UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA – EEL

Amanda Ladislau Monteiro

**Avaliação técnico-econômica do aproveitamento da lignina em biorrefinaria
integrada 1G2G para obtenção de lignossulfonatos**

LORENA

2019

AMANDA LADISLAU MONTEIRO

**Avaliação técnico-econômica do aproveitamento da lignina em biorrefinaria
integrada 1G2G para obtenção de lignossulfonatos**

Dissertação apresentada à Escola de
Engenharia de Lorena da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de Mestre em
Ciências do Programa do programa de Pós-
Graduação em Biotecnologia Industrial na área
de concentração de conversão de biomassa

Orientador: Prof. Dr. Júlio Cesar dos Santos

Versão Corrigida

LORENA

2019

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado
da Escola de Engenharia de Lorena,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Monteiro, Amanda Ladislau

Avaliação técnico- econômica do aproveitamento da lignina em biorrefinaria integrada 1G2G para obtenção de lignossulfonatos / Amanda Ladislau Monteiro; orientador Júlio César dos Santos - Versão Corrigida. - Lorena, 2019.
102 p.

Dissertação (Mestrado 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. 2019

1. Biorrefinaria. 2. Lignossulfonato. 3. Cana-de açúcar. 4. Simulação de bioprocessos. 5. Análise econômica. I. Título. II. dos Santos, Júlio César , orient.

Dedico este trabalho aos meus pais, Flávio e Rosângela, e ao meu irmão Marco Túlio.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo e de todos, agradeço a Deus por me capacitar a concluir este trabalho, pelo cuidado nos detalhes e por abrir as portas sempre nos momentos certos.

Ao Prof. Dr. Júlio César, pela orientação sempre presente.

Aos meus pais Flávio e Rosângela, pelo amor incondicional, carinho, apoio, orações e incentivo constante.

Aos amigos do laboratório, Lucas Ramos, Fernanda Mendes, Marcelo Holanda e Ruly Terán que estiveram comigo durante a maior parte da realização deste mestrado.

Aos amigos que encontrei em Lorena, em especial para a Ana Maria, Sarah, Fanny, Mariana, Lívia e Iaquine! Sem vocês esses anos não teriam sido repletos de tantos bons momentos!

Aos amigos que fiz na empresa Natura e na cidade de Jundiaí, em especial ao Vitor, Rose, Adailton e meus tios Meire e José Carlos que me apoiaram na conclusão desse trabalho, o incentivo de vocês foi muito importante.

A todos os funcionários do Departamento de Biotecnologia.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

A todos que torceram por mim durante toda essa etapa!

RESUMO

MONTEIRO, A. L. **Avaliação técnico-econômica do aproveitamento da lignina em biorrefinaria integrada 1G2G para obtenção de lignossulfonatos.** 2019. 102p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2019

A obtenção de etanol e outros produtos de interesse a partir de bagaço de cana-de-açúcar é de grande relevância nacional. De fato, no Brasil, o bagaço de cana-de-açúcar corresponde a um material abundante para uso como matéria prima em biorrefinarias, aumentando a possibilidade de incremento na produção de etanol sem necessidade de expansão da área plantada. Além disso, o uso do bagaço como matéria prima em um processo integrado nas usinas de produção de etanol de primeira geração tem sido demonstrado como favorável para aplicação no contexto brasileiro. Assim, no presente projeto foram realizados trabalhos experimentais e de simulação de biorrefinarias integradas 1G2G visando-se ao aproveitamento do caldo de cana-de-açúcar e das frações carboidrato do bagaço excedente da cogeração de energia para produção de etanol, além do uso da lignina para obtenção de lignossulfonatos. Na primeira etapa, as amostras de bagaço foram secas e pré-tratadas com sulfito alcalino, sendo que o material sólido oriundo do pré-tratamento foi usado na etapa de hidrólise enzimática e os resultados obtidos foram utilizados na simulação do processo em uma biorrefinaria integrada 1G2G com auxílio do pacote computacional Aspen Plus®. Foram simulados quatro cenários diferentes, considerando a produção ou não de lignossulfonatos em reatores com 10% ou 14 % de carregamento inicial de sólidos na etapa de hidrólise enzimática. A realização da hidrólise enzimática do bagaço pré-tratado em reator de coluna com carga inicial de 14 % de sólidos resultou na hidrólise de 81,46% e 95,26% da glucana e xilana, respectivamente, em 72 h de processo. Com relação aos produtos obtidos nos cenários simulados de biorrefinarias, observou-se diminuição na produção de etanol de 105,77 L/TC (tonelada de cana) para 97,29 L/TC e de 107,38 L/TC para 96,72 L/TC nos cenários com 10% e 14% de sólidos no reator de hidrólise, respectivamente, quando foi incluída a produção de lignossulfonatos. Os cenários com produção de lignossulfonatos usando 10% e 14% de sólidos no reator de hidrólise resultaram, respectivamente, em 15,40 kg/TC e 17,24 kg/TC de lignossulfonatos. Com relação ao custo de investimento, este correspondeu a R\$ 785,50 milhões para biorrefinaria 1G, enquanto os cenários integrados 1G2G apresentaram valores cerca de 17% a 30% superiores. No que concerne ao custo de produção de etanol, os cenários que apresentaram menor valor para etanol 2G foram os que consideraram produção de lignossulfonato (R\$ 1,75/kg. Com relação à taxa interna de retorno (TIR), está se apresentou abaixo da taxa mínima de atratividade (TMA de 12%) nos cenários que continham apenas a produção de etanol 1G2G e eletricidade; porém, ao integrar-se a produção de lignossulfonato no processo, os valores da TIR aumentaram para 14,37% para o cenário com 10 % de sólidos e para 14,49% para o cenário com 14% de sólidos no reator. Demonstrou-se assim que a inclusão da obtenção de lignossulfonatos em uma biorrefinaria 1G2G de produção de etanol e eletricidade, com pré-tratamento sulfito alcalino para o bagaço de cana-de-açúcar, favorece a viabilidade econômica destas empresas, tornando a TIR superior à TMA.

Palavras-chaves: Biorrefinaria. Lignossulfonato. Cana-de-açúcar. Simulação de bioprocessos. Análise Econômica.

ABSTRACT

MONTEIRO, A. L. **Avaliação técnico-econômica do aproveitamento da lignina em biorrefinaria integrada 1G2G para obtenção de lignossulfonatos.** 2019. 102p. Dissertation (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2019

The production ethanol and other interesting products from sugarcane bagasse is of great national relevance. Actually, in Brazil, sugarcane bagasse corresponds to an abundant material for use as raw material in biorefineries, increasing the possibility of higher ethanol production without the need of expanding the planted area. In addition, the use of bagasse as a raw material in an integrated process in the first generation ethanol production facilities has been shown as favorable for application in the Brazilian context. Thus, in the present project, experimental and simulation studies of 1G2G integrated biorefineries were carried out aiming at the use of the sugarcane juice and the carbohydrate fractions of the surplus bagasse from the energy cogeneration for the production of ethanol, in addition to the use of lignin to produce lignosulfonates. In the first step of project, bagasse samples were dried and pretreated with alkaline sulfite, with the solid material from the pretreatment used in the enzymatic hydrolysis step. Then, the obtained results were used in the simulation of a 1G2G integrated biorefinery, carried out aided by the computational package Aspen Plus®. Four different scenarios were simulated, considering the production or not of lignosulphonates in reactors and 10% or 14% of initial solids loading in the enzymatic hydrolysis step. The enzymatic hydrolysis of the pre-treated bagasse in a column reactor with an initial solids loading of 14% resulted in the hydrolysis of 81.46% and 95.26% of the glucan and xylan, respectively, in 72 h of the process. Regarding to the products obtained in the simulated biorefinery scenarios, ethanol production decreased from 105.77 L/TC to 97.29 L/TC (metric tons of sugarcane) and from 107.38 L/TC to 96.72 L/TC in the scenarios with 10% and 14% solids in the hydrolysis reactor, respectively, when lignosulfonate production was included. Scenarios with lignosulfonate production with 10% and 14% of solids in the hydrolysis reactor resulted, respectively, in 15.40 kg/TC and 17.24 kg/TC of lignosulphonates. In relation to the investment cost, it corresponded to R\$ 785.50 million for 1G biorefinery, while the 1G2G integrated scenarios presented values between 17% and 30% higher. Regarding to the cost of ethanol production, the scenarios that presented the lowest value for 2G ethanol were those that considered lignosulfonate production (R \$ 1.75/kg). In relation to the internal rate of return (IRR), it was below the 12% minimum attractive rate of return (MARR) in the scenarios containing only the production of 1G2G ethanol and electricity; however, as the lignosulfonate production in the process was integrated, the MARR values increased to 14.37% in the scenario with 10% of solids and to 14.49% in the scenario with 14% of solids in the reactor. Thus, the inclusion of lignosulphonates in a 1G2G biorefinery for the production of ethanol and electricity, with an alkaline sulfite pretreatment for sugarcane bagasse, favors the economic viability of these companies, making the IRR higher than the MARR.

Key-words: Biorefinery. Lignosulfonate. Sugarcane. Bioprocess Simulation. Economic analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática de diversos produtos derivados de uma biorrefinaria lignocelulósica	18
Figura 2 - Representação esquemática da estrutura do material lignocelulósico	21
Figura 3 - Representação da molécula de celulose (a) e das ligações de hidrogênio (b) intramoleculares (1) e intermoleculares (2) intermoleculares.	22
Figura 4 - Unidades precursoras da lignina	23
Figura 5 - Saponificação do complexo lignina-carboidrato no pré-tratamento alcalino.	28
Figura 6 - Exemplo simplificado do mecanismo de sulfonação da lignina na polpação sulfito...31	
Figura 7 - Atuação conjunta das enzimas do complexo celulolítico	36
Figura 8 - Diferentes configurações de processos para produção de etanol.	37
Figura 9 - Aspectos relevantes para desenvolvimento de processos sustentáveis no Brasil.....	42
Figura 10 - Papel da simulação na tomada de decisões durante o desenvolvimento de um processo	43
Figura 11 - Esquema simplificado (a) e fotografia (b) do reator utilizado na hidrólise enzimática dos polissacarídeos de bagaço de cana-de-açúcar (reator de leito fixo).	50
Figura 12 - Modelo de Simulação da biorrefinaria integrada 1G2G.....	54
Figura 13 - Fluxograma geral de simulação dos modelos de biorrefinaria integrada 1G2G sem a produção de lignossulfonato	55
Figura 14 - Fluxograma geral de simulação dos modelos de biorrefinaria integrada 1G2G com a produção de lignossulfonato.....	56
Figura 15 - Diagrama do processo integrado de produção de etanol 1G2G e de lignossulfonato. Etapa do processo de produção de etanol 1G (blocos brancos), 2G (blocos cinzas) e produção de lignossulfonato (bloco com linha pontilhada).	60
Figura 16 - Concentrações de glicose (A) e xilose (B) obtidas no meio líquido durante a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado refinado e não refinado com 2 horas de cozimento em sulfito alcalino empregando carga de celulase de 5 FPU/g bagaço.....	67
Figura 17. Concentração de glicose e xilose obtida no meio líquido durante a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado não refinado em reator de coluna, empregando carga enzimática de celulasas de 10 FPU/g bagaço (massa seca). Tempo de reação: 72h.	69
Figura 18 - Fluxograma de processo (flowsheet) sintetizado para hierarquia 2G em todos os cenários propostos	72
Figura 19 - Fluxograma da simulação da hierarquia Lignosul, usada para produção de lignossulfonatos.....	73
Figura 20 - Custos de investimento industrial total (1G2G) e por setor (1G e 2G) estimados para cada cenário avaliado	77
Figura 21 - Custo total de produção global do etanol 1G2G, do etanol de primeira geração (1G) e do etanol de segunda geração (2G)	82
Figura 22 - Distribuição dos custos de produção de etanol por área para cada cenário.....	83
Figura 23 - Taxa interna de retorno (TIR) e valor presente líquido (VPL) para os cenários avaliados.....	84
Figura 24 - Análise de sensibilidade paramétrica para o impacto do preço do sulfito (A) e do lignossulfonato (B) na TIR para o cenário com produção de lignossulfonato.....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção Mundial de etanol no ano de 2018 (em toneladas).....	20
Tabela 2- Levantamento de diferentes trabalhos utilizando pré-tratamento sulfito alcalino.....	33
Tabela 3 - Condições de cada um dos cenários propostos	54
Tabela 4 - Composição do bagaço de cana-de-açúcar e vazões mássicas adotadas.....	57
Tabela 5 - Premissas econômicas empregadas na análise dos cenários avaliados.....	62
Tabela 6 - Caracterização química do bagaço antes e após a etapa de pré-tratamento (média $\pm$ desvio padrão)	64
Tabela 7 - Produtos da biorrefinaria em cada um dos cenários avaliados e percentual de bagaço excedente da cogeração de energia enviado para produção de etanol 2G e lignossulfonato.....	75
Tabela 8 - Custos de investimento em milhões R\$ para cada etapa do setor 1G.....	79
Tabela 9 - Investimentos estimados para cada etapa de produção de etanol 2G em cada cenário avaliado	80

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Biorrefinarias de materiais lignocelulósicos	16
2.2 Cana-de-açúcar, produção de etanol e geração de bagaço	18
2.2.1 Composição do bagaço de cana-de-açúcar	20
2.3 Produção de etanol de primeira e segunda geração	24
2.3.1 Pré-tratamento das matérias-primas lignocelulósicas	26
2.4 Pré-Tratamento Sulfito Alcalino	29
2.5 Etapas biológicas do processo: hidrólise enzimática e fermentação	34
2.5.1 Configurações para os processos fermentativos e biorreatores	36
2.6 Usos da lignina e sua aplicação na forma de lignossulfonatos	39
2.7 Simulação e avaliação de viabilidade econômica de biorrefinaria	41
3 OBJETIVOS	48
4 METODOLOGIA	49
4.1 Parte Experimental	49
4.1.1 Matéria-prima e caracterização	49
4.1.2 Pré-tratamento sulfito alcalino	49
4.1.3 Avaliação das condições de hidrólise em frascos Erlenmeyer	49
4.1.4 Avaliação das condições de hidrólise enzimática em reator de coluna com leito fixo	50
4.1.5 Determinação do rendimento de hidrólise enzimática	51
4.1.6 Métodos analíticos	52
4.2 Simulação e avaliação de viabilidade econômica	52
4.2.1 Definição de Cenários	52
4.2.2 Síntese e simulação da biorrefinaria integrada 1G2G	54
4.2.2.1 Definição dos Componentes empregados no programa Aspen Plus®	56
4.2.2.2 Cana-de-açúcar	56
4.2.2.3 Pré-tratamento sulfito alcalino e hidrólise enzimática	57
4.2.2.3 Produção de lignossulfonato	59
4.2.3 Avaliação de viabilidade econômica	60
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	64
5.1 Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar antes e após o pré-tratamento	64
5.1.2 Hidrólise enzimática do material pré-tratado em frascos Erlenmeyer	65
5.1.3 Hidrólise enzimática em coluna com leito fixo	68

5.2 Simulação e avaliação de viabilidade econômica	70
5.2.1 Síntese da hierarquia 2G e integração na simulação 1G2G	70
5.2.2 Síntese da hierarquia LIGNOSUL e integração na simulação 1G2G.....	73
5.2.3 Produção de etanol, eletricidade e lignossulfonato nos cenários avaliados	74
5.2.4 Análise da viabilidade econômica dos cenários propostos	76
5.2.5 Taxa interna de retorno (TIR) e o Valor presente líquido (VPL) dos cenários avaliados	84
6 CONCLUSÕES	88
REFERÊNCIAS	90

1 INTRODUÇÃO

As biorrefinarias correspondem a instalações industriais integradas multiproduto para o processamento de biomassa. Para este fim, utilizam uma ampla gama de técnicas e instalações produtivas adequadas para o trabalho com esse tipo de material. Através de processos físicos-químicos, enzimáticos ou fermentativos, as biorrefinarias propõem-se a transformar estas matérias primas em produtos que atendam às necessidades da sociedade moderna, de forma sustentável e com o mínimo de impacto ambiental (NOVACANA, 2013). No Brasil, o bagaço de cana-de-açúcar corresponde a um material abundante para uso como matéria prima em biorrefinarias. De fato, no setor sucroalcooleiro, o caldo extraído da cana é aproveitado para obtenção de açúcar e etanol, sendo o bagaço de cana-de-açúcar empregado nas próprias usinas para geração de energia elétrica e vapor. Mesmo atendendo a toda a demanda da usina, há um excedente de bagaço que pode ser usado para gerar eletricidade para venda no mercado ou ainda para obtenção de diferentes produtos de interesse (RUFFATO-FERREIRA et al., 2017). O aproveitamento deste material também está inserido no contexto atual da ampliação do uso de matérias primas renováveis em substituição às de origem fóssil, favorecendo a redução da dependência mundial destas fontes de energia e carbono, as quais resultam, por exemplo, em problemas ambientais e relacionados à instabilidade política de países produtores de petróleo (GAURAV et al., 2017). A biomassa lignocelulósica apresenta potencial para uso como matéria-prima na geração de diversos produtos de interesse industrial dentro de um conceito integrado de biorrefinaria (GÍRIO et al., 2010).

O bagaço de cana-de-açúcar, como todo material lignocelulósico, é constituído principalmente por três frações macromoleculares: celulose, hemicelulose e lignina. A celulose e a hemicelulose constituem-se de polissacarídeos, os quais podem, por exemplo, ser submetidos à hidrólise, liberando açúcares monoméricos para processos fermentativos (SOARES, 2012). A lignina, por sua vez, é de natureza polifenólica e confere rigidez ao conjunto de fibras do material, além de resistência química e biológica. De fato, a constituição do material lignocelulósico inclui uma íntima associação entre suas frações, resultando em uma estrutura recalcitrante, de difícil acesso a catalisadores químicos ou enzimáticos, o que dificulta o seu aproveitamento em processos industriais (ESPIRITO SANTO et al. 2018) .

Visando diminuir a recalcitrância desses materiais, métodos de pré-tratamento têm sido empregados. Assim, a etapa de pré-tratamento tem a função de desordenar a rígida estrutura da biomassa, tornando a celulose mais acessível a enzimas hidrolíticas visando à obtenção de um caldo rico em glicose (DIAS et al., 2009). Dependendo do tipo de pré-tratamento, a hemicelulose pode ser hidrolisada já nesta etapa, resultando em um caldo rico em pentoses. A hemicelulose pode também permanecer no material, sendo hidrolisada em etapa subsequente, incluindo uma hidrólise conjunta com a celulose pelo uso de preparados enzimáticos comerciais, os quais possuem xilanases. O desenvolvimento atual das biorrefinarias de materiais lignocelulósicos tem sido direcionado à hidrólise enzimática da celulose para o aproveitamento da glicose em processos fermentativos, particularmente para a produção de etanol. No caso do bagaço de cana-de-açúcar, o hidrolisado hemicelulósico é rico em xilose, pentose que pode ser usada para a produção de diversos compostos de interesse, inclusive para a obtenção de etanol por leveduras específicas (OLIVEIRA et al., 2018).

Além dos carboidratos, deve-se atentar para o destino da fração lignina do material. Esta, que pode representar cerca de 20-25% do bagaço de cana-de-açúcar (SILVA et al., 2016), tem sido empregada principalmente na produção de energia devido a seu elevado poder calorífico. Entretanto, há estudos demonstrando outras aplicações, as quais podem contribuir com a viabilidade econômica da biorrefinaria com a geração de diferentes produtos de interesse (ARO e FATEHI, 2017). O estudo de possíveis aplicações alternativas para a lignina está relacionado à forma como esta é obtida após o pré-tratamento. Um dos pré-tratamentos em estudo nos laboratórios do Departamento de Biotecnologia (LOT) da Escola de Engenharia de Lorena-Universidade de São Paulo (EEL-USP) é o sulfito alcalino, o qual tem resultado em elevados rendimentos de açúcares na etapa enzimática subsequente (MENDES et al., 2011, MENDES et al., 2013, LAURITO-FRIEND et al., 2013). Como resultado deste pré-tratamento, há deslignificação parcial do material, sendo a lignina solubilizada em sua forma sulfonada. De fato, os fragmentos de lignina formados durante o pré-tratamento ligam-se a espécies sulfônicas do meio, formando os lignossulfonatos (ZHU et al., 2009).

Os lignossulfonatos são estruturas anfipáticas formadas por uma cadeia aromática contendo grupos de ácidos sulfônicos realocados próximos à superfície da molécula, que facilitam a interação com o meio aquoso (ZHU et al., 2009). Atualmente, os lignossulfonatos são disponíveis principalmente como subproduto da indústria de papel e celulose, particularmente das que utilizam processo sulfito (ARO e FATEHI, 2017). Possuem diversas

aplicações como em alimentação animal, aditivos de poços de petróleo, fabricação de cimento e outros (ZHOU et al., 2017).

Neste contexto, o presente projeto teve como objetivo o desenvolvimento de um trabalho experimental e de simulação para a avaliação de viabilidade econômica de um cenário de biorrefinaria que utiliza, além da celulose e hemicelulose para produção de etanol, a lignina para produção de lignossulfonatos. Na parte experimental, bagaço de cana-de-açúcar foi pré-tratado por sulfito alcalino, sendo feita uma caracterização do licor obtido. O material sólido oriundo do pré-tratamento foi usado na etapa de hidrólise enzimática, sendo a lignina residual desta etapa separada e submetida à sulfonação. Com base nos resultados experimentais, o processo de sulfonação foi simulado com auxílio do pacote computacional Aspen Plus®. A produção de lignossulfonatos foi integrada a uma biorrefinaria de produção de etanol 1G2G, previamente desenvolvida em trabalhos de pesquisa ligados ao LOT/EEL-USP com base na Biorrefinaria Virtual de Cana-de-açúcar (BVC), plataforma do Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (LNBR/CNPEM/MCTI) (BONOMI et al., 2016). Empregando-se os balanços de massa e energia obtidos com a simulação, procedeu-se a uma análise econômica do processo, a qual foi feita também com base na BVC.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biorrefinarias de materiais lignocelulósicos

O crescimento populacional e econômico mundial tem causado um rápido aumento na demanda energética e uma preocupação cada vez maior com a diminuição da oferta futura de derivados de petróleo e com a degradação ambiental (FARZAD et al., 2017). As principais fontes de energia utilizadas no mundo são os combustíveis fósseis, que são fontes não renováveis, como gás natural, petróleo e carvão. Estes são usados para a produção de combustível, eletricidade e outros bens. Nos últimos anos, as preocupações econômicas e ambientais com o uso de combustíveis fósseis têm aumentado e, com isso, há uma busca por fontes alternativas de energia, o que resulta em um desenvolvimento crescente de pesquisas no segmento de energia de fontes renováveis (BINOD et al., 2019; GAURAV et al., 2017). Atualmente, o combustível renovável mais comum é o etanol, produzido a partir de sacarose (de cana-de-açúcar) ou amido de grãos (milho) – o chamado etanol 1G (de primeira geração); no entanto, essa matéria-prima por si só pode não é suficiente para atender às necessidades mundiais de etanol no futuro. Consequentemente, o futuro uso em larga escala de etanol poderá ser baseado no uso de materiais lignocelulósicos, obtendo-se o etanol 2G (de segunda geração) (BATALHA et al., 2015). No Brasil, o bagaço de cana-de-açúcar vem sendo estudado amplamente para a produção de etanol de segunda geração e outras biomoléculas. Atualmente, já existem plantas industriais para produção de etanol de segunda geração instaladas no país, como a das empresas Raízen e Granbio. Mas essas ainda não conseguem atingir a capacidades de instalação devido algumas dificuldades encontradas nos processos, entre as quais o pré-tratamento (SANTOS et al., 2016).

A partir dessa necessidade, no final de 1990 surgiu o conceito chamado de biorrefinaria, como resultado da iminente escassez dos combustíveis fósseis e do aumento na tendência da utilização da biomassa como matéria-prima renovável para a produção de bens de consumo (MAITY, 2015). Dentre as várias definições para o conceito de biorrefinaria, destaca-se o da Agência Internacional de Energia (IEA): “a biorrefinaria é o processamento sustentável da biomassa em um espectro de produtos e energia com valores de mercado”. Esta definição abrange uma ampla gama de tecnologias capazes de fracionar a biomassa lignocelulósica em seus blocos de construção (carboidratos, compostos fenólicos, proteínas e triglicerídeos), que podem ser convertidos em produtos de alto valor agregado, como biocombustíveis e produtos químicos. Este conceito é semelhante ao da

refinaria de petróleo, que produz múltiplos produtos a partir desta fonte de carbono (CHERUBINI, 2010), porém baseado no uso de biomassa.

