pelo apoio e compreensão nos momentos mais angustiantes;

Ao curso e aos professores da pós-graduação pelos auxílios prestados;

A Embrapa Agroindústria Tropical por disponibilizar recursos humanos e financeiros, bem como o espaço do Laboratório de Tecnologia da Biomassa;

As pesquisadoras Morsyleide de Freitas Rosa e Sandra Tédde Santaella pelo apoio financeiro;

As queridas bolsistas de iniciação científica da Embrapa e do IFCE, Gleyciara e Gleycielle, pela sua incansável colaboração em todos os momentos de realização deste trabalho;

Aos pesquisadores da Embrapa, Gustavo, João Paulo e Men de Sá pela colaboração sempre que necessária;

A toda equipe do Laboratório de Tecnologia da Biomassa, em especial a Lílian, Alex, Ana Cassales, Diego, Nágila e Rayanne pelos ensinamentos e colaboração;

Aos professores membros da banca de qualificação, pela disposição em corrigir este trabalho; que enriqueceram o trabalho com suas sugestões;

A Chefa de Departamento da Área de Química e Meio Ambiente do IFCE, Profa. Ms.C. Maria Lucimar Maranhão pelo apoio durante todo o período de desenvolvimento desta pesquisa;

Enfim, a todos que direta ou indiretamente tornaram possível o cumprimento de mais esta etapa.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivos avaliar a biodegradabilidade anaeróbia e o potencial de produção de metano (PPM) de três resíduos lignocelulósicos proveniente da cadeia produtiva do biocombustível (fibra do mesocarpo do dendê - FMD), (bagaço de cana-de-açúcar - BCA) e línter de algodão tipo 4 - (LA4). Para tanto, empregou-se três diferentes tipos de pré-tratamentos físico-químicos (hidrólise hidrotérmica, hidrólise ácida e hidrólise alcalina), onde foram usados diversos tempos de reação, temperaturas, razões massa/volume e concentrações de ácido ou álcali, de forma a buscar o melhor método para facilitar a digestão anaeróbia do material. Os pré-tratamentos foram avaliados usando-se planejamento fatorial multivariado 2^2 ou 2^3 , com ponto central em triplicata. O PPM e a biodegradabilidade anaeróbia obtidos com FMD, BCA e LA4 sem pré-tratamento foram, respectivamente, 77,8, 35,6 e 165,3 L CH₄/kg substrato e 8,7, 4,4 e 24,1%. Os resultados obtidos com a FMD mostraram que o melhor PPM (199 L CH₄/kg substrato) foi obtido utilizando o pré-tratamento ácido com [HCl] de 1,97 M, durante 34 min, a 103 °C, o qual promoveu 19% de biodegradabilidade. A digestão anaeróbia do BCA é mais beneficiada quando se utiliza hidrólise hidrotérmica (10 min, 200 °C), resultando em PPM de 199 LCH₄/kg Subst. e biodegradabilidade anaeróbia de 27,4%. Os melhores resultados de PPM e biodegradabilidade do LA4 foram de 397,1 L CH₄/kg Subst e 49,1%, obtidos com o pré-tratamento ácido ([HCl] 1M, 136 °C, 20 min). Apesar dos diversos pré-tratamento causarem aumento significativo da hidrólise anaeróbia destes resíduos lignocelulósicos, a energia gerada a partir do metano (FMD = 6,9 MJ/kg Subst.; BCA = 6,8 MJ/kg Subst. e LA4 = 13,2 MJ/kg Subst.) foi menor do que a obtida por uma eventual queima direta da fibra (FMD = 9,6 MJ/kg Subst.; BCA = 7,2 MJ/kg Subst. e LA4 = 17,3 MJ/kg Subst. – na forma de briquete). Uma alternativa é utilizar o pré-tratamento alcalino para reaproveitamento da lignina extraída, além da geração de energia. Desta forma, pode-se extrair até 91% da lignina presente em FMD e 80% em BCA, que pode ser utilizada na indústria química em geral, e gerar 180 e 313,4 L CH₄/kg de FMD e BCA hidrolisados, respectivamente. Estes valores são suficientes para gerar 6,2 e 11,2 MJ/kg Subst, respectivamente.

Palavras-chave: biodegradabilidade anaeróbia, hidrólise, lignina, pré-tratamento, resíduo lignocelulósico.

ABSTRACT

This study aimed the evaluation of the anaerobic biodegradability and methane production potential (MPP) of three lignocellulosic wastes derived from the biofuels production chain: palm oil mesocarp fiber (PMF), sugarcane bagasse (SCB) and cotton linter type 4 (CL4). Three different types of physico-chemical pretreatments were used (hydrothermal hydrolysis, acid hydrolysis and alkaline hydrolysis), which were evaluated based on the solubilisation of sugars or extraction of lignin. Different reaction times, temperatures, mass/volume ratios, and concentrations of acid or alkali were used for seeking the best pretreatment that improves the anaerobic digestion of the material. The data of the pretreatments were analysed using multivariate factorial design 2^2 or 2^3 , with the central point in triplicate (level 0) and six star-points (when necessary). The MPP and anaerobic biodegradability obtained with PMF, SCB and CL4 without pretreatment were, respectively, 77.8, 35.6 and 165.3 L CH₄/kg substrate and 8.7, 4.4 and 24.1%. The results obtained with the PMF showed that the best MPP (199 L CH₄/kg substrate) was obtained using acid hydrolysis with [HCl] of 1.97 M, during 34 min, at 103 ° C, which promoted 19% of biodegradability. Anaerobic digestion SCB is improved when using hydrothermal hydrolysis (10 min, 200 °C) resulting in a MPP of 199 L CH₄/kg substrate and an anaerobic biodegradability of 27.4%. The best results of CL4 were MPP of 397.1 L CH₄/kg substrate and biodegradability of 49.1% obtained with acid hydrolysis ([HCl] of 1 M, 136 °C, 20 min). Despite the several pretreatment cause significant increase in the anaerobic hydrolysis of these lignocellulosic wastes, the power generated from methane (PMF = 6.9 MJ/kg Subst, SCB = 6.8 MJ/kg Subst, CL4 = 13.2 MJ/kg Subst.) were lower than that obtained by the eventual direct combustion of the fibre (PMF = 9.6 MJ/kg Subst, SCB = 7.2 MJ/kg Subst, CL4 = 17.3 MJ/kg Subst. CL4 in the form of briquette). An alternative is to use the alkaline hydrolysis for extracting lignin and further use in the chemical industry, as well as for power generation. The results show that it is possible to extract up to 91% of the lignin present in the PMF and 80% in the SCB, which can generate up to 180 and 313.4 L CH₄/kg of the hydrolysed PMF and SCB, respectively. These values are sufficient to produce 6.2 and 11.2 MJ/kg Subst, respectively.

Keywords: anaerobic biodegradability, hydrolysis, lignin, pretreatment, lignocellulosic waste.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Fluxograma do processamento de cana-de-açúcar para a produção de etanol, com o uso dos subprodutos líquido e sólido para a geração de energia elétrica.	9
Figura 2:	Fluxograma de massa na extração de óleo de palma e palmiste	12
Figura 3:	Fluxograma de extração de óleo da semente do algodão	15
Figura 4:	Princípios para ensaios de biodegradabilidade.....	17
Figura 5:	Diagrama da degradação anaeróbia da celulose por comunidades microbiana em solos e sedimentos de água doce.	19
Figura 6:	Esquema da hidrólise da celulose e da ação das CBHs, EGs, e β -glicosidasas (β -gluc) de <i>Trichoderma reesei</i>	20
Figura 7:	Estrutura dos três álcoois constituintes da lignina (ciclos OH – hidroxibenzilo; G – guaiacilo; S – siringilo).....	23
Figura 8:	Esquema da hidrólise de materiais lignocelulósicos e degradação dos açúcares.	30
Figura 9:	Alterações estruturais na microfibrila celulósica definidas pelo pré-tratamento com ácido diluído.	32
Figura 10:	Produtos resultantes da decomposição dos açúcares, a partir dos monossacarídeos em meio ácido.	36
Figura 11:	Transformação do furfural em álcool furfurílico.	37
Figura 12:	Esquema dos testes de pré-tratamentos físico-químicos, caracterização dos diferentes hidrolisados e ensaio de biodegradabilidade.....	42
Figura 13:	Liofilizador L202 LIO TOP (a) e Moinho de facas Tecnal-TE modelo 058 (b).	43
Figura 14:	Bagaço de cana-de-açúcar (a) bruto e (b) moído e peneirado.....	44
Figura 15:	Fibra do mesocarpo de dendê (a) bruto e (b) moído e peneirado.....	44
Figura 16:	Línter de algodão (a) bruto e (b) moído e peneirado.....	45

Figura 17:	Mini-reator de alta pressão (Berghof modelo BR-300, 40 bar) utilizado no pré-tratamento termoquímico dos resíduos agroindustriais.	45
Figura 18:	Fibra do mesocarpo do dendê moída (a), hidrolisado dos pré-tratamentos ácido (b) e alcalino (fração líquida (c) e sólida (d)).	48
Figura 19:	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (Varian, modelo 450 CG).	49
Figura 20:	Respirômetro anaeróbio Micro-Oximax, adaptado para os ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.	54
Figura 21:	Diagrama de Pareto dos ensaios de hidrólise hidrotérmica da FMD, com os efeitos de T, t e m/v em P_{GRT}	57
Figura 22:	Perfis de difração de raios-X da FMD antes (a) a após (b) hidrólise hidrotérmica.	59
Figura 23:	Diagrama de Pareto dos ensaios de hidrólise ácida da FMD, com os efeitos de T, t e [HCl] relacionados ao P_{GRT}	61
Figura 24:	Superfície de resposta de acordo com a Equação (22), que descreve a produção específica de açúcares provenientes da hidrólise ácida da FMD em função de T e [HCl] para t = 34 min.	62
Figura 25:	Perfis de difração de raios-X da FMD antes (a) a após (b) hidrólise ácida.	63
Figura 26:	Gráfico dos efeitos de T, t e [NaOH] relacionados ao P_{GRT} para os ensaios de hidrólise ácida da FMD.	65
Figura 27:	Superfície de resposta de acordo com a Equação (23), que descreve a remoção da lignina contida na FMD como função de T e [NaOH] (t=47 min).	66
Figura 28:	Perfis de difração de raios-X da FMD antes (a) a após (b) hidrólise alcalina.	67
Figura 29:	Diagrama de Pareto dos ensaios do pré-tratamento hidrotérmico do BCA, com os efeitos de T e t relacionados ao P_{GRT}	71
Figura 30:	Perfis de difração de raios-X do BCA antes (a) a após (b) hidrólise hidrotérmica.	72

Figura 31:	Diagrama de Pareto dos ensaios do pré-tratamento ácido do BCA, com os efeitos de t, T e [HCl] relacionados ao P_{GRT}	74
Figura 32:	Superfície de resposta de acordo com a Equação (25), que descreve a produção específica de açúcares provenientes do pré-tratamento ácido do BCA em função de T e [HCl] (t=6,4 min).	75
Figura 33:	Perfis de difração de raios-X do BCA antes (a) a após (b) hidrólise ácida.	76
Figura 34:	Diagrama de Pareto dos ensaios de hidrólise alcalina do BCA, com os efeitos de t, T e [NaOH] relacionados ao P_{LIG}	79
Figura 35:	Perfis de difração de raios-X do BCA antes (a) a após (b) hidrólise alcalina.	80
Figura 36:	Superfície de resposta de acordo com a Equação (26), que descreve a remoção de lignina do bagaço de cana-de-açúcar como função de T e t (NaOH=0,8 M).	80
Figura 37:	Diagrama de Pareto dos ensaios do pré-tratamento hidrotérmico do LA4, com os efeitos de T, t e m/v relacionados ao P_{GRT}	84
Figura 38:	Superfície de resposta de acordo com Equação (27), que descreve a produção específica de açúcares provenientes do pré-tratamento hidrotérmico do LA4 de T e t.	85
Figura 39:	Perfis de difração de raios-X das amostras de LA4 antes (a) a após (b) hidrólise hidrotérmica.	86
Figura 40:	Diagrama de Pareto dos ensaios do pré-tratamento ácido do LA4, com os efeitos de T e [HCl] relacionados ao P_{GRT}	89
Figura 41:	Superfície de resposta de acordo com a Equação (28), que descreve a produção específica de açúcares provenientes do pré-tratamento com ácido do LA4 em função de T e [HCl].	90
Figura 42:	Perfis de difração de raios-X das amostras de LA4 antes (a) a após (b) hidrólise ácida.	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição média do biogás gerado a partir de alguns resíduos.....	7
Tabela 2: Poder Calorífico Inferior de diferentes gases.....	8
Tabela 3: Equivalência energética do biogás em relação a outros combustíveis.	8
Tabela 4: Composição química do bagaço da cana-de-açúcar.	10
Tabela 5: Composição química da fibra do mesocarpo do dendê.....	12
Tabela 6: Composição química do línter.....	14
Tabela 7: Diferenças entre hemicelulose e celulose.....	24
Tabela 8: Resultados de pesquisas com pré-tratamento físico-químico de material lignocelulósicos.	27
Tabela 9: Efeito inibitório da concentração de açúcares.	38
Tabela 10: Fatores e níveis dos diversos pré-tratamentos usados nos experimentos de hidrólise dos substratos.....	47
Tabela 11: Avaliação da hidrólise hidrotérmica como pré-tratamento da FMD.	57
Tabela 12: Avaliação da hidrólise ácida como pré-tratamento da FMD.....	61
Tabela 13: Avaliação da hidrólise alcalina como pré-tratamento da FMD.....	64
Tabela 14: Resultados dos ensaios biodegradabilidade anaeróbia e PPM da FMD.....	68
Tabela 15: Avaliação da hidrólise hidrotérmica como pré-tratamento do BCA.....	70
Tabela 16: Avaliação da hidrólise ácida como pré-tratamento do BCA.....	74
Tabela 17: Avaliação da hidrólise alcalina como pré-tratamento do BCA.	78
Tabela 18: Resultados dos ensaios biodegradabilidade anaeróbia e PPM do BCA.....	81
Tabela 19: Avaliação da hidrólise hidrotérmica como pré-tratamento do LA4.....	83
Tabela 20: Avaliação da hidrólise ácida como pré-tratamento do LA4.	88
Tabela 21: Resultados dos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia e PPM do LA4.	92

LISTA DE SIGLAS

AFEX	explosão de fibra com amônia
AGV	ácidos graxos voláteis
AME	atividade metanogênica específica
ANEEL	Agência Nacional de Energia Elétrica do Brasil
BCA	bagaço de cana-de-açúcar
Bio (%)	biodegradabilidade da amostra
BRN	bactérias redutoras de nitrato
BRS	bactérias redutoras de sulfato
B5	5% de biodiesel
C	região cristalina
CBH	celobiohidrolase
COD^0_{Subst}	massa inicial de substrato em termos de DQO
%Cel	percentual de celulose no material bruto
CNPE	Conselho nacional de política energética
CO_A	Condição ótima adotada
CO_E	Condição ótima experimental
CO_M	Condição ótima estabelecida pelo modelo
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
COV	carga orgânica volumétrica
COT	carbono orgânico total
HPLC	<i>high-performance liquid chromatography</i>
DNS	ácido 3,5-dinitrossalicílico
DQO	demanda química de oxigênio
$DQO^{30}_{CH4Subst}$	volume total de metano produzido no frasco contendo substrato, em termos de DQO
$DQO^{30}_{CH4controle}$	volume total de metano produzido no frasco controle, em termos de DQO
$DQO^{30}_{DissControle}$	massa de matéria orgânica dissolvida no recipiente de controle após 30 dias em termos de DQO

$DQO_{DissSubst}^{30}$	massa de matéria orgânica dissolvida no frasco contendo o substrato, após 30 dias em termos de DQO
DQO_{Frasco}	DQO à ser adicionada no frasco (g/kg)
DQO_{Liq}	DQO da fração líquida
DQO_{Sol}	DQO da fração sólida
DQO_{Total}	DQO total do substrato
DQO_{Total}^0	concentração do total de substrato acrescentado, em DQO, em $t = 0$ no reator contendo substrato.
EG	endoglicanase
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
F_B	fibra bruta
FCC	fator de conversão da celulose
FCH	fator de conversão da hemicelulose
FMD	fibra do mesocarpo do dendê
FPC	fator de perda por hidrólise da celulose
FPH	fator de perda por hidrólise da hemicelulose
G	guaiacilo
GLP	gás liquefeito do petróleo
GP	grau de polimerização
GRT	grupos redutores totais
[GRT]	concentração de açúcares do grupo redutores totais
[HCl]	concentração de ácido clorídrico
H(%)	eficiência de hidrólise (%)
%Hem	percentual de hemicelulose no material bruto
Hid	hidrolisado
HMF	5-hidroximetilfurfural
%Hol _{SB}	percentual de holocelulose no substrato bruto
$I_{(002)}$	pico de intensidade de máxima difração
$I_{(am)}$	pico de intensidade de fração do material amorfo
I_c	índice de cristalinidade
LA4	líter do algodão tipo 4
Lig	lignina

[Lig]	concentração de lignina no substrato hidrolisado
%Lig	percentual de lignina contida no substrato bruto
%Lig _{Hid}	percentual de lignina no hidrolisado com base na massa de material hidrolisado
%Lig _{Hid_MSB}	percentual de lignina no hidrolisado com base na massa de substrato bruto
%Lig _{MB}	percentual de lignina no hidrolisado com base na massa de substrato hidrolisado
logRo'	fator de severidade
logro''	fator de severidade
M _{GRT}	massa de GRT contida no substrato hidrolisado
m _{hid_seco}	massa de substrato hidrolisado seco
M _{GRT_Max}	massa total de açúcares
M _{Liq}	massa da fração líquida do hidrolisado
M _{Lig_Hid}	massa de lignina contida no substrato hidrolisado
M _{Lig_subst}	massa de lignina contida no substrato bruto
m _{seco}	massa de substrato bruto seco
M _{Sol}	massa referente à fração de sólido do hidrolisado
M _{Subst}	massa inicial de substrato no frasco
M _{Total}	massa total da solução após a hidrólise
m/v	razão massa do substrato pelo volume da solução
η _{GRT}	eficiência de conversão em GRT
η _{Lig}	eficiência de solubilização da lignina contida no substrato bruto
PC	ponto central
PCI	poder calorífico inferior
P _{GRT}	produção específica de açúcares fermentescíveis
pH	potencial hidrogeniônico
P _{Lig}	produção específica de lignina
POME	<i>palm oil mill effluent</i>
PBM	potencial bioquímico de metano
PPM	potencial de produção de metano
PPM _{Hid}	potencial de produção de metano do hidrolisado

PPM_{Total}	potencial de produção de metano total
PROINFA	Programa de Incentivo às Fontes Alternativas de Energia Elétrica
NPK	nitrogênio-fósforo-potássio
NR	grupos terminais não redutores
R	grupos terminais redutores
$\%r_{Hid}$	rendimento de hidrólise
R_o	fator de severidade
RSU	resíduos sólidos urbanos
T	temperatura
t	tempo
TAPPI	Technical Assn of the Pulp and Paper Industry
TDH	tempo de detenção hidráulica
S	siringilo
Sev.	severidade
SF	sólidos fixos
ST	sólidos totais
SV	sólidos voláteis
Subst	substrato
$V_{CH4Subst}^{30}$	volume total de metano produzido após 30 dias, no reator contendo substrato
$V_{CH4Controle}^{30}$	volume total de metano produzido após 30 dias no reator de controle (sem substrato)
V_{Hid}	volume final do substrato hidrolisado após o experimento

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
1.1.	Caracterização do problema.....	1
1.2.	Hipótese	4
1.3.	Organização e escopo do trabalho.....	4
2.	OBJETIVOS	5
2.1.	Objetivo geral.....	5
2.2.	Objetivos específicos.....	5
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
3.1.	Biocombustível - Metano.....	6
3.2.	Resíduos decorrentes da produção de biocombustíveis	8
3.2.1.	Bagaço da cana	9
3.2.2.	Fibra do Mesocarpo do dendê.....	11
3.2.3.	Línter.....	13
3.3.	Biodegradabilidade anaeróbia e Potencial de Produção de Metano do material lignocelulósico	16
3.4.	Digestão anaeróbia de materiais lignocelulósicos	18
3.5.	Fatores que afetam a biodegradabilidade do material lignocelulósico.....	21
3.6.	Pré-tratamento do material lignocelulósico	23
3.6.1.	Pré-tratamento físico.....	25
3.6.2.	Pré-tratamento físico-químico	26
3.7.	Toxicidade anaeróbia	35
3.8.	Fator de severidade.....	38
3.9.	Considerações Gerais	40
4.	MATERIAL E MÉTODOS	42

4.1.	Descrição da Pesquisa.....	42
4.2.	Substratos	43
4.2.1.	Bagaço de cana-de-açúcar	43
4.2.2.	Fibra do mesocarpo do dendê	44
4.2.3.	Línter do algodão (tipo 4)	45
4.3.	Pré-tratamentos físico-químicos.....	45
4.4.	Análises Laboratoriais.....	48
4.5.	Cálculo de hidrólise	49
4.6.	Massa de Substrato para o Ensaio de Biodegradabilidade.....	52
4.7.	Biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano	53
4.8.	Índice de Cristalinidade	55
4.9.	Fator de severidade.....	55
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
5.1.	Fibra do Mesocarpo do Dendê.....	56
5.1.1.	Composição química da FMD	56
5.1.2.	Pré-tratamento hidrotérmico da FMD	56
5.1.3.	Pré-tratamento Ácido da FMD	60
5.1.4.	Pré-tratamento alcalino da FMD	63
5.1.5.	Biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano da FMD	67
5.2.	Bagaço de Cana-de-açúcar.....	70
5.2.1.	Composição Química do BCA	70
5.2.2.	Hidrólise hidrotérmica do BCA.....	70
5.2.3.	Hidrólise ácida do BCA.....	73
5.2.4.	Pré-tratamento alcalino do BCA.....	77

5.2.5. Biodegradabilidade Anaeróbia e Potencial de Produção de Metano obtidos a partir do BCA com e sem pré-tratamentos	81
5.3. Resultados dos Pré-tratamentos do Linter do algodão	82
5.3.1. Composição Química do LA4	83
5.3.2. Hidrólise hidrotérmica do LA4.....	83
5.3.3. Hidrólise ácida do LA4.....	87
5.3.4. Biodegradabilidade Anaeróbia e Potencial de Produção de Metano obtidos a partir do LA4	92
6. DISCUSSÃO FINAL	94
7. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	97
8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	99

1. INTRODUÇÃO

1.1. *Caracterização do problema*

O desenvolvimento não pautado nos preceitos da sustentabilidade e a exploração excessiva dos combustíveis fósseis, bem como a perspectiva de aumento do preço do petróleo, vêm motivando esforços para desenvolver fontes alternativas de energia. Energias renováveis são cada vez mais utilizadas como importantes instrumentos para realização de políticas, de modo a garantir fundamentalmente a sustentabilidade do sistema energético (ARREDONDO, 2009). Nesse contexto, os biocombustíveis tais como o etanol, biodiesel e biogás podem diminuir o uso de combustíveis fósseis e, conseqüentemente, minimizar os impactos ambientais. Como exemplo tem-se a adição de 5% de biodiesel (B5) ao diesel que passou a vigorar em 1º de janeiro de 2010 com base na Resolução nº 6 do Conselho Nacional de Política Energética CNPE, de 16 de setembro de 2009 (BRASIL, 2009).

Apesar dos biocombustíveis terem surgido como uma alternativa energética de menor impacto ambiental, os resíduos provenientes desta cadeia produtiva necessitam de destinação apropriada. Segundo o Plano Nacional de Energia 2030, o setor sucroalcooleiro brasileiro é o principal produtor de resíduos agroindustriais no país (BRASIL, 2007).

O Brasil possui uma grande variedade de espécies vegetais que pode ser aproveitadas para a produção de óleos. As culturas do dendê e algodão têm sido apontadas como importantes alternativas para a produção do biodiesel. Mediante a perspectiva de desenvolvimento de um programa de agroenergia utilizando dendê e algodão para a produção de biodiesel, cresce a preocupação com a destinação a ser dada aos subprodutos gerados por essa agroindústria (biomassa lignocelulósica).

O bagaço de cana-de-açúcar representa o resíduo agroindustrial produzido em maior quantidade no Brasil, com uma produção de $79,5 \times 10^6$ t de bagaço na safra de 2012/2013 (CONAB, 2013a). Por outro lado, em virtude da elevada produtividade oleaginosa do dendê, a fibra do mesocarpo do dendê passa também a ser um importante resíduo agroindustrial. Estima-se que a área de plantação de óleo de palma no Brasil foi de aproximadamente 169.300 ha no período 2012/2013 (GLASS, 2013) com uma produção de fibra do mesocarpo correspondente a aproximadamente 569×10^3 t/ano de fibra mesocarpo. Segundo CONAB (2013b) a produção de caroço de algodão nas safras 2012/2013 foi de $10,6 \times 10^6$ t correspondendo a uma produção total de 265×10^3 t de linter, os quais estão disponíveis para

aproveitamento pela indústria. A princípio, os resíduos orgânicos provenientes da cadeia produtiva do biocombustível são parcialmente biodegradáveis anaerobiamente e podem ser usados para produção de energia através do biogás. No entanto por se tratar de um material lignocelulósico, a digestão anaeróbia é limitada pela hidrólise (ANGELIDAKI; SANDERS, 2004). Isto ocorre pela barreira física proporcionada pela lignina e hemicelulose e pela porção cristalina da celulose. Para aumentar a biodegradabilidade e acelerar o processo de hidrólise, faz-se necessário que o material sofra primeiramente um pré-tratamento (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009).

Em decorrência disto, diversos trabalhos têm sido feitos na busca por alternativas de utilização destes resíduos, com o desenvolvimento de novos materiais e energia com vistas a contribuir na redução de custos e agregação de valor nessa cadeia bioenergética.

A produção de energia pela rota metanogênica pode ser uma alternativa mais vantajosa que a produção de álcool. Entretanto, é necessária a utilização de uma sequência de pré-tratamentos físicos, químicos e/ou enzimáticos antes do material ser adicionado em reatores anaeróbios para produção de metano. A vantagem da rota metanogênica sobre a fermentação alcoólica está no fato de que, na primeira, não há necessidade da conversão da celulose e hemicelulose em açúcares, mas apenas uma exposição das fibras celulósicas de maneira a favorecer o ataque enzimático realizado por bactérias hidrolíticas, o que pode implicar em redução de custos com o pré-tratamento. Além disso, o balanço energético da rota metanogênica, no caso da digestão anaeróbia de esgoto doméstico, é mais favorável do que na rota alcoólica.

Diversos pré-tratamentos podem ser utilizados para aumentar a biodegradabilidade dos materiais lignocelulósicos, dentre os quais pode-se destacar: pré-tratamento físico de moagem (PABÓN-PEREIRA, 2009; BRUNI *et al.*, 2010; KELLER *et al.*, 2003) que promove uma redução da cristalinidade do material e aumento da acessibilidade; pré-tratamento alcalino para aumentar a acessibilidade à celulose através da solubilização da lignina (KIM; HAN, 2012; VELMURUGAN; MUTHUKUMAR, 2012; DUQUE *et al.*, 2013); e pré-tratamento com ácido diluído que propicia a solubilização dos açúcares oriundos da celulose e hemicelulose (RODRÍGUEZ-CHONG *et al.*, 2004; GÁMEZ *et al.*, 2006; VÁZQUEZ *et al.*, 2007); pré-tratamento hidrotérmico que, utiliza apenas água em temperaturas elevadas para promover a liberação de ácido acético o qual funciona como catalisador da hidrólise, aumentando a acessibilidade da celulose (PETERSEN *et al.*, 2009; BOUSSARSAR *et al.*, 2009; LASER *et al.*, 2002; DÍAZ *et al.*, 2010). Cada pré-tratamento deve ter seus parâmetros

operacionais estudados (tempo de reação, temperatura, pressão e concentração do catalisador) para maximização da produção de açúcares, aumento de acessibilidade ou remoção de lignina, e minimização da produção de furfural e 5-hidroximetilfurfural (HMF) (PETERSEN *et al.*, 2009; SUN; CHENG, 2002; VÁZQUEZ *et al.*, 2007).

Nesse trabalho, o destaque é dado ao aproveitamento de resíduos relevantes decorrentes da produção do biocombustível, tais como: bagaço da cana-de-açúcar (resíduo da produção do etanol), fibra do mesocarpo do dendê e línter do algodão (resíduos da produção de biodiesel) para produção de energia através do biogás.

De forma mais específica, estes resíduos foram caracterizados e tratados visando potencializar a produção de metano. Buscou-se encontrar a condição operacional mais adequada para produção de açúcares ou remoção de lignina com menor geração de substâncias tóxicas, proporcionando a maior biodegradabilidade anaeróbia. Inúmeras pesquisas com resíduos lignocelulósicos vêm sendo realizadas, dentre elas algumas adotaram como ferramenta estatística o planejamento fatorial multivariado (BARBOSA *et al.*, 2005; CANETTIERI *et al.*, 2004; SARROUH *et al.*, 2005; DÍAZ *et al.*, 2010; KIM; HAN, 2012; VELMURUGAN; MUTHUKUMAR, 2012; DUQUE *et al.*, 2013). Este tipo de ferramenta possibilita a obtenção de dados confiáveis que possam ser utilizados para confirmar, ou não, as hipóteses formuladas, relacionadas aos objetivos específicos de cada pesquisa. Além disso, o planejamento experimental possibilita uma redução do número de ensaios o que implica em redução de tempo e recursos financeiros. Para isto, foram variados os parâmetros temperatura, tempo de reação e concentração dos catalisadores.

Assim, técnicas de pré-tratamento apropriadas foram adotadas conforme a característica da biomassa lignocelulósica estudada. O línter do algodão, por se tratar de um material com baixo teor de lignina e altas concentrações de celulose e hemicelulose, foi submetido apenas à moagem, pré-tratamento hidrotérmico e hidrólise com ácido clorídrico diluído. No caso do bagaço de cana-de-açúcar e da fibra do mesocarpo do dendê, por apresentarem um maior teor de lignina, foram avaliados o pré-tratamento físico por moagem seguido de hidrólise com ácido clorídrico diluído, moagem seguida de hidrólise alcalina (usando NaOH) e moagem seguida de hidrólise hidrotérmica.

1.2. Hipótese

O aumento da biodegradabilidade anaeróbia de materiais lignocelulósicos pode ser alcançado mediante a aplicação de processos adequados de pré-tratamento de maneira a acelerar a etapa de hidrólise do material lignocelulósico, a qual se configura como a limitante da digestão anaeróbia para esse tipo de resíduo.

A energia obtida a partir do metano, após pré-tratamento termoquímico, pode superar a energia obtida apenas pela queima do substrato.

1.3. Organização e escopo do trabalho

Esta tese está estruturada em sete capítulos. Neste capítulo introdutório, são apresentados: caracterização do problema, hipótese e a organização do trabalho. O Capítulo 2 apresenta os objetivos, geral e específico, a serem alcançados ao longo do desenvolvimento da pesquisa. O Capítulo 3 “Revisão Bibliográfica” aborda as principais questões relativas aos biocombustíveis: (i) quantificação dos recursos energéticos mundiais a partir da biomassa residual lignocelulósica proveniente da indústria dos biocombustíveis; (ii) técnicas de pré-tratamento que visam à adequação do material lignocelulósico para produção de energia via metano e (iii) fundamentos da digestão anaeróbia de material lignocelulósico (biodegradabilidade, toxicidade, potencial de produção de metano). Fez-se então uma discussão geral sobre os principais trabalhos realizados junto aos resíduos da cadeia do biocombustível com destaque aos que abordam a produção de biogás, apresentando aspectos econômicos e ambientais.

O Capítulo 4 “Metodologia” faz referência às metodologias utilizadas para a caracterização dos resíduos da cadeia produtiva do biocombustível (fibra do mesocarpo do dendê, bagaço de cana-de-açúcar e línter de algodão (tipo 4)) para os pré-tratamentos avaliados (hidrólise alcalina, hidrólise ácida e tratamento termoquímico), teste de atividade anaeróbia, teste de biodegradabilidade, produção de metano, planejamento fatorial multivariado e tratamento estatístico dos dados.

No Capítulo 5 “Resultados e Discussão”, foram avaliadas diferentes formas de acelerar a hidrólise e melhorar a biodegradabilidade e o potencial de produção de metano dos materiais lignocelulósicos estudados nesta pesquisa. No capítulo 6 foi apresentada uma discussão final englobando os três tipos de resíduos lignocelulósicos estudados.

Por fim no capítulo 7, as conclusões e os pontos de discussão de cada capítulo são integrados e sugestões para futuras pesquisas são dadas.

2. OBJETIVOS

2.1. *Objetivo geral*

Avaliar a biodegradabilidade anaeróbia e o potencial de produção de metano dos resíduos orgânicos provenientes das cadeias produtivas de biocombustíveis: bagaço da cana-de-açúcar, fibra do mesocarpo do dendê e línter do algodão após receberem pré-tratamentos químicos ou termoquímicos.

2.2. *Objetivos específicos*

Avaliar a eficiência dos pré-tratamentos hidrotérmico e ácido em termos hidrólise de polissacarídeos produzindo açúcares solúveis;

Avaliar o pré-tratamento alcalino para maximizar a solubilização da lignina contida no bagaço de cana-de-açúcar e na fibra do mesocarpo do dendê;

Determinar a biodegradabilidade anaeróbia, taxa de hidrólise e o potencial de produção de metano dos resíduos com e sem pré-tratamento;

Aplicar o planejamento fatorial multivariado como ferramenta de otimização dos pré-tratamentos estudados e diminuição do número de experimentos;

Avaliar a influência dos diferentes tipos de pré-tratamentos a serem aplicados aos resíduos orgânicos provenientes da cadeia produtiva do biocombustível sobre a digestão anaeróbia.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo é feito um apanhado geral sobre os principais conceitos norteadores dessa pesquisa, onde se tomou como referência os principais trabalhos desenvolvidos mundialmente relativos aos resíduos decorrentes da produção do biocombustível e seu aproveitamento como biomassa para a produção de energia.

3.1. *Biocombustível - Metano*

O biocombustível surge como uma alternativa altamente promissora pelo fato de estar diretamente associado ao meio ambiente, e por possibilitar, ao contrário dos combustíveis fósseis, a redução qualitativa e quantitativa dos níveis de poluição ambiental. Adicionalmente, busca-se agregar valor aos resíduos agrícolas e agroindustriais pelo potencial que este representa como fonte de energia renovável e, também, pela possibilidade de utilização de fontes alternativas e renováveis de energia em face do esgotamento eminente das fontes naturais, como o petróleo (COUTO *et al.*, 2004). Para Lima (2005), o biocombustível permite que se estabeleça um ciclo fechado de carbono, no qual o CO₂ é capturado pela planta ao crescer e liberado pela queima do combustível. Nos Estados Unidos, um estudo conjunto realizado pelos Departamentos de Energia e de Agricultura mostrou que a combustão do biodiesel promove uma redução em 78% das emissões líquidas de CO₂ (LIMA, 2005).

Dentre as fontes de biomassa para produção do biocombustível, pode-se destacar: biomassa de culturas agrícolas (por exemplo: soja, dendê, milho, arroz e cana-de-açúcar) e produção florestal e extrativa vegetal (por exemplo, eucalipto e pinus) (BRASIL, 2007). Para o setor de transporte, o uso de biocombustíveis promove a redução das emissões de dióxido de carbono (CO₂), redução da dependência do setor elétrico e automotivo dos derivados do petróleo, diversificação e aumento da segurança do abastecimento de combustíveis e, por último, geração de uma nova fonte de renda (DE AZEVEDO; GOLDENSTEIN, 2006).

No entanto, o aumento da produção de biocombustíveis exige estudos aprofundados dos efeitos secundários provenientes da produção de culturas energéticas, tais como: concorrência com culturas alimentícias, aumento da área de monocultura e geração de resíduos. Os principais subprodutos das cadeias produtivas dos biocombustíveis são os materiais lignocelulósicos, que já vêm sendo estudados como matéria-prima alternativa para produção de mais energia (energia de segunda geração) (SANTOS, 2012).

Conforme dados da Agência Nacional de Energia Elétrica do Brasil (ANEEL, 2010), a participação de resíduos na produção de energia elétrica é resumida a cerca de 5,52%,

dividida entre: o bagaço de cana-de-açúcar (4,14%), licor negro (1,03%), resíduos madeiros (0,28%), biogás (0,04%) e casca de arroz (0,03%) (BRASIL, 2010). A estimativa do potencial de produção de energia para diferentes fontes de resíduos orgânicos, realizada por Salomon e Lora (2005), mostra que o Brasil tem um potencial considerável de geração de energia a partir do biogás, podendo atingir 43% do total da potência instalada pelas fontes renováveis contempladas no PROINFA (Programa de Incentivo às Fontes Alternativas de Energia Elétrica). Esta energia poderia suprir a demanda em locais onde ocorre geração destes resíduos e diminuir problemas ambientais.

Dentre as vantagens do aproveitamento energético a partir do biogás destaca-se o fato de que o lodo, produto da biodigestão, corresponde somente de 2 a 4% do peso da matéria orgânica usada no processo. Isto representa uma redução significativa da massa de resíduo a ser destinada para um aterro sanitário, implicando em redução dos custos com destinação final. O lodo gerado em processos anaeróbio já sai pré-estabilizado podendo ser desidratado e encaminhado diretamente a um aterro sanitário ou utilizado como biofertilizante. O metano é o principal gás produzido na digestão anaeróbia, correspondendo em média a 60% do volume total do biogás (LETTINGA, 2005), conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1: Composição média do biogás gerado a partir de alguns resíduos.

Gás Porcentagem	Esgoto Sanitário⁽¹⁾	Vinhaça⁽²⁾	RSU^{*(3)}	Resíduos da Bananicultura⁽⁴⁾
Metano (CH ₄)	50 – 75	60	50 - 70	67
Dióxido de carbono (CO ₂)	25 – 40	40	35 - 45	33
Nitrogênio (N ₂)	0,5 – 2,5	-	0,5 - 3	
Oxigênio (O ₂)	0,1 – 1	-	0,1 - 1	
Acido sulfídrico (H ₂ S)	0,1 – 0,5	traços	0,1	0
Amoníaco (NH ₃)	0,1 – 0,5	-	-	
Monóxido de carbono (CO)	0 – 0,1	-	0,1	
Hidrogênio (H ₂)	1 – 3	-	0,1	

Fonte: (1) Salomon e Lora (2005); (2) Lamonica, (2006); (3) Motta (1986); (4) Souza *et al.*, (2010).

