Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial de uso em biorrefinarias

Bruna Harumi Ogata

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2013

Bruna Harumi Ogata
Bacharel em Biotecnologia

Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial uso em biorrefinarias

Orientador:
Prof. Dr. **ANTONIO SAMPAIO BAPTISTA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP

Ogata, Bruna Harumi
Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial de uso em biorrefinarias / Bruna Harumi Ogata.- - Piracicaba, 2013.
108 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. Biomassa lignocelulósica 2. Caracterização 3. Classificação 4. Biorrefinaria I. Título

CDD 633.61
O34c

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte -O autor"

Aos meus pais, Sueli e

Akira, e minha irmã, que mesmo

longe sempre se fazem presentes.

Aos meus tios Teresa e

Ronaldo, por acreditarem em mim e

sempre me apoiarem.

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre me guiar em minhas escolhas.

A minha família, pelo amor, carinho, apoio e incentivo em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. Antonio Sampaio Baptista pela confiança, pela orientação, pela ajuda nos momentos de dificuldades, pela dedicação e pela amizade.

Aos técnicos do laboratório de Açúcar e Álcool, Pedrinho, Sylvino e Rose, e ao Prof. Dr, Cláudio Lima de Aguiar por todo o auxílio prestado durante a execução do projeto.

Aos amigos e companheiros de laboratório por todos os momentos compartilhados, de trabalho e de descontração. Um agradecimento especial a Camila, Laysa e Renan pela ajuda na realização das análises, pelo ótimo convívio diário e pela bela amizade construída.

Aos meus queridos amigos Fernanda e Thiago pela amizade e por sempre entenderem a minha ausência.

As minhas amigas e companheiras de casa, Débora e Maíra, pela convivência e pela amizade.

Ao Centro de Cana do IAC-Ribeirão Preto pela parceria e pelo fornecimento das amostras para que o projeto pudesse ser executado.

A Profª. Drª. Adriane Maria Ferreira Milagres (EEL/USP) e a doutoranda Joseana Rocha do Monte por me ensinarem a metodologia adotada.

A Capes pelo apoio financeiro.

Muito Obrigada!

"Para realizar grandes conquistas, devemos não apenas agir, mas também sonhar;
não apenas planejar, mas também acreditar."
Anatole France

SUMÁRIO

RESUMO 13

ABSTRACT 15

LISTA DE FIGURAS 17

LISTA DE TABELAS 19

1 INTRODUÇÃO 21

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 23

2.1 Cana-de-açúcar 23

2.2 Uso potencial da cana-de-açúcar 24

2.3 Biomassas lignocelulósicas 25

2.3.1 Bagaço de cana-de-açúcar 26

2.4 Composição dos materiais lignocelulósicos 28

2.4.1 Parede celular 28

2.4.1.1 Celulose 31

2.4.1.2 Hemicelulose 33

2.4.1.3 Lignina 35

2.5 Aplicação dos componentes celulose, hemicelulose e lignina em biorrefinarias 37

2.5.1 Conceito de biorrefinaria 39

2.5.2 Biorrefinarias de materiais lignocelulósicos 40

2.5.3 Biorrefinarias – rotas bioquímicas 41

2.5.4 Biorrefinarias – rotas termoquímicas 42

2.5.5 Bioprodutos 43

2.5.5.1 Produtos da celulose..... 43

2.5.5.1.1 Etanol celulósico 46

2.5.5.1.2 Polietileno verde 46
2.5.5.2 Produtos da hemicelulose 48
2.5.5.2.1 Xilitol 49
2.5.5.3 Produtos da lignina 51
2.5.6 Pré-tratamentos dos materiais lignocelulósicos 53
2.6 Cromatografia 54
2.6.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) 54
2.6.1.1 Instrumentação 55
2.6.1.1.1 Detectores 57
3 MATERIAL E MÉTODOS 59
3.1 Cana-de-açúcar 59
3.2 Preparo das amostras 59
3.3 Seleção granulométrica 59
3.4 Extração 59
3.5 Determinação de umidade 59
3.6 Hidrólise ácida 60
3.7 Lignina solúvel e insolúvel 60
3.8 Determinação de carboidratos e ácidos orgânicos por CLAE 60
3.9 Determinação de hidroximetilfurfural e furfural por CLAE 61
3.10 Metodologia usada para os estudos de caso 61
3.10.1 Estimativa da produção de etanol de segunda geração 61
3.10.2 Estimativa da produção de polietileno verde 62
3.10.3 Estimativa da produção de xilitol 63
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 65
4.1 Caracterização química dos genótipos de cana-de-açúcar 65
4.2 Proposta de classificação dos genótipos de cana-de-açúcar em

relação às porcentagens de celulose, hemicelulose e lignina 78
4.3 Estudos de caso 89
4.3.1 Etanol de segunda geração 90
4.3.2 Polietileno verde 92
4.3.3 Xilitol 93
5 CONCLUSÕES 95
REFERÊNCIAS 97

RESUMO

Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial de uso em biorrefinarias

A cultura da cana-de-açúcar tem grande relevância na economia brasileira. A agroindústria sucroenergética origina uma grande quantidade de sub-produtos, como o bagaço e a palha. Vários estudos têm sido conduzidos no intuito de utilizá-los como matéria-prima para a obtenção de diversos produtos, como o etanol celulósico, energia e diversos compostos de interesse industrial. As biomassas lignocelulósicas, como o bagaço da cana, são compostas principalmente de celulose, hemicelulose e lignina, sendo que a proporção de cada componente é dependente de diversos fatores. No caso da cana, há variedades que apresentam diferentes teores de fibra e, ao pensar em utilizar o material residual para geração de produtos de maior valor agregado, é muito importante conhecer a composição dessa fibra. A celulose é um polímero de glicose unido por ligações glicosídicas β1-4, rígida e muito resistente à hidrólise. A hemicelulose é um polímero de baixa massa molecular composta por pentoses, hexoses, e/ou ácidos urônicos e mais susceptível à hidrólise quando comparada à celulose, uma vez que apresenta menor grau de polimerização. Por fim, a lignina é uma substância hidrofóbica, com estrutura tridimensional e amorfa, altamente ramificada e sintetizada a partir de três precursores, o álcool coniferílico, o álcool sinapílico e o álcool p-cumarílico. Vários compostos de interesse têm sido descobertos nas biomassas lignocelulósicas, neste contexto surgem as biorrefinarias, onde são obtidos produtos de elevado valor agregado e energia por rotas bioquímicas ou termoquímicas e de maneira sustentável. A classificação proposta no trabalho objetiva padronizar posteriores discussões relacionadas à classificação da fibra da cana e auxiliar os melhoristas na obtenção de novas variedades comerciais. O propósito do estudo foi avaliar a constituição da fibra de diversos genótipos de cana-de-açúcar com altos teores de fibra, propor um modelo para classificação da cana-de-açúcar de acordo com a composição dessa fibra e investigar o potencial dos genótipos analisados para uso em biorrefinarias na obtenção de produtos como etanol de segunda geração, polietileno verde e xilitol. Os resultados obtidos indicaram que o genótipo 196 foi o que apresentou a maior porcentagem de celulose (54,18 %) e o 192 foi o que apresentou a menor quantidade desse componente (26,47 %). Em relação à hemicelulose, o genótipo 77 foi o que apresentou o maior (25,97 %) teor e o 167 (16,71 %) o menor. Por fim, o genótipo 166 (27,13 %) foi o que apresentou maior quantia de lignina em sua composição e o 27 (17,7 %) a menor. Em relação à classificação, a maior parte dos genótipos analisados foram classificados como $C_2H_4L_4$, ou seja, apresentam de 40 a 50 % de celulose, de 20 a 25 % de hemicelulose e de 20 a 25 % de lignina na composição da fibra. No contexto de biorrefinarias, o genótipo 196 mostrou maior potencial para obtenção do etanol celulósico e do polietileno verde, uma vez que apresentou maior teor de celulose na fibra. Para obtenção do xilitol, o genótipo 77 se mostrou mais promissor, pois demonstrou possuir maior quantidade de hemicelulose em sua composição.

Palavras-chave: Biomassa lignocelulósica; Caracterização; Classificação; Biorrefinarias

ABSTRACT

Characterization of cellulose, hemicellulose and lignin fractions in different genotypes of sugarcane and potential uses in biorefineries

Sugarcane farming plays an important role in the Brazilian agribusiness. The agro-industrial energy sector generates a number of by-products, such as bagasse and straw. Several studies were conducted to investigate the use of bagasse and straw as raw material for the production of various products, such as cellulosic ethanol, energy and several compounds for industrial use. The lignocelullosic biomasses, such as sugarcane bagasse, are composed primarily of cellulose, hemicellulose and lignin, and the content of each component depends on several factors. There are varieties of sugarcane plants with different fiber contents and to use the residual material to generate high value-added products, it is very important to know the fiber composition. Cellulose is a glucose polymer linked by glycosidic β1-4 bonds, rigid and very resistant to hydrolysis. Hemicellulose is a low-molecular-weight polymer composed of pentoses, hexoses and/or uronic acids and more susceptible to hydrolysis when compared to cellulose, since it has a lower polymerization degree. Finally, lignin is a hydrophobic substance, with three-dimensional and amorphous structure, highly branched and synthesized from three precursors, coniferyl alcohol, sinapyl alcohol and P-Coumaryl alcohol. Several compounds of interest have been discovered in lignocelullosic biomasses, and bio-refineries are important to produce high value-added products and energy by biochemical or thermochemical routes in a sustainable way. The classification proposed in this study aims to standardize further discussions on the classification of the sugarcane fibers and helps plant breeders to obtain new commercial varieties. The purpose of this study was to evaluate the fiber composition of several sugarcane genotypes with high fiber contents; propose a model for sugarcane classification according to the fiber composition of the cultivar and investigate the potential of the genotypes analyzed to be used bio-refineries to obtain products such as the second-generation ethanol, green polyethylene and xylitol. There were investigated an access group of 207 genotypes. We used high-performance liquid chromatography to characterize cellulose and hemicellulose, and spectrophotometry to analyze the lignin content. The results showed that genotype 192 had the highest cellulose content (54,18 %) and 196 had the lowest (26,47 %). Genotype 77 showed the highest hemicellulose content (25,97 %) and 167 had the lowest (16,71%). Genotype 166 showed the highest lignin content (27,13 %) in its composition and 27 had the lowest (17,7 %). Most of the analyzed genotypes were classified as $C_2H_4L_4$, that is, containing 40-50 % of cellulose, 20-25 % of hemicellulose and 20-25 % of lignin in the fiber composition. For the bio-refineries, genotype 192 showed the greatest potential for the production of cellulosic ethanol and green polyethylene due to its higher cellulose content in the fiber. To obtain xylitol, genotype 77 was more promising, because of the higher hemicellulose content in its composition.

Keywords: Lignocellulosic biomasses; Characterization; Classification; Bio-refineries

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa da distribuição das áreas de plantações e usinas produtoras de açúcar, etanol e bioeletricidade 24

Figura 2 - Complexo lignocelulósico: cadeias de celulose envolvidas por hemicelulose e lignina 28

Figura 3 - Esquema da parede celular vegetal 30

Figura 4 - Arquitetura da parede celular vegetal 30

Figura 5 - Representação da cadeia linear da celulose, formada por unidades consecutivas de celobiose 31

Figura 6 - Representação das cadeias de celulose ligadas por pontes de hidrogênio 32

Figura 7 - Carboidratos que compõem as unidades de hemicelulose 34

Figura 8 - Estrutura química das principais hemiceluloses de parede celular de plantas 35

Figura 9 - Estrutura dos álcoois precursores da lignina 36

Figura 10 - O conceito de uma refinaria XTL (X= gás natural, carvão ou biomassa 42

Figura 11 - Rotas potenciais a partir de gás de síntese 43

Figura 12 - Biorrefinaria de matérias-primas lignocelulósicas: produtos da celulose 44

Figura 13 - Diagrama da bioconversão da biomassa de cana em etanol de segunda geração 46

Figura 14 - Fluxograma da obtenção do polietileno verde 47

Figura 15 - Biorrefinaria de lignocelulósicos: produtos da hemicelulose 49

Figura 16 - Tecnologias disponíveis para obtenção de xilitol 51

Figura 17 - Biorrefinaria lignocelulósica: produtos da lignina 52

Figura 18 - Fracionamento dos componentes de biomassas lignocelulósicas após o pré-tratamento 53

Figura 19 - Esquema do funcionamento do equipamento utilizado na CLAE 56

Figura 20 - Esquema de um detector por espalhamento de luz evaporativo 58

Figura 21 - Esquema para estimar o potencial de produção do etanol de segunda geração 62

Figura 22 - Esquema para estimar a produção de polietileno verde a partir do etanol de segunda geração 63

Figura 23 - Esquema para estimar a quantidade de xilitol a ser produzida a partir do bagaço 64

Figura 24 - Esquema do potencial de produção de etanol celulósico, polietileno verde e xilitol a partir de 1000 toneladas de cana-de-açúcar 90

Figura 25 - Perspectivas da produção de biocombustíveis 92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química média do bagaço de cana-de-açúcar 27

Tabela 2 - Teores de celulose, hemicelulose e lignina dos genótipos de cana-de-açúcar 65

Tabela 3 - Teores de celulose, hemicelulose e lignina em diferentes amostras de bagaço de cana-de-açúcar 75

Tabela 4 - Modelo de proposta para a classificação da cana-de-açúcar em função da composição das fibras (celulose, hemicelulose e lignina) 78

Tabela 5 - Classificação dos genótipos de cana-de-açúcar analisados pela metodologia proposta 80

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma cultura de extrema importância para a economia nacional, sendo o Brasil o maior produtor mundial (BRASIL, 2013). Segundo dados do 1º levantamento da safra 2013/2014, a área cultivada que será colhida e destinada à atividade sucroenergética na safra atual está estimada em 8,893 milhões de hectares (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2013). A previsão é de que aproximadamente 653,81 milhões de toneladas de cana sejam moídas e que sejam produzidos 43,56 milhões de toneladas de açúcar e 25,77 bilhões de litros de etanol (CONAB, 2013).

A agroindústria sucroenergética gera uma grande quantidade de resíduos, como o bagaço e a palha, os quais poderiam ser considerados matérias-primas para a obtenção de produtos de alto valor agregado. O bagaço de cana-de-açúcar é o principal resíduo agroindustrial brasileiro, sendo produzidos cerca de 250 kg de bagaço por tonelada de cana-de-açúcar (CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS - CGEE, 2010). Embora a maior parte do bagaço seja utilizada para fins energéticos, esse material representa um grande potencial para a agroindústria nacional, abrindo espaço para o desenvolvimento de atividades mais nobres do que a geração direta de energia (PITARELO, 2007). O aproveitamento desses recursos pode representar uma atividade econômica importante. No entanto, esses ainda não são totalmente aproveitados como fonte de energia e de insumos para outras indústrias. Vários bioprocessos têm sido propostos para utilização de resíduos provenientes da agroindústria.

As biomassas lignocelulósicas são compostas principalmente de celulose, hemicelulose e lignina, sendo que a proporção de cada um desses componentes depende de uma série de fatores (HERNANDEZ-RAMIREZ, 1988). No caso da cana-de-açúcar, há variedades que apresentam diferentes teores de fibra e, ao pensar em utilizar o material residual para geração de produtos de maior valor agregado, é muito importante conhecer a composição dessa fibra (NÚCLEO INTERDISCIPLINAR DE PLANEJAMENTO ENERGÉTICO – UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2008; INGLEDEW, 2009).

A celulose é um polímero de glicose unido por ligações glicosídicas β1-4, rígida e muito resistente à hidrólise, representando assim um impasse para o uso de biomassas lignocelulósicas em diversas aplicações (DING; HIMMEL, 2006). A

hemicelulose é um polímero de baixa massa molecular composta por pentoses, hexoses, e/ou ácidos urônicos e mais susceptível à hidrólise quando comparada à celulose, uma vez que apresenta menor grau de polimerização (FENGEL; WEGENER, 1989). Por fim, a lignina é uma substância hidrofóbica, com estrutura tridimensional e amorfa, altamente ramificada e sintetizada a partir de três precursores, o álcool coniferílico, o álcool sinapílico e o álcool p-cumarílico (NASCIMENTO, 2007). Possui estrutura bem mais complexa que a dos outros dois componentes e pode afetar o processo de sacarificação da biomassa, sendo que sua remoção facilita a hidrólise da celulose (CHANG; HOLTZAPPLE, 2000).

A busca por fontes renováveis e alternativas ao petróleo tem aumentado, uma vez que tem se notado um aumento da demanda por energia e matérias-primas. A biomassa tem se mostrado como potencial para atender aos desafios de sustentabilidade, pois é um material rico em carbono e que pode ser utilizado alternativamente aos recursos fósseis (RODRIGUES, 2011), além de ser barata e encontrada em grandes quantidades. No contexto do aproveitamento desse material surge o contexto de biorrefinarias, onde são obtidos produtos de alto valor agregado e energia a partir da biomassa (CARVALHEIRO; DUARTE; GÍRIO, 2008), tanto por processos bioquímicos quanto termoquímicos (CGEE, 2010).

Com base em informações da literatura e dos resultados obtidos nessa pesquisa foi proposta uma classificação dos materiais lignocelulósicos em cana-de-açúcar. Espera-se que com essa classificação haja uma padronização das discussões relacionadas à caracterização da fibra da cana-de-açúcar e que esta seja adotada como ferramenta para auxiliar os melhoristas no lançamento de novas variedades comerciais.

Por esses motivos, o propósito do estudo foi avaliar a constituição da fibra de diversos genótipos de cana-de-açúcar com altos teores de fibra, propor um modelo para classificação da cana-de-açúcar de acordo com a composição dessa fibra e investigar o potencial dos genótipos analisados para uso em biorrefinarias na obtenção de produtos como etanol de segunda geração, polietileno verde e xilitol.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma representante da família *Poaceae*. É uma planta originária do sudeste asiático e foi introduzida no Brasil na primeira década do século XIV pelos colonizadores portugueses (SILVA, 2011). Existem várias espécies compreendidas no gênero *Saccharum*, sendo que atualmente as variedades cultivadas comercialmente são híbridas de várias espécies (AGUIRRE JUNIOR, 1936; DANIELS, 1975 apud DINARDO-MIRANDA; VASCONCELOS; LANDELL, 2008).

É uma planta perene e típica de países tropicais, com colmo cilíndrico composto por nós e entrenós, folhas alternadas, opostas e presas aos nós e raiz fasciculada (REIN, 2007).

A cana é uma espécie com grande taxa de assimilação fotossintética e, por isso, com enorme capacidade para produzir biomassa contendo açúcar, amido, proteínas e lignocelulose (DINARDO-MIRANDA; VASCONCELOS; LANDELL, 2008).

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo (UNIÃO DA INDÚSTRIA DA CANA-DE-AÇÚCAR - UNICA, 2013). Segundo dados do 1º levantamento da safra 2013/2014 (CONAB, 2013), a área cultivada que será colhida e destinada à atividade sucroalcooleira na safra citada está estimada em 8,893 milhões de hectares. É possível visualizar que a produção se concentra nas regiões Centro-sul e Nordeste (Figura 1). As áreas em vermelho são as que concentram as plantações e as usinas produtoras de açúcar, etanol e bioeletricidade. O estado de São Paulo permanece como o maior produtor com 51,3% (4.560,88 mil hectares) da área plantada, seguido por Minas Gerais com 9,31% (827,97 mil hectares), Goiás com 9,3% (827,03 mil hectares), Paraná com 7,0% (624,02 mil hectares), Mato Grosso do Sul com 6,6% (586,22 mil hectares), Alagoas com 5,0% (441,25 mil hectares) e Pernambuco com 3,3% (295,39 mil hectares). Nos demais estados produtores as áreas são menores, com representações abaixo de 3,0% (CONAB, 2013).

A previsão é de que aproximadamente 653,81 milhões de toneladas de cana sejam moídas e que sejam produzidos 43,56 milhões de toneladas de açúcar e 25,77 bilhões de litros de etanol (CONAB, 2013).

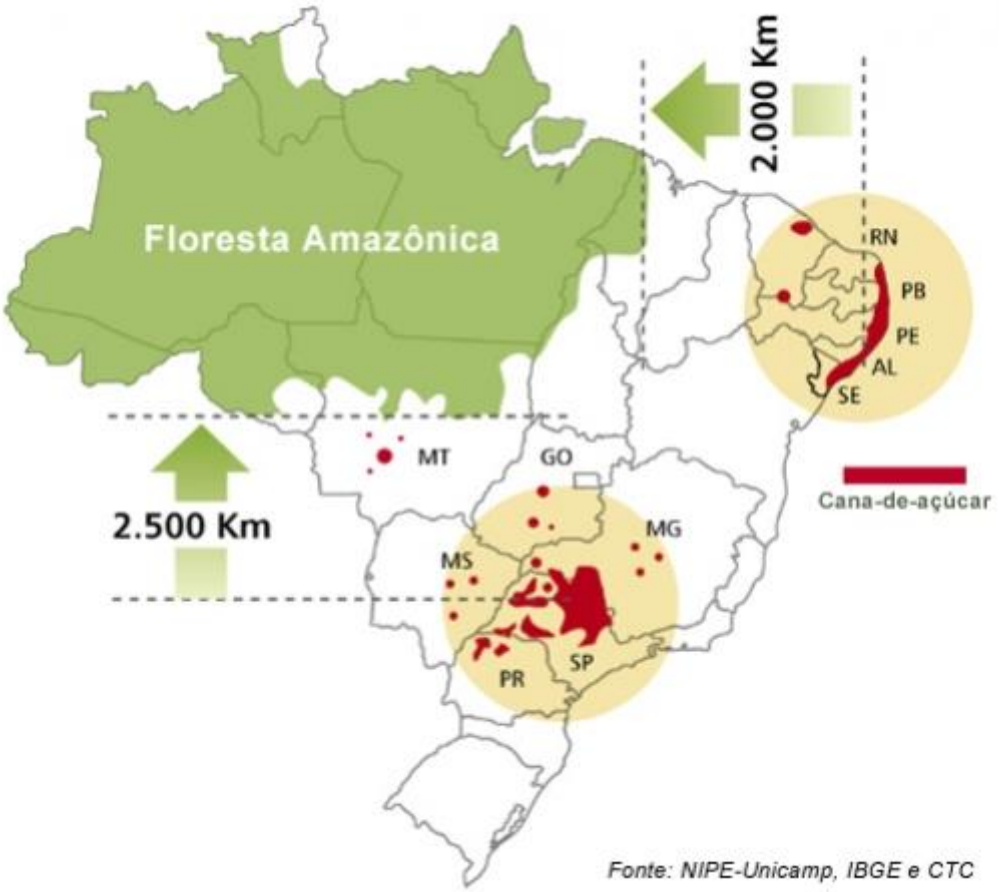

Figura 1 – Mapa da distribuição das áreas de plantações e usinas produtoras de açúcar, etanol e bioeletricidade

Fonte: NIPE-UNICAMP (2008)

2.2 Uso potencial da cana-de-açúcar

No Brasil, a cana é utilizada principalmente para a produção de açúcar, etanol e bioenergia. O Brasil é também o 1º Produtor Mundial de Açúcar, responsável por 25% da produção mundial e 50% das exportações mundiais. E o 2º Produtor Mundial de Etanol, sendo responsável por 20% da produção mundial e 20% das exportações mundiais (UNICA, 2013).

Durante o processamento da cana, separa-se do colmo, o caldo e o bagaço. O caldo é utilizado para a produção de açúcar e etanol. Geralmente, esse bagaço é queimado para geração de calor e eletricidade para uso na própria usina e/ou para comercialização, visando minimizar problemas com a crise no fornecimento de energia elétrica (RABELO, 2007).

Os resíduos da produção sucroalcooleira que podem ser utilizados na produção de eletricidade via co-geração são o bagaço, a palhada e os ponteiros da cana, além do vinhoto das destilarias de álcool. Do total da energia contida na cana, o álcool responde por cerca de um terço. O restante é distribuído entre o bagaço, os ponteiros e a palhada. A co-geração é o processo de transformação de determinada forma de energia em mais de uma forma de energia útil. As mais comuns são: mecânica (para movimentar máquinas, equipamentos e turbinas de geração de energia elétrica) e térmica (para geração de vapor, frio ou calor). Segundo Oddone (2001), a co-geração tem alta eficiência energética, pois não há desperdício de energia térmica (como ocorre nas termelétricas puras), pois é utilizada em processos industriais como secagem, evaporação, aquecimento, cozimento, destilação, entre outros.

Alternativamente à co-geração, o bagaço ainda pode ter uso fora das usinas e destilarias, como insumo volumoso de ração animal, na fabricação de papel, na fabricação de elementos estruturais e até na produção de álcool combustível adicional, por hidrólise. Portanto, passa a ser importante o custo de oportunidade do aproveitamento do bagaço, em virtude das múltiplas alternativas disponíveis (ERNESTO, 2009).

2.3 Biomassa Lignocelulósica

Grande quantidade de material lignocelulósico é gerada no mundo. O interesse pelo eficiente aproveitamento dessa biomassa tem crescido nos últimos anos. Vários bioprocessos têm sido desenvolvidos utilizando-o como substrato para a produção de diversas moléculas com alto valor agregado, tais como: proteínas microbianas, ácidos orgânicos, etanol, enzimas e metabólitos secundários biologicamente ativos (ALEXANDRINO et al., 2007). Desta forma, o uso de resíduos agrícolas como matérias-primas em bioprocessos pode permitir a produção de compostos com diversas aplicações industriais, além de ajudar a reduzir os impactos ambientais decorrentes de sua deposição na natureza (TAMANINI; HAULY, 2004).