Assim, um fator-chave para o desenvolvimento e implementação das biorrefinarias é a crescente demanda por energia, combustíveis e produtos químicos. Nesse sentido, as fontes renováveis de matéria-prima, como é o caso da biomassa lignocelulósica, certamente são de fundamental importância para suprir estas demandas de forma sustentável, substituindo grande parte dos químicos derivados do petróleo (MENON; RAO, 2012). As biomassas, assim como o petróleo, possuem um elevado potencial para fornecer diversas formas de energias (eletricidade, calor e combustíveis), além de produtos químicos como compostos orgânicos e polímeros.

Os materiais lignocelulósicos constituem a fonte mais abundante de biomassa, e, portanto, apresentam o maior potencial para a produção de uma gama de produtos por meio do seu processamento em um contexto de biorrefinaria. A biomassa lignocelulósica pode ser utilizada diretamente por processos termoquímicos (combustão, gaseificação, liquefação e pirolise) ou ainda por rotas bioquímicas (fermentação, digestão anaeróbia e degradação biológica por fungos) (CHERUBINI, 2010; FITZPATRICK et al., 2010). Diversos produtos químicos industriais, tais como ácido acético, combustíveis líquidos e plásticos biodegradáveis, podem ser produzidos a partir de biomassas lignocelulósicas. A quantidade e os tipos de produtos estão entre as características mais importantes de uma biorrefinaria, que, aliados à máxima utilização das matérias-primas e à mínima geração de resíduos, constituem os maiores desafios de sustentabilidade para este complexo processo (MONCADA; ARISTIZABAL; CARDONA, 2016). A Figura 1 mostra uma representação esquemática dos diversos produtos que podem ser obtidos a partir de uma biorrefinaria lignocelulósica.

Em geral, as matérias-primas lignocelulósicas são divididas em três categorias: 1) resíduos agrícolas ou agroindustriais, 2) resíduos florestais e 3) culturas dedicadas para a geração de energia. Dentre estas três categorias citadas, os resíduos agrícolas são considerados mais sustentáveis por serem originados a partir de culturas empregadas para a produção de alimentos, e, portanto, não competem com estes pelo espaço para plantação, como ocorre para as demais categorias (DEMAIN, 2009).

As biomassas lignocelulósicas, especialmente os resíduos e subprodutos agroindustriais, como o bagaço de cana-de-açúcar, palhas de milho, arroz e trigo, podem ser utilizadas como matérias-primas para a obtenção de produtos de maior valor comercial. Estas biomassas

atendem o pré-requisito de baixo custo e de elevada disponibilidade, o que as credenciam para suprir as necessidades de uma biorrefinaria lignocelulósica (MAITY, 2015). Brasil se destaca entre as economias industrializadas na utilização de fontes renováveis em sua matriz energética, e sua característica climática é uma vantagem, pois favorece o cultivo de materiais que se tornam biomassas de alto potencial para obtenção de energia (BINOD et al., 2019).

Figura 1 - Representação esquemática de diversos produtos derivados de uma biorrefinaria lignocelulósica

Fonte: Adaptado de Ragauskas et al. (2014).

2.2 Cana-de-açúcar, produção de etanol e geração de bagaço

A cana-de-açúcar é uma gramínea conhecida e cultivada em países tropicais e subtropicais há mais de 2.000 anos (REIN, 2007). É a principal matéria-prima utilizada na fabricação de açúcar no mundo, sendo o Brasil o maior produtor e sendo seguida pela beterraba, que representa uma importante fonte de açúcar na Europa e na América do Norte (PAZUCH et al., 2017; VOHRA et al., 2014).

A atividade sucroalcooleira ou, mais propriamente, a atividade açucareira, teve seu início no Brasil no século XVI, sendo, portanto, característica da cultura nacional. Desde a implantação do programa "Proálcool", a produtividade de cana tem aumentado na proporção de 761 kg/ha/ano (1,5%) (LOUREIRO et al., 2011) e esta continua sendo destaque entre as

principais culturas agrícolas do país. O total de cana-de-açúcar produzido na safra 2018/2019 no Brasil foi estimado em 625,96 milhões de toneladas, representando uma retração de 1,2% em relação à safra anterior (dados atualizados em 17/5/2019) (CONAB, 2019).

Com o processamento industrial da cana, os principais produtos obtidos são açúcar e etanol. A produção de açúcar somou 35,48 milhões de toneladas na safra 2018/2019, com uma retração de 6,3% em relação à safra anterior. A produção de etanol, por sua vez, totalizou 28,16 bilhões de litros, representando um aumento de 1,4% em relação ao volume registrado na safra anterior (CONAB, 2019).

A maior parte do etanol combustível produzido atualmente no mundo provém de fontes açucaradas, principalmente da cana-de-açúcar no Brasil ou do amido de milho nos Estados Unidos da América (EUA), sendo estes dois os principais produtores. De acordo com a estimativa da *Renewable Fuels Association* (RFA), a produção mundial de etanol no ano de 2018 foi de 28,570 milhões de galões, sendo que 84% deste valor refere-se à produção de Estados Unidos e Brasil, com 56 e 28%, respectivamente (Tabela 1). Os materiais lignocelulósicos poderiam incrementar fortemente a produção de etanol mundial se eles fossem usados como matérias primas para esse fim.

Como principal subproduto do processamento de cana-de-açúcar, tem-se o bagaço de cana obtido após a extração do caldo. Este material possui grande potencial para uso em biorrefinarias (CONAB, 2019). Para cada tonelada de cana moída, obtém-se cerca de 280 kg de bagaço, em massa úmida, com cerca de 50% de umidade (AGEITEC, 2017). Assim, na safra 2018/2019, estima-se que foram produzidos no Brasil 175,3 toneladas de bagaço.

A maior parte do bagaço de cana-de-açúcar é empregada na própria usina como fonte energética em substituição à queima do óleo para geração de energia elétrica e vapor, representando uma opção com menor impacto ambiental (CONAB, 2016). A profissionalização do setor e o emprego de tecnologias mais eficientes nas usinas que produzem o etanol a partir dos açúcares extraíveis da cana, estão gerando grandes excedentes de bagaço, com potencial para uso na produção de etanol (NOVACANA, 2013; SOARES, 2012).

Tabela 1 - Produção Mundial de etanol no ano de 2018 (em m³).

Região	2014	2015	2016	2017	2018	% da produção mundial de 2018
Estados Unidos	14.313	14.807	15.413	15.936	16.061	56
Brasil	6.760	7.200	6.760	6.860	7.920	28
União Europeia	1445	1387	1377	1.400	1.430	5
China	635	813	845	860	1.050	4
Canadá	510	436	436	470	480	2
Tailândia	310	334	322	370	390	1
Índia	85	195	275	210	400	1
Argentina	160	211	264	290	290	1
Demais países	865	391	490	414	549	2
Total	25.083	25.774	26.182	26.810	28.570	

Fonte: Dados da Renewables Fuels Association (RFA, 2019).

2.2.1 Composição do bagaço de cana-de-açúcar

O sucesso no uso dos materiais lignocelulósicos depende de esforços de pesquisa e desenvolvimento de processos técnica e economicamente viáveis, e deve ser baseado em matérias-primas que não venham a competir com a cadeia de produção de alimentos, tenham elevada disponibilidade e atendam outras especificidades de cada país ou região (CHERUBINI, 2010; BOUDET, 2011). A variedade vegetal, o clima, as propriedades físico-químicas do solo e adubação são alguns dos diversos fatores que podem interferir na composição química do bagaço de cana-de-açúcar, porém, de uma forma geral, os componentes principais variam pouco no teor final (ROCHA et al., 2015).

Como todo material lignocelulósico, o bagaço de cana-de-açúcar é constituído por frações poliméricas de carboidratos, denominados celulose e hemicelulose, e por uma estrutura complexa de compostos aromáticos denominada lignina, conforme mostrado na Figura 2.

Figura 3 -Representação da molécula de celulose (a) e das ligações de hidrogênio (b)intramoleculares (1) e intermoleculares (2)intermoleculares.

a

b

Fonte: Adaptado de Castro e Pereira Jr. (2010).

A hemicelulose, por sua vez, compõe de 15 a 35% da biomassa lignocelulósica. Diferente da celulose, a hemicelulose é um heteropolímero amorfo, constituído por diferentes açúcares monoméricos como pentoses (β -D-xilose e α -L-arabinose), hexoses (β -D-manose, β -D-glicose e α -D-galactose) e/ou ácidos urônicos (ácido α -D-glucurônico, ácido α -D-4-O-metilgalacturônico e ácido α -D-galacturônico). Por apresentar uma estrutura ramificada amorfa, é mais propensa à hidrólise que a celulose (ELSHAHED, 2010; GÍRIO et al., 2010). A composição da hemicelulose pode variar de acordo com o tipo de material lignocelulósico, podendo ser agrupada em três principais tipos: mananas, xiloglucanas e xilanas (GÍRIO et al., 2010)

A xiloglucanas são constituídas por uma cadeia principal de resíduos de glicose, unidas por ligações glicosídicas do tipo β -(1 $\rightarrow$ 4), contendo resíduos de xilose ligados ao carbono 6 dos monômeros da cadeia principal, estando presentes em plantas dicotiledôneas (PARIS; CARDOSO; FONSECA, 2014). Já as mananas são formadas por um esqueleto principal de manose e/ou glicose unidos por ligação glicosídica β -(1 $\rightarrow$ 4), e são comuns em madeiras duras. As xilanas, por sua vez, são encontradas na parede celular de diversos tipos

de cereais e gramíneas e é formada por unidades de 1,4- β -D-xilopiranosil, sendo os subgrupos definidos com base nas ramificações (GIRIO et al., 2010).

Os polissacarídeos do bagaço, ou de qualquer outro material lignocelulósico, encontram-se recobertos por uma macromolécula aromática complexa, denominada lignina. A lignina constitui de 15 a 25% da matéria seca da biomassa vegetal e possui estrutura polifenólica amorfa composta principalmente por unidades fenólicas e alifáticas que interagem com a celulose e a hemicelulose, conferindo rigidez estrutural e resistência à degradação química e biológica dos materiais (PÉREZ et al., 2002; BALAT, 2011). É sintetizada a partir de três radicais: álcool coniferílico, álcool *p*-cumarílico e álcool sinapílico (Figura 4). De acordo com o grau de metoxilação, a subunidade básica álcool coniferílico resulta no guaiacil, o álcool *p*-cumarílico no *p*-hidroxifenil e o álcool sinapílico no siringil, sendo que o resultado dessa polimerização é uma estrutura heterogênea (CARROT; CARROT, 2006). A proporção destes monômeros varia entre as espécies vegetais e esta relação tem sido utilizada para fins taxonômicos; por exemplo, a lignina de coníferas contém quase que exclusivamente os derivados de álcool coniferil, sendo classificada como lignina G. Já as unidades estruturais da lignina de folhosas são derivadas dos álcoois coniferil e sinapil, sendo classificadas como lignina GS, enquanto a lignina de gramíneas são classificadas como HGS por apresentarem os três precursores em sua estrutura, além dos ácidos hidroxicinâmicos (ferúlico, *p*-cumárico e sinapínico) (BURANOV; MAZZA, 2008; HU; RAGAUSKAS, 2012).

Figura 4 - Unidades precursoras da lignina

Fonte: Adaptado de Hu e Ragauskas (2012)

2.3 Produção de etanol de primeira e segunda geração

A maior parte do bioetanol é atualmente produzido a partir de materiais contendo açúcar e amido, como cana-de-açúcar, milho e grãos de trigo. A produção de etanol a partir destes açúcares facilmente acessíveis é geralmente referida como “de primeira geração” (1G). No entanto, neste caso, geralmente se usam culturas alimentares, o que pode comprometer, principalmente com relação ao uso do milho nos EUA, a segurança alimentar. Propõe-se então o uso de materiais lignocelulósicos presentes em resíduos e subprodutos agrícolas, materiais florestais e culturas dedicadas, para produção de etanol, sendo este conhecido como “de segunda geração” (2G). No entanto, os materiais lignocelulósicos têm uma estrutura mais recalcitrante, o que torna o processo mais complexo, elevando o custo de produção de etanol 2G. Em geral, três principais tecnologias de conversão de etanol podem ser distinguidas: um processo de primeira geração, um processo de segunda geração e um processo integrado de conversão de primeira e segunda geração (MACRELLI et al, 2014)

No processo industrial de primeira geração existem três principais tipos de plantas industriais produtoras de açúcar e/ou etanol a partir da cana-de-açúcar no Brasil: usinas produtoras de açúcar, destilarias autônomas para produção de apenas etanol (Figura 5) e usinas integradas (anexas) para a produção conjunta de açúcar e etanol (ALBARELLI, 2013). Nas usinas anexas, a cana picada é enviada para extração do caldo, na maioria das usinas em moendas.

O caldo extraído é enviado aos processos de produção de açúcar e etanol, enquanto o bagaço é utilizado em um sistema de cogeração, operando com um ciclo a vapor. O caldo encaminhado para a produção de açúcar e etanol é tratado em processos distintos para a remoção de impurezas solúveis e insolúveis. Para fabricação do açúcar, há uma etapa de tratamento que inclui a sulfitação do caldo. O caldo clarificado para produção de açúcar é concentrado utilizando evaporadores, obtendo-se o xarope. Este passará pelas etapas de cozimento, cristalização e secagem para obtenção do açúcar. A mistura do caldo clarificado com melaço e parte do xarope forma o mosto para produção de etanol. Dependendo da quantidade de açúcar no mosto, este é concentrado em um evaporador para atingir a concentração adequada para a fermentação. O vinho obtido após a fermentação é encaminhado para destilação para a obtenção de etanol hidratado, o qual passa por uma etapa posterior de desidratação para obtenção de etanol anidro (ALBARELLI, 2013). Diferentes tecnologias estão disponíveis no mercado para realizar a desidratação do etanol, como a

destilação extrativa utilizando monoetilenoglicol (MEG) e tecnologias como a adsorção em peneira molecular (ALBARELLI, 2013).

Figura 5 - Fluxograma esquemático da produção de etanol 1G2G, processo em destilarias autônomas 1G (blocos brancos) e processo 2G (blocos cinza). A linha pontilhada representa os cenários C5 e C6 foram fermentadas separadas do caldo de cana.

Fonte: Adaptado de Mendes et al.,(2018)

O processamento industrial de segunda geração é conhecido por converter a biomassa lignocelulósica em etanol. Devido à estrutura complexa da lignocelulose, a biomassa precisa ser submetida a tratamento prévio antes que os açúcares presentes estejam disponíveis para a fermentação em etanol. Em um processo industrial de segunda geração, a matéria-prima de biomassa lignocelulósica é pré-tratada, a hemicelulose e celulose são hidrolisadas e enviadas para fermentação e separação a etanol (CHOVAU et al., 2013). A hidrólise combinada com a fermentação é mais complexa que a fermentação de açúcares simples (HAMELINCK et al., 2005). Muitas técnicas diferentes para pré-tratar e hidrolisar a biomassa de lignocelulose estão sendo pesquisadas para melhorar o rendimento do etanol e reduzir seu custo de produção (MACRELLI et al., 2012). Os resíduos de processamento

industrial na etapa de segunda geração consistem principalmente de lignina e celulose não reagida da hidrólise, e são utilizados principalmente como combustível em sistemas de cogeração, gerando vapor para acionamentos diretos e aquecimento, além de energia elétrica em turbogeradores (DIAS, 2011).

A necessidade de aumentar a produção de álcool no País, juntamente com a necessidade de agregar valores aos resíduos produzidos ao final desse processo, constituem-se em uma alternativa para elevar significativamente a disponibilidade deste biocombustível no mercado sem expansão da área agrícola plantada (PACHECO, 2011). Além disso, a integração dos dois processos, ou seja, usinas que integram as tecnologias de processos de etanol 1G com etanol 2G, apresenta grande potencial, demonstrando-se como economicamente e ambientalmente favoráveis quando comparadas ao uso das tecnologias de forma individual (JUNQUEIRA et al., 2017).

2.3.1 Pré-tratamento das matérias-primas lignocelulósicas

Para utilização de biomassa lignocelulósica na produção de biocombustíveis requer-se como etapa inicial o pré-tratamento da matéria-prima, uma vez que os materiais lignocelulósicos possuem uma estrutura rígida e ordenada, de forma que a celulose e a hemicelulose estão fortemente associadas à lignina. Isso dificulta o acesso de enzimas para hidrólise do substrato, particularmente à celulose, o que resulta em rendimentos muito baixos de açúcares na etapa de hidrólise enzimática. Devido à recalcitrância da biomassa, o pré-tratamento consiste em uma das etapas operacionais mais relevantes em termos de custo direto, além de influenciar nos custos das demais etapas do processo (MOSIER et al., 2005, WYMAN et al., 2005).

Dessa forma, a etapa de pré-tratamento tem a função de desordenar a rígida estrutura da biomassa, diminuindo sua recalcitrância por remover e/ou modificar a matriz de lignina e hemicelulose, tornando a celulose mais acessível às enzimas para a etapa de hidrólise (ZHENG et al., 2009). Nos últimos anos, diversos tipos de pré-tratamento foram desenvolvidos visando-se a obter elevados rendimentos de hidrólise. O tipo de biomassa utilizada e a eficiência requerida são importantes na escolha do pré-tratamento, que poderá ser físico (ex.: moagem e trituração), químico (ex.: reações em meio ácido ou alcalino), físico-químico (ex.: explosão a vapor) e biológico (ex.: uso de fungos que degradam os principais componentes da biomassa) (CHEN et al., 2017). Cada tipo de pré-tratamento modifica a biomassa de forma diferente e, portanto, apresenta efeitos e rendimentos diversos

(MORO, 2015), sendo também empregada a combinação desses pré-tratamentos para melhoria da etapa de hidrólise enzimática (CHEN et al., 2017; KUMAR et al., 2009). Os pré- tratamentos físicos, como a moagem e a extrusão, não alteram a composição do material, mas alteram a sua estrutura por meio do aumento da área superficial e redução da cristalinidade. Os tratamentos ácidos e de explosão a vapor solubilizam a hemicelulose e após separação formam uma corrente sólida rica em celulose e lignina. Já os tratamentos alcalinos e oxidativos removem principalmente a lignina, resultando, ao final do processo, em uma biomassa pré-tratada rica em celulose e hemicelulose. Assim, o pré-tratamento escolhido define a composição da biomassa que será levada para a hidrólise (SILVA et al., 2013).

Um pré-tratamento eficaz é capaz de maximizar o ataque enzimático e minimizar a formação de inibidores fermentativos. Deve também resultar em mínima perda de carboidratos e ter um custo reduzido, com baixo consumo energético e possibilidade de recuperação da lignina. Diante desses fatores, destacam-se os pré-tratamentos químicos, que associam substâncias alcalinas ou ácidas à temperatura elevada (ZHU et al., 2017).

O método ácido requer condições mais severas de temperatura e pressão, o que encarece o processo e resulta em problemas como degradação do produto e formação de compostos inibidores do metabolismo microbiano como furfural e hidróxi-metil-furfural (HMF) e a degradação de compostos aromáticos da lignina (SAHA et al., 2005; ALVIRA et al., 2010), o que pode diminuir a performance ou até mesmo inviabilizar o processo fermentativo subsequente (AUXENFANS et al., 2012; SINDHU et al., 2016).

Já o pré-tratamento utilizando soluções alcalinas apresenta algumas vantagens em relação aos ácidos, pois álcalis normalmente não causam corrosão como os ácidos, não sendo, portanto, necessário o uso de equipamentos especializados (MODENBACH e NOKES, 2012). Os principais reagentes utilizados no pré-tratamento alcalino da biomassa lignocelulósica são NaOH, KOH, Ca(OH)_2 , NH_4OH , solução de amônia, além de combinações destes com H_2O_2 , incluindo desenvolvimentos recentes de uso deste agente oxidante em meio alcalino em processos assistidos por cavitação hidrodinâmica (CABRERA et al., 2014; YU et al., 2016; TERÁN-HILARES et al., 2018).

Em contato com a biomassa lignocelulósica, as soluções alcalinas realizam a ruptura das ligações éster entre a lignina e a hemicelulose (Figura 6), e, devido ao rompimento das ligações de hidrogênio intermoleculares entre estes componentes, diminuem o grau de

polimerização e a cristalinidade da celulose (HAQUE et al., 2013) e podem aumentar de forma eficiente a sua digestibilidade enzimática (TAHERZADEH e KARIMI, 2008). São operados sob ampla faixa de condições, com temperaturas variando de ambiente a 150°C (MODENBACH e NOKES, 2013, WU et al., 2011).

Figura 5 - Saponificação do complexo lignina-carboidrato no pré-tratamento alcalino.

Fonte: Adaptado de Hu e Ragauskas (2012)

Dependendo das condições do tratamento alcalino, uma quantidade significativa da hemicelulose também pode ser solubilizada ou, pelo menos, sofrer modificações estruturais. Recentemente, ao estudar o pré-tratamento de palha de milho com NaOH, Karp et al. (2014) verificaram uma forte dependência entre a remoção de xilana e a carga de alcali empregada. Estes autores mostraram um aumento na solubilização de xilana de 15 para 40%, em relação ao teor inicial, quando a carga de NaOH foi aumentada de 35 para 660 mg/g de biomassa.

Já em relação aos efeitos do pré-tratamento alcalino sobre a cristalinidade do material pré-tratado, alguns autores têm observado um aumento no índice de cristalinidade após o procedimento (DE SOUZA FILHO et al., 2016; KARP et al., 2015; SARATALE; OH, 2015), enquanto outros observaram diminuição do valor deste índice (SAHARE et al., 2012), dependendo das condições empregadas. Um exemplo seria o trabalho de Haque et al. (2013), que estudou os efeitos das condições de pré-tratamento alcalino sobre as estruturas de *Miscanthus sinensis*. Inicialmente eles observaram que o índice de cristalinidade aumentou quando o material *in natura* foi tratado com 200 mg de NaOH/g de biomassa, a 105 °C por 10 minutos. Quando o pré-tratamento foi conduzido com uma carga maior de NaOH (250 mg/g de biomassa), na mesma condição de temperatura e tempo, o índice de cristalinidade foi diminuído. A explicação dos autores para esse fato é que até a carga de 200 mg de NaOH o

aumento do índice de cristalinidade foi devido a remoção de porções amorfas (incluindo a hemicelulose e a lignina). Mas, para cargas acima de 250 mg de NaOH, houve também degradação da celulose cristalina, contribuindo para diminuir o índice de cristalinidade.

Para o presente trabalho, ênfase será dada ao pré tratamento sulfito alcalino, baseado no trabalho de Mendes et al (2010). O pré-tratamento sulfito alcalino resulta em um aumento do teor de grupos iônicos na lignina e na clivagem de algumas ligações inter-poliméricas, incluindo ligações lignina-carboidrato. Com o pré-tratamento irá ocorrer a sulfonação da molécula de lignina, o que ocasiona um aumento da retenção de água da fibra e melhora a dissolução da lignina (MENDES et al., 2010). O tratamento sulfito alcalino promove maior quebra das ligações beta-O-aril (ligações predominantes na molécula de lignina) que o pré-tratamento alcalino; dessa maneira, ocorre uma maior despolimerização e conseqüentemente uma maior solubilização da lignina (HENRIKSSON et al., 2009). O pré-tratamento sulfito alcalino, tem sido estudado no LOT/EEL-USP nos últimos anos (MENDES et al., 2017; MENDES et al., 2015; MENDES et al., 2018). É uma técnica capaz de remover lignina de uma variedade de plantas, além de produzir polpas com alto rendimento e melhores propriedades mecânicas (HEDJAZI et al., 2009). O pré-tratamento com sulfito alcalino diminui a cristalinidade da celulose e resulta na sulfonação da lignina, aumentando a retenção de água na fibra e auxiliando no enfraquecimento da matriz lignocelulósica (MENDES et al., 2013).