*RSU – Resíduos sólidos urbanos

O metano obtido a partir da digestão anaeróbia dos resíduos lignocelulósicos pode ser convertido à energia. Essa energia pode ser estimada a partir do poder calorífico inferior (PCI - quantidade de calor liberada na combustão de uma dada substância) do biogás, que se

encontra na faixa de 22.500 a 25.000 kJ/m³, sendo o PCI do metano puro de 34.450 kJ/m³. Isto significa um aproveitamento de 6,25 a 10 kWh/m³ (JORDÃO *et al.*, 1995). A Tabela 2 apresenta uma comparação entre os PCIs de diferentes gases e a Tabela 3 apresenta a equivalência entre o metano e outras fontes energéticas.

Tabela 2: Poder Calorífico Inferior de diferentes gases.

Gás	PCI (kcal/m³)	PCI (kJ/m³)
Metano	8.500	34.450
Propano	22.000	92.109
Butano	28.000	117.230
Gás natural	7.600	31.819

Fonte: Salomon e Lora (2005).

Tabela 3: Equivalência energética do biogás em relação a outros combustíveis.

Fonte	Volume de CH₄ (m³)
Gasolina (L)	0,61 – 0,70
Querosene (L)	0,58 – 0,62
Óleo Diesel (L)	0,55
GLP (kg)	0,40 – 1,43
Álcool (L)	0,80
Carvão mineral (kg)	0,74
Lenha (kg)	3,50
Eletricidade (kWh)	1,25 – 1,43

Fonte: Salomon e Lora (2005).

3.2. Resíduos decorrentes da produção de biocombustíveis

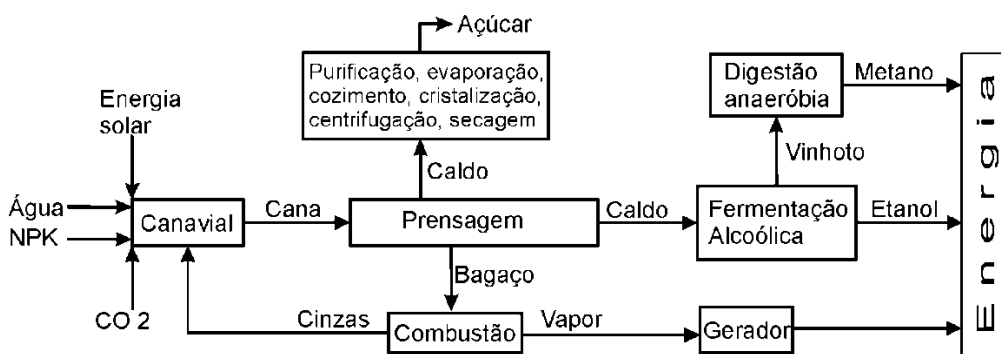
As cadeias produtivas dos biocombustíveis geram vários resíduos, dentre eles os lignocelulósicos. Fengel e Wegener (1984) consideram que o material lignocelulósico consiste principalmente em três tipos diferentes de polímeros: celulose, hemicelulose e lignina, que são associados a outros. A celulose é um polímero formado por uma cadeia de glicose, sendo hemicelulose um polímero composto por açúcares de cinco e seis carbonos. Por fim a lignina é um polímero fenólico que constitui o material estrutural da planta,

associado à parede vegetal celular, responsável pela rigidez, impermeabilidade e resistência a ataques aos tecidos vegetais. Os subitens a seguir descrevem os resíduos lignocelulósicos da cadeia produtiva do biocombustível, os quais são objetos de estudo desse trabalho.

3.2.1. Bagaço da cana

O bagaço de cana-de-açúcar é um resíduo agroindustrial obtido a partir da extração do caldo de cana para produção de açúcar e álcool. O principal uso do bagaço é como combustível para caldeiras visando à produção de vapor de baixa pressão (FAPESP, 1998). Entretanto, existe ainda um excedente que gera problemas ambientais e de estocagem (SUN *et al.*, 2004a). A Figura 1 mostra o fluxograma básico de uma destilaria moderna de etanol em que as águas residuárias (vinhaça) e o resíduo sólido são usados para a geração de energia e os nutrientes são reciclados para os canaviais. Verifica-se que o bagaço de cana-de-açúcar produzido após a prensagem da cana para obtenção do caldo tem seu aproveitamento a partir da queima, com conseqüente geração de vapor utilizado para geração de energia.

Figura 1: Fluxograma do processamento de cana-de-açúcar para a produção de etanol, com o uso dos subprodutos líquido e sólido para a geração de energia elétrica.



Fonte: adaptado de Paiva (2009) e van Haandel (2000).

A Tabela 4 apresenta a composição química do bagaço da cana-de-açúcar. Segundo Assmann (2009), a composição química do bagaço da cana-de-açúcar pode variar de acordo com diversos fatores, como a variedade da cana, fatores relacionados com o solo, as técnicas de colheita e o manuseio, além de outros. É possível verificar que o teor de lignina do bagaço é bastante elevado, o que pode vir a dificultar a digestão anaeróbia do material (PABÓN-PEREIRA, 2009; FERNANDES *et al.*, 2009).

Tabela 4: Composição química do bagaço da cana-de-açúcar.

Componente (%)	Canilha <i>et. al.</i> (2007)	Sun <i>et. al.</i> (2004a)	ICIDCA (1990)	Oliveira <i>et al.</i> (2000)
Teor de Lignina	26,27	18,1	20-22	15-35
Teor de holocelulose				
Teor de Celulose	46,86	43,6	41-44	25-40
Teor de Hemicelulose	27,50	33,8	25-27	20-35
Cinzas	1,61	2,3	2-3	
Extrativos			3	

De acordo com van Haandel (2000), o bagaço vem sendo usado para várias finalidades, tais como: forragem para animais após pré-tratamento térmico ou químico (soda cáustica) para melhorar a biodegradabilidade do material; matéria-prima para paredes internas e chapas de isolamento térmico e/ou acústica; matéria-prima para geração de energia elétrica em geradores especiais (pirólise); combustível sólido após secagem e peletização, substituindo lenha; condicionador de solo, evitando o surgimento de erva daninha, reduzindo-se assim a demanda de herbicidas. Segundo esse autor, o valor econômico deste material ainda é muito baixo, mas pode representar uma soma de recursos importante para as usinas porque a quantidade gerada é muito grande.

Segundo a Conab (2013a), o total de cana moída na safra 2012/13 foi de $588,91 \times 10^6$ t. Considerando que a produção de bagaço é de aproximadamente 135 kg /t de cana (BRASIL, 2007), estima-se que foram gerados em torno de $79,5 \times 10^6$ t de bagaço de cana-de-açúcar. Sabendo-se que o bagaço tem PCI de 7,2 MJ/kg bagaço (PEDROSO; AIELLO, 2005), a queima do mesmo resulta em potencial calorífico de $572,4 \times 10^6$ GJ.

No entanto, segundo Perin (2011), apenas 30% das usinas sucroalcooleiras do país utilizam cogeração de energia usando bagaço, sendo necessária uma intervenção do governo por meio de uma política setorial específica de modo a viabilizar o aproveitamento desse potencial. Ainda segundo Perin (2011), os preços ofertados nos últimos leilões de energia elétrica (150 R\$/MWh) estão muito próximos ao custo de produção da energia com bagaço, o que justifica a baixa adesão das usinas. Por outro lado, o preço de compra de energia pelas usinas é bem maior, neste caso a produção de energia pode ser interessante.

3.2.2. Fibra do Mesocarpo do dendê

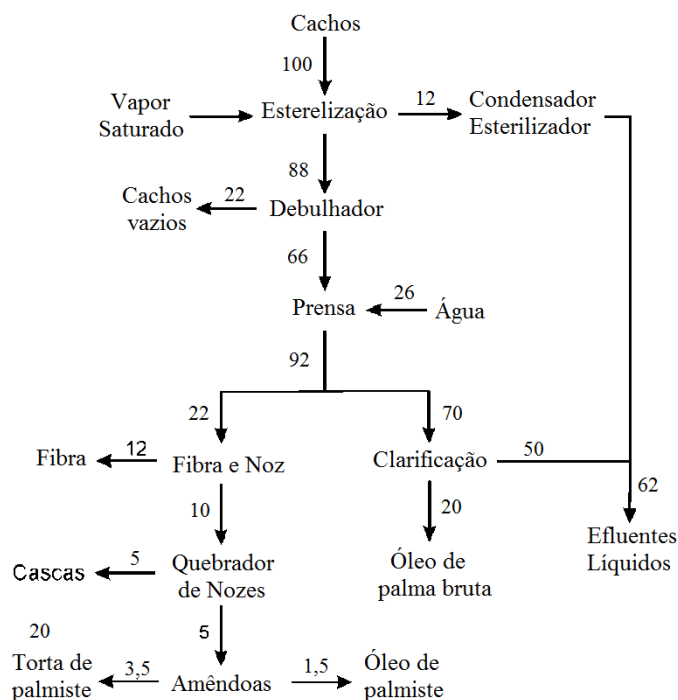
O dendezeiro (*Elaeis guineensis Jacq*) foi introduzido no Brasil no século XVII pelos escravos africanos. Ele é uma planta encontrada em regiões quentes, baixas altitudes e com precipitações elevadas, maiores que 1500 mm anuais, e bem distribuídas ao longo do ano. Os frutos do dendezeiro produzem dois tipos de óleos distintos: 1) o óleo de dendê ou óleo de palma, encontrado no mesocarpo (polpa do fruto) que tem como subproduto a fibra do mesocarpo do dendê e 2) o óleo de palmiste, extraído da amêndoa do fruto, que tem como subproduto a torta de dendê (FURLAN JR, 2006).

Os frutos do dendê oferecem os seguintes produtos e subprodutos: óleo de palma bruto (20%); óleo de palmiste (1,5%); torta de palmiste (3,5%); engaço (22%); fibras da prensagem do mesocarpo (12%); cascas (5%); e uma grande quantidade de efluente líquido denominado de *Palm Oil Mill Effluent* (POME), conforme apresentados na Figura 2.

De acordo com fluxograma de massa na extração de óleo de palma e palmiste apresentado por Kaltner e Furlan Jr. (2000) dos 62% que equivalem ao POME 26% correspondem à água introduzida na prensagem do fruto.

Esses materiais podem ser reciclados nas plantações como fontes de nutrientes (CARVALHO, 2006), como fontes de energia em processos da usina ou para a manufatura de produtos para a agricultura, tal como adubo orgânico após compostagem (MORO; GONÇALVES, 1995). Vários usos já foram desenvolvidos para resíduos da cultura do dendê. Por exemplo, os engaços podem ser usados como fertilizante, após compostagem (FURLAN JR, 2006); as cascas podem ser usadas como combustível (GURMIT *et al.*, 1990); as cinzas de caldeira da agroindústria do dendê também podem ser usadas como adubo (OLIVEIRA, 2006); a torta de palmiste pode ser utilizada na alimentação de animais (bovinos, aves, equinos e suínos), participando da composição de rações (BRINGEL, 2009); a fibra do mesocarpo pode ser usada como adubo orgânico (FERREIRA *et al.*, 1998) ou como combustível (FURLAN JR, 2006).

Figura 2: Fluxograma de massa na extração de óleo de palma e palmiste



Fonte: Kaltner e Furlan JR. (2000).

Segundo Sue (2001), a fibra do mesocarpo do dendê tem sua origem na moagem e posterior prensagem do dendê, podendo haver ou não uma fase intermediária de escamação e cozimento. É durante a prensagem que há a separação do óleo de dendê cru, que é desviado para a clarificação, conforme apresentado na Figura 2. A fibra do mesocarpo do dendê é uma biomassa lignocelulósica rica em lignina, conforme composição química apresentada na Tabela 5. Segundo Furlan Jr. (2006) a composição química dos subprodutos do dendê podem variar de acordo com o tipo de solo e as técnicas de processamento do fruto.

Tabela 5: Composição química da fibra do mesocarpo do dendê.

Componente (%)	Abnisa <i>et al.</i> , (2013)	Taj <i>et al.</i> , (2007)	Sreekala, <i>et al.</i> , (1997)	Sathawong e Sridach (2009)
Umidade				5,2
Teor de Lignina	27,3	11	11	18,4
Teor de holocelulose	54,2	60	60	43,5
Teor de Celulose	23,7	60	60	34,6
Teor de Hemicelulose	30,5			8,9
Teor de Cinzas			3	4,2
Extrativos				5,5

Nos últimos anos, tem ocorrido um aumento exponencial da área plantada de dendê destinado à produção de biodiesel. Estima-se que a área de plantação de óleo de palma no mundo foi de aproximadamente 12×10^6 ha em 2012 (BARRIENTOS; SORIA, 2012), com um rendimento de cerca de 28 t/ha/ano de cachos, o que corresponde a aproximadamente 40×10^6 t/ano de fibra do mesocarpo do dendê.

No Brasil, a área de plantio de dendê passou de 28.160 ha em 1985 para 117.689 ha em 2011 (VENTURIERI, 2011), com produtividade de 25 a 28 t/ha.ano de cachos. De acordo com Glass (2013) a estimativa de produção de dendê no período de 2012/2013 é de 169.300 ha. Considerando que são geradas 12 t de fibra do mesocarpo do dendê para cada 100 t de cachos processados (FURLAN JR., 2006), pode-se estimar que, no ano de 2012/2013, no Brasil houve uma geração de cerca de 569×10^3 t de fibra do mesocarpo do dendê. Sabendo-se que a fibra do mesocarpo bruta, com a umidade de cerca de 40%, tem PCI de 9,6 MJ/kg_{FB} (FURLAN JR., 2006), a queima do mesmo resulta em um potencial calorífico de $5,5 \times 10^6$ GJ.

Especula-se que a adição de biodiesel no diesel deverá aumentar para 10% em 2014 e para 20% em 2020 (SCARAMUZZO, 2011). Considerando que 97,4% do óleo vegetal são convertidos em biodiesel (CAIXETA, 2009), estima-se que sejam necessários $6,3 \times 10^6$ m³ de óleo de palma para a demanda de biodiesel em 2014 e $16,7 \times 10^6$ m³ em 2020. De acordo com o balanço de massa apresentado na Figura 2, a produção deste óleo no Brasil gerará aproximadamente $3,8 \times 10^6$ t de fibra do mesocarpo do dendê em 2014 e $10,0 \times 10^6$ t em 2020, o que representa uma grande quantidade de resíduos de fibras facilmente disponíveis para aplicações de maior valor agregado.

3.2.3. *Línter*

O línter é um dos subprodutos do esmagamento das sementes para a produção do óleo de algodão. Define-se línter como uma camada de fibras curtas, entre 3 e 12 mm, que permanecem ligadas à semente após a retirada das fibras longas, compostas principalmente de celulose. Na semente do algodão, 40% da sua massa são fibras, enquanto os 60% restantes são de caroço. O teor de línter, no caroço de algodão, pode variar de 4% a 8% em massa (ARAÚJO *et al.*, 2006) que, em geral, é prensado juntamente com o caroço para extração de óleo e produção da torta de algodão.

Para facilitar o plantio, a semente é “deslintada”, o que aumenta o valor cultural da semente do algodão e a protege de alguns patógenos. O trabalho pode ser feito via mecânica

por meio de serra fina, através de flambagem pela passagem da semente por um túnel com chamas ou quimicamente através de um processo que utiliza ácido sulfúrico concentrado ou diluído. Uma alternativa de aproveitamento desse resíduo seria utilizá-lo como substrato em reatores anaeróbios para a produção de biogás. No entanto, o línter proveniente do deslntamento químico com ácido sulfúrico diluído não pode ser aproveitado para produção de metano, pois o enxofre liberado no processo favorece a rota metabólica de redução do sulfato em detrimento à rota metanogênica o que resulta em uma diminuição da produção de metano e de sua recuperação energética. Adicionalmente, seria mais oneroso o tratamento do biogás gerado pela maior quantidade de H₂S no biogás, que é função da quantidade de sulfato presente.

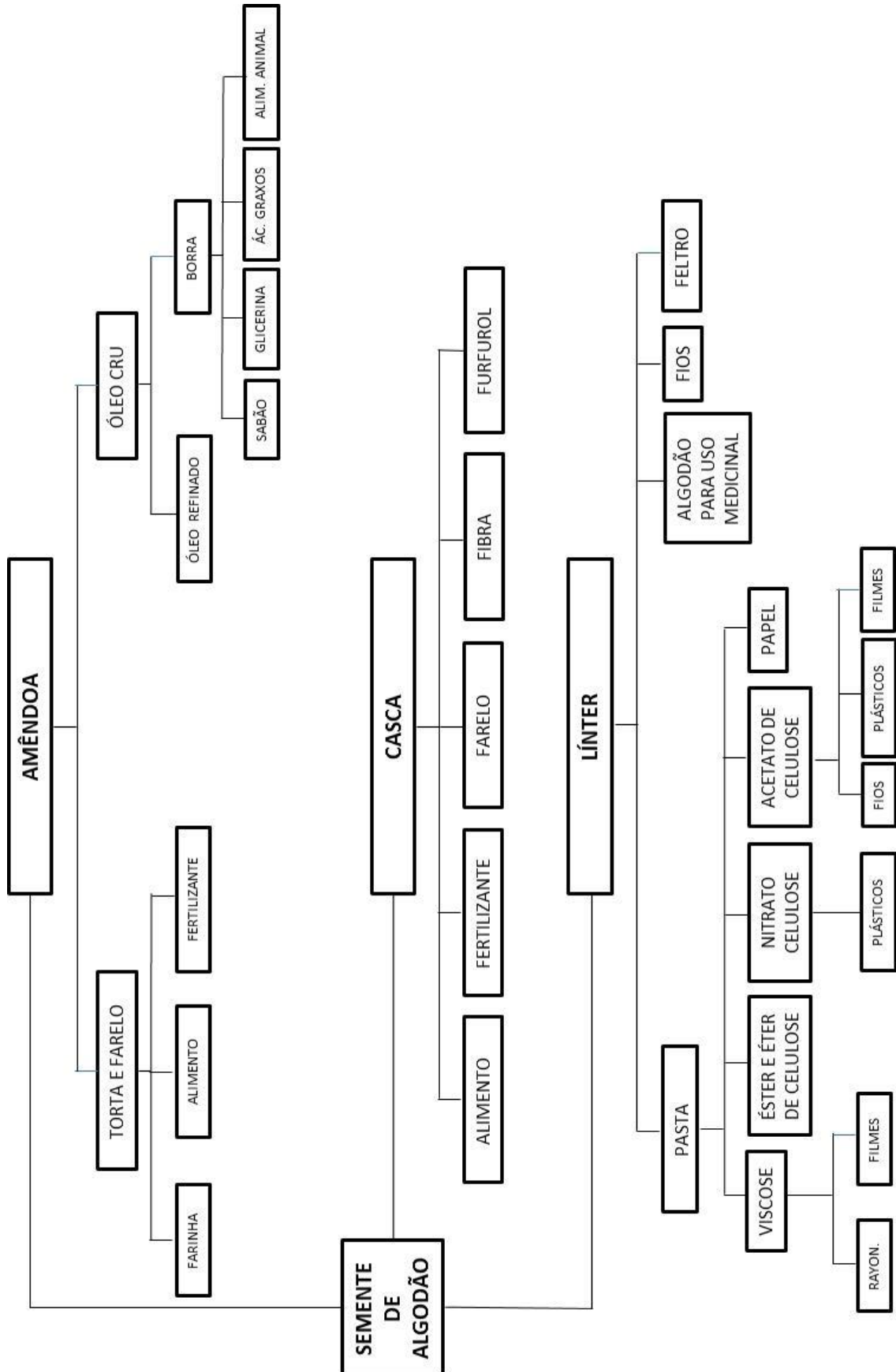
Conforme a Portaria N° 55 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 1990), Artigo 33, o línter é dividido em 4 tipos (1 a 4), onde o tipo 1 é superior (de perfeito estado, seco e de coloração clara) e o tipo 4 de bom estado (seco e de coloração mais escura). O línter deve ser descartado quando úmido e em estado de fermentação. Os línters tipo 1 a 3 já são utilizados na indústria, logo não representam problemas ambientais. Segundo Cherry e Leffler (1984), o línter de algodão apresenta várias aplicações, conforme apresentado na Figura 3. O línter do algodão tipo 4 (LA4) pode ser utilizado como fonte de energia, como por exemplo, briquetes de línter. Outra maneira de valorizá-lo seria a produção de biogás após um pré-tratamento.

A Tabela 6 apresenta a composição química do línter (SILVA; SILVA JR, 2003). Observa-se que o línter apresenta baixa fração de lignina em sua composição, favorecendo neste caso a biodegradabilidade anaeróbia e, conseqüentemente, a produção de metano (PABÓN-PEREIRA, 2009; FERNANDES *et al.*, 2009).

Tabela 6: Composição química do línter.

Componente (%)	Silva; Silva Jr. (2003)	Sun; Cheng (2002)	Cassales <i>et al.</i> (2011)	Szczostak (2009)
Umidade	7,5		6,3	5,0
Teor de Lignina	3,7	0	0,7	0
Teor de holocelulose	87,4		81,5	
Teor de Celulose		80–95	76,9	80,0
Teor de Hemicelulose		5–20	4,6	2,0
Teor de Cinzas	1,4		2,3	3,0
Extrativos	1,3		5,6	

Figura 3: Fluxograma de extração de óleo da semente do algodão



Fonte: adaptado de Cherry e Leffler (1984).

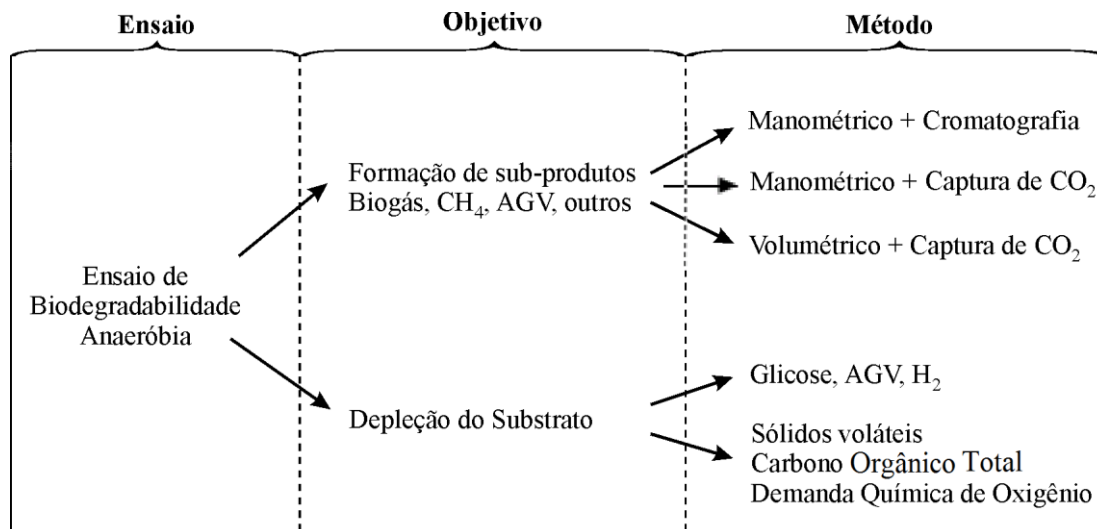
Segundo CONAB (2013b) a produção de caroço de algodão nas safras 2012/2013 foi de $10,6 \times 10^6$ t. Admitindo-se um teor de línter de 4% (ARAÚJO *et al.*, 2006), e que metade do caroço de algodão produzido possua línter na semente, estima-se a geração deste subproduto corresponde a um total de 265×10^3 t de línter disponíveis para aproveitamento pela indústria. Sabendo-se que a fibra do línter de algodão tipo 4mesocarpio bruta, com a umidade de cerca de 40%, tem PCI de 17,3 MJ/kg (DA MOTA, 2009), a queima do mesmo resulta em um potencial calorífico de $4,6 \times 10^6$ GJ.

3.3. Biodegradabilidade anaeróbia e Potencial de Produção de Metano do material lignocelulósico

Segundo Guwy (2004), a biodegradabilidade anaeróbia é definida como a fração de um composto que pode ser convertida em metano, em condições anaeróbias, através da ação de um grupo diversificado de microrganismos. Os ensaios de biodegradabilidade são baseados na medição de um ou mais metabólitos (por exemplo, ácidos graxos voláteis) envolvidos na reação bioquímica, na medição do metano liberado ou na medição da depleção de substrato. Os métodos podem ser subdivididos em dois grupos principais, o primeiro está relacionado com a biodegradabilidade anaeróbia de compostos químicos ou plásticos e o outro com a máxima biodegradabilidade de substratos orgânicos complexos e produção de biogás (ANGELIDAKI *et al.*, 2009). Na prática, a maioria dos métodos é baseada no monitoramento da produção de biogás (ANGELIDAKI; SANDERS, 2004).

A produção de biogás pode ser medida pelo aumento do volume de biogás sob pressão constante (métodos volumétricos) ou pelo aumento da pressão sob volume constante (métodos manométricos). Em ambos os casos, há necessidade de medição da concentração de metano, conforme apresentado na Figura 4. Existem ainda os métodos baseados na depleção do substrato, que pode ser determinada indiretamente pela análise de sólidos voláteis (SV), demanda química de oxigênio (DQO), carbono orgânico total (COT), etc. ou diretamente pela análise do composto que está sendo usado como substrato (ROZZI; REMIGI, 2004). A cromatografia gasosa é geralmente usada para medir o conteúdo de metano e dióxido de carbono do biogás contido no headspace dos frascos fechados (ANGELIDAKI; SANDERS, 2004).

Figura 4: Princípios para ensaios de biodegradabilidade



Fonte: adaptado de Angelidaki e Sanders (2004).

O teste de Potencial de Produção de Metano (PPM), também conhecido como Potencial Bioquímico de Metano (PBM) é usado para avaliar a máxima quantidade de metano gerada por unidade de massa de substrato, em condições pré-definidas. Os métodos para determinar o PPM são os mesmos descritos para biodegradabilidade.

O teste de biodegradabilidade anaeróbia e o PPM vêm sendo utilizado para avaliar os efeitos de diversos pré-tratamentos na biomassa lignocelulósica, de maneira a otimizar a produção do metano. Pabón-Pereira (2009) avaliou o PPM de diferentes substratos lignocelulósicos (cenoura, mostarda, chicória e feijão verde) inoculado com lodo de um digestor de lodo de primário proveniente de uma estação de tratamento de esgoto, e concluiu que a razão celulose/lignina afetava significativamente a biodegradabilidade dos resíduos lignocelulósicos, sendo que, quanto menor o teor de lignina, maior a biodegradabilidade anaeróbia do material. Gunaseelan (2004) estudou o PPM de frutas e resíduos sólidos vegetais, dentre eles duas biomassa lignocelulósica (sorgo sarcarino e capim elefante), e observaram que havia uma variação no potencial de produção de metano em função dos diferentes resíduos estudados, bem como das diferentes partes do mesmo resíduo. O autor concluiu que os resíduos lignocelulósicos apresentaram menor taxa de produção de metano devido ao alto teor de lignina e celulose cristalina. Hammad (1999) estudou o PPM de diferentes resíduos vegetais (resíduo de oliva e cevada) utilizando esterco de diferentes animais (gado, aves, ovelha e cavalos) como inóculo, e observou que o resíduo de oliva em conjunto com o esterco de gado proporcionou o maior potencial de produção de metano.

3.4. Digestão anaeróbia de materiais lignocelulósicos

O processo de digestão anaeróbia de matéria orgânica complexa é dividido basicamente em quatro etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese – pode haver mais uma etapa, sulfetogênese, caso exista enxofre na composição do material a ser digerido. Dentre as quais três grupos de microrganismos participam do processo: as bactérias fermentativas, as bactérias acetogênicas e as arqueias metanogênicas. O produto final das bactérias fermentativas (hidrolíticas e acidogênicas) será substrato para as acetogênicas, as quais, por sua vez fornecerão o substrato necessário para as metanogênicas (LESCHINE, 1995).

A hidrólise é o primeiro e muitas vezes o passo limitante do processo. De uma maneira geral, na digestão anaeróbia do material lignocelulósico, a matéria orgânica sofre inicialmente hidrólise, onde polímeros orgânicos complexos (carboidratos, proteínas e lipídeos) são decompostos em monômeros como açúcares e ácidos orgânicos por meio de enzimas. A conversão de biopolímeros é catalisada por exoenzimas (hidrolases) excretadas por bactérias facultativas ou acidogênicas anaeróbias obrigatórias (GALLERT; WINTER, 2005), incluindo os gêneros *Clostridium*, *Acetivibrio*, *Bacteroides*, *Selenomonas* e *Ruminococcus* (INSAM *et al.*, 2010). As enzimas celulasas e amilases hidrolisam carboidratos, proteases hidrolisam proteínas e lipases e fosfolipases hidrolisam lipídios (GALLERT; WINTER, 2005). Como cada exoenzima converte apenas um substrato, ou grupo específico de substratos, diversas bactérias acidogênicas são necessárias para digerir o material lignocelulósico (FERNANDES, 2010).

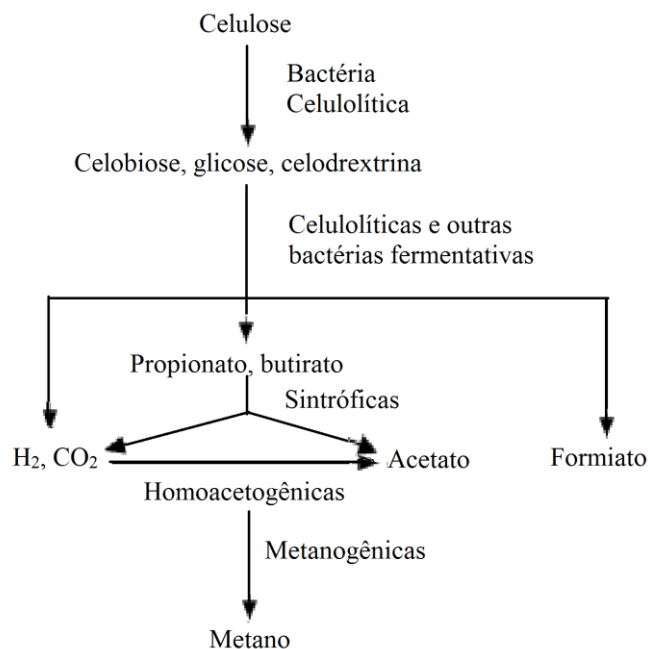
O estado físico e a estrutura do substrato afeta a acessibilidade pelas enzimas hidrolíticas e, conseqüentemente, o processo de hidrólise. Assim, a taxa de hidrólise de substratos particulados é menor do que a de polímeros dissolvidos, já que no primeiro caso apenas parte do substrato está acessível às enzimas (ANGELIDAKI; SANDERS, 2004).

Na acidogênese, as bactérias fermentativas promovem a conversão de monômeros orgânicos em hidrogênio, bicarbonato, ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, ácido lático (além de outros ácidos em menores proporções) e etanol. Posteriormente ocorre a acetogênese, onde compostos orgânicos reduzidos (tais como os ácidos propiônico, butírico e lático) são oxidados, gerando hidrogênio e gás carbônico pelos microrganismos formadores de hidrogênio e pelos microrganismos formadores de acetato. O acetato também pode ser formado pela rota do H_2/CO_2 em uma etapa chamada homoacetogênese. Finalmente, os produtos finais CH_4 e CO_2 podem ser formados na etapa da metanogênese, onde as arqueias metanogênicas são capazes de utilizar substratos como H_2 e CO_2 , acetato, formiato e

compostos metilados. Estimasse que 70% do metano produzido sejam formados a partir da rota do acetato pelas arqueias metanogênicas acetoclásticas e 30% na rota do H₂/CO₂ pelas arqueias metanogênicas hidrogenotróficas (PAVLOSTATHIS; GIRALDO-GOMEZ, 1991). O fluxograma da digestão anaeróbia da celulose está apresentado na Figura 5.

A celulose é insolúvel e a degradação por bactérias e fungos ocorre extracelularmente por um complexo multi-enzimático de elevada massa molecular chamada celulase, que catalisam de forma eficiente a hidrólise da celulose (LESCHINE, 1995). Como exemplo pode-se citar a celulase produzida pelas bactérias dos gêneros: *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Termomonospora*, *Ruminococcus*, *Bacteriodes Erwinea*, *Acetovibrio*, *Microbispora* e *Streptomyces* (SUN; CHENG, 2002).

Figura 5: Diagrama da degradação anaeróbia da celulose por comunidades microbiana em solos e sedimentos de água doce.



Fonte: Leschine (1995).

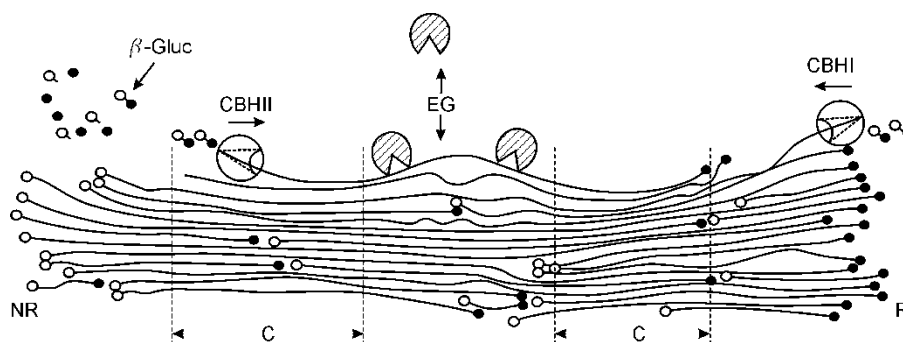
Para completa biodegradação da celulose, três celulases são necessárias: endoglicanase (EG), exoglicanase ou celobiohidrolase (CBH) e β-glicosidase ou celobiase. As endoglicanases são responsáveis pela hidrólise preferencialmente das ligações internas no polímero da celulose, produzindo oligossacarídeos de menor peso molecular, chamados de celodextrinas, além de celobiose (HEIKINHEIMO, 2002). As endoglicanases atacam de forma mais ou menos aleatória as ligações β-(1-4)-glicosídicas em regiões amorfas da

celulose ou na superfície das microfibrilas. As exoglicanases ou celobiohidrolases iniciam a hidrólise nas extremidades da cadeia, e não produzem uma quantidade significativa de novas cadeias terminais na superfície da celulose (IRWIN *et al.*, 1993).

As celobiohidrolases são subdivididas em dois grupos: CBH I e CBH II, as quais quebram as unidades de celobiose das extremidades redutora e não redutora do polímero, respectivamente. Logo, as exoglicanases liberam a celobiose rompendo as ligações β -(1-4)-glicosídicas. As celobiasas ou β -glicosidas completam a hidrólise catalisando a hidrólise da celobiose a glicose. Portanto, as celobiasas hidrolisam a celobiose e as celodextrinas solúveis em água produzindo glicose (RABELO, 2007).

A Figura 6 mostra uma representação esquemática da hidrólise da celulose e a ação das endoglicanases, exoglicanases e β -glicosidas de *Trichoderma reesei*. Onde “C” define a região altamente ordenada (região cristalina), “R” os grupos terminais redutores (círculos preenchidos), e “NR” os grupos terminais não redutores (círculos não preenchidos). A enzima EG ataca as estruturas mais desordenadas da celulose e a ação da β -glicosidase produz a glicose.

Figura 6: Esquema da hidrólise da celulose e da ação das CBHs, EGs, e β -glicosidas (β -gluc) de *Trichoderma reesei*.



Fonte: Rabelo (2007).

As exo e endoglicanases são inibidas pela celobiose, e a ação da β -glicosidase é frequentemente a etapa limitante na degradação da celulose. Microrganismos fermentadores de celobiose têm o papel de manter as concentrações de celobiose baixas, evitando a inibição da produção da celulase. Estas fermentações produzem CO_2 , H_2 , ácidos orgânicos (por exemplo, acetato, propionato e butirato) e álcoois. Parte do H_2 escapa para atmosfera, sendo o restante imediatamente consumido pelas metanogênicas ou homoacetogênicas ou BRS (RABELO, 2007).

Bactérias sintróficas desempenham um papel fundamental na conversão de celulose à CH_4 e CO_2 . Estes organismos fermentam ácidos graxos, como propionato e butirato, ou álcoois, e produzem CO_2 , acetato e H_2 (RABELO, 2007).

A cadeia de hemicelulose pode sofrer ataques, por enzimas hemicelulases ou por ácidos diluídos, em posições intermediárias, nesse caso são liberados oligômeros (moléculas de açúcares) que podem ser sucessivamente quebrados em oligômeros ainda menores, até que uma molécula de um simples açúcar possa ser formada (AUBERT *et al.*, 1988). A eficiência de recuperação de açúcares máxima pode chegar a 90% (LYND *et al.*, 2002).

Hu e Yu (2005) estudaram a fermentação anaeróbia da palha de milho por microrganismos do rúmen em reatores semicontínuos operados a 40°C. O acetato, propionato e butirato foram os principais produtos, juntamente com pequenas quantidades de butirato e valerato. A carga orgânica volumétrica (COV) variou de 10 a 30 g VS/l.d, atingindo eficiência de conversão de sólidos voláteis (SV) entre de 65 e 70% com um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 10 d. A concentração de ácidos graxos voláteis (AGV) variou entre 0,56 e 0,59 g/gSV.

3.5. Fatores que afetam a biodegradabilidade do material lignocelulósico

A estrutura do material lignocelulósico é composta por micro fibrilas celulósica, as quais estão envoltas por uma matriz amorfa de polioses (hemicelulose) e lignina (RAMOS, 2003). Isto impede o acesso das enzimas durante o processo de digestão anaeróbia. A cristalinidade da celulose, sua área de superfície acessível, estrutura da lignina e da hemicelulose, grau de polimerização da celulose, encontram-se entre os fatores que mais afetam a biodegradabilidade de material lignocelulósico (WYMAN, 1996; HENDRIKS; ZEEMAN, 2009; FERNANDES *et al.*, 2009).

