



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA**

**UTILIZAÇÃO DE LÍQUIDOS IÔNICOS NO PRÉ TRATAMENTO DE BIOMASSAS  
LIGNOCELULÓSICAS PARA OBTENÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO**

**Aluno: Geraldo Aurélio Alves Santos  
Orientador: Emerson Adriano Guarda**

**PALMAS – TO  
2015**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS**  
**CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA**

**UTILIZAÇÃO DE LÍQUIDOS IÔNICOS NO PRÉ TRATAMENTO DE  
BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA PARA OBTENÇÃO DE ETANOL DE  
SEGUNDA GERAÇÃO**

**Aluno: Geraldo Aurélio Alves Santos**  
**Orientador: Emerson Adriano Guarda**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Tocantins como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Agroenergia (Utilização de líquidos iônicos no pré tratamento de biomassa lignocelulósica para obtenção de etanol de segunda geração).

**PALMAS – TO**  
**2015**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

S237u Santos , Geraldo Aurélio Alves .  
UTILIZAÇÃO DE LÍQUIDOS IÔNICOS NO PRÉ TRATAMENTO DE  
BIOMASSAS LIGNOCELULÓSICAS PARA OBTENÇÃO DE ETANOL DE  
SEGUNDA GERAÇÃO. / Geraldo Aurélio Alves Santos . – Palmas, TO, 2015.  
91 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins  
– Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em  
Agroenergia, 2015.

Orientador: Emerson Adriano Guarda

1. Pré-tratamento. 2. Líquido Iônico . 3. Hidrólise.. 4. Etanol. I. Título

**CDD 333.7**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**



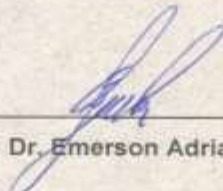
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITARIO DE PALMAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA

UTILIZAÇÃO DE LÍQUIDOS IÔNICOS NO PRÉ-TRATAMENTO DE  
BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA PARA OBTENÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA  
GERAÇÃO.


ALUNO: Geraldo Aurélio Alves Santos


COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Emerson Adriano Guarda


Examinadores:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr.ª Flávia Lucila Tonani de Siqueira (UFT)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Adão Lincon Bezerra Montel (UFT)

Data da Defesa: 26/11/2015

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas PGA para o formato da  
Dissertação foram contempladas:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Emerson Adriano Guarda  
Orientador

-Eu amo tudo o que foi  
Tudo o que já não é  
A dor que já me não dói  
A antiga e errônea fé  
O ontem que a dor deixou  
O que deixou alegria  
Só porque foi, e voou  
E hoje é já outro dia.

Fernando Pessoa, 1931.

## AGRADECIMENTOS

✓ A Deus, que hoje não que lhe pedir nada, pois já pedi tanto e tanta coisa já foi me dada. Hoje eu só quero agradecer: Muito Obrigado por Tudo.

✓ Ao meu orientador Dr. Emerson Adriano pela competência, paciência e disponibilidade e a Universidade Federal do Tocantins - UFT pelo apoio institucional, em especial ao Lapeq e a todos os técnicos dos laboratórios pelo auxílio e paciência no desenvolvimento do trabalho experimental.

✓ Agradeço especialmente a quatro pessoas mais importantes da minha vida, minhas quatro mães, a minha mãe Marli simplesmente por ser quem é, pela sua história de vida, por todo seu esforço, apoio, fidelidade, proteção e pelo exemplo de superação, a minha mãe Marlene, pelo seu apoio e sábios conselhos que me fizeram crescer como pessoa de bem, a minha mãe Raimunda, por tudo que fez por mim desde menino, pelo apoio incondicional na minha criação, e a minha mãe Celina (In memória) a mulher mais sábia que tive o prazer de conviver e de ser instruído.

✓ Ao meu pai Salviano Sousa Santos (in memória) que apesar de não está presente na forma carnal, sempre está olhando por mim e do meu lado, em meus pensamentos e que de alguma forma me ajudou a não desviar o foco.