2.4 Pré-Tratamento Sulfito Alcalino

Processos alcalinos e alcalino-sulfito são capazes de aumentar a hidrólise enzimática subsequente de polissacarídeos devido à remoção de lignina das paredes celulares, dissolução parcial da hemicelulose, e saponificação de acetil e grupos laterais hidroxicinamil de hemicelulose (MENDES et al.; 2011). Para os pré-tratamentos com sulfito, existem evidências indicando que a sulfonação das ligninas residuais aumenta a hidrofiliabilidade do material, aumentando a digestibilidade do material pré-tratado (DEL-RIO et al., 2011; REHBEIN et al., 2010).

De fato, o pré-tratamento com sulfito alcalino tem melhorado significativamente a eficiência da hidrólise enzimática. Este aumento da eficiência está relacionado à remoção de lignina e hemicelulose que ocorre durante o processo. Essa modificação altera a composição

química da estrutura da biomassa e sua porosidade durante o processo, diminuindo a recalcitrância existente nos polissacarídeos, havendo, como consequência, aumento da acessibilidade enzimática à celulose (ZHOU et al., 2017).

As reações de degradação da lignina em soluções alcalinas iniciam-se com a ionização de grupos fenólicos (quebra das ligações beta-O-aril - ligações mais abundantes na lignina), produzindo um intermediário metileno quinona. Quando o meio de reação inclui íons sulfito atuando como nucleófilos (Figura 7), a sulfonação pode ocorrer nos carbonos α da metileno quinona. Uma sulfonação subsequente em carbonos β com quebra de ligações β -O-4 também podem ocorrer (SILVERSTEIN et al., 2007; GELLERSTEDT et al., 2009). Ambas as reações favorecem a degradação e a dissolução da lignina do material lignocelulósico. A sulfonação da lignina residual é benéfica para a hidrólise enzimática subsequente, uma vez que lignina sulfonada mostra menos adsorção improdutiva das celulasas, em comparação com a lignina hidrofóbica original (ZHU et al., 2009; KUMAR et al., 2011). O processo sulfito alcalino permite maior despolimerização e, conseqüentemente, maior solubilização da lignina que um processo que utilizasse apenas álcali (HENRIKSSON, 2009).

O pré-tratamento sulfito alcalino tem sido utilizado em diversos tipos de biomassa, como exemplificado na Tabela 2. Por exemplo, um estudo recente aplicou o pré-tratamento em um híbrido de *Pennisetum* e também na palha de milho, a qual, como a cana-de-açúcar, também é classificada como gramínea. Ao observar a Tabela 2 é possível verificar que, para as diferentes matérias primas, a diferença entre aos processos é notada principalmente na carga utilizada de NaOH e Na₂SO₃, que variam de 5% até 20% de Na₂SO₃. Outra diferença é no tempo de cozimento da biomassa, variando de 50 min, em um trabalho utilizando a palha-de-milho, 1 hora com o Híbrido de *Pennisetum*, e 2 horas quando utilizada a cana-de-açúcar como matéria prima (JINGFENG et al., 2018; REINOSO et al., 2018; LIU et al., 2015).

Figura 6 - Exemplo simplificado do mecanismo de sulfonação da lignina na polpação sulfito

Fonte: Henriksson et al. (2009).

No trabalho de Jingfeng et al. (2018), teve-se como objetivo investigar o impacto do teor de lignina nas composições químicas, cristalinidade, caracterização de superfícies, perfis de adsorção de celulase e digestibilidade enzimática de híbridos de *Pennisetum* (HP) após o pré-tratamento com sulfito alcalino (ASP). Os autores observaram que o ASP mostrou forte capacidade de remover a lignina total e modificar a superfície dos substratos HP. O maior teor de celulose e índice de cristalinidade foram observados em HPs pré-tratados com sulfato alcalino com menor teor de lignina. O HP com moderada quantidade de lignina alcançou, após ASP, 91% de digestibilidade da celulose com baixa carga de celulases (5 FPU / g de matéria seca).

O objetivo do trabalho de Reinoso et al. (2018), por sua vez, foi elucidar o destino dos *p*-hydroxicinamatos (ferulatos-AF e *p*-cumaratos-*p*-CAs) e avaliar modificações nos principais componentes estruturais durante bioprocessamento para ajudar a discriminar as fontes de recalcitrância em gramíneas, abrindo o caminho para a recuperação de *p*-hydroxicinamatos, que têm múltiplas aplicações. Neste sentido, os autores avaliaram o biorrefino do bagaço de cana-de-açúcar usando pré-tratamento químico-sulfito alcalino (AS-CTM) e sacarificação enzimática. O pré-tratamento AS-CTM proporcionou um alto rendimento e substratos completamente digestíveis e que retinham quantidades substanciais de xilanas e lignina. Os grupos acetil foram removidos, mas 40% do total de FAs e *p*-CAs permaneceram no material pré-tratado. *p*-CAs ligados a ésteres detectados no material pré-tratado também resistiram ao processo de hidrólise enzimática.

Em outro trabalho, Mendes et al. (2013) utilizaram pré-tratamento com sulfito alcalino para reduzir a recalcitrância do bagaço de cana-de-açúcar. As alterações químicas e estruturais que ocorreram durante o pré-tratamento foram correlacionadas com a eficiência da digestão enzimática dos polissacarídeos. Os primeiros 30 minutos de pré-tratamento removeram aproximadamente metade da lignina inicial e 30% da hemicelulose, e foram responsáveis por um aumento significativo do nível de conversão da celulose, que atingiu 64% em 48h. Após os primeiros 30 minutos de pré-tratamento, a deslignificação aumentou ligeiramente e a remoção da hemicelulose não aumentou. Estas alterações foram responsáveis por um aumento adicional na eficiência da hidrólise enzimática da celulose, que atingiu 92% com a amostra pré-tratada de 120 min.

Cabe comentar também o estudo de Liu et al. (2015), no qual se otimizou o pré-tratamento com sulfito alcalino de palha de milho, investigando a influência do pré-tratamento na recuperação de sólidos, deslignificação e recuperação de carboidratos sob diferentes condições, com subsequente hidrólise enzimática. Avaliou-se o efeito do pré-tratamento pela eficiência da hidrólise enzimática e pela produção total de açúcares. As melhores condições do pré-tratamento sulfito alcalino para a palha de milho foram as seguintes: teor de alcalóide total titulável (ATT) de 12%, relação líquido/sólido de 6: 1, temperatura de 140 ° C e tempo de processo de 20 min. A palha de milho pré-tratada sob essas condições foi refinada em um moinho PFI. Os autores observaram que a lignina dissolvida no pré-tratamento ficou sob a forma de lignossulfonatos, coproduto potencial de alto valor. Assim, o pré-tratamento com sulfito alcalino foi considerado um processo adequado para a conversão da palha do milho em açúcares fermentáveis.

Tabela 2- Diferentes trabalhos utilizando pré-tratamento sulfito alcalino.

Biomassa	Condições de pré-tratamento	Principais mudanças na biomassa	Digestibilidade Enzimática	Referências
Híbrido de <i>Pennisetum</i>	Tratado com 5% de NaOH e 20% de Na ₂ SO ₃ por 1h a 120°C na proporção de 1:10 sólidos para líquidos.	O teor de lignina diminuiu de 20,8% para 13,6%, enquanto o de celulose aumentou de 36,3% para 48,7%.	A hidrólise enzimática foi realizada com uma carga enzimática de 5FPU/g por 48h e obteve-se um rendimento de 74,8% de conversão de glucana.	JINGFENG et al. (2018)
Cana-de-açúcar	O bagaço de cana seco foi pré-cozido por 2h a 120°C na proporção de 1:10 sólido: líquido utilizando 3 diferentes cargas, sendo a de Na ₂ SO ₃ o dobro da carga de NaOH e correspondendo a 10, 5 ou 2,5 (g) de Na ₂ SO ₃ para cada 100 gramas de NaOH	O teor de lignina diminuiu de 22,4% para 24,8 % para proporção de 2,5g:100g de biomassa; 23,7 % para 5g:100g de e 16,8 % para 10 g:100g de biomassa, enquanto a celulose aumento de 40% para 42,3%,44% e 48,3%, respectivamente, para cada uma destas condições.	A hidrólise enzimática foi realizada com uma carga enzimática de 8,8FPU/g por 72h e obteve-se um rendimento de glicose e xilose, respectivamente, de 31% e 22% quando usada proporção de 2,5g:100g de biomassa, e de 58% e 43% para 5g:100g de biomassa e 96% e 79% para 10g:100g de biomassa .	REINOSO et al. (2018)
Cana-de-açúcar	Tratado com 5% de NaOH e 10% de Na ₂ SO ₃ a 120°C variando o tempo de hidrólise entre 30 a 120 min.	Remoção de lignina e hemicelulose ocorreu durante os primeiros 30 min de reação, atingindo 53% e 30% de preenchimento, respectivamente.	A hidrólise enzimática foi realizada com uma carga enzimática de 15 mg / g de biomassa e 0,3 mg de β glicosidase e obteve-se uma conversão de 64% de celulose no material pré-tratado por 30 min.	MENDES et al. (2013)
Palha de Milho	Tratado com carga alcalina de 6%,8%,10%,12% e 14% Cargas de licor: palha foram de 4:1,6:1,8:1,10:1 e 12:1. Variação de 5 níveis de temperatura, de 120°C a 160° C, sendo que o tempo variou de 10 a 50 minutos.	A melhor relação encontrada foi líquido:sólido de 6:1, temperatura de 140 ° C e tempo de 20 min. A taxa de deslignificação na condição ótima foi de 82,45%.	A hidrólise enzimática foi realizada com uma carga enzimática de 20FPU/g e β-glicosidase de 10 U/g por 48h, e obteve-se uma conversão de 74,73% na condição ótima.	LIU et al. (2015)

Fonte:Elaboração Própria

Estudos realizados por Mendes et al. (2011) utilizando pré-tratamento quimiotermomecânico no bagaço de cana-de-açúcar em meio sulfito alcalino mostraram a conversão de 85% da celulose de amostras pré-tratadas, nas quais cerca de 50% da lignina e 33% da hemicelulose haviam sido removidas. A hidrólise da celulose destas amostras foi facilitada não apenas pela redução no conteúdo de lignina e hemicelulose, mas também pela incorporação de grupos sulfônicos na superfície do bagaço. Laurito-Friend (2013), por sua vez, tratou os bagaços de cana-de-açúcar com diferentes concentrações de solução sulfito alcalino. Neste trabalho, com o objetivo de comparar a solubilização da lignina e hemicelulose, como também favorecer o acesso das enzimas ao substrato, utilizaram-se híbridos de cana-de-açúcar com teores reduzidos de lignina e uma variedade comercial. Esses híbridos foram submetidos ao processo quimiomecânico por 2 horas, a 121°C, com soluções de hidróxido de sódio e sulfito de sódio, em concentrações diferentes. Na maior concentração de reagentes, o pré-tratamento foi mais eficiente para remover a lignina e hemicelulose, favorecendo maiores conversões enzimáticas da celulose remanescente. Entre os bagaços pré-tratados, o que resultou em maior rendimento de hidrólise da celulose (92%) foi o híbrido 58 (após 96 horas de reação), associando-se, neste caso, o efeito da deslignificação (53,5%) com alta incorporação de sulfito (600 mmol/kg de lignina). Com esse trabalho, Laurito-Friend (2013) mostrou que a remoção de lignina e hemicelulose favoreceu a hidrólise enzimática; porém, as maiores conversões de celulose e as maiores velocidades iniciais de hidrólise não ocorreram nas amostras com menor teor de lignina e hemicelulose residual. Esses resultados sugerem que a deslignificação total das amostras não é necessária para promover boas conversões enzimáticas, sendo que a melhoria na digestibilidade do bagaço foi atribuída às modificações da lignina devido à introdução de íons sulfito na amostra.

2.5 Etapas biológicas do processo: hidrólise enzimática e fermentação

O pré-tratamento da biomassa é seguido da etapa biológica de sacarificação (hidrólise enzimática), que tem como finalidade quebrar a cadeia polissacarídica em açúcares fermentescíveis (PEREIRA, 2016). A hidrólise enzimática é a forma de sacarificação mais empregada, uma vez que possui alguns benefícios quando em comparação à química. O desenvolvimento de tecnologias que empregam a via enzimática tem ganhado atenção, visto que a hidrólise ácida traz amplas desvantagens ambientais e altos custos de processo. Quando comparadas, a hidrólise enzimática sobressai-se por permitir a operação em

condições brandas de pH e temperatura, mínima formação de produtos secundários e baixa corrosividade de equipamentos (SARKAR, 2012). Menores custos de implantação e manutenção e a possibilidade de executar a fermentação simultânea à sacarificação (TONON FILHO, 2013) também são vantagens da hidrólise enzimática.

A hidrólise enzimática da celulose ocorre pela adsorção de enzimas celulases sobre a superfície da celulose e em seguida pela biodegradação desta em açúcares fermentáveis (SAAD et al., 2010). O efeito do complexo de enzima-celulase na degradação da celulose é expresso pela ação sinérgica das três principais enzimas, endoglucanases, celobiohidrolases (exoglucanases) e β – glicosidases (Figura 8) (LYND et al., 2002; ZHANG et al., 2006)

As endoglucanases clivam as ligações no interior da cadeia de celulose, em regiões amorfas, diminuindo seu grau de polimerização e criando novas extremidades de cadeia. Exoglucanases (celobiohidrolases) são capazes de se ligar aos domínios cristalinos da celulose e liberarem celobiose a partir das extremidades da cadeia. A celobiohidrolase (CBH) pode ser dividida em dois tipos: enzima do tipo I (CBH I), que hidrolisa celulose a partir do terminal redutor liberando celobiose, enquanto a do tipo II (CBH II) hidrolisa o mesmo substrato a partir do terminal não redutor. As β -Glicosidases hidrolisam a celobiose e celo-oligossacarídeos solúveis a glicose (SAAD, 2010). As β -glicosidases têm um papel fundamental para degradação de materiais lignocelulósicos. A celobiose, principal substrato para a β -glicosidase, é um potente inibidor de exocelulases, diminuindo a performance do processo de sacarificação de biomassas. Portanto, as β -glicosidases não são apenas responsáveis pela produção de glicose a partir de celobiose, mas permitem também a ação eficiente da endoglucanase e exoglucanase (KAUR et al., 2007). Há ainda um grupo de enzimas oxidativas, as mono-oxigenases líticas de polissacarídeos (LPMOs), uma classe de enzimas que têm atraído atenção pela capacidade de oxidar polissacarídeos, auxiliando na hidrólise da celulose. Sabe-se que, quando ocorre ação conjunta das enzimas que compõem o complexo celulolítico, há um rendimento melhor que a soma dos rendimentos individuais – efeito sinérgico (HEMSWORTH et al., 2015).

Figura 7 - Atuação conjunta das enzimas do complexo celulolítico

EG: Endoglucanases; **CBH:** Celobiohidrolases; **BG:** β -glucosidases; **CDH:** Celobiose desidrogenase; **GH61:** Glicosil hidrolases família 61.

Fonte: Vanholme et al. (2013).

Existem diversos fatores que influenciam na hidrólise enzimática da biomassa lignocelulósica, os quais podem ser classificados em dois grupos: os relacionados às características estruturais do material (devido à estrutura física e à composição química) e aqueles relacionados aos mecanismos de ação e interações das enzimas celulolíticas. As características estruturais do material são os principais fatores limitantes da hidrólise enzimática da celulose, incluindo os conteúdos de lignina, hemicelulose, grupo acetil e proteínas da parede celular, o grau de cristalinidade e polimerização da celulose, o volume dos poros e a superfície acessível (ZHAO; ZHANG; LIU, 2012). Para superar essas limitações físicas, os pré-tratamentos da biomassa, como já mencionado, são requeridos para obter-se uma hidrólise eficiente do material.

2.5.1 Configurações para os processos fermentativos e biorreatores

Existem diversas configurações para o processo fermentativo com matérias primas lignocelulósica (Figura 9).

Figura 8 - Diferentes configurações de processos para produção de etanol.

Fonte: Adaptado de Scully e Orlygsson (2014).

Nota: a) SHF: hidrólise e fermentação em separado;

b) SSF: sacarificação e fermentação simultânea;

c) SSCF: sacarificação e cofermentação simultânea;

d) CBP: bioprocesso consolidado. C6: hexoses; C5: pentoses.

A hidrólise e fermentação em separado (SHF) consiste em duas operações consecutivas: 1) a celulose é hidrolisada a glicose empregando um complexo enzimático celulolítico e 2) o hidrolisado contendo os açúcares monoméricos são convertidos a etanol nas etapas de fermentação (PAULOVA et al., 2015).

O processo SHF é geralmente conduzido em reatores separados, mas também pode ser realizado em um mesmo reator, desde que de forma não simultânea, com o ajuste adequado das condições operacionais. A vantagem da SHF é a possibilidade da realização de cada etapa em sua condição ideal (i.e., hidrólise enzimática a 45-50 °C e fermentação a 30 °C). No entanto, a principal desvantagem desta estratégia é a inibição que as enzimas sofrem pela liberação de glicose e celobiose durante a hidrólise, fazendo com que parte da celulose disponível não seja aproveitada no processo, diminuindo assim o rendimento da hidrólise (OLOFSSON et al., 2008). Para minimizar o efeito de inibição por produto e alcançar maiores rendimentos na etapa de hidrólise, a utilização de uma menor carga de sólidos permitiria uma menor concentração de produtos inibitórios, entretanto isso implicaria na diminuição da concentração de glicose e, assim, na diminuição da concentração de etanol na etapa de fermentação (OHGREN et al., 2006).

Já no sistema de sacarificação e fermentação simultânea (SSF) os processos de hidrólise enzimática e de fermentação ocorrem, necessariamente, em um mesmo reator (PAULOVA et al., 2015). A glicose é liberada pela ação das enzimas e consumida imediatamente pelo microrganismo empregado na fermentação, não se acumulando assim no meio de cultura. A maior vantagem desse processo é a diminuição da inibição das enzimas pelo produto final (KADAR et al., 2004). Entretanto, a SSF requer condições compatíveis para a atuação das enzimas (sacarificação) e dos microrganismos (fermentação), uma vez que o processo ocorre de forma simultânea (BALLESTEROS et al., 2004).

Nas demais configurações de processo apresentadas na Figura 8 (SSCF, sacarificação e co-fermentação simultânea; e CBP, bioprocesso consolidado), a produção de etanol ocorre a partir de uma mistura de hexoses e pentoses. Os sistemas SSCF e CBP diferem-se quanto a obtenção dos açúcares monoméricos. No processo SSCF as enzimas são produzidas externamente e adicionadas ao reator, enquanto no processo CBP as enzimas responsáveis pela despolimerização dos carboidratos são produzidas *in situ*, pelo próprio microrganismo utilizado no processo fermentativo ou por um consórcio de microrganismos (PAULOVA et al., 2015).

Os processos fermentativos são geralmente conduzidos em biorreatores, nos quais a mistura reacional, constituída pelo meio de cultivo (ou de substrato para conversão enzimática) e o agente biológico, são mantidos sob condições pré-estabelecidas para a realização das conversões enzimáticas e/ou metabólicas. Neste reator, ou biorreator, vários fenômenos químicos, físicos e biológicos ocorrem. Por essa razão, o desenvolvimento de cada processo deve levar em consideração a cinética da reação bioquímica, as características hidrodinâmicas do reator, processos de transferência de massa (nutrientes e oxigênio), além do controle da fisiologia microbiana responsável pela bioconversão (MCNEIL; HARVEY, 2008). No entanto, é mais comum na literatura trabalhos utilizando frascos Erlenmeyer, os quais são úteis para selecionar condições de hidrólise enzimática, mesmo sendo limitados a uma baixa carga de sólidos insolúveis (TRAVAINI et al., 2013; YU et al., 2011). Em frascos, dependendo da carga de sólidos utilizada, é necessário um longo período de tempo até a completa solubilização (liquefação) do substrato para alcançar uma hidrólise efetiva, diminuindo assim a produtividade do processo (ZHANG et al., 2009). Diante disso e devido as características já mencionadas, como o aumento no conteúdo de celulose amorfa e no contato entre substrato e enzima, os reatores mecanicamente agitados permitem a utilização de altos teores de sólidos, nos quais uma alta concentração de açúcares pode ser obtida

empregando diferentes estratégias de condução do processo (LENTING; WARMOESKERKEN, 2001).

2.6 Usos da lignina e sua aplicação na forma de lignossulfonatos

A lignina é a maior fonte natural de compostos aromáticos (FATEHI e CHEN, 2016). No entanto, apenas 1-2% das 50-70 milhões de toneladas de lignina produzidas anualmente são utilizadas para a obtenção de produtos de valor agregado, indicando ser este um material subutilizado (ARO e FATEHI, 2017).

Atualmente, a lignina é usada principalmente para a geração de energia através da combustão nos processos de polpação. Assim, é altamente vantajoso identificar produtos de valor agregado à base de lignina e desenvolver processos para sua produção. As fibras de carbono, as ligas de polímero, os enchimentos ou os dispersantes podem ser considerados exemplos de produtos de valor agregado obtidos a partir de lignina (ARO e FATEHI, 2017).

O interesse nos biocombustíveis celulósicos trouxe à tona a necessidade de mais estudos ligados à química da lignina. De fato, todas as plataformas de bioconversão para a produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica produzem um resíduo rico nesta fração polifenólica. Em um contexto de química verde sustentável, há como desafio a transformação de várias fontes de lignina em alifáticos e aromáticos de baixo peso molecular. Juntamente com este desafio, há a necessidade de desenvolvimento de novas técnicas cujas modificações são baseadas nos grupos hidroxila, metoxila, ligações éter, grupos carbonila e carboxila de lignina e compostos relacionados. Essas oportunidades são especialmente relevantes para as plantas atuais de etanol (SANNIGRAHI; PU; e RAGAUSKAS, 2010).

Tem havido pesquisas sobre a valorização da lignina desde a década de 1980 mas existem poucos exemplos de sucesso da conversão da lignina em produtos de maior valor devido a alguns desafios que esse material oferece. O primeiro desafio é a clivagem de ligações fortes não susceptíveis à hidrólise. Em segundo lugar, devem ser consideradas as propriedades físicas deste material. A lignina nativa, como a Organosolv, é insolúvel em água e solventes orgânicos. Em terceiro lugar, deve-se considerar a estrutura heterogênea da lignina. Em comparação com a celulose, esta macromolécula é inerentemente heterogênea e de estrutura irregular, apresentando um desafio para os biocatalisadores enzimáticos, que geralmente são altamente seletivos para um determinado substrato. Em quarto lugar, há

diferença entre as ligninas encontradas na natureza e entre as obtidas por diferentes processos. A estrutura química de uma preparação de lignina é dependente do método usado para sua obtenção a partir da biomassa. Em quinto lugar, deve-se considerar fatores como Repolimerização e despolimerização. Muitas vezes, os catalisadores para a despolimerização de lignina também catalisam a repolimerização de intermediários radicais, resultando em repolimerização (ou recondensação) competitiva de fragmentos de lignina, gerando produtos de peso molecular mais alto. Para finalizar, deve-se ter em conta a geração de misturas complexas de produtos. Como a lignina é um substrato macromolecular heterogêneo e complexo, seu processamento químico ou biocatalítico resulta em uma mistura complexa de fragmentos oligoméricos e produtos de baixo peso molecular (BUGG et al., 2015).

Mesmo com os desafios apresentados, a lignina continua sendo alvo de pesquisas e já se conhecem alguns produtos derivados desta, havendo a fabricação de um adesivo fenol-formaldeído da lignina derivada da produção de bioetanol de milho (JIN et al., 2010). Devido a seu alto teor de carbono, a lignina tem um potencial para conversão em nanomaterias e nanocontentores (YIAMSAWS et al., 2014). Espumas de poliuretano também podem ser feitas de lignina Organosolv ou Kraft (PAN et al., 2013) ou também se pode proceder à produção de resinas fenólicas usando a lignina Organosolv do bagaço de cana (RAMIRES et al., 2010). Além disso, como objeto de interesse no presente projeto, tem-se o uso de lignina do bagaço de cana-de-açúcar para produção de lignossulfonatos.