A celulose é um homopolissacarídeo linear formado de unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas do tipo β (1-4). As cadeias de celulose agregam-se formando fibrilas através de pontes de hidrogênio intra e intercadeias entre os grupamentos hidroxila, o que resulta na cristalinidade da celulose (TAMANINI; HAULY, 2004). As pontes de hidrogênio, inter e intramoleculares, mantêm as regiões cristalinas e tornam a celulose resistente à hidrólise ácida, alcalina ou enzimática. Além disto, as regiões cristalinas tornam a celulose insolúvel em água, o que dificulta a biodegradação (KIIPPER, 2009).

Apesar de a celulose possuir ligações glicosídicas nos carbonos 1 e 4, a forma com que essas unidades de glicose estão ligadas torna a estrutura da celulose diferente em relação à

amilose. Enquanto muitos microrganismos e animais possuem enzimas necessárias para quebrar as ligações alfa-1,4, encontradas no amido ou no glicogênio, poucos seres vivos podem hidrolisar as ligações glicosídicas beta-1,4 presentes na celulose. Porém, a resistência da celulose à degradação está mais relacionada com a sua estrutura cristalina e ao seu empacotamento do que às ligações glicosídicas (KIIPPER, 2009).

Outro fator que interfere na digestão anaeróbia é o grau de polimerização (GP) da celulose. O aumento do GP da celulose reduz drasticamente a sua solubilidade devido a ligações de hidrogênio intermoleculares. O GP é determinado pela proporção relativa das atividades de exo e endoglucanases e das propriedades da celulose, pois as exoglucanases causam uma redução gradualmente lenta do GP ao agir nas extremidades da cadeia, enquanto as endoglucanases causam uma redução mais rápida do GP, pois hidrolisam preferencialmente as ligações internas do polímero (ZHANG; LYND, 2004).

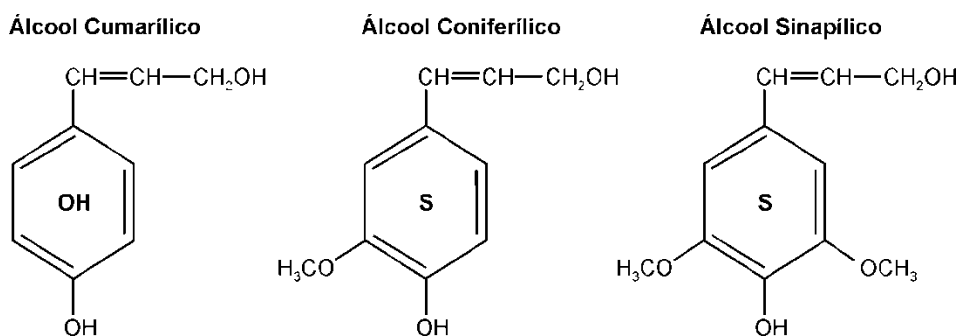
A área da superfície dos materiais lignocelulósicos também afeta a hidrólise enzimática. Isso porque na estrutura do material lignocelulósico, a celulose é envolta em hemicelulose e incrustada por lignina, o que impede o acesso de celulasas à celulose (CAMMAROTA; FREIRE, 2006; PALONEN; VIKARI, 2004). Assim, a remoção da lignina e a hidrólise enzimática de hemicelulose são essenciais para os rendimentos mais elevados de hidrólise da celulose (CHANDRA *et al.*, 2007). Porém, o fator limitante da hidrólise da celulose pura não é apenas a superfície da celulose, mas também a dificuldade de hidrólise da região cristalina. Portanto, pode-se esperar uma menor taxa de hidrólise após a hidrólise da celulose amorfa, apesar do aumento da superfície específica (FAN *et al.*, 1980).

Segundo Taherzadeh e Karimi (2008), materiais lignocelulósicos têm dois diferentes tipos de superfície: (i) superfície externa, que está relacionada ao tamanho e forma das partículas; (ii) superfície interna, que depende da estrutura capilar das fibras celulósicas. Quando a biomassa lignocelulósica passa pelo pré-tratamento físico de secagem, há uma redução no tamanho das fibras, o que pode resultar em um colapso irreversível e encolhimento capilar e, portanto, reduzir a área da superfície interna e diminuição da área acessível. As fibras celulósicas secas têm tamanho pequeno, variando entre 15 a 40 μm , e, portanto, possuem uma considerável superfície externa específica (na faixa de 0,6 a 1,6 m^2/g). No entanto, a área da superfície interna das fibras celulósicas secas é menor do que da superfície externa. Com isto, pode-se inferir que a secagem do material lignocelulósico pode afetar negativamente sua biodegradabilidade (FAN *et al.*, 1980).

A concentração e a estrutura da lignina na matriz celulósica também afetam a biodegradabilidade (GALLERT; WINTER, 2005). A lignina é um heteropolímero não

glucosídico tridimensional formado por monômeros do tipo fenil-propano, dentre os quais, em sua maioria, têm-se os álcoois cumarílico, coniferílico e sinapílico (HIGUCHI, 1997), conforme apresentado na Figura 7. Como exposto anteriormente, a lignina atua como uma barreira mecânica assim, a resistência dos materiais lignocelulósicos à degradação enzimática é parcialmente influenciada pelo teor e distribuição da lignina. Portanto, o processo de deslignificação pode melhorar a taxa e extensão da hidrólise enzimática e, por consequência, a digestão anaeróbia (TAHERZADEH; KARIMI, 2008; WYMAN, 1996).

Figura 7: Estrutura dos três álcoois constituintes da lignina (ciclos OH – hidroxibenzilo; G – guaiacilo; S – siringilo).



Fonte: Rodrigues (2000) adaptada de Jarrige *et al.* (1995).

A biodegradabilidade do material lignocelulósico é menor quando a lignina está envolvendo as microfibrilas de celulose. Assim, a escolha do pré-tratamento adequado é essencial no rendimento da hidrólise (AGUIAR *et al.*, 2010). Por outro lado, a lignina dissolvida após o pré-tratamento do material lignocelulósico também é um inibidor da atividade enzimática da celulase, oxilânase, e glucosidase (BERLIN *et al.*, 2006). Para Tamanini e Haully (2004) esta inibição ocorre porque a lignina é um heteropolímero formado por unidades fenil-propano que, ao ser hidrolisado, forma compostos inibitórios tais como compostos aromáticos, fenólicos e aldeídicos.

3.6. Pré-tratamento do material lignocelulósico

O pré-tratamento do material lignocelulósico tem como objetivo aumentar a velocidade da hidrólise por meio da alteração ou remoção de obstáculos estruturais, facilitando a sua conversão em açúcares fermentescíveis a partir da celulose (glicose) ou hemicelulose (xilose, arabinose, glicose, manose e galactose) (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009).

Cada tipo de pré-tratamento tem seu próprio efeito sobre a celulose, hemicelulose e lignina. O pré-tratamento mais adequado a ser dado a um determinado resíduo é aquele que promove uma maior conversão de celulose e hemicelulose em açúcares fermentescíveis, ou que proporciona melhor acessibilidade da celulose por enzimas hidrolíticas. No entanto, se o objetivo é a conversão no material hidrolisado em metano, a formação de compostos tóxicos, como furfural e 5-hidroximetilfurfural (HMF), ou mesmo a solubilização da lignina devem ser considerados como fatores limitantes dos processos biológicos. Além disto, um rigoroso estudo deve ser feito para determinar as melhores opções de tratamento que sejam viável técnica e economicamente (TAHERZADEH; KARIMI, 2008).

Para aumentar a eficiência do processo de conversão do material lignocelulósico em biocombustíveis (álcool ou biogás, por exemplo), é necessário que o pré-tratamento atenda aos seguintes requisitos: (a) aumentar a produção de reativos que favoreçam o ataque enzimático das fibras celulósicas, (b) evitar a destruição da hemicelulose e celulose, (c) evitar a formação de possíveis inibidores de enzimas hidrolíticas e microrganismos da fermentação, (d) minimizar a demanda de energia, (e) reduzir o custo relacionado com pré-tratamento físico da matéria-prima, (f) reduzir custo de investimento relacionado com os reatores químicos, (g) produzir menos resíduos, e (h) reduzir o consumo de produtos químicos e uso de produtos químicos mais baratos (SUN; CHENG, 2002).

A otimização dos pré-tratamentos para aproveitamento da biomassa lignocelulósica como matéria-prima para produção de biocombustível está intimamente associada às características da celulose e hemicelulose (Tabela 7).

Tabela 7: Diferenças entre hemicelulose e celulose

CELULOSE	HEMICELULOSE
Unidades de glicose unidas entre si	Unidades de diferentes pentoses e hexoses ligadas entre si
Alto grau de polimerização (1000 a 15000 unidades de glicose)	Baixo grau de polimerização (60 a 300 unidades de açúcares)
Forma arranjo fibroso	Não forma arranjo fibroso
Apresenta regiões amorfas e cristalinas	Apresenta somente regiões amorfas
É atacada lentamente por ácido inorgânico diluído a quente	É atacada rapidamente por ácido inorgânico diluído a quente
É insolúvel em álcalis	É solúvel em álcalis

Fonte: Pereira Jr. *et al.* (2008)

Vários métodos foram utilizados para pré-tratamento de materiais lignocelulósicos antes da hidrólise enzimática, fermentação alcoólica ou da digestão anaeróbia. Esses métodos são classificados em: pré-tratamento físico, pré-tratamento físico-químico, pré-tratamento químico e pré-tratamento enzimático. A seguir será feita uma abordagem geral sobre os pré-tratamentos mais utilizados, sendo dada ênfase àqueles utilizados nesse trabalho (físico : moagem e físico-químico : hidrólise com ácido diluído e hidrólise alcalina com NaOH).

3.6.1. Pré-tratamento físico

Os principais pré-tratamentos físicos empregados em materiais lignocelulósicos destinados à produção de biocombustíveis são: moagem, secagem, irradiação, cisalhamento, esmagamento e pirólise. No entanto, o custo e a finalidade a que se destinará o material lignocelulósico são relevantes na escolha do método (BRUNI *et al.*, 2010; KELLER *et al.*, 2003).

Dentre os pré-tratamentos físicos, o mais empregado em materiais lignocelulósico é a moagem, cujo objetivo é principalmente aumentar a área acessível do material, mas também diminuir o grau de polimerização (GP) e cristalinidade das partículas. Segundo Chang e Holtzaple (2000), a cristalinidade é diminuída com o decréscimo no tamanho da partícula, já que este processo provoca o rompimento das pontes de hidrogênio intermoleculares que mantêm a estrutura granular (CAVALLINI, 2009). Após o processo de moagem, o material lignocelulósico pode ser reduzido a dimensões entre 0,2 e 2 mm (SUN; CHENG, 2002), aumentando o rendimento de hidrólise total, na maioria dos casos, em até 25% (dependendo do tipo de biomassa, e tipo e duração da moagem). Isto pode reduzir o tempo de digestão em até 59% (DELGENÉS *et al.*, 2002; HARTMANN *et al.*, 1999).

Segundo Zhang e Lynd (2004), a área da superfície externa está intimamente ligada à forma e ao tamanho das partículas. A área da superfície externa representa apenas uma pequena fração da área total, sendo a área da superfície interna muito maior. Portanto, o aumento da hidrólise da celulose com a diminuição de tamanho e alteração na forma das partículas poderia, não só ser devido ao aumento da área externa, mas também devido a uma diminuição da resistência de transferência de massa. Desta forma, a diminuição do tamanho das partículas, seja pelo corte ou moagem, é um procedimento recomendado em sistema de produção de biogás (DEUBLEIN; STEINHAUSER, 2008).

Chang *et al.* (1998) observaram a capacidade de hidrólise do bagaço e palha de trigo moído tratado com hidróxido de cálcio (0,1 a 0,15 g Ca (OH)₂/g biomassa) e constataram que a redução de tamanho da partícula para dimensões inferiores a 40 mesh (0,42mm) tem pouco efeito sobre a hidrólise. Provavelmente, a superfície específica não aumentou significativamente nessas condições. Sharma *et al.* (1988) conseguiram aumentar em 56% o potencial de produção de metano de amostras de grama quando o tamanho das partículas passaram de 30 mm para 1 mm. Fan *et al.* (1980) mostraram que o índice de cristalinidade da celulose microcristalina diminuiu de 74,2% para 4,9% usando um moinho de bolas.

Mshandete (2006) avaliou a produção de biogás a partir da fibra do sisal. Os resultados encontrados por estes autores mostraram que diminuindo o tamanho das partículas de 100 para 2 mm (de 36 para 1800 mesh) a biodegradabilidade do material aumentou de 31% para 70%. Estes resultados estão de acordo com Pabón-Pereira (2009), que concluiu que o aumento da superfície acessível de materiais lignocelulósicos induz ao aumento da biodegradabilidade. No entanto, deve-se considerar o teor de celulose em relação à lignina já que se espera uma maior influência da moagem em amostras contendo partículas de material mais biodegradável do que naquelas com maiores quantidades de material não biodegradável.

Apesar das vantagens da moagem do material lignocelulósico antes da digestão anaeróbia, é importante considerar a exigência de energia mecânica para redução do tamanho dos mesmos, a qual depende das características deste material e do tamanho final da partícula (CADOCHÉ; LÓPEZ, 1989).

3.6.2. *Pré-tratamento físico-químico*

De acordo com Sun e Cheng (2002), a conversão de compostos lignocelulósicos em etanol ou metano ocorre através de dois processos distintos: 1) hidrólise da celulose para produzir açúcares fermentescíveis, e 2) fermentação destes açúcares.

Os principais pré-tratamentos físico-químicos empregados em materiais lignocelulósicos destinados à produção de biocombustíveis são: hidrotérmico, hidrólise com ácido (diluído e concentrado), hidrólise alcalina, explosão à vapor (redução súbita de pressão) e AFEX (explosão de fibra com amônia) (TAHERZADEH; KARIMI, 2008; HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos por alguns pesquisadores que investigavam pré-tratamentos termoquímicos de biomassa lignocelulósica.

Tabela 8: Resultados de pesquisas com pré-tratamento físico-químico de material lignocelulósicos.

Resíduo	Pré-tratamento	Catalisador	Concentração (M)	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Condições ótimas	Autor
Bagaço de cana-de-açúcar	Ácido	H ₃ PO ₄	0,35 - 1,03	0 – 300	122	0,68M, 300 min e 122°C	Gámez <i>et al.</i> (2006)
Palha de sorgo	Ácido	H ₃ PO ₄	0,34 – 1,03	0-300	134	1,03M, 300 min e 134°C	Vázquez <i>et al.</i> (2007)
Palha de sorgo	Ácido	HCl	0,65 – 1,95	20 – 300	122	1,7M, 83 min e 122°C	Herrera <i>et al.</i> (2003)
Palha de sorgo	Ácido	HCl	0,65 – 1,95	0 – 300	100	1,95M, 83 min e 100°C	Herrera <i>et al.</i> (2004)
Bagaço de cana-de-açúcar	Ácido	HCl	0,65 – 1,95	0-300	100, 122 e 128	0,9M, 51,1 min e 128°C	Bustos <i>et al.</i> (2003)
Bagaço de cana-de-açúcar	Ácido	HNO ₃	0,5 – 1,44	0 – 300	122	1,44M, 9,3 min e 122 °C	Rodríguez-Chong <i>et al.</i> (2004)
Palha de trigo	Hidrotérmico	H ₂ O	-	6 – 12	185, 195 e 205	6-12 min e 195°C	Petersen <i>et al.</i> (2009)
Bagaço de cana-de-açúcar	Hidrotérmico	H ₂ O	-	até 250	150, 170 e 190	2h e 190°C	Boussarsar <i>et al.</i> (2009)
Bagaço de cana-de-açúcar	Hidrotérmico	H ₂ O	-	1-46	170-220	2 min e 220°C	Laser <i>et al.</i> (2002)
Palha de colza	Hidrotérmico	H ₂ O	-	10, 30 e 50	170, 190 e 210	27 min e 193°C	Díaz <i>et al.</i> (2010)
Palha/Feno/Samambaia	Alcalino	CaOH ₂	0,13	960	85	16 h e 85°C	Fernandes <i>et al.</i> (2009)

Casca de cevada	Alcalino	NaOH	0,75 - 2,5	10 - 60	50 - 130	2,5 M, 35 min, 130°C	Moldes <i>et al.</i> , (2002)
Haste do algodão	Alcalino	NaOH	0,08/0,53/1,065	30, 60 e 90	121	1,06M, 90 min, 121°C	Silverstein (2007)
Caule de girassol	Explosão à Vapor			5	180-230	220°C	Ruiz <i>et al.</i> (2008)
Aparas de Madeira	Explosão à Vapor	H ₂ SO ₄	0,016 e 0,032	2-5	200-210	0,032, 2 min, 201°C	Emmel <i>et al.</i> , (2002)
Fibra do Mesocarpo do Dendê	Explosão à Vapor			20-90	140-210	60 min, 180°C	Mahmud <i>et al.</i> (2013)

a) Hidrotérmico

No pré-tratamento hidrotérmico a biomassa é exposta a água quente, com uma concentração de sólidos menor que 20%. A fração hemicelulósica é solubilizada em água utilizando temperaturas elevadas para promover a liberação de ácido acético proveniente da hidrólise dos radicais acetil da hemicelulose, o qual funciona como catalisador da hidrólise, aumentando a acessibilidade da celulose (SUN; CHENG, 2002). No entanto, dependendo da severidade do pré-tratamento, a degradação catalítica de açúcares pode ocorrer, formando furfural e HMF. Para evitar isto, deve-se manter o pH entre 4 e 7 para minimizar a formação de monossacarídeos e reduzir a formação dos subprodutos da degradação dos açúcares (MOSIER *et al.*, 2005). Além disto, quanto maior a quantidade de água, menor será a concentração de lignina solúvel (devido à diluição) o que reduz o risco de condensação e precipitação da lignina e hemicelulose sobre a superfície celulósica (NIZAMI *et al.*, 2009).

Laser *et al.* (2002) compararam o desempenho do pré-tratamento hidrotérmico com o pré-tratamento com explosão a vapor, utilizando bagaço de cana como substrato, o qual foi posteriormente utilizado na produção de etanol. As seguintes condições foram analisadas: temperatura entre 170 e 230 °C, tempo de reação entre 1 e 46 min, com concentração de sólidos entre 1% e 8%. Os resultados mostraram que o pré-tratamento hidrotérmico resultou em uma melhor recuperação da xilana em relação ao pré-tratamento com explosão a vapor. Sob condições ótimas (200 °C, 2 min., 5% de sólidos), os resultados do pré-tratamento hidrotérmico foram comparáveis com processos de pré-tratamento com ácido diluído, no entanto apresenta a vantagem de não utilizar catalizador.

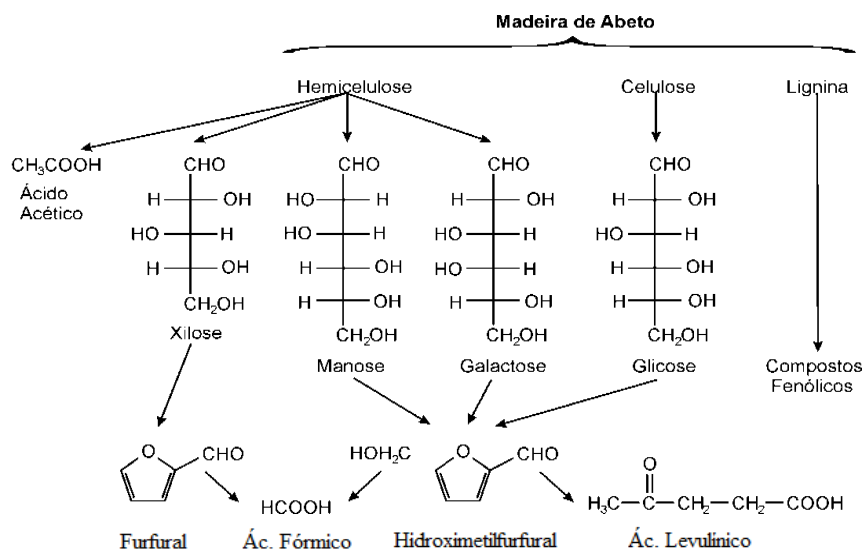
Petersen *et al.* (2009), em seus estudos com palha de trigo, buscaram otimizar a recuperação de açúcares (pentoses e hexoses) e conversibilidade de parte das fibras de celulose em etanol por meio do pré-tratamento hidrotérmico, onde seis condições de pré-tratamentos diferentes foram investigadas. Os experimentos mostram que as condições ideais foram 195 °C por 6 min. Nessas condições, aproximadamente 70% da hemicelulose e 94% da celulose foram recuperadas das fibras. Além disto, aproximadamente 89% da celulose recuperada puderam ser convertidos em etanol usando complexos enzimáticos comerciais de celulase, com um aumento para 92% ao adicionar xilanase comercial.

b) Hidrólise ácida

O processo de hidrólise ácida consiste no aquecimento da biomassa juntamente com uma solução ácida (BARBOSA *et al.*, 2005; BEVILAQUA, 2010). Assim como no método de explosão a vapor, o pré-tratamento ácido pode ser realizado tanto com tempo de reação curto (por exemplo, 5 min) em alta temperatura (por exemplo, 180 °C), ou com tempo de retenção relativamente longo (por exemplo, 90 min) em temperaturas mais baixas (por exemplo, 120 °C). A solução de ácido pode ser concentrada (>10%) ou diluída (0,1 a 10%), sendo usualmente empregado como catalisadores o ácido sulfúrico, ácido clorídrico, ácido nítrico ou ácido fosfórico. A hidrólise ácida é um processo rápido, tem baixo consumo de energia quando comparada à explosão a vapor e um alto rendimento em termos açúcares redutores (TAHERZADEH; KARIMI, 2008).

O produto da hidrólise ácida dos materiais lignocelulósicos são os açúcares fermentescíveis, como a glicose, proveniente da celulose, assim como a xilose, manose, galactose, glicose e arabinose, provenientes da hemicelulose. No entanto, dependendo da severidade do pré-tratamento (SAITO *et al.*, 2006; PEDERSEN; MEYER, 2010), os açúcares formados podem ser degradados, formando furfural e HMF, que por sua vez podem ser degradados em ácido fórmico e ácido levulínico, conforme mostrado na Figura 8 (PALMQVIST; HAHN-HÄGERDAL, 2000).

Figura 8: Esquema da hidrólise de materiais lignocelulósicos e degradação dos açúcares.



Fonte: Palmqvist e Hahn-Hägerdal (2000).

As cinéticas de todas estas reações são afetadas pelo tipo e tamanho do material lignocelulósico, bem como pelos parâmetros operacionais dos diversos métodos de pré-tratamento, tais como: tipo e concentração do ácido, pressão, temperatura e tempo de reação. Portanto, cada tipo de material lignocelulósico necessita de diferentes condições de pré-tratamento.

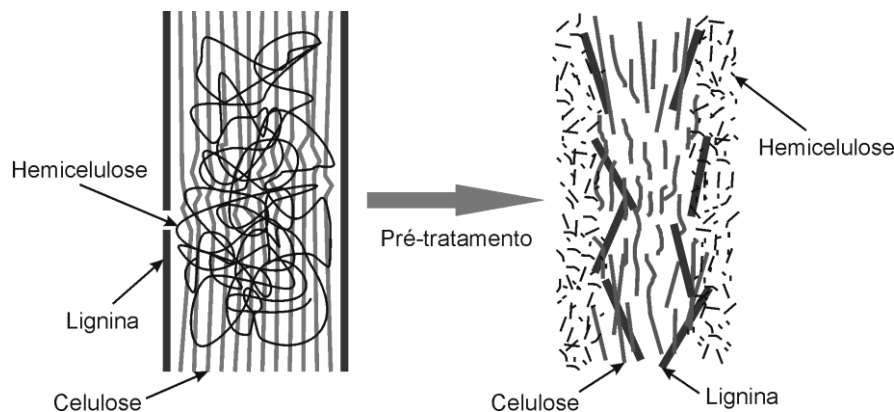
A hidrólise com ácido concentrado, usando H_2SO_4 e HCl com concentração entre 30 e 70%, e temperaturas na ordem de $40\text{ }^\circ\text{C}$ têm sido utilizadas em materiais lignocelulósicos (TAHERZADEH; KARIMI, 2008; BARBOSA *et al.*, 2005). Apesar de esses catalisadores serem eficazes para a hidrólise de celulose, os ácidos concentrados são tóxicos, corrosivos e perigosos e requerem reatores resistentes à corrosão. Além disso, o ácido concentrado deve ser recuperado após hidrólise para tornar o processo economicamente viável (SUN; CHENG, 2002).

Para a hidrólise com ácido diluído, normalmente se utiliza uma solução com concentração na faixa de 0,1 a 10% e temperatura entre 100 e $160\text{ }^\circ\text{C}$, empregando H_2SO_4 , HCl , H_3PO_4 e HNO_3 (SPRINGER; HARRIS, 1982; LAVARACK *et al.*, 2002; AGUILAR *et al.*, 2002; BEVILAQUA, 2010). Durante este processo, os grupos acetil ligados à hemicelulose são clivados e também passam a atuar como catalisadores da hidrólise. Como consequência destas reações, a estrutura da parede vegetal passa por alterações extremas, tais como hidrólise da hemicelulose e/ou solubilização parcial da lignina, favorecendo a acessibilidade da celulose pelas exoenzimas. No entanto, grande parte da hemicelulose é degradada e parte da lignina permanece inalterada, conforme demonstrado na Figura 9. Apesar de haver despolimerização da lignina durante o pré-tratamento com ácido diluído, também há repolimerização e redistribuição superficial, o que implica em diminuição da biodegradabilidade (CANILHA *et al.*, 2010).

Na hidrólise com ácido diluído, a hemicelulose é despolimerizada em temperatura mais baixa do que a celulose, da mesma forma que ocorre quando se utiliza ácido concentrado. No entanto, este último processo propicia a formação de inibidores devido à degradação da hemicelulose em furfural. Além disto, se uma maior temperatura ou maior tempo de retenção são aplicados, os monossacarídeos formados serão posteriormente hidrolisados, acelerando a formação de furfural e HMF. Portanto, deve-se evitar a degradação dos monossacarídeos de modo a melhorar o rendimento da hidrólise. Alguns autores recomendam que o processo de hidrólise seja realizado em pelo menos dois estágios, a primeira fase em condições relativamente suaves durante o qual a fração de hemicelulose é hidrolisada e uma segunda fase pode ser realizada por hidrólise enzimática ou hidrólise com ácido diluído em

temperaturas mais altas durante o qual a celulose é hidrolisada (SUN; CHANG, 2002; SANCHEZ *et al.*, 2004, HENDRIKS; ZEEMAN, 2009).

Figura 9: Alterações estruturais na microfibrila celulósica definidas pelo pré-tratamento com ácido diluído.



Fonte: Canilha *et al.* (2010)

Sarrouh *et al.* (2005), em seus estudos com bagaço de cana-de-açúcar, conseguiram uma taxa máxima de conversão de açúcares fermentecíveis de 97,5%, utilizando uma concentração de H_2SO_4 de 30%, 2% de sólidos e uma temperatura de 50 °C por 1 h.

Aguilar *et al.* (2002) realizaram estudos para produzir xilose a partir da hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar com ácido sulfúrico em temperaturas entre 100 e 128 °C e concentrações entre 2 e 6%. A condição ótima encontrada foi concentração de H_2SO_4 de 2% com temperatura de 122 °C durante 24 min. Com estes parâmetros, o hidrolisado formado continha 21,6 g/L de xilose, 3,0 g/L de glicose, 0,5 g/L de furfural e 3,65 g/L de ácido acético. Nestas condições, 90% da hemicelulose foram hidrolisadas. Bustos *et al.* (2003) também realizaram experimentos com bagaço de cana-de-açúcar usando HCl entre 2 e 6%, tempos de reação entre 0 e 300 min, e temperaturas entre 100 e 128 °C. A condição ótima encontrada foi: temperatura de 128 °C, concentração de 2% de HCl, e tempo de reação de 51,1 min. O hidrolisado continha 22,6 g/L de xilose, 3,31 g/L de arabinose, 3,59 g/L de ácido acético, e 1,54 g/L de furfural.

Gámez *et al.* (2006) realizaram hidrólise com bagaço de cana-de-açúcar utilizando ácido fosfórico com concentração entre 2 e 6%, tempos de reação entre 0 e 300 min, e temperatura de 122 °C para usar o hidrolisado como substrato para fermentação. A condição ótima encontrada foi 4% de ácido fosfórico, temperatura de 122 °C durante 300 min. Dentro dessas

condições o hidrolisado obtido foi analisado e obteve-se 17,6 g/L de xilose; 2,6 g/L de arabinose; 3,0 g/L de glicose; e 1,2 g/L de furfural e 4 g/L de ácido acético.

Rodríguez-Chong *et al.* (2004) realizaram experimentos com bagaço de cana-de-açúcar utilizando ácido nítrico (concentração entre 2 e 6%), tempos de reação entre 0 e 300 min e temperatura entre 100 e 128 °C. A condição ótima encontrada foi temperatura de 122 °C, concentração de 6% de ácido nítrico durante 9,3 min. O hidrolisado obtido na condição ótima consistia de 18,6 g/L de xilose; 2,04 g/L de arabinose; 2,87 g/L de glicose; 0,9 g/L de ácido acético e 1,32 g/L de furfural.

Ao se analisar os resultados obtidos nos experimento com diferentes ácidos (H_2SO_4 , HCl, H_3PO_4 e HNO_3), conforme apresentado nos parágrafos anteriores, é possível observar que a maior eficiência de conversão dos materiais lignocelulósicos em açúcares foi alcançada quando HCl foi utilizado, mas houve um aumento da concentração de furfural, que é inibidor do metabolismo microbiano. Entretanto, as concentrações encontradas não representam riscos de inibição para o consórcio anaeróbio.

O pré-tratamento com H_3PO_4 alcançou uma boa conversão em açúcares quando comparada aos outros experimentos. No entanto, a concentração de ácido exigida para a hidrólise foi duas vezes maior que a concentração adotada para H_2SO_4 e HCl e o tempo de reação foi muito superior, o que pode implicar em custo elevado de operação. O H_2SO_4 apresentou uma taxa elevada de hidrólise (90%), no entanto em se tratando de digestão anaeróbia essa opção deve ser descartada, pois a produção de metano pode ser reduzida em virtude da competição das arqueias metanogênicas com as bactérias redutoras de sulfato (BRS) em virtude do SO_4^{-2} oriundo da reação (ROBINSON; TIEDJE, 1984). Segundo Hendriks e Zeeman (2009) o pré-tratamento com ácido sulfúrico ou nítrico podem limitar a produção do metano em detrimento a produção de H_2S e N_2 . Na presença de sulfato muitos dos compostos intermediários da digestão anaeróbia passam a ser utilizados pelas BRS. Nessas condições, estas bactérias passam a competir com as bactérias fermentativas, acetogênicas e arqueias metanogênicas, pelos substratos disponíveis. Essa competição se torna mais significativa quanto menor a relação DQO/SO_4^{-2} (CHOI; RIM, 2007). Segundo este último autor, uma competição mais significativa só ocorre quando a relação DQO/SO_4^{-2} é inferior a 7, mas com forte dependência do pH.

O pré-tratamento com HNO_3 se mostrou bastante interessante, pois apesar de ser um ácido fraco, com necessidade de maior concentração de ácido, o tempo de reação foi bastante inferior aos demais. O uso de HNO_3 também pode resultar em menor produção de metano, pois há competição das arqueias metanogênicas com as bactérias desnitrificantes formando N_2

(HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). Pode-se então considerar, dentre os trabalhos analisados que o HCl se mostrou o catalisador que melhor se aplica ao pré-tratamento de materiais lignocelulósicos destinados à digestão anaeróbia.

c) Pré-tratamento alcalino

O pré-tratamento alcalino é normalmente empregado em materiais lignocelulósicos *in natura* com estrutura morfológica rígida, com alto teor de lignina, onde é necessário condições de reação mais severas, como por exemplo, concentração de álcali > 10% e temperatura acima de 150 °C (OLIVEIRA, 2010). De acordo com Carvalheiro *et al.* (2008) a temperatura utilizada deve estar na faixa de 30 e 130 °C e o tempo de reação entre 10 min e 18 h, sendo que quanto maior a temperatura menor será o tempo de reação e vice-versa.

A hidrólise alcalina se dá pelo uso de um catalisador alcalino que provoca rompimento nas ligações éster entre a hemicelulose e a lignina. Com o rompimento destas ligações, há um inchaço no material, aumento na porosidade e consequente aumento da superfície acessível para as exoenzimas (SUN; CHENG, 2002; SUN *et al.*, 2004b). Desta forma, o pré-tratamento alcalino aumenta a biodegradabilidade da celulose. Dependendo do catalisador utilizado, os pré-tratamentos alcalinos podem ser divididos em dois principais grupos: pré-tratamentos que utilizam hidróxido de sódio, hidróxido de potássio ou hidróxido de cálcio e peróxido, e pré-tratamentos que usam a amônia. Ao contrário do pré-tratamento ácido, os métodos baseados soluções alcalinas são mais eficazes para a solubilização de lignina, apresentando apenas pequena solubilização de celulose e hemicelulose, com exceção do tratamento com percolação de amônia, que remove a lignina e degrada a hemicelulose, gerando um hidrolisado contendo principalmente celulose (CARVALHEIRO *et al.*, 2008).

O hidróxido de cálcio (cal hidratada) e hidróxido de sódio são os catalisadores mais comuns utilizados no pré-tratamento alcalino. Em geral, utilizam-se concentrações entre 0,05 e 0,15 g alcalóide/g biomassa, aplicadas diretamente a uma batelada de biomassa, ou como um posterior tratamento da biomassa hidrolisada com um ácido (VÁZQUEZ, 1992; MOLDES *et al.*, 2002).

Chang *et al.* (1998) avaliaram a hidrólise do bagaço e palha de trigo com cal e concluíram que, para tempos de reação curtos (entre 1 e 3 h), altas temperaturas (entre 85 e 135 °C) são necessárias para garantir um pré-tratamento eficaz. Por outro lado, para tempo longo de pré-tratamento (por exemplo, 24 h), temperaturas entre 50 e 65 °C são suficientes

para atingir rendimentos elevados de conversão de celulose e hemicelulose em açúcares. Concluíram ainda que 85% dos açúcares podem ser liberados em 24 h de hidrólise.

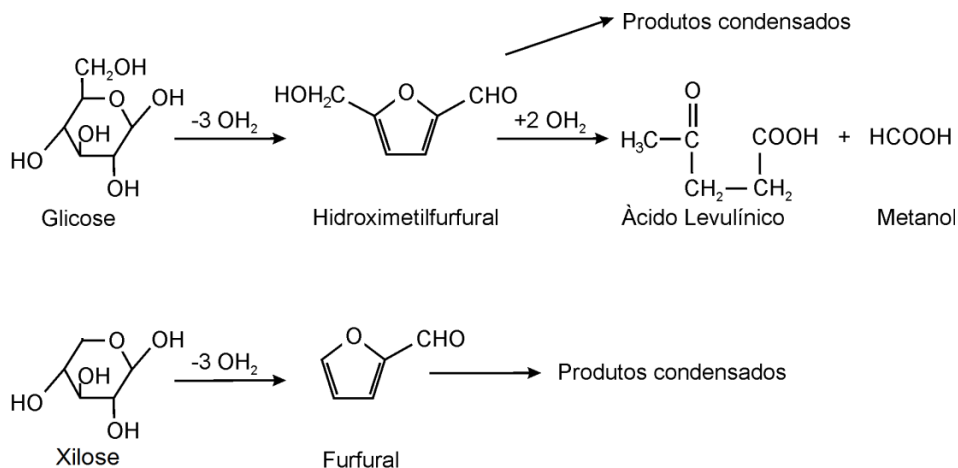
3.7. Toxicidade anaeróbia

A produção de metano a partir de material lignocelulósico é composta por três fases: pré-tratamento do material, digestão anaeróbia do hidrolisado e pós-tratamento da fração líquida. Alternativamente, as frações sólida e líquida são mantidas juntas e utilizadas como substrato para produção de metano.

Como mostrado anteriormente, a hemicelulose e lignina dificultam o acesso da celulase à celulose, diminuindo a eficiência da hidrólise, o que pode ser minimizado por meio de um pré-tratamento de maneira a melhorar o rendimento da hidrólise e produção de metano. No entanto, durante o processo de pré-tratamento, pode haver a formação de subprodutos tóxicos e/ou inibidores da etapa metanogênica. Estes compostos podem ser originados em virtude das altas temperaturas ou condições ácidas nas quais se desenvolvem os pré-tratamentos. Segundo Rossell (2006), a natureza e concentração destes compostos dependem: (i) do tipo de matéria-prima (conteúdo percentual de celulose, hemicelulose e lignina); (ii) do pré-tratamento utilizado; (iii) das condições do processo (temperatura e tempo de reação); e (iv) do emprego ou não de catalisadores ácidos. De acordo com Domínguez (2003), os inibidores da fermentação oriundos da degradação de material lignocelulósico são agrupados em três categorias: (i) derivados do furano; (ii) ácidos alifáticos de baixa massa molecular; e (iii) derivados fenólicos.

Os compostos derivados do furano são: o furfural, formado a partir da degradação das pentoses (xilose e arabinose) e o HMF, formado como consequência da degradação das hexoses (glicose, manose e galactose), conforme demonstrado na Figura 10. Por sua vez, o furfural pode ser degradado em ácido fórmico e o HMF pode ser degradado em ácido fórmico e levulínico (CANETTI, 2004). Além destes, pode haver formação do ácido acético proveniente da hidrólise dos radicais acetil da hemicelulose.

Figura 10: Produtos resultantes da decomposição dos açúcares, a partir dos monossacarídeos em meio ácido.



Fonte: Canettieri (2004).

Dependendo do tipo de pré-tratamento e da severidade do mesmo, a lignina pode se degradar em uma variedade de compostos fenólicos, como por exemplo: ácido 4-hidroxibenzóico, originado na ruptura das ligações éster que unem os grupos hidroxilas dos álcoois cinâmicos da lignina; o siringaldeído e o ácido siríngico, procedentes da degradação das unidades siringilpropano da lignina; o 4-hidroxibenzaldeído e os ácidos gentísico, salicílico e protocatéquico (CANETTIERI, 2004). Este autor mostrou também que, após a degradação da lignina, pode haver geração de vanilina, ácido vanílico, ácido homovanílico, catecol, guaiacol, eugenol, hidroquinona, aldeído coniferílico.