Devido à grande biodiversidade existente em seu território, o Brasil possui uma enorme variedade de resíduos agrícolas e agroindustriais cujo bioprocessamento seria de grande interesse econômico. Como exemplo tem-se os

resíduos provenientes de indústrias de papel e celulose, serrarias, usinas de açúcar e álcool e de unidades de produção agrícola (RAMOS, 2000).

2.3.1 Bagaço de cana-de-açúcar

Atualmente, o bagaço de cana é um dos subprodutos lignocelulósicos mais abundantes no Brasil (FONSECA, 2009).

Durante o processamento da cana, o caldo contido nos colmos é separado do bagaço. Para cada tonelada de cana-de-açúcar processada podem ser gerados cerca de 280 kg de bagaço (NASCIMENTO, 2007). Embora a maior parte do bagaço seja utilizada para fins energéticos, esse material representa um grande potencial para a agroindústria nacional, abrindo espaço para o desenvolvimento de atividades mais nobres do que a geração direta de energia. (PITARELO, 2007).

Esse material é uma das principais biomassas lignocelulósicas que podem ser utilizadas para a conversão em bioprodutos, pois possui alta concentração de carboidratos, baixo conteúdo relativo de lignina, é de fácil utilização e tem baixo custo de transporte e de armazenagem (PANDEY et al., 2000), além de já vir processado das moendas e estar disponível em grandes quantidades (OLIVÉRIO; HILST, 2005 apud RABELO, 2007).

Na Tabela 1 é apresentada a composição química média do bagaço de cana. Diversos fatores podem influenciar a composição do mesmo, como a variedade, a maturidade, os métodos de colheita e a eficiência da unidade de moagem da usina e/ou destilaria (HERNANDEZ-RAMIREZ, 1988), podendo apresentar ainda variações quando tiver sido submetido a pré-tratamentos químicos e/ou físicos .

Tabela 1 – Composição química média do bagaço de cana-de-açúcar

Componente	**Teor (% base seca)**
Composição química média	
Carbono	39,7 – 49
Oxigênio	40 – 46
Hidrogênio	5,5 - 7,4
Nitrogênio e cinzas	0 - 0,3
Propriedades físico-químicas	
Umidade	1. 50
Fibra	**2. 46**
Brix	3. 2
Impurezas minerais	4. 2
Composição média da fibra do bagaço	
Celulose	26,6 - 54,3
Hemicelulose	14,3 - 24,4
Lignina	22,7 - 29,7

Fonte: Mello Jr. (1989) apud Silva, Gomes e Alsina (2007)

Para Camargo (1990), o bagaço de cana pode ser empregado como matéria-prima em aplicações que não constituem uso industrial propriamente dito. Para este autor, entre as aplicações mais promissoras se destacam: a formulação de ração animal para criação de gado de corte em regime de confinamento e a obtenção de compostos fertilizantes.

Segundo Lahr Filho, Ghiraldini e Rossel (1996), o Brasil é um país privilegiado quanto ao aproveitamento dos subprodutos obtidos no processamento da cana, devido ao grande volume gerado. Carvalho (1997) responsabiliza o lançamento do PROÁLCOOL em 1975/76, pelo crescimento constante da produção de cana-de-açúcar e, consequentemente, o inevitável acúmulo de resíduos.

Como matéria-prima industrial, a quantidade de bagaço de cana utilizada ainda não é grande, apesar das quantidades disponibilizadas. Entre os possíveis processos de aproveitamento pode-se citar a sua utilização para a produção de papel e celulose, furfural, metanol, etanol, produtos oriundos da hidrólise do bagaço.

As perspectivas do uso do bagaço de cana podem ser divididas em dois grupos: como matéria-prima industrial ou como insumo energético (RUSSOMANO, 1987).

2.4 Composição dos materiais lignocelulósicos

Segundo Pandey et al. (2000), os materiais lignocelulósicos são constituídos principalmente de celulose, hemicelulose e lignina (Figura 2). Sua composição depende de diversos fatores como o tipo de vegetal, as condições de crescimento, a parte da planta escolhida, o tempo de colheita, entre outros (SILVA, 2010).

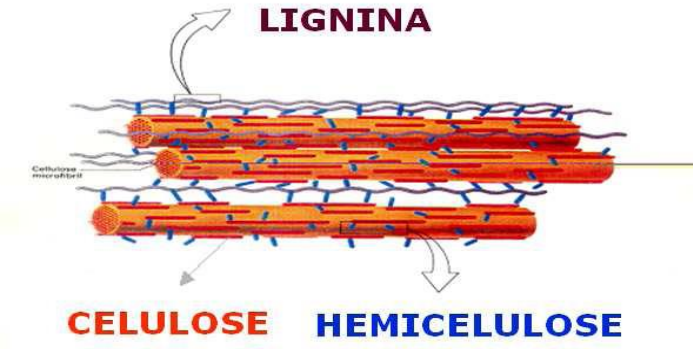

Figura 2 – Complexo lignocelulósico: cadeias de celulose envolvidas por hemicelulose e lignina
Fonte: Pereira Jr. et al. (2008)

2.4.1 A parede celular vegetal

A parede celular é fundamental para o desenvolvimento das plantas. Possui várias funções, como definir o tamanho e a forma da célula, conferir resistência mecânica e proteção contra o ataque de predadores e patógenos, promover a adesão entre as células, delimitar o tamanho e as propriedades físico-químicas das moléculas que tem acesso ao interior da célula, controlar o nível de umidade e ainda pode funcionar como reserva (BUCKERIDGE; SANTOS; SOUZA, 2011).

É composta por fibras de celulose, polissacarídeos, proteínas e lipídeos e constitui-se por 4 camadas: a lamela média (mais externa) e as paredes primária, secundária e, em certos casos, a terciária (PAIS; BARROSO, 2005).

A lamela média contém pectinas e lipídeos. As pectinas são polímeros de açúcar e tem como função a ligação das paredes celulares de células adjacentes. Já

os lipídeos protegem a parede de diversos tipos de agressão (GLÓRIA; GUERREIRO, 2009).

A parede primária constitui-se basicamente de um sistema de duas fases: microfibrilas de celulose incluídas em uma matriz de proteínas e polissacarídeos não celulósicos (hemiceluloses e pectinas). Possui alto teor de água (65%), e o restante, que corresponde à matéria seca, é composto de 90% de polissacarídeos (30% de celulose, 30% de hemicelulose e 30% de pectina) e 10% de proteínas (GLÓRIA; GUERREIRO, 2009).

A parede secundária forma-se por incrustação e deposições sucessivas de fibrilas de celulose e outros compostos. Diferentemente da parede primária que apresenta a mesma estrutura em quase todos os tipos de células e em todas as espécies, ela pode possuir características específicas de cada tipo de tecido e de cada espécie vegetal (PAIS; BARROSO, 2005). Possui teor de água reduzido, devido à deposição de lignina (polímero hidrofóbico) e matéria seca constituída de 65 a 85% de polissacarídeos (50 a 80% de celulose e 5 a 30% de hemicelulose) e 15 a 35% de lignina. Embora a etapa de lignificação esteja associada à parede secundária, ela geralmente inicia-se na lamela média e parede primária (GLÓRIA; GUERREIRO, 2009).

As paredes celulares interagem entre si formando uma estrutura fortemente ligada. Apesar de ser rígida, ela permite a percepção e a transferência de sinais químicos entre as diferentes células de um tecido e/ou com o exterior, como a excreção de compostos (PAIS; BARROSO, 2005).

O domínio celulose-hemicelulose da parede celular é composto por moléculas de celulose que se alinham paralelamente, formando uma microfibrila sobre as quais se aderem às hemiceluloses (Figura 3) (BUCKERIDGE; SANTOS; SOUZA, 2011).

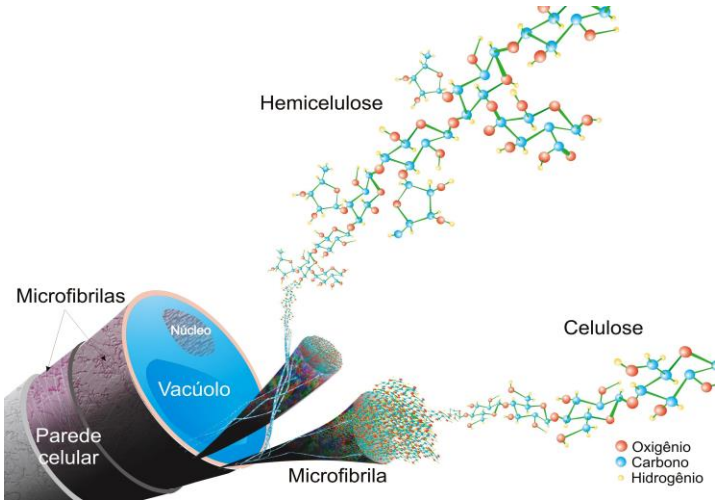

Figura 3 – Esquema da parede celular vegetal
Fonte: Buckeridge, Santos e Souza (2011)

A Figura 3 ilustra a estrutura de uma microfibrila, que contém 36 moléculas de celulose depositadas umas sobre as outras. Uma das moléculas de celulose se apresenta aumentada e prolongada, mostrando as unidades de glicose ligadas entre si por ligações do tipo β-1,4. É mostrada em detalhe também uma molécula de hemicelulose (o glucuronoarabinoxilano) (BUCKERIDGE; SANTOS; SOUZA, 2011).

Na Figura 4 é possível verificar o arranjo dos polímeros que constituem as microfibrilas da parede celular.

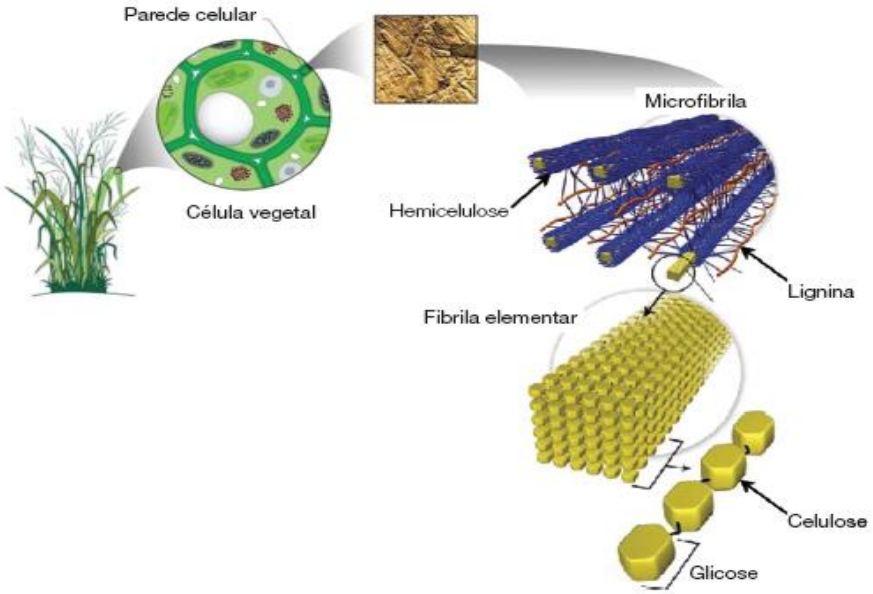

Figura 4 – Arquitetura da parede celular vegetal
Fonte: Canilha (2010)

2.4.1.1 Celulose

A celulose corresponde a aproximadamente 40% de toda a reserva de carbono disponível no vegetal. Seu conteúdo varia de 20 a 99% e está presente em todos os vegetais, desde os mais simples até as árvores mais complexas (RABELO, 2007).

É o constituinte mais abundante da parede celular vegetal e é definido como um homopolissacarídeo composto por unidades de D-glicose unidas entre si por ligações glicosídicas β1-4 (ARANTES; SADDLER, 2010), representadas na Figura 5.

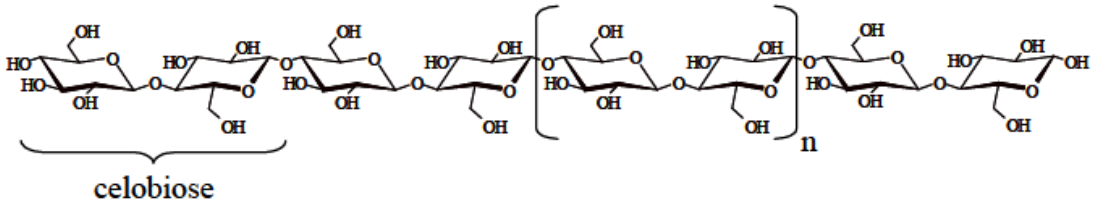

Figura 5 – Representação da cadeia linear da celulose, formada por unidades consecutivas de celobiose

Fonte: Tímár-Balázsy e Eastop (1998)

Nos vegetais, várias moléculas de celulose se unem paralelamente por pontes de hidrogênio (Figura 6), arranjando-se em fibrilas que se encontram ligadas à hemicelulose e à lignina (MATULOVA et al., 2005 apud LIMA; RODRIGUES, 2007). Como consequência da associação de diversos polímeros que compõem o vegetal, consegue-se um material muito resistente à tensão e insolúvel em uma enorme gama de solventes, o que explica sua resistência à degradação microbiana (DING; HIMMEL, 2006).

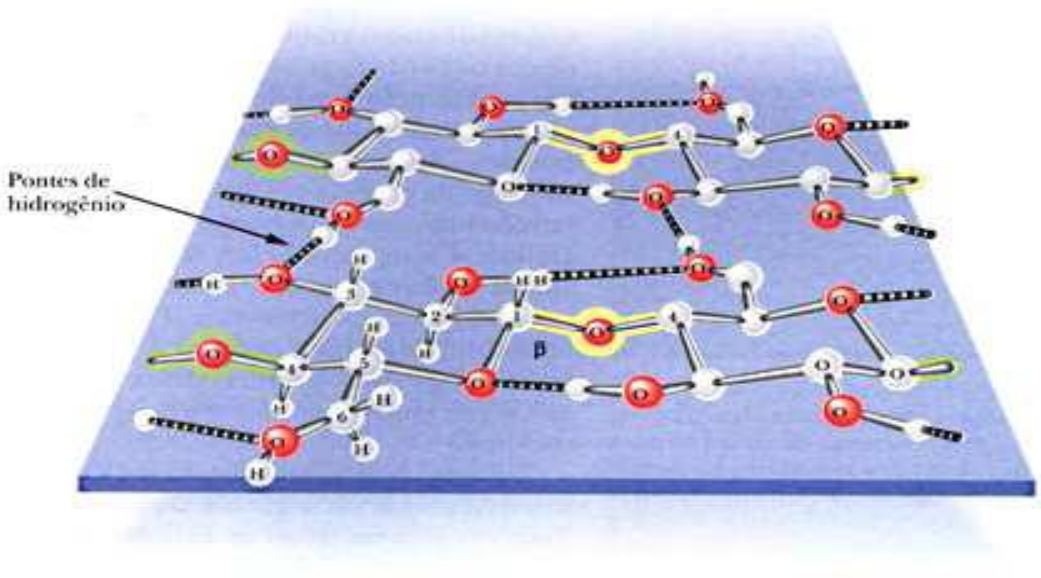

Figura 6 – Representação das cadeias de celulose ligadas por pontes de hidrogênio
Fonte: Campbell (2000) apud Aguiar (2010)

As ligações intermoleculares, que ocorrem entre unidades de glicose de moléculas adjacentes são responsáveis pela rigidez da parede, já as intramoleculares, que ocorrem entre unidades de glicose são responsáveis pela formação das fibrilas, que são estruturas altamente ordenadas que se associam formando as fibras de celulose (SILVA, 2010).

As fibrilas apresentam regiões com alto grau de cristalinidade e outras com menor grau de ordenação, as chamadas regiões amorfas. Na região cristalina, as fibras são mais resistentes mecanicamente e ao alongamento e à solvatação (absorção de solvente) do que na amorfa, que é onde a fibra possui maior flexibilidade (VÁSQUEZ et al., 2007).

A cadeia de celulose tem comprimento que pode variar de 10 a 15 mil resíduos, variando de acordo com a sua origem, o grau de maturação da parede celular, o tempo de envelhecimento e o processamento a que as fibras foram submetidas (FENGEL; WEGENER, 1989).

Existem duas propriedades importantes para a classificação das celuloses: o grau de polimerização e o índice de cristalinidade. O primeiro diz respeito à frequência de ligações glicosídicas disponíveis para a ação das celulases e pode ser definido baseando-se no número médio de monômeros e no peso molecular do polímero. Já o índice de cristalinidade relaciona-se à reatividade do substrato (D`ALMEIDA, 1988 apud ESTEVES, 2011). Tais características, juntamente com a

lignina, resultam em uma macromolécula altamente resistente à hidrólise, representando assim um impasse para o uso de biomassas lignocelulósicas em diversas aplicações (ARANTES; SADDLER, 2010).

Diversos autores tem sugerido que a celulose amorfa, que tem maior área superficial, é mais suscetível à hidrólise enzimática do que a forma cristalina (PITARELO, 2007).

2.4.1.2 Hemicelulose

Segundo Palma (1993) as hemiceluloses, também chamadas de polioses, são o segundo tipo de polissacarídeo mais importante da parede celular e correspondem a entre 15 a 35% da sua composição. São definidas como uma classe heterogênea de polissacarídeos de baixa massa molecular composta por pentoses, hexoses, e/ou ácidos urônicos (Figura 7) (GÍRIO et al., 2010). São estruturalmente mais semelhantes com a celulose do que com a lignina e depositam-se na parede celular em uma etapa anterior à lignificação.

Apresentam maior susceptibilidade à hidrólise ácida, uma vez que oferecem maior acessibilidade aos ácidos comumente usados como catalisadores. Isso acontece devido ao caráter relativamente amorfo desses polissacarídeos, que geralmente apresentam grau de polimerização bem menor que o da celulose (FENGEL; WEGENER, 1989).

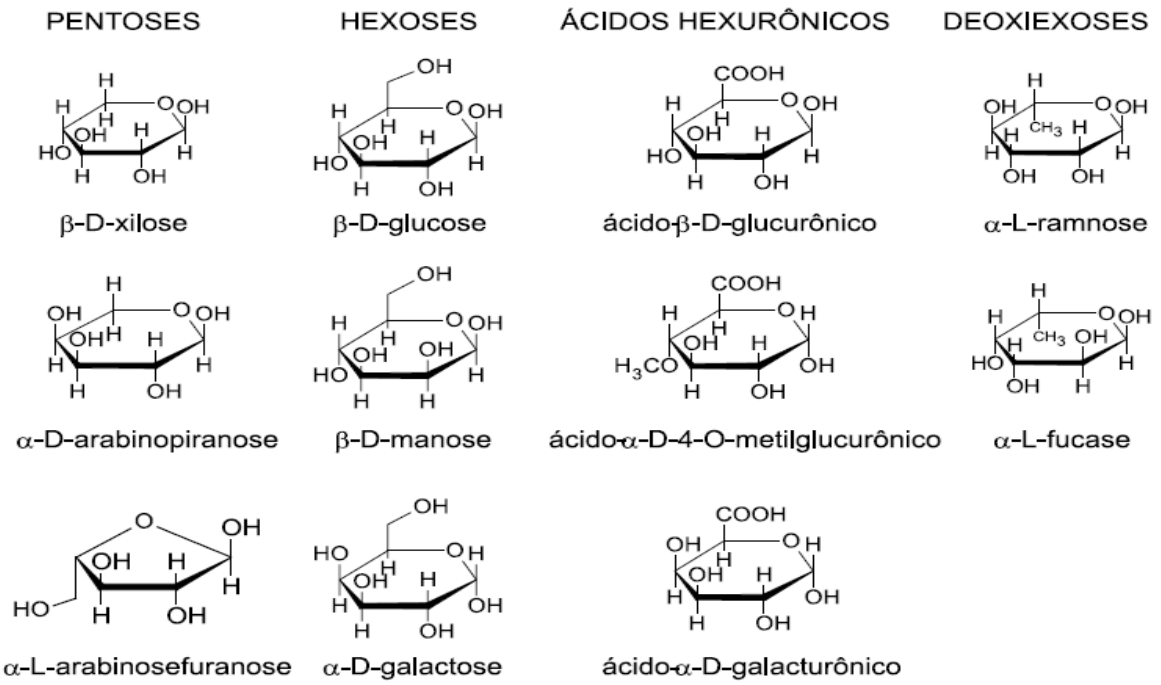

Figura 7 – Carboidratos que compõem as unidades de hemicelulose

Fonte: Rodrigues e Camargo (2008)

Geralmente são classificadas de acordo com o resíduo de açúcar principal, como por exemplo xilanas, mananas e glucanas (WYMAN et al., 2005). Diferentes subclasses de hemiceluloses podem ser encontradas, dependendo da espécie vegetal, do estágio de desenvolvimento, do tipo de tecido. Dentre elas pode-se citar: glucuronoxilanas, arabinoxilanas, mananas lineares, glicomananas, galactomananas, galactoglicomananas, β-glucanas e xiloglucanas. As estruturas de algumas hemiceluloses podem ser visualizadas na Figura 8.

Algumas têm função de estabilizar a parede celular através de pontes de hidrogênio com a celulose e de ligações covalentes com a lignina. Outras podem ser utilizadas como energia extracelular, como sistema de armazenagem de produtos brutos e como mecanismo de retenção de água em sementes (WYMAN et al., 2005).

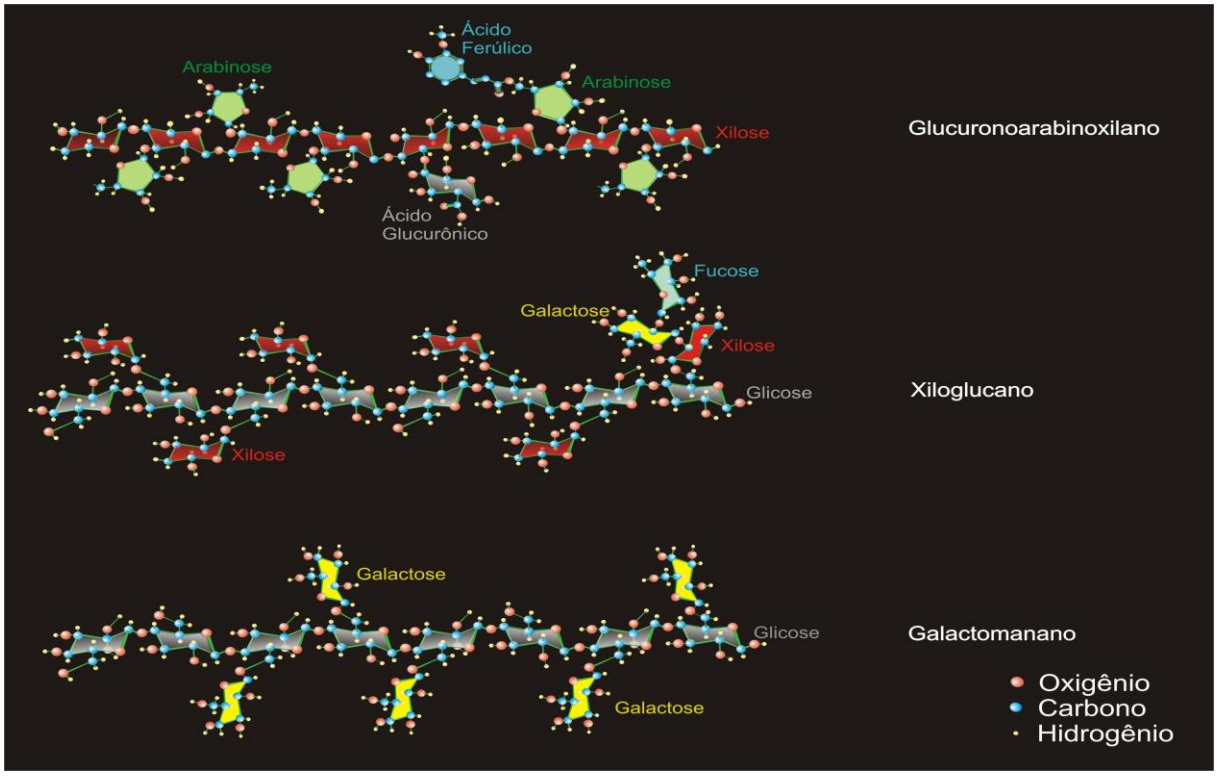

Figura 8 – Estrutura química das principais hemiceluloses de parede celular de plantas

Fonte: Buckeridge, Santos e Souza (2011)

2.4.1.3 Lignina

Depois da celulose, a lignina é a macromolécula mais abundante existente na biosfera. É definida como uma substância hidrofóbica, com estrutura tridimensional e amorfa, altamente ramificada (SILVA, 2011).

É o terceiro componente principal da parede celular vegetal, correspondendo de 20 a 30%. O mecanismo de síntese da lignina se dá a partir de três precursores monoméricos: o álcool coniferílico, o álcool sinapílico e o álcool p-cumarílico (Figura 9) (NASCIMENTO, 2007).