Os lignossulfonatos, também chamados de ligninas sulfonadas, são obtidos como um subproduto do processo de polpação sulfito de madeira. De fato, a flexibilidade do processo de sulfito permite gerar potenciais produtos como o lignossulfonato (LI e TAKKELLAPATI, 2018), que podem ser obtidos também pela sulfonação de ligninas obtidas por processos Kraft (KONDURI et al., 2015; OUYANG et al., 2009). Os processos de polpação de sulfito e Kraft são conhecidos por sua separação efetiva de lignina da madeira e, portanto, são usados em todo o mundo (ARO e FATEHI, 2017). No entanto, os lignossulfonatos e a lignina kraft possuem propriedades diferentes. Devido à presença do grupo sulfonado, os lignossulfonatos são anionicamente carregados e solúveis em água (MYRVOLD, 2008). Representam 90% de mercado total de lignina comercial (SUHR et al., 2015) e sua produção anual global é de aproximadamente 1,8 milhão de toneladas (ARO e FATEHI, 2017).

Os lignossulfonatos conseguem agregar maior valor à lignina, pois esta normalmente é utilizada na indústria para queima visando à produção de energia (BIOMASSA e

ENERGIA, 2017). Sabe-se que a lignina sulfonada solúvel em água de diferentes processos de polpação está sendo obtida com sucesso (SITTER et al., 2014 ; TARASOV et al., 2015) e utilizada em uma ampla variedade de aplicações, como plastificantes (KALLIOLA et al., 2015), floculante (QIN et al., 2016) aditivo de cimento (OUYANG et al., 2009), aditivo de bateria (ZHANG et al., 2017) e agente de supressão de poeira (GRAICHEN et al., 2017).

Em termos de quantidade, o lignossulfonato é mais utilizado na indústria de construção civil, pois atua como plastificante, o que melhora a fluidez e a mistura dos concretos (PLANCK, 2004). Isso se deve ao seu peso molecular adequado e densidade de cargas aniônicas decorrentes da presença de grupos funcionais (MEISTER et al., 2002; BERLIN et al., 2014)

Os lignossulfonatos podem ser usados como supressores de poeira, sendo pulverizados em estradas de terra, tornando-se viscosos à medida que a água evapora durante a secagem e ajudando a evitar a poluição do ar com partículas. Tratam-se de alternativas melhores que outros tipos de produtos químicos para prevenção de poeira (por exemplo, cloreto de cálcio); sendo mais eficientes, proporcionam uma melhor cobertura da superfície da estrada e diminuem os requisitos de manutenção por meio de uma melhor drenagem superficial. São também não-tóxicos, não corrosivos e biodegradáveis, reduzindo assim seu impacto ambiental potencial em comparação com alternativas sintéticas (CALVO-FLORES et al., 2015) .No entanto, uma grande desvantagem do uso de lignossulfonatos nesta área é a sua solubilidade em água. Neste caso, lignossulfonatos podem lixiviar da superfície da estrada durante chuvas fortes (ARO e FATEHI, 2017). Também podem ser incorporados em diferentes compostos para aumentar a biodegradabilidade e substituir materiais sintéticos caros. Quando adicionados em poliésteres (succinato de polibutileno), por exemplo, aumentam a hidrofiliabilidade do material (LIN et al., 2011; CALVO-FLORES et al., 2015).

Outra aplicação de lignossulfonatos inclui sua integração em produtos de resina PF devido ao seu conteúdo de grupo fenólico e alto peso molecular. Essas propriedades permitem taxas de gelificação aumentadas, que indicam a rapidez com que a resina começa a endurecer (CALVO-FLORES et al., 2015).

2.7 Simulação e avaliação de viabilidade econômica de biorrefinaria

O desenvolvimento de bioprocessos tem tido como objetivo a possibilidade do uso de resíduos de outras indústrias que sejam amplamente disponíveis, contribuindo com uma melhora nos aspectos

ambientais, econômicos e sociais (Figura 10). No aspecto econômico, pode haver redução dos custos de produção, tornando o produto mais acessível ao consumidor e ao mesmo tempo diferenciado e inovador. Quanto ao meio ambiente, a biotecnologia permite a substituição de compostos químicos tradicionais, baseados na química orgânica derivada do petróleo, por moléculas de origem biológica, como as enzimas. Além das enzimas, têm-se também como exemplos os biopolímeros funcionais (atóxicos e não fósseis) e produtos de origem fermentativa, sendo cada vez mais frequentemente utilizados como insumos. Sabe-se, no entanto, que todas as vantagens apresentadas pelo uso da biotecnologia na obtenção possuem um preço relacionado à adaptação da estrutura produtiva e também relacionado à pesquisa e desenvolvimento e, por isso, os estudos de viabilidade econômica têm se mostrado ferramentas fundamentais para nortear as decisões a serem tomadas em trabalhos de pesquisa aplicada.

Neste sentido, as ferramentas de simulação computacional têm contribuído bastante nos últimos anos no desenvolvimento de biorrefinarias (QUINTERO e CARDONA, 2011; MACRELLI et al., 2012).

Figura 9 - Aspectos relevantes para desenvolvimento de processos sustentáveis no Brasil

Fonte: Elaboração Própria

Os estudos na área de desenho e simulação de um bioprocessos correspondem ao trabalho conceitual realizado antes da construção, expansão ou modernização da planta industrial. Este trabalho, quando realizado em laboratórios de pesquisa e desenvolvimento, possibilita investigar operações bioquímicas complexas e integradas em escala de produção industrial, sem a necessidade de extensiva experimentação (GOSLING, 2005) e tem se mostrado uma ferramenta fundamental para nortear as decisões a serem tomadas em trabalhos de pesquisa aplicada (Figura 11) (HEINZLE et al., 2006; MACRELLI et al., 2012).

Figura 10 - Papel da simulação na tomada de decisões durante o desenvolvimento de um processo

Fonte: Adaptado de Heinzle et al. (2006).

A simulação de bioprocessos corresponde ao uso de modelos computacionais que reproduzem processos ou operações do mundo real. É uma ferramenta que representa uma alternativa de baixo custo para a criação e verificação de projetos e melhor compreensão de processos complexos fortemente integrados, além da comparação de diferentes rotas tecnológicas, otimização e implementação de sistemas de controle (DIAS et al., 2011). Sua maior vantagem está em analisar o processo como um todo e não apenas operações unitárias. Dentre outras vantagens da simulação estão: o teste de hipóteses, a estimativa do tempo de processo, ampliação do conhecimento sobre a interação e importância de determinadas variáveis no sistema e o entendimento de sua operação (FONSECA, 2014).

O Aspen Plus® é o simulador de processos mais utilizado no mundo, possuindo dados termodinâmicos e modelos para propriedades físicas e equipamentos. Este software é capaz de simular o comportamento real de uma planta industrial e utiliza diferentes modelos para propriedades físicas, sendo apontado como o mais completo em comparação a outros para uso na área de biorrefinarias (DIAS, 2011; ASPENTECH, 2017). É apoiado por fortes bases de dados, conjuntos completos de módulos e simulação com ferramentas flexíveis (WEIFENG et al., 2006).

Além de fornecer os dados de balanço de massa e energia para avaliação técnica, a simulação fornece parâmetros para a análise de viabilidade econômica de um dado processo (DIAS et al., 2011). A análise de viabilidade econômica corresponde a uma ferramenta fundamental para nortear trabalhos de pesquisa aplicada, auxiliando na seleção de alternativas de processo.

Para avaliação de cenários industriais de biorrefinarias, a Biorrefinaria Virtual de Cana-de-açúcar (BVC), em desenvolvimento no Laboratório Nacional de Ciência e

Tecnologia do Bioetanol (LNBR/CNPEM/MCTI), possibilita considerar a integração de novas tecnologias nas fases agrícolas, industrial e de uso à cadeia produtiva de cana-de-açúcar e outras biomassas, avaliando as estruturas básicas: econômica, ambiental e social. São diversas as tecnologias utilizadas pela BVC, estando incluída a produção de etanol celulósico (2G), as diferentes estratégias de comercialização e uso do etanol como biocombustível, além de outras. Assim, a BVC destaca-se como uma importante ferramenta para utilização pela comunidade científica e industrial nacional e internacional (BONOMI et al., 2016).

Os estudos de viabilidade econômica têm contribuído bastante nos últimos anos no desenvolvimento de biorrefinarias (QUINTERO e CARDONA, 2011). Alguns dos estudos relacionados à simulação de biorrefinarias de cana-de-açúcar têm abordado aspectos econômicos, como os custos de operações ou até mesmo os valores de mercados dos produtos avaliados (MONCADA et al., 2013; RAICHER, 2011). Desta forma, a definição e escolha dos parâmetros do processo, ou do melhor arranjo, dependem também dessa abordagem.

Tecnologias como a produção de etanol de segunda geração por diferentes processos de hidrólise e pré-tratamento são o exemplo em evidência da utilização da BVC para simulação e a análise técnica-econômica no âmbito de biorrefinarias de cana-de-açúcar. A verificação da viabilidade de acoplamento de novos produtos à cadeia produtiva de cana-de-açúcar também é um exemplo de aplicação (MARIANO et al., 2013; RIVERA et al., 2014, MENDES et al., 2017).

Os custos operacionais só podem ser calculados se o processo for analisado, ou seja, os detalhes do processo como gastos energéticos, consumo de matéria prima e rendimentos forem conhecidos. Neste caso, o uso de softwares de simulação de processos se aplica, pois com a sua utilização é possível conhecer os valores das variáveis de uma forma geral, permitindo o cálculo dos custos associados e parâmetros de análise econômica (ASPENTECH, 2017).

Um exemplo de parâmetro econômico útil para a análise de viabilidade econômica de biorrefinarias é a taxa interna de retorno (TIR), utilizada, por exemplo, por Dias et al. (2011 e 2012), que permite mostrar qual investimento apresenta maior rentabilidade. Este parâmetro foi empregado no trabalho Mendes et al. (2017), no qual se avaliou a viabilidade econômica de utilização de seis diferentes híbridos de cana-de-açúcar, usando como base a plataforma BVC. Neste trabalho, o pacote computacional Aspen Plus® foi utilizado como ferramenta para estimar a produção de eletricidade, açúcar e etanol em biorrefinarias de

primeira geração. Além da TIR, determinaram-se outros indicadores de desempenho econômico, como o VPL (valor presente líquido). Os três híbridos com maior produtividade de campo e conteúdo de fibra (H89, H58 e H140) resultaram nos melhores indicadores econômicos quando utilizados para produção de eletricidade, açúcar e etanol em biorrefinarias de primeira geração. O preço do álcool foi especialmente crítico para a TIR das destilarias autônomas, reforçando a importância das biorrefinarias multiproduto.

Em trabalho recente de Mendes et al (2018), foram avaliados híbridos de cana-de-açúcar desenvolvidos por meio de engenharia genética e melhoramento de plantas para produzir culturas lignocelulósicas mais suscetíveis à produção de biocombustíveis de segunda geração. A avaliação dessas plantas exige desenvolvimento de processo combinado com avaliação econômica adequada. Nesse estudo foi avaliado o pré-tratamento sulfito alcalino de biomassa de cana-de-açúcar derivado de quatro híbridos previamente selecionados e foi avaliada a produção de etanol de segunda geração integrada a uma biorrefinaria de primeira geração. A análise econômica foi simulada em 32 cenários de biorrefinaria, incluindo diferentes condições de pré-tratamento (alta e baixa severidade), tempo de hidrólise enzimática (24 e 72 h) e destino de pentoses (fermentação a etanol ou descarte). O pré-tratamento severo mostrou-se eficiente para aumentar a produção de etanol; no entanto, o custo do sulfito de sódio foi relevante no custo do etanol 1G2G. O melhor cenário de biorrefinaria correspondeu ao híbrido de cana-de-açúcar H89, processado com 72 h de hidrólise enzimática e co-fermentação C5 e C6. Para este cenário, a análise de sensibilidade paramétrica indicou que os preços máximos de sulfito de sódio para alcançar a taxa de retorno mínima aceitável (12%) foram de US \$ 0,66 / kg e US \$ 0,47 / kg para pré-tratamentos severos e brandos, respectivamente, ajudando assim avaliar o efeito dos custos do sulfito de sódio na TIR da biorrefinaria.

Outro trabalho de Gubieza et al. (2016) calculou o custo de produção do etanol, os quais realizaram uma análise técnico-econômica para um processo simplificado de produção de etanol lignocelulósico desenvolvido e comprovado pela Universidade da Flórida em escalas laboratoriais, piloto e de demonstração. Neste trabalho, utilizaram-se os dados obtidos de todas as três escalas de desenvolvimento no software de simulação Aspen Plus®, criando modelos para um caso-base experimentalmente comprovado e 5 cenários hipotéticos. A diferença nos parâmetros de entrada do modelo em relação aos cenários hipotéticos foram o tempo de fermentação, carga enzimática, conversão enzimática,

carregamento de sólidos e rendimento global do processo. Durante o estudo, os autores obtiveram o preço mínimo de venda do etanol (MESP) variando entre US\$0,5038/L e US\$0,6272/ L e relataram que os principais fatores contribuintes para elevar o custo de produção foram a matéria-prima e o custo de capital, compreendendo entre 23-28% e 40-49% do MESP, respectivamente. Uma análise de sensibilidade mostrou que o rendimento total do etanol teve o maior efeito sobre o MESP. Os resultados obtidos sugeriram que esforços futuros para aumentar a viabilidade econômica de um processo de etanol celulósico deveriam ser direcionados à otimização do rendimento em produto. Rick van Rijn et al. (2018), por sua vez, utilizaram um pacote computacional diferente, o SuperPro Designer, para comparar a produção de etanol a partir do bagaço de cana-de-açúcar e sorgo sacarino usando um cenário de base comum ao trabalho do Gubinza et al. (2016), também na universidade da Flórida. Utilizaram os dados obtidos de uma biorrefinaria piloto para modelar uma biorrefinaria em escala comercial que processasse a biomassa lignocelulósica para etanol. Além de comparar as duas matérias-primas e os dois pacotes de software, este estudo também objetivou determinar qual(is) fator (es) seria(m) mais eficaz(es) na redução da MESP no caso do bagaço de sorgo sacarino. Isto foi conseguido através da análise de diferentes cenários em que a dosagem da enzima, eficiência de conversão, carga de sólidos e produção de biomassa foram variadas. A análise tecnoeconômica mostrou que o custo da matéria-prima e o tamanho da biorrefinaria são fatores chave que precisam ser direcionados para tornar o preço do etanol celulósico competitivo com a gasolina, sendo que outro fator importante é o carregamento enzimático. Ao utilizar o bagaço de cana como matéria-prima, e considerando o cenário base, o software utilizado para a análise técnico-econômica (SuperPro Designer vs. Aspen Plus) não resultou em uma grande diferença no valor final do custo de produção de etanol. Uma comparação dos cenários de base para o bagaço de cana-de-açúcar e sorgo sacarino mostrou que, de acordo com as premissas do modelo usado, estas são matérias-primas equivalentes para a produção de etanol lignocelulósico.

Além da análise de viabilidade econômica, trabalhos têm sido desenvolvidos na literatura considerando aspectos de sustentabilidade ambiental. No trabalho de Santos et al. (2018), por exemplo, avaliaram-se diferentes cenários de produção de biocombustíveis de aviação a partir da cana-de-açúcar, sendo que todos os cenários considerados correspondiam a uma biorrefinaria integrada de 1ª e 2ª geração. Neste trabalho os autores fizeram uma análise técnico-econômica e ambiental de toda a cadeia produtiva (produção de biomassa, extração de açúcar, pré-tratamento de biomassa, fermentação de açúcares

e recuperação e purificação de produtos) de uma biorrefinaria. Em termos de impactos ambientais, os cenários resultaram em emissão de gases de efeito estufa (GEE) e os valores de uso de energia renovável (NREU) ficaram em torno da redução esperada de 50% em comparação com os de combustíveis para jatos baseados em fontes fósseis. O preço mínimo de venda de combustível de aviação (MJSP) calculado para todos os cenários foi superior ao da referência de combustível de aviação fóssil, mas o potencial significativo de redução de impactos ambientais (em termos de emissões de GEE e uso de energia primária) foi encorajador para novas pesquisas em redução de custos e desenvolvimento de tecnologia. Por fim, o cenário de melhor desempenho econômico também teve os menores impactos ambientais no trabalho. Um outro exemplo, seria o trabalho de Moncada et al. (2018), no qual se avaliou o desempenho técnico-econômico e ambiental da produção de açúcares C6 de madeira de fibra longa e milho, os quais poderiam ser utilizados para a produção de combustíveis(por exemplo, etanol, butanol) e / ou obtenção de produtos químicos (por exemplo, ácido láctico, ácido succínico). E os autores consideraram duas tecnologias diferentes no estudo, sendo a primeira o processo organossolve, que foi utilizado em lascas de madeira de abeto em um processo 2G. A segunda tecnologia avaliada foi a moagem de milho, uma tecnologia 1G para processamento de culturas alimentícias. Modelos de processos foram desenvolvidos para gerar dados relevantes para avaliar o desempenho técnico e para as avaliações econômicas e ambientais. A avaliação econômica foi realizada utilizando o Valor Presente Líquido (VPL) como indicador, enquanto a avaliação ambiental seguiu uma avaliação prospectiva do ciclo de vida (LCA) para 5 categorias de impacto. Como resultados, os autores encontraram que rotas baseadas em organossolve apresentaram desempenho relativamente melhor que a moagem úmida de milho; no geral, o processo organossolve (de 2ª geração) apresentou melhor desempenho do ponto de vista ambiental, além de um VPL positivo.

3 OBJETIVOS

O principal objetivo do presente trabalho foi a proposta de uma biorrefinaria integrada de produção de etanol 1G2G empregando pré-tratamento sulfito alcalino e considerando o uso da lignina para produção de lignossulfonatos, abrangendo desde a obtenção de dados em laboratório à simulação e avaliação econômica do processo.

Como objetivos específicos, teve-se:

- Avaliação da hidrólise enzimática das frações carboidrato de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por sulfito alcalino, empregando frascos Erleymeyer e reator de coluna;
- Síntese e simulação, auxiliada pelo pacote computacional Aspen Plus®, de biorrefinarias que incluem o uso da celulose e hemicelulose para a produção de etanol de segunda geração, o pré tratamento sulfito alcalino e emprego da lignina para produção de lignossulfonatos;
- Avaliação da viabilidade econômica dos cenários simulados, com auxílio da disposição dos dados em planilhas eletrônicas, empregando-se a Biorrefinaria Virtual de Cana-de-açúcar (BVC).

4 METODOLOGIA

4.1 Parte Experimental

4.1.1 Matéria-prima e caracterização

O bagaço de cana-de-açúcar foi fornecido pela Usina Vale Onda Verde, localizada no município de Onda Verde/SP. As amostras de bagaço de cana-de-açúcar foram secas ao sol até se obter um teor de umidade em torno de 10%. Para a realização do pré-tratamento, o bagaço passou por um peneiramento, sendo descartados os finos.

As amostras foram caracterizadas quanto a seus componentes (teores de extrativos, celulose, hemicelulose, lignina e cinzas), conforme seção 4.1.6.

4.1.2 Pré-tratamento sulfito alcalino

O pré-tratamento foi efetuado em reator cilíndrico fechado de Aço inox com altura de 460 mm e diâmetro interno de 220 mm, correspondendo a um volume de 17,486 L. Baseando-se no trabalho de Mendes et al. (2012), o reator de pré-tratamento foi carregado com 850g de bagaço (massa seca) e 8,5L da solução de sulfito alcalino $\text{Na}_2\text{SO}_3/\text{NaOH}$, empregando-se a proporção de 10% m/m e 5% m/m de cada reagente, respectivamente, em relação à biomassa seca. O processo foi realizado por 2h a uma temperatura de 121°C em autoclave. Após esse período, o bagaço pré-tratado foi separado do meio líquido por filtração e lavado com água destilada. Este procedimento foi realizado até que a água de lavagem atingisse pH=7. Posteriormente, o bagaço pré-tratado foi caracterizado com relação aos seus componentes principais (celulose, hemicelulose e lignina). Do total de bagaço pré-tratado, 450g foram destinados para refino. Esse material foi suspenso em água para um volume final de 25L (1,8% de consistência) e refinado em um refinador de disco Bauer MD - 300, com uma folga de disco de 0,1 mm (REGMED, Brasil) e até 250 Wh de consumo de energia, conforme Mendes et al. (2011). A técnica de refino é normalmente realizada nas indústrias de papel e celulose, e o objetivo desse processo no trabalho foi comparar se o material final encontrado após essa etapa apresentaria alguma mudança em relação ao rendimento de hidrólise enzimática ao ser comparado com o material que não passou pelo refino.

4.1.3 Avaliação das condições de hidrólise em frascos Erlenmeyer

Em frascos Erlenmeyer de 125 mL, preparou-se 50 mL de meio reacional composto por tampão citrato 50 mM pH=4,8, bagaço pré-tratado em uma concentração 10% m/m uma

preparação comercial de celulase Cellic® CTec 2 (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) com carga de 5 FPU/g de bagaço pré-tratado (massa seca). Foram realizados experimentos empregando bagaço pré-tratado sem refino e com refino. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Os frascos permaneceram em incubadora com movimento rotatório por 72h a 50°C e 150 rpm. Durante esse período, retiraram-se amostras do meio para análise da concentração de açúcares por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

4.1.4 Avaliação das condições de hidrólise enzimática em reator de coluna com leito fixo

O processo de hidrólise enzimática do bagaço pré-tratado foi avaliado em biorreator de coluna com diâmetro interno de 30 mm e volume 160 mL, conforme esquema simplificado e fotografia apresentados na Figura 12. A coluna principal, construída em vidro, apresentava uma camisa para controle de temperatura. O interior desta coluna principal foi preenchido com o leito, composto de 28 g (massa seca) de material pré-tratado, correspondendo um teor inicial de sólido de 14%. A recirculação foi realizada com o auxílio de bomba peristáltica a um fluxo de 23 mL/min. O meio reacional era composto por tampão citrato 50 mM pH 4,8 e uma preparação comercial Cellic® CTec 2 (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) com carga enzimática inicial de 5 FPU/g bagaço pré-tratado (massa seca), que foi equivalente a 2,96 mL da preparação comercial de enzimas. O reator foi operado a 50°C por 72 horas, sendo retiradas alíquotas periódicas do meio para análise do teor de açúcares por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), conforme seção 4.1.6.

Figura 11 - Esquema simplificado (a) e fotografia (b) do reator utilizado na hidrólise enzimática dos polissacarídeos de bagaço de cana-de-açúcar (reator de leito fixo).

4.1.5 Determinação do rendimento de hidrólise enzimática

O rendimento de hidrólise da glucana (RH) foi determinado de acordo com a Eq. (1), reportada por Lu et al. (2012).

$$RH (\%) = \frac{Gx Vx 0,9}{Gl \times m} \quad \text{Eq. (1)}$$

Em que:

G=conteúdo de glicose (g/L) liberada após hidrólise enzimática, V= volume (ml) total do meio reacional, Gl=conteúdo total de glucana e m=massa seca de bagaço pré-tratado fornecido para hidrólise (g).

Na equação 1 há uma multiplicação por 0,9, pois, quando a glucana é hidrolisada a glicose, ocorre a incorporação de uma molécula de água em cada uma das ligações glicosídicas presentes no polissacarídeo. A incorporação da molécula de água representa o aumento de 18 g/mol em cada molécula de anidroglicose (162 g/mol) presente no polissacarídeo. Assim, quando a glucana é hidrolisada à glicose, a massa obtida é maior que a de glucana originalmente presente na biomassa.

O rendimento de hidrólise da xilana (RH) foi determinado de acordo com a Eq. (2),

$$RH (\%) = \frac{Xx Vx 0,88}{Xl \times m} \quad \text{Eq. (2)}$$

Em que:

X=conteúdo de xilose (g/L) liberada após hidrólise enzimática, V= volume (ml) total do meio reacional, Xl=conteúdo total de xilana, m=massa seca de bagaço pré-tratado fornecido para hidrólise (g).

Na equação 2 há uma multiplicação por 0,88, pois, quando a xilana é hidrolisada a xilose ocorre a incorporação de uma molécula de água em cada uma das ligações glicosídicas

presentes no polissacarídeo. A incorporação da molécula de água representa o aumento de 18 g/mol em cada molécula de anidroxilose (132 g/mol) presente no polissacarídeo. Assim, quando a xilana é hidrolisada à xilose, a massa obtida é maior que a de xilana originalmente presente na biomassa.

4.1.6 Métodos analíticos

Umidade: A umidade do bagaço de cana-de-açúcar foi determinada em balança de infravermelho Mark M163 (BEL Engineering, Piracicaba-SP).