✓ As minhas irmãs de sangue e consideração Layse Daniella, Lara Camilla, Louise Regina, Gisleangela Almeida e Gizely Almeida.

✓ A minha família pelo incentivo, pelos momentos de alegria e brigas que contribuíram para meu amadurecimento, pela suas valorosas companhias e companheirismo.

✓ A todos que, de alguma forma, contribuíram nesse tempo de desenvolvimento e na realização deste trabalho.

✓ Aos meus amigos/irmão/primos Lorena Cristina, Junior Azevedo, Mayzza Campina pelos momentos de descontração e apoio e em especial ao Klenyo Dall Agnol pelo companheirismo, por me fazer sorrir quando eu estava estressado, pelos conselhos e pela lealdade.

✓ A Andressa Dias pela paciência, tolerância, carinho e apoio nos momentos de altos stress e ao Felipe Dias e Lorrane Dias, pelos momentos de descontração.

✓ A todos os colegas que me apoiaram, incentivaram e principalmente ao Dener e Waldo pela colaboração na execução desse projeto.

## RESUMO

Na produção de etanol lignocelulósico, o pré-tratamento é uma etapa determinante, pois aumenta a acessibilidade das enzimas ao substrato durante o processo de hidrólise enzimática. Dentre os diversos tipos de pré-tratamento destaca-se o com líquido iônicos (LIs), apresentando-se como uma promissora alternativa para melhorar os rendimentos de hidrólise, pela desconstrução da parede vegetal melhorando a acessibilidade da celulose. Neste trabalho foram utilizados três tipos de LIs: brometo de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]); acetato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H<sub>3</sub>CCOO]) e hidrogenosulfato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [HSO<sub>4</sub>]) e três tipos de biomassas lignocelulósicas: bagaço de cana-de-açúcar; palha de arroz e serragem de madeira, na intenção de avaliar a influência desses três tipos de LIs no processo de hidrólise e posterior obtenção de etanol. Após alguns testes, todos os ensaios foram realizados utilizando-se 2 mL de LI em 0,1g de biomassa à 100°C por 120 min. Verificou-se que o LI hidrogenosulfato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [HSO<sub>4</sub>]) apresentou o melhor resultado individual em termos de percentual de hidrólise, porém em média nas três biomassas o LI brometo de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]) obteve o melhor desempenho, apresentando percentual de 41,9% de rendimento médio de hidrólise. Em relação as biomassas avaliadas, o bagaço de cana-de-açúcar obteve os melhores resultados em percentual de hidrólise, em torno de 68,2% em média. O percentual máximo de hidrólise foi verificado na combinação do LI brometo de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]) com a biomassa bagaço de cana-de-açúcar, que apresentou rendimento de conversão da celulose em glicose de 80,6%. Observou-se também que os três tipos de biomassa se comportaram diferentemente em contato com os LIs. Por fim como um passo adicional, realizou-se a fermentação dos hidrolisados a fim de se avaliar a capacidade de produção de etanol das biomassas estudadas, sendo que o bagaço de cana-de-açúcar obteve os melhores resultados na produção de etanol, obtendo um rendimento máximo de 47%.