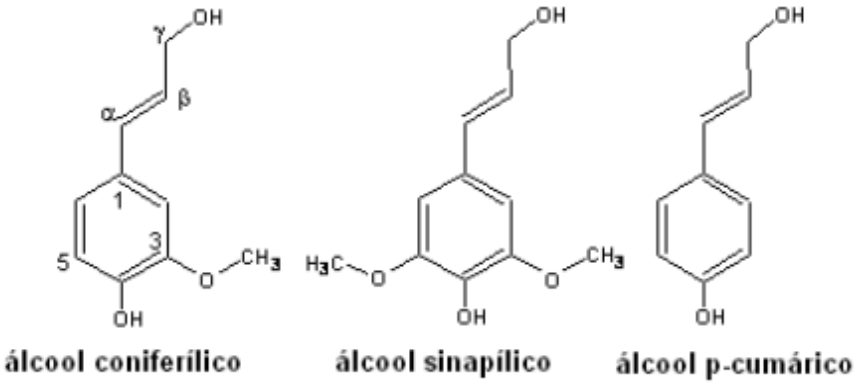

Figura 9 – Estrutura dos álcoois precursores da lignina
Fonte: Sjötöm (1992) apud Pitarelo (2007)

Durante o desenvolvimento das plantas, a lignina é incorporada como o último componente da parede celular, interpenetrando as fibrilas, acarretando no fortalecimento da parede (MARABEZI, 2009). Tem como principais funções o transporte de água, nutrientes e metabólitos, a resistência mecânica dos vegetais e proteção dos tecidos contra o ataque de patógenos e/ou pragas (CAMPBELL; SEDEROFF, 1996).

Sua estrutura é bem mais complexa do que a da celulose e da hemicelulose devido à presença de diversas unidades precursoras e ao grande número de combinações possíveis entre as mesmas (MARABEZI, 2009).

A parede celular de gramíneas, como a cana-de-açúcar, difere da de outras espécies quando se trata da composição da lignina (CARPITA; GIBEAUT, 1993). Essa composição é similar entre mono e dicotiledôneas, no entanto, as primeiras possuem uma pequena, mas significativa, quantidade da unidade hidroxifenil (4 a 15%), enquanto que nas dicotiledôneas ela é encontrada em pequena porcentagem (GRABBER et al., 2004).

As gramíneas contêm também teores substanciais de ácido ferúlico e cumarílico que são esterificados e eterificados na parede. Acredita-se que o ácido ferúlico seja responsável pela interação entre a lignina e os outros componentes da parede, além de atuar como inibidor no processo de sacarificação da celulose e da hemicelulose e da fermentação de açúcares na produção de etanol (HATFIELD et al., 1994 apud DAMASCENO et al., 2010).

O processo de sacarificação pode ser afetado pela lignina de duas formas, acarretando na necessidade de maiores concentrações de enzimas, inviabilizando o processo:

1) Pode ocorrer sua adsorção irreversível às enzimas hidrolíticas, bloqueando sua ação na celulose (CHERNOGLAZOV et al., 1988; CONVERSE, 1993; PALONEN et al., 2004 apud DAMASCENO et al., 2010);
2) Por ser hidrofóbica, pode impedir que a fibra celulósica se entumeça, reduzindo a superfície acessível às enzimas (MOONEY et al., 1998 apud DAMASCENO et al., 2010).

Segundo Chang e Holtzapple (2000), a remoção da lignina é um fator preponderante para melhorar a digestibilidade enzimática das biomassas lignocelulósicas. Draude, Kurniawan e Duff (2001), demonstraram que a remoção de 67% da lignina da polpa da madeira se mostrou suficiente para aumentar em até duas vezes a taxa de hidrólise da celulose e em quase três vezes os teores de açúcares resultantes da conversão.

Devido às suas propriedades físico-químicas e às limitações que ela pode causar durante a sacarificação, o estudo de sua biossíntese é um ponto chave no controle para obtenção de materiais mais adequados para produção de outros compostos (DAMASCENO et al., 2010).

2.5 Aplicação dos componentes celulose, hemicelulose e lignina em biorrefinarias

Atualmente, as necessidades em termos de energia são supridas principalmente pelos combustíveis fósseis. Estas são provenientes de reservas finitas e a sua exploração tem acarretado em problemas ambientais, tais como o efeito estufa, ocasionado pela queima desse tipo de combustível. A busca por fontes alternativas renováveis tem aumentado, uma vez que se verifica um constante aumento da demanda energética e de matéria-prima. A biomassa apresenta grande potencial para atender aos desafios da sustentabilidade, pois é um material rico em carbono e que pode ser utilizado alternativamente aos recursos fósseis (RODRIGUES, 2011). Além disso, é abundante, barata e facilmente encontrada, sendo estes incentivos para seu aproveitamento, permitindo a coprodução de

combustíveis, compostos químicos, eletricidade e calor (KUMAR; SINGH; SINGH, 2008). Neste contexto, surge o conceito de biorrefinaria que é um complexo industrial similar a uma refinaria de petroquímica, onde são obtidos produtos de alto valor agregado e energia a partir da biomassa (CARVALHEIRO; DUARTE; GÍRIO, 2008). As previsões atuais indicam que por volta de 2025, mais de 30% das matérias-primas para a indústria química serão produzidas a partir de fontes renováveis (PERVAIZ; CORREA, 2009).

A biomassa é composta por carboidratos, lignina, proteínas, gorduras e em menor proporção por várias outras substâncias, como vitaminas, carotenoides e pigmentos. O principal objetivo da biorrefinaria é converter esses compostos em produtos úteis através de uma combinação de processos e tecnologias (RODRIGUES, 2011).

Diferentemente das refinarias de petróleo, que são unidades industriais de grande porte, as biorrefinarias deverão englobar instalações dos mais variados tamanhos. Muitas poderão combinar seu fluxo de material para atingir uma completa utilização de todos os componentes da biomassa. Por exemplo, o resíduo de uma agroindústria, como a lignina de uma planta de etanol celulósico, poderá ser aproveitada por outras indústrias próximas formando sistemas integrados (RODRIGUES, 2011).

A composição das biomassas não é homogênea, sendo que isto pode ser tanto uma vantagem como uma desvantagem. A vantagem é que as biorrefinarias podem produzir uma maior gama de produtos do que uma refinaria de petróleo e a desvantagem é que é necessário um número maior de processos tecnológicos, além do fato de que muitos desses processos ainda estão em fase de desenvolvimento (KAMM; GRUBER; KAMM, 2012).

Diferentes tecnologias são empregadas para a obtenção de produtos químicos e combustíveis a partir dos componentes de biomassa lignocelulósica. A conversão bioquímica é usada para processar os componentes açúcares da celulose e hemicelulose para convertê-los em etanol pela fermentação (OGEDA; PETRI, 2010). Já a conversão química através da hidrólise ácida pode levar à produção do ácido levulínico (a partir de polissacarídeos C6) e furfural (a partir de polissacarídeos C5) (HAMELINCK; van HOOIJDONK; HAAIJ, 2005). O terceiro componente da biomassa lignocelulósica, a lignina, não é fermentável, mas pode ser queimada para gerar eletricidade e calor, ou passar por tratamentos termoquímicos para produzir

biocombustíveis (diesel-FT a partir de gás de síntese depois da gaseificação) e produtos químicos (pela pirólise) (BRIDGWATER, 2003). Além disso, todos os três componentes principais da biomassa podem ser gaseificados para gás de síntese ou pirolisados para bio-óleo, os quais podem ser transformados para produzir biocombustíveis ou bioquímicos (ZHANG et al., 2007).

2.5.1 Conceito de biorrefinaria

A definição de biorrefinaria surgiu durante a *Farm Bill* de 2002, onde foi definida como instalações, equipamentos e processos que convertem a biomassa em biocombustíveis ou produtos químicos e que ainda podem gerar eletricidade (BASTOS, 2007). O conceito foi ampliado, de modo que passou a contemplar instalações que usem *commodities* agrícolas, como a biomassa e seus resíduos, fontes renováveis e de baixo valor agregado, para produzir um conjunto de produtos de alto valor agregado, como combustíveis, produtos químicos, energia e outros materiais de interesse, em uma combinação ótima, maximizando o valor da biomassa e, consequentemente, o retorno financeiro do investimento (BASTOS, 2007; SILVA, 2010; SANTOS; BORSCHIVER; COUTO, 2013).

Uma biorrefinaria tem como principal objetivo a obtenção de diversos produtos a partir de uma série de operações unitárias. Essas operações são definidas para maximizar a extração de compostos de interesse e minimizar a geração de resíduos e gases nocivos. Ela funciona de forma similar a refinaria de petróleo, com a diferença que usa matérias-primas que contribuem para a redução da poluição ambiental (NATIONAL RENEWABLE ENERGY LABORATORY - NREL, 2004).

A previsão é de que nos próximos 15 anos as biomassa serão responsáveis por cerca de um terço das matérias-primas a serem utilizadas pela indústria química e para que isso ocorra, é indispensável que novas tecnologias para as plataformas de biorrefinarias sejam desenvolvidas, um exemplo seria a biorrefinaria para conversão de matérias-primas lignocelulósicas (PERVAIZ; CORREA, 2009).

2.5.2 Biorrefinaria de materiais lignocelulósicos

Um grande número de moléculas de interesse econômico contidas nos materiais lignocelulósicos tem sido descobertas pela indústria. Assim, a aplicação desses materiais nas chamadas biorrefinarias seria de enorme interesse (RODRIGUES, 2011). O uso dessa biomassa nesse contexto pode se dar por duas plataformas, a bioquímica e a termoquímica. A primeira se baseia em processos químicos ou bioquímicos de conversão de açúcares obtidos a partir de hidrólise (química ou enzimática). Já a outra se baseia na conversão termoquímica da matéria-prima bruta sob altas temperaturas, na presença de oxigênio (gaseificação) para produção de "*syngas*" ou na ausência de oxigênio (pirólise) para produção de um bio-óleo, que após sofrer um processo de hidrodeoxigenação resulta em uma mistura similar ao petróleo bruto (ZHANG et al., 2007).

Na prática, mesmo se tratando de um conceito relativamente novo, a estruturação sob a forma de biorrefinaria, no sentido estrito que tange o aproveitamento de biomassas residuais, já é praticada em alguns setores da indústria. No Brasil, são exemplos o setor sucroenergético e a indústria de papel e celulose. No entanto, apesar do máximo aproveitamento das biomassas, a indústria, de um modo geral, agrega pouco valor ao uso das frações que compõem essa biomassa. Isto se deve, em parte, à falta de conhecimento, oportunidades e comportamento empreendedor (CGEE, 2010).

O Brasil possui posição de destaque para assumir liderança no aproveitamento integral de biomassas, uma vez que tem um dos maiores potenciais de matérias-primas renováveis do mundo. Isso se deve ao fato do país possuir grande disponibilidade de culturas agrícolas de grande extensão, com destaque para a indústria canavieira; possuir intensa radiação solar; água em abundância; diversidade de clima e pioneirismo na produção de biocombustível em larga escala, o etanol. Além disso, reúne condições para ser o principal receptor de recursos de investimentos, provenientes do mercado de carbono para o segmento de produção e uso de bioenergia, por ter no meio ambiente sua maior riqueza e possuir enorme capacidade de absorção e regeneração atmosférica (CGEE, 2010).

A crescente mecanização da colheita da cana-de-açúcar e o consequente abandono da queima da palha da cana no campo disponibiliza uma grande quantidade de biomassa que, se adequadamente aproveitada, perde o estigma de

material indesejável e ganha o status de subproduto com valor econômico. Atualmente, algumas empresas do setor sucroenergético já estão gradualmente incorporando a palha no bagaço para uso como combustível nas caldeiras, sendo que a aplicação desse material em biorrefinarias poderá dar utilização mais nobre ao mesmo (BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECON/ÕMICO E SOCIAL - BNDES; CGEE, 2008). Isto pode ser conseguido, em parte, por meio das rotas tecnológicas mencionadas nos itens 2.5.3 e 2.5.4 (SZWARCK, 2013).

2.5.3 Biorrefinarias – Rotas bioquímicas

As matérias-primas lignocelulósicas, principalmente os resíduos da agroindústria, têm sido objeto de intensivas pesquisas em todo o mundo por se constituírem em fontes renováveis de carbono e energia disponíveis em grandes quantidades (CGEE, 2010).

Grande número de segmentos da indústria, como o de combustíveis líquidos, de alimentos/rações e de insumos químicos poderá ser revolucionado pelo aproveitamento integral e racional das matérias-primas lignocelulósicas. Isto pode trazer benefícios para países de grandes extensões territoriais e de elevada produtividade de biomassa. O bagaço de cana-de-açúcar é um dos principais resíduos agroindustriais brasileiro, sendo produzidos cerca de 280 kg de bagaço por tonelada de cana-de-açúcar (DIAS et al., 2009). Apesar do grande potencial desta matéria-prima, cerca de 50% desse resíduo agroindustrial é queimado nas usinas para produção de energia e uma fração menor é empregada na composição de ração animal, havendo ainda excedentes (RABELO et al., 2011).

O uso efetivo dos materiais lignocelulósicos em processos microbiológicos esbarra em dois obstáculos principais: a estrutura cristalina da celulose, que a torna altamente resistente à hidrólise e a associação lignina-celulose, que constitui uma barreira física que impede o acesso enzimático ou microbiológico ao substrato (MELO, 2007). A hidrólise ácida da celulose apresenta o inconveniente de requerer o emprego de elevadas temperatura e pressão, levando à destruição de parte dos carboidratos e à obtenção de produtos de degradação tóxicos aos microrganismos (CGEE, 2010). A sacarificação enzimática, por sua vez, requer o emprego de pré-tratamentos físicos (moagem, aquecimento, irradiação) ou químicos (ácido sulfúrico,

ácido fosfórico, álcalis), para atingir rendimentos viáveis (SANTOS; BORSCHIVIER; COUTO, 2013).

Os norte-americanos têm feito alto investimento nesse conceito, visando reestruturar sua indústria, principalmente a alcooleira. A ideia de criar um “cinturão” de processos apresenta diversas vantagens logísticas, principalmente de transporte de matéria-prima, escoamento de produtos e oferta de serviços. No Brasil, essa nova estrutura industrial ainda está em estágio de germinação, sendo crescentemente estudada (CGEE, 2010).

2.5.4 Biorrefinarias – Rotas termoquímicas

A visão de se ter uma refinaria totalmente dedicada à biomassa é parte de um conceito mais abrangente que se denomina XTL, ou seja, a transformação de qualquer fonte de carbono (X) em frações líquidas de alto valor agregado (TL = to liquids). Desta forma, XTL engloba tanto tecnologias tradicionais tais como GTL (gas-to-liquids) e CTL (coal-to-liquids), como também outras mais inovadoras do tipo BTL (biomass-to-liquids) e PTL (petroleum-to-liquids). A Figura 10 apresenta o conceito de uma refinaria XTL.

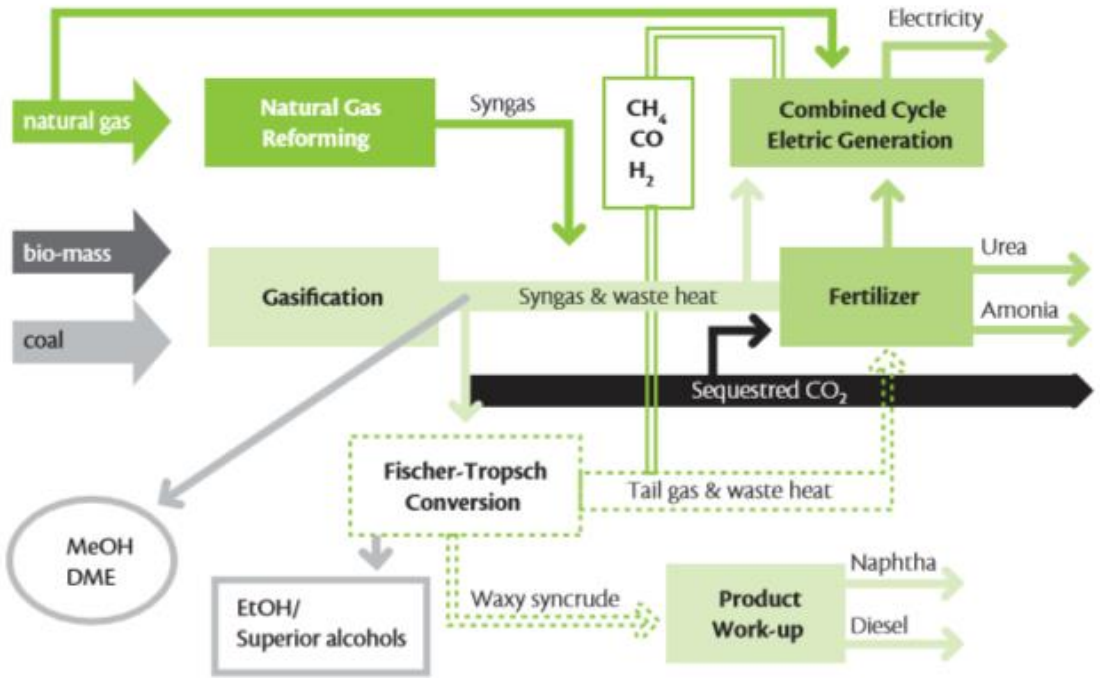

Figura 10 – O conceito de uma refinaria XTL (X= gás natural, carvão ou biomassa)
Fonte: CGEE (2010)

Ao se considerar apenas a parte relativa à biomassa, constata-se que, independentemente de sua origem (sacarínea, amilácea, celulósica ou oleaginosa) ou forma (bagaço, palha, rama seca, óleo, cavacos, etc.), a biomassa deverá sofrer um tratamento termoquímico para transformar-se em gás de síntese (CO + H_2), segundo uma rota denominada gaseificação. Esta é a base do conceito de "biorrefinarias rota termoquímica". A partir do gás de síntese, que é uma molécula básica, uma enorme gama de produtos pode ser delineada, conforme apresentado na Figura 11, proposta pelo National Renewable Energy Laboratory (NREL) dos EUA e adaptada pelo CGEE (2010).

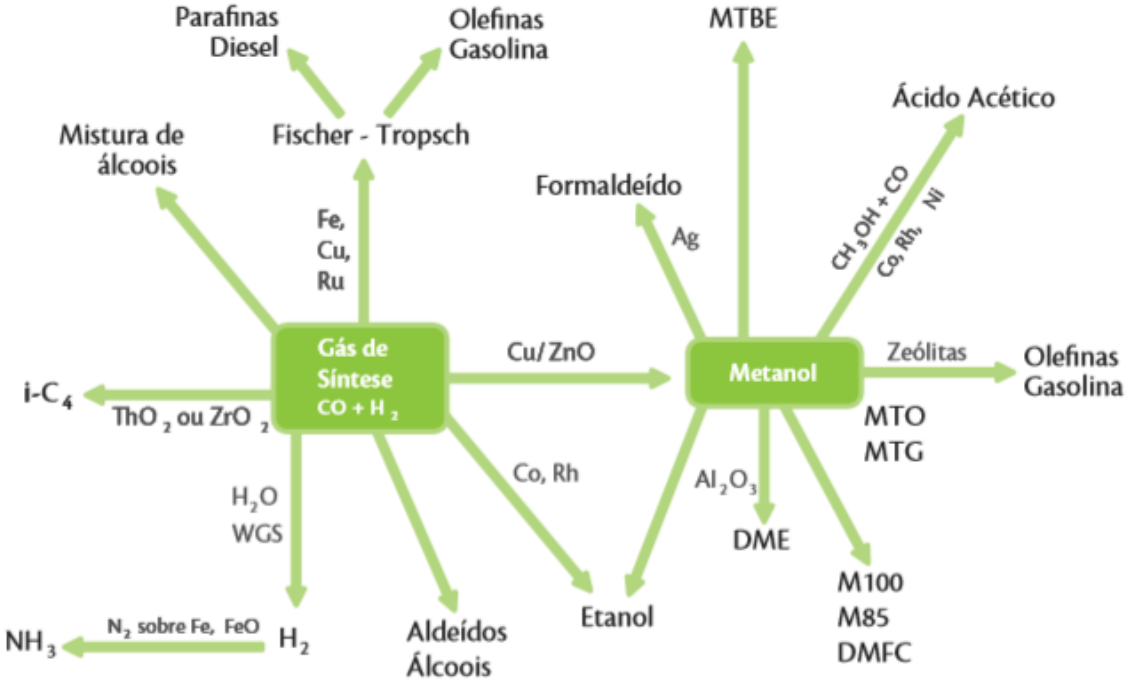

Figura 11 – Rotas potenciais a partir de gás de síntese

Fonte: CGEE (2010) adaptada de NREL

2.5.5 Bioprodutos

2.5.5.1 Produtos da celulose

A hidrólise completa da celulose gera glicose, que pode ser convertida em diversas substâncias tanto por processos químicos quanto bioquímicos. Pode-se dizer que a glicose, por ter uma via metabólica exclusiva e comum à grande maioria dos seres vivos, pode ser, igualmente como a sacarose, convertida biologicamente

em etanol, bem como utilizada para a produção de uma ampla variedade de substâncias como: ácidos orgânicos, glicerol, sorbitol, manitol, frutose, enzimas, entre outras (CGEE, 2010).

A glicose pode ser ainda convertida quimicamente ou enzimaticamente em hidroximetilfurfural, que é um importante intermediário para a produção de dimetilfurfural (DMF). O bioetanol por sua vez, pode ter inúmeras aplicações, dentre elas: como combustível veicular ou aditivo de combustível; empregado na produção de moléculas como butadieno, ésteres e etileno; aplicado na indústria farmacêutica, alimentícia e cosmética (PEREIRA Jr.; COUTO; SANTA ANNA, 2008).

A Figura 12 demonstra um esquema das substâncias que podem ser produzidas a partir da glicose proveniente da celulose.

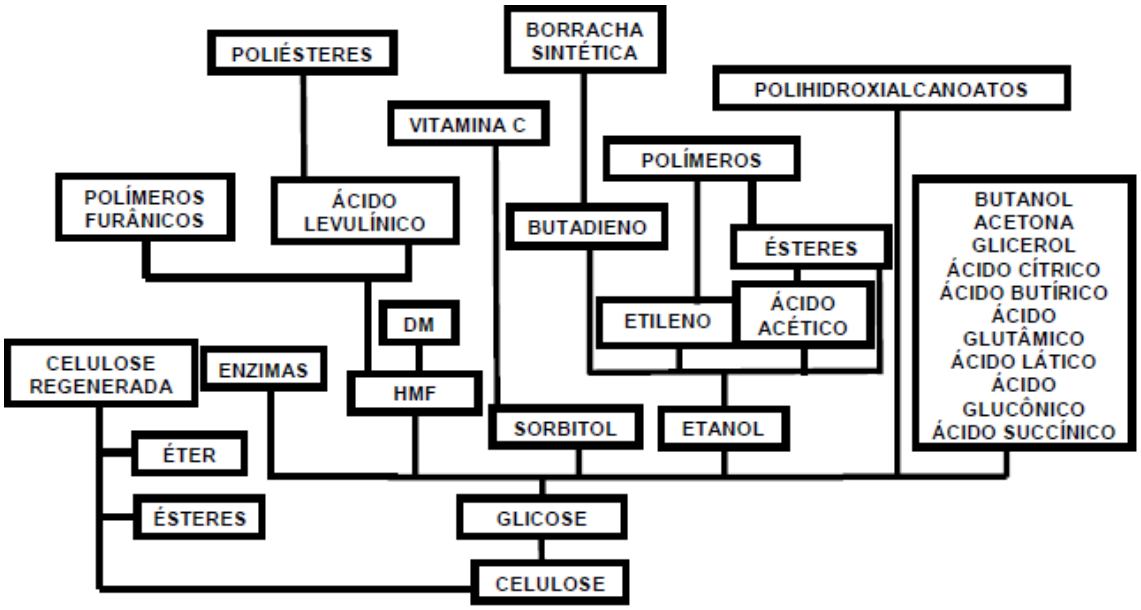

Figura 12 – Biorrefinaria de matérias-primas lignocelulósicas: produtos da celulose
Fonte: Pereira Jr., Couto e Santa Anna (2008)

No entanto, para que tais substâncias possam ser produzidas a partir da glicose da celulose, é necessário hidrolisar este polissacarídeo a fim de disponibilizar seus monômeros para os processos posteriores (SILVA, 2010).

A partir da celulose pode ser obtido o ácido levulínico, um precursor de solventes, lubrificantes, entre outros produtos químicos (KAMM; KAMM, 2004). Além disso, a partir da celulose, também podem ser extraídos nanocristais, utilizáveis no preparo de compósitos, como plásticos, filmes, membranas e implantes médicos (HUBBE et al., 2008); no preparo de géis e espumas (BLAKER et al., 2009; PÄÄKÖ

et al., 2008); e no reforço de papéis e derivados (HENRIKSSON et al., 2008). Podem, também, até mesmo ser engenheirados na indústria têxtil, no preparo de tecidos que permitem uma maior facilidade de transpiração (MÄNNER et al., 2004 apud MORAIS; ROSA; MARCONCINI, 2010).

Os derivados da celulose, como a metilcelulose, são muito utilizados em diversas atividades, de acordo com seu grau de substituição. Por exemplo, os mesmos podem ser usados como espessante na indústria alimentar (CALEGUER; BENASSI, 2007) e como matriz para a liberação controlada das drogas na indústria farmacêutica (LOPES; LOBO; COSTA, 2005). Na indústria farmacêutica também são utilizados para produção de géis hidrofílicos, tendo um aumento na sua aplicação devido à sua fácil espalhabilidade e por não serem gordurosos. As vantagens desses géis são quanto á toxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, alta estabilidade e baixo custo, além de serem encontrados em abundância na natureza (LIMA NETO; PETROVIK, 1997). Quando comparados aos géis obtidos por processo de polimerização, pode-se dizer que as fibras vegetais e a cana-de-açúcar têm alto potencial de uso (PUGLIA; TOMASSUCCI; KENNY, 2003).