Caracterização composicional do bagaço: tanto o bagaço *in natura* quanto pré-tratado foram caracterizados quanto a seus componentes (celulose, hemicelulose, lignina, cinzas e extrativos), seguindo a metodologia descrita por Mesquita et al. (2016).

Análise de açúcares e ácido acético: as análises dos teores de açúcares e ácido acético foram feitas por cromatografia líquida de alta eficiência em cromatógrafo Agilent Technology 1200 series (Agilent, Estados Unidos). As amostras foram previamente filtradas em filtro Sep Pak C18 e injetadas no cromatógrafo, utilizando-se as seguintes condições: coluna BIO-RAD AMINEX HPX-87H (300 X 7,8 mm) mantida à temperatura de 45 °C; volume de injeção de 20 µL; detector de índice de refração RID 6A; fase móvel ácido sulfúrico 0,01 mol/L e fluxo de 0,6 mL/min.

Atividade celulolítica: para determinação da quantidade de preparação de celulasas a ser adicionada ao meio contendo bagaço de cana-de-açúcar, as atividades celulolíticas foram determinadas segundo a metodologia descrita por Ghose (1987).

4.2 Simulação e avaliação de viabilidade econômica

4.2.1 Definição de Cenários

O presente projeto foi desenvolvido empregando dados experimentais obtidos anteriormente e disponíveis nos grupos de pesquisa do LOT/EEL-USP, os quais foram utilizados na etapa de síntese e simulação dos processos tendo por base a BVC e trabalhos paralelos ligados ao projeto temático ao qual o presente projeto está vinculado, que utilizam cana-de-açúcar como matéria prima para produção de etanol de primeira e segunda geração.

Para o desenvolvimento desses cenários foi adotado como parâmetro biorrefinarias que processam 500 toneladas de colmo de cana-de-açúcar por hora (500 TC/h) operando 24 horas por dia e 200 dias por ano, otimizadas para maximizar a produção de eletricidade, com

caldeiras para produção de vapor a alta pressão (65 bar) e altas temperaturas (485°C) (DIAS et al., 2013).

O processo de Etanol 1G incluiu, em suas configurações, a extração do caldo da cana-de-açúcar, que foi fermentado com o licor C6 proveniente das etapas 2G. O subproduto da moagem, o bagaço de cana-de-açúcar, seguiu para queima, juntamente com a palha de cana, gerando vapor e eletricidade no sistema de cogeração. A palha de cana-de-açúcar é produzida na proporção de 140kg por tonelada de cana-de-açúcar e considerou-se que 50% dessa palha (com 15% de umidade) era recolhido do campo e encaminhado à usina para queima (DIAS et al., 2013). O bagaço excedente (que não foi queimado) da cogeração de energia foi destinado para produção de etanol 2G e de lignossulfonatos.

O bagaço excedente foi pré-tratado por método sulfito alcalino conforme os dados obtidos no presente projeto e o trabalho de Mendes et al. (2013), sendo que a fração sólida seguiu para hidrólise enzimática proposta em dois cenários com distintos teores de sólidos em reator (10% ou 14%). Uma representação esquemática do destino do bagaço de cana-de-açúcar excedente no cenário simulado é apresentada na Figura 13.

Pode-se observar na Figura 13 que o licor oriundo do pré-tratamento foi enviado ao processo de sulfonação para obtenção de lignossulfonatos. A etapa de sulfonação e concentração dos lignossulfonatos foi sintetizada no programa Aspen Plus®, sendo que o custo dos equipamentos utilizados e a infraestrutura para etapa de produção de lignossulfonato foram obtidos com base no banco de dados do LNBR, o custo de produção de etanol 1G2G e de lignossulfonato foi calculado utilizando o custo do processo sulfito alcalino baseado em baseadas em informações disponíveis em Melbar Produtos de Lignina Ltda. (2019). Foi simulado também um cenário diferente, no qual o licor de pré-tratamento foi destinado ao tratamento de efluentes.

Para cada relação teor de sólidos/conversão de hidrólise enzimática, considerou-se: a) a produção de lignossulfonato e o envio da lignina insolúvel não sulfonada para unidade CHP; ou b) sem a produção do lignossulfonato e o envio da corrente líquida residual (LICOR) do pré-tratamento para tratamento de efluentes e o sólido residual da hidrólise enzimática foi enviado para queima do sólido residual da hidrólise enzimática; constituindo-se, assim, 4 cenários (Tabela 3).

As simulações foram realizadas para obtenção dos balanços de massa e energia, a partir dos quais foram feitas determinações quantitativas de matérias-primas, consumíveis,

utilidades e necessidades energéticas. As simulações forneceram as informações necessárias para determinar indicadores de sustentabilidade econômica, calculados no âmbito da BVC.

Figura 12 - Modelo de Simulação da biorrefinaria integrada 1G2G

Fonte: Arquivo pessoal

Tabela 3 - Características de cada um dos cenários propostos

Condições			
Cenários	Teor de sólidos no reator de hidrólise enzimática	Tempo de hidrólise	Produção de lignossulfonato
I	10%	72h	Sim
II	10%	72h	Não
III	14%	72h	Sim
IV	14%	72h	Não

Fonte: Elaboração própria

4.2.2 Síntese e simulação da biorrefinaria integrada 1G2G

O fluxograma apresentado na Figura 14 representa um modelo da simulação da biorrefinaria integrada 1G2G. O fluxograma é dividido em hierarquias, sendo estas: a PREP-EXT, que é responsável pelo preparo e extração do caldo de cana pelo processo de moagem; a 2G, que é responsável pelo pré-tratamento, hidrólise enzimática, concentração e fermentação do licor C5 e C6; CHP, correspondente ao processo de cogeração de vapor e eletricidade; e, por último, ETHANOL, na qual ocorre a concentração e fermentação do licor

C6 e C12, destilação e desidratação do etanol. Estes foram sintetizados e simulados conforme descrito pelo livro “*Virtual biorefinery – an optimization strategy for renewable carbon valorization*” (BONOMI et al., 2016), tendo por base a plataforma BVC.

A síntese e simulação dos modelos de biorrefinaria integrada 1G2G com a produção de lignossulfonato foram feitas conforme o fluxograma apresentado na Figura 15. Nota-se que o fluxograma é subdividido em hierarquias, conforme a configuração da produção etanol 1G2G, porém com acréscimo da hierarquia LIGNOSUL, que é responsável pela produção de lignossulfonato.

Particularmente, o trabalho desenvolveu a hierarquia LIGNOSUL, a qual foi posteriormente integrada às demais hierarquias que compõem o processo de produção de etanol 1G2G, resultando em uma biorrefinaria virtual. Os parâmetros de processos necessários para simulação das hierarquias PREP-EXT, CHP foram baseados em Mendes et al. (2017) e, para a hierarquia 2G, teve-se por base o trabalho de Mendes et al. (2018). Para a hierarquia ETHANOL foi utilizada a plataforma BVC (BONOMI et al., 2016).

Figura 13 - Fluxograma geral de simulação dos modelos de biorrefinaria integrada 1G2G sem a produção de lignossulfonato

Fonte: Elaboração própria

Figura 14 - Fluxograma geral de simulação dos modelos de biorrefinaria integrada 1G2G com a produção de lignossulfonato

Fonte: Elaboração própria

4.2.2.1 Definição dos Componentes empregados no programa Aspen Plus®

Para a realização da simulação foi necessário especificar todos os componentes do processo, sendo eles os materiais de partida ou os produtos formados. Alguns produtos já encontram na base de dados do simulador, sendo que outros foram criados e suas propriedades especificadas, conforme realizado por Dias (2011).

Para a modelagem e simulação do processo de produção de etanol no simulador foi selecionada a corrente de material classe MIXCISLD com duas subcorrentes: a MIXED e a CISOLID. A subcorrente CISOLID é utilizada para definir componentes convencionais que aparecem na fase sólida, mas que não participam no equilíbrio de fases, enquanto a subcorrente MIXED é utilizada para inserir os demais componentes que atingem equilíbrio de fases. A composição desta corrente da alimentação de cana-de-açúcar foi inserida utilizando os dados da BVC, porém ajustados de acordo com a composição química de cada cana-de-açúcar avaliada.

4.2.2.2 Cana-de-açúcar

Em todos os cenários estabelecidos foi considerada como matéria prima cana-de-açúcar usual em usinas de álcool, sendo considerada a composição do bagaço fornecido pela Usina Vale Onda Verde, localizada no município de Onda Verde/SP. A composição da corrente de alimentação de cana-de-açúcar foi baseada nos dados experimentais de composição do bagaço de cana-de-açúcar obtidos no presente projeto. A Tabela 4 apresenta a composição da cana-de-açúcar, além das vazões mássicas adotadas na simulação.

Tabela 4 - Composição da cana-de-açúcar e vazões mássicas adotadas.

Componente	Vazão mássica (kg/h)	Frações mássica (%)
Substream Mixed		
Glicose	3026,0	0,6
Água	354506,5	70,29
Ácido fosfórico	151,3	0,03
Minerais	1008,7	0,2
Ácidos orgânicos	2824,3	0,56
Sais	7968,7	1,58
Sacarose	67000	14
Substream Cisolid		
Acetato	1660,4	0,33
Celulose	29125,7	5,99
Lignina	15449,9	3,21
Terra	3018,0	3,32
Xilana	17278,2	3,21

Fonte: Elaboração própria

4.2.2.3 Pré-tratamento sulfito alcalino e hidrólise enzimática

Nesta parte do estudo teve-se como objetivo a simulação do processo de produção de etanol por hidrólise enzimática a partir do bagaço de cana-de-açúcar. Neste processo têm-se duas etapas principais: a primeira é o pré-tratamento para a solubilização da hemicelulose e liberação da lignina e a segunda é o processo de hidrólise enzimática.

Na simulação, o bagaço proveniente da moagem da cana que não foi queimado (BAG-EXC), é alimentado no reator de pré-tratamento (PT-RCT1) juntamente com uma corrente de sulfito (SULF-ALK). Foram utilizadas concentrações de 5% m/m de NaOH e 10% m/m de Na₂SO₃ (percentuais em relação à biomassa seca). Para simular a etapa do pré-tratamento, utilizou-se no simulador um reator estequiométrico (Rstoicmodel), no qual as reações são especificadas por suas equações químicas. Nas equações 1,2 e 3 são apresentadas as reações de conversão da celulose em glicose, da hemicelulose em xilose e da lignina insolúvel em lignina solúvel, respectivamente. As conversões utilizadas no reator de pré-tratamento foram as obtidas na parte experimental do trabalho.

Para haver o aproveitamento do calor liberado, foi necessário o resfriamento do reator de pré-tratamento, sendo considerado seu flasheamento até o equilíbrio da pressão interna com a externa, ou seja, de 1 atm. Esse calor liberado foi utilizado para aquecer o reagente sulfito alcalino na alimentação do reator de pré-tratamento.

O bagaço pré-tratado (PT-BAG) foi filtrado, separando-se o licor rico em lignina sulfonada e a fração sólida (PT-BAG2). Para a lavagem, considerou-se a vazão de água igual à de torta produzida, a qual sai do filtro com 50% de umidade. A fração sólida (PT-BAG-2), constituída majoritariamente por celulose e hemicelulose, seguiu para a etapa de hidrólise enzimática e posteriormente para filtração, na qual ocorreu a separação do licor C5C6 da celulignina não hidrolisada. A celulignina não hidrolisada seguiu para queima e geração de vapor/energia ou para etapa de sulfonação - neste caso, quando havia produção de lignossulfonato. Ao final do processo a cana-de-açúcar hidrolisada foi filtrada, separando-se o licor C5C6 do material não hidrolisado. O licor C6 foi fermentado junto com C5 na hierarquia 2G; posteriormente, o vinho C5C6 foi concentrado e em seguida foi enviado para as colunas de destilação e processo de desidratação para obtenção do etanol.

Os principais parâmetros adotados na simulação para etapa de pré-tratamento na produção de etanol 2G foram temperatura a 50° C e tempo de reação de 10 minutos (LAURITO-FRIEND et al., 2015) e, em relação a filtração, a eficiência do filtro em relação à retenção dos sólidos insolúveis foi de 99,5% e a perda de sólidos solúveis 2% (DIAS et al., 2011).

Para dar continuidade ao processo de hidrólise enzimática, a corrente PT-BAG-2 foi misturada com mais duas correntes, de água e enzima, e alimentada no reator de hidrólise (EH-RCT1), que também é do tipo estequiométrico (Rstoicmodel).

A fração líquida do pré-tratamento, denominada como licor (constituída por lignina sulfonada, água e pequena quantidade de hemicelulose dissolvida), nos cenários sem produção de lignossulfonato, foi encaminhada para a seção de tratamento de efluentes, enquanto que, para os cenários nos quais havia produção de lignossulfonato, este licor foi enviado para o reator, onde ocorreu a sulfonação com o resíduo não hidrolisado enzimaticamente (celulignina rica em lignina). Posteriormente, o lignossulfonato foi

concentrado por evaporadores de múltiplo efeito. A palha de cana-de-açúcar e parte do bagaço foram queimados na caldeira visando-se à obtenção de energia elétrica e vapor.

Foi avaliado o tempo de conversão enzimática de 72h em dois cenários distintos, com concentração de 10% ou 14% de sólidos alimentados no reator de hidrólise enzimática. Nos cenários com 14% de sólidos, as conversões da reação empregadas corresponderam aos rendimentos de hidrólise encontrados na parte experimental realizada do trabalho em um reator de leito fixo. Para os cenários de 10% de sólidos foram utilizados os dados encontrados em frascos Erlenmeyer, considerando bagaço sem refino.

Os principais parâmetros adotados na simulação para a etapa de hidrólise enzimática foram temperatura a 50° C (LAURITO-FRIEND et al., 2015) e teor de sólidos de 10% e 14% (Dias et al., 2011) e, em relação a filtração, a eficiência do filtro em relação a retenção dos sólidos insolúveis foi de 99,5% e a perda de sólidos solúveis 10% (DIAS et al., 2011).

4.2.2.3 Produção de lignossulfonato

As características do produto lignossulfonato necessárias para venda comercial foram baseadas em informações disponíveis em Melbar Produtos de Lignina Ltda. (2019). com isto, na etapa da produção de lignossulfonato, a solução líquida foi concentrada para 30-35% de sólidos por meio de evaporação múltiplo efeito. A sulfonação ocorreu a 150 °C por 3h e o dado de rendimento da sulfonação foi obtido experimentalmente no âmbito trabalho do aluno de doutorado Otto Heinz, orientado pelo Prof. André Luiz Ferraz (informação pessoal)¹.

A síntese e simulação dos modelos de biorrefinaria integrada 1G2G e lignossulfonato foram feitas conforme o fluxograma apresentado na Figura 16. O bagaço excedente (que não foi queimado) da cogeração de energia foi destinado para produção de etanol 2G. No processo 2G ocorreram as seguintes etapas: pré-tratamento, hidrólise enzimática, concentração e fermentação do licor C5 e C6. No bloco de produção de Lignossulfonato ocorreu a sulfonação da lignina e a solução foi concentrada por evaporação de múltiplos efeitos.

¹Heinz. Otto. E-mail recebido por ottoheinz@usp.br em dezembro de 2018.

Figura 15 - Diagrama do processo integrado de produção de etanol 1G2G e de lignossulfonato. Etapa do processo de produção de etanol 1G (blocos brancos), 2G (blocos cinzas) e produção de lignossulfonato (bloco com linha pontilhada).

Fonte: Elaboração própria

As simulações foram realizadas para obtenção dos balanços de massa e energia, a partir dos quais foram feitas determinações quantitativas de matérias-primas, consumíveis, utilidades e necessidades energéticas, entre outros. As simulações forneceram as informações necessárias para determinação dos indicadores de sustentabilidade econômica, calculadas no âmbito da BVC.

4.2.3 Avaliação de viabilidade econômica

A análise de custos foi obtida empregando-se os resultados de balanço de massa e de energia realizados, sendo que a disposição dos dados disponíveis na BVC em planilhas eletrônicas foi a base desta análise. Os preços de cana e palha foram estimados utilizando o CanaSoft (CARDOSO et al., 2013).

Foram usados dados para as condições brasileiras, incluindo custo de mão de obra, tipos de colheita e plantio, operações agrícolas, maquinários, implementos, agroquímicos, entre outras variáveis, as quais foram incluídas nos cálculos para determinação de variáveis-resposta como a taxa interna de retorno (TIR) e valor presente líquido (VPL), conforme metodologia já empregada no âmbito da BVC (BONOMI et al., 2016). A análise econômica considerou projetos *Greenfield*, ou seja, nos quais as plantas industriais são executadas como um novo projeto, construídas como se não houvesse qualquer infraestrutura ou planta

anterior. Desta forma, foi possível realizar uma comparação padronizada entre os cenários. Mesmo estes sendo de processos integrados de produção de etanol 1G2G, não se avaliou a modificação de uma planta 1G preexistente, de modo a comportar somente a tecnologia 2G do cenário e produção de lignossulfonato, o que neste caso representaria projetos industriais Brownfield.

No que concerne à metodologia para estimativa dos custos de investimentos e à análise econômica, estas foram realizadas conforme BONOMI et al. (2016), mais especificamente no Capítulo 6, intitulado como *Sustainability Assessment Methodologies* (WATANABE et al., 2016). Esta parte do trabalho ocorreu em parceria com a Divisão de Inteligência de Processos do Laboratório Nacional de Biorrenováveis (LNBR/CNPEN), sendo utilizados os bancos de dados e metodologias internas desta instituição. Os dados foram analisados e compilados, construindo um modelo de equação em que o valor do investimento necessário ficasse em função do fluxo mássico da corrente (ou de um componente da corrente) de entrada naquela área de produção específica.

A análise financeira foi realizada tendo como base as premissas econômicas mostradas na Tabela 5 (BONOMI et al., 2016). Os preços considerados são de séries históricas de uma década para o etanol anidro (CEPEA, 2018). No caso da eletricidade a partir da biomassa, foram considerados os preços de leilões de energia (MME, 2013; CCEE, 2018). No caso dos insumos para o pré-tratamento foram considerados os preços da ComexStat (2018). Todos os preços utilizados no cálculo das médias foram corrigidos de acordo com Índice de Preços ao Consumidor Amplo (IPCA), sendo dezembro de 2018 a data de referência para a atualização. Para a avaliação financeira, foram assumidos cenários de produção verticalizados, nos quais os custos totais de produção da biomassa, calculada utilizando o CanaSoft (BONOMI et al., 2016), refletem os custos de aquisição desta para o processamento industrial.

Tabela 5 - Premissas econômicas empregadas na análise dos cenários avaliados

Preços de venda	Valor	Referência
Etanol anidro (R\$/L)	1,85	CEPEA (2018)
		MME (2013); CCEE
Eletricidade (R\$/MWh)	204,38	(2018)
Parâmetros do projeto	Valor	Referência
	Novembro,	
Data de referência	2018	Esse estudo
Taxa mínima de atratividade (a.a.)	12%	Bonomi et al. (2016)
Horizonte de tempo do projeto (anos)	25	Bonomi et al. (2016)
Taxa de depreciação linear (a.a.)	10%	Bonomi et al. (2016)
Custo de manutenção anual (%CAPEX)	3%	Bonomi et al. (2016)
Custo da enzima (US\$/kg proteína)	4,24	Humbird et al. (2011)
Preço NaOH (R\$/kg)	2,01	ComexStat (2018)
Preço sulfito (R\$/kg)	1,76	ComexStat (2018)
Capital de giro (% investimento capital fixo)	10%	Bonomi et al. (2016)
Custo médio por trabalhador, c/encargos (R\$/mês)	4634	BVC (2018)
Número de trabalhadores 1G2G	301	BVC (2018)
Custo de outros insumos 1G (R\$/TC convencional)	2,56	BVC (2018)
Taxa de câmbio (R\$/US\$)	3,79	BVC (2018)
Alíquota IRPJ+CSLL	34%	Bonomi et al. 2016
Custo do colmo (R\$/TC)	79,48	BVC (2018)
Custo da palha (R\$/tbs)	60,77	BVC (2018)

Fonte: Elaboração própria

No presente trabalho, foram calculados os custos de produção de etanol 1G, 2G e 1G2G. Estes, além dos custos com investimentos, foram os principais resultados econômicos para comparação dos cenários avaliados. Também foram calculados os indicadores para definir a viabilidade dos cenários de biorrefinarias, sendo utilizados a taxa interna de retorno (TIR) e o valor presente líquido (VPL).

O custo de produção é composto por dois componentes principais: custos operacionais (OPEX) e de capital (CAPEX). Os custos operacionais estão associados às

despesas anuais com matéria-prima, manutenção, trabalho, insumos químicos, entre outros, enquanto nos custos de capital estão todos os equipamentos pertencentes às etapas do processo e instalações auxiliares requeridas. Para compor o custo de produção, este foi calculado com base no pagamento anual que seria necessário remunerar o investimento total a uma taxa de juros de 12% ao ano, assumida ao longo do tempo de projeto (JUNQUEIRA et al., 2017).

Como a biorrefinaria produz mais de um produto, foi aplicado um critério de alocação para custos operacionais e de capital. O custo de produção de etanol foi calculado considerando a alocação de custos anuais globais (custos operacionais e de capital) entre etanol e eletricidade com base na participação nas receitas. Nos cenários integrados 1G2G, foi realizado um passo de alocação adicional entre o etanol 1G e 2G, com base na participação na produção (WATANABE et al., 2016). Neste caso, considerou-se que o etanol 1G tem o mesmo custo nos cenários 1G e 1G2G. Portanto, todos os custos adicionais foram atribuídos ao etanol 2G.

Foi realizada a análise de sensibilidade paramétrica com o preço de sulfito e de lignossulfonato, com objetivo de avaliar a influência na taxa interna de retorno. Os preços utilizados foram os valores de importação e exportação fornecido pelo Comexstat (COMEXSTAT, 2018).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar antes e após o pré-tratamento

Procedeu-se à caracterização composicional do bagaço de cana-de-açúcar antes e após o pré-tratamento com sulfito alcalino, sendo o resultado apresentado na Tabela 6.

Como pode ser observado na Tabela 6, no bagaço antes do pré-tratamento a fração hemicelulósica (xilana+arabinosil+Acetil) correspondeu a 26,3%, enquanto a celulose (glucana) correspondeu à maior parte do material, representando 39,0% do total. As diferenças apresentadas nos teores dos componentes principais podem ser atribuídas a diversos fatores específicos do próprio vegetal. Ernesto (2009), por exemplo, mencionou que características como variedade do vegetal, irrigação do solo, clima do local e tempo decorrido após a última colheita são alguns dos fatores determinantes na composição química do material. Além disso, Santos et al. (2012) relataram que o tempo de estocagem, assim como altos teores de umidade na amostra, podem interferir nessas características químicas e, por isso, é interessante a utilização do bagaço imediatamente após sua produção, para evitar longos períodos de armazenamento e possíveis alterações. A fim de evitar problemas relacionados ao armazenamento, é ideal que o bagaço esteja com valores de umidade baixos. Para a realização deste trabalho, a amostra foi previamente seca, apresentando umidade de 9,0%.

Tabela 6 - Caracterização química do bagaço antes e após a etapa de pré-tratamento (média $\pm$ desvio padrão)

Componentes	Composição (% mássica) – base seca	
	Antes do pré-tratamento	Após o pré-tratamento
Extrativos	6,4 $\pm$ 1,1	0,0 $\pm$ 0,0
Lignina Total	23,8 $\pm$ 1,2	12,9 $\pm$ 0,5
Glucana	39,4 $\pm$ 0,5	51,0 $\pm$ 1,4
Xilana	22,1 $\pm$ 0,5	24,7 $\pm$ 1,0
Arabinosil	0,7 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,3
Cinzas	3,7 $\pm$ 1,0	1,7 $\pm$ 0,03
Acetil	3,5 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1
Total	99,6 $\pm$ 4,5	93,4 $\pm$ 3,43

Fonte: Elaboração Própria

Com relação ao material pré-tratado, considerando-se a massa total de sólidos recuperada, o rendimento foi de 76,0%. Com base nos resultados apresentados na Tabela 6, verificou-se que o teor de glucana no bagaço passou de 39,4% para 51,0%, enquanto o teor de lignina reduziu de 23,8% para 12,9%, indicando a eficácia do pré-tratamento sulfito alcalino utilizado na alteração da composição química do bagaço. De fato, o pré-tratamento altera a estrutura complexa dos materiais lignocelulósicos, permitindo melhor ação enzimática na etapa de hidrólise. Isso ocorre, por exemplo, pela redução do teor de lignina, que no material lignocelulósico é o componente responsável pela rigidez da parede celular, dificultando o acesso das enzimas ao substrato (JORGENSEN, et al. 2007, CHEN et al., 2015).