**Palavras chaves:** Pré-tratamento; líquido iônico e hidrólise.



## ABSTRACT

In the lignocellulosic ethanol production, the pretreatment is a determining step, because it increases the accessibility of enzymes to the substrate during the enzymatic hydrolysis process. Among the various types of pretreatment stands out with ionic liquid (ILs), presenting itself as a promising alternative to improve the hydrolysis process, by the deconstruction of plant wall improving the accessibility of cellulose. In this work, three types of ILs were used: bromide 1-n-butyl-3-methyl-imidazole ([BMIM] [Br]); ethyl 1-n-butyl-3-methyl-imidazole ([BMIM] [CH<sub>3</sub>COO]) and hydrogensulfate and 1-n-butyl-3-methyl-imidazole ([BMIM] [HSO<sub>4</sub>]) and three types of lignocellulosic biomass: sugarcane bagasse, rice straw, and sawdust, in an attempt to evaluate the influence of these three types of ILs in the process of hydrolysis and subsequent production of ethanol. After some tests, all assays were conducted using 2 mL of IL in 0.1g of biomass to 100 ° C for 120 min. Checked that the LI hydrogensulfate 1-n-butyl-3-methyl-imidazole ([BMIM] [HSO<sub>4</sub>]) showed the best individual results in terms of hydrolysis percentage, but on average in the three biomass IL bromide 1-n-butyl-3-methyl-imidazole ([BMIM] [Br]) had the best performance, with a percentage of 41.91% average yield of hydrolysis. Regarding the evaluated biomass, bagasse from sugarcane got the best results in percentage of hydrolysis, around 68.22% on average. The maximum percentage hydrolysis was observed in the combination of the IL bromide, 1-n-butyl-3-methyl-imidazole ([BMIM] [Br]) with the biomass residue of sugarcane, who presented of the cellulose to glucose conversion yield of 80.6%. It was also observed that the three types of biomass behaved differently in contact with ILs. Finally as an additional step, was realized fermenting the hydrolyzed to evaluate the ethanol production capacity of biomasses studied, and that the bagasse sugarcane achieved the best results in the production of ethanol, obtaining a maximum yield of 47%.

**Keywords:** Pretreatment; Ionic liquid and hydrolysis.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b>	Perspectivas de crescimento da demanda mundial de energia primária.....	21
<b>Figura 2:</b>	(a) estrutura da celulose, (b) estrutura da lignina e (c) estrutura da Glucomanana (hemicelulose).....	24
<b>Figura 3:</b>	Estrutura de fibra celulósicas com ênfase nas microfibrilas de celulose.....	25
<b>Figura 4:</b>	Estrutura de uma cadeia de celulose.....	26
<b>Figura 5:</b>	Ligações de hidrogênio entre cadeias de celulose.....	26
<b>Figura 6:</b>	Gráfico de moagem de cana – Safra 2015/2016.....	27
<b>Figura 7:</b>	Gráfico da produção de biocombustíveis por países em 2014 .....	31
<b>Figura 8:</b>	Gráfico da Produção de etanol Carburante.....	32
<b>Figura 9:</b>	Gráfico do Consumo de etanol Carburante .....	32
<b>Figura 10:</b>	Classificação e subclassificação de pré-tratamentos .....	34
<b>Figura 11:</b>	Composição dos LIs.....	35
<b>Figura 12:</b>	Síntese do ([BMIM] [Br]).....	39
<b>Figura 13:</b>	Síntese do LI [BMIM] [H <sub>3</sub> CCOO].....	39
<b>Figura 14:</b>	Síntese do [BMIM] [HSO <sub>4</sub> ].....	40
<b>Figura 15:</b>	Fluxograma simplificado de preparação da biomassa.....	40
<b>Figura 16:</b>	Fluxograma geral e simplificado da determinação do teor de celulose nas biomassas.....	41
<b>Figura 17:</b>	Fluxograma geral e simplificado do pré-tratamento das amostras e produção de etanol.....	44
<b>Figura 18:</b>	Infravermelho do LI [BMIM] [H <sub>3</sub> CCOO].....	45
<b>Figura 19:</b>	Infravermelho do LI [BMIM] [Br].....	46
<b>Figura 20:</b>	Infravermelho do LI [BMIM] [HSO <sub>4</sub> ].....	46

<b>Figura 21:</b>	Foto de microscopia óptica de B1 antes e depois de pré-tratada com LI.....	49
<b>Figura 22:</b>	Foto de microscopia óptica de B2 antes e depois de pre-tratada com LI.....	49
<b>Figura 23:</b>	Foto de microscopia óptica de B3 antes e depois de pre-tratada com LI.....	49
<b>Figura 24:</b>	Combinações entre LI e Biomassas.....	50
<b>Figura 25:</b>	Rendimento médio da hidrolise (%)......	53
<b>Figura 26:</b>	Representação esquemática de penetração de LI, do deslocamento de LI com água e a recristalização de fibras de celulose.....	55
<b>Figura 27:</b>	Conversão estequiométrica da glicose a etanol e dióxido de carbono	56