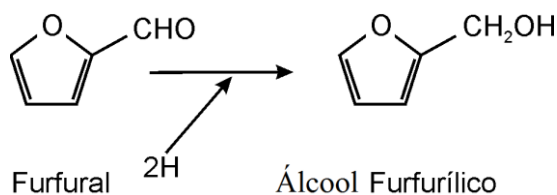
Meyer *et al.* (2009) estudaram os efeitos inibitórios do guaiacol e eugenol, oriundos do efluente da celulose Kraft, sob a atividade metanogênica específica em sistemas anaeróbios, e constataram que concentrações superiores a 10 mg/L de guaiacol reduzem em 25% a atividade biológica, e no caso do eugenol concentração em torno de 1000 mg/L causou uma redução de 77% da atividade biológica.

Além dos compostos já citados, o pré-tratamento de materiais lignocelulósicos propiciam a formação de diferentes tipos de resinas (ácidos graxos, terpenóides, esteróis e ceras) e compostos fenólicos (flavonóides, taninos, etc.) (DOMÍNGUEZ, 2003). Muitas bactérias em condições anaeróbias transformam ou degradam Furfural. De acordo com Boopathy (2009) as arqueias metanogênicas, *Methanococcus sp.* apresentaram um melhor crescimento em presença de furfural (5, 10 e 15 mM) em relação às culturas que não receberam furfural, indicando possível estimulação do crescimento nestas concentrações. De fato, esta arqueia pode reduzir o furfural a álcool furfurílico, como está demonstrado na

Figura 11. Entretanto, as culturas que receberam concentrações entre 25 e 30 mM de furfural foram inibidas.

Cao *et al.* (2010) estudaram o efeito de inibidores derivados de biomassa lignocelulósica sobre o crescimento e produção de hidrogênio por *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16 e constataram que concentrações de 0,5 g/L de furfural e 0,5 g/L de HMF não causaram efeito inibitório sob a produção de hidrogênio. É possível que estes subprodutos da degradação dos açúcares não inibam o metabolismo anaeróbio permanentemente, em vez disso, provoque um atraso no processo. É possível que em concentração de até 1 g/L de furfural e HMF haja um aumento da produção de metano (BARAKAT *et al.*, 2012).

Figura 11: Transformação do furfural em álcool furfurílico.



Fonte: BELAY *et al.* (1997).

O álcool furfurílico é um dos intermediários na degradação do furfural por bactérias redutoras de sulfato. A única arqueia metanogênica que transforma o furfural em álcool furfurílico é a *Methanococcus deltae* pela redução de 2 elétrons (BELAY *et al.*, 1997). Essa transformação do furfural foi observada quando o mesmo não foi utilizado como única fonte de carbono e nem como substrato. Transformações similares a essa também foram observadas em bactérias entéricas (BOOPATHY *et al.*, 1993). Já as BRS metabolizam furfural e álcool furfurílico produzindo ácido acético, que pode ser eventualmente convertido em metano e CO₂ por arqueias metanogênicas acetoclásticas (BELAY *et al.*, 1997).

Além dos compostos inibitórios já mencionados, a inibição pelo produto (glicose) também deve ser considerada. Fernandes (2010) afirmou que o acúmulo de glicose é inibidor da hidrólise enzimática. Isso ocorre quando a concentração de glicose é muito alta, podendo reprimir atividade da celulase, conhecida como inibição “*feedback*”. Por outro lado, concentração baixa de glicose pode estimular a atividade da celulase. O efeito inibitório foi também observado para outros açúcares, como manose, xilose e galactose (Tabela 9). No entanto, a glicose foi o único açúcar que inibiu ambas as atividades β-glucosidase e celulase (XIAO *et al.*, 2004).

Tabela 9: Efeito inibitório da concentração de açúcares.

Concentração de açúcares	Redução da atividade	Referências
100 g/L de glicose	50% da hidrólise enzimática da celobiose	Xiao <i>et al.</i> (2004)
5 g/L de glicose	80% da atividade β -glucosidae	Oh <i>et al.</i> (2000)
20 g/L de glicose	Quase que completa	
30 g/L de glicose	atividade β -glucosidae foi de fato reduzida, mas a conversão da celobiose ainda ocorreu	Kadam <i>et al.</i> (2004)

Fonte: adaptado de Fernandes (2010)

Ainda segundo Fernandes (2010) não foram encontrados estudos sobre o efeito da glicose durante a hidrólise anaeróbia na ausência de enzima. Na digestão anaeróbia de resíduos complexos, a glicose geralmente não é detectada porque ela é imediatamente consumida pelas bactérias.

3.8. Fator de severidade

O fator de severidade expressa a medida da intensidade das condições de pré-tratamento em uma reação química (PEDERSEN; MEYER, 2010), servindo para comparar o efeito das condições de diferentes pré-tratamentos (PALMQVIST; HAHN-HÄGERDAL, 2000). Este fator é função principalmente do tempo e da temperatura de reação durante o pré-tratamento do material lignocelulósico e pode ser calculado pela Equação (1). A extensão da remoção da hemicelulose e da lignina varia consideravelmente entre vários pré-tratamentos termoquímicos, dependendo da severidade do pré-tratamento.

O aumento da temperatura aumenta a severidade do tratamento o que, em geral, aumenta a degradação da celulose. No entanto, a elevação da temperatura também pode resultar em aumento da degradação dos açúcares produzidos pela formação de subprodutos que causam a inibição dos microrganismos fermentativos. Logo, nem sempre um elevado fator de severidade é benéfico ao processo, pois apesar de otimizar a hidrólise do material pode também inibir a atividade biológica pela decomposição do material hidrolisado.

$$R_0 = t \times e^{\left(\frac{T-100}{14,78}\right)} \dots\dots\dots (1)$$

onde R_0 é o fator de severidade; t é o tempo de reação do pré-tratamento dado em minutos; T é a temperatura ($^{\circ}\text{C}$), 100 é a temperatura de referência ($^{\circ}\text{C}$). O valor 14,78 é uma constante arbitrária (ω) (adimensional), a qual se baseia na energia de ativação ao assumir uma cinética de pseudo primeira ordem (CARVALHEIRO *et al.*, 2009).

No entanto a Equação (1) não leva em conta que os catalisadores afetam a biomassa de forma diferente. Para resolver isto, Abatzoglou *et al.* (1992) desenvolveram a Equação (2), que considera o efeito de um catalisador ácido, adicionando a concentração de prótons ao final do pré-tratamento (PEDERSEN; MEYER, 2010).

$$R_0' = R_0 \times [H^+] \dots\dots\dots (2)$$

onde R_0' é o fator de severidade onde é considerado o efeito do catalizador e $[H^+]$ e a concentração de prótons ao final do pré-tratamento.

O logaritmo da Equação (2) dá origem a Equação (3).

$$\text{Log}R_0' = \text{Log}R_0 - \text{pH} \dots\dots\dots (3)$$

onde $\text{log}R_0'$ é o fator de severidade e pH = é medido após a reação.

O fator de severidade $\text{log}R_0'$ tem sido usado para comparar a ação de pré-tratamentos da biomassa lignocelulósica sobre a degradabilidade da celulose com relação à solubilização da xilana e redução de lignina (YANG; WYMAN, 2004). No entanto, este fator "favorece" o efeito do pH baixo. Ao comparar a degradabilidade da celulose como resultado de pré-tratamentos com valores de pH extremamente diferentes, deve-se, portanto, reconsiderar o uso da Equação (3). Quando o pH é aumentado por amônia, hidróxido de sódio ou de carbonato em pré-tratamento alcalino a celulose também se torna mais suscetível ao ataque enzimático, um efeito que não é considerado pela Equação (3). Assim, também deve ser mostrado que a influência do aumento do pH também afeta a severidade do pré-tratamento. A Equação (4) considera que pré-tratamentos ácidos e alcalinos afetam a degradabilidade da biomassa de forma igual, facilitando a comparação entre pré-tratamento, cujas reações ocorrem em pH ácidos ou básicos (PEDERSEN; MEYER, 2010).

$$\text{Log}R_0'' = \text{Log}R_0 + |\text{pH} - 7| \dots\dots\dots (4)$$

onde $\log R_o$ é o fator de severidade.

Betancur e Pereira Jr. (2010) estudaram o efeito da razão massa de substrato e volume de solução (entre 1:3, 3 e 1:1,5), do tempo de reação (entre 27 e 93 min) e da concentração de ácido (entre 0,5 e 1,75%) na hidrólise de bagaço de cana. Estes autores concluíram que o aumento da severidade até um valor de 7,3 beneficiou a hidrólise da xilose, mas que a partir desse valor, devido à degradação dos açúcares a furfural e HMF a eficiência de hidrólise diminuiu.

3.9. Considerações Gerais

Considerando-se que a quantidade de biomassa lignocelulósica despejada diariamente nos pátios das indústrias vem crescendo a cada ano, as quais apesar de aproveitadas para diversos fins, conforme mencionado neste trabalho, ainda representam impactos ambientais os quais, podem ser minimizados por meio do aproveitamento desses materiais para produção de uma energia limpa, o metano. No entanto a hidrólise ou a biodegradação de materiais lignocelulósicos apresenta diversas limitações, tais como: nível de polimerização (DP), teor de umidade, área disponível e teor de lignina. Esses fatores não podem ser analisados separadamente, pois um fator pode exercer influência sobre outro e a escolha do pré-tratamento adequado deve levar em conta esses aspectos, não deixando de considerar também as peculiaridades de cada biomassa a ser estudada, como por exemplo, a concentração de celulose, hemicelulose e lignina.

Cada pré-tratamento apresenta vantagens e limitações, no entanto sua escolha esta relacionada à característica da biomassa e da finalidade do hidrolisado. Se, por exemplo, a biomassa é rica em holocelulose, como é o caso do línter do algodão, e pretende-se maximizar a produção de metano, possivelmente o pré-tratamento com ácido diluído seja a alternativa ideal, pois além de solubilizar a hemicelulose apresenta menor geração de inibidores, quando comparado ao pré-tratamento de explosão à vapor, tornando a celulose mais acessível. No entanto a severidade aplicada ao pré-tratamento deve ser avaliada, de maneira a viabilizar a solubilização dos açúcares com a menor produção de produtos de degradação possível. Por outro lado, se a biomassa apresenta elevada fração de lignina, como é o caso do bagaço de cana-de-açúcar e a fibra do mesocarpo do dendê, pode-se adotar o pré-tratamento alcalino, pois além de possível aproveitamento da lignina têm-se a fibra rica em celulose e com elevada área superficial provocada pelo inchaço da fibra e conseqüentemente maior

biodegradabilidade permitindo maior rendimento em termos de produção de metano. Por outro lado a hidrólise alcalina da fibra bruta implica em perda de massa do substrato causado pela solubilização também da fração de hemicelulose, neste caso um pré-tratamento ácido ou hidrotérmico antes da hidrólise alcalina pode ser uma alternativa interessante.

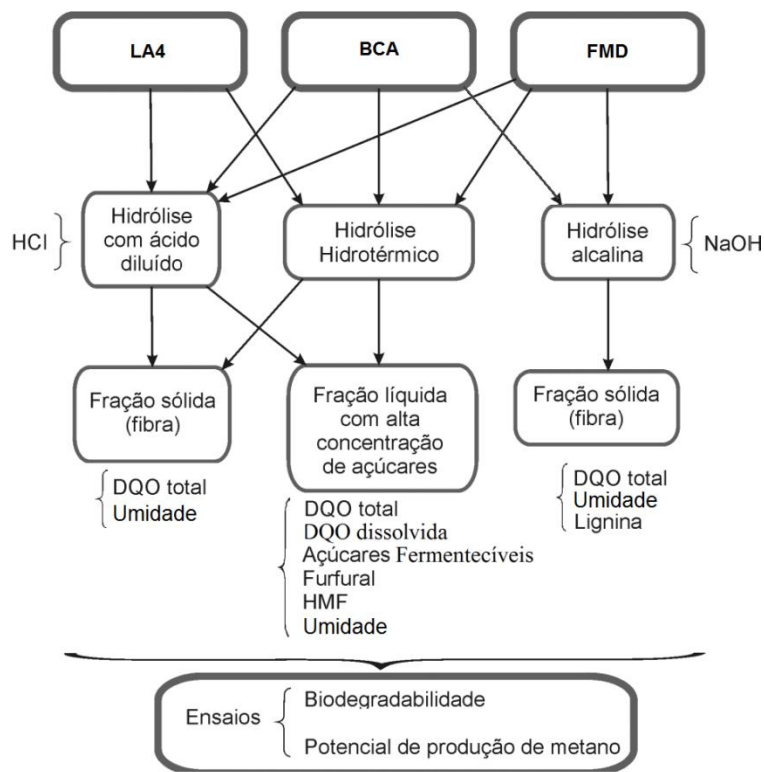
A escolha do inóculo para digestão anaeróbia, que esteja pré-adaptado a biomassa lignocelulósica, como por exemplo, rúmen pode maximizar a produção de metano, visto que um menor tempo de adaptação será necessário para que o microrganismo atinja máxima atividade metabólica.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Descrição da Pesquisa

Neste trabalho foi estudado o potencial de produção de metano a partir de diferentes resíduos oriundos da produção do biocombustível obtidos em diferentes regiões do país. Foram estudadas diferentes técnicas de pré-tratamento (hidrotérmico, hidrólise ácida e hidrólise alcalina), com a aplicação do planejamento experimental fatorial multivariado, em busca de uma maior biodegradabilidade anaeróbia e consequente maximização do processo de produção de biogás. Os resíduos estudados foram: bagaço de cana-de-açúcar (BCA), fibra do mesocarpo do dendê (FMD) e línter de algodão tipo 4 (LA4). A Figura 12 apresenta os diferentes pré-tratamentos aplicados em função do substrato, bem como os parâmetros investigados para caracterização dos hidrolisados para posterior teste de biodegradabilidade e potencial de produção de metano.

Figura 12: Esquema dos testes de pré-tratamentos físico-químicos, caracterização dos diferentes hidrolisados e ensaio de biodegradabilidade.



Fonte: Autora (2013)

4.2. Substratos

Conforme mencionado anteriormente, os substratos utilizados nessa pesquisa foram o bagaço de cana-de-açúcar, a fibra do mesocarpo do dendê e o línter de algodão, todos provenientes da cadeia produtiva dos biocombustíveis em diferentes regiões do país.

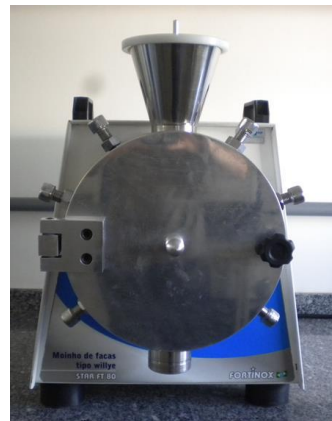
4.2.1. Bagaço de cana-de-açúcar

O bagaço de cana-de-açúcar foi fornecido por uma usina de álcool localizada em Pernambuco. Devido ao alto teor de umidade deste bagaço, ele foi congelado à -20°C e depois liofilizado em Liofilizador L202 LIO TOP do Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-colheita, conforme Figura 13a, moído em moinho de facas (Tecnal-TE 058, apresentado na Figura 13b) do Laboratório Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical, peneirado por uma malha de 18 mesh (1 mm), conforme apresentado na Figura 14, homogeneizado e armazenado em temperatura ambiente.

Figura 13: Liofilizador L202 LIO TOP (a) e Moinho de facas Tecnal-TE modelo 058 (b).



(a)



(b)

Fonte: Autora (2013).

Figura 14: Bagaço de cana-de-açúcar (a) bruto e (b) moído e peneirado.



Fonte: Autora (2013).

4.2.2. *Fibra do mesocarpo do dendê*

A fibra do mesocarpo do dendê (fibra da fruta do dendê) foi obtida em uma usina de biodiesel, após cozimento e prensagem dos frutos para extrair o óleo de palma. A fibra foi então moída num moinho de faca (Tecnal-TE 058), peneirada por uma malha de tamanho 18 mesh (1 mm), conforme apresentado na Figura 15, homogeneizada e armazenada à temperatura ambiente.

Figura 15: Fibra do mesocarpo de dendê (a) bruto e (b) moído e peneirado.

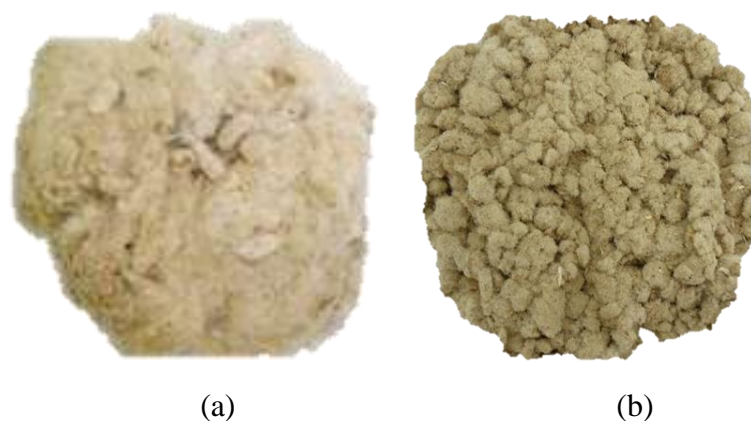


Fonte: Autora (2013).

4.2.3. *Línter do algodão (tipo 4)*

O línter do algodão utilizado nas análises desta pesquisa foi línter tipo 4 (LA4), fornecido pela Delta Opal do cerrado baiano. Para melhor homogeneização da amostra, o material foi submetido, inicialmente, a moagem no moinho de facas (Tecnal-TE 058) com uma peneira de 18 mesh (1 mm), conforme apresentado na Figura 16.

Figura 16: Línter de algodão (a) bruto e (b) moído e peneirado.



Fonte: Autora (2013).

4.3. *Pré-tratamentos físico-químicos*

Os pré-tratamentos físico-químicos foram realizados em reatores de alta pressão de 500 ml (Berghof modelo BR-300, 40 bar). Os reatores em aço inox eram capazes de manter a temperatura entre 30 e 230 °C através de uma jaqueta térmica e um módulo controlador de temperatura e tempo de reação, como ilustrado na Figura 17.

Figura 17: Mini-reator de alta pressão (Berghof modelo BR-300, 40 bar) utilizado no pré-tratamento termoquímico dos resíduos agroindustriais.



Fonte: Autora (2013).

A hidrólise hidrotérmica foi avaliada com base na produção específica de açúcares fermentescíveis (P_{GRT}), determinados em termos de Grupos Redutores Totais (GRT), de acordo com diferentes condições de temperatura (T), tempo de reação (t), e a razão massa de substrato em relação ao volume de água (m/v), visando maximizar a hidrólise da fração holocelulósica da fibra sem a utilização de catalisadores.

Todos os substratos foram submetidos a esse pré-tratamento. No total foram realizados 28 ensaios, sendo 8 para o bagaço de cana-de-açúcar onde foram investigadas as variáveis T e t (m/v = 1/10), 12 para a fibra do mesocarpo de dendê sendo investigadas as variáveis T, t e m/v e 8 para o línter de algodão onde foram investigadas as variáveis T e t (m/v = 1/20).

A hidrólise ácida com ácido clorídrico diluído foi avaliada com base nas variáveis dependentes P_{GRT} , HMF e furfural, sendo as variáveis independentes temperatura (T), concentração de ácido ([HCl]) e tempo de reação (t).

No total foram realizados 48 ensaios, sendo 18 para o bagaço de cana-de-açúcar e 18 para a fibra do mesocarpo do dendê onde em ambos os casos foram investigadas as variáveis T, t e [HCl] (m/v = 1/10). Para o línter de algodão foram realizados 12 ensaios, onde foram investigadas as variáveis independentes T e [HCl], tendo sido adotado um tempo de reação de 20 min e m/v de 1/20.

A hidrólise alcalina, com NaOH diluído, foi investigada apenas para a fibra do mesocarpo do dendê e o bagaço de cana-de-açúcar, em virtude do elevado teor de lignina em ambos os substratos. A variável dependente avaliada foi a produção específica de lignina (P_{LIG}), e as variáveis independentes estudadas foram temperatura (T), concentração de alcali ([NaOH]) e tempo de reação (t). No total foram realizados 36 ensaios (18 para cada substrato). Nos dois casos a razão m/v foi de 1/10.

Os ensaios foram realizados utilizando planejamento fatorial multivariado 2^n , onde n representa o número de variáveis independentes (para $n = 2$ o valor de α é 1,414 e para $n = 3$ o α é 1,682), com o ponto central em triplicata (nível 0) e seis pontos “estrela” (apenas quando coeficiente de regressão era significativo), como mostrado na Tabela 10. As concentrações de ácido ou base, tempo de reação, temperatura de reação e, no caso de pré-tratamento hidrotérmico, a massa de substrato em relação ao volume de água foram as variáveis independentes. P_{GRT} e P_{LIG} foram as variáveis dependentes. O programa Statgraphics® Centurion XV (StatPoint, EUA) foi utilizado para análise estatística e modelagem da superfície de resposta.

Tabela 10: Fatores e níveis dos diversos pré-tratamentos usados nos experimentos de hidrólise dos substratos

Fatores	Níveis				
	- α	-1	0	+1	+ α
Hidrólise Hidrotérmica (FMD)					
m/v: razão massa/volume		5	10	15	
t: Tempo de reação (min)		5	10	15	
T: Temperatura (°C)		180	190	200	
Hidrólise Hidrotérmica (BCA (m/v: 1/10) e LA4 (m/v:1:20))					
t: Tempo de reação (min)		10	20	30	
T: Temperatura (°C)		150	175	200	
Hidrólise ácida (FMD e BCA) (m/v:1/10)					
[HCl]: concentração do ácido (M)	0,63	0,9	1,3	1,7	1,97
t: Tempo de reação (min)	6,4	20	40	60	73,6
T: Temperatura (°C)	103,2	110	120	130	136,8
Hidrólise ácida (LA4) (m/v:1/20; t:20 min)					
[HCl]: concentração do ácido (M)	1	1,3	2	2,7	3
T: Temperatura (°C)	90	100	125	150	160
Hidrólise Alcalina (FMD e BCA) (m/v:1/10)					
[NaOH]: concentração do alcali (M)	0,8	1,0	1,3	1,6	1,8
t: Tempo de reação (min)	13	20	30	40	47
T: Temperatura (°C)	116	130	150	170	184

Fonte: Autora (2013).

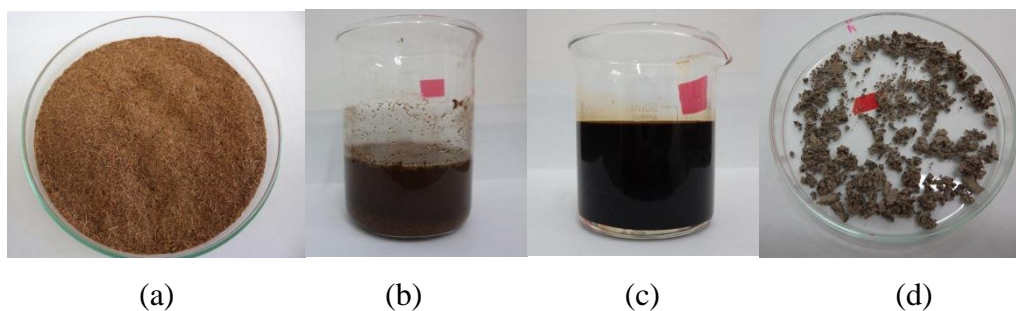
Os resultados foram também analisados a partir de gráficos de Pareto. O gráfico de Pareto tem aspecto de um gráfico de barras. Cada causa é quantificada em termos da sua contribuição para o problema e colocada em ordem decrescente de influência ou de ocorrência. Esta técnica é utilizada para quantificar a importância das causas (MONTGOMERY, 2004).

4.4. Análises Laboratoriais

Antes dos pré-tratamentos as fibras foram caracterizadas em termos das frações de holocelulose (hemicelulose e celulose), lignina, cinzas e extrativos, de acordo com um método modificado baseado nas normas TAPPI T211 om-02 (2002), T412 om-02 (1993), T204 cm-97 (1997), T222 om-02 (2002), T203 cm-09 (2009) (MORAIS *et al.*, 2010; YOKOYAMA *et al.*, 2002).

Após os pré-tratamentos, os hidrolisados eram filtrados em papel de filtro (28 μm), a fração líquida dos hidrolisados era caracterizada em termos de açúcares (GRT), Demanda Química de Oxigênio (DQO) total e dissolvida (filtrado em membrana 0,45 μm), concentrações de furfural e 5-HMF (para os pré-tratamentos hidrotérmico e ácido) e lignina (para o pré-tratamento alcalino). As frações sólidas dos hidrolisados dos melhores resultados dos diferentes pré-tratamentos foram caracterizadas em termos de sólidos totais (ST), DQO total, e conteúdo de lignina (para hidrólise alcalina). A Figura 18 apresenta a fibra do mesocarpo do dendê antes e após o ensaio de hidrólise ácida e alcalina (frações sólida e líquida).

Figura 18: Fibra do mesocarpo do dendê moída (a), hidrolisado dos pré-tratamentos ácido (b) e alcalino (fração líquida (c) e sólida (d)).



Fonte: Autora (2013).

Sólidos totais (ST), fixos (SF) e voláteis (SV), bem como umidade e DQO foram determinados de acordo com o no Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005). As frações de holocelulose (hemicelulose e celulose), lignina, cinzas e extrativos foram determinadas de acordo com um método modificado baseado nas normas TAPPI T211 om-02, T412 om-02, T204 cm-97, T222 om-02, T203 cm-09 (MORAIS *et al.*, 2010; YOKOYAMA *et al.*, 2002). O teor de lignina solúvel avaliado após hidrólise

alcalina foi determinado usando o método espectrofotométrico (ROCHA, 2000). O método de TAPPI 222 om-02 (2002) foi utilizado para determinação mais precisa da concentração de lignina, necessário para calcular a eficiência de remoção de lignina do melhor resultado do pré-tratamento alcalino.

Os açúcares totais, em termos de Grupos Redutores Totais (GRT), foram determinados pelo método do DNS (ácido 3,5-dinitrossalicílico) descrito por Miller (1959). As concentrações de furfural e HMF no hidrolisado foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC) (Varian, modelo 450 CG, Figura 19), sob as seguintes condições: coluna Agilent Zorbax SB C-18 mantida a 25 °C; detector ultravioleta/visível a 276 nm, tendo acetonitrila/água (2:8) com 1% de ácido acético como eluente em fluxo de 0,7 mL/min. O volume de amostra injetada foi de 20 µL. As amostras foram previamente filtradas em membrana de acetato de celulose ME25 com porosidade de 0,45 µm e diâmetro de 13 mm.

Figura 19: Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (Varian, modelo 450 CG).



Fonte: Autora (2013).

Para avaliar a cristalinidade, as análises de difração de Raios-X foram conduzidas em difratômetro RX Xpert Pro, modelo MPD, com tubo de cobalto (Co) em 40 kV e 40 mA na escala de 3° a 50° em 2θ".

4.5. Cálculo de hidrólise

O cálculo da eficiência de hidrólise em termos de produção de GRT foi realizado com base nos percentuais de celulose e hemicelulose, contidos no substrato bruto (antes da hidrólise), considerando-se que todo o conteúdo de holocelulose pode ser convertido em

açúcares. As Equações (5) e (6) foram usadas para calcular a massa de GRT no hidrolisado e a massa de GRT máxima, assumindo que toda a holocelulose foi hidrolisada (IRICK *et al.*, 1988).

$$M_{GRT} = [GRT] \times V_{Hid} \dots\dots\dots (5)$$

$$M_{GRT_Max} = \left(\frac{\%Cel}{FCC \times FPC \times 100} + \frac{\%Hem}{FCH \times FPH \times 100} \right) \times m_{seco} \dots\dots\dots (6)$$

onde M_{GRT} é a massa de GRT contida no substrato hidrolisado (g); $[GRT]$ é a concentração de GRT no substrato hidrolisado (g/L) e V_{Hid} é o volume final do substrato hidrolisado após o experimento (L); M_{GRT_Max} é a massa total de açúcares (em termos de GRT) (g), que constitui o substrato bruto; %Cel é o percentual de celulose no material bruto; %Hem é o percentual de hemicelulose no material bruto; FCC é o fator de conversão da celulose (0,9); FPC é o fator de perda por hidrólise da celulose (1,055); FCH é o fator de conversão da hemicelulose (0,88); FPH é o fator de perda por hidrólise da hemicelulose (1,155); m_{seco} é a massa de substrato bruto seco (g).

A eficiência de hidrólise em termos de GRT foi calculada por meio da Equação (7). A produção específica de GRT, com base na massa seca do substrato foi calculada pela Equação (8).

$$\eta_{GRT} = \frac{M_{GRT}}{M_{GRT_Max}} \dots\dots\dots (7)$$

$$P_{GRT} = \frac{M_{GRT}}{m_{seca}} \dots\dots\dots (8)$$

onde η_{GRT} é a eficiência de conversão em GRT a partir da fração holocelulósica do substrato bruto (%); P_{GRT} é a produção específica de GRT, com base na massa seca do substrato bruto (g GRT/g Subst).

O cálculo das eficiências de hidrólise em termos de lignina foi realizado baseando-se no percentual de lignina contida no substrato bruto (antes da hidrólise), sendo determinada de acordo com o método modificado com base nas normas TAPPI (MORAIS *et al.*, 2010;

YOKOYAMA *et al.*, 2002), conforme citado anteriormente. As Equações (9) e (10) foram usadas para cálculo da massa de lignina no substrato hidrolisado e a massa de lignina máxima, assumindo uma solubilização completa.

$$M_{\text{Lig_Hid}} = [\text{Lig}] \times V_{\text{Hid}} \dots\dots\dots (9)$$

$$M_{\text{Lig_Subst}} = \% \text{Lig} \times m_{\text{seco}} \dots\dots\dots (10)$$

onde $M_{\text{Lig_Hid}}$ é a massa de lignina contida no substrato hidrolisado (g); $[\text{Lig}]$ é a concentração de lignina no substrato hidrolisado (g/L), medida pelo método espectrofotométrico descrito anteriormente; V_{Hid} é o volume final do substrato hidrolisado após o experimento (L); $M_{\text{Lig_subst}}$ é a massa de lignina contida no substrato bruto (g), $\% \text{Lig}$ é o percentual de lignina contida no substrato bruto.

Quando o método espectrofotométrico foi utilizado para a determinação de lignina, a eficiência de solubilização foi calculada através Equação (11). A produção de específica lignina foi calculada usando a Equação (12).

$$\eta_{\text{Lig}} = \frac{M_{\text{Lig_Hid}}}{M_{\text{Lig_Subst}}} \dots\dots\dots (11)$$

$$P_{\text{Lig}} = \frac{M_{\text{Lig_Hid}}}{m_{\text{seca}}} \dots\dots\dots (12)$$

onde η_{Lig} é a eficiência de solubilização da lignina contida no substrato bruto (%); P_{Lig} é a produção específica de lignina, com base na massa seca de substrato bruto (g Lig/g material seco).

A eficiência de solubilização de lignina do ensaio de máximo rendimento foi calculada através das Equações (13) e (14).

$$\% \text{Lig}_{\text{Hid_MSB}} = \frac{\% \text{Lig}_{\text{Hid}} \times \% \text{Hol}_{\text{SB}}}{(1 - \% \text{Lig}_{\text{Hid}})} \dots\dots\dots (13)$$

$$\eta_{\text{Lig}} = \frac{\% \text{Lig}_{\text{SB}} - \% \text{Lig}_{\text{Hid_MSB}}}{\% \text{Lig}_{\text{SB}}} \dots\dots\dots (14)$$

onde %Lig_{Hid_MSB} é o percentual de lignina no hidrolisado com base na massa de substrato bruto (%); %Lig_{Hid} é o percentual de lignina no hidrolisado com base na massa de material hidrolisado; %Hol_{SB} é o percentual de holocelulose no substrato bruto (%); %Lig_{MB} é o percentual de lignina no hidrolisado com base na massa de substrato hidrolisado (%).

O rendimento de hidrólise (%r_{Hid}) representa o percentual de fibra recuperada após a hidrólise, o %r_{Hid} foi calculado baseando-se na razão entre a massa de substrato bruto seco e a massa de substrato hidrolisado seco, conforme Equação (15).

$$\% r_{\text{Hid}} = \frac{m_{\text{Seco}}}{m_{\text{hid_seco}}} \dots\dots\dots (15)$$

onde m_{hid_seco} é a massa de substrato hidrolisado seco.

4.6. Massa de Substrato para o Ensaio de Biodegradabilidade

A massa de substrato a ser adicionada nas garrafas era equivalente a 1,5 gDQO/L. Sabendo-se que o frasco de AME tem um volume útil de 200 ml, deve-se adicionar uma massa equivalente à 0,3 gDQO no frasco (DQO_{Frasco}). Desta forma, calcula-se a massa de substrato que garantirá essa DQO, conforme apresentado na Equação (16).

$$M_{\text{Total}} = \frac{\text{DQO}_{\text{Frasco}}}{\text{DQO}_{\text{Total}}} \dots\dots\dots (16)$$

onde M_{Total} = massa total da solução após a hidrólise (g); DQO_{Frasco} = DQO à ser adicionada no frasco (g/kg); DQO_{Total} = DQO total do substrato (g/kg);

No entanto o substrato oriundo dos pré-tratamentos ácida e hidrotérmico era uma mistura heterogênea composta por uma fração sólida e uma fração líquida, na proporção representativa da solução originária das hidrólises, conforme Equação (17).

$$\text{DQO}_{\text{Total}} = \frac{(M_{\text{Sol}} \times \text{DQO}_{\text{Sol}}) + (M_{\text{Liq}} \times \text{DQO}_{\text{Liq}})}{M_{\text{Total}}} \dots\dots\dots (17)$$

M_{Sol} = massa referente à fração de sólido do hidrolisado (g); DQO_{Sol} = DQO da fração sólida (g/kg); M_{Liq} = massa da fração líquida do hidrolisado (g); DQO_{Liq} = DQO da fração líquida (g/kg).

4.7. Biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano

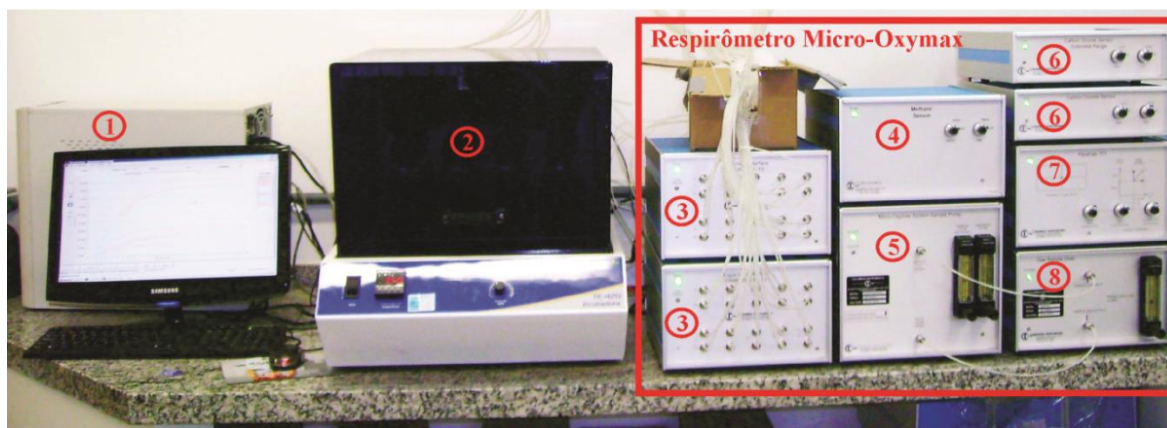
Os hidrolisados dos melhores resultados dos pré-tratamentos foram avaliados em termos de biodegradabilidade e potencial produção de metano. Depois dos pré-tratamentos ácido e hidrotérmico, os hidrolisados foram neutralizados com uma solução de NaOH 2 M. O hidrolisado do pré-tratamento alcalino foi lavado com 200 mL de NaOH com a mesma concentração utilizada para o pré-tratamento, de forma a remover a lignina remanescente no substrato, em seguida lavado com água destilada até pH neutro. Apenas a fração de sólidos foi utilizada nos ensaios de biodegradabilidade para evitar inibição microbiana proveniente da lignina solubilizada.

A metodologia de avaliação da biodegradabilidade anaeróbia foi baseada em ensaios de atividade metanogênica específica (AME) (SOTO *et al.*, 1993). Os testes foram realizados em frascos de 0,31 L (volume útil de 0,2 L), preenchidos com inóculo (cerca de 1,4 g SV/L), substrato (1,5 g DQO/L), água destilada e solução tampão (1,0 g/L, de NaHCO_3). Os nutrientes e elementos traços foram adicionados para evitar deficiências durante o teste nas seguintes concentrações (g/L): NH_4Cl (0,28), K_2HPO_4 (0,25), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,10), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,01), e CaCO_3 (0,60); solução de elementos traços (1 mL/L) contendo as seguintes substâncias (mg/L): $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2000), H_3BO_3 (50), ZnCl_2 (50), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (38), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (500), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (50), $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (90), e $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2000). Os testes foram realizados ao longo de 30 dias a 35 ± 1 °C, sob agitação de cerca de 120 rpm. Frascos controle (sem substrato) foram utilizados para o monitoramento do biogás produzido pela respiração endógena.

Para garantir um maior diversidade da população microbiana utilizou-se um inóculo constituído por uma mistura em partes iguais de líquido do rúmen de caprinos e lodo proveniente de três reatores anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente tratando (i) esgoto doméstico, (ii) efluente de cervejaria, (iii) glicerol com nutrientes. Os ensaios foram realizados em um respirômetro anaeróbio Micro-Oximax (Columbus Instruments, USA), conforme apresentado na Figura 20, onde a produção de biogás foi monitorada automaticamente através de sensores de pressão, e o teor de metano analisado por um sensor

de infravermelho. Todas as determinações físico-químicas seguiram os métodos descritos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Figura 20: Respirômetro anaeróbio Micro-Oxymax, adaptado para os ensaios de biodegradabilidade anaeróbia.



(1) PC, (2) Incubadora, (3) Módulos de portas de entrada para conexão com os frascos de reação, (4) Sensor de metano, (5) Sistema de bombeamento das amostras, (6) Sensor de CO₂, (7) Sensor de O₂, (8) desumidificador de amostras gasosas.

Fonte: Autora (2013).