No estudo reportado por Friend (2013), no qual se relatou a influência da concentração dos reagentes no pré-tratamento sulfito alcalino utilizando diferentes cargas de sulfito (5%, 7,5% e 10% m/m) e de hidróxido de sódio (2,5%, 3,75% e 5% m/m), os autores observaram que, conforme se empregou uma maior concentração de reagentes, observou-se maior remoção de lignina e de hemicelulose, favorecendo a hidrólise enzimática. A maior remoção de lignina facilita o acesso das enzimas ao substrato, sendo que, nesse caso, o efeito da sulfonação foi essencial para maiores conversões, pois a lignina residual após a sulfonação torna-se mais hidrofílica e isso reduz as interações desta com as enzimas.

Com base nos dados da Tabela 6, pode-se calcular que, durante o pré-tratamento, houve remoção de 58,7% da lignina presente inicialmente no bagaço. Com relação às frações carboidratos do material, observou-se uma remoção de 0,62% e 15,1%, respectivamente, da glucana e xilana presentes inicialmente no bagaço. Com base nesses resultados, pode-se concluir que o pré-tratamento sulfito alcalino é uma alternativa interessante, uma vez que remove principalmente a lignina, o que favorece o processo de hidrólise.

5.1.2 Hidrólise enzimática do material pré-tratado em frascos Erlenmeyer

Com o bagaço pré-tratado refinado e não refinado, realizaram-se hidrólises enzimáticas em frascos Erlenmeyer por 72h a 50°C e 150 rpm, em um agitador orbital. Os resultados de concentração de glicose e xilose ao longo das 72 h são apresentados na Figura 17.

Conforme pode ser observado na Figura 17a, após 72 h de hidrólise, a concentração de glicose foi de $54,65 \pm 1,87$ g/L, g/L (média $\pm$ desvio padrão) e $55,39 \pm 0,25$ de

respectivamente, para os bagaços pré-tratados submetidos ou não ao refino. Estas concentrações corresponderam, respectivamente, ao rendimento de hidrólise da glucana de 96,55% e 97,86%. Os dados da Figura 17b, por sua vez, mostram que, após 72h de hidrólise, a concentração de xilose foi de $26,2 \pm 1,82$ g/L e $27,00 \pm 1,30$ g/L, correspondendo, respectivamente, a um rendimento de hidrólise da xilana de 93,57% e 96,42 % , para os materiais submetidos ou não ao refino.

Conforme mostrado, o comportamento da hidrólise do bagaço pré-tratado refinado apresentou resultados similares aos observados com o material não refinado, obtendo-se valores semelhantes de concentração de glicose e xilose e de rendimentos de hidrólise para ambos os casos.

Conforme discutido na seção 5.1.1, no pré-tratamento sulfito alcalino a remoção de glucana e xilana foi de cerca de 0,62% e 15,1% respectivamente, em relação as quantidade presentes inicialmente no bagaço, enquanto a da lignina foi de 58,7%, o que diminuiu a recalcitrância do material e consequentemente aumentou a acessibilidade da enzima ao substrato (glucana e xilana). Como quase toda a hemicelulose permanece no material e como as preparações comerciais de celulasas possuem também xilanases, ocorre liberação de xilose durante a hidrólise.

Com relação à liberação de açúcares ao longo do tempo de hidrólise, a Figura 17a mostra que, de uma forma geral, houve uma elevada liberação de glicose no início da hidrólise, atingindo-se, nas doze primeiras horas de processo, pelo menos 35,8% do total liberado em 72h. Comportamento similar foi observado no caso da hidrólise da xilana (Figura 17b), obtendo-se nas doze primeiras horas de reação de hidrólise pelo menos 44% do total de xilose liberado em 72h.

Figura 16 - Concentrações de glicose (A) e xilose (B) obtidas no meio líquido durante a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado refinado e não refinado com 2 horas de cozimento em sulfito alcalino empregando carga de celulase de 5 FPU/g bagaço

Fonte: Elaboração Própria

Os fatores que podem contribuir com a diminuição da taxa de reação ao longo do processo incluem a cristalinidade da celulose, grau de polimerização e inibição por produto (ANGARITA et al., 2015; CHANDEL et al., 2014). Por exemplo, elevadas taxas iniciais de

hidrólise da celulose foram observadas também por Siqueira et al. (2013). Estes autores, trabalhando com bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com clorito de sódio e ácido acético, observaram taxa de hidrólise elevada nas primeiras 4 h, sendo que conversão de celulose em glicose considerável foi alcançada dentro de 8h de hidrólise. Esta observação pode ser explicada devido um aumento na recalcitrância do material residual. As frações facilmente hidrolisáveis são digeridas primeiro pelas celulasas, enquanto a celulose restante é menos acessível às enzimas. O estudo também mostrou que a remoção de lignina afetou a taxa inicial de hidrólise, sendo que a remoção de 63% da lignina do bagaço de cana aumentou em quatro vezes a taxa inicial de hidrólise da celulose. Foi considerada, através da correlação entre a remoção de lignina e a eficiência da hidrólise enzimática, a quantidade de lignina que deveria ser removida para atingir o nível de hidrólise desejado. Observou-se no trabalho daqueles autores que a remoção de aproximadamente 60% da lignina pode resultar em um aumento considerável na conversão da celulose, alcançando 80% de conversão após 72 h de hidrólise.

5.1.3 Hidrólise enzimática em coluna com leito fixo

O processo de hidrólise enzimática das frações carboidrato do bagaço não refinado foi avaliado em biorreator de coluna. O reator foi operado a 50°C por 72 horas, utilizando-se uma carga inicial de sólidos de 14%. Os dados de concentração de glicose e xilose obtidas ao longo das 72 h são apresentados na Figura 18.

Não foi realizado nenhum experimento empregando bagaço pré-tratado refinado, uma vez que sua granulometria fina resultaria em perda de carga muito elevada, resultando em problemas práticos de entupimento e desconexão de mangueiras, como verificado em testes preliminares. Para este caso, outras configurações de reator ou processo parecem mais indicadas, como o uso de um sistema de coluna de bolhas em processo SSF/SSCF.

Como pode ser observado na Figura 18, após 72 h de hidrólise a concentração de glicose foi de $64,6 \pm 0,45$ g/L, enquanto que a de xilose foi de $37,51 \pm 1,23$ g/L. Durante a hidrólise enzimática, o perfil de açúcares liberado ao longo do tempo foi similar ao que ocorreu em frascos Erlenmeyer, sendo que, de uma forma geral, houve uma elevada liberação de glicose e xilose no início da hidrólise, atingindo-se, nas quatro primeiras horas de processo, pelo menos 48,15% do total de glicose liberado em 72h. Foi observado, no caso da hidrólise da xilose, que se obteve nas quatro primeiras horas de reação de hidrólise pelo menos 61% do total de xilose liberado em 72h.

Figura 17. Concentração de glicose e xilose obtida no meio líquido durante a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado não refinado em reator de coluna, empregando carga enzimática de celulases de 10 FPU/g bagaço (massa seca). Tempo de reação: 72h.

Fonte: Elaboração Própria

Como se pode observar pela comparação das Figuras 17 e 18, houve rendimentos próximos de hidrólise da xilana e glucana quando se empregou o reator de coluna, no qual havia maior teor inicial de sólidos, em comparação ao obtido com os frascos Erlenmeyer. Enquanto nos frascos Erlenmeyer houve hidrólise de 96,55% da glucana e 93,57% da xilana no material obtido com refino e 97,86% da glucana e 96,42% no material obtido sem refino, em 72 h de processo no reator estes valores foram, respectivamente, de 81,46% e 95,26%.

De fato, quando se utiliza razão sólido:líquido maior que 10% no reator de hidrólise, alguns inconvenientes têm sido reportados como a baixa disponibilidade de água para o processo de transferência de massa e a inibição pelo acúmulo de elevada concentração de produtos de hidrólise, como celobiose e glicose. No presente trabalho, obteve-se 0,54 g/L de celobiose no início do processo de hidrólise e 5,3 g/L ao final de 72h.

A inibição por produto tem sido relatada por diferentes autores. Por exemplo, Hsieh et al. (2014) reportaram a inibição da atividade enzimática por diferentes monômeros de açúcares a diferentes concentrações durante a hidrólise enzimática de celulose a 5% de Avicel® realizada por 96h. Nesse trabalho, quando a concentração de glicose no meio

reacional aumentou de 9 g/L (50 mM) para 36 g/L (200 mM), a quantidade de açúcar liberado diminuiu em aproximadamente 34%; esta redução foi ainda maior (57%) quando a concentração de glicose no meio foi de 99 g/L (550 mM). Além disso, baixos rendimentos de hidrólise enzimática também podem ser atribuídos a uma adsorção não produtiva da enzima sobre a fração de lignina, o que requer um aumento da carga enzimática para atingir rendimentos elevados de hidrólise (TERÁN HILARES et al., 2018). Esta adsorção, no entanto, deve ter sido mitigada pela presença de grupamentos sulfônicos na superfície do material pré-tratado, embora experimentos com adição de surfactantes poderiam ser úteis para reduzir ainda mais a ocorrência da adsorção indesejável.

A celobiose é a unidade estrutural das moléculas de celulose e produto obtido por enzimas do complexo celulolítico como a exoglucanase. A celobiose pode inibir fortemente a reação de hidrólise catalisada pela celulase, embora não tenha efeito sobre a adsorção das enzimas na superfície da celulose. Estudo de Yue et al. (2004) reporta dados experimentais dos espectros de FT-IR, espectro de fluorescência e dicroísmo circular que sugeriram que a celobiose pode ser combinada com o resíduo triptofano localizado perto do sítio ativo da celobiohidrolase e então resultar em impedimento estérico à ação das celulases.

5.2 Simulação e avaliação de viabilidade econômica

5.2.1 Síntese da hierarquia 2G e integração na simulação 1G2G

No desenvolvimento da hierarquia 2G foram simuladas as etapas de pré-tratamento sulfito alcalino com 5% de NaOH e 10% de Na₂SO₃, a hidrólise enzimática com tempo de reação a de 72h, simulando-se também as etapas de filtração e co-fermentação de pentoses com hexoses (C5 e C6) e sendo considerados 4 cenários, tendo-se como objetivo avaliar a integração da produção de lignossulfonatos à biorrefinaria. A Figura 19 mostra o fluxograma de simulação sintetizado para a hierarquia 2G para ambos os cenários propostos. As etapas de pré-tratamento e hidrólise enzimática foram divididas em seções. As correntes que representam a seção de pré-tratamento são representadas com as iniciais PT e de hidrólise enzimática EH.

O bagaço pré-tratado (PT-BAG) foi filtrado, separando-se, da fração sólida (PT-BAG2), o licor rico em lignina sulfonada, o qual teve dois destinos diferentes: nos cenários sem produção de Lignossulfonato o licor foi direcionado para estação de tratamento de efluentes, enquanto nos cenários com produção foi direcionado para a hierarquia

LIGNOSUL (Figura 19). A corrente PT-BAG-2 foi misturada com mais duas correntes, de água e enzima, e alimentada no reator de hidrólise (EH-RCT). Após a hidrólise enzimática no reator EH-RCT-1, a fração sólida 2G-CLG (celulignina) foi separada no filtro do licor hidrolisado C6 e C5 (EH-FLT-1), sendo que a fração C5 é fermentada junto com a fração C6 dentro da Hierarquia 2G na hierarquia C5C6FERM, onde ocorre a concentração e fermentação. A celulignina residual teve dois destinos diferentes: nos cenários com produção de lignosulfonato, foi utilizada na hierarquia LIGNOSUL, enquanto nos cenários sem produção, foi queimada com uma parte do bagaço e da palha no sistema de cogeração (CHP).

A hierarquia C5C6-FERM (Figura 19) está dentro da hierarquia 2G. Nela, estão as etapas de concentração e fermentação do Licor C5 e licor C6. O vinho (C56-WINE) produzido nesta seção foi encaminhado para a hierarquia ETHANOL, onde foi destilado, sendo que, posteriormente, o etanol hidratado foi desidratado para produção de etanol anidro.

Os balanços de energia foram então obtidos com auxílio do software Aspen Plus V8.0. A simulação foi considerada finalizada quando foi obtida a convergência de entrada e saída, resultando assim nos balanços desejados (GUBICZA et al., 2016). É importante ressaltar que a integração entre os fluxogramas exigiu uma série de adaptações na biorrefinaria simulada para que houvesse convergência no simulador, que é tipo sequencial-modular. Na biorrefinaria de cana-de-açúcar produz-se a própria energia (térmica e elétrica) necessária para atender a demanda do processo e, sendo as frações lignocelulósicas ao mesmo tempo combustível para produção de energia e matéria-prima para produção de etanol de segunda geração, a convergência apenas é obtida quando o vapor produzido a partir da queima deste combustível atender à demanda de vapor necessária para o processo, que por sua vez depende da quantidade de material lignocelulósico destinado para as unidades de pré-tratamento e hidrólise (DIAS et al., 2013). Vale ressaltar que, com a integração do processo 2G, a produção de eletricidade é reduzida expressivamente, pois todo o material disponível (aquele que excede o necessário para suprir o vapor de todo o processo) é destinado ao processo 2G, em vez de ser utilizado como combustível.

Figura 18 - Fluxograma de processo (flowsheet) sintetizado para hierarquia 2G em todos os cenários propostos

Fonte: Elaboração Própria

5.2.2 Síntese da hierarquia LIGNOSUL e integração na simulação 1G2G

Na Hierarquia Lignosul ocorreram as etapas de sulfonação e de concentração da solução de Lignossulfonato. A reação entre a lignina da corrente 2G-CLG e o sulfito da corrente Licor (Figura 20) no reator (LG-RCT) ocorreu a 150 °C por 3h. Após esta etapa, a solução foi filtrada (LG-FLT), a amostra sólida LIG-INS, constituída principalmente de lignina insolúvel, foi queimada no sistema de cogeração (CHP) e a solução líquida de Lignossulfonato (LIG-SULF) foi concentrada por evaporação de múltiplos efeitos (Figura 20) até que a solução obtivesse uma concentração de 30-35% de Lignossulfonato.

Figura 19 - Fluxograma da simulação da hierarquia Lignosul, usada para produção de lignossulfonatos

Fonte: Elaboração Própria

5.2.3 Produção de etanol, eletricidade e lignossulfonato nos cenários avaliados

Os resultados da produção de etanol, de eletricidade excedente e de lignossulfonato obtidos por meio do processo de simulação de cada cenário estão apresentados na Tabela 7. Conforme mostrado, nos cenários avaliados, o rendimento de produção de etanol anidro variou de 96,72 a 105,77 L/TC e o excedente de eletricidade variou de 75,46 a 99,50 kWh/TC.

Analisando cada condição, pode-se observar que houve uma diminuição de 8,48 L/TC na produção de etanol entre os cenários I e III e 10,66 L/TC entre os cenários II e IV, respectivamente, quando houve a inclusão da produção de lignossulfonato. Isso aconteceu concomitantemente ao aumento da produção de eletricidade excedente conforme inclui-se a produção de lignossulfonato. De fato, há maior consumo de energia no processo quando há produção de lignossulfonato e, com isso, há uma menor quantidade de bagaço excedente para etapa 2G e consequentemente ocorre uma maior queima para produção de eletricidade. Ao comparar os cenários I e III percebe-se que houve um aumento de 14,84 kWh/TC na produção de eletricidade excedente quando se incluiu a produção de lignossulfonato. O mesmo aconteceu entre os cenários II e IV, nos quais houve um aumento de 24,04 kWh/TC quando se incluiu a produção de lignossulfonato. Essa informação é confirmada ao observar a porcentagem de bagaço destinado à produção de etanol, sendo que, nos cenários com a produção de lignossulfonato (III e IV), esta foi menor em comparação aos cenários sem produção (I e II).

Pode-se notar também ao analisar a Tabela 7, que entre os cenários I e II, aquele com 14% de teor de sólidos no reator de hidrólise resultou em uma maior quantidade de etanol em relação aquele com 10 % de sólidos (Cenário I). Isto pode ser explicado pela maior quantidade de polissacarídeos disponível quando se processa maior teor de sólidos no reator, pois há um aumento na quantidade de açúcares hidrolisados, levando assim a um aumento na quantidade final de etanol (MODENBACH; NOKES, 2012).

No cenário III, com 10 % de sólidos no reator de hidrólise, observou-se que houve menor produção de lignossulfonato e maior produção de etanol, o oposto acontecendo no cenário IV, no qual a produção de lignossulfonato foi maior. Neste caso, houve maior consumo de energia/vapor no processo, o que ocasionou um maior direcionamento de bagaço para unidade CHP e consequentemente menor produção de etanol e maior quantidade de eletricidade excedente.

Tabela 7 - Produtos da biorrefinaria em cada um dos cenários avaliados e percentual de bagaço excedente da cogeração de energia enviado para produção de etanol 2G e lignossulfonato.

Cenários	Teor de Sólidos no reator de leito fixo	Produção de Lignossulfonato	Bagaço Excedente (%)	Elettricidade Excedente (KWh/TC*)	Etanol Anidro (L/TC*)	Solução de Lignossulfonato (kg/TC*)
I	10%	Não	53	82,96	105,77	0
II	14%	Não	65	75,46	107,38	0
III	10%	Sim	37	97,80	96,72	15,40
IV	14 %	Sim	34	99,50	97,29	17,24

*Tonelada métrica de colmo de cana-de-açúcar

Fonte: Elaboração própria

5.2.4 Análise da viabilidade econômica dos cenários propostos

A análise econômica dos diferentes cenários propostos foi realizada através dos dados de balanço de massa e energia obtidos a partir dos resultados das simulações.

Inicialmente, fez-se uma avaliação dos custos de investimento (CAPEX). Para fins de comparação, os investimentos foram divididos em dois setores: 1G e 2G. O primeiro setor (1G) agrega as áreas de processamento geralmente encontradas nas usinas convencionais de etanol de primeira geração como a recepção de cana-de-açúcar, extração e tratamento do caldo, fermentação, destilação e unidade de CHP, além da infraestrutura administrativa e de engenharia, entre outras. Estão incluídos os custos de investimento das áreas comuns usadas tanto para produção do etanol 1G quanto 2G; ou seja, as hierarquias consideradas foram: PREP-EXT, CHP e ETHANOL. Já a parte considerada do etanol 2G engloba apenas as áreas específicas desse processo, como a hidrólise enzimática, pré-tratamento, filtração e concentração, além da produção de lignossulfonato.

Vale ressaltar que nas análises foram considerados os custos de todo o processo e matérias para a instalação industrial, sendo apresentados assim, na Figura 21 os investimentos totais (1G2G) e por setor (1G e 2G). Na Tabela 8 é apresentado o custo de investimento para cada etapa no processo de produção de etanol 1G e para cada cenário avaliado. Na Tabela 9 são apresentados, individualmente, os custos de investimento necessários para a produção de etanol 2G.

A Figura 21 apresenta os custos de investimento industrial total (1G2G) e por setores (1G e 2G) estimados para cada cenário avaliado. A biorrefinaria 1G requereu investimento de R\$ 785,50 milhões, enquanto os cenários integrados 1G2G apresentaram valores cerca de 17% a 30% superiores. De fato, segundo o IEA (2010), as plantas de biocombustíveis de primeira geração são menos onerosas em capital em relação às biorrefinarias de segunda geração.

Figura 20 - Custos de investimento industrial total (1G2G) e por setor (1G e 2G) estimados para cada cenário avaliado

Fonte: Elaboração Própria

Comparando as condições que diferenciam os cenários, pode -se observar que o uso de 14% de teor de sólidos (Cenários II e II) resultou em custo de investimento totais (1G2G) relativamente próximo aos obtidos com 10% de sólidos (Cenários III e IV). Observando este fato e os investimentos do setor 2G apresentados na Tabela 9, percebe-se que, considerando o CAPEX, operar com maior teor de sólidos em modelos de biorrefinaria integrada não resulta em grandes variações no investimento de capital.

Ao serem comparados os custos de investimento para biorrefinaria 1G2G, houve pouca diferença entre cada cenário proposto (Figura 21). O cenário III, sem produção de lignossulfonato e com 14% de sólidos no reator de hidrólise enzimática, foi o que apresentou maior custo total de investimento (R\$ 1025,35 milhões) e o cenário IV, com produção de lignossulfonato e 14% de sólidos, foi o que apresentou menor custo total de investimento (R\$ 925,16 milhões). Ao analisar a Tabela 9 é possível observar os fatores responsáveis por essa diferença de valores, os quais incluem as etapas de pré-tratamento, hidrólise enzimática e fermentação de C5. Esse fato ocorre porque, nos cenários com produção de lignossulfonato, menor quantidade de biomassa estava sendo processado para etanol. Conforme discutido na seção 2.4.3, nos cenários que apresentam produção de lignossulfonato foi necessário o uso de maior quantidade de vapor para realizar sua concentração. Desta forma, quando se considerou a produção de lignossulfonato, menor

vazão mássica de alimentação foi recebida nas etapas de pré tratamento, hidrólise enzimática e respectivas filtrações, acarretando menor custo de investimento.

Smullen et al. (2017) também relatou que a etapa de pré-tratamento e geração de vapor representam parcelas significativas dos custos de investimento; segundo sua pesquisa, esta etapa representa 20% dos custos totais de produção em processos de conversão de biomassa, sendo considerado o estágio mais dispendioso.

Pode-se observar também que os custos de investimento do setor 1G nos cenários 1G2G apresenta uma diferença importante em comparação com a biorrefinaria exclusivamente 1G. Ao observar a Tabela 8, percebe-se que essa diferença está ligada principalmente ao custo e geração e distribuição de vapor e energia, que no cenário exclusivo 1G apresenta um custo de R\$225,07 milhões e R\$ 122,28 milhões respectivamente, enquanto nos cenários 1G2G propostos o custo de geração e distribuição de vapor variou de R\$ 165,24 a R\$ 189,77 milhões e o de energia variou de R\$70,69 a R\$80,79 milhões. Essas diferenças podem ser explicadas considerando que na produção de bioetanol de primeira geração todo bagaço e palha disponíveis foram utilizados como combustível em caldeiras, produzindo vapor de alta pressão. O vapor é alimentado em turbinas a vapor de extração-condensação, nas quais reduz-se a pressão do vapor para suprir as necessidades térmicas do processo, bem como se produz energia elétrica enquanto o excesso de vapor é condensado. Quando o bioetanol de segunda geração é produzido, o excesso de bagaço e palha é usado como matéria-prima nos processos de pré-tratamento e hidrólise, e neste caso o processo determina a quantidade de vapor que é produzida nas caldeiras; assim, turbinas a vapor de contrapressão (sem condensação) são empregadas e, como há maior vazão de bagaço excedente no processo, necessita-se de maior estrutura de edifícios e mais/maiores equipamentos, com maior geração de vapor/eletricidade, aumentando seu custo e elevando o investimento requerido.