A celulose pode ainda ser utilizada como matéria-prima de formas farmacêuticas sólidas, semissólidas e líquidas. Sua gama de aplicações varia dos materiais de acondicionamento e embalagem até suportes para “*soft-drugs*”, cumprindo também funções de adjuvante nas diversas formas farmacêuticas (SILVA et al., 2011).

Dentro dos derivados da celulose utilizados na indústria farmacêutica e de cosméticos, pode-se citar a carboximetilcelulose (CMC). A CMC é um biopolímero aniônico, solúvel em água e comercializado como sal de sódio (pó branco que, ao ser dissolvido, forma um gel transparente). É um produto de baixo custo, atóxico, incolor e inodoro. Devido às suas propriedades, possui uma enorme gama de aplicações, dentre elas a utilização na remediação de metais em soluções aquosas (MERCÊ et al., 2007). A CMC pode ser encontrada sob várias apresentações, dependendo do tamanho de partículas, grau de substituição, viscosidade e características de hidratação, apresentando estabilidade em pH ácido (THEBAUDIN et al., 1997).

A celulose pode ser utilizada como matéria prima para produção de um grande número de derivados com diferentes aplicações. Dentre eles estão os ésteres, que são os produtos da reação da celulose com sais, ácidos orgânicos ou

inorgânicos, o nitrato de celulose (ou nitrocelulose), obtido pela reação da celulose com ácido nítrico e o acetato de celulose, que tem tomado importância dentre os derivados químicos da celulose nos últimos anos (FALES; ACEVEDO, 1988 apud DEL TIO, 2007).

2.5.5.1.1 Etanol celulósico

Dentre os diversos tipos de matérias-primas disponíveis para a produção do etanol, a cana se mostra como a mais promissora devido à grande área plantada e à grande quantidade de biomassa gerada que pode ser convertida em bioprodutos, como o etanol de segunda geração (CANILHA et al., 2012).

A produção do etanol celulósico envolve as etapas de pré-tratamento da biomassa, hidrólise enzimática da porção celulósica e detoxificação da fração hemicelulósica, fermentação e destilação, conforme a Figura 13.

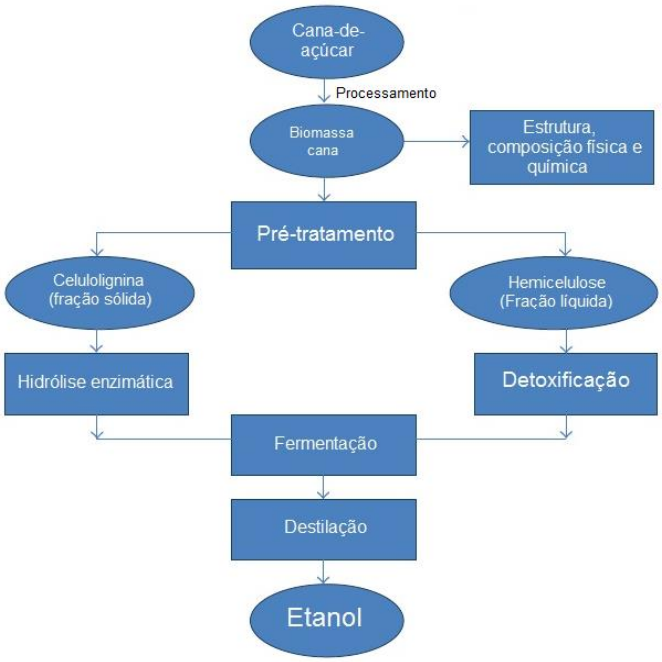

Figura 13 – Diagrama da bioconversão da biomassa de cana em etanol de segunda geração
Fonte: Canilha et al. (2012)

2.5.5.1.2 Polietileno verde

Os polímeros produzidos a partir do petróleo têm um papel relevante para a sociedade. A redução da disponibilidade de matéria-prima fóssil associada às

consecutivas altas no preço do petróleo tem motivado a busca por polímeros provenientes a partir de fontes renováveis (BELLOLI, 2010). Além disso, o consumo de produtos plásticos ao longo dos anos vem produzindo grande número de resíduos desse material, sendo que seu acúmulo acarreta em grandes problemas ambientais (KUMAR et al., 2010). Várias alternativas têm sido aplicadas visando reduzir os impactos ambientais ocasionados pelo descarte inadequado desses produtos. Dentre as alternativas estão o reaproveitamento e a reciclagem, práticas que vêm aumentando com o tempo. A produção e utilização de biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes surge como mais uma alternativa, a qual, devido sua viabilidade técnica e econômica, apresenta grande potencial de expansão (BRITO et al., 2011).

A primeira empresa no Brasil a produzir o polietileno verde (PE verde) foi a Braskem em 2010. Este é um plástico produzido a partir do etanol de cana-de-açúcar e por esta ser uma matéria-prima renovável captura e fixa gás carbônico da atmosfera durante a sua produção, colaborando para a redução da emissão dos gases causadores do efeito estufa (BRASKEM, 2013). O polietileno verde mantém as mesmas propriedades, desempenho e versatilidade de aplicações dos polietilenos de origem fóssil - o que facilita seu uso imediato na cadeia produtiva do plástico. Por este mesmo motivo, também é reciclável dentro da mesma cadeia de reciclagem do polietileno tradicional (BRASKEM, 2013). A Figura 14 ilustra o fluxograma de produção do PE verde.

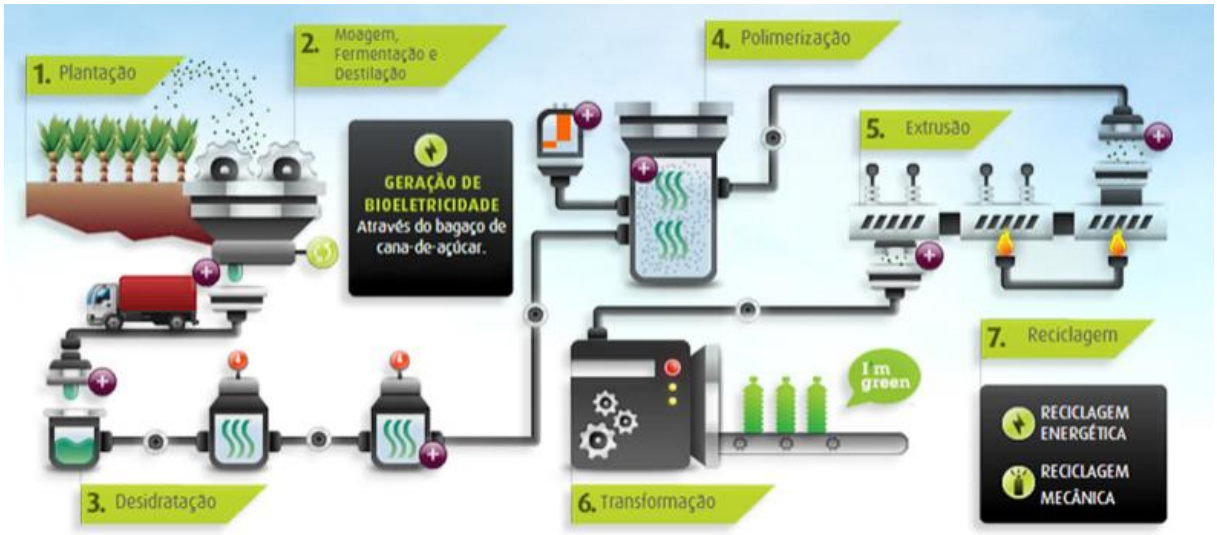

Figura 14 – Fluxograma da obtenção do polietileno verde

Fonte: Braskem (2013)

2.5.5.2 Produtos da hemicelulose

Quando se trata do bagaço da cana-de-açúcar, a hidrólise da fração hemicelulósica gera como produto uma mistura de açúcares, com predominância de xilose. Tradicionalmente, este açúcar tem sido usado na produção de furfural, que é um solvente seletivo, muito reativo, utilizado em larga escala na purificação de óleos minerais, de vegetais e animais, como também na concentração de vitamina A de óleo de fígado de peixe (CGEE, 2010).

A xilose pode ser convertida biologicamente à proteína unicelular (*Single Cell Protein*) e a uma variedade de combustíveis e solventes, como o etanol por leveduras com habilidade de fermentar esta pentose (*Pichia stipitis*, *Candida sheratae* ou *Pachysolen tannophilus*); o xilitol, por leveduras com atividade redutásica sobre xilose, como por exemplo, *Candida guilliermondii*, *Debaromyces hanseni* e *Candida tropicalis* e, ainda, a uma série de ácidos orgânicos, solventes e outros combustíveis (ácidos succínico, acético, láctico e butírico, butanol, 2,3 butanodiol, acetoína, acetona e propanol) por bactérias (CGEE, 2010). A partir da hemicelulose podem ser obtidas gomas vegetais para a produção de espessantes, adesivos, emulsificantes, estabilizantes e outros produtos químicos, como precursores de polímeros (MORAIS; ROSA; MARCONCINI). A Figura 15 mostra os principais produtos que podem ser obtidos utilizando a hemicelulose.

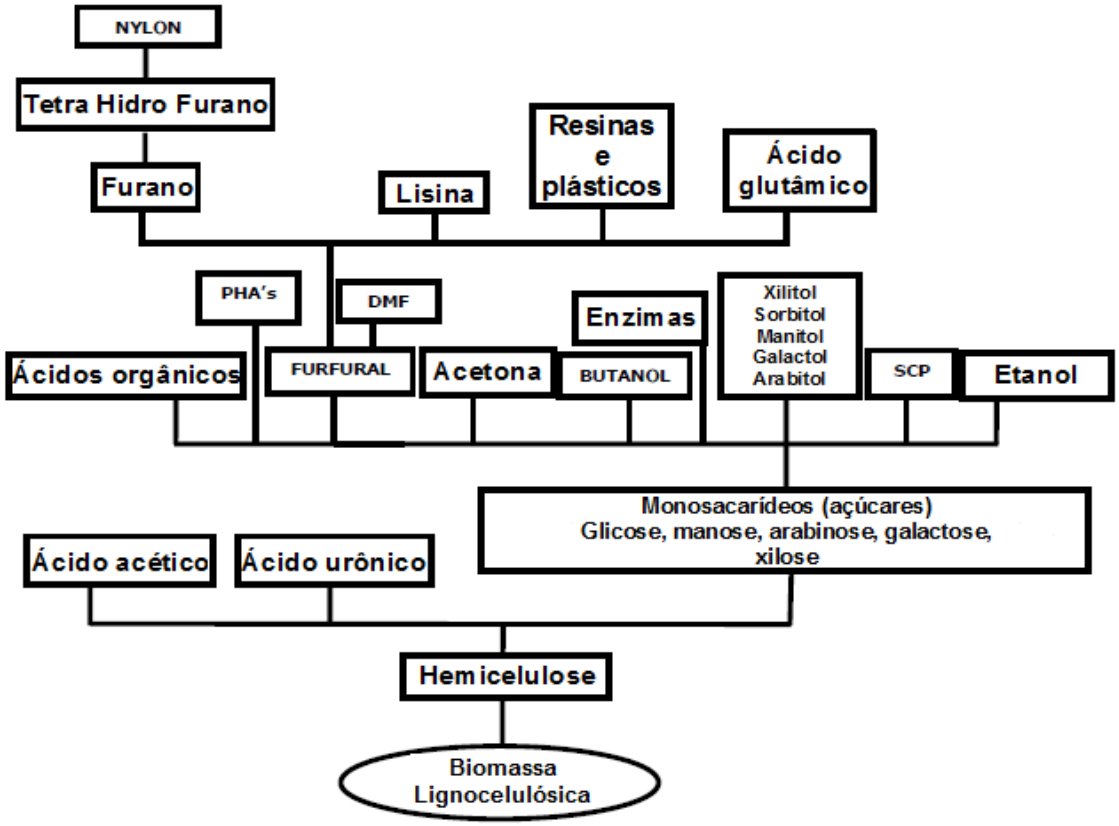

Figura 15 – Biorrefinaria de lignocelulósicos: produtos da hemicelulose

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

2.5.5.2.1 Xilitol

O xilitol é um poliálcool de cinco carbonos que pode ser encontrado na natureza em diversas frutas e vegetais tais como a alface, a couve flor, as ameixas, as framboesas, os morangos, as uvas, as bananas, assim como em leveduras, liquens e cogumelos (PARAJÓ; DOMÍNGUEZ; DOMÍNGUEZ, 1998). Pode ser convertido, a partir da xilose presente na fração hemicelulósica de diversas biomassas lignocelulósicas, dentre elas o bagaço da cana, no qual esta pentose pode perfazer até 80 % dos carboidratos presentes na hemicelulose (KUHAD; SINGH, 1994). A Figura 16 ilustra as rotas disponíveis para a obtenção do xilitol.

O fato de ser lentamente absorvido no trato gastrintestinal e de seu metabolismo ser independente da insulina possibilita sua utilização como adoçante para diabéticos (WINKELHAUSEN; KUSMANOVA, 1998). O poder edulcorante é de 0,8 a 1,1 vezes a da sacarose e valor calórico de 2,4 kcal/g. Este poliol é 2,4 vezes mais doce do que o manitol e 2 vezes mais que o sorbitol, sendo que o poder adoçante pode variar com o pH, concentração de sais e temperatura (TAMANINI,

HAULY, 2004). Por possuir um valor negativo de calor específico de dissolução (-34,8 cal/g) apresenta sensação refrescante quando ingerido (AGUIAR; OETTERER; MENEZES, 1999).

Outra propriedade importante do xilitol é o fato de não ser fermentado pela maioria dos microrganismos da cavidade bucal humana exercendo efeito anticariogênico e inibindo a desmineralização do esmalte dos dentes (BIRKHED, 1994). Atua reduzindo a incidência de cáries; estabilizando íons cálcio e fosfato na saliva e consequentemente remineralizando os dentes; estabilizando as cáries já formadas; reduzindo o crescimento de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* spp. na saliva; estimulando a formação da saliva sem aumento da produção de ácidos na placa dentária; controlando o pH da placa e a capacidade tamponante da saliva, após o consumo de sacarose (MÄKINEN, 1992; KANDELMAN, 2003).

Por não possuir grupos aldeídicos e cetônicos em sua molécula, o xilitol não participa de reações de escurecimento do tipo Maillard, o que o torna adequado para a utilização em alimentos processados em temperaturas elevadas (MANZ; VANNINEN; VOIROL, 1973 apud ARRUDA, 2007).

Ressalta-se ainda que, pelo fato deste adoçante apresentar poder de edulcoração semelhante ao da sacarose, a sua utilização pela indústria alimentícia na confecção de alimentos dietéticos em substituição ao açúcar é vantajosa quando comparada aos demais adoçantes, pois como a substituição ocorre na proporção de 1:1, o balanço de massa dos produtos não é afetado, proporcionando manutenção das propriedades sensoriais do produto final (EMODI, 1978 apud MAGACHO, 2009).

É uma substância atóxica, classificada pela *Food and Drug Administration* (FDA) como um aditivo do tipo GRAS (*Generally Recognised as Safe*) (CULBERT et al., 1986). No Brasil, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é classificado como um aditivo alimentar do tipo umectante, que pode ser empregado em balas, confeitos, gomas de mascar e produtos do gênero, na quantidade necessária para se obter o efeito desejado, uma vez que não afeta a identidade e a genuidade dos alimentos (ANVISA, 2012).

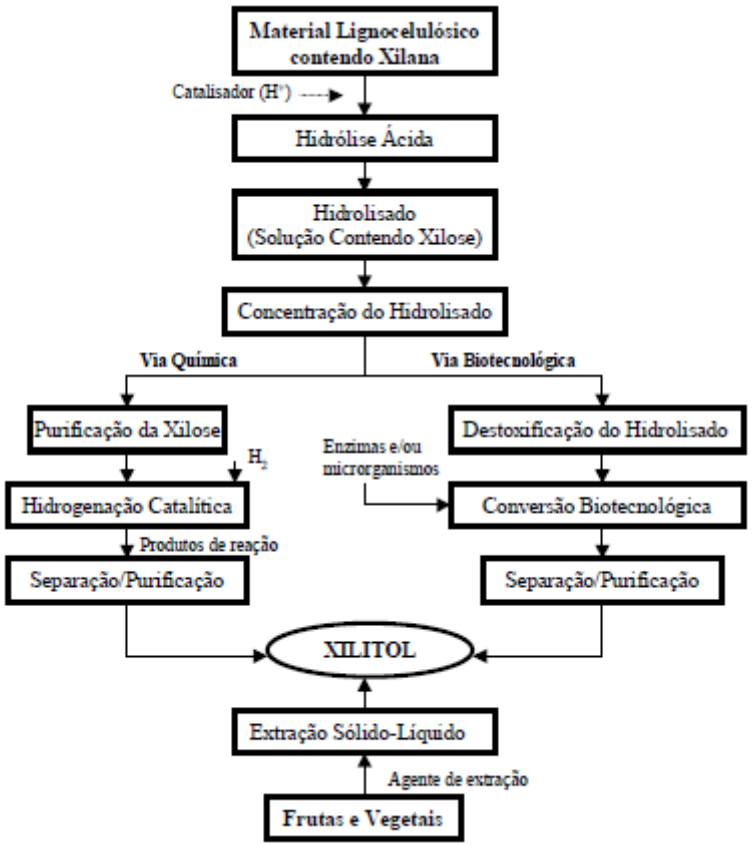

Figura 16 – Tecnologias disponíveis para obtenção de xilitol

Fonte: Cunha et al. (2005)

2.5.5.3 Produtos da lignina

Aproximadamente, 50 milhões de toneladas de lignina são geradas por ano, mundialmente, como resíduo dos processos de produção de pastas celulósicas e de papel. A maior parte da lignina residual é queimada para gerar energia neste segmento industrial. Entretanto, tendo em vista suas interessantes propriedades funcionais, a lignina oferece perspectivas de utilização para a obtenção de produtos de alto valor agregado, como ligantes, dispersantes, emulsificantes e sequestrantes (CGEE, 2010).

As propriedades físicas e químicas da lignina diferem dependendo da tecnologia de extração (processo sulfito, processo Kraft, processo alcalino e Organosolv). Por exemplo, os lignosulfonatos são hidrofílicos e as ligninas Kraft são hidrofóbicas (CGEE, 2010).

A indústria começou primeiramente a usar lignina quando os lignosulfonatos foram utilizados em banhos de tanagem para a produção de couros em banhos de

tintura. Desde então, a lignina vem sendo empregada como matéria-prima para a produção de emulsificantes com aplicação na área alimentícia e na produção de vanilina, que é usada extensamente como flavorizante em alimentos, como componente na formulação de produtos farmacêuticos e também com fragrância em indústria de perfumaria. As aplicações de produtos derivados da lignina expandiram literalmente, impactando muitos segmentos industriais (PEREIRA Jr.; COUTO; SANTA ANNA, 2008). A Figura 17 mostra os principais produtos que podem ser obtidos a partir da lignina.

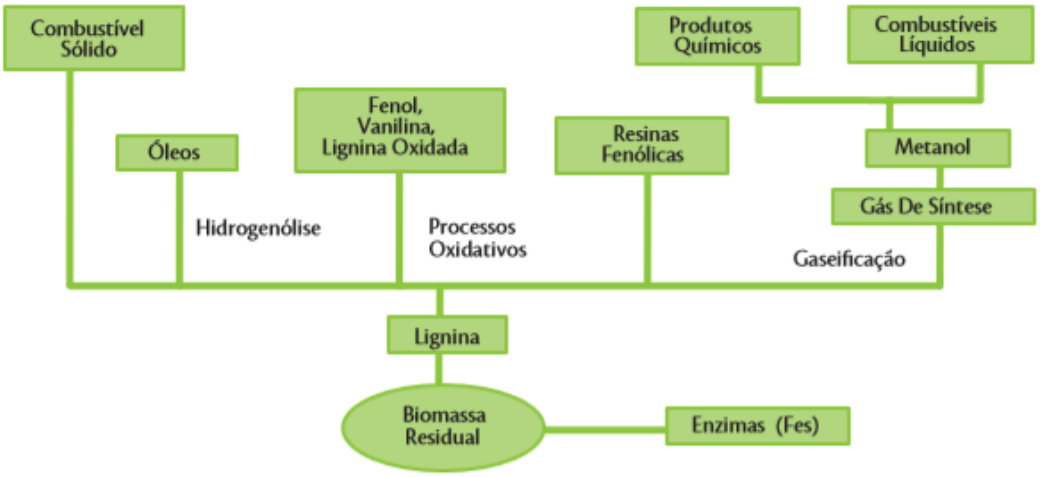

Figura 17 – Biorrefinaria lignocelulósica: produtos da lignina
Fonte: Pereira Jr., Couto e Santa Anna (2008)

As ligninas mais comumente utilizadas e aproveitadas para síntese de subprodutos são as ligninas isoladas dos processos de produção de polpa celulósica como o Kraft e Sulfito (HERNÁNDEZ, 2007).

As ligninas produzidas industrialmente têm sido utilizadas como agentes dispersantes em tintas, pesticidas, inseticidas, aditivos para tintas e vernizes, como agente para melhorar a viscosidade dos lodos na perfuração de poços petroleiros e artesianos, como agente aglomerante ou de flutuação no tratamento de efluentes, aditivo para melhoramento e acondicionamento de solos, como agente de liberação lenta de nitrogênio no solo, entre outras aplicações (NACEUR; ANNE; ALESSANDRO, 2003; SENYO et al., 1996; GONÇALVES, 2001). As ligninas, quando degradadas em frações de massas molares menores, podem ser utilizadas na fabricação de espumas de poliuretanas, resinas fenólicas e epóxi, como fontes de

fenol e etileno, e podem ser convertidas em fibras de carbono (LORA; GLASSER, 2002).

2.5.6 Pré-tratamento dos materiais lignocelulósicos

Para que os materiais lignocelulósicos possam ser utilizados como matérias-primas para a produção de etanol e de outras substâncias químicas, é necessário que seus componentes sejam separados. Nesta separação é fundamental a etapa de pré-tratamento, que visa desorganizar o complexo lignocelulósico. Estes processos de separação podem ser térmicos, químicos, físicos, biológicos ou uma combinação desses, o que dependerá do grau de separação requerido e do fim a que se destina o processo (RAMOS, 2000).

Para ser considerado eficiente, um pré-tratamento deve ser caracterizado por uma série de fatores como: evitar a necessidade de redução do tamanho das partículas da biomassa, produzir a menor quantidade possível de compostos inibitórios ao crescimento e atuação dos microrganismos fermentativos e utilizar menos energia quando utilizado (JORGENSEN; KRISTENSEN; FELBY, 2007).

Na Figura 18 encontra-se um esquema simplificado do fracionamento dos principais componentes dos materiais lignocelulósicos.

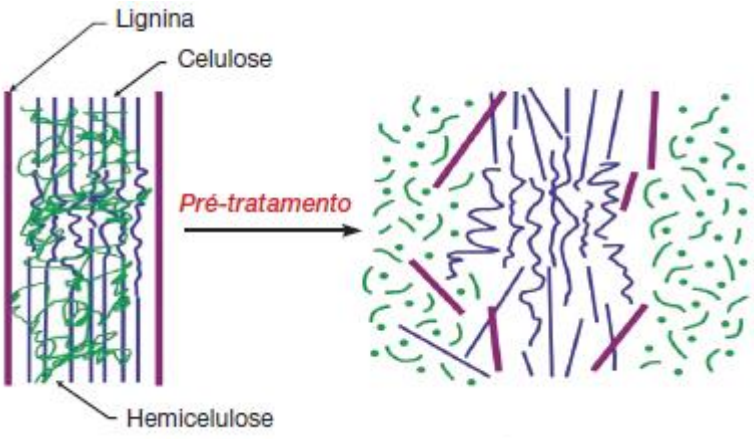

Figura 18 – Fracionamento dos componentes de biomassas lignocelulósicas após o pré-tratamento
Fonte: Adaptado de Canilha et al. (2010)

Para o estudo das propriedades químicas das fibras de materiais lignocelulósicos, como o bagaço e a palha de cana-de-açúcar, diversos métodos

podem ser utilizados. Dentre estes, destaca-se a cromatografia liquida de alta eficiência (OGATA, 2012).

2.6 Cromatografia

Entre os diferentes tipos de métodos de análise, a cromatografia ocupa uma posição de destaque devido a sua facilidade em efetuar a separação, identificação e quantificação de diversas espécies químicas, sozinha ou combinada com outras técnicas, como a espectrometria de massas (COLLINS; BRAGA, 1987).

É um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, que acontece devido a diferentes interações entre duas fases imiscíveis, a fase móvel (solubilização dos compostos) e a estacionária. A migração diferencial dos componentes da mistura ocorre durante o deslocamento da fase móvel pela estacionária, sendo que cada um dos componentes fica seletivamente retido na fase estacionária (CASS; DEGANI, 2000). A grande variedade de combinações entre fases móveis e estacionárias a torna uma técnica extremamente versátil e de grande aplicação. A cromatografia pode ser utilizada para a quantificação de compostos, por comparação com padrões previamente existentes, para a purificação de compostos, separando-se as substâncias indesejáveis e para a separação dos componentes de uma mistura (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

O termo cromatografia é atribuído a um botânico russo que em 1906 o utilizou para descrever seus trabalhos com a separação de componentes de extratos de folhas e da gema de ovo (CECCHI, 2003). Diversos trabalhos desenvolvidos permitiram o aperfeiçoamento da técnica, resultando em avanços que conduziram a um elevado grau de sofisticação e aplicação em diversas áreas.