A biodegradabilidade, que é o máximo percentual de DQO do substrato que foi convertido a metano, foi calculada de acordo com a Equação (18). O PPM foi calculado com base na produção de metano acumulado no final do ensaio de biodegradabilidade e na massa de substrato utilizado no ensaio, de acordo com a Equação (19).

$$\text{Bio (\%)} = \frac{(\text{DQO}_{\text{CH}_4\text{Subst}}^{30} - \text{DQO}_{\text{CH}_4\text{controle}}^{30})}{\text{DQO}_{\text{Subst}}^0} * 100 \dots\dots\dots (18)$$

$$\text{PPM} = \frac{(V_{\text{CH}_4\text{Subst}}^{30} - V_{\text{CH}_4\text{Controle}}^{30})}{M_{\text{Subst}}} \dots\dots\dots (19)$$

onde Bio (%) é a biodegradabilidade da amostra (%); $\text{DQO}_{\text{CH}_4\text{Subst}}^{30}$, o volume total de metano produzido no frasco contendo substrato, em termos de DQO (g), considerando-se 0,395 L CH₄/gDQO, a 35°C e 1 atm; $\text{DQO}_{\text{CH}_4\text{controle}}^{30}$ é o volume total de metano produzido no frasco controle, em termos de DQO (g); $\text{COD}_{\text{Subst}}^0$ a massa inicial de substrato em termos

de DQO (g), adicionada a cada um dos reatores, o PPM é o potencial de produção de metano (L_{CH_4}/kg Subst); $V_{CH_4Subst}^{30}$: volume total de metano ($L CH_4$) produzido após 30 dias, no reator contendo substrato; $V_{CH_4Controle}^{30}$ é o volume total de metano ($L CH_4$) produzido após 30 dias no reator de controle (sem substrato); M_{Subst} é a massa inicial de substrato no frasco (kg).

A eficiência de hidrólise da digestão anaeróbia foi calculada com base na produção de metano e nos compostos orgânicos dissolvidos. A última foi determinada em termos de DQO dissolvido. A eficiência de hidrólise foi calculada conforme apresentado na Equação (20) (Zeeman, 1991).

$$H(\%) = \frac{[(DQO_{CH_4Subst}^{30} - DQO_{CH_4Controle}^{30}) + (DQO_{DissSubst}^{30} - DQO_{DissControle}^{30}) - DQO_{DissSubst}^0] - DQO_{DissSubst}^0}{DQO_{Total}^0} \times 100 \dots\dots\dots (20)$$

onde $H(\%)$ é a eficiência de hidrólise (%); $DQO_{DissSubst}^{30}$ é a massa de matéria orgânica dissolvida no frasco contendo o substrato, após 30 dias em termos de DQO (g), em DQO (g/g), em $t = 30$ no frasco contendo o substrato; $DQO_{DissControle}^{30}$ é a massa de matéria orgânica dissolvida no recipiente de controle após 30 dias em termos de DQO (g); e DQO_{Total}^0 é a concentração do total de substrato acrescentado, em DQO (g), em $t = 0$ no reator contendo substrato.

4.8. Índice de Cristalinidade

O índice de cristalinidade das fibras foi calculado a partir da Equação (21), de acordo com o método empírico de Segal *et al.* (1959).

$$I_c = \frac{(I_{(002)} - I_{(am)})}{I_{(002)}} \times 100 \dots\dots\dots (21)$$

onde I_c = índice de cristalinidade (%); $I_{(002)}$ = pico de intensidade de máxima difração, perto de $2\theta = 26^\circ$; $I_{(am)}$ = pico de intensidade de difração do material amorfo, perto de $2\theta = 22^\circ$.

4.9. Fator de severidade

O fator de severidade foi calculado segundo a Equação (4), na qual as severidades de pré-tratamentos em vários valores de pH são facilmente comparadas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. *Fibra do Mesocarpo do Dendê*

Os resultados de eficiência de solubilização de açúcares e formação de inibidores obtidos a partir do pré-tratamento hidrotérmico e com ácido clorídrico, bem como as eficiências de remoção de lignina obtidas com a fibra do mesocarpo do dendê (FMD) pré-tratada com hidróxido de sódio, serão apresentados a seguir.

5.1.1. *Composição química da FMD*

Antes dos pré-tratamentos ácido, alcalino e hidrotérmico, a FMD foi caracterizada em termos de celulose (21,41%), hemicelulose (21,77%) e lignina (30,33%), além de conter 7,38% de umidade, 8,63% de cinzas e 9,99% de outros extrativos.

5.1.2. *Pré-tratamento hidrotérmico da FMD*

Os resultados de hidrólise hidrotérmica da FMD foram verificados com base na produção específica de GRT. Os valores das variáveis dependente (P_{GRT}) e independentes (T, t e m/v), e os resultados de [GRT], η_{GRT} , HMF e Furfural dos diversos experimentos de hidrólise estão apresentados na Tabela 11.

A Figura 21 mostra os diagramas de Pareto, gerados a partir dos resultados apresentados na Tabela 11, que representam os efeitos estimados de acordo com a sua ordem de significância para o modelo que representa a solubilização dos açúcares a partir da fração holocelulósica contida nos substratos estudados. O coeficiente de determinação ($R^2 = 0,33$) obtido por análise de regressão foi muito baixo, o que indica que o modelo de superfície de resposta não é adequado para a determinação do ponto ótimo.

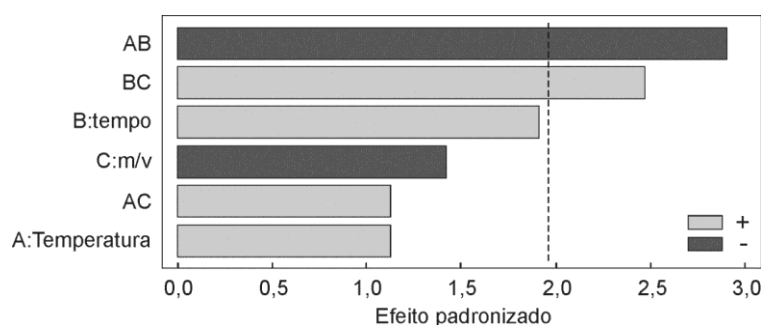
Tabela 11: Avaliação da hidrólise hidrotérmica como pré-tratamento da FMD.

Ensaio	t (min)	T (°C)	m/v (%)	P _{GRT} (g GRT/g Subst)	[GRT] (g/L)	η _{GRT} (%)	HMF (g/L)	Furfural (g/L)	Sev.
1	5	180	5	0,058	3,95	12,48	0,01	0,01	5,58
2	15	180	5	0,121	7,65	25,76	0,26	0,39	6,06
3	5	200	5	0,125	8,30	26,67	0,13	0,12	7,09
4	15	200	5	0,054	3,69	11,44	0,02	0,04	7,71
5	5	180	15	0,069	10,99	14,65	0,11	0,11	5,53
6	15	180	15	0,074	11,67	15,78	0,11	0,13	6,10
7	5	200	15	0,059	9,83	12,57	0,38	0,82	6,12
8	15	200	15	0,116	20,87	24,81	0,40	0,78	7,90
9	10	190	10	0,098	12,69	20,98	0,15	0,17	6,70
10	10	190	10	0,087	9,38	18,64	0,12	0,26	6,25
11	10	190	10	0,093	11,85	19,91	0,15	0,20	6,13
CO _A	5	200	5	0,125	8,3	26,67	0,13	0,12	7,09

CO_A: Condição ótima adotada; Sev: severidade

Fonte: Autora (2013).

Figura 21: Diagrama de Pareto dos ensaios de hidrólise hidrotérmica da FMD, com os efeitos de T, t e m/v em P_{GRT}.



Fonte: Autora (2013).

Observa-se na Figura 21 que, nas condições estudadas, as variáveis independentes (T, t e razão m/v) não apresentaram nenhum efeito significativo e a produção de açúcares é estatisticamente semelhante em todas as experiências ($p > 0,05$ em todos os casos).

No entanto, a interação das variáveis tempo e temperatura apresentou efeito linear negativo sobre o P_{GRT}, indicando que, para aumentar a solubilização dos açúcares, o aumento

do tempo de reação deve ser acompanhado de diminuição da temperatura, ou vice-versa. Neste sentido a condição de máxima severidade (7,9 no ensaio 8), onde foram usados maiores temperatura e tempo de reação, não obteve maior eficiência de hidrólise. Provavelmente, nessas condições há um aumento da concentração de ácido acético, que se origina a partir do grupo acetil, que associado às condições mais severas de temperatura, provoca uma degradação catalítica dos açúcares produzidos, formando HMF e furfural, e por sua vez estes podem ainda estar sendo degradados a ácido fórmico e levulínico, com a consequente redução da P_{GRT} (PALMQVIST; HAHN-HÄGERDAL, 2000; MOSIER *et al.*, 2005).

O efeito da interação das variáveis "t" e "m/v" sobre P_{GRT} foi positivo, indicando que a diminuição do tempo de reação deve ser acompanhado pela diminuição da massa das fibras em relação ao volume água a fim de maximizar a solubilização de açúcares. Isso porque um menor tempo de reação implica também em menor degradação dos açúcares, da mesma maneira que uma menor razão m/v possibilita menor formação de ácido acético e consequentemente menor agressividade e formação de HMF e furfural. As variáveis "t" e "m/v" não apresentarem efeito linear significativo, neste caso os menores valores foram adotados para definição do ponto ótimo. Assim como, a maior temperatura, em virtude do efeito negativo significativo entre o tempo e a temperatura.

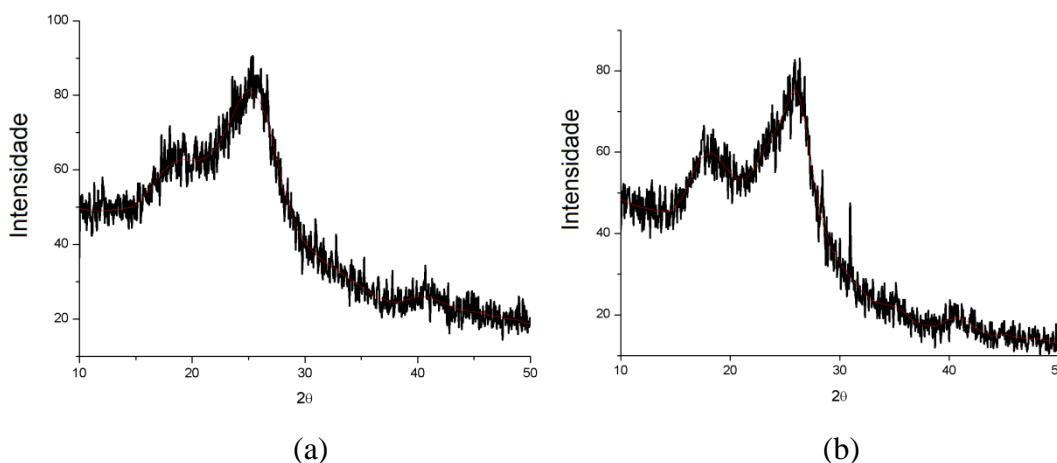
Como as variáveis independentes (T, t e m/v) não apresentaram qualquer efeito significativo, os valores desses parâmetros para o pré-tratamento hidrotérmico da FMD foram estimadas usando não apenas as condições ótimas estabelecidas pelo modelo, mas também as condições utilizadas por outros pesquisadores (LASER *et al.*, 2002; DÍAZ *et al.*, 2010). As condições adotadas para maximizar a solubilização de açúcares e melhorar a biodegradabilidade anaeróbia da FMD foram: temperatura de 200 °C, tempo e reação de 5 min, e m/v de 5%, seguindo a hipótese de que a temperatura mais alta está relacionada com um menor tempo de reação (efeito negativo), e a redução do tempo de reação está relacionada com uma menor razão m/v (efeito positivo). Sob essas condições foi possível obter η_{GRT} de 26,7% e P_{GRT} de 0,125 g GRT/g Substrato.

Considerando-se que o pré-tratamento hidrotérmico solubiliza principalmente a fração hemicelulose (SUN; CHENG, 2002), e que esta representa 50,43% da fração de holocelulose, uma eficiência de 26,7% representa uma solubilização de 51% da fração de hemicelulose.

A FMD antes e após hidrólise hidrotérmica apresentou um padrão de difração característico da Celulose I (JCPDS, 1986), com picos em aproximadamente 17° (plano 101);

19° (plano 101); 26°(plano 002) e 41°(plano 040). Foi observado que os picos 17° (plano 101) e 19° (plano 101) ficaram sobrepostos, isso se deve a interferência dos componentes amorfos, conforme evidenciado nos perfis de difração de raio-X apresentados na Figura 22. O índice de cristalinidade (I_C) da FMD após pré-tratamento hidrotérmico foi 29%, valor ligeiramente superior à fibra bruta (23%), em virtude da remoção parcial do material amorfo (hemicelulose).

Figura 22: Perfis de difração de raios-X da FMD antes (a) a após (b) hidrólise hidrotérmica.



Fonte: A autora (2013)

Observa-se nos difratogramas que, após a hidrólise (Figura 22b), houve uma melhor definição dos picos 19° (plano 101) e 26° (plano 002), o que se deu pela remoção de parte da fração amorfa (hemicelulose) ocasionando um aumento do I_C da fibra após a hidrólise.

De acordo com os resultados da Tabela 11, as concentrações de furfural e HMF produzido em todos os ensaios de hidrólise foram abaixo das concentrações inibitórias relatados na literatura. Conforme Boopathy (2009), as arqueias metanogênicas *Methanococcus sp.* apresentaram um melhor crescimento em presença de furfural, em concentrações de até 1,4 g furfural/L, em relação às culturas que não receberam furfural, indicando possível estimulação do crescimento nestas concentrações. Entretanto, as culturas que receberam concentrações a partir de 2,4 g furfural/L foram inibidas.

Cao *et al.* (2010) estudaram o efeito de inibidores derivados de biomassa lignocelulósica sobre o crescimento e produção de hidrogênio por *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16 e constataram que concentrações de 0,5 g furfural/L e 0,5 g HMF/L não causaram efeito inibitório sob a produção de hidrogênio. É possível que

estes subprodutos da degradação dos açúcares não inibam a atividade metabólica dos microrganismos anaeróbios permanentemente, em vez disso, provoque um atraso no processo (inibição temporária) e, em concentração de até 1 g/L de furfural e HMF, um aumento da produção de metano pode ser esperado (BARAKAT *et al.*, 2012).

5.1.3. Pré-tratamento Ácido da FMD

Os valores das variáveis independentes (t , $[HCl]$ e T) e dependente (P_{GRT}) e os resultados de $[GRT]$, η_{TRG} , HMF e furfural são apresentados na Tabela 12.

A Figura 23 mostra o diagrama de Pareto, onde todas as variáveis apresentaram efeito significativo negativo sobre P_{GRT} . Esta é uma indicação de que quanto menores os valores dos diversos parâmetros de pré-tratamento (temperatura, tempo de reação e concentração de ácido), maior a produção específica de açúcares. Assim, sob as condições estudadas, o aumento da temperatura provoca efeito negativo sobre a concentração final de açúcares, quando associado com um aumento de $[HCl]$ e vice-versa.

De fato, o aumento da severidade, causada pelo aumento de mais de um dos parâmetros de pré-tratamento, pode levar a uma maior degradação de açúcares a furfural e HMF. No entanto, nenhuma das experiências resultou em concentrações de furfural e HMF que causem inibição biológica.

Observa-se na Figura 23 que a variável “ T ” apresentou maior efeito linear negativo em P_{GRT} , evidenciando que a temperatura é, provavelmente, a principal responsável pela degradação dos açúcares. O efeito quadrático negativo da variável “ t ” evidencia que há um ponto de máxima solubilização de açúcares para um determinado tempo. Considerando que a interação da temperatura com a $[HCl]$ foi negativa e que a temperatura causou maior efeito negativo, deve-se então optar por uma menor temperatura e maior concentração de ácido.

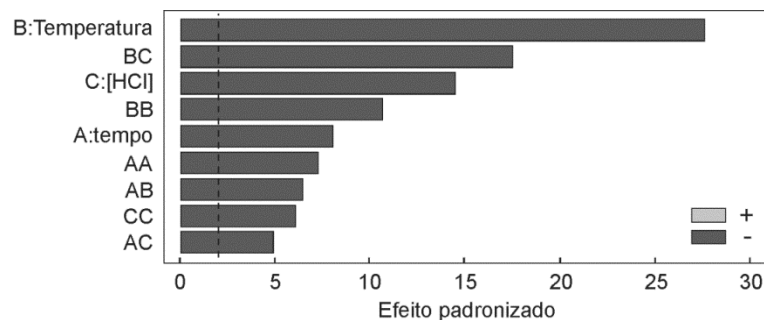
Tabela 12: Avaliação da hidrólise ácida como pré-tratamento da FMD.

Ensaio	t (min)	T (°C)	[HCl] (M)	P _{RTG} (g GRT/g Subst)	[GRT] (g/L)	η _{GRT} (%)	HMF (g/L)	Furfural (g/L)	Sev.
1	20	110	0,9	0,212	19,92	45,4	0,04	0,44	8,06
2	60	110	0,9	0,259	23,77	55,4	0,07	0,68	8,53
3	20	130	0,9	0,264	24,49	56,4	0,13	0,77	8,64
4	60	130	0,9	0,226	20,51	48,4	0,18	1,12	9,12
5	20	110	1,7	0,265	24,19	56,7	0,06	0,66	8,60
6	60	110	1,7	0,238	21,30	51,0	0,08	0,94	9,07
7	20	130	1,7	0,154	14,12	32,9	0,16	1,16	9,18
8	60	130	1,7	0,121	10,86	25,9	0,22	1,24	9,66
9	40	120	1,3	0,242	22,12	51,7	0,17	1,27	9,03
10	40	120	1,3	0,247	22,32	52,8	0,09	0,93	9,03
11	40	120	1,3	0,252	22,75	53,9	0,13	1,14	8,93
12	6,4	120	1,3	0,234	21,43	50,1	0,06	0,64	8,07
13	73,6	120	1,3	0,176	15,31	37,5	0,16	1,22	9,13
14	40	103	1,3	0,280	26,00	59,8	0,06	0,55	8,36
15	40	138	1,3	0,101	9,32	21,6	0,22	1,40	9,39
16	40	120	0,61	0,235	22,58	50,2	0,10	0,83	8,53
17	40	120	2	0,185	16,89	39,6	0,13	1,23	8,89
CO _M	34	103	1,97	0,293					
CO _E	34	103	1,97	0,263	23,77	56,2	0,05	1,17	8,62

CO_M – Condição ótima estabelecida pelo modelo; CO_E – Condição ótima experimental; Sev.: severidade.

Fonte: Autora (2013).

Figura 23: Diagrama de Pareto dos ensaios de hidrólise ácida da FMD, com os efeitos de T, t e [HCl] relacionados ao PGRT.

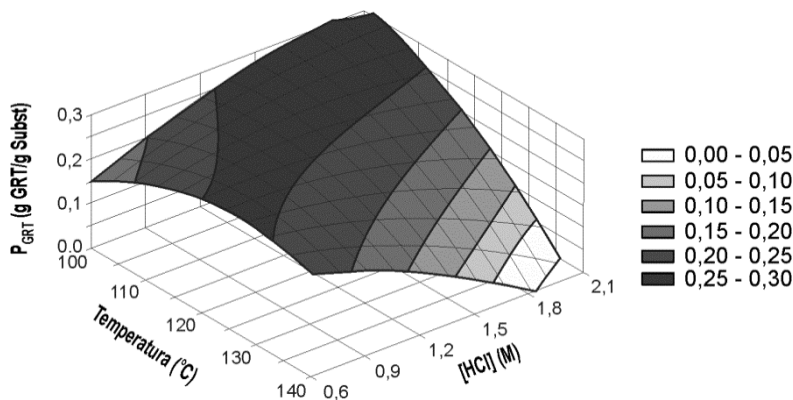


Fonte: Autora (2013).

O coeficiente de determinação ($R^2=0,89$), obtido na análise de regressão foi relativamente elevado, e a condição ótima para a hidrólise ácida pode ser calculada a partir da derivada da Equação (22), que representa o modelo estatístico de uma superfície de resposta com P_{GRT} em função de "t", "T" e "[HCl]". Dessa maneira, a condição que maximiza a solubilização de açúcares, calculada a partir da Equação (22), foi: tempo de reação de 34 min, temperatura de 103 °C e [HCl] de 1,97 M. A Figura 22 mostra a superfície de resposta que representa graficamente a Equação (22), com P_{GRT} em função de T e [HCl], considerando-se $t = 34$ min.

$$P_{GRT} = -3,1844 + 0,0098 \times t + 0,0468 \times T + 1,067 \times [HCl] - 0,000027 \times t^2 - 0,000057 \times t \times T - 0,0011 \times t \times [HCl] - 0,00016 \times T^2 - 0,0077 \times T \times [HCl] - 0,056 \times [HCl]^2 \dots\dots\dots (22)$$

Figura 24: Superfície de resposta de acordo com a Equação (22), que descreve a produção específica de açúcares provenientes da hidrólise ácida da FMD em função de T e [HCl] para $t = 34$ min.

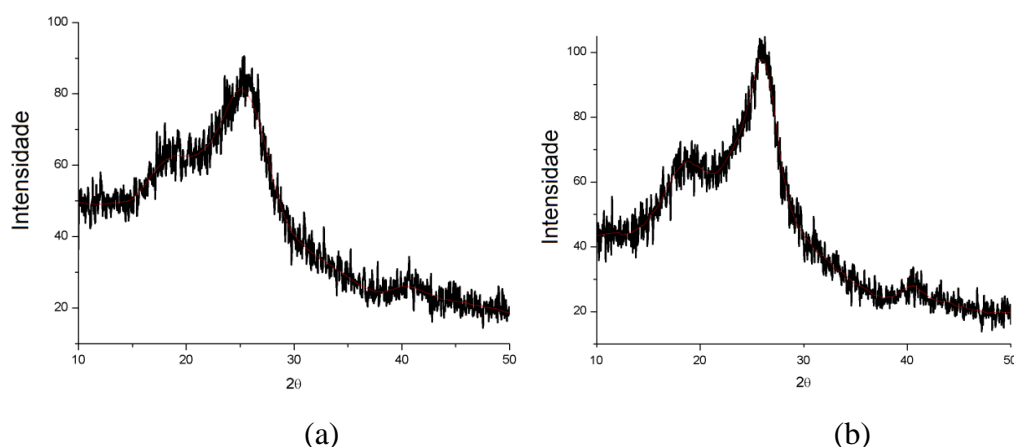


Fonte: Autora (2013).

Nestas condições, o resultado do modelo para P_{GRT} foi 0,293 g/g Subst. Outro ensaio usando estas condições foi realizado a fim de comparar os resultados experimentais com os calculados. O valor encontrado para P_{GRT} experimental foi 0,263 gGRT/g Subst, conforme mostrado na Tabela 12, que é bastante próximo do previsto pelo modelo, com um intervalo de confiança de 95%. Os resultados apresentados na Tabela 12 indicam que quando a severidade é maior que 8,5 há uma redução da concentração de açúcares e consequentemente maior geração de subprodutos da degradação.

Sabendo-se que a eficiência de hidrólise da fração holocelulósica foi de aproximadamente 56,16%, e considerando-se que o pré-tratamento com ácido diluído remove especialmente a fração de hemicelulose da biomassa (RAMOS, 2003; PEDERSEN *et al.*, 2010) e que a fração de hemicelulose da FMD estudada corresponde a 50,43% da fração de holocelulose, pode-se então estimar que provavelmente a totalidade da hemicelulose e parte da celulose foram hidrolisadas, o que promoveu um considerável aumento do índice de cristalinidade da fibra (de 23 para 36%). A Figura 25 apresenta os perfis de difração de raio-X das amostras de FMD antes e após hidrólise ácida. As fibras apresentaram um padrão de difração característico da Celulose I (JCPDS, 1986), com picos em aproximadamente 17° (plano 101); 19° (plano 101); 26°(plano 002) e 41°(plano 040). É possível observar que os picos 17° (plano 101) e 19° (plano 101) (Figura 25b) apresentam-se mais distintos, diferente do que foi observado para a FMD após hidrólise hidrotérmica, isso se deve a menor interferência dos componentes amorfos (hemicelulose), promovendo um aumento do I_C .

Figura 25: Perfis de difração de raios-X da FMD antes (a) a após (b) hidrólise ácida.



Fonte: Autora (2013).

5.1.4. Pré-tratamento alcalino da FMD

Os valores das variáveis independentes (T , t e $[NaOH]$) e dependente (P_{LIG}), e os resultados de $[Lig] \eta_{Lig}$ estão apresentados na Tabela 13. A Figura 26 mostra o diagrama de Pareto, onde é possível observar que as variáveis " t " e " T " apresentaram efeito linear positivo, assim como os efeitos quadráticos. Isto mostra que, quanto maior a temperatura e mais longo o tempo de reação, maior à extração lignina, mas com uma tendência a diminuir a partir de certo valor, gerando um P_{LIG} máximo.

A redução do teor lignina no hidrolisado, quando há aplicação de altos valores de "t" e "T" (fator de severidade elevado), ocorre devido à sua degradação para os compostos fenólicos, tais como: ácido 4-hidroxibenzóico, originado na ruptura de ligações éster, que liga os grupos hidroxilo do álcool cinâmico; e o siringaldeído e ácido siríngico que são originados a partir da degradação das unidades siringilpropano (JÖNSSON *et al.*, 1998). A variável [NaOH] causou um efeito linear positivo significativo sobre P_{LIG} (p < 0,05), portanto, quanto maior a concentração, maior a remoção de lignina.

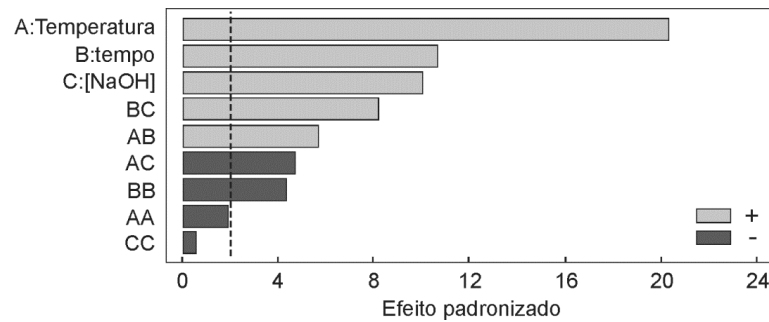
Tabela 13: Avaliação da hidrólise alcalina como pré-tratamento da FMD.

Ensaio	t (min)	T (°C)	[NaOH] (M)	Plig (g Lig/g Subst)	[Lig] (g/L)	Sev.
1	20	130	1	0,27	23,24	7,48
2	20	170	1	0,33	30,24	8,36
3	40	130	1	0,24	21,91	7,59
4	40	170	1	0,37	32,75	8,66
5	20	130	1,6	0,29	25,72	7,94
6	20	170	1,6	0,30	27,10	9,04
7	40	130	1,6	0,36	31,70	8,14
8	40	170	1,6	0,43	38,57	9,23
9	30	150	1,3	0,34	30,45	8,43
10	30	150	1,3	0,35	31,79	8,40
11	30	150	1,3	0,34	30,87	8,42
12	30	116	1,3	0,24	22,03	7,55
13	30	184	1,3	0,43	38,53	9,15
14	13	150	1,3	0,29	25,92	7,93
15	47	150	1,3	0,35	31,20	8,68
16	30	150	0,8	0,31	28,02	8,05
17	30	150	1,8	0,38	34,55	8,82
CO _M	47	183	1,8	0,52		
CO _E	47	183	1,8	0,41	37,71	9,88

CO_M – Condição ótima estabelecida pelo modelo; CO_E – Condição ótima experimental; Sev.: severidade.

Fonte: Autora (2013).

Figura 26: Gráfico dos efeitos de T, t e [NaOH] relacionados ao P_{GRT} para os ensaios de hidrólise ácida da FMD.



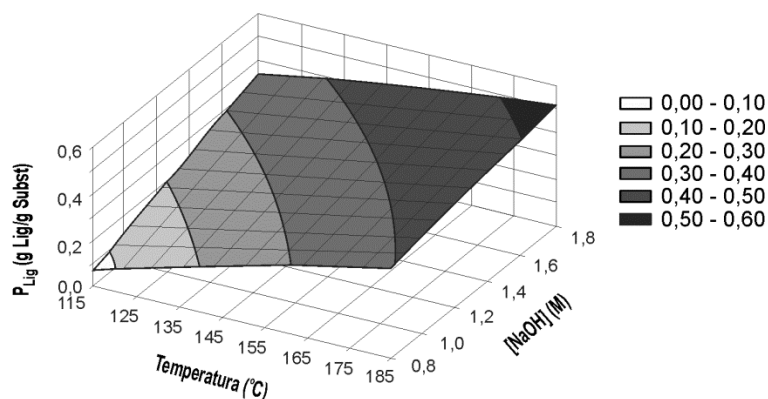
Fonte: Autora (2013).

O coeficiente de determinação (R^2) obtido da análise de regressão foi de 0,96, o que mostra que a Equação (23) pode ser utilizada como modelo de superfície de resposta, com P_{LIG} em função de "t", "T" e "[NaOH]", como mostra a Figura 27. A condição ideal para a hidrólise alcalina foi calculada a partir da derivada da Equação (23), e o resultado foi: Tempo de reação de 47 min, temperatura de 184 °C e [NaOH] de 1,80 M. Nestas condições, o resultado do modelo para P_{LIG} foi de 0,52 gLig/g Subst.

$$P_{Lig} = -0,273 + 0,0059 \times T - 0,0137 \times t + 0,2011 \times [NaOH] - 0,00001 \times T^2 + 0,00008 \times T \times t - 0,0022 \times T \times [NaOH] - 0,0001 \times t^2 + 0,0077 \times T \times [NaOH] - 0,0133 \times [NaOH]^2 \dots (23)$$

O valor encontrado para P_{LIG} experimental foi de 0,41 gLig/g Subst, o que representa 90,9% do total de lignina na fibra, de acordo com a Equação (14). A diferença entre os resultados experimental e o calculado pela Equação (23) foi, provavelmente, devido ao método para a determinação de lignina, cujos dados foram utilizados para elaboração desta equação. Este método superestima a extração de lignina (YOKOYAMA *et al.*, 2002). Neste caso o modelo está estimando uma remoção de lignina maior que a fração de lignina contida na fibra bruta.

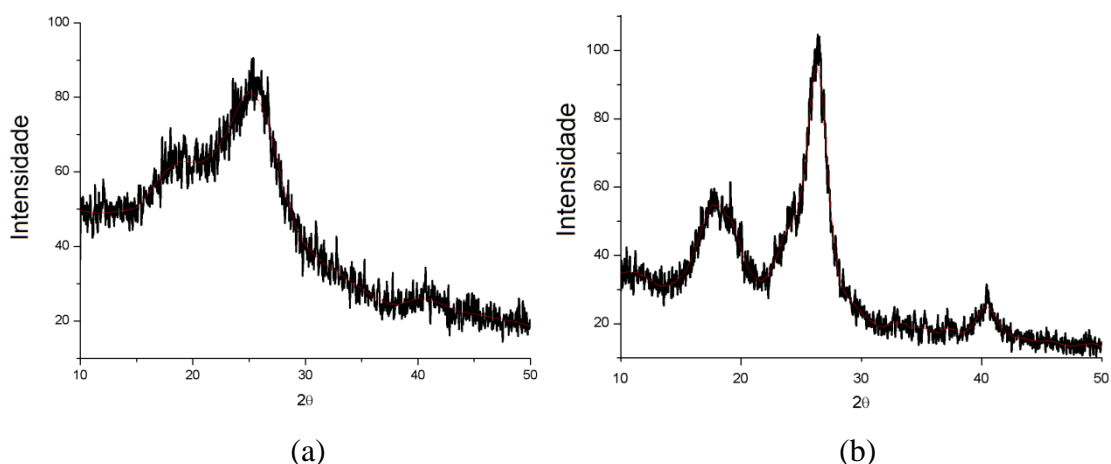
Figura 27: Superfície de resposta de acordo com a Equação (23), que descreve a remoção da lignina contida na FMD como função de T e [NaOH] (t=47 min).



Fonte: Autora (2013).

A hidrólise alcalina induz a clivagem das ligações éster que unem a hemicelulose à lignina. No entanto essas ligações somente são cataliticamente clivadas em altas temperaturas, sendo função da alcalinidade e da temperatura (IIYAMA *et al.*, 1990). De acordo com os resultados apresentados na Tabela 13 é possível verificar que as condições mais severas implicaram em maior solubilização da lignina. Obviamente que a extensão dessa reação difere em função do substrato, do pH e do tipo de catalisador (PEDERSEN *et al.*, 2010). Houve uma perda de peso de 77,5% em relação ao peso total da fibra bruta, que correspondem em grande parte a hemicelulose e lignina, que foram removidos (PEDERSEN; MEYER, 2010). A FMD após hidrólise alcalina também apresentou um padrão de difração característico da Celulose I (JCPDS, 1986), com picos em aproximadamente 17° (plano 101); 19° (plano 101); 26°(plano 002) e 41°(plano 040), conforme observa-se na Figura 28b. Evidencia-se ainda que houve uma maior modificação da linha de base dos difratogramas, além da maior definição dos picos de difração, ocasionados pela remoção de grande parte da fração amorfa (hemicelulose e lignina), o que implicou em um aumento mais significativo do I_C da FMD de 23 para 66%.

Figura 28: Perfis de difração de raios-X da FMD antes (a) a após (b) hidrólise alcalina.



Fonte: Autora (2013).

É possível obter resultados semelhantes aos encontrados neste estudo usando-se temperaturas mais baixas, contanto que algum tipo de pré-tratamento seja aplicado à fibra antes do passo de deslignificação. Moldes *et al.* (2002) aplicaram hidrólise ácida na casca de cevada ($[H_2SO_4]$ de 0,52 M, temperatura de 130 °C e tempo de reação de 15 min) antes da hidrólise alcalina ($[NaOH]$ de 2,5 M, temperatura de 130 °C e tempo de reação 34 min) e alcançaram 92% de extração de lignina, de acordo com a Equação (14).

5.1.5. Biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano da FMD

Os resultados dos ensaios de biodegradabilidade e PPM dos hidrolisados produzidos pelos vários pré-tratamentos (hidrotérmico, ácido e alcalino) da FMD são apresentados na Tabela 14.

Os resultados mostram que a lignina é um obstáculo para a hidrólise, uma vez que a hidrólise anaeróbia (%H) da fibra bruta foi de apenas 7,8%. O pré-tratamento alcalino produziu uma fibra com menor teor de lignina e com maior superfície acessível para as exoenzimas (SUN *et al.*, 2004b), o qual favoreceu a etapa de hidrólise da digestão anaeróbia (H% = 22,8%), a biodegradabilidade (Bio = 25,3%) e o PPM (180,0 L CH_4 /kg Substrato). No entanto, apenas uma parte do material lignocelulósico ($\%r_{Hid} = 25,5\%$) foi utilizada para a digestão anaeróbia, devido às perdas após lavagem da fibra para remoção da lignina solúvel. Considerando-se todo o material utilizado para a hidrólise, o recálculo da biodegradabilidade

e o PPM resultaram em menores valores de biodegradabilidade (6,4%) e de PPM (45,8 L CH₄/kg Subst).

Os valores de hidrólise anaeróbia dos materiais obtidos após as hidrólises ácidas e hidrotérmica (Tabela 14) foram muito baixos (4,4% e 1,8%, respectivamente). Isso ocorreu em grande parte porque a fração holocelulósica foi previamente solubilizada durante o processo de pré-tratamento e apenas o material recalcitrante permaneceu como DQO suspensa. Isto também pode estar associado a lignina que não foi extraída e que impediu o acesso enzimático à fração holocelulósica, e/ou a elevada cristalinidade da fração celulósica remanescente.

Tabela 14: Resultados dos ensaios biodegradabilidade anaeróbia e PPM da FMD.

Pré-tratamento	%r_{Hid} (%)	%H (%)	Bio(%)_{Hid} ⁽¹⁾	Bio(%)_{Total} ⁽²⁾	PPM_{Hid} ⁽¹⁾ (LCH ₄ /kgHid)	PPM_{Total} ⁽²⁾ (LCH ₄ /kgSubst)
Sem pré-trat. ⁽³⁾	100,0	7,8	8,7	8,7	77,8	77,8
Hidrólise alcalina	25,5	22,8	25,3	6,4	180,0	45,8
Hidrólise ácida	84,0	4,3	22,4	18,8	236,9	198,9
Hidrólise Hidrotérmica	95,9	1,8	21,5	20,7	180,5	173,2

(1) biodegradabilidade anaeróbia e PPM com base na fibra seca **após** a hidrólise.

(2) biodegradabilidade anaeróbia e PPM com base na fibra seca **antes** da hidrólise.

(3) fibra moída e seca utilizada nos ensaios, sem pré-tratamento, como controle.

Fonte: Autora (2013).

A maior biodegradabilidade anaeróbia foi conseguida com o pré-tratamento alcalino, o qual extraiu cerca de 91% do teor de lignina da fibra. Isto é porque a lignina atua como uma barreira mecânica, sendo responsável pela integridade, rigidez estrutural, impermeabilidade, e adesão entre a celulose e hemicelulose, aumentando a sua resistência ao ataque microbiano.

Além disso, a remoção parcial da hemicelulose da FMD com a hidrólise alcalina resultou em aumento da superfície acessível, possibilitando maior degradação da celulose (catalisada por enzima) e, conseqüentemente, um aumento do rendimento da hidrólise anaeróbia da glicose (PEDERSEN *et al.*, 2010). Assim, quando a lignina é solubilizada, esta passa a não agir como uma barreira, tornando a celulose e a hemicelulose remanescentes susceptíveis ao ataque das exoenzimas excretadas pelas bactérias anaeróbias acidogênicas (PEDERSEN; MEYER, 2010). Por outro lado, os açúcares que foram solubilizados ficam

dissolvidos na fase líquida do hidrolisado e são perdidos durante o processo de lavagem da fibra para remover a lignina, reduzindo assim o PPM com base na fibra seca antes do pré-tratamento.