Tabela 8 - Custos de investimento em milhões R\$ para cada etapa do setor 1G

Etapas 1G (CAPEX milhões R\$)	Cenários				
	<i>Hidrólise com 10% de sólidos</i>		<i>Hidrólise com 14% de sólidos</i>		<i>Cana 1G</i>
	I Sem lignossulfonato	II Com Lignossulfonato	III Sem lignossulfonato	IV Com Lignossulfonato	
Edifícios auxiliares, urbanização e gerais (eng, seg, etc)	133,37	123,70	134,91	121,73	103,35
Recepção e preparo de cana	27,28	27,28	27,28	27,28	27,28
Extração de caldo	57,20	57,20	57,20	57,20	57,20
Tratamento do caldo	32,79	32,80	32,79	32,80	32,80
Concentração do caldo (1G - açúcar e etanol)	9,95	9,97	9,95	9,95	9,92
Fermentação (C12/C6)	50,98	50,98	50,99	51,00	51,05
Produção de etanol	136,35	125,43	138,44	124,70	104,53
Geração e distribuição de vapor	172,07	189,77	165,24	188,93	225,07
Geração e distribuição de energia elétrica	73,02	80,79	70,69	79,20	122,28
Sistema de água e ar comprimido	65,80	61,24	68,67	62,17	52,01
Subtotal	758,83	759,16	756,17	754,97	785,50

Fonte: Elaboração Própria

Tabela 9 - Investimentos estimados para cada etapa de produção de etanol 2G em cada cenário avaliado

Cenários*	Produção de lignossulfonato	Etapas 2G (CAPEX milhões R\$)							TOTAL
		Pré-tratamento (com refinador) + tanques insumos	Hidrólise enzimática	Separação S/L* hidrolisado (licor C6)	Evaporação do licor C5	Separação S/L* do pré-tratado (licor C5)	Tratamento do licor Negro	Fermentação do licor C5	
Hidrólise com 10% de sólidos									
I	-	41,37	90,48	8,67	10,55	31,39	28,07	44,27	254,80
II	20,82	28,07	58,81	7,49	6,64	28,07	-	34,42	180,98
Hidrólise com 14% de sólidos									
III	-	49,71	76,91	15,51	5,53	35,38	32,72	53,42	263,18
IV	23,49	30,69	45,24	8,93	4,40	25,81	-	31,62	170,19

***Sólido/Líquido**

Fonte: Elaboração Própria

Além dos custos de capital, foram avaliados nesse trabalho os custos operacionais (OPEX), tais como despesas com manutenção, matéria-prima, enzimas, mão-de-obra, dentre outras. Esses custos são adicionados aos investimentos e alocados entre os produtos da biorrefinaria para determinar o custo de produção de etanol. Os custos de produção de etanol foram calculados com base no procedimento de alocação detalhado em Bonomi et al. (2016). Em primeiro lugar, um cenário separado de uma biorrefinaria 1G cujos principais produtos são etanol 1G e bioeletricidade é avaliado. Esse processo 1G é simulado para representar o cenário 1G2G antes da introdução do processo 2G. Todas as despesas operacionais e de capital da planta 1G são então alocadas de acordo com a participação do etanol e da eletricidade nas receitas totais.

A Figura 22 apresenta o custo total de produção global de etanol (1G2G), do etanol de primeira geração (1G) e do etanol de segunda geração (2G), enquanto a Figura 23 apresenta a distribuição dos custos de produção de etanol por área para cada cenário.

Para todos os cenários, o custo de produção do etanol de primeira geração foi de R\$1,46. Com relação aos custos do etanol 2G, esses variaram de R\$1,75 a R\$2,58 (Figura 21). Quando foi considerada a produção global de etanol da biorrefinaria, verificou-se que o menor valor (R\$ 1,75) foi observado para os cenários com produção de lignossulfonato (Cenários III e IV). Os cenários sem produção de lignossulfonato (I e II) apresentaram valores de custo de etanol 2G de R\$2,58 e R\$2,43 respectivamente. Em um trabalho anterior, Mendes et al. (2018) ao considerar o mesmo pré-tratamento e tempo de hidrólise que no presente trabalho, alcançou variação de US\$ 0,889 a US\$ 3,461 (equivalentes a R\$2,98 e R\$11,60, respectivamente, considerando a taxa de câmbio R \$ 3,35 (dezembro de 2016) por litro de etanol 2G utilizando como matéria prima híbridos de cana-de-açúcar, e ao fazerem uma decomposição dos custos de etanol 1G2G, perceberam que os produtos químicos de cana-de-açúcar e pré-tratamento apresentaram contribuições significativas e variáveis para os custos totais do processo. Observaram que os custos de produtos químicos de pré-tratamento, especialmente Na_2SO_3 , foram significativos nos custos totais do processo nesse tipo de pré- tratamento utilizado. Assim, nos cenários III e IV do presente trabalho, o custo deste insumo foi amenizado com a venda de lignossulfonato.

Para identificação das áreas mais expressivas quando se analisa o custo de produção de forma global, a Figura 23 apresenta a distribuição por área do custo de etanol 1G2G em cada cenário. Como mostrado, as áreas com maior participação no custo de produção de

etanol 1G2G foram o custo com capital de 12 % a.a e o custo com Na_2SO_3 . O custo de capital 12% é elevado porque está relacionado com a infraestrutura e equipamentos utilizados no processo; já no caso do insumo Na_2SO_3 , este tem preço elevado, promovendo uma grande influência no custo de todos cenários. Bonomi et al. (2016) avaliaram cenários brasileiros de produção de etanol 1G2G e mostraram, por meio da alocação, que o custo de capital foi o principal elemento, representando de 35 a 40% dos custos totais; porém, quando ocorre a produção com de lignossulfonato, este custo pode ser amenizado devido à venda deste produto.

Figura 21 - Custo total de produção global do etanol 1G2G, do etanol de primeira geração (1G) e do etanol de segunda geração (2G)

Fonte: Elaboração Própria

Figura 22 - Distribuição dos custos de produção de etanol por área para cada cenário

Fonte: Elaboração Própria

5.2.5 Taxa interna de retorno (TIR) e o Valor presente líquido (VPL) dos cenários avaliados

A TIR e o VPL são parâmetros econômicos utilizados por um investidor para determinar a viabilidade de um projeto. A análise feita pelo investidor para definir a viabilidade do projeto é a comparação da TIR com a taxa mínima de atratividade (TMA), a qual corresponde ao valor assumido como mínimo aceitável para a realização de um investimento em um dado setor. Caso a TIR seja maior que a TMA, o projeto é considerado adequado para investimento. Para TIR igual à TMA é indiferente investir e, caso seja menor, o investimento deve ser recusado. Há uma relação entre a TIR e o VPL, sendo este maior que zero quando a TIR for maior que a TMA.

A TMA considerada no presente estudo foi 12%; desta forma, observa-se que os cenários propostos em que houve a produção de lignossulfonato, a TIR ficou acima da TMA e os cenários que apresentaram valores inferiores a 12% são os que não produziram lignossulfonato (Figura 24). Os cenários com 10% de sólidos e 14 % de sólidos em que houve apenas a produção de etanol 1G2G e eletricidade excedente apresentaram TIR de 11,17% e 10,40%, respectivamente, estando inviáveis economicamente; porém, ao integrar-se a produção de lignossulfonatos no processo, os valores da TIR aumentaram para 14,49% para o cenário com 14% de sólidos e 14,37% para o cenário com 10 % de sólidos (Figura 24).

Figura 23 - Taxa interna de retorno (TIR) e valor presente líquido (VPL) para os cenários avaliados

Fonte: Elaboração Própria

Os dados obtidos demonstram o sucesso da estratégia de incluir a produção de lignossulfonato em uma biorrefinaria 1G2G com pré-tratamento sulfito alcalino da biomassa. De fato, em um trabalho anterior, Mendes et al. (2018) realizaram um estudo com híbridos de cana-de-açúcar, sendo o pré-tratamento sulfito alcalino empregado na biomassa para produção de etanol de segunda geração integrada a uma biorrefinaria de primeira geração. Foi realizado no trabalho uma simulação do processo pelo programa Aspen Plus e a análise econômica. Foram avaliados 32 cenários de biorrefinaria, divergindo entre si em relação à condição de pré-tratamento (alta ou baixa severidade), o tempo de hidrólise (24 e 72h) e o destino das pentoses (fermentação a etanol ou descarte). Os resultados indicaram que, independentemente do híbrido de cana-de-açúcar, os maiores níveis de produção de etanol foram obtidos nos cenários de pré tratamento severo (10% $\text{Na}_2\text{SO}_3/\text{NaOH}$ empregando-se a proporção de 10% m/m e 5% m/m de cada reagente). O maior nível de produção de etanol entre todos os híbridos foi obtido quando, além da condição severa, a hidrólise enzimática foi realizada em um maior período (72h), havendo a fermentação C5/C6 (sendo essas as condições utilizadas por no presente trabalho). No entanto, como mostrado no trabalho dos autores, apesar do aumento da produção de etanol pela integração de biorrefinarias 1G2G, a análise técnico-econômica do processo indicou valores de TIR menores que a TMA (12%).

Sendo assim, no presente estudo pode-se apontar uma solução para o principal empecilho econômico indicado por Mendes et al. (2018) para esta biorrefinaria e revela-se a importância da produção de lignossulfonato no processo, pois, com a venda deste produto, o impacto negativo do insumo sulfito no custo do processo de produção de etanol 1G2G diminuiu.

Procedeu-se também a um estudo de sensibilidade do cenário com maior TIR (pré-tratamento sulfito alcalino com 14% de sólidos no reator de hidrólise enzimática) para avaliar a influência do preço de venda do lignossulfonato (Figura 25 A) e do custo do insumo sulfito (Figura 25 B) na TIR. A influência do NaOH na TIR foi menor que 0,1% e, por este motivo, este reagente não foi considerado na análise de sensibilidade paramétrica. Os valores mínimo e máximo do preço do sulfito e do lignossulfonato considerados referem-se ao mercado de importação e exportação e foram baseados em preços do Comexstat (Comexstat, 2018).

Na Figura 25B observa-se que, com o aumento do preço de venda do lignossulfonato de R\$ 1,16 até R\$4,10, há o aumento na TIR de 14% a 21%. Por outro lado, como apresentado na Figura 25A, com o aumento do preço de sulfito de R\$ 1,75 a R\$7,71, ocorre a diminuição da TIR de 14% a 11%, o que evidencia a grande influência do preço do sulfito e do lignossulfonato no desempenho econômico do processo. Ao comparar esse resultado com Mendes et al. (2018), no melhor cenário reportado pelos autores, ou seja, com o pré-tratamento severo, hidrólise enzimática com um tempo de 72 horas e fermentação de C5/C6, a viabilidade do processo só seria alcançada se o preço do Na_2SO_3 se aproximasse de US \$ 0,34 / kg.

Esses resultados mostram que a valorização da lignina com a produção de lignossulfonato é uma opção interessante e promissora para viabilizar projetos de biorrefinarias. Através deste estudo foi possível perceber que, caso haja um investidor interessado em uma usina produtora de etanol 1G2G similar à simulada neste trabalho, a venda de lignossulfonato torna-se alternativa interessante para garantir a competitividade econômica.

Figura 24 - Análise de sensibilidade paramétrica para o impacto do preço do sulfito (A) e do lignossulfonato (B) na TIR para o cenário com produção de lignossulfonato.

Fonte: Elaboração Própria

6 CONCLUSÕES

Os resultados possibilitam concluir que:

- ✓ O pré-tratamento sulfito alcalino resultou em remoção da fração de lignina do bagaço de cana-de-açúcar, com baixa remoção das frações de carboidrato;
- ✓ A hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por sulfito alcalino refinado ou não refinado não apresentou diferença com relação ao rendimento de hidrólise da glucana e xilana, em experimentos conduzidos em frascos Erlenmeyer com conteúdo de sólidos inicial de 10%;
- ✓ A hidrólise enzimática em reator de coluna com leito empacotado carregado inicialmente com 14% de sólidos apresentou rendimentos de hidrólise da glucana e da xilana de 86,46% e 95,26 %, respectivamente, valores similares ou um pouco inferiores aos obtidos em frascos Erlenmeyer carregados com 10% de sólidos, nos quais os valores de hidrólise destas frações foram, respectivamente, 95,40% e 93,57%;
- ✓ Com relação aos produtos obtidos nas biorrefinarias analisando cada condição, pode-se observar que houve uma diminuição na produção de etanol quando se implementou a produção de lignossulfonatos, passando de 107,38 L/TC para 96,72 L/TC nos cenários com 14% de sólidos no reator de hidrólise, enquanto nos cenários com 10% de sólidos a produção de etanol caiu de 105,77 L/TC para 97,29 L/TC) quando houve a inclusão da produção de lignossulfonato;
- ✓ O cenário com produção de lignossulfonato e 14% de sólidos no reator de hidrólise apresentou 17,24 kg/TC de lignossulfonatos, enquanto o com 10% de sólido apresentou uma produção de 15,40 kg/TC;
- ✓ Com relação aos resultados de análise econômica, a biorrefinaria 1G requereu investimento de R\$ 785,50 milhões, enquanto os cenários integrados 1G2G apresentaram valores cerca de 17% a 30% superiores;
- ✓ Ao serem comparados os custos de investimentos para biorrefinaria 1G2G, houve pouca diferença entre cada cenário proposto. O cenário sem produção de lignossulfonato e com 14% de sólidos no reator de hidrólise enzimática foi o que apresentou maior custo total de investimento (R\$ 1025,35 milhões) e o cenário IV, com produção de lignossulfonato e 14% de sólidos, foi o que apresentou menor custos total de investimento (R\$ 925,16 milhões);

- ✓ Os custos de investimento do setor 1G nos cenários 1G2G apresentam diferença ao serem comparados com os de uma biorrefinaria exclusivamente 1G; essa diferença está ligada principalmente ao custo e geração e distribuição de vapor e energia, que no cenário exclusivo 1G apresenta um custo de R\$225,07 milhões e R\$ 122,28 milhões respectivamente, enquanto nos cenários propostos o custo de geração e distribuição de vapor variou de R\$ 165,24 a R\$ 189,77 milhões e o de energia variou de R\$70,69 a R\$80,79 milhões;
- ✓ O custo do etanol 2G variou de R\$1,75 a R\$2,58, sendo que o menor valor foi observado para os cenários com produção de lignossulfonato;
- ✓ Os cenários com 10% de sólidos e 14 % de sólidos em que houve apenas a produção de etanol 1G2G e eletricidade excedente apresentaram TIR de 11,17% e 10,40%, respectivamente, não foram atrativos do ponto de vista economicamente; porém, ao integrar-se a produção de lignossulfonato no processo, os valores da TIR aumentaram para 14,49% para o cenário com 14% de sólidos e 14,37% para o cenário com 10 % de sólidos.
- ✓ A adição de lignossulfonato como um subproduto na indústria de etanol 1G2G além de tornar a indústria atrativa no cenário econômico é um produto que já tem um mercado consolidado na indústria de construção civil, agregando maior valor econômico a indústria de etanol.
- ✓ O aumento da produção de lignossulfonato no mercado permite um maior estudo de futuras utilizações para esse material, que possam diversificar a sua utilização no mercado não sendo centrado apenas para construção civil.

REFERÊNCIAS

AGEITEC- Agência Embrapa de Informações tecnológica. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/canadecucar/arvore/CONTAG01_108_22122006154841.html

ALBARELLI, J. Q.; ENSINAS, A.V.; SILVA, M.A.; Product diversification to enhance economic viability of second generation ethanol production in Brazil: the case of the sugar and ethanol joint production. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 92, n. 8, p. 1470–1481, 2014.

ALVIRA, P. *et al.* Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review. **Bioresource technology**, v. 101, n. 13, p. 4851–61, 2010.

ARANTES, V.; SADDLER, J. N. Cellulose accessibility limits the effectiveness of minimum cellulase loading on the efficient hydrolysis of pretreated lignocellulosic substrates. **Biotechnology for Biofuels**, v. 4, n. 3, p. 4–16, 2011.

ARO, T.; FATEHI, P. Production and application of lignosulfonates and sulfonated Lignin. **Chemsuschem Reviews**, 2017.

AspenTech, Disponível em <http://www.aspentech.com/products/aspentech-plus.aspx>. Acesso em 17 de maio de 2019.

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

BALLESTEROS, M. *et al.* Ethanol from lignocellulosic materials by a simultaneous saccharification and fermentation process (SFS) with *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 12, p. 1843–1848, 2004.

BAUER, S.; IBANEZ, A. B. Rapid determination of cellulose. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 111, n. 11, p. 2355–2357, 2014.

BERLIM, A.; BALAKSHIN, M. Industrial lignins: analysis, properties and applications. In: Gupta, V.K. *et al.* **Bioenergy Research: Advances and Applications**. [S.L.]: Elsevier, 2014. p. 315 – 336.

BINOD, P.; GNANSOUNOUB, E.; SINDHU, R.; PANDEY, A.; Enzymes for second generation biofuels: Recent developments and future perspectives. **Bioresource Technology Reports**, v.5 p.317-325, 2019.

Biomassabioenergia, Suzano aposta em lignina, presente no eucalipto, para geral energia. Disponível em : <http://www.biomassabioenergia.com.br/imprensa/suzano-aposta-em-lignina-presente-no-eucalipto-para-gerar-energia/20120927-090326-v714>. Acesso em: 22 de maio de 2019.

BONOMI, A.; CAVALETT, O.; DA CUNHA, M. P.; LIMA, M.A.P. Virtual Biorefinery: An Optimization Strategy for Renewable Carbon Valorization. Series: **Green Energy and Technology**, Springer International Publishing, 1 ed. 2016, 285 p.

BURANOV, A. U.; MAZZA, G. Lignin in straw of herbaceous crops. **Industrial Crops and Products**, v. 28, n. 3, p. 237–259, 2008.

CABRERA, E. *et al.* Alkaline and alkaline peroxide pretreatments at mild temperature to enhance enzymatic hydrolysis of rice hulls and straw. **Bioresource Technology**, v. 167, p. 1–7, 2014.

CALVO-FLORES.G.;DOBADO,J.A.;ISAC-GARCIA.J.;MARTIN-MARTINEZ.F.J. L Lignina e lignans como materias-primas renováveis: Tecnologia Quimica e Aplicações. v.1, p. 1, 2015.

CARDONA, C. A.; QUINTERO, J. A.; PAZ, I. C. Production of bioethanol from sugarcane bagasse: status and perspectives. **Bioresource Technology**, v.101 p. 4754-4766, 2011.

CARDONA, C. A.; QUINTERO, J. A.; PAZ, I. C. Production of bioethanol from sugarcane bagasse: status and perspectives. **Bioresource Technology**, v.101 p. 4754-4766, 2011.

CARDOSO, T. F. *et al.* Technical and economic assessment of trash recovery in the sugarcane bioenergy production system. **Scientia Agricola**. v. 70, n. 5, p. 353-360, 2013.

CARROTT, S.P.J.M; CARROTT, R.M.M.L. Lignin – from natural adsorbent to activated carbon: a review. **Bioresource Technology** V.98, p. 2301–2312, 2006.

CASTRO, A. M; PERREIRA, N. Jr. Produção, propriedades e aplicações de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 33, n. 33, p. 181-188, 2010.

CCEE (2018): <http://www.ccee.org.br/> Acesso em: 22 de janeiro de 2019

CEPEA (2018): <http://www.cepea.esalq.usp.br/br/indicador/etanol.aspx> Acesso em: 22 de janeiro de 2019

CHANDEL, A. K.; SILVA, S. S. Biofuels in Brazil: fundamental aspects, recents developments, **Future Perspectives**. Local: Springer, p. 2-8, 2014.

CHEN, H. *et al.* A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals. **Fuel Processing Technology**, v.160, p.196-206, 2017.

CHEN, H.; ZHAO, J.; HU, T.; ZHAO, X.; LIU, D. A comparison of several organosol pretreatments for improving the enzymatic hydrolysis of wheat straw: substrate digestibility, fermentability and structural features. **Appl. Energy**, v.150, p. 224–232, 2015.

CHERUBINI, F. The biorefinery concept: using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. **Energy Conversion and Management**, v. 51, n. 7, p. 1412–1421, 2010.

CHOVAU, S.; DEGRAUWE, D.; VAN DER BRUGGEN, B. Critical analysis of techno-economic estimates for the production cost of lignocellulosic bio-ethanol. **Renewable Sustainable Energy Reviews**, v. 26, p. 307–321, 2013.

ComexStat (2018): sistema ComexStat .<http://comexstat.mdic.gov.br/> Acesso em: 22 de janeiro de 2019

CONAB – Companhia nacional de abastecimento, 2016. In: **Cana-de-açúcar, maio 2019**.

CONAB – Companhia nacional de abastecimento, 2016. In: **Cana-de-açúcar janeiro 2016**.

YIAMSAWAS, D., BAIER, G.; THINES, E.; LANDFESTER, K.; WURM, F. R.; Biodegradable lignin nanocontainers. **RSC Advances**. v. 4, p. 11661–11663, 2014.

SOUZA FILHO, P. F. DE . *et al.* Simultaneous saccharification and fermentation of cactus pear biomass—evaluation of using different pretreatments. **Industrial Crops and Products**, v. 89, p. 425–433, 2016.

DEMAIN, A. L. Biosolutions to the energy problem. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 36, n. 3, p. 319–32, 2009.

DIAS, M. O. S. **Desenvolvimento e otimização de processos de produção de etanol de primeira e segunda geração e eletricidade a partir da cana-de-açúcar**. 2011. 277 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2011.

DIAS, M. O. S. et al. Cogeneration in integrated first- and second-generation ethanol from sugarcane. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 91 n. 8, p. 1411–1417, 2013.

DIAS, M. O. S.; CUNHA, M. P.; JESUS C. D. F.; ROCHA, G. J. M.; PRADELLA, J. G. C.; ROSSEL, C. E. V.; MACIEL FILHO, R.; BONOMI, A. Second generation ethanol in Brazil: Can it compete with electricity production?. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 8964–8971. 2011.

DIAS, M. S.; ENSINAS, A. V.; NEBRA, S. A.; MACIEL FILHO, R.; ROSSELL, C. V., MACIEL, M. W. Production of bioethanol and other bio-based materials from sugarcane bagasse: Integration to conventional bioethanol production process. **Chemical Engineering Research and Design** v. 87, p. 1206–1216. 2009.

E. C. RAMIRES, J. D. MEGIATTO Jr., C. GARDRAT, A. CASTELLAN, E. FROLLINI. Valorization of an industrial organosolv-sugarcane bagasse lignin: characterization and use as a matrix in biobased composites reinforced with sisal fibers. **Biotech Bioeng.** v. 107, p. 612–621, 2013.

ELSHAHEED, M. S. Microbiological aspects of biofuel production: Current status and future directions. **Journal of Advanced Research**, v. 1, p. 103–111, 2010.

ERNESTO, V. A. R. T. **Caracterização térmica do bagaço da cana-de-açúcar visando aproveitamento energético**. Araraquara/SP: Universidade Estadual Paulista, (Dissertação de Mestrado), 2009.

ESPIRITO SANTO, M; REZENDE, A. C; BERNARDINELLI, D. O. et al. Structural and compositional changes in sugarcane bagasse subjected to hydrothermal and organosolv pretreatments and their impacts on enzymatic. **Industrial Crops e Products**, v.113, p.64-74, 2018.

FARZAD. S; MANDEGARI. M.; GUO .M; HAIGH .K. F; N. SHAH; Görgens. J. F; Multi-product biorefineries from lignocelluloses: a pathway to revitalization of the sugar industry. **Biotechnol Biofuels** v.10, p .8, 2017.

FITZPATRICK, M. et al. A biorefinery processing perspective: treatment of lignocellulosic materials for the production of value-added products. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 23, p. 8915–22, 2010.

FONSECA, G. C. **Modelagem e simulação de destilaria autônoma de produção de etanol de primeira geração (E1G)**. 2014. 114 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal De São Carlos, 2014.

GAURAV, N., SIVASANKARIB, S., KIRANC, G, S., NINAWEA, A., SELVINB, J. Utilization of bioresources for sustainable biofuels: a review. **Renew Sust Energ Ver**, v.73, p.205-214, 2017 .

GELLERSTEDT, G; MONICA, G GELLERSTEDT, G HENRIKSSON. Wood Chemistry and Wood Biotechnology. **Pulp and Paper Chemistry and Technology**, de Gruyter, 1 ed. 2009, 321 p.

GHOSE, T. K. Measurement of cellulase activities, measurement of cellulase activities. **Pure & Appl, Chem**, v. 59, p. 257-268, 1987.

GÍRIO, F. M.; FONSECA, C.; CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L. C.; MARQUES, S.; BOGEL-LUKASIK, R. Hemicelluloses for fuel ethanol: a review. **Bioresource Technology**, v.101, p.4775-4800, 2010.

GOSLING, I. Process simulation and modeling for industrial bioprocessing: tools and techniques. **Industrial Biotechnology**. v. 1 n. 2, p. 106-109, 2005.

GRAICHEN.F.H.M.; GRIGSBY.W.J.; HILL.S.J.; RAYMOND L.G., SANGULARD. M; SMITH. D.A.; THORLBY. G.J.; TORR. K.M.; WARNES. J.M. Yes, we can make money out of lignin and other bio-based resources. **Ind. Crop. Prod**, v. 106, p. 74-85, 2017.

GUBICZA.K.;ISMAEL.;U.N.;WILLIAMJ.S.;ZSOLT.B.K.T.;SHANMUGAM.L.;INGRA M.O.Techno-economic analysis of ethanol production from sugarcane bagasse using a Liquefaction plus Simultaneous Saccharification and co-Fermentation process. **Bioresource Technology**, v. 208, p. 42-46, 2016.