Em 1941, Martin e Synge publicaram um trabalho antecipando o surgimento de duas cromatografias, a gasosa e a líquida de alta eficiência. Em 1952 ganharam o Prêmio Nobel por este trabalho (COLLINS; BRAGA, 1987).

2.6.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A CLAE é um importante membro de uma família de técnicas de separação. É essencial que os profissionais que trabalham com esta técnica conheçam suas vantagens e limitações (Quadro 1), seus componentes e os critérios de escolha de

equipamentos. Esta tem sido amplamente desenvolvida, difundida e empregada em laboratórios de análise de indústrias químicas e farmacêuticas, em áreas médicas e em muitos outros campos da ciência e até em órgãos governamentais (MALDANER; JARDINS, 2009).

São utilizados equipamentos extremamente sofisticados que podem ser totalmente automatizados. É um tipo de cromatografia líquida que emprega pequenas colunas, recheadas com materiais especificamente preparados e uma fase móvel eluída sob altas pressões. Ela permite a separação e análise quantitativa de uma vasta gama de compostos presentes em diferentes tipos de matrizes em pouco tempo, com alta resolução e eficiência. É uma técnica versátil e que permite a separação de compostos não voláteis e termicamente instáveis (GOMES, 2009).

O uso de suportes com partículas extremamente pequenas, responsáveis pela elevada eficiência de separação, foi considerado um avanço na cromatografia em coluna. Essa característica fez necessário o uso de bombas de alta pressão para a eluição da fase móvel (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

Vantagens	Limitações
Menor tempo de análise	Alto custo de instrumentação
Alta resolução	Alto custo de operação
Resultados quantitativos	Difícil análise qualitativa
Versatilidade	Falta de detector universal sensível
Automatização	Necessidade de experiência no seu manuseio

Quadro 1 – Vantagens e limitações da CLAE em comparação com técnicas tradicionais

Fonte: Collins e Braga (1987)

2.6.1.1 Instrumentação

A instrumentação necessária é extremamente sofisticada. Atualmente, os equipamentos são divididos em módulos, que podem ser controlados individualmente ou pelo computador. Os softwares existentes podem detectar problemas de funcionamento e/ou a necessidade de alguma manutenção (CASS;

DEGANI, 2000). A Figura 19 ilustra um esquema do funcionamento do equipamento utilizado na análise pro CLAE.

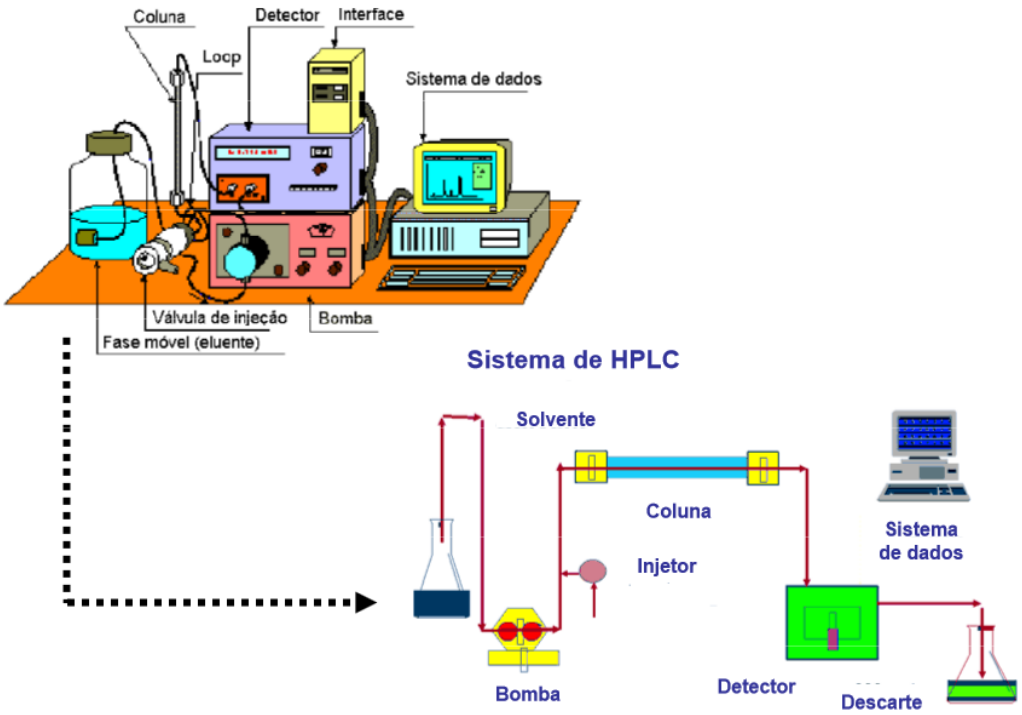

Figura 19 – Esquema do funcionamento do equipamento utilizado na CLAE
Fonte: Zocolo (2012)

As principais características que o instrumento deve ter são:

1) Versatilidade: deve ser eficiente para diferentes amostras, técnicas cromatográficas e realizar o maior número possível de operações;
2) Rapidez: uso de fase móvel de baixa viscosidade com bombas de alta pressão e colunas com partículas de pequeno diâmetro;
3) Reprodutibilidade e estabilidade; controle adequado de parâmetros de operação como vazão, temperatura, pressão e composição da fase móvel;
4) Sensibilidade: deve gerar sinais com boa intensidade, mesmo trabalhando com pequenas quantidades de amostra. Esse aspecto depende do sistema de detecção adotado.

O reservatório de fase móvel deve ser de material resistente aos líquidos utilizados. A fase móvel deve ser filtrada para evitar entupimento da coluna e desgaseificada para evitar que sinais ocasionados por bolhas sejam confundidos

com picos dos componentes da amostra e para impedir a reação do oxigênio com as fases móvel e/ou estacionária causando degradação (CECCHI, 2003).

A bomba de alta pressão deve promover uma vazão contínua sem pulsos e com alta reprodutibilidade, permitindo a eluição da fase móvel a um fluxo adequado (CIOLA, 2003). As mesmas devem ser confeccionadas com materiais resistentes à fase móvel, a fim de evitar possíveis danos (GOMES, 2009). O sistema de bombeamento também é usado para trabalhar com gradientes de eluição. Esse tipo de sistema é bastante utilizado para separar compostos com fatores de separação muito próximos, que não seriam separados em condições isocráticas (CECCHI, 2003).

A amostra é introduzida por uma seringa. Geralmente, o amostrador tem possibilidade de trabalhar com volumes que variam de 1 a 100 uL. As válvulas de amostragem são feitas de material inerte, como o teflon e o aço inoxidável e com formato que resista às altas pressões (COLLINS; BRAGA, 1987).

As colunas utilizadas são geralmente de aço inoxidável, com diâmetro interno de aproximadamente 0,45 cm para separações analíticas e na faixa de 2,2 cm para separações preparativas. O comprimento é variável, sendo comuns colunas analíticas de 10-25 cm e preparativas em torno de 25-30 cm. Essas colunas são reaproveitáveis, sendo empacotadas com suportes de alta resolução, não sendo necessária sua regeneração após cada separação (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

2.6.1.1.1 Detectores

É a parte do equipamento que mede de forma contínua alguma propriedade física dos componentes da amostra separados na coluna analítica, enviando um sinal elétrico como resposta e que vai ser registrado como um pico. É o componente mais sofisticado e caro da CLAE (CECCHI, 2003).

Devem apresentar características, como alta sensibilidade e seletividade, linearidade, responder às baixas quantidades de compostos e ser estável à mudanças na composição da fase móvel e à temperatura. A limitação em relação a esse componente é que não existem detectores universais (COLLINS; BRAGA; PIERINA, 2003).

O detector de arranjo de fotodiodo fornece espectros no UV-Vis do eluente da coluna em certos intervalos de tempo. São úteis para o desenvolvimento de métodos

por permitirem uma “varredura” da região do UV-Vis em uma única corrida cromatográfica (GRATZFELD-HÜSGEN; SCHUSTER, 1996). Já o detector por espalhamento de luz evaporativo (ELSD) pode ser usado para a análise de todo soluto que seja menos volátil que a fase móvel. A maioria dos outros tipos de detectores se restringe à detecção de substâncias com propriedades físico-químicas definidas, ao uso de um número limitado de solventes ou ao uso de eluição isocrática. O princípio de operação de um ELSD envolve 3 etapas (Figura 20): nebulização, evaporação e detecção. Inicialmente, o eluente sai da coluna transportando a amostra e é vaporizado por um dispositivo automático que permite a entrada de um gás nebulizador (nebulização). Logo após, gotas do eluente contendo o analito são carregadas por um tubo onde o solvente é evaporado e onde forma-se um aerossol. Por fim, o gás que transporta as partículas da amostra passa através de uma pilha ótica e a quantidade de luz dispersada é medida (detecção). A resposta é diretamente relacionada com a concentração de analito eluído (URANO; RODRIGUES; BERLINCK, 2012).

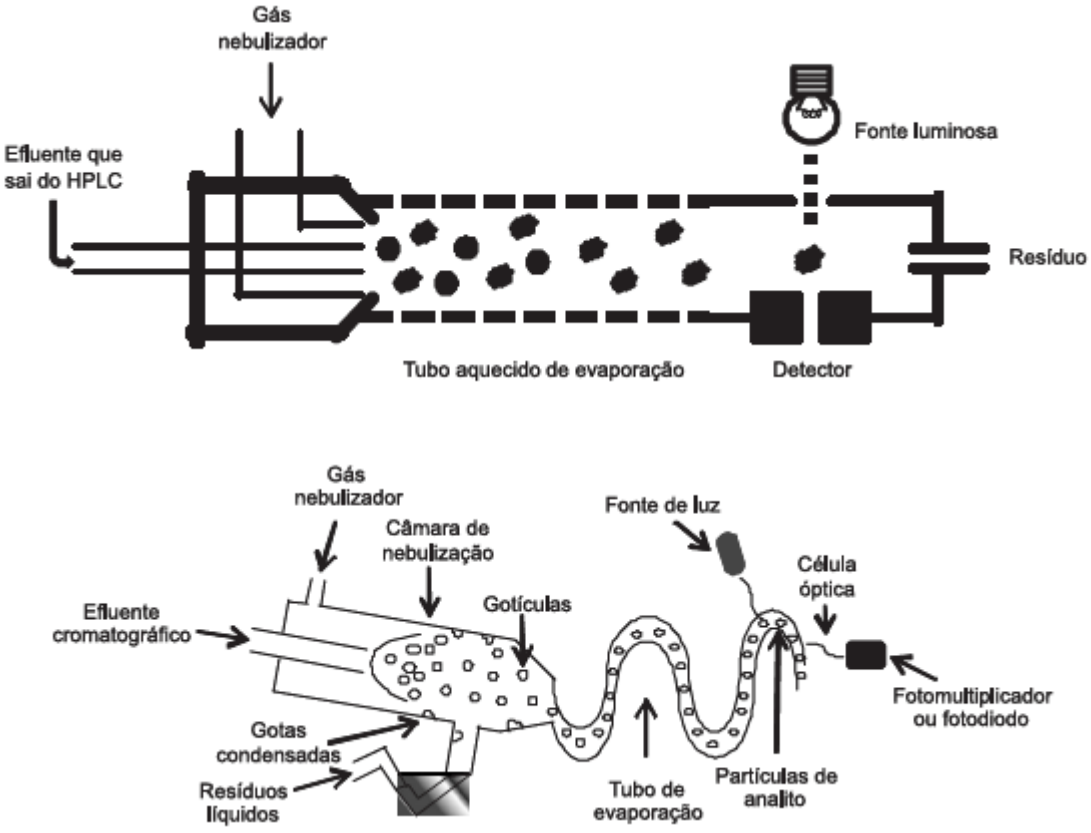

Figura 20 – Esquema de um detector por espalhamento de luz evaporativo

Fonte: Urano, Rodrigues e Berlinck (2012)

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Cana-de-açúcar

Foram utilizados genótipos de famílias de cana-de-açúcar com altos teores de fibra, ainda não caracterizadas, provenientes do Banco de Germoplasma do Centro de Cana, IAC-Ribeirão Preto, que estão sendo utilizados no projeto de pesquisa do Bioen-Fapesp (proc. 08/56146-5) para o desenvolvimento de cana energia.

3.2 Preparo da amostra

O bagaço *in natura* foi seco em estufa, sob 105 °C, por um período de aproximadamente 12 horas. Esse material seco foi moído para se obter frações de granulometria reduzida (partículas menores que 1,0 mm).

3.3 Seleção granulométrica

A seleção granulométrica das amostras foi realizada utilizando-se uma peneira de 25 *mesh* (abertura de 0,707 mm).

3.4 Extração

Foram colocados cerca de 5 g de amostra de bagaço (25 *mesh*) em um envelope feito com papel de filtro qualitativo e foi realizada a extração com 300 mL de etanol (95 %) por um período de 6 horas, em um aparelho *Soxhlet*, para remoção de componentes extrativos (FERRAZ; MENDONÇA; SILVA, 2000). Após esse período, a amostra foi seca por aproximadamente 12 horas sob temperatura ambiente.

3.5 Determinação de umidade

Foram colocados 0,5 g do bagaço obtido no item 3.4 em um determinador de umidade por infravermelho a 105 °C por 5 minutos.

3.6 Hidrólise ácida

Em tubos de ensaio foram pesados 300 mg da amostra extraída (item 3.4), nestes foram adicionados 3 mL de ácido sulfúrico 72% (v/v) e colocados em banho-maria a 30 °C, sob agitação de 75 rpm, durante uma hora, homogeneizando-se periodicamente. O material foi diluído a uma concentração de 3% de ácido (v/v), pela adição de 79 mL de água destilada ao hidrolisado, e levado à autoclave a 121 °C por mais uma hora. O hidrolisado foi resfriado para posteriores análises (FERRAZ; MENDONÇA; SILVA, 2000).

3.7 Lignina solúvel e insolúvel

O material resultante da hidrólise ácida foi filtrado a vácuo, em cadinho de vidro poroso (número 3) e seco até massa constante, a 105°C. A determinação da lignina insolúvel se deu por gravimetria e a solúvel por espectrofotometria a 205 nm, utilizando o coeficiente de extinção molar da lignina de 105 L $g^{-1}.cm^{-1}$ (FERRAZ; MENDONÇA; SILVA, 2000). A fração líquida foi armazenada para análise de carboidratos, furfural e hidroximetilfurfural.

3.8 Determinação de Carboidratos e Ácidos Orgânicos por Cromatografia Líquida de Alta Performance (CLAE)

O hidrolisado ácido foi extraído em cartuchos de extração sólida Sep-Pak C_{18}, para a remoção de compostos aromáticos e, então, injetado diretamente em uma coluna Aminex HPX-87H (300 x 7,8 mm) em um cromatógrafo Shimadzu (LC-20AT).

Para análise de açúcares foi utilizado o seguinte sistema cromatográfico: água deionizada como fase móvel, a um fluxo de 0,6 $mL.min^{-1}$, a 45°C. Foi usado como detector o ELSD Shimadzu LT-II, a 80°C, 350 kPa de pressão e ganho 7. (REZEX, 2011)

Para determinação de ácido acético foi utilizada a mesma coluna usada na determinação de açúcares e como fase móvel H_2SO_4 0,05 N, a um fluxo de 0,5 $mL.min^{-1}$. e 40 °C. O detector empregado foi o DAD (Shimadzu SPD-M20A). O comprimento de onda para esse composto foi o de 210 nm (REZEX, 2011).

As concentrações de açúcares e ácidos provenientes da hidrólise da celulose e polioses foram determinadas a partir de curvas de calibração obtidas com soluções padrão dos compostos puros de diferentes concentrações (ROCHA et al., 1997).

As áreas dos picos correspondentes às hexoses e às pentoses foram utilizadas para calcular as massas de glucana e xilana, respectivamente. Essas massas foram divididas pela massa seca do material inicial e multiplicadas pelo fator de hidrólise. Os fatores de hidrólise para conversão de glicose e celobiose em glucana são 0,90 e 0,95, respectivamente. De maneira similar, xilose e arabinose foram convertidas em xilana usando o fator 0,88. As concentrações de celobiose, glicose, xilose, arabinose foram determinadas a partir de curvas de calibração obtidas com padrões analíticos (RUZENE, 2005).

Para a obtenção de glucanas somam-se as porcentagens em massa de celobiose, glicose e hidroximetilfurfural e para a obtenção de xilanas somam-se as porcentagens de xilose, arabinose, furfural e ácido acético (RUZENE, 2005).

3.9 Determinação de hidroximetilfurfural (HMF) e furfural por CLAE

Esses compostos foram determinados por CLAE, em uma coluna Shim-pack VP-ODS (5 µm) de 250 x 4,6 mm, sendo acetonitrila/água 1:8 (v/v) com 1% de ácido acético utilizada como fase móvel, a uma vazão de 0,8 $mL.min^{-1}$ a 25 °C (ROCHA et al., 1997).

O hidrolisado foi previamente diluído com água deionizada na razão de 1:100 e filtrado em cartuchos de extração sólida Sep-Pak C_{18}. Do filtrado obtido foram injetados 50 µL no cromatógrafo SHIMADZU LC-20AT. Os compostos foram detectados em DAD (Shimadzu SPD-M20A) em comprimento de onda de 275 nm. As concentrações de HMF e furfural foram determinadas com o auxílio de curvas de calibração com compostos puros (ROCHA et al., 1997).

3.10 Metodologia usada para os estudos de casos

3.10.1 Estimativa da produção de etanol de segunda geração

O potencial de produção do etanol celulósico foi realizado segundo o esquema apresentado na Figura 21, ou seja, conforme alguns autores tem-se

conhecimento de que a partir de 1 tonelada de cana são gerados aproximadamente 280 kg de bagaço (RABELO et al., 2011) e que de 1 tonelada de bagaço podem ser produzidos cerca de 300 L de etanol se segunda geração (CHANDEL et al., 2011).

Figura 21 – Esquema para estimar o potencial de produção do etanol de segunda geração
Fonte: Rabelo et al. (2011)

3.10.2 Estimativa da produção de polietileno verde

A produção estimada de produção do polietileno verde pode ser calculada utilizando as informações presentes na Figura 22. Segundo a Braskem (2013), a partir de 82,5 toneladas de cana-de-açúcar é possível produzir 7200 L de etanol, o que resulta em 3 toneladas de polietileno verde. Utilizando-se das informações fornecidas no item 3.11.1 é possível calcular quanto de plástico verde poderia ser produzido a partir de determinada quantidade de bagaço.

Figura 22 – Esquema para estimar a produção de polietileno verde a partir do etanol de segunda geração

Fonte: Braskem (2013); Rabelo et al. (2011); Chandel et al. (2011)

3.10.3 Estimativa da produção de xilitol

A quantidade de xilitol que poderia ser obtida a partir do bagaço de cana-de-açúcar pode ser estimada segundo dados fornecidos na Figura 23. Segundo Dias et al. (2009), de 1 tonelada de cana-de-açúcar são produzidos 280 kg de bagaço e a

partir de 1 tonelada de bagaço podem ser obtidos 150 kg de xilitol, fazendo uso dessas informações pode-se prever quanto de produto final pode ser gerado a partir de determinada quantidade de matéria-prima, no caso o bagaço.

Figura 23 – Esquema para estimar a quantidade de xilitol a ser produzida a partir do bagaço
Fonte: Dias et al. (2009)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização química dos genótipos de cana-de-açúcar

A caracterização química da fibra do grupo de 207 genótipos de cana-de-açúcar demonstrou que esses materiais apresentaram composição estrutural bastante heterogênea entre si, quanto aos seus componentes: celulose, hemicelulose e lignina (Tabela 2). Os resultados observados permitiram verificar que os teores de celulose variaram de 26,47 a 54,18 %, com valor médio de 44,20 %, os valores de hemicelulose de 16,71 a 25,97 %, com valor médio de 21,67 % e os de lignina de 17,7 a 27,13 %, em média com 23,49 %. Dentre os materiais analisados, o genótipo 192 foi aquele que apresentou a maior percentagem de celulose (54,18 %) e o genótipo 196 foi o que apresentou a menor quantidade desse componente (26,47 %). Em relação à hemicelulose, o genótipo 77 foi o que apresentou o maior teor (25,97 %) e o 167 o menor valor (16,71 %). No tocante à composição em lignina, o genótipo 166 foi o que apresentou maior concentração desse componente (27,13 %) e o genótipo 27 foi aquele que apresentou a menor quantidade de lignina (17,7 %).

Tabela 2 – Teores de celulose, hemicelulose e lignina dos genótipos de cana-de-açúcar (continua)

Genótipo	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
1	48,24 ± 0,39	24,21 ± 0,27	21,03 ± 0,20
2	46,27 ± 0,44	23,16 ± 0,14	23,83 ± 0,06
3	42,29 ± 0,52	18,07 ± 0,97	22,48 ± 0,27
4	44,59 ± 1,06	22,66 ± 0,72	21,38 ± 0,32
5	47,69 ± 0,59	23,40 ± 0,19	23,46 ± 0,64
6	41,09 ± 0,16	18,87 ± 0,45	21,15 ± 0,07
7	48,59 ± 0,33	21,97 ± 0,22	23,64 ± 0,12
8	48,69 ± 0,18	20,06 ± 0,18	25,08 ± 0,35

Tabela 2 - Teores de celulose, hemicelulose e lignina dos genótipos de cana-de-açúcar (continuação)

Genótipo	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
9	43,36 ± 1,31	21,67 ± 0,36	23,14 ± 0,02
10	36,07 ± 1,60	17,39 ± 0,11	23,42 ± 0,87
11	49,09 ± 0,31	22,21 ± 0,43	24,76 ± 0,19
12	49,77 ± 0,08	23,82 ± 0,51	22,14 ± 0,01
13	48,48 ± 0,29	21,42 ± 0,75	22,70 ± 0,07
14	50,04 ± 0,31	23,17 ± 0,61	23,70 ± 0,23
15	48,10 ± 0,66	20,01 ± 0,78	22,61 ± 0,04
16	42,23 ± 0,63	20,06 ± 0,18	23,74 ± 0,07
17	51,36 ± 0,18	21,44 ± 0,80	24,34 ± 0,05
18	50,10 ± 0,17	20,75 ± 0,30	20,60 ± 0,00
19	39,99 ± 0,50	19,69 ± 0,45	20,95 ± 1,57
20	51,06 ± 2,53	23,09 ± 0,23	23,83 ± 0,01
21	40,64 ± 2,22	22,69 ± 0,63	23,16 ± 0,02
22	42,73 ± 2,60	18,84 ± 0,98	20,32 ± 0,09
23	38,92 ± 1,50	23,27 ± 0,48	19,30 ± 0,18
24	47,75 ± 0,75	22,70 ± 0,18	23,01 ± 0,04
25	41,58 ± 0,94	19,53 ± 0,35	18,91 ± 0,06
26	47,41 ± 0,25	22,48 ± 0,78	24,12 ± 0,17
27	41,68 ± 0,84	20,75 ± 0,72	17,70 ± 0,96
28	49,28 ± 0,83	24,01 ± 0,18	23,18 ± 0,06
29	47,43 ± 2,30	24,00 ± 0,70	24,41 ± 0,06
31	48,08 ± 0,75	21,87 ± 0,66	22,65 ± 0,01
32	38,27 ± 1,25	18,16 ± 1,28	19,89 ± 0,78

Tabela 2 - Teores de celulose, hemicelulose e lignina dos genótipos de cana-de-açúcar (continuação)

Genótipo	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
33	43,11 ± 0,93	19,35 ± 0,16	22,08 ± 0,05
34	46,66 ± 0,84	21,20 ± 0,41	23,69 ± 0,53
35	49,32 ± 0,58	22,01 ± 0,18	23,66 ± 0,16
36	45,12 ± 0,57	20,36 ± 0,22	21,67 ± 0,02
37	47,17 ± 0,40	22,65 ± 0,30	24,94 ± 0,04
38	47,76 ± 0,15	21,48 ± 1,90	23,87 ± 0,70
39	40,98 ± 0,73	23,37 ± 2,76	26,01 ± 0,05
40	47,81 ± 0,23	21,77 ± 0,42	24,81 ± 0,16
41	45,28 ± 0,82	22,68 ± 0,28	22,23 ± 0,09
42	42,05 ± 0,53	21,03 ± 1,15	21,77 ± 0,28
43	38,60 ± 0,78	17,84 ± 0,33	20,85 ± 0,47
44	44,37 ± 1,12	21,95 ± 0,63	21,02 ± 0,03
45	45,97 ± 0,26	23,22 ± 0,50	22,45 ± 0,10
46	53,32 ± 0,75	24,45 ± 0,98	24,19 ± 0,03
47	47,03 ± 0,21	22,08 ± 0,18	25,44 ± 0,06
48	47,54 + 1,03	23,26 ± 0,90	22,90 ± 0,12
49	45,41 ± 0,91	19,57 ± 0,97	23,52 ± 0,05
50	43,08 ± 1,10	20,02 ± 0,29	20,20 ± 0,11
51	46,73 ± 0,17	22,65 ± 0,13	23,58 ± 0,16
52	49,22 ± 0,32	22,10 ± 0,22	24,04 ± 0,04
53	47,59 ± 0,16	25,97 ± 0,22	22,27 ± 0,05
54	43,61 ± 4,97	18,66 ± 2,60	25,45 ± 0,01
55	46,33 ± 0,58	20,88 ± 1,04	23,49 ± 0,13