Os maiores valores de biodegradabilidade anaeróbia e PPM, em termos de fibra bruta, foram obtidos com as hidrólises hidrotérmica e ácida. O PPM da fibra do mesocarpo do dendê pode chegar a 198,9 LCH₄/kg Subst. Us e Perendeci (2012) avaliaram uma mistura de diferentes resíduos de estufas (raízes, caules, folhas, tomate, pimentão, pepino, berinjela e abobrinha), após hidrólise ácida usando H₂SO₄ diluído (0-5% H₂SO₄, 1-3 h, 60 -100 °C). Os resultados mostram que o PPM aumentou 18,5% (de 210 para 249 LCH₄/kg Subst) quando um pré-tratamento brando (0% de H₂SO₄, por 1 h, à 78 °C) foi aplicado. Os melhores resultados foram alcançados com 0% de ácido sulfúrico, provavelmente, porque a adição de enxofre pode ter causado desvio de rota da digestão anaeróbia, ou devido a uma competição com as bactérias redutoras de sulfato. Neste trabalho, o HCl foi utilizado como catalisador, com severidade muito mais elevada, e o pré-tratamento da FMD aumentou 60% da PPM.

Fernandes *et al.* (2009) avaliaram o efeito do pré-tratamento termoquímico sobre a biodegradabilidade anaeróbia de três biomassas lignocelulósicas diferentes (feno, palha e samambaia). Os autores descobriram que quanto maior o teor de lignina, menor é a biodegradabilidade. Por exemplo, a samambaia que continha 17,3% de lignina apresentou 170 LCH₄/kg Subst após pré-tratamento com hidróxido de cálcio, enquanto o feno com 2,3% de lignina apresentou 320 LCH₄/kg fibra sem qualquer pré-tratamento. Isto está de acordo com os resultados deste trabalho já que quando a lignina era extraída da fibra do mesocarpo do dendê o PPM aumentou 78 para 180 LCH₄/kg fibra.

Os resíduos de refinaria de dendê (cachos vazios, fibra da prensagem da palma ou fibra do mesocarpo do dendê, torta de dendê e efluentes) podem ser usados como fonte de biomassa para produção de energia, utilizando diferentes tecnologias de conversão (pirólise, gaseificação, combustão direta, a digestão anaeróbia e peletização) para produzir gás de síntese, bio-óleo, metano, briquete e uma mistura de acetona, butanol e etanol (KASIVISVANATHAN *et al.*, 2012). O PPM da FMD após pirólise e gaseificação pode atingir valores de até 203 e 50 LCH₄/kg Subst, respectivamente, o que é semelhante aos valores obtidos no presente trabalho.

5.2. Bagaço de Cana-de-açúcar

Os resultados de eficiência de solubilização de açúcares e formação de inibidores obtidos a partir do pré-tratamento hidrotérmico e com ácido clorídrico, bem como a eficiência de remoção de lignina obtida com bagaço de cana de açúcar (BCA) pré-tratado com hidróxido de sódio serão apresentados a seguir.

5.2.1. Composição Química do BCA

O bagaço foi caracterizado em termos de celulose (35,51%), hemicelulose (30,31%) e lignina (23,53%), além de conter 9,19% de umidade e 2,43% de cinzas e extrativos.

5.2.2. Hidrólise hidrotérmica do BCA

Os resultados da hidrólise hidrotérmica do BCA foram verificados com base na produção específica de GRT (P_{GRT}). Os valores das variáveis dependente (P_{GRT}) e independentes (T, t e m/v), e os resultados de [GRT], η_{GRT} , HMF e Furfural dos diversos experimentos de hidrólise hidrotérmica estão apresentados na Tabelas 15.

Tabela 15: Avaliação da hidrólise hidrotérmica como pré-tratamento do BCA.

Ensaio	t (min)	T (°C)	P_{GRT} (gGRT/gSubst)	[GRT] (g/L)	η_{GRT} (%)	HMF (g/L)	Furfural (g/L)	Sev.
1	10	150	0,009	0,89	1,48	0,004	0,00	4,90
2	10	200	0,135	12,51	21,97	0,002	0,01	6,74
3	30	150	0,020	1,94	3,26	0,001	0,00	5,72
4	30	200	0,127	12,15	20,68	0,004	0,58	7,52
5	20	175	0,065	6,02	10,65	0,002	0,00	6,51
6	20	175	0,057	5,40	9,35	0,001	0,00	6,54
7	20	175	0,051	4,90	8,38	0,005	0,00	6,50
CO _M	10	200	0,129	12,25				
CO _E	10	200	0,129	12,25	20,99	0,001	0,01	6,75

CO_M – Condição ótima estabelecida pelo modelo; CO_E – Condição ótima experimental; Sev.: severidade.

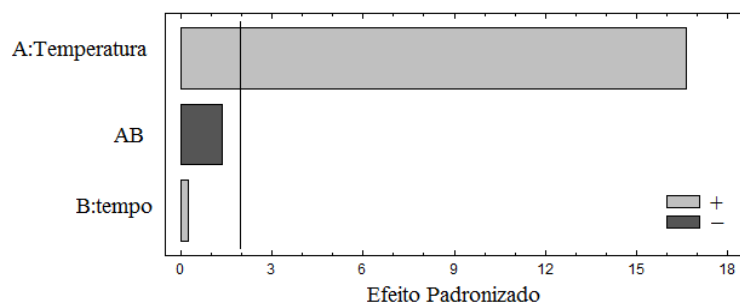
Fonte: Autora (2013).

O coeficiente de determinação (R^2) obtido da análise de regressão foi de 0,97. Dessa maneira, a condição que maximiza a solubilização de açúcares, calculada a partir da Equação (24).

$$P_{GRT} = -0,409 + 0,0027 \times T + 0,0034 \times t - 0,000019 \times t \times T \dots\dots\dots (24)$$

Os resultados da análise estatística dos parâmetros da hidrólise hidrotérmica do BCA, com os efeitos e níveis de significância de "t" e "T" sobre o P_{GRT} são apresentados na Figura 25. A variável independente "T" apresentou efeito linear positivo significativo ($p < 0,05$), que é uma indicação de que a produção de açúcar aumenta com o aumento da temperatura. No entanto, a variável "t" e a interação entre a variável de "T" e "t" não teve efeito significativo ($p > 0,05$). Assim, pode-se inferir que, para aumentar a solubilidade dos açúcares, é suficiente aumentar a temperatura, mantendo o tempo de reação mais curto.

Figura 29: Diagrama de Pareto dos ensaios do pré-tratamento hidrotérmico do BCA, com os efeitos de T e t relacionados ao P_{GRT} .



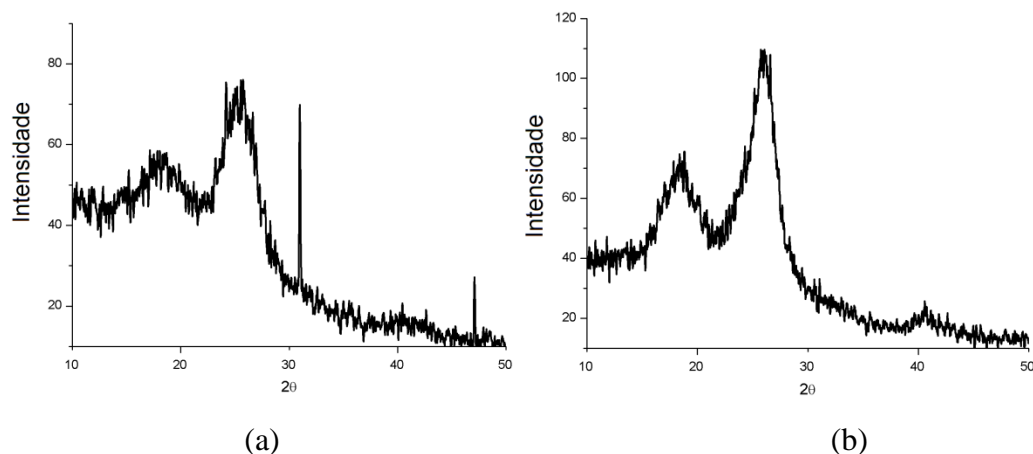
Fonte: Autora (2013).

A elevada solubilização de açúcares nesta condição pode ser associada com um aumento da concentração de ácido acético proveniente do grupo acetil, resultante das condições impostas por um processo mais severo quando se aplica temperaturas mais elevadas (CANETTIERI, 2004). Observa-se que em severidade maior que 6,75 há uma maior degradação dos açúcares a HMF e furfural e, conseqüentemente, diminuição da concentração de açúcares no hidrolisado. Apesar da severidade elevada em alguns ensaios, as concentrações de HMF e furfural determinadas em todos os ensaios foram menores que as concentrações

que inibem atividade biológica (BOOPATHY, 2009; CAO *et al.*, 2010; BARAKAT *et al.*, 2012).

Um novo experimento usando as condições que maximizam a produção de açúcares a partir do BCA ($T=200\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $t=10\text{ min}$) foi realizado, resultando em um P_{GRT} de 0,129 g GRT/g bagaço, o que confirma o primeiro ensaio. A eficiência da hidrólise foi de 21%, o que provavelmente corresponde à fração de hemicelulose. Considerando que o pré-tratamento hidrotérmico solubiliza principalmente este componente do material lignocelulósico (TAHERZADEH; KARIMI, 2008; SUN; CHENG, 2002), pode-se dizer que houve 51,57% de eficiência de solubilização da hemicelulose. A fibra do BCA após hidrólise hidrotérmica apresentou um padrão de difração característico da Celulose I (JCPDS, 1986), com picos em aproximadamente 17° (plano 101); 19° (plano 101); 26° (plano 002) e 41° (plano 040). Observa-se na Figura 30 que os picos 17° (plano 101) e 19° (plano 101) estão sobrepostos, isso se deve a interferência do material amorfo.

Figura 30: Perfis de difração de raios-X do BCA antes (a) a após (b) hidrólise hidrotérmica.



Fonte: A autora (2013)

Pode-se observar que houve uma ligeira modificação da linha de base do difratograma (mais linear) após a hidrólise hidrotérmica (Figura 30b), que se deve a menor interferência do material amorfo (hemicelulose), promovendo desta maneira um aumento do I_C da fibra do BCA pré-tratado hidrotérmicamente de 38 para 46%.

Estudos com o bagaço de cana pré-tratado com o método hidrotérmico a uma temperatura que varia entre 150 a 190 $^{\circ}\text{C}$, tempo de reação entre 15 e 240 min e m/v de 5%,

mostraram que as temperaturas mais elevadas (190 °C) resultaram num aumento da solubilização dos açúcares a partir da fração de hemicelulose (55% w/w) com o tempo de reação de 2 h (BOUSSARSAR *et al.*, 2009). No entanto, os autores descobriram que a aplicação de tempos de reação mais elevados causou degradação dos açúcares à HMF e furfural.

Os resultados do pré-tratamento hidrotérmico com o BCA nesta pesquisa são semelhantes aos encontrados por Boussarsar *et al.* (2009), porém com tempo de reação (10 min) bem inferior. Essa redução no tempo de reação provavelmente está associada a maior temperatura aplicada nesta pesquisa (200 °C).

5.2.3. Hidrólise ácida do BCA

Os valores das variáveis dependente (P_{GRT}) e independentes (t , $[HCl]$ e T) e os resultados de $[GRT]$, η_{GRT} , HMF e furfural dos diversos experimentos de hidrólise ácida estão apresentados na Tabela 16.

Os efeitos estimados de acordo com o nível de significância (p), que representam a solubilização dos açúcares a partir da fração holocelulósica do bagaço de cana de açúcar, são mostrados no diagrama de Pareto da Figura 31, onde todas as variáveis resultaram em efeito negativo significativo sobre P_{GRT} . Esta é uma indicação de que quanto menor os valores das variáveis independentes, maior será a produção de açúcares. Por outro lado, o efeito quadrático de todas as variáveis foi positivo, o que significa que existem um ponto dentro do intervalo de valores das variáveis em que P_{GRT} é mínimo.

O efeito da interação entre "T" e "t" é significativamente negativo, indicando que, para maximizar P_{GRT} , uma variável deve ser reduzida, aumentando a outra. Portanto, é provável que o aumento da temperatura e uma redução simultânea do tempo de reação maximizam a solubilização dos açúcares.

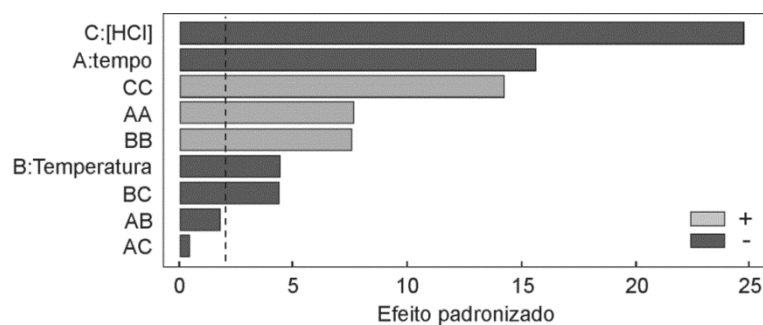
Tabela 16: Avaliação da hidrólise ácida como pré-tratamento do BCA.

Ensaio	t (min)	T (°C)	[HCl] (M)	P _{RTG} (g GRT/g Subst)	[GRT] (g/L)	η _{GRT} (%)	HMF (g/L)	Furfural (g/L)	Sev.
1	20	110	0,9	0,253	23,04	41,26	0,003	0,00	8,08
2	60	110	0,9	0,235	21,79	38,24	0,004	0,58	8,55
3	20	130	0,9	0,213	19,57	34,76	0,003	0,99	8,66
4	60	130	0,9	0,158	14,63	25,82	0,001	0,00	9,14
5	20	110	1,7	0,212	19,62	34,62	0,001	0,00	8,60
6	60	110	1,7	0,167	15,24	27,17	0,001	1,32	9,07
7	20	130	1,7	0,117	10,47	19,09	0,003	1,71	9,18
8	60	130	1,7	0,084	7,93	13,68	0,002	1,82	9,66
9	40	120	1,3	0,146	13,40	23,75	0,001	0,55	9,04
10	40	120	1,3	0,147	13,30	24,01	0,002	0,00	9,03
11	40	120	1,3	0,139	12,44	22,59	0,001	0,00	9,04
12	6,4	120	1,3	0,232	21,17	37,87	0,001	0,00	8,23
13	73,6	120	1,3	0,150	13,89	24,38	0,003	0,00	9,32
14	40	103	1,3	0,127	11,75	20,76	0,001	0,00	8,53
15	40	138	1,3	0,254	24,19	41,43	0,006	0,77	9,59
16	40	120	0,61	0,272	26,27	44,39	0,001	0,80	8,49
17	40	120	2	0,166	15,17	27,10	0,003	1,12	9,19
CO _M	6,4	136	0,63	0,377					
CO _E	6,4	136	0,63	0,344	31,14	55,99	0,003	0,33	8,09

CO_M – Condição ótima estabelecida pelo modelo; CO_E – Condição ótima experimental; Sev.: severidade.

Fonte: Autora (2013).

Figura 31: Diagrama de Pareto dos ensaios do pré-tratamento ácido do BCA, com os efeitos de t, T e [HCl] relacionados ao P_{GRT}.

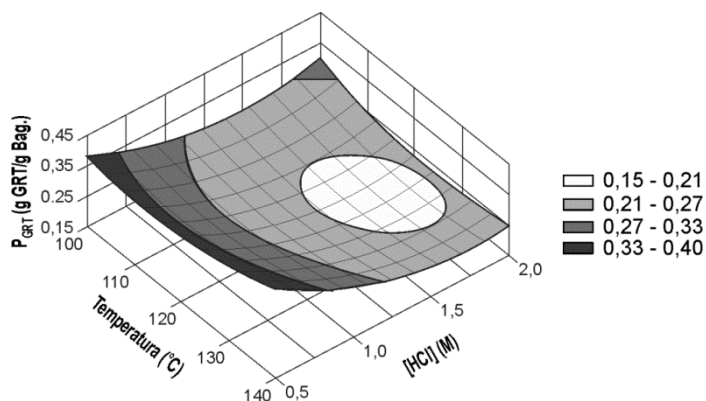


Fonte: Autora (2013).

Apesar do coeficiente de determinação ($R^2=0,58$) obtido na análise de regressão ter sido baixo, as variáveis e suas interações apresentaram forte efeito sobre P_{TRG} . Portanto, optou-se por adotar a Equação (25) para representar o modelo estatístico de P_{TRG} como função de "t", "T" e "[HCl]", tal como mostrado pela resposta da superfície da Figura 32. As condições ideais para a hidrólise ácida pode ser calculada com base na derivada desta equação, resultando em um tempo de reação de 6,4 min, temperatura de 136 °C e [HCl] de 0,63 M. Nestas condições, o resultado do modelo para P_{GRT} foi de 0,38 gGRT/g Subst.

$$P_{GRT} = 1,87 - 0,00135 \times t - 0,024 \times T - 0,197 \times [HCl] + 0,000028 \times t^2 + 0,0001 \times T^2 - 0,0019 \times T \times [HCl] + [HCl]^2 \dots\dots\dots (25)$$

Figura 32: Superfície de resposta de acordo com a Equação (25), que descreve a produção específica de açúcares provenientes do pré-tratamento ácido do BCA em função de T e [HCl] (t=6,4 min).



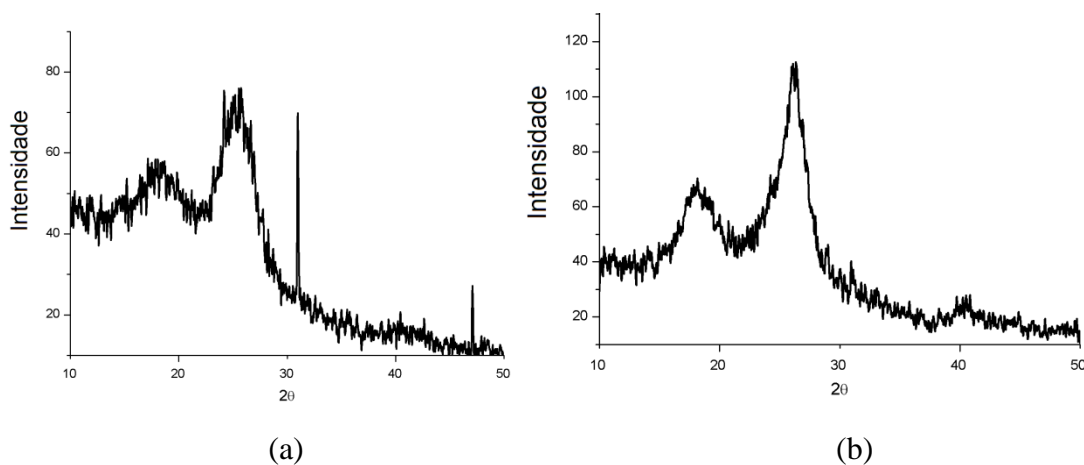
Fonte: Autora (2013).

Um novo ensaio usando estas condições foi realizado a fim de comparar os resultados experimentais e calculados. O valor encontrado para P_{GRT} experimental foi de 0.344 gGRT/g Subst, como apresentado na Tabela 16, o qual é bastante próximo do previsto pelo modelo com um intervalo de confiança de 95%. A eficiência de hidrólise da fração holocelulósica foi de aproximadamente 56%, o que provavelmente foi resultado da hidrólise de 100% da fração hemicelulósica e uma pequena parte da fração celulósica.

A fibra do BCA após hidrólise ácida apresentou um padrão de difração característico da Celulose I (JCPDS, 1986), com picos em aproximadamente 17° (plano 101); 19° (plano 101);

26°(plano 002) e 41°(plano 040). A Figura 33 apresenta os perfis de difração de raio-X das amostras de BCA antes e após hidrólise ácida. É possível observar que houve um rebaixamento da linha de base e maior definição dos picos de difração 17° (plano 101) e 26°(plano 002) (Figura 33b), isso se deve a menor interferência da fração amorfa do material (hemicelulose) removida com a hidrólise ácida. Dessa maneira, este pré-tratamento promoveu aumento do I_C de 38 para 58.

Figura 33: Perfis de difração de raios-X do BCA antes (a) a após (b) hidrólise ácida.



Fonte: Autora (2013).

Os resultados das concentrações de HMF e furfural obtidos na condição "ótima" foram mais baixos do que os relatados na literatura que provocam a inibição das arqueias metanogênicas (BOOPATHY, 2009; CAO *et al.*, 2010;. BARAKAT *et al.*, 2012).

Bustos *et al.* (2003) realizaram estudos com BCA pré-tratado com HCl e obtiveram máxima solubilização de 29,7 g GRT/L, o que representa quase 100% de eficiência de hidrólise da fração hemicelulose, usando tempo de reação de 51,1 min, temperatura de 128 °C concentração de ácido de 0,9 M. É importante observar que Bustos *et al.* (2003), assim como nesta pesquisa, obteve máxima eficiência de hidrólise com maior temperatura e menor concentração de ácido. Provavelmente o tempo de reação mais longo que nesta pesquisa foi compensado pela temperatura menor, evitando a degradação dos monossacarídeos, e melhorando o rendimento da hidrólise (SUN; CHENG, 2002; HENDRIKS; ZEEMAN, 2008). Os resultados apresentados na Tabela 16 mostram que severidades maiores que 8,1 afetam negativamente a concentração dos açúcares, provavelmente pela degradação dos mesmos.

A solubilização dos açúcares a partir de bagaço de cana de açúcar por meio de hidrólise ácida utilizando outros ácidos também foi investigada por vários investigadores (LAVARACK *et al.*, 2002; AGUILAR *et al.*, 2002; RODRÍGUEZ-CHONG *et al.*, 2004; GÁMEZ *et al.*, 2006; ZHAO *et al.*, 2007a; ZHAO *et al.*, 2008; ZHAO *et al.*, 2009; ZHAO *et al.*, 2011), e resultados semelhantes aos desta pesquisa também foram encontrados. No entanto, as condições experimentais que maximizaram a solubilização foram diferentes uma vez que o potencial reativo de cada ácido é diferente. Por exemplo, Aguilar *et al.* (2002) encontraram eficiência de hidrólise da fracção de hemicelulose de 90% do BCA, utilizando 2% H₂SO₄ a 122 °C por 24 min.

Observa-se que pode-se aplicar tempo de reação mais curto quando se utiliza H₂SO₄ em vez de HCl. Isto ocorre possivelmente devido H₂SO₄ ser um ácido forte. O tipo de ácido é também um dos fatores que influenciam a hidrólise do material lignocelulósico (CANETTIERI *et al.*, 2004). No entanto, se o objetivo da hidrólise é a produção de metano, H₂SO₄ tem que ser evitado, pois o SO₄⁻² liberado no processo é usado pelas bactérias redutoras de sulfato, produzindo H₂S em vez de metano (ABRAM; NEDWELL, 1978).

Gámez *et al.* (2006) otimizaram a hidrólise do BCA utilizando ácido fosfórico (H₃PO₄) 0,68 M a 122 °C durante 300 min, resultando em solubilização de 23,3 gGRT/L e formação de 1,2 g/L de furfural. Observa-se nesse caso, que por se tratar de um ácido mais fraco, o tempo de reação foi muito maior que o estabelecido nesta pesquisa. Por outro lado, o tipo do material lignocelulósico também é um fator importante, pois condições muito próximas as estudadas por Gámez *et al.* (2006), Vázquez *et al.* (2007) em seu estudo com palha do sorgo pré-tratada com H₃PO₄ (1,03M H₃PO₄, 134 °C, 300 min) alcançaram máxima produção de furfural 13,7 g furfural/L, evidenciando que para esse substrato essas condições são muito severas.

5.2.4. Pré-tratamento alcalino do BCA

Os valores das variáveis dependente (P_{LIG}) e independentes (T, t e [NaOH]), bem como os resultados de [Lig] dos diversos experimentos de hidrólise alcalina do BCA estão apresentados na Tabela 17.

Tabela 17: Avaliação da hidrólise alcalina como pré-tratamento do BCA.

Ensaio	T (°C)	t (min)	[NaOH] (M)	P_{Lig} (g Lig/g Subst)	[Lig] (g/L)	Sev.
1	130	20	1,00	0,26	23,24	7,58
2	170	20	1,00	0,27	24,50	8,47
3	130	40	1,00	0,24	22,28	7,64
4	170	40	1,00	0,28	25,13	8,90
5	130	20	1,60	0,27	24,38	8,05
6	170	20	1,60	0,28	24,79	9,26
7	130	40	1,60	0,24	20,82	8,35
8	170	40	1,60	0,27	23,54	9,49
9	150	30	1,30	0,25	22,70	8,62
10	150	30	1,30	0,26	23,50	8,65
11	150	30	1,30	0,25	23,20	8,64
12	116	30	1,30	0,22	19,81	7,63
13	184	30	1,30	0,24	22,49	9,60
14	150	13	1,30	0,24	21,44	8,30
15	150	47	1,30	0,25	23,12	8,82
16	150	30	0,80	0,28	25,88	8,18
17	150	30	1,80	0,25	22,70	8,82
CO _M	184	47	0,80	0,3		
CO _E	184	47	0,80	0,26	23,24	9,27

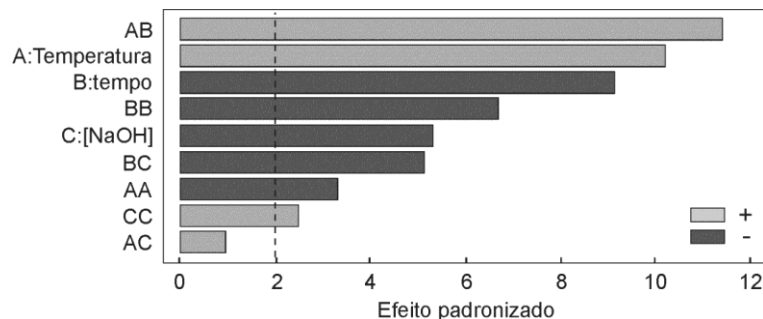
CO_M – Condição ótima estabelecida pelo modelo; CO_E – Condição ótima experimental; Sev.: severidade.

Fonte: Autora (2013).

A Figura 34 mostra o diagrama de Pareto, representando a extração de lignina de acordo com o nível de significância. Pode-se observar que a variável independente "T" teve um efeito linear positivo em P_{LIG}, e as variáveis "t" e "[NaOH]" apresentaram efeito linear negativo, indicando que o aumento da temperatura e redução do tempo de reação e da concentração de alcali favorece a extração da lignina. A variável de "T" mostrou um efeito quadrático negativo, indicando que existe uma temperatura de reação ótima dentro intervalo de valores estudados que maximiza a extração de lignina. O aumento da severidade para valores superiores a 9,27 não implicaram em aumento da solubilização da lignina, conforme

apresentado na Tabela 17, evidenciando assim que, nas condições estudadas essa é a máxima severidade a ser aplicada ao BCA.

Figura 34: Diagrama de Pareto dos ensaios de hidrólise alcalina do BCA, com os efeitos de t, T e [NaOH] relacionados ao P_{LIG}.



Fonte: Autora (2013).

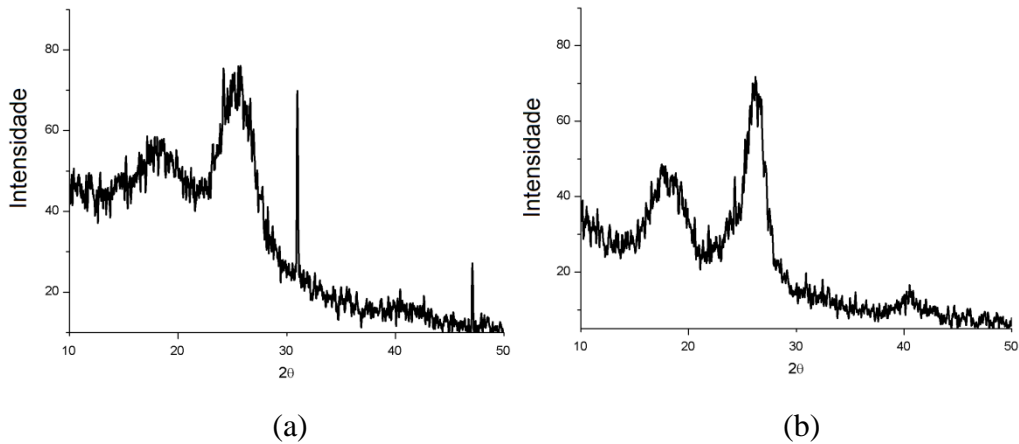
A análise de regressão dos dados da Tabela 17 gerou a Equação 26, que é um modelo estatístico de P_{LIG} em função de "t", "T" e "[NaOH]" com coeficiente de determinação (R²) de 0,7. Com base na derivada desta equação, calculou-se a condição experimental que maximizou a extração de lignina em função de "t", "T" e "[NaOH]", resultando em tempo de reação de 47 min, temperatura de 184 °C e concentração de álcali de 0,80 M. Sob esta condição, o resultado do modelo para a remoção de lignina (P_{LIG}) foi de 0,3 g Lig/g Subst.

$$P_{Lig} = 0,288 + 0,0006 \times T - 0,004 \times t - 0,049 \times [NaOH] - 0,000008 \times T^2 + 0,00006 \times T \times t - 0,00006 \times t^2 - 0,002 \times t \times [NaOH] + 0,0225 \times [NaOH]^2 \quad \dots \quad (26)$$

A Figura 35 mostra a superfície de resposta que melhor representa a distribuição do conjunto de valores de "t", "T", "[NaOH]" e P_{LIG} no espaço. O valor encontrado para P_{LIG} experimental foi de 0,26 g/g Subst, o que representa 80,2% do total de lignina do bagaço, de acordo com a Equação 26. Houve uma perda de peso de 55,7% em relação ao peso total do bagaço, que correspondem em grande parte a hemicelulose e lignina (fração amorfa), que foram removidos (PEDERSEN; MEYER, 2010), implicando em um aumento do I_C de 38 para 65%. A fibra do BCA após hidrólise alcalina também apresentou um padrão de difração característico da Celulose I (JCPDS, 1986), com picos em aproximadamente 17° (plano 101); 19° (plano 101); 26°(plano 002) e 41°(plano 040), como é possível perceber nos perfis de

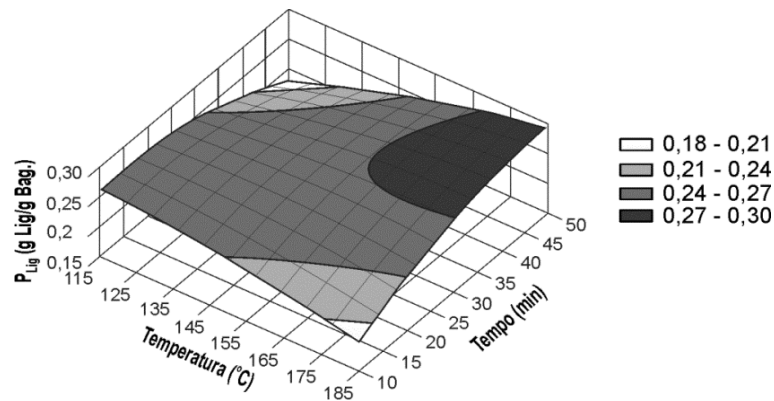
difração de raio-X das amostras de BCA antes e após hidrólise alcalina, apresentados na Figura 35. Conforme evidenciado para a FMD, isso se deve a remoção de quantidades significativas de materiais amorfos (hemicelulose e lignina) após hidrólise e lavagem da fibra, o que modificou a linha de base dos difratogramas tornando-a mais linear.

Figura 35: Perfis de difração de raios-X do BCA antes (a) a após (b) hidrólise alcalina.



Fonte: Autora (2013).

Figura 36: Superfície de resposta de acordo com a Equação (26), que descreve a remoção de lignina do bagaço de cana-de-açúcar como função de T e t (NaOH=0,8 M).



Fonte: Autora (2013).

Kim e Han (2012) utilizaram o pré-tratamento alcalino para promover a remoção de lignina e maximizar a hidrólise enzimática da celulose da palha de arroz. O máximo rendimento enzimático (25 4,6 g/kg biomassa) foi obtido utilizando NaOH 1,33 M durante 60 min a 80 °C. Os autores puderam remover 48,3% da lignina e descobriram que 59,1% do

peso total foram perdidos. Comparando os resultados desta pesquisa com os resultados apresentados de Kim e Han (2012), pode-se observar que a temperatura foi o principal responsável pelo aumento da eficiência de remoção de lignina.

5.2.5. Biodegradabilidade Anaeróbia e Potencial de Produção de Metano obtidos a partir do BCA com e sem pré-tratamentos

Os resultados dos ensaios de biodegradabilidade e PPM dos hidrolisados produzidos pelos vários pré-tratamentos (hidrotérmico, ácido e alcalino) são apresentados na Tabela 18. Assim como aconteceu com a FMD, a maior biodegradabilidade anaeróbia foi conseguida com o pré-tratamento alcalino, que extraiu cerca de 80% da lignina presente na fibra. Houve também perda de massa no processo de hidrólise pela solubilização da hemicelulose (79% de perda de hemicelulose).

Tabela 18: Resultados dos ensaios biodegradabilidade anaeróbia e PPM do BCA.

Pré-tratamento	%r_{Hid} (%)	%H (%)	Bio(%)_{Hid} ⁽¹⁾	Bio(%)_{Total} ⁽²⁾	PPM_{Hid} ⁽¹⁾ (LCH ₄ /kgHid)	PPM_{Total} ⁽²⁾ (LCH ₄ /kgSubst)
Sem pré-trat. ⁽³⁾	100,0	4,0	4,4	4,4	35,6	35,6
Hidrólise alcalina	44,3	40,0	44,4	19,7	313,4	138,8
Hidrólise ácida	85,6	0,2	19,2	16,4	142,7	122,2
Hidrólise Hidrotérmica	99,5	14,8	27,6	27,4	198,5	197,5

(1) biodegradabilidade anaeróbia e PPM com base no bagaço seco **após** a hidrólise.

(2) biodegradabilidade anaeróbia e PPM com base no bagaço seco **antes** da hidrólise.

(3) bagaço moído e seco utilizado nos ensaios, sem pré-tratamento, como controle.

Fonte: Autora (2013).

De acordo com os resultados mostrados na Tabela 18, o pré-tratamento alcalino produziu um bagaço que é mais fácil de ser hidrolisado em condições anaeróbias (%H = 40%) e, portanto, mais biodegradáveis (Bio = 44,4%) e com a maior PPM de 313,4 LCH₄/kg Subst. No entanto, apenas uma parte do material lignocelulósico (%r_{Hid} = 44,3%) foi utilizada para a digestão anaeróbia. Considerando-se todo o material utilizado para a hidrólise, o recálculo da

biodegradabilidade e do PPM resultou em menores valores de biodegradabilidade e PPM, 19,7% e 138,8 L CH₄/kg Subst, respectivamente.

Os resultados confirmam que a lignina foi um obstáculo para a hidrólise, uma vez que a hidrólise anaeróbia (%H) do bagaço bruto foi de apenas 4,4%. De acordo com Pedersen *et al.* (2010), o pré-tratamento alcalino produz um substrato com menor teor de lignina e com maior superfície acessível para as exoenzimas, o que melhora a biodegradabilidade anaeróbia.

Os resultados da hidrólise ácida apresentados na Tabela 18 mostram que a eficiência da hidrólise da digestão anaeróbia foi muito baixa (0,2%). Isto ocorreu em grande parte devido à solubilização da fração holocelulósica (provavelmente toda fração de hemicelulose) ocorrida durante o pré-tratamento, deixando apenas o material mais recalcitrante. Isto pode estar também associado com a lignina remanescente que dificulta o ataque enzimático do bagaço e/ou a cristalinidade da fração de celulose. O hidrolisado obtido a partir da hidrólise hidrotérmica apresentou maior eficiência de hidrólise anaeróbia (14,8%) porque este método não solubilizou completamente fração de hemicelulose, a qual foi subsequentemente degradada através de digestão anaeróbia.

A hidrólise ácida resultou em um material com menor biodegradabilidade anaeróbia, apesar da maior solubilização de açúcares. Isto pode ter ocorrido em virtude da redistribuição da lignina que ocorre nestas situações (KUMAR *et al.*, 2009; DONOHOE *et al.*, 2008; KRISTENSEN *et al.*, 2008). Segundo Pedersen e Meyer (2010) a hidrólise ácida pode solubilizar parcialmente a lignina, dessa maneira “gotículas” de lignina podem ser encontrados na superfície da fibra, promovendo um aumento da barreira ao ataque à celulose. Compostos fenólicos liberados durante a degradação da lignina são potenciais inibidores (ácidos aromáticos, catecol, 4-hidroxibenzaldeído e vanilina) (GARCÍA-APARICIO *et al.* 2006; PANAGIOTOU; OLSSON, 2006; BARAKAT *et al.*, 2012).

5.3. Resultados dos Pré-tratamentos do Línter do algodão

Os resultados de eficiência de solubilização de açúcares e formação de inibidores obtidos a partir do pré-tratamento hidrotérmico e com ácido clorídrico do línier de algodão tipo 4 (LA4) estão apresentados a seguir.

5.3.1. Composição Química do LA4

A composição obtida para o LA4 foi como se segue: 41,82% de celulose, 19,57% de hemicelulose e 10,88% de lignina, 3,47% de umidade, 8,95% de cinzas e 9,57% de extrativos (valores médios de três repetições, erro menor do que 1% em todos os compostos).

5.3.2. Hidrólise hidrotérmica do LA4

A hidrólise hidrotérmica foi avaliada em termos das variáveis independentes: temperatura (T) e tempo de reação (t), cujo objetivo era maximizar a solubilização de açúcares a partir da fração holocelulósica do línter de algodão sem a utilização de catalizadores. Os resultados das hidrólises foram verificados baseando-se na produção específica de açúcares, baseando-se na determinação de GRT (P_{GRT}). Os valores das variáveis dependente (P_{GRT}) e independentes (T e t), bem como os resultados de [GRT], η_{GRT} , HMF e Furfural dos diversos experimentos de hidrólise estão apresentados na Tabela 19.