HAMELINCK, C.N.; HOOIJDONK, G. Van.; FAAIJ, A.P. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term. **Biomass Bioenergy**, v.28, p. 384-410, 2015.

HAQUE, M. A. *et al.* Effect of dilute alkali pretreatment on structural features and enhanced enzymatic hydrolysis of *Miscanthus sinensis* at boiling temperature with low residence time. **Biosystems Engineering**, v. 114, n. 3, p. 294–305, 2013.

HEDJAZI, S.; KORDSACHIA, O.; PATT, R.; LATIBARI, A. J.; TSCHIRNER, U. Alkaline sulfite–anthraquinone (AS/AQ) pulping of wheat straw and totally chlorine free (TCF) bleaching of pulps. **Industrial Crops and Products**, v. 29, p. 27–36, 2009.

HEINZLE, E.; BIWER, A.; COONEY, C. **Development of sustainable bioprocesses: modeling and assessment**. Chichester, John Wiley & Sons, 2006.

HEMSWORTH, G. R. *et al.* Lytic polysaccharide monooxygenases in biomass conversion. **Trends in Biotechnology**, v. 33, p. 747–761, 2015.

HENRIKSSON, G.; LENNHOLM, H. Cellulose and Carbohydrate Chemistry. **Wood chemistry and wood biotechnology**. Berlin: Walter de Gruyter, v. 1, p. 71-100, 2009.

HIMMEL, M. E. *et al.* Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production. **Science**, v. 315, n. 5813, p. 804–7, 2007.

HU, F.; RAGAUSKAS, A. Pretreatment and lignocellulosic chemistry. **BioEnergy Research**, v. 5, n. 4, p. 1043–1066, 2012.

HSIEH, CHIA-WEN.; CANNELLA, D.; JØRGENSEN, H.; CLAUS, F.; THYGESEN, L. G. Cellulase Inhibition by High Concentrations of Monosaccharides. **J. Agric. Food Chem.**, v. 62, p. 3800-3805, 2014.

HUMBIRD, D.; DAVIS, R.; TAO, L.; KINCHIN, C.; HSU, D.; ADEN, A.; SCHOEN, P.; LUKAS, J.; OLTHOF, B.; WORLEY, M.; SEXTON, D.; DUDGEON, D. Process design and economics for biochemical conversion of lignocellulosic biomass to ethanol – dilute-acid pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover. National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado, **Technical Report**. NREL/TP-5100-47764, 2011.

IEA - INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. **Sustainable production of second-generation biofuels: potential and perspectives in major economies and developing countries**. 2010b. Disponível em: https://www.iea.org/publications/freepublications/publication/second_generation_biofuels.pdf. Acesso em: 02 de maio de 2019.

JINGFENG, W.; XIXUN, H.; MING, Y.; YUJIE, Q.; LILI, J.; JIE, C.; JUNHUA, Z. Impact of lignin content on alkaline-sulfite pretreatment of Hybrid Pennisetum. **Bioresource Technology**, v. 267, p. 793-796, 2018.

JORGENSEN, H.; KRISTENSEN, J.B; FELBY, C. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 1, n. 2, p. 119–134, 2007.

JUNQUEIRA, T. L. CHAGAS, M.F.; GOUVEIA,V.L.R.;REZENDE, M.C.A.F.; WATANABE,M.D.B.; JESUS,C.D.F.; CAVALETT,O.; MILANEZ,A.Y.;BONOMI,A. Techno-economic analysis and climate change impacts of sugarcane biorefineries considering different time horizons. **Biotechnology for Biofuels**, v.10, n. 50, p. 1-12, 2017.

JUNQUEIRA, T. L. *et al.* Techno-economic analysis and climate change impacts of sugarcane biorefineries considering different time horizons. **Biotechnology for Biofuels**, v. 10, n. 50, p. 1-12, 2017.

KADAR, Z.; SZENGYEL, Z.; RECZEY, K. KALLIOLA .A.; VEHMAS. T.; LIITIÄ.T.; TAMMINEN.T. Simultaneous saccharification and Alkali. -O₂ oxidized lignin - a bio-based concrete plasticizer. **Ind. Crop. Prod**, v. 74, p. 150-157,2015.

KARP, E. M. *et al.* Alkaline pretreatment of corn stover: bench-scale fractionation and stream characterization. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 2, p. 1481–1491, 2014.

KAUR, J. *et al.* Purification and characterization of B-Glicosidase from *Melanocarpus sp.* Eletronic. **Journal of Biotechnology**, v.10, p.260-270, 2007.

KLEIN.B.C.;CHAGAS.M.F.;JUNQUEIRA.T.L.;ALVES.M.C.;REZENDE.F.;TEREZINH A DE FÁTIMACARDOSO.T.F.; OTAVIOCAVALETT.O.;BONOMI.A. Techno-economic and environmental assessment of renewable jet fuel production in integrated Brazilian sugarcane biorefineries. **Applied Energy**,v.209,p.290-305,2018.

KONDURI, M.K.R.; FATEHI,P. Production of Water-Soluble Hardwood Kraft Lignin via Sulfomethylation Using Formaldehyde and Sodium Sulfite. **ACS Sustainable Chem.** v.3, p.1172 – 1182, 2005

KUMAR, D.; MURTHY, G. S. Impact of pretreatment and downstream processing technologies on economics and energy in cellulosic ethanol production. **Biotechnology for Biofuels**, v. 4, n. 1, p. 27, 2011.

LAURITO-FRIEND, D. F. **Pré-tratamento sulfito alcalino e hidrólise enzimática de bagaços de cana-de-açúcar com diferentes composições químicas** 2013. 97p. Dissertação (Mestrado em ciências) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2013.

LAURITO-FRIEND. D.F.; MENDES. F.M.; REINOSO. F.M.; FERRAZ.A.;MILAGRES, A.M.F.Sugarcane hybrids with original lowlignin contents and high field productivity are useful to reachhigh glucose yields from bagasse. **Biomass Bioenergy**. v.75, p.65–74,2015

LENTING, H. B. M.; WARMOESKERKEN, M. M. C. G. Mechanism of interaction between cellulase action and applied shear force, an hypothesis. **Journal of Biotechnology**, v. 89, p. 217–226, 2001.

LIU.H.;BO. P.;HAISONG .W.;HAIMING .L.;JIE. L.;MEIHONG. N. Optimization of Alkaline Sulfite Pretreatment and Comparative Study with Sodium Hydroxide Pretreatment for Improving Enzymatic Digestibility of Corn Stover. **J. Agric. Food Che**, v.63, p.3229-3234, 2015.

LOUREIRO, M.E; BARBOSA, M.H.P.; LOPES, F.J.P.; F.O. Sugarcane breeding and selection for more efficient biomass conversion in cellulosic ethanol. In: BUCKERIDGE, 2011.

MACRELLI, S.; MOGENSEN, J.; ZACCHI, G. Techno-economic evaluation of 2nd generation bioethanol production from sugar cane bagasse and leaves integrated with the sugar-based ethanol process. **Biotechnology for Biofuels**. v. 22, n. 5, p. 1-18, 2012.

MACRELLI, S; MATS.G.; WALLBERG.O. Effects of production and market factors on ethanol profitability for an integrated first and second generation ethanol plant using the whole sugarcane as feedstock. **Biotechnol for Biofuels**. v.26, p.7, 2014.

MAITY, S. K. Opportunities, recent trends and challenges of integrated biorefinery: Part I.**Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 43, p. 1446–1466, 2015.

MARIANO, A. P. *et al.* Utilization of pentoses from sugarcane biomass: techno-economics of biogas vs. butanol production. **Bioresource Technology**, v. 142, p. 390-99, 2013.

MCNEIL, B.; HARVEY, L. H. (Ed.). **Practical Fermentation Technology**. Chichester:John Wiley, 2008. 388 p.

Melbar Produtos de Lignina Ltda. Acesso em: 2 de dezembro de 2018.

MENDES, F. M. **Digestibilidade enzimática do bagaço de cana-de-açúcar tratado quimio-mecanicamente**. 2010. 101 p.Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2010.

MENDES, F. M.; DIAS, M.O.S; FERRAZ, A; MILAGRES, A.M.F; SANTOS, J.C; BONOMI,A. Techno-economic impacts of varied compositional profiles of sugarcane experimental hybrids on a biorefinery producing sugar, ethanol and electricity. **Chemical Engineering Research and Design**, v.125, p.72-78, 2017.

MENDES, F. M.; HEIKKILÄ, E; FONSECA, M. B. ; MILAGRES, A. M.F; FERRAZ, A. Topochemical characterization of sugar cane pretreated with alkaline sulfite. **Industrial Crops and Products**. v. 69, p. 60-67, 2015.

MENDES, F. M.; LAURITO, D. F.; BAZZEGGIO, M.; FERRAZ A.; MILAGRES, A. M. F. enzymatic digestion of alkaline-sulfite pretreated sugar cane bagasse and Its correlation with the chemical and structural changes occurring during the pretreatment step. **Biotechnology Progress**, v. 4, p. 890-895, 2013.

MENDES, F.M.; VASCONCELOS. M.H.; DIAS. M.O.S.; FERRAZ. A.; MILAGRES, A.M.F.; SANTOS.J.C.; CHAGAS. M.; WATANABE, M.D.B., JUNQUEIRA, T.L.; BONOMI, A. Alkaline sulfite pretreatment for integrated first and second generation ethanol production: A techno-economic assessment of sugarcane hybrids. **Biomass and Bioenergy**, v.119, p.314-321,2018

MENDES, F.M.; SIQUEIRA, G.; CARVALHO, W.; FERRAZ, A.; MILAGRES, A. M. F. Enzymatic hydrolysis of chemithermomechanically pretreated sugarcane bagasse and two experimental samples with reduced initial lignin. **Biotechnology Progress**, v. 27, p. 395-401, 2011.

MENON, V.; RAO, M. Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 38, n.4, p. 522–550, 2012.

MME(2013):http://www.mme.gov.br/programas/leiloes_de_energia/menu/leiloes_realizados

MODENBACH, A. A.; NOKES, S. E. Enzymatic hydrolysis of biomass at high-solids loadings – a review. **Biomass and Bioenergy**, v. 56, p. 526–544, set. 2013.

MODENBACH, A. A.; NOKES, S. E. The use of high-solids loadings in biomass pretreatment – a review. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 109, n. 6, p. 1430–1442, 2012.

MONCADA.J.; GURSEL.V.I.;HUIJGEN.W.J.J.;DIJKSTRA.J.W.;RAMÍREZ.A., Techno-economic and ex-ante environmental assessment of C6 sugars production from spruce and corn. Comparison of organosolv and wet milling Technologies. **Journal of Cleaner Production**, v.170, p.610-624, 2018.

MONCADA, J.; ARISTIZABAL, V.; CARDONA, C. A. Design strategies for sustainable biorefineries. **Biochemical Engineering Journal**, v. No Prelo, 2016.

MONCADA, J.; EL-HALWAGI, M. M.; CARDONA C. A. Techno-economic analysis for a sugarcane biorefinery: Colombian case. **Bioresource Technology**, v.135, p. 533–543,2013.

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

MYRVOLD, B. O. A new model for the structure of lignosulphonates Part 1. Behaviour in dilute solutions. **Industrial Crops and Products**, v.27 n.2, p. 214-219, 2008.

NOVACANA, Biorrefinaria: **futuro para o completo aproveitamento da biomassa de cana**. Disponível em: <https://www.novacana.com/estudos/biorrefinaria-futuro-para-o-completo-aproveitamento-da-biomassa-de-cana-241013>. Acesso em: 19 de abril de 2019.

NOVACANA, Biorrefinaria: **futuro para o completo aproveitamento da biomassa de cana**. Disponível em: <https://www.novacana.com/estudos/biorrefinaria-futuro-para-o-completo-aproveitamento-da-biomassa-de-cana-241013>. Acesso em: 19 de abril de 2018.

OHGREN, K. *et al.* Simultaneous saccharification and co-fermentation of glucose and xylose in steam-pretreated corn stover at high fiber content with *Saccharomyces cerevisiae* TMB3400. **Journal of Biotechnology**, v. 126, n. 4, p. 488–98, 2006.

OLIVEIRA, M. C.; PAVÃO, L. V. *et al.* Process integration of a multiperiod sugarcane biorefinery. **Applied Energy**, v.213, p.520-539, 2018.

OLOFSSON, K.; BERTILSSON, M.; LIDEN, G. A short review on SSF - an interesting process option for ethanol production from lignocellulosic feedstocks. **Biotechnology for Biofuels**, v. 1, n. 1, p. 7, 2008.

OUYANG, X.; KE, L.; QIU, X.; GUO, Y.; PANG, X. Sulfonation of alkali lignin and its potential use in dispersant for cement. **J.Dispersion ei.Tecnhol.** v.30, p.1 – 6, 2009

PACHECO, T. F. (2011). **Produção de Etanol: primeira ou segunda geração?** EMBRAPA. Disponível em: <http://www.portaldoagronegocio.com.br/artigo/producao-de-etanol-primeira-ou-segunda-geracao>. Acesso em: 22 abril 2019.

PARIS, M. J.; CARDOSO, M. A. T.; FONSECA, L. P. Towards bioethanol: an overview of whole lignocellulose processing. **Research and Reviews in Materials Science and Chemistry**, v. 4, n. 2, p. 55–118, 2014.

PAULOVA, L. *et al.* Lignocellulosic ethanol: Technology design and its impact on process efficiency. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, p. 1091–1107, 2015.

PAZUCH, F.A.; *et al.* Economic evaluation of the replacement of sugar cane bagasse by vinasse, as a source of energy in power plant in the state of Paraná, Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, p. 34-42, 2017.

PEREZ, V. H.; SILVEIRA JR. E. G.; CUBIDES, D. C.; DAVID, G. F.; JUSTO, O. R.; CASTRO, M. A. P. P.; STHIEL, M. S.; CASTRO, H. F. de. Trends in biodiesel production: present status and future directions. **Biofuels in Brazil**. v.1, p. 281-302, 2012.

PLANK, J. Applications of biopolymers and other biotechnological products in building materials. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.66, n.1, p.1-9, 2004.

PRASAD, S.; SINGH, A.; JOSHI, H. C. Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues. **Conservation and Recycling**, v. 50, p. 1–39, 2007.

QIN, Y.; MO, W.; YU, L.; YANG, D.; QIU, X. A light-colored hydroxypropyl sulfonated alkali lignin for utilization as a dye dispersant. **Holzforschung**, v. 70, p. 109-116, 2016.

RAGAUSKAS, A. J. *et al.* Lignin valorization: improving lignin processing in the biorefinery. **Science**, v. 344, n. 6185, p. 709, 2014

RAMOS, L. **Alternativas de hidrólise enzimática e fermentação em reatores de coluna para aplicação em biorrefinarias integradas de primeira e segunda geração empregando bagaço de cana-de-açúcar: dos experimentos em laboratório à avaliação de viabilidade econômica.** 2019. 170p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2019.

RAICHER, G. **Análise econômica na produção de polímeros biodegradáveis no contexto de uma biorrefinaria de cana-de-açúcar.** 2011. Programa de Pós-graduação interunidades em Biotecnologia, Instituto Butantan, Universidade de São Paulo, 2011

REHBEIN, M.; PEREIRA, M.; KOCH, G.; KORSACHIA, O. Topochemical investigation into the delignification of *Eucalyptus globulus* chips during semi-chemical sulfite pulping. **Wood Sci Technol.** v.44, p. 435–449, 2010.

REINOSO, F. A. M.; RENCORET, J.; GUTIÉRREZ, A.; MILAGRES, A. M. F.; JOSÉ C. DEL RÍO.; FERRAZ, A. Fate of *p*-hydroxycinnamates and structural characteristics of residual hemicelluloses and lignin during alkaline-sulfite chemithermo mechanical pretreatment of sugarcane bagasse. **Biotechnology for Biofuels**, v.11, p.53, 2018.

RFA. **World fuel ethanol production.** Disponível em: <http://ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/#1454098996479-8715d404-e546>. Acesso em: 29 maio 2019.

RICK VAN RIJN.; ISMAEL, U. N.; SHANMUGAM K. T.; LONNIE O. I.; WILFRED, V. Techno-economic evaluation of cellulosic ethanol production based on pilot biorefinery data: a case study of sweet sorghum bagasse processed via L+SScF. **BioEnergy Research**, v.11, p.414-425, 2018.

RIVERA, E. C. *et al.* A screening design to analyze the influence of technological configurations on techno-economic parameters for autonomous distilleries in Brazil. **Chemical Engineering Transactions**, v. 37, p. 307-312, 2014.

ROCHA, G.J.M., NASCIMENTO, V.M., GONCALVES, A.R., SILVA, V.F.N., MARTÍN, C. Influence of mixed sugarcane bagasse samples evaluated by elemental and physicochemical composition. **Industrial Crops and Products**, v. 64, p. 52-58, 2015.

RUBIN, E. M. Genomics of cellulosic biofuels. **Nature**, v. 454, p. 841-845, 2008.

RUFFATO, V.; BARRETO, R. C.; *et al.* A foundation for the strategic long-term planning of the renewable energy sector in Brazil: Hydroelectricity and wind energy in the face of climate change scenarios. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.72, p.1124-1137, 2017.

SAAD, B. W. **Avaliação técnica e econômica preliminar da produção de etanol via hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar.** 2010. 138f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

SAHA, B. C. *et al.* Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 12, p. 3693–3700, 2005.

SAHARE, P. *et al.* Effect of alkali pretreatment on the structural properties and enzymatic hydrolysis of corn cob. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 168, n. 7, p. 1806–1819, 2012.

SANNIGRAHI, P. *et al.* A Novel oxidative pretreatment of loblolly pine, sweetgum, and miscanthus by ozone. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, v. 32, n. 4, p. 361–375, 2012.

SANTOS, L. V.; DE BARROS GRASSI, M. C.; GALLARDO, J. C. M.; PIROLLA, R. A. S.; CALDERÓN, L. L.; DE CARVALHO-NETTO, O. V.; PEREIRA, G. A. G. Second-Generation Ethanol: the Need is Becoming a Reality. **Industrial Biotechnology**, v.12, p.40–57, 2016.

SARATALE, G. D.; OH, M.-K. Improving alkaline pretreatment method for preparation of whole rice waste biomass feedstock and bioethanol production. **RSC Advances**, v. 5, n. 118, p. 97171–79, 2015.

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

SCULLY, S.; ORLYGSSON, J. Recent advances in second generation ethanol production by thermophilic bacteria. **Energies**, v. 8, n. 1, p. 1–30, 24 dez. 2014.

SILVA, A. S., TEIXEIRA, R. S., ENDO, T., BON, E. S., LEE, S. Continuous pretreatment of sugarcane bagasse at high loading in an ionic liquid using a twinscrew extruder. **Green Chemistry**, v. 15, p. 1991-2001, 2013.

SILVA, D. S. G. **Isolamento de xilanas do bagaço de cana-de-açúcar integrado à hidrólise enzimática da celulose residual**. 2016. 102 p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2016.

SILVERSTEIN, R. A *et al.* A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 16, p. 3000–11, 2007.

SIQUEIRA, G.; VÁRNAI, A.; FERRAZ, A.; MILAGRES, A. M. F. Enhancement of cellulose hydrolysis in sugarcane bagasse by the selective removal of lignin with sodium chlorite. **Applied Energy**, v.102, p. 399-402, 2013

SITTER, T.; OVEISSI, F.; FATEHI, P. A process for producing lignocellulosic floccs from NSSC spent liquor. **J. Biotechnol**, v.173, p. 19-23,2014.

SMULLEN, E. *et al.* Bioconversion of switchgrass: identification of a leading pretreatment option based on yield, cost and environmental impact. **Renewable Energy**, v. 111, p. 638–645, 2017.

SOARES, L. C. S. R. **Destoxificação biológica do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar para utilização em processos fermentativos**. 2012. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Microbiologia Aplicada) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, 2012.

SUHR. M, Klein. G, KOURI. I, GONZALO, M.R, SANTONJA, G.G, ROUDIER, I , SANCHO. L, Best Available Techniques (BAT) Reference Document for the Production of Pulp, Paper, and Board, **European Union, Luxembourg**, 2015, eippcb.jrc.ec.europa.eu/reference/BREF/PP_revised_BREF_2015.pdf.

TARASOV.D. ; LEITCH .M; FATEHI. P. Production of lignosulfonate in NSSC-based biorefinery. **Biotechnol. Prog**, v.31, p. 1508-1514,2015.

TEBEKA, I. R. M.; SILVA, A. G. L.; PETRI, D. F. PAN, S. X. Saddler.Effect of replacing polyol by organosolv and kraft lignin on the property and structure of rigid polyurethane foam. **Langmuir** ,v. 25, p.1582, 2009

TERÁN-HILARES, R. ; *et al.* A new approach for bioethanol production from sugarcane bagasse using hydrodynamic cavitation assisted-pretreatment and column reactors, **Ultrasonics – Sonochemistry**; v.43, p.219-226,2018.

TONON FILHO, R. J. **Modelagem e simulação em plantas de etanol: uma abordagem técnico-econômica**. 2013. 92 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, 2013.

TRAVAINI, R. *et al.* Sugarcane bagasse ozonolysis pretreatment: Effect on enzymatic digestibility and inhibitory compound formation. **Bioresource Technology**, v. 133, p. 332–339, 2013.

VANHOLME, R. *et al.* Towards a carbon-negative sustainable bio-based economy. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 174, 2013.

WATANABE, M. D. B. BONOMI, A.; CAVALETT, O.; CUNHA, M.P.; LIMA, M.A.P. Virtual biorefinery: an optimization strategy for renewable carbon valorization. **Basel Springer International Publishing**. p. 155–88. 2016,

WEIFENG, H. *et al.* Modeling, simulation and optimization of a whole industrial catalytic naphtha reforming process on aspen plus platform. **Chinese Journal of Chemical Engineering** v. 14, n. 5, p. 584-591, 2006.

WU, L. *et al.* Low temperature alkali pretreatment for improving enzymatic digestibility of sweet sorghum bagasse for ethanol production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 7, p.4793–9, 2011.

WYMAN, C. E.; DALE, B. E.; ELANDER, R. T.; HOLTZAPPLE, M.; LADISCH, M. R.; LEE, Y. Y. Coordinated development of leading biomass pretreatment Technologies. **Bioresource Technology**, v.96, p. 1959-1966, 2005.

JIN,Y.; CHENG X.; ZHENG, Z. . Preparation and characterization of phenol-formaldehyde adhesives modified with enzymatic hydrolysis lignina. **Biores Technol**, v.101, p. 2046-2048,2010.

YU, M. *et al.* Bioethanol production using the sodium hydroxide pretreated sweet sorghum bagasse without washing. **Fuel**, v. 175, p. 20–25, 2016.

YU, Z. *et al.* The effect of delignification of forest biomass on enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 19, p. 9083–9, 2011.

ZHANG.H.; JIA. D.; YANG. Z.; YU. F.; SU.Y.; WANG. D.; SHEN.Q. Alkaline lignin derived porous carbon as an efficient scaffold for lithium-selenium battery cathode. **Carbon**, v.122,p. 547-555,2017.

ZHANG, X. *et al.* High consistency enzymatic hydrolysis of hardwood substrates. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 5890–7, 2009.

ZHANG, Y.H.P.; HIMMEL, M.E.; MIELENZ, J.R. Outlook for cellulase improvement: screening and selection strategies. **Biotechnology Advances**, v.24, p.452-481, 2006.

ZHAO, X.; ZHANG, L.; LIU, D. Biomass recalcitrance. Part I: the chemical compositions and physical structures affecting the enzymatic hydrolysis of lignocellulose. **Biofuels,Bioproduts and Biorefining**, v. 6, n. 4, p. 465–482, 2012.

ZHENG, Y.; PAN, Z.; ZHANG, R. Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production. **Int. J. Agric. & Biol. Eng.**, n. 3, v. 2, p. 51-68, 2009.

ZHOU,Z.; YOU,Y.; LEI,F.; LI,P., JIANG,J., 2017, Enhancement of enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse by pretreatment combined green liquor and sulfite, **Fuel** v. 203, p. 707–714, 2017.

ZHU, J.Y., PAN, X.J., WANG, G.S., GLEISNER, R. Sulfite pretreatment (SPORL) for robust enzymatic saccharification of spruce and red pine. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 2411–2418, 2009.