Tabela 2 - Teores de celulose, hemicelulose e lignina dos genótipos de cana-de-açúcar (continuação)

Genótipo	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
56	42,90 ± 5,95	23,17 ± 0,66	25,43 ± 0,06
57	43,80 ± 0,74	20,21 ± 0,17	24,97 ± 0,08
58	44,21 ± 0,88	20,49 ± 0,51	20,46 ± 0,31
59	50,55 ± 0,54	22,35 ± 0,40	24,83 ± 0,13
60	48,47 ± 1,09	21,87 ± 0,13	22,97 ± 0,04
61	46,36 ± 0,64	22,63 ± 0,72	25,02 ± 0,05
62	49,90 ± 1,88	23,91 ± 0,46	23,86 ± 0,37
63	47,98 ± 0,29	22,72 ± 0,53	23,58 ± 0,07
64	42,26 ± 1,53	20,98 ± 0,32	20,85 ± 0,01
65	41,48 ± 0,50	19,50 ± 0,82	24,44 ± 0,05
66	40,93 ± 0,45	21,69 ± 0,19	23,64 ± 0,05
67	43,94 ± 0,44	20,92 ± 0,55	20,99 ± 0,40
68	42,42 ± 0,16	20,06 ± 0,39	20,36 ± 0,10
69	45,76 ± 1,36	22,27 ± 0,53	23,27 + 0,06
70	42,47 ± 0,38	21,62 ± 0,11	21,73 ± 0,76
71	45,05 ± 1,40	20,87 ± 1,03	20,10 ± 0,26
72	45,34 ± 0,22	23,50 ± 0,54	22,30 ± 0,02
73	40,79 ± 1,20	22,62 ± 0,73	21,62 ± 0,25
74	44,09 ± 1,30	19,96 ± 0,67	22,19 ± 0,61
75	44,77 ± 0,28	20,67 ± 1,06	20,71 ± 0,06
76	36,56 ± 2,06	20,03 ± 0,59	20,78 ± 0,39
77	52,23 ± 0,62	22, 84 ± 2,24	24,25 ± 0,03
78	50,31 ± 2,87	20,93 ± 0,95	25,60 ± 0,29

Tabela 2 - Teores de celulose, hemicelulose e lignina dos genótipos de cana-de-açúcar (continuação)

Genótipo	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
78	33,04 ± 0,95	19,35 ± 0,25	23,82 ± 0,02
79	43,80 ± 0,75	22,01 ± 0,28	23,70 ± 0,10
80	45,87 ± 0,48	21,22 ± 0,03	25,06 ± 0,25
81	43,81 ± 0,94	21,87 ± 0,38	24,83 ± 0,86
82	47,68 ± 0.44	22,83 ± 0,11	23,29 ± 0,02
83	46,19 ± 0,24	22,57 ± 0,14	25,40 ± 0,05
84	53,97 ± 0,41	24,18 ± 0,94	22,50 ± 0,01
85	45,59 ± 1,63	21,65 ± 0,14	21,95 ± 0,15
86	45,47 ± 0,90	21,05 ± 0,43	24,63 ± 0,04
87	36,52 ± 1,44	18,32 ± 0,44	24,47 ± 0,30
88	48,46 ± 0,27	22,76 ± 0,16	23,06 ± 0,03
89	47,87 ± 0,09	24,52 ± 0,17	20,99 ± 0,15
90	50,22 ± 0,33	23,69 ± 1,40	23,48 ± 0,21
91	44,54 ± 0,41	23,56 ± 0,29	23,38 ± 0,21
92	48,36 ± 0,20	24,58 ± 0,48	22,78 ± 0,03
93	46,03 ± 0,49	25,07 ± 1,03	22,48 ± 0,19
94	43,74 ± 1,15	22,35 ± 1,02	21,82 ± 0,42
95	47,63 ± 0,26	22,37 ± 0,56	22,36 ± 0,12
96	36,62 ± 0,47	18,62 ± 0,07	25,65 ± 0,60
97	31,07 ± 0,17	17,97 ± 0,22	22,26 ± 0,14
98	47,92 ± 0,66	23,43 ± 0,64	25,15 ± 0,08
99	48,22 ± 0,25	22,20 ± 1,27	23,75 ± 0,34
100	44,76 ± 1,65	22,45 ± 0,18	24,99 ± 0,31

Tabela 2 - Teores de celulose, hemicelulose e lignina dos genótipos de cana-de-açúcar (continuação)

Genótipo	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
101	46,14 ± 0,54	23,52 ± 0,64	24,77 ± 0,21
102	39,56 ± 1,94	23,08 ± 0,69	24,53 ± 0,33
103	51,48 ± 0,41	22,21 ± 0,59	25,31 ± 0,05
104	35,26 ± 0,58	19,10 ± 0,21	23,83 ± 0,05
105	44,43 ± 2,75	22,43 ± 1,90	22,53 ± 0,19
106	47,93 ± 0,41	21,82 ± 0,23	23,79 ± 0,04
107	35,69 ± 1,11	18,06 ± 0,79	23,78 ± 0,09
108	42,52 ± 0,45	20,07 ± 0,25	24,79 ± 0,13
109	46,84 ± 0,50	22,65 ± 0,13	23,84 ± 0,44
110	44,36 ± 2,44	21,84 ± 0,45	23,70 ± 0,12
111	38,21 ± 1,43	20,87 ± 0,67	22,76 ± 0,52
112	48,46 ± 1,21	21,45 ± 0,28	25,18 ± 0,15
113	51,09 ± 0,76	24,18 ± 0,66	22,57 ± 0,38
114	37,72 ± 3,62	19,83 ± 1,40	23,99 ± 0,21
115	47,91 ± 0,26	21,54 ± 1,13	22,62 ± 0,10
116	49,44 ± 0,05	23,13 ± 0,52	24,13 ± 0,13
117	49,10 ± 0,54	24,46 ± 1,19	24,18 ± 0,14
118	44,67 ± 0.45	21,21 ± 0,29	25,35 ± 0,26
119	48,22 ± 0,25	21,60 ± 0,27	26,43 ± 0,52
120	39,84 ± 1,13	20,91 ± 0,64	23,96 ± 0,10
121	40,09 ± 2,57	22,42 ± 0,21	25,93 ± 0,68
122	41,29 ± 1,52	21,91 ± 0,95	24,93 ± 0,72
123	50,82 ± 1,43	21,81 ± 0,30	24,30 ± 0,04

Tabela 2 - Teores de celulose, hemicelulose e lignina dos genótipos de cana-de-açúcar (continuação)

Genótipo	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
124	49,96 ± 0,29	23,59 ± 0,03	23,84 ± 0,04
125	44,85 ± 0,89	23,33 ± 2,63	21,21 ± 0,31
126	38,75 ± 0,94	21,77 ± 0,56	22,59 ± 0,30
127	29,24 ± 0,40	17,56 ± 0,17	24,49 ± 1,46
128	44,31 ± 0,99	21,41 ± 0,28	23,93 ± 0,36
129	50,73 ± 0,22	24,34 ± 0,21	21,95 ± 0,32
130	34,73 ± 0,47	18,71 ± 0,31	25,25 ± 0,09
131	46,51 ± 1,13	23,82 ± 0,57	22,17 ± 0,12
132	47,74 ± 0,30	22,86 ± 0,39	24,12 ± 0,03
133	39,47 ± 1,16	22,96 ± 1,15	24,45 ± 0,09
134	46,54 ± 0,63	24,26 ± 0,48	23,05 ± 0,05
135	45,22 ± 0,31	22,54 ± 0,78	22,21 ± 0,58
136	27,58 ± 0,29	17,08 ± 0,59	25,61 ± 0,28
137	47,10 ± 0,36	24,81 ± 0,07	24,81 ± 0,07
138	48,57 ± 0,18	22,81 ± 1,21	25,70 ± 0,01
139	31,36 ± 0,60	19,13 ± 0,46	23,75 ± 0,27
140	43,24 ± 1,37	20,45 ± 0,55	23,35 ± 0,14
141	49,23 ± 1,58	24,31 ± 0,23	20,32 ±0,29
142	29,28 ± 0,24	18,85 ± 0,72	24,75 ± 0,41
143	46,02 ± 0,97	21,86 ± 0,60	24,54 ± 0,33
144	48,53 ± 0,38	24,47 ± 0,90	23,94 ± 0,27
145	51,69 ± 0,45	20,23 ± 0,21	23,78 ± 0,11
146	49,30 ± 0,87	23,04 ± 0,14	25,80 ± 0,10

Tabela 2 - Teores de celulose, hemicelulose e lignina dos genótipos de cana-de-açúcar (continuação)

Genótipo	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
147	45,35 ± 0,45	24,52 ± 0,16	24,68 ± 0,08
148	36,61 ± 0,32	20,32 ± 0,87	26,47 ± 0,16
149	46,37 ± 0,45	23,26 ± 1,01	24,51 ± 0,62
150	49,60 ± 0,52	22,87 ± 0,45	23,87 ± 0,07
151	31,85 ± 0,50	22,67 ± 0,22	25,80 ± 0,04
152	39,73 ± 0,42	18,45 ± 0,29	23,45 ± 0,13
153	43,05 ± 1,33	20,71 ± 0,31	24,39 ± 0,01
154	44,03 ± 0,14	23,48 ± 0,27	24,90 ± 0,18
155	46,70 ± 2,10	21,95 ± 0,43	23,22 ± 0,09
156	46,63 ± 0,59	21,45 ± 0,49	23,70 ± 0,08
157	46,68 ± 1,30	21,66 ± 0,22	26,23 ± 0,04
158	48,32 ± 0,28	22,24 ± 0,26	25,16 ± 0,03
159	48,58 ± 0,45	21,50 ± 0,34	24,36 ± 0,16
160	34,52 ± 1,05	18,78 ± 1,09	23,87 ± 0,15
161	46,47 ± 0,52	23,21 ± 0,57	22,46 ± 0,05
162	46,54 ± 0,26	21,11 ± 1,35	25,87 ± 0,02
163	45,67 ± 1,55	20,89 ± 0,57	22,72 ± 0,03
164	45,09 ± 1,35	20,18 ± 0,14	22,89 ± 0,49
165	47,28 ± 1,32	24,06 ± 0,32	23,25 ± 0,03
166	40,57 ± 0,70	18,89 ± 0,41	27,13 ± 0,02
167	31,69 ± 1,24	16,71 ± 0,15	23,23 ± 0,02
168	47,26 ± 0,70	22,49 ± 0,34	21,70 ± 0,84
169	42,00 ± 2,34	20,58 ± 0,44	20,80 ± 0,11

Tabela 2 - Teores de celulose, hemicelulose e lignina dos genótipos de cana-de-açúcar (continuação)

Genótipo	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
170	48,00 ± 0,37	23,03 ± 0,30	22,97 ± 0,08
171	44,13 ± 0,27	22,15 ± 0,14	22,99 ± 0,08
173	43,07 ± 0,97	22,16 ± 0,86	23,26 ± 0,20
174	48,33 ± 0,29	21,69 ± 1,50	24,59 ± 0,02
175	29,56 ± 1,22	19,27 ± 0,29	22,21 ± 0,57
176	31,72 ± 0,38	20,83 ± 0,11	24,60 ± 0,59
177	37,97 ± 1,50	21,47 ± 0,58	24,60 ± 0,15
178	48,65 ± 0,67	22,69 ± 0,28	24,74 ± 0,01
179	46,36 ± 0,62	22,96 ± 0,31	25,26 ± 0,37
180	37,32 ± 2,72	19,31 ± 1,32	23,94 ± 1,79
181	44,99 ± 1,77	22,41 ± 0,76	22,33 ± 0,02
182	47,02 ± 0,16	22,26 ± 1,26	25,23 ± 0,05
183	38,95 ± 0,19	22,43 ± 1,03	23,20 ± 0,10
184	41,28 ± 1,20	22,74 ± 0,83	22,85 ± 0,22
185	46,42 ± 0,30	22,52 ± 0,55	23,67 ± 0,16
186	41,44 ± 0,32	22,48 ± 0,33	23,95 ± 0,08
187	44,91 ± 0,89	22,02 ± 0,23	24,00 ± 0,12
188	43,30 ± 0,15	22,38 ± 0,04	23,67 ± 0,93
189	42,27 ± 0,14	19,53 ± 0,60	20,56 ± 0,32
190	37,97 ± 0,52	17,47 ± 0,51	22,34 ± 0,05
191	44,47 ± 0,09	22,56 ± 0,48	24,27 ± 0,06
192	54,18 ± 0,14	23,24 ± 0,10	22,78 ± 0,59
193	45,02 ± 1,41	22,24 ± 0,60	21,82 ± 0,11

Tabela 2 - Teores de celulose, hemicelulose e lignina dos genótipos de cana-de-açúcar (conclusão)

Genótipo	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
194	48,09 ± 0,39	21,92 ± 0,36	24,62 ± 0,35
195	36,74 ± 0,21	19,45 ± 0,28	26,24 ± 0,10
196	26,47 ± 0,63	17,89 ± 0,86	25,47 ± 0,01
197	41,96 ± 0,13	22,84 ± 0,08	25,14 ± 0,30
198	38,54 ± 0,12	20,15 ± 0,86	24,37 ± 0,42
199	48,23 ± 0,13	24,46 ± 0,51	24,55 ± 0,04
200	27,70 ± 2,82	20,92 ± 0,24	24,07 ± 0,05
201	48,68 ± 0,27	22,60 ± 0,55	25,54 ± 0,06
202	46,97 ± 2,11	22,86 ± 0,41	24,29 ± 0,25
203	44,64 ± 0,62	21,34 ± 0,43	23,79 ± 0,42
204	45,78 ± 0,16	22,07 ± 0,66	24,44 ± 0,76
205	47,88 ± 0,95	23,43 ± 0,30	24,97 ± 0,16
206	35,76 ± 0,52	18,50 ± 0,20	23,27 ± 0,12
207	42,22 ± 0,97	20,25 ± 0,37	22,18 ± 0,12
218	45,76 ± 0,72	22,71 ± 0,08	21,74 ± 0,02

Na Tabela 3, é possível visualizar a composição química de diferentes amostras de bagaço de cana-de-açúcar. De acordo com a literatura, os teores de celulose estão na faixa de 38,4 a 45,0 %, os de hemicelulose de 22,7 a 25,8% e os de lignina de 19,1 a 31,4% (GOUVEIA et al., 2009; PITARELO, 2007; CANILHA; SANTOS; ROCHA, 2011; RABELO et al., 2011). Os resultados encontrados nesta pesquisa estão condizentes com os apresentados na literatura. No entanto, em todos os três componentes o range entre os teores de celulose, hemicelulose, lignina foram maiores do que os tradicionalmente citados na literatura. A grande variação observada nas porcentagens de cada componente da fibra pode ser explicada pela variabilidade genética existente entre os diversos materiais

analisados. Isto se deve ao fato de que foram utilizados diferentes acessos de um banco de germoplasma, que são os materiais primários utilizados para a obtenção das variedades comerciais, ou seja, normalmente, não estão disponíveis em lavouras comerciais. Também pelo fato de fazer parte de um grupo de materiais que estão sendo utilizados para o desenvolvimento de variedades de cana energia, as quais se caracterizam por apresentar teores de fibra maiores do que as tradicionalmente utilizadas nas lavouras brasileiras. Isto porque nessas lavouras há interesse pela fibra para manter o balanço energético da usina. Contudo, há muito foco no ATR (açúcar total recuperável) da cana. Além disso, uma série de fatores como as condições de plantio, o tipo de vegetal analisado, as condições de crescimento, a parte da planta escolhida, a idade de colheita e o método analítico utilizado na caracterização também podem influenciar nessa caracterização química (OGEDA; PETRI, 2010; HAMES et al., 2003).

Tabela 3 – Teores de celulose, hemicelulose e lignina em diferentes amostras de bagaço de cana-de-açúcar

	Composição		
Referências	**% Celulose**	**% Hemicelulose**	**% Lignina**
Pitarelo, 2007	41,1	22,7	31,4
Gouveia et al., 2009	42,8	25,8	22,4
Canilha et al., 2011	45,0	25,8	19,1
Rabelo et al., 2011	38,4	23,2	25,0
Neste Projeto	26,47 – 54,18	16,71 – 25,97	17,70- 27,12
Médias das referências	41,82	24,37	24,47

No que diz respeito à análise da composição da parede celular, várias linhas de pesquisa têm sido desenvolvidas nesta área para a otimização da obtenção de biocombustíveis a partir de diversas biomassas. Isto porque o pré-tratamento é uma das etapas mais caras na produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos (WYMAN et al., 2005). Para facilitar esta etapa é desejável que a interação entre os carboidratos da parede celular e a lignina seja reduzida para que ocorra uma

conversão mais eficiente da celulose em açúcares fermentáveis. Assim, o uso da seleção ou engenharia genética para a obtenção de culturas vegetais dedicadas à produção de bioenergia ganha grande destaque. Nesses materiais, a parede celular sofre alterações de forma que a celulose fique mais acessível a ação das enzimas hidrolíticas, sendo que a presença de baixos teores de lignina e/ou menor cristalinidade da fibra de celulose também seria de interesse (DAMASCENO et al., 2010). Conjuntamente, essas propriedades levarão à produção economicamente viável de biocombustíveis (YACOBUCCI; SCHNEPF, 2007). Com esse objetivo, várias linhas de pesquisa têm focado na manipulação e na introdução de genes relacionados às vias biossintéticas dos principais polímeros da parede celular, em especial da lignina, para obtenção de materiais mais adaptados aos processos envolvidos na produção do etanol de segunda geração (CHEN; DIXON, 2007). Neste sentido, o genótipo 27, embora não seja aquele que apresentou os maiores de teores de celulose, pois apresentou um teor médio de 41,68 % de celulose, ao passo que o genótipo 192, apresentou 54,18 % desse componente, apresentou apenas 17,7 % de lignina e 20,75 % hemicelulose. Isto significa que seria o material teoricamente mais fácil de se realizar o pré-tratamento e a hidrólise da celulose.

Segundo Hill et al. (2006), a maximização da produção de biomassa por unidade de área plantada será um dos principais focos dos programas de melhoramento voltados para produção de bioenergia, visando conseguir diminuir a necessidade de área cultivável. Os autores dizem que as alterações nas proporções e estruturas dos vários polímeros que constituem a parede celular também constituirão um importante foco adicional para a produção de culturas dedicadas à bioenergia, uma vez que um dos principais problemas para a conversão de biomassa para açúcares fermentáveis é a sacarificação da celulose e hemicelulose.

No trabalho de Draude, Kurniawan e Duff (2001) verificou-se que a remoção de 67 % da lignina da polpa da madeira aumentou em até duas vezes a taxa de hidrólise da celulose e em quase três vezes os açúcares resultantes do processo de quebra do polímero em questão. Resultados semelhantes foram obtidos com milho por Yang e Wyman (2004). As propriedades da lignina e as limitações que ela pode causar no processo de conversão da biomassa fazem da sua biossíntese um ponto de controle para a obtenção de materiais com maior eficiência para produção de biocombustíveis (DAMASCENO et al., 2010).

Mussato et al. (2008) verificaram que embora a lignina seja um dos principais fatores limitantes da hidrólise enzimática da celulose, a hemicelulose também exerce uma influência negativa na ação das enzimas sobre a celulose. Os resultados do trabalho desses autores mostra que a remoção da hemicelulose favorece a hidrólise, proporcionando a formação de glicose e uma taxa de conversão da celulose maior do que as obtidas a partir de material não-tratado. De acordo com diversos autores (MANSFIELD; MOONEY; SADDLER, 1999; LIAO et al., 2005), a remoção da hemicelulose e da lignina dos materiais lignocelulósicos acarreta em mudanças na estrutura e na acessibilidade da celulose, aumenta a superfície de contanto, tornando-a mais acessível às celulases.

Segundo Damasceno et al. (2010), um dos maiores desafios nesta área é facilitar a remoção da lignina da biomassa ou reduzir seus efeitos na sacarificação da celulose, mantendo teores mínimos de lignina para garantir as propriedades agronômicas das culturas. Isto porque materiais com teores muito baixos de lignina tendem a sofrer tombamento com mais facilidade e essa característica acaba por prejudicar a colheita mecanizada da cana-de-açúcar. Para cada unidade de porcentagem a menos de lignina, duas a quatro vezes mais celulose podem se tornar disponíveis para conversão em açúcares fermentáveis (GRESSEL, 2008).

Materiais contendo mais celulose e/ou menos lignina, ou com a composição de lignina modificada, têm maior digestibilidade animal. Por estas mesmas razões estes materiais têm grande potencial para apresentar maior eficiência de conversão em biorreatores (BARRIÈRE et al., 2004).

Para fins industriais, o bagaço de cana tem sido tratado com peróxido de hidrogênio, a fim de quebrar as ligações existentes na parede celular e, assim, aumentar a digestibilidade do mesmo no rúmen animal (AMJED; JUNG; DONKER, 1992). Este tratamento resulta na liberação do dobro de glicose, xilose e ácidos urônicos no rúmen quando comparado com os controles não-tratados. Estes autores sugeriram que a remoção da lignina e do ácido ferúlico foram a chave para o aumento da digestibilidade.

Com base nos resultados obtidos neste estudo e nos resultados reportados por outros autores, a fim de facilitar a comparação dos resultados de diferentes materiais genéticos de cana-de-açúcar, apresenta-se no item 4.2 uma proposta de modelo para a classificação da cana-de-açúcar em função dos teores de celulose, hemicelulose e lignina.

4.2 Proposta de classificação dos genótipos de cana-de-açúcar em relação às porcentagens de celulose, hemicelulose e lignina

As amostras de cana foram caracterizadas de acordo com a metodologia ilustrada no item 3 e classificadas em grupos, de acordo com a Tabela 4.

Tabela 4 – Modelo de proposta para a classificação da cana-de-açúcar em função da composição das fibras (celulose, hemicelulose e lignina)

Celulose	Hemicelulose	Lignina
C1 (>50 %)	H1 (>35 %)	L1 (>35 %)
C2 (40-50 %)	H2 (30-35 %)	L2 (30-35 %)
C3 (30-40 %)	H3 (25-30 %)	L3 (25-30 %)
C4 (20-30 %)	H4 (20-25 %)	L4 (20-25 %)
C5 (<20 %)	H5 (<20 %)	L5 (<20 %)

C = celulose
H = hemicelulose
L = lignina

O modelo proposto na Tabela 4 visa padronizar as futuras discussões sobre os teores de celulose (C), hemicelulose (H) e lignina (L) em novos trabalhos envolvendo a caracterização de fibras em cana-de-açúcar. Além disso, se espera que seja adotado como uma ferramenta para os geneticistas ao lançarem novas variedades de cana-de-açúcar no mercado. Como exemplo, caso venha ser lançada uma nova variedade de cana-de-açúcar que apresenta em média 35 % de celulose, 28 % de hemicelulose e 18 % de lignina, este material receberia além das informações tradicionais a sigla $\mathbf{C_3H_3L_5}$. Isto nos indicaria que o novo material apresentaria entre 30 e 40 % de celulose, 25 a 30 % de hemicelulose e menos de 20 % de lignina. Tal informação seria muito interessante visando o planejamento de plantio de variedades de cana-de-açúcar para uso nas futuras biorrefinarias a partir de cana de açúcar, pois o próprio material já informaria qual o percentual médio de açúcares de 6 carbonos (celulose), açúcares de 5 carbonos (hemicelulose) e não açúcares da fibra (lignina).

Segundo o modelo de classificação proposto na Tabela 5 e pelos resultados obtidos neste estudo, os diferentes genótipos de cana-de-açúcar avaliados podem ser agrupados quanto ao teor de celulose, em um conjunto principal, com cerca de 73,43 %, dos 207 genótipos que foram avaliados no grupo C2, ou seja, apresentaram de 40 a 50 % desse componente. Baseando no conhecimento existente, a hidrólise completa dessa celulose pode gerar glicose (SILVA, 2010), a qual pode ser convertida quimicamente ou bioquimicamente a uma série de substâncias, como ácidos orgânicos, sorbitol, hidroximetilfurfural, que é um importante intermediário para a produção de dimetilfurfural (DMF), bioetanol por sua vez, pode ter inúmeras aplicações, dentre elas: como combustível veicular ou aditivo de combustível; empregado na produção de moléculas como butadieno, ésteres e etileno; aplicado na indústria farmacêutica, alimentícia e cosmética (PEREIRA Jr.; COUTO; SANTA ANNA, 2008), sendo que derivados da celulose, como a metilcelulose também podem ser obtidos para aplicações diversas nas indústrias alimentícias e farmacêuticas alimentar (CALEGUER; BENASSI, 2007; LOPES; LOBO; COSTA, 2005).