Tabela 19: Avaliação da hidrólise hidrotérmica como pré-tratamento do LA4

Ensaio	t (min)	T (°C)	P_{GRT} (gGRT/gSubst)	[GRT] (g/L)	η_{GRT} (%)	HMF (g/L)	Furfural (g/L)	Sev.
1	10	150	0,028	1,34	4,78	0,016	0,045	4,85
2	10	200	0,049	2,41	8,38	0,028	0,049	6,40
3	30	150	0,027	1,28	4,63	0,027	0,084	5,63
4	30	200	0,029	1,40	4,92	0,051	0,140	7,22
5	20	175	0,039	1,82	6,62	0,033	0,098	6,23
6	20	175	0,031	1,51	5,25	0,024	0,081	6,21
7	20	175	0,037	1,78	6,24	0,021	0,091	6,26
CO _M	10	200	0,051					
CO _E	10	200	0,050	2,49	8,59	0,033	0,060	6,44

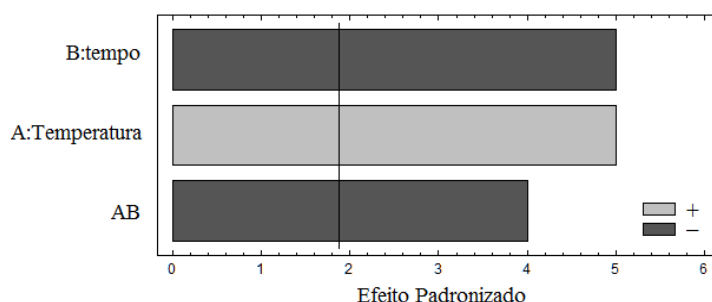
CO_M – Condição ótima estabelecida pelo modelo; CO_E – Condição ótima experimental; Sev.: severidade.

Fonte: Autora (2013).

Os resultados sobre os efeitos estimados e níveis de significância para o modelo representando a solubilização de açúcares a partir da fração holocelulósica contida no LA4 são apresentados na Figura 37. É possível observar que, nas condições estudadas, as variáveis

independentes “t” e “T”, bem como a interação entre elas apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$).

Figura 37: Diagrama de Pareto dos ensaios do pré-tratamento hidrotérmico do LA4, com os efeitos de T, t e m/v relacionados ao P_{GRT} .



Fonte: Autora (2013).

A variável “t” apresentou efeito linear significativo negativo, indicando que o aumento do tempo de reação causa redução na produção de açúcares. Na faixa de valores de temperatura, pode ter havido maior degradação dos açúcares em HMF e furfural que, por sua vez, podem ter sido degradados em ácido fórmico e levulínico (PALMQVIST; HAHN-HÄGERDAL, 2000), os quais não foram investigados neste estudo.

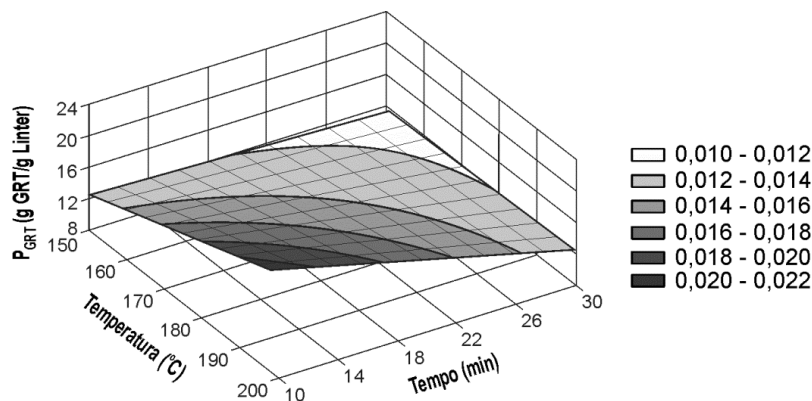
A variável “T” apresentou efeito positivo, logo o aumento da temperatura favorece a solubilização dos açúcares contidos na fração holocelulósica do LA4. No entanto interação das variáveis “t” versus “T” apresentou efeito linear negativo em P_{GRT} , indicando que, para maximizar P_{GRT} , o aumento da temperatura tem que ser realizado paralelamente com uma diminuição do tempo de reação. A variável “T” exerceu maior efeito sobre a solubilização dos açúcares e o modelo mostrou que a maior temperatura e menor tempo de reação como condição que maximiza a solubilização de açúcares. Essa relação negativa entre as duas variáveis estudadas pode também explicar a maior degradação dos açúcares a HMF e Furfural, pois ao mesmo tempo em que esses açúcares são solubilizados ocorre à degradação de uma parcela destes a HMF e Furfural em virtude das condições mais severas, conforme observado no ensaio 4. As concentrações de HMF e furfural em todos os ensaios foram menores que as que podem causar inibição as arqueias metanogênicas (BOOPATHY, 2009; CAO *et al.*, 2010; BARAKAT *et al.*, 2012). Pode-se dizer então que, nas condições

estudadas, severidades maiores que 6,44 devem ser evitadas para diminuir a degradação dos açúcares no hidrolisado.

A condição ótima para a hidrólise hidrotérmica do LA4 foi calculada a partir da derivada da Equação (27) ($R^2 = 0,89$), que representa o modelo estatístico de uma superfície de resposta, com P_{GRT} como uma função de "t" e "T". O resultado da análise foi: tempo de reação de 10 min a temperatura de 200 °C. Nestas condições, o resultado do modelo para P_{GRT} foi de 0,050 g GRT/g Subst. A superfície de resposta gerada a partir dos resultados de P_{GRT} em relação às variáveis independentes (T e t), descrita pelo modelo da Equação (27), está apresentada na Figura 38.

$$P_{GRT} = -0,02607 + 0,00026 \times T + 0,00115 \times t - 0,000008 \times T \times t \dots\dots\dots (27)$$

Figura 38: Superfície de resposta de acordo com Equação (27), que descreve a produção específica de açúcares provenientes do pré-tratamento hidrotérmico do LA4 de T e t.

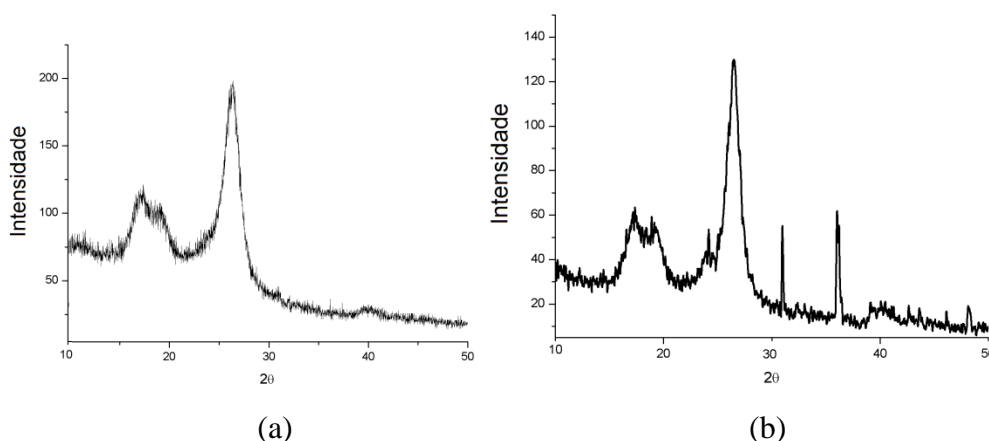


Fonte: Autora (2013).

Um novo ensaio foi realizado, usando as condições estabelecidas pelo modelo, a fim de comparar os resultados experimentais e calculados. Nessas condições, foi possível obter P_{GRT} de 0,022 g GRT/g Subst e atingir um rendimento de hidrólise da fração holocelulósica de 8,59%. Esse valor está abaixo do encontrado para outros resíduos em outros trabalhos (DÍAZ *et al.*, 2010; PETERSEN *et al.*, 2009). Isso provavelmente se deve ao elevado teor de celulose cristalina contida no línter (65%), sendo necessário um pré-tratamento mais agressivo para solubilização dos polímeros de açúcares, provavelmente com a utilização de um catalizador. A Figura 39 apresenta os perfis de difração de raio-X das amostras de LA4 antes e após

hidrólise hidrotérmica. A fibra do LA4 após hidrólise hidrotérmica apresentou um padrão de difração característico da Celulose I (JCPDS, 1986), com picos em aproximadamente 17° (plano 101); 19° (plano 101); 26°(plano 002) e 41°(plano 040). É possível observar que houve uma modificação da linha de base do difratograma após hidrólise hidrotérmica do LA4, a qual se apresenta mais linear. Isso ocorreu devido à remoção de parte da fração de hemicelulósica (amorfa), promovendo um aumento do I_C de 65 para 78%.

Figura 39: Perfis de difração de raios-X das amostras de LA4 antes (a) a após (b) hidrólise hidrotérmica.



Fonte: A autora (2013)

Petersen *et al.* (2009), em seus estudos com palha de trigo (35% celulose, 22,3% hemicelulose e 15,6% lignina), buscou maximizar a recuperação de açúcares para produção de etanol por meio do pré-tratamento hidrotérmico. Os resultados mostraram que foi possível hidrolisar aproximadamente 70% de hemicelulose e 10% de celulose. Aplicando-se a Equação (7), pode-se estimar que a eficiência de hidrólise da fração holocelulósica foi de 33,35%. Díaz *et al.* (2010) estudaram o efeito do pré-tratamento hidrotérmico na hidrólise enzimática da palha de colza (*Brassica napus*) (36,57% de celulose, 24,11% de hemicelulose e 17,13% de lignina). A maior eficiência em termos de solubilização de açúcares foi obtida com temperatura de 190 °C e tempo de reação de 1,7 min. 50,46% da fração de xilose e 3,61% da fração de glicose foram extraídas, correspondendo a GRT de 10,59 g/L. Analisando-se esses valores e relacionando-se com a fração holocelulósica, pode-se concluir que a máxima eficiência de hidrólise em termos GRT foi em torno de 22%.

Jollet *et al.* (2009) estudaram a conversão da celulose (Avicel®) à glicose pela hidrólise hidrotérmica (190 °C sob 5 MPa de H²) na ausência de catalisador. A máxima conversão (35%) foi obtida após 24 horas de reação, a glicose e o HMF foram detectados como produtos monoméricos, com um rendimento global de menos que 5%, indicando que a maior parte dos produtos são compostos de oligo e polissacarídeos solúveis. Os resultados mostraram que, embora tenha havido alterações morfológicas, não foi observada nenhuma alteração da cristalinidade. Observa-se ao analisar os resultados obtidos por Jollet *et al.* (2009) que o pré-tratamento hidrotérmico praticamente não apresenta efeitos sobre a fração celulósica, mesmo em condições mais severas (tempo de reação elevado). Em se tratando de material lignocelulósico deve-se considerar que a dissolução da hemicelulose ocorre primeiro que a da celulose, neste caso o aumento do tempo de reação implicará em mais degradação dos açúcares a HMF e furfural do que propriamente a solubilização da celulose.

Sasaki *et al.* (1998) obtiveram rendimentos de solubilização de celulose na ordem de 75% em reatores com fluxo supercrítico e temperatura de 400 °C. Esses autores observaram que em temperatura mais baixa (290-320), a velocidade de degradação da glicose ou oligômeros era muito mais rápida do que a velocidade de hidrólise da celulose. Por outro lado, em temperaturas mais elevadas a velocidade de solubilização da celulose superava a da glicose ou oligômeros. Esses resultados mostram que a hidrólise hidrotérmica do material lignocelulósico teria que ser feita em dois estágios, o primeiro mais brando com temperatura de até 200 °C e tempo de reação de 5 min, responsável pela solubilização da fração hemicelulósica, e o segundo mais agressivo com temperatura de 400 °C e tempo de reação de segundos, onde a fração celulósica seria solubilizada.

5.3.3. Hidrólise ácida do LA4

A hidrólise ácida do LA4 com HCl diluído foi avaliada baseando-se no efeito da temperatura (T) e concentração de ácido ([HCl]), sobre a hidrólise da celulose e hemicelulose, produzindo açúcares fermentescíveis. Os ensaios foram realizados com tempo de reação (t) de 20 min. Os resultados das hidrólises foram verificados baseando-se em P_{GRT}. Os valores das variáveis dependente (P_{GRT}) e independentes (T e [HCl]), bem como os resultados de [GRT], η_{GRT}, HMF e Furfural dos diversos experimentos de hidrólise estão apresentados na Tabela 20.

Tabela 20: Avaliação da hidrólise ácida como pré-tratamento do LA4.

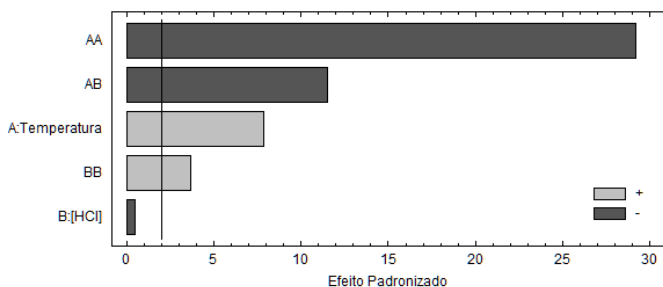
Ensaio	T (°C)	[HCl] (M)	P_{GRT} (g GRT/g Subst)	[GRT] (g/L)	η_{GRT} (%)	HMF (g/L)	Furfural (g/L)	Sev.
1	100	1,3	0,052	2,73	8,96	0,04	0,01	8,10
2	150	1,3	0,139	6,93	23,72	0,23	0,66	9,58
3	100	2,7	0,074	3,74	12,64	0,04	0,11	8,30
4	150	2,7	0,092	4,23	15,74	0,16	0,78	9,77
5	125	2	0,112	5,71	19,22	0,10	0,72	9,04
6	125	2	0,118	5,43	20,21	0,11	0,75	9,04
7	125	2	0,116	5,65	19,79	0,10	0,75	9,04
8	90	2	0,049	2,32	8,35	0,03	0,01	8,01
9	160	2	0,022	1,02	3,68	0,12	0,84	10,07
10	125	1	0,111	5,37	19,01	0,10	0,48	8,44
11	125	3	0,126	5,93	21,64	0,14	0,49	9,04
CO _M	136	1	0,132					
CO _E	136	1	0,142	6,58	24,25	0,16	0,69	8,76

CO_M – Condição ótima estabelecida pelo modelo; CO_E – Condição ótima experimental; Sev.: severidade.

Fonte: Autora (2013).

Os efeitos estimados de acordo com o nível de significância (p), representando a solubilização de açúcares a partir da fração holocelulósica contida no línter de algodão estão apresentados No diagrama de pareto apresentado na Figura 40. Apenas a variável “[HCl]” não apresentou efeito significativo em P_{GRT} (p > 0,05). A variável “T” apresentou efeito linear positivo, indicando que o aumento da temperatura promoveu um aumento da solubilização dos açúcares. A interação entre as variáveis “T” e “[HCl]” foi negativa, neste caso o aumento de uma variável deve ser realizado com a redução da outra para maximização de P_{GRT}. Tal fato possivelmente decorre do aumento da degradação de açúcares a HMF e furfural com o aumento concomitante das duas variáveis estudadas.

Figura 40: Diagrama de Pareto dos ensaios do pré-tratamento ácido do LA4, com os efeitos de T e [HCl] relacionados ao P_{GRT}.



Fonte: Autora (2013).

Observa-se que a variável “T” apresentou efeito quadrático negativo, indicando que existe na faixa de valores estudada, uma temperatura ótima que maximiza a solubilização de açúcares. Nas condições estudadas foi possível verificar que, o aumento da severidade a partir de 8,76 não promoveu aumento da concentração de açúcares, apesar da baixa concentração de HMF e furfural, possivelmente estes podem ter se degradado a ácido fórmico e levulínico (CANETTIERI, 2004). De qualquer maneira, as concentrações de HMF e furfural encontram-se abaixo das concentrações que causam inibição as arqueias metanogênicas (BOOPATHY, 2009; CAO *et al.*, 2010; BARAKAT *et al.*, 2012).

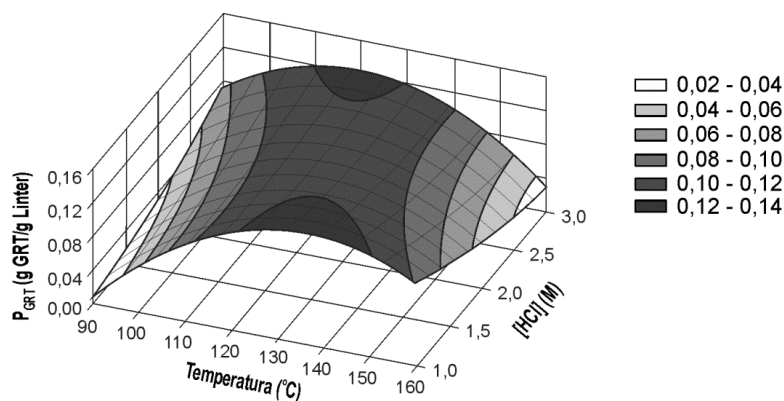
A partir dos dados das Tabelas 4 foi deduzida a Equação 28 ($R^2=0,78$) que representa o modelo estatístico de uma superfície resposta que melhor representa a distribuição dos conjuntos de valores de (T, [HCl] e P_{GRT}) no espaço.

$$P_{GRT} = -1,055 + 0,017 \times T - 0,00006 \times T^2 - 0,00099 \times T \times [HCl] + 0,009 \times [HCl]^2 \dots\dots\dots (28)$$

Com base nesta equação, foram estimadas as condições experimentais que maximizam a solubilização de dos açúcares (em termos de GRT) através das derivadas desta equação em função de “T” e “[HCl]”. O resultado desta análise foi: Temperatura de 136 °C e [HCl] de 1,0 M. Nessas condições, o resultado do modelo para P_{GRT} foi de 0,132 g GRT/g Subst. O ensaio realizado com estas condições resultou em P_{GRT} de 0,142 g GRT/g Subst, com uma eficiência de solubilização de açúcares de 24,25%. Este valor está próximo daquele previsto pelo modelo em um intervalo de confiança de 95%. Este comportamento indica que o modelo se adapta aos resultados experimentais.

A Figura 41 apresenta a superfície de resposta utilizada para estimar P_{GRT} em relação às variáveis independentes (T e [HCl]).

Figura 41: Superfície de resposta de acordo com a Equação (28), que descreve a produção específica de açúcares provenientes do pré-tratamento com ácido do LA4 em função de T e [HCl].



Fonte: Autora (2013).

Considerando que 24,25% da fração holocelulósica foi solubilizada e que o pré-tratamento com ácido diluído solubiliza principalmente a fração hemicelulósica, pode-se inferir que 76% da fração de hemicelulose (31,8% da fração de holocelulose) foi hidrolisada. Esses resultados são muito semelhantes aos encontrados por Zhao *et al.* (2007) ao investigarem a eficiência da hidrólise ácida da fração celulósica do línter de algodão usando H_2SO_4 (0,1, 0,2 e 0,4 M) a uma temperatura de 150 °C por 30 min, onde a maior eficiência de solubilização da celulose à monômeros de açúcar (25,5%) se deu com 0,4 M de H_2SO_4 com baixa formação de HMF e furfural.

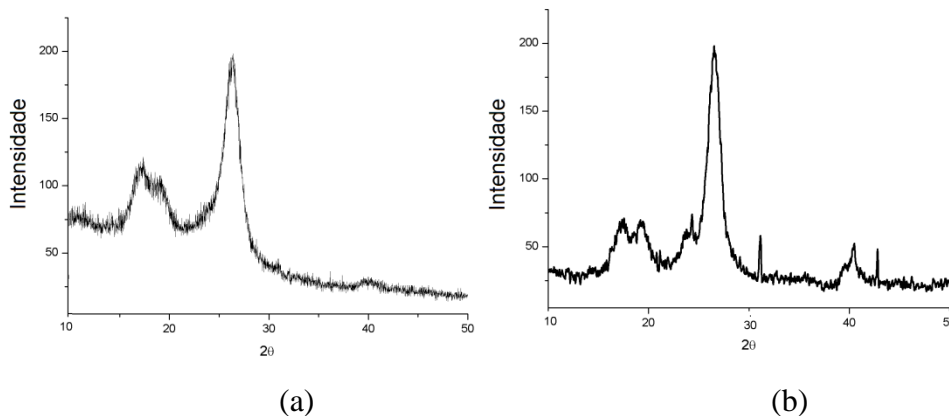
Ainda de acordo com Zhao *et al.* (2007) a hidrólise parcial da celulose do línter do algodão não apresentou efeito significativo sobre a cristalinidade da celulose da fibra após a hidrólise, quando comparada a fibra bruta. Segundo esses autores, isso sugere que a celulose amorfa na massa (e não na superfície) não é acessível à hidrólise e que microfibrilas são hidrolisadas por meio de um processo de reação na superfície.

Nada *et al.* (2009) avaliaram os efeitos da hidrólise ácida no índice de cristalinidade e o grau de polimerização da fração celulósica do línter do algodão. Os autores usaram HCl em concentrações entre 1,25 e 6,75 M, em temperatura ambiente por 1 h e concluíram que o aumento da concentração de ácido causa não apenas efeito sobre a degradação da parte

amorfa, mas também degrada parte da glicose promovendo dessa maneira uma pequena redução da cristalinidade do línter de 77,8% para 76,02% com HCl 1,25 M e para 71,40% com HCl 6,75 M. Associado a isso houve também uma redução do grau de polimerização em virtude da solubilização dos açúcares. Observa-se então, que a hidrólise ocorre sobre a superfície do material, a qual é composta por uma massa de celulose amorfa e cristalina, por isso não existe variação significativa do I_C da celulose após hidrólise ácida, conforme evidenciado por Zhao *et al.* (2007). Vale ressaltar que nos dois trabalhos apenas a fração celulósica foi investigada e que o I_C foi calculado com base apenas nessa fração.

A Figura 42 apresenta os perfis de difração de raio-X das amostras de LA4 antes e após hidrólise ácida. A fibra do LA4 após hidrólise ácida apresentou um padrão de difração característico da Celulose I (JCPDS, 1986), com picos em aproximadamente 17° (plano 101); 19° (plano 101); 26° (plano 002) e 41° (plano 040). É possível observar que houve uma maior modificação da linha de base do difratograma após hidrólise ácida do LA4. Isso se deu pela menor interferência provocada pela fração amorfa (hemicelulose) removida pela hidrólise, neste caso houve um aumento mais significativo do I_C que passou de 65 para 83%.

Figura 42: Perfis de difração de raios-X das amostras de LA4 antes (a) a após (b) hidrólise ácida.



Fonte: A autora (2013)

5.3.4. Biodegradabilidade Anaeróbia e Potencial de Produção de Metano obtidos a partir do LA4

Os valores de biodegradabilidade anaeróbia e PPM dos hidrolisados produzidos nos pré-tratamentos hidrotérmico e ácido do LA4 estão apresentados na Tabela 21, juntamente com os resultados relativos ao líter que não foi submetido a qualquer pré-tratamento físico-químico (controle).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 21, pode-se verificar que a hidrólise ácida produziu uma fibra mais facilmente hidrolisável anaerobiamente (H% = 32,13%) e, conseqüentemente, mais biodegradável (Bio = 49,6%) e com PPM de 401,4 L CH₄/kg Subst. Observa-se que a maior solubilização da fração hemicelulósica, alcançada com a hidrólise ácida (possivelmente 100%), promoveu um aumento da acessibilidade enzimática à celulose, visto que a hemicelulose também funciona como uma barreira ao ataque enzimático à celulose (SUN *et al.*, 2004b), o que implicou em maior hidrólise anaeróbia.

Tabela 21: Resultados dos ensaios de biodegradabilidade anaeróbia e PPM do LA4.

Pré-tratamento	%r _{Hid} (%)	%H (%)	Bio(%) _{Hid} ⁽¹⁾	Bio(%) _{Total} ⁽²⁾	PPM _{Hid} ⁽¹⁾ (LCH ₄ /kgHid)	PPM _{Total} ⁽²⁾ (LCH ₄ /kgSubst)
Sem pré-trat. ⁽³⁾	100,0	21,68	24,1	24,1	165,6	165,6
Hidrólise ácida	98,9	32,13	49,6	49,1	401,4	397,1
Hidrólise Hidrotérmica	94,8	12,01	19,2	18,2	245,3	232,4

(1) Biodegradabilidade e PPM baseados na massa seca da fibra **após** a hidrólise

(2) Biodegradabilidade e PPM baseados na massa seca da fibra **antes** da hidrólise

(3) Utilizou-se fibra seca e moída, sem pré-tratamento físico-químico para hidrólise (controle)

Fonte: Autora (2013).

A hidrólise hidrotérmica removeu a fração mais facilmente hidrolisável, diminuindo, portanto a hidrólise anaeróbia em relação à fibra bruta. A hidrólise ácida é mais severa, conseqüentemente removeu uma maior fração de hemicelulose, a qual atua como barreira física, aumentando dessa maneira a acessibilidade das enzimas à fibra, com conseqüente

aumento da hidrólise anaeróbia. Considerando que 31,9% do línter são constituídos de hemicelulose e que a hidrólise hidrotérmica e ácida solubilizara, 8,6 e 24,25% da fração holocelulósica, respectivamente, mais especificamente hemicelulose, pode-se inferir que houve uma solubilização da fração de hemicelulose de 27 e 76%, respectivamente.

Resultados semelhantes aos obtidos nesta pesquisa também foram encontrados por Jeihanipour *et al.* (2011) ao investigarem o PPM da celulose cristalina após pré-tratamento com N-metil-morfolina-N-óxido (NMMO), o máximo PPM (415 LCH₄/g subst.) foi obtido após hidrólise com 85% de NMMO, 120 °C e 2,5 h. Neste tipo de hidrólise ocorre a formação de uma pasta de celulose, promovendo o inchaço das fibras e conseqüentemente aumentando a acessibilidade enzimática.

Xia *et al.* (2012) investigaram a digestão anaeróbia termofílica (55 °C) da celulose microcristalina e obtiveram máxima biodegradabilidade do substrato (14,7%) em 380 horas. Observa-se que a biodegradabilidade alcançada por Xia *et al.* (2012) foi menor que a biodegradabilidade do línter bruto, isto provavelmente está associado à hemicelulose contida no línter, material mais facilmente biodegradável. Fernandes *et al.* (2009) avaliaram o efeito do pré-tratamento termoquímico sobre a biodegradabilidade anaeróbia do feno (2,3% de lignina) e obtiveram um PPM de 320 LCH₄/kg fibra sem qualquer pré-tratamento. Esse valor é superior ao obtido nesta pesquisa, no entanto isso pode ser explicado pela maior fração de lignina contida no línter (10,88%), dificultando dessa maneira o ataque enzimático à fração holocelulósica.

6. DISCUSSÃO FINAL

Vários estudos têm mostrado que a cristalinidade é o principal fator a ser considerado para definir a biodegradabilidade de material celulósico (JEIHANIPOUR *et al.*, 2011), sendo a celulose amorfa mais facilmente disponível para a digestão por enzimas do que a celulose cristalina (LYND *et al.*, 2002; ZANG; LYND, 2004). No entanto, outros estudos relatam que a área da superfície acessível é o fator mais importante na utilização de celulose pela célula microbiana (SONG *et al.*, 2005; WEIMER *et al.*, 2010). A digestão da celulose ocorre por meio da excreção da enzima celulase na superfície externa da parede celular dos microrganismos anaeróbios, o qual se une à superfície das partículas de celulose, portanto, causando hidrólise (JEIHANIPOUR *et al.*, 2011). Dessa maneira quanto maior a superfície acessível maior a eficiência de hidrólise e conseqüentemente maior o PPM. Observou-se nos diferentes hidrolisados desta pesquisa que houve um aumento tanto da biodegradabilidade anaeróbia quanto do PPM quando frações de lignina e/ou hemicelulose foram removidas do substrato.

Os resultados de hidrólise anaeróbia apresentados para os diferentes substratos mostraram que a liberação de açúcares fermentescíveis durante hidrólises ácidas e hidrotérmicas reduziu a necessidade das enzimas realizarem o processo de hidrólise. Por outro lado, o aumento da hidrólise anaeróbia observado nas fibras que foram hidrolisadas com NaOH evidencia que a remoção da lignina e hemicelulose aumentou a superfície acessível favorecendo a ação enzimática.

Todos os pré-tratamentos promoveram aumento da cristalinidade da fibra, que ocorreu devido à remoção parcial ou total da fração de hemicelulose, lignina e, em alguns casos, da celulose amorfa. Todas as amostras apresentaram um padrão de difração característico da Celulose I (JCPDS, 1986), com picos em aproximadamente 17° (plano 101); 19° (plano 101); 26°(plano 002) e 41°(plano 040). Logo, os processos químicos não modificaram a estrutura cristalina da celulose. Esses resultados estão coincidentes com os resultados obtidos por Nada *et al.* (2009) e Zhao *et al.* (2007). No entanto, como estes autores investigaram apenas a fração celulósica, não foi observado o aumento da cristalinidade.

Analisando-se a influência da severidade sobre a hidrólise hidrotérmica de todos os substratos investigados pode-se observar que quando o aumento da severidade se dá em virtude do aumento do tempo de reação há redução da concentração dos açúcares e maior

formação de produtos de degradação (HMF e furfural). Isso provavelmente se deve ao aumento do tempo de exposição dos açúcares solubilizados a uma elevada temperatura.

Já o comportamento da hidrólise ácida para os diferentes resíduos em relação ao aumento da severidade se deu de maneira diferente. No caso da FMD, quando a severidade era influenciada pelo aumento da temperatura havia uma maior degradação dos açúcares, enquanto que para o BCA e LA4 o aumento do pH foi mais impactante. Isso provavelmente esteja associada a menor fração de lignina nos dois últimos substratos. Dessa maneira, tanto a hemicelulose quanto a celulose ficaram mais expostas à ação do ácido.

Por outro lado, o aumento da temperatura na hidrólise ácida da FMD provavelmente possibilitou a solubilização da lignina (PEDERSEN; MEYER, 2010) e, por conseguinte, a solubilização da fração holocelulósica. Nos dois casos de hidrólise alcalina (FMD e BCA) o aumento da severidade propiciou aumento da solubilização da lignina.

Considerando-se que o metano tem um poder calorífico inferior (PCI) de 34.450 kJ/m^3 (SALOMON; LORA, 2005), o melhor rendimento de energia para a FMD foi de $6,9 \text{ MJ/Kg Subst}$ após hidrólise ácida. Por outro lado, a $\text{FMD}_{\text{bruta}}$, com a umidade de cerca de 40%, tem PCI de $9,6 \text{ MJ/kg Subst}$ (FURLAN JR., 2007). O BCA por sua vez obteve um máximo rendimento de produção de energia via digestão anaeróbia de $6,8 \text{ MJ/Kg Subst}$, valor este muito semelhante ao PCI obtido pela queima do bagaço de $7,2 \text{ MJ/kg Subst}$ (PEDROSO; AIELLO, 2005). Evidencia-se desta maneira que o pré-tratamento da FMD e do BCA não é economicamente vantajoso se o único objetivo for a produção de energia.

Uma alternativa é usar a lignina extraída na hidrólise alcalina na indústria química (VILA *et al.*, 2003). Esta lignina pode ser utilizada na fabricação de pesticidas, aditivos para tintas e vernizes, como agente para melhorar a viscosidade dos lodos na perfuração de poços petrolíferos e artesianos, como agente aglomerante ou de flutuação no tratamento de efluentes, aditivo para melhoramento e acondicionamento de solos, como agente de liberação lenta de nitrogênio no solo, entre outras aplicações (HARKIN, 1969). Neste caso, a FMD e o BCA hidrolisados poderão gerar 180 e $313,4 \text{ L CH}_4/\text{kg Sust}$, respectivamente, permitindo uma produção de energia $6,2$ e $11,2 \text{ MJ/kg Subst}$, respectivamente, além dos benefícios relacionados com a comercialização da lignina.

Faz-se necessário avaliar a viabilidade também de um processo de pré-tratamento em dois estágios, composto de uma etapa com hidrólise ácida para solubilização dos açúcares provenientes da fração hemicelulósica e uma segunda etapa de hidrólise alcalina para

remoção da lignina. Neste caso, tanto a fração solúvel obtida com a hidrólise ácida quanto à fibra após a remoção da lignina seriam encaminhadas para ensaio de biodegradabilidade, o que resultaria na minimização das perdas de biomassa no processo como um todo.

O melhor rendimento de energia obtido com o LA4 foi de 13,2 MJ/kg Subst que, apesar de melhor que os obtidos pela FMD e pelo BCA, é menor que o rendimento de energia produzido pela queima do línter transformado em briquete de 17,3 MJ/kg Subst (DA MOTA, 2009). No entanto, um estudo de viabilidade econômica é necessário para avaliar a melhor alternativa de uso do línter. É importante salientar que está é apenas uma análise superficial não sendo considerados aspectos termodinâmicos do uso dos diversos combustíveis, que impactam na eficiência de conversão da energia térmica em energia elétrica.

Outra questão a ser considerada é a aclimatação do lodo aos substratos a serem hidrolisados. Os testes de biodegradabilidade são afetados pelo inóculo utilizado, sendo possível que os valores de PPM dos diversos substratos sejam maiores que os encontrados neste estudo. Porém este não é o único fator a ser considerado, pois os custos com investimento, operação e manutenção podem ainda inviabilizar o processo. Neste caso, o aproveitamento dos resíduos lignocelulósicos deve incluir, não apenas a produção de energia renovável, mas também a produção de outros produtos de maior valor agregado. Do material lignocelulósico, pode-se extrair: lignina para produção de adesivos, resinas fenólicas, tintas entre outros (BENAR, 1996; CAMARERO *et al.* 1999; PIMENTA *et al.*, 1997), celulose para aplicação como adesivo na construção civil (NASCIMENTO, 2010), na indústria farmacêutica e de cosméticos (SILVA *et al.*, 2011). Como o metano tem baixo valor de mercado, a digestão anaeróbia pode ser usada para produção de energia após a recuperação destes produtos de alto valor.

7. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Com base na massa inicial de fibra, a hidrólise ácida da fibra do mesocarpo do dendê promoveu a solubilização dos açúcares (56%), atingindo PPM de 199 LCH₄/kg Subst. No entanto, o metano produzido pela digestão anaeróbia deste hidrolisado gera menos energia do que a queima direta da fibra bruta. Assim, a vantagem econômica deste processo depende da utilização de outros subprodutos além do biogás. A hidrólise alcalina é uma alternativa promissora, pois isto assegura uma extração de até 91% da lignina presente na fibra, bem como a produção de 180 LCH₄/kg Hidrolisado, gerando 6,9 MJ/kg Subst.

A hidrólise ácida do bagaço de cana-de-açúcar promoveu solubilização de açúcares (56% da holocelulose), atingindo PPM de 122,4 LCH₄/kg Subst. No entanto a maior biodegradabilidade anaeróbia (27,4%) e PPM (197 L CH₄/kg Subst) foram obtidos utilizando o pré-tratamento hidrotérmico, o que está provavelmente relacionado com uma menor produção de HMF e furfural, bem como a não deposição de lignina as superfície da fibra. No entanto, o metano obtido a partir da digestão anaeróbia deste hidrolisado produz menos energia do que a queima direta do bagaço seco. Neste caso, assim como para a FMD, possivelmente, a vantagem econômica deste processo depende da utilização de outros subprodutos além do biogás. Assim, hidrólise alcalina assegura uma extração de até 80% da lignina do bagaço e produz 313,4 L CH₄/kg hidrolisado, gerando 11,2 MJ/kg Subst.

O línter do algodão apresentou melhores resultados em termos de solubilização de açúcares com o pré-tratamento ácido (24,25% da holocelulose), atingindo PPM de 397,1 LCH₄/kg Subst, com uma biodegradabilidade de 49,1%.

O maior PPM do LA4 bruto, quando comparado com a FMD e o BCA (bruto), se deve a menor fração de lignina contida na fibra, e conseqüentemente a maior fração de holocelulose (material biodegradável).

A partir desses resultados verifica-se a necessidade de um estudo aprofundado quanto à possibilidade do aproveitamento da lignina extraída a partir do pré-tratamento alcalino. Além disto, observou-se que as perdas de substrato, possivelmente hemicelulose, com esse tipo de pré-tratamento são significativas, em alguns casos chegando a valores próximos de 60%. Uma provável solução seria a adoção de um pré-tratamento ácido antes do pré-tratamento alcalino de maneira a minimizar as perdas de substrato pela lavagem da fibra, quando esta é submetida apenas ao pré-tratamento alcalino. Recomenda-se então uma investigação quando a eficiência

de hidrólise e os benefícios de um pré-tratamento em série, ácido seguido do alcalino, para a biodegradabilidade e PPM.

Recomenda-se ainda um levantamento do balanço energético do processo, com o objetivo de estimar o total de energia utilizado para o funcionamento do próprio sistema e o total de energia disponível. E por fim faz-se necessário ainda, que sejam feitos um estudo aprofundado de viabilidade econômica, bem como um estudo do ciclo de vida do processo, de maneira a avaliar não apenas os custos, mas quantificar os possíveis benefícios ambientais. Faz-se necessário ainda um estudo de viabilidade técnica quanto à implantação do sistema em escala real, haja vista as peculiaridades dos reatores de alta pressão com uso de produtos ácidos ou bases fortes.

8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ABATZOGLOU, N. *et al.* Phenomenological kinetics of complex systems: the development of a generalized severity parameter and its application to lignocellulosics fractionation. **Chemical Engineering Science**, v. 47, n. 5, p. 1109-1122, 1992.
- ABNISA, F. *et al.* The residues from the palm oil industry are the main contributors to biomass waste in Malaysia, and these wastes require extra attention with respect to handling. **BioEnergy Research.**, v. 6, p. 830-840, 2013.
- AGUIAR, A., *et al.* Behavior of *Ceriporiopsis subvermispora* during *Pinus taeda* biotreatment in soybean-oil-amended cultures. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 64, n. 7, p. 588-593, 2010.
- AGUILAR, R. *et al.* Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse, **Journal of Food Engineering**, v. 55, n. 4, p. 309-318, 2002.
- ANGELIDAKI I. *et al.* Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. **Water Science Technology**, v. 59, n. 5, p. 927-934, 2009.
- ANGELIDAKI, I; SANDERS, W. Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. **Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology**, v. 3, n. 2, p. 117-129, 2004.
- APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21st ed. Washington DC, USA. 2005.
- ARAÚJO, A.E., SILVA, C.A., FREIRE, E.C. Cultura do algodão herbáceo na agricultura familiar. **Embrapa Algodão, Sistemas de Produção**, v. 1, n. 2, p. 1678-8710. 2006.
- ARREDONDO, H.V. **Avaliação exergética e exergo-ambiental da produção de biocombustíveis**. Dissertação de mestrado, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, SP, 2009.
- ASSMANN, V. **Obtenção de compósitos termomoldados a partir da torta de mamona plastificada com glicerol, derivado do processo de transesterificação de óleos e gorduras**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, p. 104, 2009.

- AUBERT, J.P.; BEGUIN, P.; MILLET, J., **Biochemistry and Genetics of Cellulose Degradation**; eds.; Academic Press: New York, 11, 1988.
- BARAKAT, A. *et al.* Effect of lignin-derived and furan compounds found in lignocellulosic hydrolysates on biomethane production. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 90-99, 2012.
- BARBOSA, C.R.; CÂNDIDO, E.J.; E SILVA, J.B.A. Caracterização dos compostos inibidores do hidrolisado hemicelulósico de palha de cevada utilizado para produção biotecnológica de xilitol. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 6., 2005, Lorena, **Anais...** São Paulo, 2005.
- BARRIENTOS, M; SORIA, C. Palm Oil Production by Country - Index Mundi. Available at <http://www.indexmundi.com/agriculture/?commodity=palm-oil&graph=production>. Acesso: 27 março 2013, 2012.
- BELAY, N.; BOOPATHY, R.; VOSKUILEN, G. Anaerobic Transformation of Furfural by *Methanococcus deltae* Δ LH. **Environmental Microbiology**, v. 63, n. 5, p. 2092-2094, 1997.
- BENAR, P. **Ligninas acetosolv e formacell de eucalipto e de bagaço de cana: isolamento, fracionamento, caracterização e uso como componente de resinas fenolicas do tipo resol**. Tese de Doutorado – Instituto de Química - UNICAMP, Campinas, p. 192, 1996.
- BERLIN, A. *et al.* Inhibition of cellulase, xylanase and beta-glucosidase activities by softwood lignin preparations. **Journal Biotechnology**, v. 125, p. 198-209, 2006.
- 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**, v. 13, n. 3, p. 10-11, 2010.
- BEVILAQUA, D. B. **Produção de ácido levulínico por meio de hidrólise ácida da casca de arroz**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, Brasil, p. 87, 2010.
- BOOPATHY, R. Anaerobic biotransformation of furfural to furfuryl alcohol by a methanogenic archaeobacterium. In: **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 63, n. 8, p. 1070-1072, 2009.

- BOOPATHY, R.; BOKANG, H.; DANIELS, L. Biotransformation of furfural and 5-hydroxymethyl furfural by enteric bacteria. **Journal of industrial microbiology**, v. 11, n. 3, p. 147-150, 1993.
- BOUSSARSAR, H.; ROGÉ, B.; MATHLOUTHI, M. Optimization of sugarcane bagasse conversion by hydrothermal treatment for the recovery of xylose. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 6537-6542, 2009
- BRASIL. Agência Nacional de Energia Elétrica (ANEEL). Resoluções homologatórias. Biblioteca virtual. Disponível em <<http://www.aneel.gov.br>>. Acesso em: 14 de março de 2010.
- BRASIL. Conselho Nacional de Política Energética. Resolução nº 6, de 16 de setembro de 2009. Estabelece em cinco por cento, em volume, o percentual mínimo obrigatório de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado ao consumidor final, de acordo com o disposto no art. 2o da Lei no 11.097, de 13 de janeiro de 2005. Diário Oficial da União, Brasília, 26 out 2009. Seção 1, 99, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria MA nº 55, de 9 de fevereiro de 1990. Norma de Identidade, Qualidade, Embalagem e Apresentação do Algodão em Pluma, de acordo com o disposto na Lei nº 6.305, de 15 de dezembro de 1975 e Decreto nº 82.110, de 14 de agosto de 1978. Diário Oficial da União, Brasília, Seção 1, 30-50, 14 fev 1990.
- BRASIL. Ministério de Minas e Energia. Plano Nacional de Energia 2030 / Ministério de Minas e Energia ; colaboração Empresa de Pesquisa Energética . Brasília : MME : EPE, 2007.
- BRINGEL, L.M.L. **Avaliação nutricional da torta do dendê (*Elaeis guineensis*, Jacq) em substituição à silagem de capim elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) na alimentação de ruminantes**. Dissertação. Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, p. 148, 2009.
- BRUNI, E.; JENSEN, A.P.; ANGELIDAKI, I. Steam treatment of digested biofibers for increasing biogas production. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 7668-7671, 2010.
- BUSTOS, G. *et al.* Modeling of the Hydrolysis of Sugar Cane Bagasse with Hydrochloric Acid. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 104, n. 1, p. 51-68, 2003.
- BUSWELL, A.M; MUELLEPI, H.F. Mechanism of methane fermentation. **Industrial & Engineering Chemistry**, v. 44, n. 3, p. 550-552, 1952.

- CADOCHE, L.; LOPEZ, G.D. Assessment of size reduction as a preliminary step in the production of ethanol from lignocellulosic wastes. **Biology Wastes**, v. 30, p. 153-157, 1989.
- CAIXETA, G. **Estudo de cenário de produção de biodiesel**. Dissertação. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, p. 139, 2009.
- CAMARERO, S. *et al.* Pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry analysis of phenolic and etherified units in natural and industrial lignins. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 13, p. 630-636, 1999.
- CAMMAROTA, M.C.; FREIRE, D.M.G. A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewater with high oil and grease content. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 17, p. 2195-2210, 2006.
- CANETTIERI, E.V. **Obtenção dos parâmetros e estudo cinético da hidrólise ácida dos resíduos florestais de eucalipto**. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, SP, p. 145, 2004.
- CANILHA, L. *et al.* Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar in natura, extraído com etanol ou ciclohexano/etanol. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 47. Natal. **Anais...** Natal, 2007.
- CANILHA, L. *et al.* Sacarificação da biomassa lignocelulósica através de pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática: uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal. **Rev. Analytica**, São Paulo, p. 44, 2010.
- CAO, G.-L. *et al.* Effect of lignocellulose-derived inhibitors on growth and hydrogen production by *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 24, p. 13475-13480, 2010.
- CARVALHEIRO, F. *et al.* Wheat straw autohydrolysis: process optimization and products characterization. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 153, p. 84-93, 2009.
- CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L.C.; GÍRIO, F.M. Hemicellulose biorefineries: a review on biomass pretreatments. **Journal Science Industrial Research**, v. 67, p. 849-864, 2008.
- CARVALHO, E.M. **Torta do dendê (*elaeis guineensis*, jacq) em substituição ao feno de capim-tifton 85 (*cynodon spp*) na alimentação de ovinos**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga – BA, 2006.

- CASSALES, A.R. *et al.* Caracterização Morfológica por Mev de Fibras de Línter de Algodão 1. Congresso Brasileiro de Algodão, 8.; COTTON EXPO, 1., 2011, São Paulo. Evolução da cadeia para construção de um setor forte: **Anais**. Campina Grande, PB: Embrapa Algodão. 1872-1876, 2011.
- CAVALLINI, C.M. **Estudo da modificação ácido-etanólica do amido de mandioca seguida de moagem**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto : [s.n.], 2009.
- CHANDRA, R. *et al.* Improving biodegradability and biogas production of wheat straw substrates using sodium hydroxide and hydrothermal pretreatments. **Energy**, v. 43, n. 1, p. 273-282, 2012.
- CHANDRA, R. *et al.* Substrate Pretreatment: The Key to Effective Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulosics? **Biofuels**, p. 67-93, 2007.
- CHANG, V.S.; HOLTZAPPLE, M.T. Fundamental Factors Affecting Biomass Enzymatic Reactivity. **Applied biochemistry and biotechnology**, p. 5-37, 2000.
- CHANG, V.S.; NAGWANI, M; HOLTZAPPLE, M.T. Lime pretreatment of crop residues bagasse and wheat straw. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 74, n. 3, p. 135-159, 1998.
- CHERNICHARO, C.A. DE L. **Reatores anaeróbios**. Belo Horizonte. Em: Princípios de Tratamento Biológico de Aguas Residuárias; UFMG, 5, 246, 2007.
- CHERRY, J.P.; LEFFLER, H.R. Cotton. Madison, American Society of Agronomy. **Agronomy Monograph**, v. 24, p. 511-569, 1984.
- CHOI, E.; RIM, J.M. Competition and inhibition of sulfate reducers and methane producers in anaerobic treatment. **Water Science Technology**, v. 23, p. 1259-1264, 1991.
- CONAB- Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, julho/2012 a junho/2013. Brasília, 2013a.
- CONAB- Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, julho/2012 a junho/2013. Brasília, 2013b.
- COUTO *et al.* Vias de valorização energética da biomassa. **Biomassa Energia**, v. 1, n. 1, p.71-92, 2004.

- DA MOTA, E.G. **Utilização do línter hidrolisado como fonte de energia**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, p. 64, 2009.
- DE AZEVEDO, M.; GOLDENSTEIN, R.L.S. Combustíveis alternativos e inovações no setor automotivo: será o fim da “era do petróleo”? **BNDES Setorial, Rio de Janeiro**, v. 23, p. 235-266, 2006.
- DELGENÉS, J.P., PENAUD, V., MOLETTA, R., Pretreatments for the enhancement of anaerobic digestion of solid wastes. Chapter 8. In: Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes. **IWA Publishing**, p. 201-228, 2002.
- DEUBLEIN, D.; STEINHAUSER, A. **Biogas from Waste and Renewable Resources. An Introduction**. 2008.
- DÍAZ, M.J. *et al.* Hydrothermal pre-treatment of rapeseed straw. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 2428-2435, 2010.
- DOMÍNGUEZ, J.M.O. **Efecto de los Productos de degradación originados en la explosión por vapor de biomasa de chopo sobre Kluyveromyces marxianus**. Tese de doutorado. Universidade Complutense de Madrid. Madrid, p. 160, 2003.
- DONOHUE, B.S. *et al.* Visualizing lignin coalescence and migration through maize cell walls following thermochemical pretreatment. **Biotechnology Bioengineering**, v. 101, p. 913-925, 2008.
- DUQUE, A. Optimization of integrated alkaline–extrusion pretreatment of barley straw for sugar production by enzymatic hydrolysis. **Process Biochemistry**, p. 1-7, 2013.
- EMMEL, A. *et al.* Fractionation of Eucalyptus grandis chips by dilute acid-catalysed steam explosion. **Bioresource technology**, v. 86, n. 2, p. 105-115, 2003.
- FAN, L.T.; LEE, Y.; BEARDMORE, D.H. Mechanism of the enzymatic hydrolysis of cellulose: Effects of major structural features of cellulose on enzymatic hydrolysis. **Biotechnology Bioengineering**, v. 22, p. 177-199, 1980.
- FAPESP (Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo). Propriedades do bagaço da cana-de-açúcar. **Revista Pesquisa FAPESP**, p. 30, 1998.
- FENGEL, D., WEGENER, G. **Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions**. De Gruyter, Berlin. 1984.

- FERNANDES, T.V. **Hydrolysis inhibition of complex biowaste**. Ph.D. Thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands. p. 182, 2010.
- FERNANDES, T.V. *et al.* Effects of thermo-chemical pre-treatment on anaerobic biodegradability and hydrolysis of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 2575-2579, 2009.
- FERREIRA, W.A.; BOTELHO, S.M.; VILAR, R.R.L. **Composição química dos subprodutos da agroindústria do dendê**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, p. 119, 1998.
- FURLAN JR., J. Dendê: Manejo e Uso dos Subprodutos e dos Resíduos. Embrapa Amazônia Oriental (Documentos 246), Belém, PA, Dezembro de 2006.
- GALLERT, C.; WINTER, J. **Bacterial metabolism in wastewater treatment systems**. In: Winter, J., Jördening, H. Wiley-VCH, Weinheim, Germany, p. 488, 2005.
- GÁMEZ, S. *et al.* Study of the hydrolysis of sugar cane bagasse using phosphoric acid. **J. Food Engineering**, v. 74, p. 78-88, 2006.
- GARCÍA-APARICIO, M.P. *et al.* Effect of inhibitors released during steam explosion pretreatment of barley straw on enzymatic hydrolysis. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 129, p. 278-288, 2006.
- GLASS, V. Expansão do dendê na Amazônia brasileira: elementos para uma análise dos impactos sobre a agricultura familiar no nordeste do Pará. Relatório técnico, p. 15, 2013. Acesso em: 16/07/2013. Disponível em: <http://reporterbrasil.org.br/documentos/Dende2013.pdf>.
- GOLDEMBERG, J. Biomassa e energia. **Quím. Nova**, v. 32, n. 3, p. 582-587, 2009.
- GUJER, W., ZEHNDER, A.J.B. Conversion processes in anaerobic digestion. **Water Science & Technology**, v. 15, n. 8-9, p. 127-167, 1983.
- GUNASEELAN, V.N. Biochemical methane potential of fruits and vegetable solid waste feedstocks. **Biomass and Bioenergy**, v. 26, n. 4, p. 389-399, 2004.
- GUWY, A.J. Equipment used for testing anaerobic biodegradability and activity. **Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology**, v. 3, n. 2, p. 131-139, 2004.
- HAMMAD, M.; BADARNEH, D.; TAHBOUB K. Evaluating variable organic waste to produce methane. **Energy Conversion & Management**, v. 40, p. 1463-1475, 1999.

- HARKIN, J.M. Lignin and its uses. Research note. U.S. Department of Agriculture, Forest Service Forest Products Laboratory, Madison, Wis., EUA, 1969.
- HARTMANN, H., ANGELIDAKI, I., AHRING, B.K. Increase of anaerobic degradation of particulate organic matter in full-scale biogas plants by mechanical maceration. **Water Science Technology**, v. 41, n. 3, p. 145-153, 2000.
- HEIKINHEIMO, L. Trichoderma reesei cellulases in processing of cotton. **VTT Publications**, 2002.
- HENDRIKS, A.T.W.M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 10-18, 2009.
- HERRERA, A. *et al.* Effect of the hydrochloric acid concentration on the hydrolysis of sorghum straw at atmospheric pressure. **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 103-109, 2004.
- HERRERA, A. *et al.* Production of Xylose from Sorghum Straw Using Hydrochloric Acid. **Journal of Cereal Science**, v. 37, p. 267-274, 2003.
- HIGUCHI, T. **Biochemistry and molecular biology of wood**. Springer Verlag, London, 1997.
- HU, Z.H.; YU, H.Q. Application of rumen microorganisms for enhanced anaerobic fermentation of corn stover. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 2371-2377, 2005.
- ICIDCA - Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar, La Habana (Cuba). Manual de los derivados de la caña de azúcar. 2.ed. México. p. 447, 1990.
- IYAMA, K.; LAM, T.B.T.; STONE, B.A. Phenolic acid bridges between polysaccharides and lignin in wheat internodes. **Phytochemistry**, v. 29, n. 3, p. 733-737, 1990.
- INSAM, H.; FRANKE-WHITTLE, I.; GOBERNA, M. Microbes in Aerobic and Anaerobic Waste Treatment. **Microbes at Work**. Springer Berlin Heidelberg, p. 1-34, 2010.
- IRICK, T.J. *et al.* Comparison of colorimetric and HPLC techniques for quantitating the carbohydrate components of steam-treated wood. Scientific note. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 17, n. 1, p. 137-149, 1988.

- IRWIN, D.; SPEZIO, M.; WALKER, L. Activity studies of eight purified cellulases: specificity, synergism and binding domain efforts. **Biotechnology Bioengineering**, v. 42, p. 1002–1013, 1993.
- JARRIGE, R. *et al.* Les constituants de l'appareil végétatif des plantes fourragères. In **R. Jarrige, Y. Ruckebusch, C. Demarquilly, M.-H. Farce, M. Journet (eds.) Nutrition des Ruminants Domestiques-Ingestion et Digestion. INRA**, Paris, p. 25-81, 1995.
- JEIHANIPOUR, A.; NIKLASSON, C.; TAHERZADEH, M.J. Enhancement of solubilization rate of cellulose in anaerobic digestion and its drawbacks. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 7, p. 1509-1514, 2011.
- JCPDS - International Center for Diffraction Data. JCPDS File 50-2241, 1986.
- JOLLET, V. *et al.* Non-catalyzed and Pt/ γ -Al₂O₃-catalyzed hydrothermal cellulose dissolution–conversion: influence of the reaction parameters and analysis of the unreacted cellulose. **Green Chemistry**, v. 11, n. 12, p. 2052-2060, 2009.
- JÖNSSON, L.J. *et al.* Detoxification of wood hydrolysates with laccase and peroxidase from white-rot fungus *Trametes versicolor*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 49, n. 6, p. 691-697, 1998.
- JORDÃO, E.P.; PESSOA, C.A. Tratamento de esgotos domésticos. 3. ed. Rio de Janeiro: **ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental**, p. 720, 1995.
- KADAM, K.L.; RYDHOLM, E.C.; MCMILLAN, J.D. Development and Validation of a Kinetic Model for Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass. **Biotechnology Progress**, v. 20, p. 698-705, 2004.
- KALTNER, F.J.; FURLAN, JR, J. Processamento industrial de cachos de dendê para produção de óleos de palma e palmiste. **A cultura do dendezeiro na Amazônia brasileira**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental; Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental. v. 1, p. 357-374, 2000.
- KASIVISVANATHAN *et al.* Fuzzy optimisation for retrofitting a palm oil mill into a sustainable palm oil-based integrated biorefinery. **Chemical Engineering Journal**, v. 200, p. 694-709, 2012.

- KELLER, F.A.; HAMILTON, J.E.; NGUYEN, Q.A. Microbial Pretreatment of Biomass Potential for Reducing Severity of Thermochemical Biomass Pretreatment. **Applied Biochemistry Biotechnology**, p. 105-108, 2003.
- KIIPPER, P.G. **Estudo da pré-hidrólise ácida do bagaço de cana-de-açúcar e fermentação alcoólica do mosto de xilose por *Pachysolen tannophilus***. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, p. 100, 2009.
- KIM, I.; HAN, J-I. Optimization of alkaline pretreatment conditions for enhancing glucose yield of rice straw by response surface methodology. **Biomass bioenergy**, v. 4, n. 6, p. 210-217, 2012.
- KRISTENSEN, J.B. *et al.* Cell-wall structural changes in wheat straw pretreated for bioethanol production. **Biotechnology Biofuels**, v. 1, n. 5, p. 1-9, 2008.
- KUMAR, P. *et al.* Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. **Ind. Eng. Chem. Res.** 48, 3713–3729, 2009.
- LAMONICA, H.M. Potencial de geração de excedentes de energia elétrica com o biogás produzido a partir da biodigestão da vinhaça na indústria sucro-alcooleira brasileira. **Proceedings of the 6. Encontro de Energia no Meio Rural**, 2006.
- LASER, M. *et al.* A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol. **Bioresource Technology**, v. 81, p. 33-44, 2002.
- LAVARACK, B.P.; GRIFFIN, G.J.; RODMAN, D. The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products. **Biomass Bioenergy**, v. 23, p. 367-380, 2002.
- LESCHINE, S.B. Cellulose degradation in anaerobic environments. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 49, n. 1, p. 399-426, 1995.
- LETTINGA, G. The anaerobic treatment approach towards a more sustainable and robust environmental protection. **Water Science & Technology**, v. 52, n. 1-2, p. 1-11, 2005.
- LIMA, P.C.R. Biodiesel: um novo combustível para o Brasil. Consultoria Legislativa: Fev. 2005. Disponível em: <
http://bd.camara.gov.br/bd/bitstream/handle/bdcamara/1141/biodiesel_combustivel_lima.pdf?sequence=3>. Acesso em 16 out. 2012.

- LYND, L.R.; *et al.* Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 66, n. 3, p. 506-577, 2002.
- SULAIMAN, A.; NAIM, M.N.; ZAKARIA, R. Enzymatic Saccharification of Oil Palm Mesocarp Fiber (OPMF) Treated with Superheated Steam. **BioResources**, v. 8, n. 1, p. 1320-1331, 2013.
- SILVA, D. M. *et al.* Obtenção de derivado de celulose a partir do bagaço de cana-de-açúcar com potencial aplicação nas indústrias farmacêutica e cosmética. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 41-45, 2011.
- MEYER, S.A.S., MELO, T.O. DE, XAVIER, C.R. Inibição e ativação de biomassa de sistema de tratamento de efluente de celulose kraft por derivados lignínicos. **Anais: 17 SBQSUL – FURG, Rio Grande – RS**, 2009.
- MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.
- MOLDES, A.B.; CRUZ, J.M.; DOMÍNGUEZ, J.M. Production of a cellulosic substrate susceptible to enzymatic hydrolysis from pre hydrolyzed barley husks, **Agricultural and Food Science**, v. 11, n. 1, p. 51-58, 2008.
- MONTGOMERY, D.C. Introdução ao Controle Estatístico da Qualidade. 4ª ed., LTC, 2004.
- MORAIS, J.P.S.; ROSA, M. DE F.; MARCONCINI, J.M. Procedimentos para análise lignocelulósica. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2010.
- MORO, L.; GONÇALVES, J.L.M. Efeitos da "Cinza" de biomassa florestal sobre a produtividade de povoamentos puros de *Eucalyptus grandis* e avaliação financeira. **IPEF**, v. 48/49, p. 18-27, 1995.
- MOSIER, N. *et al.* Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 673-686, 2005.
- MOTTA, F.S. Produza sua energia – biodigestores anaeróbios. Recife: Gráfica Editora, p. 144, 1986.
- MSHANDETE, A. *et al.* Effect of particle size on biogas yield from sisal fibre waste. **Renewable Energy**, v. 31, p. 2385-2392, 2006.
- NADA, A-A M.A *et al.* Preparation and characterization of microcrystalline cellulose (MCC). **BioResources**, v. 4, n. 4, p. 1359-1371, 2009.

- NASCIMENTO, B. **Síntese e caracterização do sulfato de acetato de celulose, obtido do bagaço de cana-de-açúcar, para aplicação como aditivo na construção civil.** Dissertação (mestrado)-Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Química, Programa de pós-graduação em Química, p. 143, 2010.
- NIEVES, D.C.; KARIMI, K.; HORVÁTH, I.S. Improvement of biogas production from oil palm empty fruit bunches (OPEFB). **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 1, p. 1097-1101, 2011.
- NIZAMI, A-S; KORRES, N.E.; MURPHY, J.D. Review of the Integrated Process for the Production of Grass Biomethane. **Environmental Science of Technology**, v. 43, n. 22, p. 8496–8508, 2009.
- OH, K.K. *et al.* Bioconversion of cellulose into ethanol by nonisothermal simultaneous saccharification and fermentation. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v. 89, p. 15-30, 2000.
- OLIVEIRA, F.M.V. **Avaliação de diferentes pré-tratamentos e deslignificação alcalina na sacarificação da celulose de palha de cana.** 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. Lorena, São Paulo, p. 98, 2010.
- OLIVEIRA, RF de; FURLAN JÚNIOR, J.; TEIXEIRA, L. B. Composição química de cinzas de caldeira da agroindústria do dendê. **Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado técnico**, v. 155, 2006.
- OLIVEIRA, R.M.; CARVALHO, E.P.; SCHUWAN, R.F. Produção de enzimas hidrolíticas extracelulares por *Fusarium* em sistema de batelada simples. **Revista Interação**, Juiz de Fora, 2, 2000.
- PABÓN-PEREIRA, C.P. **Anaerobic digestion in sustainable biomass chains.** Tese de doutorado, Universidade de Wageningen, Wageningen, Netherlands. P. 262, 2009.
- PAIVA, R.P.O. **Modelagem do planejamento agregado da produção em usinas cooperadas do setor sucroenergético utilizando programação matemática e otimização robusta.** Tese (Doutorado em Engenharia de Produção) - DEP/UFSCAR. São Carlos, p. 240, 2009.

- PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. **Bioresource Technology**; v. 74, p. 25-33, 2000.
- PALONEN, H.; VIKARI, L. Role of oxidative enzymatic treatments on enzymatic hydrolysis of softwood. **Biotechnology Bioengineering**, v. 86, p. 550-557, 2004.
- PANAGIOTOU, G.; OLSSON, L. Effect of compounds released during pretreatment of wheat straw on microbial growth and enzymatic hydrolysis rates. **Biotechnology Bioengineering**, v. 96, p. 250-258, 2006
- PAVLOSTATHIS, S.G.; GIRALDO-GOMEZ, E. Kinetics of anaerobic treatment. **Water Science of Technology**, v. 24, n. 8, p. 35-39, 1991.
- PEDERSEN, M.; MEYER, A.S. Lignocellulose pretreatment severity–relating pH to biomatrix opening: REVIEW. **New Biotechnology**, v. 27, n 6, p. 739-750, 2010.
- PEDERSEN, M.; VIKSØ-NIELSEN, A.; MEYER, A.S. Monosaccharide yields and lignin removal from wheat straw in response to catalyst type and pH during mild thermal pretreatment. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 7, p. 1181-1186, 2010.
- PEDROSO, D.T.; AIELLO, R.C. Gasification of biomass for electricity generation in the Cuban context. **Revista Ciênc. Exatas, Taubaté**, v. 11, n. 1, p. 55-57, 2005.
- PEREIRA JR., N.; COUTO, M. A. P. G.; SANTA ANNA, L. M. M. Series on biotechnology: biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and the context of biorefinery. **Amiga Digital UFRJ, Rio de Janeiro**, v. 2, p. 45, 2008.
- PETERSEN, M.O., LARSEN, J., THOMSEN, M.H. Optimization of hydrothermal pretreatment of wheat straw for production of bioethanol at low water consumption without addition of chemicals. **Biomass Bioenergy**, v. 33, n. 5, p. 834-840, 2009.
- PERIN, M. L. Informa Economics FNP. Uso de bagaço de cana para cogeração também fica menos competitivo. 2011. <http://www.informaecon-fnp.com/noticia/3961>. Access on: 26 Nov. 2011.
- PIMENTA, A.S.; VITAL, B.R. FUJIWARA, F.Y. Alcatrão ou creosoto de eucalipto na produção de adesivos fenólicos para colagem. **Química Nova**, v.20, n.4, p.365-371. 1997.

- RABELO, S.C. **Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar.** Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. P. 150, 2007.
- RAMOS, L.P. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. **Química Nova**, 26, 6, 863-871, 2003.
- REGO, E.E.; HERNANDEZ, F.M. Eletricidade por digestão anaeróbia da vinhaça de cana-de-açúcar: contornos técnicos, econômicos e ambientais de uma opção. In *Proceedings of the 6. Encontro de Energia no Meio Rural*, 2006, Campinas (SP, Brazil) [online]. 2006 [cited 01 December 2011]. Available from: <http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=MSC0000000022006000100053&lng=en&nrm=iso>.
- ROBINSON, J.A.; TIEDJE, J.M. Competition between sulfate-reducing and methanogenic bacteria for H₂ under resting and growing conditions. **Archives of microbiology**, v. 137, n. 1, p. 26-32, 1984.
- ROCHA, G.J.M. **Deslignificação de bagaço de cana de açúcar assistida por oxigênio.** PhD thesis, IQSC, USP, São Carlos, p. 136, 2000.
- RODRIGUES, F.A.; **Avaliação da tecnologia de hidrólise ácida de bagaço de cana.** Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, SP, Brasil, p. 139, 2007.
- RODRÍGUEZ-CHONG, A. *et al.* Hydrolysis of sugarcane bagasse using nitric acid: a kinetic assessment. **Journal of Food Engineering**, v. 61, p. 143-152, 2004.
- ROSSELL, C.E.V. Fermentação do hidrolisado. Campinas, SP. 2006. Disponível em: <<http://www.inovacao.rei.unicamp.br/etanol/report/Hidrolise%20Rossel%20Fermenta%E7%E3o%20do%20Hidrolisado.pdf>> Acesso em: 20/08/2011.
- ROZZI A; REMIGI, E. Methods of assessing microbial activity and inhibition under anaerobic conditions: A literature review. **Environmental Science Biotechnology**, v. 3, n. 2, p. 93-115, 2004.
- SAITO, T. *et al.* Homogeneous Suspensions of Individualized Microfibrils from TEMPO-Catalyzed Oxidation of Native Cellulose. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 6, p. 1687-1691, 2006.

- SALOMON, K.R.; LORA, E.E.S. Estimativa do potencial de geração de energia elétrica para diferentes fontes de biogás no Brasil. **Biomassa Energia**, v. 2, n. 1, p. 57-67, 2005.
- SANCHEZ, G. *et al.* Dilute-acid hydrolysis for fermentation of the Bolivian straw material Paja Brava. **Bioresource Technology**; v. 93, n. 3, p. 249–256, 2004.
- SANTOS, I.T. **Adaptação regulatória na indústria de biocombustíveis**. Dissertação (Mestrado em Economia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Economia, p. 131, 2012.
- SARROUH, B.F.; JOVER, J.; GONZÁLEZ, E. Estudio de la hidrólisis del bagazo con ácido sulfúrico concentrado utilizando dos variantes de una sola etapa y una sola etapa modificada para la obtencion de etanol y análisis técnico-econômico de dicho proceso. **Ingeniería Investigación**, v. 25, n. 3, p. 34-38, 2005.
- SASAKI, M. *et al.* Cellulose hydrolysis in subcritical and supercritical water. **The Journal of supercritical fluids**, v. 13, n. 1-3, p. 261-268, 1998.
- SATHAWONG, S.; SRIDACH, W. Improvement of molded pulp cushioning from palm pressed fibre for packaging. In: **47. Kasetsart University Annual Conference, Bangkok (Thailand)**, 2009.
- SCARAMUZZO, M. Consumo de biodiesel cresce no país. 2011. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/noticias/em-foco/consumo-biodiesel-cresce-pais-270111.htm>>. Acesso em: 21/04/2011.
- SCZOSTAK, A. Cotton linters: an alternative cellulosic raw material. In: **Macromolecular Symposia**. WILEY-VCH Verlag, p. 45-53, 2009.
- SEGAL, L.G.J.M.A. *et al.* An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29, n. 10, p. 786-794, 1959.
- SHARMA, P. *et al.* Environmental magnetism of lake sedimentation in Kumaon Himalayas. **Proceedings of the Indian National Science Academy, Part A. Physical sciences**, v. 54, n. 4, p. 595-604, 1988.
- SILVA, M.G.; E SILVA, JR., F.G. Produção de Polpa Celulósica a partir de Línier de Algodão. In: 14º Simpósio Internacional de Iniciação Científica - SIICUSP, 2006, Ribeirão Preto. **Anais do 14º SIICUSP** - www.usp.br/sicusp, 2006.

- SILVA, V.L.M.M.; GOMES, W.C.; ALSINA, O.L.S. Utilização do bagaço de cana de açúcar como biomassa adsorvente na adsorção de poluentes orgânicos. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, n. 1, p. 27-32, 2007.
- SILVERSTEIN, R.A. *et al.* A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 3000-3011, 2007.
- GURMIT, S.; MANOHARAN, S.; TOH, T. S. United Plantations' approach to palm oil mill by-product management and utilization. In: **Proceedings of the 1989 POROM International Palm Oil Development Conference—Agriculture. Palm Oil Research Institute of Malaysia, Kuala Lumpur**. 1990. p. 225-234.
- SONG, H.; CLARKE, W.P., BLACKALL, L.L. Concurrent microscopic observations and activity measurements of cellulose hydrolyzing and methanogenic populations during the batch anaerobic digestion of crystalline cellulose. **Biotechnology Bioengineering**, v. 91, p. 369-78, 2005.
- SOTO, M; MÉNDEZ, R; LEMA, J.M. 1993. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. **Water Research**, v. 27, n. 8, p. 1361-1376.
- SOUZA, O. *et al.* Biodegradação de resíduos lignocelulósicos gerados na bananicultura e sua valorização para a produção de biogás. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, p. 438-443, 2010.
- SPRINGER, E.L.; HARRIS, J.F. Prehydrolysis of aspen wood with water and with dilute aqueous sulfuric acid. **Svensk papperstidning**, v. 85, n. 15, p. 152-154, 1982.
- SREEKALA, M.S.; THOMAS, S.; NEELAKANTAN, N.R. **Journal Polymer Engineering**, v. 16, p. 265, 1977.
- SUE, T.T. Quality and Characteristics of Malaysian Palm Kernel Cakes/Expellers. *Palm Oil Development*, n. 34, p. 1-3. 2001. Disponível em: <<http://www.mpob.gov.my/publications/pod34.html>>. Acesso em: Janeiro, 2010.
- SUN, J.X. *et al.* Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. **Polymer Degradation and Stability**, v. 84, n. 2, p. 331-339, 2004a.
- SUN, X.F. *et al.* Characteristics of degraded lignins obtained from steam exploded wheat straw. **Polymer Degradation and Stability**, v. 86, n. 2, p. 245-256, 2004b.

- SUN, Y.; CHENG, J.; Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**, v. 83, p. 1-11, 2002.
- TAHERZADEH, M.J.; KARIMI, K. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. Publishers: **International journal of molecular sciences**, v. 9, n. 9, p. 1621-1651, 2008.
- TAJ, S.; MUNAWAR, M.A.; KHAN, S., 2007. Natural fiber-reinforced polymer composites. **Proceedings-Pakistan Academy of Sciences**, v. 44, n. 2, p. 129, 2007.
- TAMANINI, C.; HAULY, M.C.O. Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 25, n. 4, p. 315-330, 2004.
- TAPPI. T 222 om-02. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. 5, 2002a.
- TAPPI. T 203 cm-99. Alpha-, beta- and gamma-cellulose in pulp. 7, 2009.
- TAPPI. T 204 cm-97. Solvent extractives of wood and pulp. 4, 1997.
- TAPPI. T 211 om-02. Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 525°C. 5, 2002b.
- TAPPI. T 412 om-93. Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 900°C. 4, 1993
- US; E. PERENDECI, N.A. Improvement of methane production from greenhouse residues: Optimization of thermal and H₂SO₄ pretreatment process by experimental design. **Chemical Engineering Journal**, v. 181, p. 120-131, 2012.
- VAN HAANDEL, A. Aproveitamento dos subprodutos de destilarias de álcool para proteger o meio ambiente e aumentar a rentabilidade. **XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental**. Porto Alegre, p. 1-7, 2000.
- VÁZQUEZ, D. *et al.* Empirical assessment on the cellulase digestibility of processed Eucalyptus wood. **Applied Biochemistry. Biotechnology**, v. 37, p. 123-139, 1992.
- VÁZQUEZ, M. *et al.* Hydrolysis of sorghum straw using phosphoric acid: evaluation of furfural production. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 3053-3060, 2007.
- VEIGA, A.S.; SINIMBÁ, S.E.S.; RAMOS, E.J.A. **Sistema de adubação do dendezeiro por reposição de nutrientes exportados pelo cacho**. DENPASA, Belém, PA, 2001.

- VELMURUGAN, R.; MUTHUKUMAR, K. Ultrasound-assisted alkaline pretreatment of sugarcane bagasse for fermentable sugar production: Optimization through response surface methodology. **Bioresource Technology**, v. 112, p. 293-299, 2012.
- VENTURIERI, A. Evolução da área plantada com palma de óleo no Brasil, com ênfase no estado do Pará. **Agroenergia em Revista**. v. 2, p. 18, 2011.
- VIANA, P. T. **Avaliação nutricional da torta de algodão proveniente da extração do óleo sob diferentes condições de processamento**. Dissertação de Mestrado. Itapetinga-BA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, p. 129, 2012.
- VILA, C.; SANTOS, V.; PARAJÓ, J.C. Recovery of lignin and furfural from acetic acid–water–HCl pulping liquors. **Bioresource Technology**, v. 90, p. 339-344, 2003.
- WEIMER, P.J., LOPEZ-GUISA, J.M., FRENCH, A.D. Effect of cellulose fine structure on kinetics of its digestion by mixed ruminal microorganisms in vitro. **Applied Environmental Microbiology**, v. 56, p. 2421–9, 1990.
- WYMAN, C.E. **Ethanol production from lignocellulosic biomass: review**. In: Wyman, C.E. (Ed.), *Handbook on Bioethanol, Production and Utilization*. Taylor & Francis, Washington, DC (Chapter 1), 1996.
- XIA, Y.; ZHANG, T.; FANG, H.H.P. Thermophilic anaerobic degradation of microcrystalline cellulose using mixed culture enriched from anaerobic digestion sludge. **Procedia Environmental Scienci**, 12, 3-8, 2012.
- XIAO, Z. *et al.* Effects of sugar inhibition on cellulases and β -glucosidase during enzymatic hydrolysis of softwood substrates. **In: Proceedings of the Twenty-Fifth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals Held May 4–7, 2003, in Breckenridge, CO. Humana Press**. p. 1115-1126, 2004.
- XU, F. *et al.* Comparative study of alkali- and acidic organic solvent-soluble hemicellulosic polysaccharides from sugarcane bagasse. **Carbohydrate Research**, v. 341, n. 2, p. 253-261, 2006.
- YANG, B.; WYMAN, C.E. Effect of xylan and lignin removal by batch and flow through pretreatment on the enzymatic digestibility of corn stover cellulose. **Biotechnology Bioengineering**, v. 86, p. 89–95. 2004.

- YOKOYAMA, T.; KADLA, J.F.; CHANG, H.M. Microanalytical method for the characterization of fiber components and morphology of woody plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 5, p. 1040-1044, 2002.
- ZEEMAN, G. **Mesophilic and psychrophilic digestion of liquid manure**. PhD thesis, Department of Environmental Technology, Agricultural University, Wageningen. 1991.
- ZHANG, Y.H.P.; LYND, L.R. Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: noncomplexed cellulase systems. **Biotechnology Bioengineering**, v. 88, n. 7, p. 797-824, 2004.
- ZHAO, H. *et al.* Studying cellulose fiber structure by SEM, XRD, NMR and acid hydrolysis. **Carbohydrate polymers**, v. 68, n. 2, p. 235-241, 2007b.
- ZHAO, X.B. *et al.* Enhancement of the enzymatic digestibility of sugarcane bagasse by alkaline peracetic acid pretreatment. **Enzyme and Microbial technology**, v. 44, n. 1, p. 17-23, 2009.
- ZHAO, X.B.; WANG, L.; LIU, D.H.. Effect of several factors on peracetic acid pretreatment of sugarcane bagasse for enzymatic hydrolysis. **Journal of chemical technology and biotechnology**, v. 82, n. 12, p. 1115-1121, 2007a.
- ZHAO, X.B.; WANG, L.; LIU, D.H. Peracetic acid pretreatment of sugarcane bagasse for enzymatic hydrolysis: a continued work. **Journal of chemical technology and biotechnology**, v. 83, n. 6, p. 950-956, 2008.
- ZHAO, X.B.; WUA, R.; LIU, D. Production of pulp, ethanol and lignin from sugar cane bagasse by alkali-peracetic acid delignification. **Biomass Bioenergy**, v. 35, n. 7, p. 2874-2882, 2011.
- ZIETSMAN, J. *et al.* Feasibility of Landfill Gas as a Liquefied Natural Gas Fuel Source for Refuse Trucks. Technical Paper. **Journal of the Air & Waste Management Association**, v. 58, n. 5, p. 613-619, 2008.