Em relação à porcentagem de hemicelulose, 82,61 % dos genótipos analisados ficou no grupo H4, apresentando de 20 a 25 % desse componente. A hidrólise da fração hemicelulósica gera como produto uma mistura de açúcares, com predominância, no caso do bagaço de cana, de xilose. O mercado tradicional para este açúcar tem sido para a produção de furfural, que é um solvente seletivo, muito reativo, usado em larga escala na purificação de óleos ou também pode ser convertida biologicamente em proteína unicelular (*Single Cell Protein*) ou em um grande número de combustíveis e solventes. Dentre os principais produtos obtidos a partir desses açúcares podem ser citados: o etanol por leveduras com habilidade de fermentar esta pentose; o xilitol, por leveduras com atividade redutásica sobre xilose e, ainda, a uma série de ácidos orgânicos, solventes e outros combustíveis (ácidos succínico, acético, láctico e butírico, butanol, 2,3 butanodiol, acetoína, acetona e propanol) por bactérias (CGEE, 2010).

A partir da hemicelulose também podem ser obtidas gomas vegetais para a produção de espessantes, adesivos, emulsificantes, estabilizantes e outros produtos químicos, como precursores de polímeros (MORAIS; ROSA; MARCONCINI, 2010).

Também pode ser observado que 82,12 % dos genótipos de cana-de-açúcar apresentaram de 20 a 25 % de lignina, ficando assim classificados como L4.

Atualmente, nas usinas, a maior parte da lignina residual tem sido queimada para gerar energia. Entretanto, tendo em vista suas interessantes propriedades funcionais, a lignina oferece perspectivas de utilização para a obtenção de produtos de alto valor agregado, como ligantes, dispersantes, emulsificantes e sequestrantes. A partir dela podem ser extraídos adesivos e serem produzidos: compostos aromáticos leves e combustível sólido sem enxofre, a partir da lignina (MORAIS; ROSA; MARCONCINI, 2010). As ligninas, quando degradadas para formarem frações de massas molares menores, podem ser utilizadas na fabricação de espumas de poliuretanas, resinas fenólicas e epóxi, como fontes de fenol e etileno e podem ser convertidas em fibras de carbono (LORA; GLASSER, 2002).

Portanto, pode-se dizer que o maior número de genótipos das famílias analisadas apresenta a classificação $\mathbf{C_2H_4L_4}$.

Tabela 5 – Classificação dos genótipos de cana-de-açúcar analisados pela metodologia proposta

(continua)

Genótipo	Celulose	Hemicelulose	Lignina
1	C2	H4	L4
2	C2	H4	L4
3	C2	H4	L4
4	C2	H4	L4
5	C2	H4	L4
6	C2	H5	L4
7	C2	H4	L4
8	C2	H4	L3

Tabela 5 – Classificação dos genótipos de cana-de-açúcar analisados pela metodologia proposta (continuação)

Genótipo	Celulose	Hemicelulose	Lignina
9	C2	H4	L4
10	C3	H5	L4
11	C2	H4	L4
12	C2	H4	L4
13	C2	H4	L4
14	C1	H4	L4
15	C2	H4	L4
16	C2	H4	L4
17	C1	H4	L4
18	C1	H4	L4
19	C3	H5	L3
20	C1	H4	L4
21	C2	H4	L4
22	C2	H4	L4
23	C3	H4	L5
24	C2	H4	L4
25	C2	H5	L5
26	C2	H4	L4
27	C2	H4	L5
28	C2	H4	L4
29	C2	H4	L4
31	C2	H4	L4

Tabela 5 – Classificação dos genótipos de cana-de-açúcar analisados pela metodologia proposta (continuação)

Genótipo	Celulose	Hemicelulose	Lignina
32	C3	H5	L5
33	C2	H4	L4
34	C2	H4	L4
35	C2	H4	L4
36	C2	H4	L4
37	C2	H4	L4
38	C2	H4	L4
39	C2	H4	L3
40	C2	H4	L4
41	C2	H4	L4
42	C2	H4	L4
43	C3	H5	L4
44	C2	H4	L4
45	C2	H4	L4
46	C1	H4	L4
47	C2	H4	L3
48	C2	H4	L4
49	C2	H4	L4
50	C2	H4	L4
51	C2	H4	L4
52	C2	H4	L4
53	C2	H4	L4
54	C2	H4	L3

Tabela 5 – Classificação dos genótipos de cana-de-açúcar analisados pela metodologia proposta (continuação)

Genótipo	Celulose	Hemicelulose	Lignina
55	C2	H4	L4
56	C2	H4	L3
57	C2	H4	L4
58	C2	H5	L4
59	C1	H4	L4
60	C2	H4	L4
61	C2	H4	L3
62	C2	H4	L4
63	C2	H4	L4
64	C2	H5	L4
65	C2	H5	L4
66	C2	H4	L4
67	C2	H4	L4
68	C2	H4	L4
69	C2	H4	L4
70	C2	H4	L4
71	C2	H4	L4
72	C2	H4	L4
73	C2	H4	L4
74	C2	H4	L4
75	C2	H4	L4
76	C1	H4	L4
77	C1	H4	L4

Tabela 5 – Classificação dos genótipos de cana-de-açúcar analisados pela metodologia proposta (continuação)

Genótipo	Celulose	Hemicelulose	Lignina
78	C3	H5	L4
78	C1	H4	L3
79	C2	H5	L4
80	C2	H4	L3
81	C2	H4	L4
82	C2	H4	L4
83	C2	H4	L3
84	C1	H4	L4
85	C2	H4	L4
86	C2	H4	L4
87	C3	H5	L4
88	C2	H4	L4
89	C2	H4	L4
90	C1	H4	L4
91	C2	H4	L4
92	C2	H4	L4
93	C2	H4	L4
94	C2	H4	L4
95	C2	H4	L4
96	C3	H5	L3
97	C3	H5	L4
98	C2	H4	L3
99	C2	H4	L4

Tabela 5 – Classificação dos genótipos de cana-de-açúcar analisados pela metodologia proposta (continuação)

Genótipo	Celulose	Hemicelulose	Lignina
100	C2	H4	L4
101	C2	H4	L4
102	C3	H4	L4
103	C1	H4	L3
104	C3	H5	L4
105	C2	H4	L4
106	C2	H4	L4
107	C3	H5	L4
108	C2	H4	L4
109	C2	H4	L4
110	C2	H4	L4
111	C3	H4	L4
112	C2	H4	L3
113	C1	H4	L4
114	C3	H5	L4
115	C2	H4	L4
116	C2	H4	L4
117	C2	H4	L4
118	C2	H4	L3
119	C2	H4	L3
120	C3	H4	L4
121	C2	H4	L3
122	C2	H4	L4

Tabela 5 – Classificação dos genótipos de cana-de-açúcar analisados pela metodologia proposta (continuação)

Genótipo	Celulose	Hemicelulose	Lignina
123	C1	H4	L4
124	C2	H4	L4
125	C2	H4	L4
126	C3	H4	L4
127	C4	H5	L4
128	C2	H4	L4
129	C1	H4	L4
130	C3	H5	L3
131	C2	H4	L4
132	C2	H4	L4
133	C3	H4	L4
134	C2	H4	L4
135	C2	H4	L4
136	C4	H5	L3
137	C2	H4	L4
138	C2	H4	L3
139	C3	H5	L4
140	C2	H4	L4
141	C2	H4	L4
142	C4	H5	L4
143	C2	H4	L4
144	C2	H4	L4
145	C1	H4	L4

Tabela 5 – Classificação dos genótipos de cana-de-açúcar analisados pela metodologia proposta (continuação)

Genótipo	Celulose	Hemicelulose	Lignina
146	C2	H4	L3
147	C2	H4	L4
148	C3	H5	L3
149	C2	H4	L4
150	C2	H4	L4
151	C3	H4	L3
152	C3	H4	L4
153	C2	H4	L4
154	C2	H4	L4
155	C2	H4	L4
156	C2	H4	L4
157	C2	H4	L3
158	C2	H4	L3
159	C2	H4	L4
160	C3	H5	L4
161	C2	H4	L4
162	C2	H4	L3
163	C2	H4	L4
164	C2	H4	L4
165	C2	H4	L4
166	C2	H4	L3
167	C3	H5	L4
168	C2	H4	L4

Tabela 5 – Classificação dos genótipos de cana-de-açúcar analisados pela metodologia proposta (continuação)

Genótipo	Celulose	Hemicelulose	Lignina
169	C2	H4	L4
170	C2	H4	L4
171	C2	H4	L4
173	C2	H4	L4
174	C2	H4	L4
175	C4	H4	L4
176	C3	H5	L4
177	C3	H4	L4
178	C2	H4	L4
179	C2	H4	L3
180	C3	H5	L4
181	C2	H4	L4
182	C2	H4	L3
183	C3	H4	L4
184	C2	H4	L4
185	C2	H4	L4
186	C2	H4	L4
187	C2	H4	L4
188	C2	H4	L4
189	C2	H5	L4
190	C3	H5	L4
191	C2	H4	L4
192	C1	H4	L4

Tabela 5 – Classificação dos genótipos de cana-de-açúcar analisados pela metodologia proposta (conclusão)

Genótipo	Celulose	Hemicelulose	Lignina
193	C2	H4	L4
194	C2	H4	L4
195	C3	H5	L3
196	C4	H5	L3
197	C2	H4	L3
198	C3	H5	L4
199	C2	H4	L4
200	C4	H5	L4
201	C2	H4	L3
202	C2	H4	L4
203	C2	H4	L4
204	C2	H4	L4
205	C2	H4	L4
206	C3	H5	L4
207	C2	H5	L4
218	C2	H4	L4

4.3 Estudos de caso

Com base nos resultados encontrados com a caracterização dos genótipos de cana-de-açúcar investigados foram feitas três simulações distintas de aproveitamento desses materiais para biorrefinarias. Esse estudo permitiu verificar que a variação na composição da fibra da coleção de cana-de-açúcar avaliada pode permitir no futuro ter um grande range variedades que atendam aos mais distintos propósitos na indústria de bioprocessos. Os bioprodutos utilizados como referência

para a análise dos resultados desta pesquisa foram o etanol de segunda geração, o polietileno verde e o xilitol.

Os estudos de caso em questão foram realizados considerando a utilização de 1000 toneladas de cana-de-açúcar de cada um dos genótipos analisados com maior e menor potencial de sintetizar a celulose, a hemicelulose e a lignina, ou seja, quanto seria possível produzir de cada produto de interesse a partir dessa quantidade de matéria-prima com os diferentes genótipos. As simulações realizadas foram feitas de acordo com os resultados apresentados na Tabela 2. A Figura 24 ilustra o esquema com os resultados obtidos a partir das informações contidas na literatura na qual é demonstrada que o bagaço apresenta composição média de 41,82 % de celulose e 24,37 % de hemicelulose (Tabela 3).

Figura 24 – Esquema do potencial de produção de etanol celulósico, polietileno verde e xilitol a partir de 1000 toneladas de cana-de-açúcar

4.3.1 Etanol de segunda geração

Com base no exposto anteriormente, estima-se que a partir de uma tonelada de cana sejam produzidos cerca de 280 kg de bagaço e que a partir de uma tonelada de bagaço seja possível produzir em torno de 300 L de etanol de segunda geração (CHANDEL et al., 2011; DIAS et al., 2009). Logo, a partir de 1000 toneladas de cana, seriam produzidas 280 toneladas de bagaço com cerca de 41,82 % de celulose na composição da fibra, o que permitiria uma produção de 83,64 m^3 de etanol celulósico. De acordo com a classificação das amostras analisadas, segundo a proposta estabelecida no item 4.2, a classe mais interessante para a produção do etanol de segunda geração seria a C1, ou seja, as que apresentam teores de celulose superiores a 50 % em sua composição. O genótipo 192 foi o que apresentou o maior percentual de celulose (54,18 %) e desse grupo seria aquele que apresenta o maior potencial de produção de alta quantidade de etanol. A partir desse material seria possível a produção de aproximadamente 108,36 m^3 de etanol

celulósico. Isto significa dizer que apenas com a escolha do material seria possível aumentar em mais de 20 % a produção de etanol por tonelada de cana do que os materiais disponíveis no mercado. Por outro lado, o genótipo 196 foi o que mostrou a menor quantidade desse componente na fibra (26,47 %). Fazendo uso de uma cana-de-açúcar dessa família poderiam ser produzidos aproximadamente 52,94 m^3 de etanol de segunda geração. A diferença no potencial de produção entre os genótipos citados é de 51,15 %. Quanto maior o teor de celulose existente na matéria-prima utilizada, maior a quantidade de glicose que será gerada após a etapa de hidrólise e, consequentemente, maior poderá ser a produção do etanol proveniente de biomassas lignocelulósicas.

As informações aqui apresentadas serão muito úteis ao planejamento e tomada de decisões para o país, se existirem políticas públicas sólidas e o setor sucroenergético decidir investir em exportação. As perspectivas norte-americanas mais otimistas, as quais afirmam que, em 2022, serão produzidos aproximadamente 60 bilhões de litros de biocombustíveis celulósicos ou de segunda geração, como pode ser visualizado na Figura 25. De acordo com esta Figura, a produção de biocombustíveis de segunda geração apresentará o maior crescimento quando comparada com o bioetanol de milho, de primeira geração. Os materiais investigados nessa pesquisa poderão ser muito úteis para o Brasil poder absorver parte desse mercado bilionário de biocombustíveis dos Estados Unidos.

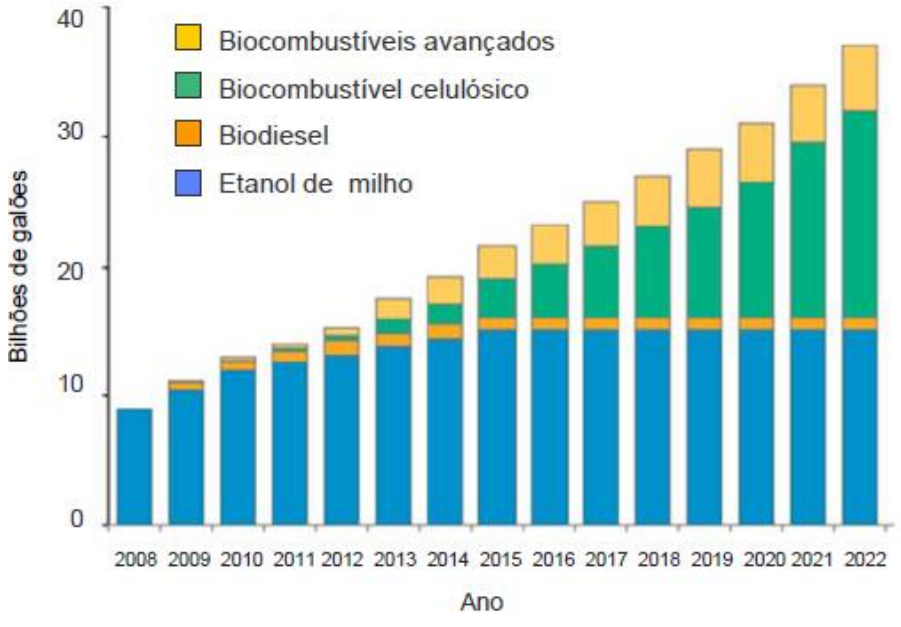

Figura 25 – Perspectivas da produção de biocombustíveis

Fonte: Verenium (2008) apud Silva (2010)

O cenário é promissor, uma vez que para cada 10 milhões de toneladas de biomassa seca, 600 milhões de galões de etanol poderiam ser produzidos, o que corresponde a aproximadamente 2,27 milhões de m^3, considerando somente o uso do bagaço da cana (SOCCOL et al., 2010).

4.3.2 Polietileno verde

Dentre os genótipos de cana analisados, o 192 foi o que apresentou maior teor de celulose (54,18 %). Partindo desse material seria possível a produção de 108,36 m^3 de etanol de segunda geração. Já o genótipo 196 teve a menor porcentagem de hemicelulose em sua composição (26,47 %). A partir desse dado estima-se que aproximadamente 52,94 m^3 de etanol celulósico. Segundo a Braskem (2013), a partir de 82,5 toneladas de cana-de-açúcar é possível produzir 7200 L de etanol, o que resulta em 3 toneladas de polietileno verde. Portanto, para cada 1000 toneladas de cana-de-açúcar com 41,82 % de celulose em sua composição (média fornecida na Tabela 3) poderiam ser obtidos 87,27 m^3 de etanol, o que daria para produzir 36,36 toneladas de polietileno verde. Portanto, se fosse utilizado o genótipo 192 seria possível produzir 45,15 toneladas do produto desse produto a partir de 1000 toneladas de cana. Isto significa dizer um aumento de 24,17 % na produção desse produto em relação ao potencial das médias dos materiais no mercado. Contudo, caso o planejamento não seja o mais apropriado para a linha de produção em questão e fosse adotado o genótipo 196, seria possível obter apenas 22,05 t de plástico verde por 1000 toneladas. Isto representa uma produção 39,35 % menor do que do potencial produtivo dos materiais disponíveis no campo.

Fazendo uso da cana e do bagaço proveniente de um material como o genótipo 192, a geração do polietileno verde poderia aumentar 24,17 %, aumentando a produção e, consequentemente, os lucros da empresa. Desta forma, de acordo com a classificação proposta, uma matéria-prima pertencente à classe C1 seria mais interessante para a obtenção do polietileno verde, uma vez que esta apresenta porcentagens de celulose superiores a 50 %.

Os polímeros produzidos a partir do petróleo têm um papel relevante para a sociedade. A redução da disponibilidade de matéria-prima fóssil associada às consecutivas altas no preço do petróleo tem motivado a busca por polímeros provenientes a partir de fontes renováveis (BELLOLI, 2010). Além disso, o consumo

de produtos plásticos ao longo dos anos vem gerando grande volume de resíduos desse material, sendo que seu acúmulo acarreta em grandes problemas ambientais (KUMAR et al., 2010). Várias alternativas têm sido aplicadas visando reduzir os impactos ambientais ocasionados pelo descarte inadequado desses produtos. Dentre as alternativas estão o reaproveitamento e a reciclagem, práticas que vêm aumentando com o tempo. A produção e utilização de biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes surge como mais uma alternativa, a qual, devido sua viabilidade técnica e econômica, apresenta grande potencial de expansão (BRITO et al., 2011). Por esses motivos, os materiais caracterizados neste estudo têm grande potencial de aplicação para esse bioprocesso, podendo contribuir muito para a sustentabilidade do planeta e para o desenvolvimento econômico do Brasil.

4.3.3 Xilitol

Dentre os materiais estudados no projeto, o genótipo 77 foi o que apresentou a maior quantidade de hemicelulose em sua composição (25,97 %). Utilizando uma cana dessa família, cerca de 72,72 toneladas de hemicelulose. Já a partir do genótipo 167, com 16,71 % de hemicelulose, poderiam ser produzidos 46,79 toneladas de hemicelulose. Segundo estudos da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ (2013), a partir de 1 tonelada de bagaço de cana-de-açúcar poderiam ser produzidos cerca de 150 kg de xilitol. Aumentando a escala desses valores, a partir de 1 tonelada de cana com cerca de 24,37% de hemicelulose na constituição da fibra, são gerados 280 toneladas de bagaço, o que daria para produzir 240 kg de hemicelulose, que poderiam ser convertidos em 42,65 toneladas de xilitol. Portanto, seria possível produzir aproximadamente 45,45 toneladas de xilitol a partir de 1000 toneladas de cana do genótipo 77. Caso fosse feito o uso do genótipo 167, poderiam ser obtidas apenas 29,24 toneladas do produto. Comparando os valores obtidos fazendo uso do genótipo 77 e 167, verifica-se que a produção utilizando o material 77 é de aproximadamente 1,5 vezes maior. Assim, uma matéria-prima pertencente à classe H_1, de acordo com a proposta de classificação utilizada, seria a mais recomendada para a produção do xilitol, pois apresenta valores superiores a 35% de hemicelulose em sua composição. Neste caso, para uma maior produção de xilitol seria interessante utilizar um material com maior teor de hemicelulose em sua

composição, uma vez que a hidrólise desse polímero, em relação à cana, originaria principalmente xilose que é convertida no produto de interesse. Esta estratégia deve ser analisada com atenção pelo setor, uma vez que segundo Sarrouh (2009), o produto que pode ser comercializado de USD$ 20 a USD$ 200 por kg, dependendo do seu grau de pureza.

5 CONCLUSÕES

Conclui-se que, dentre os 207 genótipos de cana-de-açúcar analisados os teores de celulose variaram de 26,47 a 54,18 %. Em relação à hemicelulose, os valores variaram de 16,71 a 25,97 %. E quanto à proporção de lignina, os materiais apresentaram de 17,7 a 27,13 % de componente.

Segundo o modelo de classificação de material lignocelulósico proposto para a cana-de-açúcar, 73,43 % dos genótipos foram classificados no grupo C2, ou seja, apresentaram de 40 a 50 % de celulose. Em relação à porcentagem de hemicelulose, 82,61 % dos genótipos se enquadram no grupo H4, apresentando de 20 a 25 % desse componente. No tocante a lignina, 82,12 % dos genótipos de cana-de-açúcar apresentaram de 20 a 25 % de lignina, classificado-se como L4. Portanto, o maior número de genótipos das famílias analisadas apresenta a classificação $C_2H_4L_4$.

Em relação aos estudos de caso propostos para avaliar o potencial de produção de etanol de segunda geração e polietileno verde conclui-se que os genótipos classificados como C1, ou seja, que apresentam mais de 50 % de celulose em sua composição são os mais indicados para a produção dos dois primeiros produtos em questão. Dentre os materiais avaliados, o genótipo 192 é mais indicado para a produção de etanol celulósico e polietileno verde. O genótipo 77 é aquele que apresenta maior quantidade de hemicelulose. Portanto, o mais indicado para produção de bioprodutos a partir de açúcares de 5 carbonos, como o caso do xilitol.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC nº 3, de 2 de janeiro de 2001:** aprova o regulamento técnico que aprova o uso de aditivos edulcorantes, estabelecendo seus limites máximos para os alimentos. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis/resol/ 2001/02.rdc.htm>. Acesso em: 29 set. 2012.

AGUIAR, C.L.; OETTERER; M.; MENEZES, T.J.B. Caracterização e aplicações do xilitol na indústria alimentícia. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia e Alimentos**, Campinas, v. 33, n. 2, p. 184-193, jul./dez. 1999.

AGUIAR, C.M. de. **Hidrólise enzimática de resíduos lignocelulósicos utilizando celulases produzidas pelo fungo *Aspergillus niger.*** 2010. 106 p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2010.

ALEXANDRINO, A.M.; FARIA, H.G. de; SOUZA, C.G.M. de; PERALTA, R.M. Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus* (Jack:Fr). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 2, n. 27, p. 364-368, abr./jun. 2007.

AMJED, M.; JUNG, H.G.; DONKER, J.D. Effect of alcaline hydrogen peroxide treatment on cell wall composition and digestion kinetics of sugarcane residues and wheat straw. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, p. 2877–2884, 1992.

ARANTES, V.; SADDLER, J.N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. **Biotechnology for Biofuels**, London, v. 3, n. 4, p. 2-11, 2010.

ARRUDA, P.V. de. **Efeito do glicerol na bioconversão de xilose em xilitol pela levedura *Candida guilliermondii* FTI 20037**. 2007. 75 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2007.

BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL; CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS. **Bioetanol de cana-de-açúcar:** energia para o desenvolvimento sustentável. Rio de Janeiro, 2008. 316 p.

BARRIÈRE, Y.; RALPH, J.; MECHIN, V.; GUILLAUMIE, S.; GRABBER, J.H.; ARGILLIER, O.; CHABBERT, B.; LAPIERRE, C. Genetic and molecular basis of grass cell wall biosynthesis and degradability: II. Lessons from brown-midrib mutants. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 327, p. 847-860, 2004.

BASTOS, V.D. Etanol, alcoolquímica e biorrefinarias. In: _____. **Etanol, alcoolquímica e biorrefinarias.** Rio de Janeiro: Ed. BNDES, 2007.

BELLOLI, R. **Polietileno verde do etanol da cana-de-açúcar brasileira: Biopolímero de classe mundial**. 2010. 34 p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

BIRKHED, D. Cariologic aspects of xilitol and its use in chewing gum: a review. **Acta Odontologica Sscandinavica**, Oslo, v. 52, p. 117-127, 1994.

BLAKER, J.J.; LEE, K.Y.; LI, X.; MENNER, A.; BISMARCK, A. Renewable nanocomposite polymer foams synthesized from pickering emulsion templates. **Green Chemistry**, London, v. 11, n. 9, p. 1321-1326, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento. **Cana-de-açúcar**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar>. Acesso em: 19 fev. 2013.

BRASKEM. **Biopolímero polietileno verde, inovação transformando plástico em sustentabilidade**. Disponível em: <http://www.braskem.com.br/catalogo2013junho_17/>. Acesso em: 20 jun. 2013.

BRIDGWATER, A.V. Renewable fuels and chemicals by thermal processing of biomass. **Chemical Engineering Journal**, Philadelphia, v. 91, n. 2/3, p. 87-102, mar. 2003.

BRITO, G.F.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E.M.; MÉLO, T.J.A. Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, Campina Grande, v. 6, n. 2, p. 127-139, 2011.

BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, W.D. dos; SOUZA, AP. de. **As rotas para o etanol celulósico no Brasil.** Disponível em: <www.apta.sp.gov.br/cana/coletanea/Buckeridge%5B1%5D.doc>. Acesso em: 08 set. 2011.

CALEGUER, V.F.; BENASSI, M.T. Effect of adding pulp carboxymethyl cellulose and Arabic gum to sensory characteristics and acceptance of powdered orange flavored refreshments. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 270-277, 2007.

CAMARGO, C.A. Aproveitamento do bagaço de cana. In: _____. **Conservação de energia na indústria do açúcar e álcool.** São Paulo: IPT, 1990.

CAMPBELL, M.M.; SEDEROFF, R.R. Variation in lignin content and composition. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 110, p. 3-13, 1996.

CANILHA, L.; SANTOS, V.T.O.; ROCHA, G.J.M. A study on the pretreatment of a sugarcane bagasse sample with dilute sulfuric acid. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 38, p. 1467–1475, 2011.

CANILHA, L.; CHANDEL, A.K.; MILESSI, T.S.S.; ANTUNES, F.A.F.; FREITAS, W.L.C.; FELIPE, M.G.A.; SILVA, S.S. da. Bioconversion of sugarcane biomass into ethanol: an overview about composition, pretreatment methods, detoxification of hydrolysates, enzymatic saccharification, and ethanol fermentation. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, Cairo, v. 2012, p. 1-15, 2012.

CANILHA, L.; MILAGRES, A.M.F.; SILVA, S.S.; SILVA, J.B.A. e; FELIPE, M.G.A.; ROCHA, G.J.M.; FERRAZ, A.; CARVALHO, W. Sacarificação da biomassa lignocelulósica através de pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática: uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal. **Revista Analytica**, São Paulo, n. 44, p. 48-54, jan. 2010.

CARPITA, N.C.; GIBEAUT, D.M. Structural models of the primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the wall during growth. **The Plant Journal**, Malden, v. 3, p. 1-30, 1993.

CARVALHO, L.C.C. A cana-de-açúcar no contexto atual; aspectos técnicos, econômicos e ambientais. In: SEMANA DE CANA-DEAÇÚCAR DE PIRACICABA, 2., 1997, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, 1997. p. 16-28.

CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L.C.; GÍRIO, F.M. Hemicellulose biorefineries: a review on biomass pretreatments. **Journal of Scientific and Industrial Research**, New Delhi, v. 67, p. 849-864, 2008.

CASS, Q.B.; DEGANI, A.L.G. **Desenvolvimento de métodos por HPLC:** fundamentos, estratégias e validação. São Carlos: UFScar, 2000. 106 p.

CECCHI, H.M. Cromatografia em coluna. In: _____. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos.** Campinas: UNICAMP, 2003. p. 155-163.

CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS. **Química verde no Brasil 2010-2030.** Brasília, 2010. 434 p.

CHANDEL, A.K.; SILVA, S.S. da; CARVALHO, W.; SINGH, O.V. Sugarcane bagasse and leaves: foreseeable biomass of biofuel and bio-products. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, Malden, v. 87, p. 11-20, 2011.

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

CHEN, F.; DIXON, R.A. Lignin modification improves fermentable sugar yields for biofuel production. **Nature Biotechnology**, New York, v. 25, p. 759-761, 2007.

CIOLA, R. **Fundamentos de cromatografia líquida de alto desempenho:** HPLC. São Paulo: Edgard Blucher, 2003. 179 p.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L. Princípios básicos de cromatografia. In:_____. **Introdução a métodos cromatográficos.** Campinas: Ed. UNICAMP, 1987. p. 13-17.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; PIERINA, S.B. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Ed. UNICAMP, 2003. 453 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira:** cana-de-açúcar, primeiro levantamento, abril/2013. Brasília, 2013. 19 p.

CULBERT, S.J.; WANG, Y.M.; FRITSCHE, H.A.; CARR Jr., D.; LANTIN, E.; van EYS, J.. Oral xylitol in American adults. **Nutrition Research**, Philadelphia, v. 6, n. 8, p. 913-922, 1986.

CUNHA, M.A.A. da; SILVA, S.S. da; CARVALHO, W; SANTOS, J.C. dos. Uso de células imobilizadas em gel de PVA: uma nova estratégia para produção biotecnológica de Xilitol a partir de bagaço de cana-de-açúcar. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 61-70, jan./mar. 2005.

DAMASCENO, C.M.B.; SOUSA, S.M. de; NODA, R.W.; PARRELLA, R.A.C.; SCHAFFERT, R.E.; MAGALHÃES, J.V. **A importância da lignina para a produção de etanol de segunda geração.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/884400/1/doc108.pdf>. Acesso em: 12 set. 2011.

DEGANI, A.L.G.; CASS, Q.B.; VIEIRA, P.C. Cromatografia um breve ensaio. **Química Nova na Escola**, São Paulo, v. 27, n. 7, p. 21-25, 1998.

DEL TIO, J.. **Celulose e celulignina de bagaço de cana:** obtenção e estudo da biodegradabilidade de compósitos com polipropileno. 2007. 81 p. Dissertação (Mestrado em Conversão de Biomassa) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2007.

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

DING, S.Y.; HIMMEL, M.E. The maize primary cell wall microfibril: a new model derived from direct visualization. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 54, p. 597-606, 2006.

DRAUDE, K.M.; KURNIAWAN, C.B.; DUFF, S.J.B. Effect of oxygen delignification on the rate and extend of enzymatic hydrolysis of lignocellulosic material. **Bioresource Technology**, Essex, v. 79, p. 113-120, 2001.

ERNESTO, V.A.R.T. **Caracterização térmica do bagaço da cana-de-açúcar visando aproveitamento energético**. 2009. 115 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2009.

ESTEVES, P.J. **Pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com H_2SO_4 diluído em reator piloto aquecido por vapor direto.** 2011. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2011.

FUNDAÇÃO CARLOS CHAGAS DE APOIO À PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO POR EXTENSO. **UFRJ testa adoçante do futuro**. Disponível em: <http://www.faperj.br/interna.phtml?obj_id=167>. Acesso em: 15 fev. 2013.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood:** chemistry, ultrastructure, reactions. Berlin: Walter de Gruyter, 1989. 613 p.

FERNANDO, S.; ADHIKARI, S.; CHANDRAPAL, C; MURALI, N. Biorefineries: current status, challenges, and future direction. **Energy & Fuels**, Washington, v. 20, p. 1727-1737, 2006.

FERRAZ, A.; MENDONÇA, R.; SILVA, F.T. da. Organosolv delignification of white- and brown-rotted *Eucalyptus grandis* hardwood. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology,** Jan. 2000. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1097-4660(200001)75:1%3C18::AID-JCTB169%3E3.0.CO;2-Z/pdf>. Acesso em: 16 ago. 2011.

FIGUEIREDO, P. Breve história da cana-de-açúcar e do papel do Instituto Agronômico no seu estabelecimento no Brasil. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M. de; LANDELL, M.G.A. (Ed.). **Cana-de-açúcar.** Campinas: IAC, 2008. p. 31-44.

FONSECA, B.G. **Destoxificação biológica de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar empregando as leveduras *Issatchenkia occidentalis* e *Issatchenkia orientalis***. 2009. 110 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2009.

GÍRIO, F.M.; FONSECA, C.; CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L.C.; MARQUES, S.; BOGEL-LUKASIK, R. Hemicelluloses for fuel ethanol: a review. **Bioresource Technology**, Philadelphia, v. 101, n. 13, p. 4775-4800, 2010.

GOMES, S.V.F. **Desenvolvimento de método por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência para diferenciação de genótipos de *Lippia gracilis* Schauer.** 2009. 139 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2009.

GONÇALVES, A.R.; PRISCILA, B. Hydroxymethylation and oxidation of organosolv lignins and utilization of the products. **Bioresource Technology**, Philadelphia, n. 79, p. 103-111, 2001.

GOUVEIA, E.R.; NASCIMENTO, R.T. do; SOUTO-MAIOR, A.M.; ROCHA, G.J.M. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 6, p. 1500-1503, 2009.

GRABBER, J.H.; RALPH, J.; LAPIERRE, C.; BARRIÈRE, Y. Genetic and molecular basis of grass cell-wall degradability: lignin–cell wall matrix interactions. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 327, n. 5, p. 455-465, 2004.

GRATZFELD-HÜSGEN, A.; SCHUSTER, R. Detectors. In: GRATZFELD-HÜSGEN, A.; SCHUSTER, R. **HPLC for food analysis.** Palo Alto: Hewlett Packard, 1996. p. 88-92.

GRESSEL, J. Transgenics are imperative for biofuel crops. **Plant Science**, Limerick, v. 174, p. 246-263, 2008.

HAMELINCK, C.N.; van HOOIJDONK, G.; HAAIJ, A.P.C. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term. **Biomass and Bioenergy**, Philadelphia, v. 28, n. 4, p. 384-410, 2005.

HAMES, B.R.; THOMAS, S.R.; SLUITER, A.D.; ROTH, C.J.; TEMPLETON, D.W. Rapid biomass analysis. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, New York, v. 105/108, p. 5-16, 2003.

HENRIKSSON, M.; BERGLUND, L.A.; ISAKSSON, P.; LINDSTRÖM, T.; NISHINO, T. Cellulose nanopaper structures of high toughness. **Biomacromolecules**, Washington, v. 9, n. 6, p. 1579-1585, 2008.

HERNÁNDEZ, J.A. **Lignina organosolv de *Eucalyptus dunnii* Maiden, alternativa para a síntese de adesivos de poliuretano para madeira**. 2007. 83 p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

HERNANDEZ-RAMIREZ, J. (Ed.). **Handbook of sugar cane derivatives.** México: ICIDCA; GEPLACEA; UNDP, 1988. 239 p.

HILL, J.; NELSON, E.; TILMAN, D.; POLASKY, S.; TIFFANY, D. Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 103, p. 11206-11210, 2006.

HUBBE, M.A.; ROJAS, O.J.; LUCIA, L.A.; SAIN, M. Cellulosic nanocomposites: a review. **Bioresources**, Raleigh, v. 3, n. 3, p. 929-980, 2008.

INGLEDEW, W.M. **The alcohol textbook**. 5th ed. Nottingham: Nottingham University Press, 2009. 541 p.

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

KAMM, B.; KAMM, M. Principles of biorefineries. **Applied Microbiological Biotechnology**, Wiesbaden, v. 64, n. 2, p.137-145, 2004.

KAMM, B.; GRUBER, P.R.; KAMM, M. Industrial processes and products. **Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA**, Weinheim, v. 5, p. 659-688, 2012.

KANDELMAN, D. Role of xylitol other polyols in dental preventive programs targeted for high caries risk populations. **Journal of Odontology and Stomatology**, New York, v. 10, n. 2, p. 93-102, 2003.

KRAUS, J.E.; LOURO, R.P.; ESTELITA, M.E.M. A célula vegetal. In: GLÓRIA, B.A. da; GUERREIRO, S.M.C. **Anatomia vegetal.** Viçosa: UFV, 2009. p. 32-36.

KUHAD, R.C.; SINGH, A. Lignocellulose biotechnology: current and future prospects. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, v. 13, p. 151-173, 1994.

KUMAR, M.; MOHANTY, S.; NAYAK, S.K.; PARVAIZ, M.R. Effect of glycidyl methacrylate (GMA) on the thermal, mechanical and morphological property of biodegradable PLA/PBAT blend and its nanocomposites. **Bioresource Technology**, Philadelphia, v. 101, n. 21, p. 8406-8415, 2010.

KUMAR, R.; SINGH, S.; SINGH, O.V. Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, Philadelphia, v. 35, p. 377-391, 2008.

LAHR FILHO, D.; GHIRALDINI, J.A.; ROSSEL, C.E.V. Estudos de otimização da recuperação de biomassa de levedura em destilarias. In: WORKSHOP: PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE LEVEDURA; UTILIZAÇÃO EM ALIMENTAÇÃO HUMANA E ANIMAL, Campinas, 1996. Campinas: ITAL, 1996. p. 59-67.

LIAO, W.; WEN, Z.; HURLEY, S.; LIU, Y.; LIU, C.; CHEN, S. Effects of hemicellulose and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from dairy manure. **Applied Biochemical Biotechnology**, New York, v. 121/124, p. 1017–1029, 2005.

LIMA, A.O.S.; RODRIGUES, A.L. Sacarificação de resíduos celulósicos com bactérias recombinantes como estratégia para redução do efeito estufa. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, v. 1, n. 2, p. 5-18, 2007.

LIMA NETO, A.S.; PETROVICK, P.R. A celulose na farmácia. **Caderno de Farmácia**, Porto Alegre, v. 13, n.1, p. 19-23, 1997.

LOPES, C.M.; LOBO, J.M.S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 41, n. 2, p. 143-154, 2005.

LORA, J.K.; GLASSER, W.G. Recent industrial applications of lignin: a sustentaible alternative to nonrenewable materials. **Journal of Polymers and the Environment**, Cham, v. 10, n. 1/2, p. 39-48, Apr. 2002.

MAGACHO, A.L.F. **Avaliação de técnicas de separação combinadas para a purificação de xilose visando a obtenção de bioprodutos**. 2009. 151 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2009.

MÄKINEN, K.K. Dietary prevention of dental caries by xylitol - clinical effectiveness and safety. **Journal of Applied Nutrition**, San Diego, v. 44, n. 1, p. 6-28, 1992.

MALDANER, L.; JARDIM, I.C.S.F. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 214-222, 2009.

MÄNNER, J.; SCHUSTER, K.C.; SUCHOMEL, F.; GÜRTLER, A.; FIRGO, H. Higher performance with natural intelligence. **Lenziger Berichte**, Kelheim, v. 83, p. 99-110, 2004.

MANSFIELD, S.D.; MOONEY, C.; SADDLER, J.N. Substrate and enzyme characteristics that limit cellulose hydrolysis. **Biotechnology Progress**, Philadelphia, n. 15 p. 804–816, 1999.

MARABEZI, K. **Estudo sistemático das reações envolvidas na determinação dos teores de lignina e holocelulose em amostras de bagaço e palha de cana-de-açúcar.** 2009. 142 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

MELO, J.C.P. de. **Síntese e caracterização de derivados da celulose modificada com anidridos orgânicos**: adsorção e termodinâmica de interação com cátions metálicos. 2007. 95 p. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

MERCÊ, A.L.R.; FRANCO, A.; RAMOS, J.G.G.; ROSA, E.C.R.; HEINZE, T. Caracterização por UV-Vis e infravermelho de complexos de carboximetilcelulose (CMC) e os íons metálicos Zn^{2+} e Mn^{2+}. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 30., 2007, Águas de Lindóia. **Resumos...** Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Química, 2007. Disponível em: <http://sec.sbq.org.br/cdrom/30ra/resumos/T0343-1.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2012.

MORAIS, J.P.S.; ROSA, M.F.; MARCONCINI, J.M. **Procedimentos para análise lignicelulósica**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2010. 54 p.

MUSSATO, S.I.; FERNANDES, M.; MILAGRES, A.M.F.; ROBERTO, I.C. Effect of hemicellulose and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain. **Enzyme and Microbial Technology**, Philadelphia, n. 43, p. 124–129, 2008.

NACEUR, M.B.; ANNE, B.; ALESSANDRO, G. Organosolv lignin a filler in inks, varnishes and paints. **Industrial Crops and Products**, Philadelphia, n. 18, p. 145-153, 2003.

NASCIMENTO, R.A.A. **Caracterização da lignina de bagaço de cana pré-tratado por explosão a vapor: identificação dos compostos de degradação e reações envolvidas.** 2007. 130 p. Tese (Doutorado em Conversão de Biomassa) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2007.

NATIONAL RENEWABLE ENERGY LABORATORY. Results of screening for potential candidates from sugars and synthesis gas. In: _____. **Top value added chemicals from biomass.** Golden, 2004. v. 1, 76 p.

NÚCLEO INTERDISCIPLINAR DE PLANEJAMENTO ENERGÉTICO. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. A sustainability analysis of the Brazilian bio-ethanol. . In: _____. **Biocombustível brasileiro:** uma análise de sustentabilidade. Campinas, 2008.

ODDONE, D.C. **Co-geração**: uma alternativa para produção de eletricidade. 2001. 82 p. Dissertação (Mestrado em Energia) - Programa Interunidades de Pós-Graduação em Energia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

OGATA, B.H.; BAPTISTA, A.S.; AGUIAR, C.L.; PIRES, C.; PRADO, L.M.L.M.; XAVIER, M.; LANDELL, M.G.A. Potential evaluationof new sugarcane varieties as source of monossacharides to biorefineries. In: INTERNATIONAL IUPAC CONFERENCE ON GREEN CHEMISTRY, 4., 2012, Foz do Iguaçu. **Proceedings…** Foz do Iguaçu: UFSCar, 2012, p. 218-219.

OGEDA, T.L.; PETRI, D.F.S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 7, p.1549-1558, 2010.

PÄÄKÖ, M.; VAPAAVUORI, J.; SILVENNOINEN, R.; KOSONEN, H.; ANKERFORS, M.; LINDSTRÖM, T.; BERGLUND, L.A.; IKKALA, O. Long and entangled native cellulose I nanofibers allow flexible aerogels and hierarchically porous templates for functionalities. **Soft Matter**, London, v. 4, n. 12, p. 2492-2499, 2008.

PAIS, M.S.; BARROSO, J.M. A célula vegetal. In: AZEVEDO, C. (Comp.). **Biologia celular e molecular.** Lisboa: Lidel, 2005. p. 524-529.

PALMA, M.B. **Influência da agitação e da aeração na atividade de xilanases de *Penicillium janthinellum***. 1993. 89 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1993.

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V.T. Biotechnological potential of agro-industrial residues: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, New York, v. 74, p. 69-80, 2000.

PARAJÓ, J.C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J.M. Biotechnological production of xylitol. Part 2: operation in culture media made with commercial sugars. **Bioresource Technology**, Essex, v. 65, p. 203-212, 1998.

PEREIRA Jr., N.; COUTO, M.A.P.G.; SANTA ANNA, L.M.M. **Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and the context of biorefinery**. Rio de Janeiro: UFRJ, Ed. Amiga Digital, 2008. 45 p. (Series on Biotechnology, 2).

PERVAIZ, M.; CORREA, C.A. Biorrefinaria: desenvolvimento de plataformas químicas através de tecnologias integradas de biomassa. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 19, n. 1, p. 9-11, 2009.

PITARELO, A.P. **Avaliação da susceptibilidade do bagaço e da palha de cana-de-açúcar à bioconversão via pré-tratamento a vapor e hidrólise enzimática.** 2007. 125 p. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

PUGLIA, D.; TOMASSUCCI, A.; KENNY, J.M. Processing, properties and stability of biodegradable composites based on Mater-Bi-(R) and cellulose fibres. **Polymers for Advanced Technologies**, Malden, v. 14, n. 12, p. 749-756, 2003.

RABELO, S.C. **Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar.** 2007. 150 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

RABELO, S.C.; CARRERE, H.; MACIEL FILHO, R.; COSTA, A.C. Production of bioethanol, methane and heat from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, Philadelphia, v. 102, p. 7887-7895, 2011.

RAMOS, L.P. Aproveitamento integral de resíduos agrícolas e agroindustriais. In: SEMINÁRIO NACIONAL SOBRE REUSO/RECICLAJE DE RESÍDUOS SÓLIDOS INDUSTRIAIS, 2000, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Secretaria Estadual do Meio Ambiente, 2000. p. 125-126.

REIN, P. **Cane sugar engineering.** Berlin: Verlag Dr. Albert Bartens, 2007. 768 p.

REZEX. **Colunas de HPLC para análise de açúcares, carboidratos, oligossacarídeos e ácidos orgânicos.** Disponível em: <http://www.allcrom.com.br/produtos/produtos-hplc/colunas-phenomenex/rezex.html>. Acesso em: 16 ago. 2011.

ROCHA, G.J.M.; SILVA, F.T.; CURVELO, A.A.S.; ARAUJO, G.T. A fast and accurate method for determination of cellulose and polyoses by HPLC. In: BRAZILIAN SYMPOSIUM ON CHEMISTRY OF LIGNINS AND OTHER WOOD COMPONENTS, 5., 1997, Curitiba. **Proceedings…** Belo Horizonte: UFV, 1997. v. 6, p. 3-8.

RODRIGUES, C.P.; CAMARGO, J.A. **Bagaço de cana-de-açúcar como potencial para co-geração de energia elétrica e etanol celulósico**. São Joaquim da Barra: Iara Coimbra, 2008. 25 p.

RODRIGUES, J.A.R. Do engenho à biorrefinaria, a usina de açúcar como empreendimento industrial para a geração de produtos bioquímicos e biocombustíveis. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 7, p. 1242-1254, 2011.

RUSSOMANO, V.H. **Introdução à administração de energia na indústria.** São Paulo: Ed. Pioneira; EDUSP, 1987. 262 p.

RUZENE, D.S. **Obtenção de polpas de dissolução por processos organosolv a partir de palha ou bagaço de cana-de-açúcar**. 2005. 133 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Departamento de Biotecnologia, Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, 2005.

SANTOS, M.F.R.F. dos; BORSCHIVIER, S.; COUTO, M.A.P.G. **Iniciativas para o uso da biomassa lignocelulósica em biorrefinarias: a plataforma sucroquímica no mundo e no Brasil**. Disponível em: <http://ecen.com/eee82/eee82p/biorefinarias.htm>. Acesso em: 12 fev. 2013.

SARROUH, B.F. **Estudo da produção biotecnológica de xilitol em reator de leito fluidizado utilizando bagaço de cana-de-açúcar e células imobilizadas:** avaliação de parâmetros operacionais e viabilidade econômica. 2009. 185 p. Tese (Doutorado em Conversão de Biomassa) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2009.

SENYO, W.C.; CREAMER, A.W.; WU, C.F.; LORA, J.H. The use of organosolv lignin to reduce press vent formaldehyde emissions in the manufacture of wood composites. **Forest Products Journal**, Madison, v. 46, n. 6, p. 73-77, 1996.

SILVA, D.M.; MUSIAL, D.C.; ALTMEYER, C.; VALENTINI, S.A. Obtenção de derivado de celulose a partir do bagaço de cana-de-açúcar com potencial aplicação nas indústrias farmacêutica e cosmética. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 32, n. 1, p. 41-45, 2011.

SILVA, G.M. da. **Pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com amônia aquosa para a produção de etanol.** 2011. 104 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

SILVA, N.L.C. **Produção de bioetanol de segunda geração a partir de biomassa residual da indústria de celulose.** 2010. 109 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

SILVA, V.L.M.M.; GOMES, W.C.; ALSINA, O.L.S. Utilização do bagaço de cana-de-açúcar como biomassa adsorvente na adsorção de poluentes orgânicos. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, Campina Grande, v. 2, n. 1, p. 27-32, 2007. Disponível em: <www.dema.ufcg.edu.br/revista>. Acesso em: 03 mar. 2013.

SOCCOL, C.R.; VANDENBERGHE, L.P.; MEDEIROS, A.B.; KARP, S.G.; BUCKERIDGE, M.; RAMOS, L.P.; PITARELO, A.P.; FERREIRA-LEITÃO, V.; GOTTSCHALK, L.M.; FERRARA, M.A.; SILVA BON, E.P.; MORAES, L.M.; ARAÚJO, J.A.; TORRES, F.A. Bioethanol from lignocelluloses: status and perspectives in Brazil. **Bioresource Technology**, Philadelphia, v. 101, p. 4820-4825, 2010.

SZWARC, A. **A alcoolquímica no cenário futuro da cana-de-açúcar**. Disponível em: <http://www.unica.com.br/colunas/25714988920338419546/a-alcoolquimica-no-cenario-futuro-da-cana-de-acucar-/>. Acesso em: 03 maio 2013.

TAMANINI, C.; HAULY, M.C.O. Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 4, p. 315-330, out./dez. 2004.

THEBAUDIN, J.Y.; LEFEBVREA, A.C.; HARRINGTONB, M.; BOURGEOIS, C.M. Dietary fibres: nutritional and technological interest. **Trends in Food Science and Technology**, Philadelphia, v. 8, n. 2, p. 41-47, 1997.

TÍMÁR-BALÁZSY, A.; EASTOP, D. **Chemical principles of textile conservation.** Oxford: Butterworth-Heinemann, 1998. 444 p.

UNIÃO DA INDÚSTRIA DA CANA-DE-AÇÚCAR. **Setor sucroenergético.** Disponível em: <http://www.unica.com.br/faq/>. Acesso em: 27 fev. 2013.

URANO, R.P.M.; RODRIGUES, F.T.; BERLINCK, R.G.S. Utilização de detecção por espalhamento de luz evaporativo para a análise de produtos naturais. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 6, p. 1198-1208, 2012.

VÁSQUEZ, M.P.; SILVA, J.N.C. da; SOUZA Jr., M.B. de; PEREIRA Jr., N. Enzymatic hydrolysis optimization to ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, New York, v. 136/140, Fn. 12, p. 141-154, 2007.

WINKELHAUSEN, E.; KUZMANOVA, S. Microbial conversion of D-xylose to xylitol. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, Osaka, v. 86, n. 1, p. 1-14, 1998.

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**, Essex, v. 96, p. 1959-1966, 2005.

YACOBUCCI, B.D.; SCHNEPF, R. **Ethanol and biofuels:** agriculture, infrastructure, and market constraints related to expanded production. Washington: US Congressional Research Service, 2007. 16 p.

YANG, B.; WYMAN, C.E. Effect of xylan and lignin removal by batch and flow through pretreatment on the enzymatic digestibility of corn stover cellulose. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 86, p. 88-95, 2004.

ZHANG, Q.; CHANG, J.; WANG, T.; XU, Y. Review of biomass pyrolysis oil properties and upgrading research. **Energy Conversion and Management**, Philadelphia, v. 48, n. 1, p. 87-92, Jan. 2007.

ZOCOLO, G.J. **Princípios e aplicações da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).** Disponível em: <http://www.crq4.org.br/sms/files/file/hplc_araraquara_2012_site.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2013.