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b>	Matriz de consumo final de energia, por setor (% e tep) .....	20
<b>Tabela 2:</b>	Matriz energética de transportes (% e tep).....	20
<b>Tabela 3:</b>	Dados do setor de biocombustíveis nos anos de 2011 e 2012 no Brasil.....	22
<b>Tabela 4:</b>	Dados do setor de biocombustíveis nos anos de 2013 e 2014 no Brasil.....	22
<b>Tabela 5:</b>	10 maiores produtores de cana de açúcar.....	28
<b>Tabela 6:</b>	Evolução da produção nos Estados Unidos, China, Índia, Brasil e mundo em 2014/15 (milhões de toneladas).....	29
<b>Tabela 7:</b>	Quantidade de palha de arroz em todo o mundo disponível e produção de etanol teórico.....	29
<b>Tabela 8:</b>	Nomenclaturas de líquidos iônicos e biomassas.....	38
<b>Tabela 9:</b>	Componentes do BB, BC e Amostras.....	43
<b>Tabela 10:</b>	Teor de celulose nas biomassas utilizadas (%).....	47
<b>Tabela 11:</b>	Valor de absorvância (Abs.) e concentração de glicose [Glicose] em gramas por litro (g/L).....	51
<b>Tabela 12:</b>	Rendimento da hidrólise (%).....	51
<b>Tabela 13:</b>	Médias de hidrólise de celulose correlacionada aos LI (%).....	52
<b>Tabela 14:</b>	Médias de hidrólise de celulose nas biomassas utilizadas (%).....	52
<b>Tabela 15:</b>	Álcool obtido em cada amostra.....	57

## LISTA DE ABREVIÇÕES

<b>ANP</b>	Agencia Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustível
<b>BB</b>	Branco – Branco
<b>BC</b>	Branco – Contaminado
<b>[BMIM] [Br]</b>	Brometo de 1- <i>n</i> -butil-3-metil-imidazol
<b>[BMIM] [H<sub>3</sub>CCOO]</b>	Acetato de 1- <i>n</i> -butil-3-metil-imidazol
<b>[BMIM] [HSO<sub>4</sub>]</b>	Hidrogenosulfato de 1- <i>n</i> -butil-3-metil-imidazol
<b>C – H</b>	Ligação simples entre carbono e hidrogênio
<b>C = C</b>	Ligação dupla entre carbono e carbono
<b>C = N</b>	Ligação dupla entre carbono e nitrogênio
<b>CG – EM</b>	Cromatografia gasosa acoplada a Espectroscopia de massas
<b>CH<sub>2</sub></b>	Metileno
<b>CH<sub>3</sub></b>	Metil
<b>CO</b>	Monóxido de Carbono
<b>Conab</b>	Companhia Nacional de Abastecimento
<b>DNS</b>	Ácido 3,5 – dinitro salicílico
<b>FAO</b>	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
<b>FT – IR</b>	Espectrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier
<b>GEE</b>	Gases do Efeito estufa
<b>Lapeq</b>	Laboratório de Pesquisa em Química
<b>LI</b>	Líquido Iônico
<b>LIs</b>	Líquidos Iônicos

<b>MAPA</b>	Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento
<b>N – H</b>	Ligação simples entre nitrogênio e hidrogênio
<b>OCDE</b>	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
<b>OH</b>	Hidroxila
<b>UFT</b>	Universidade Federal do Tocantins
<b>WEO</b>	World Energy Outlook

## SUMÁRIO

<i>CAPÍTULO I</i> .....	15
1.0- INTRODUÇÃO.....	15
1.1- OBJETIVOS.....	17
1.1.1- Objetivo geral.....	17
1.1.2- Objetivos Específicos.....	17
 <i>CAPÍTULO II</i> .....	 18
2.0- REVISÃO BIBLIOGRAFICA.....	18
2.1- CRISE ENERGÉTICA.....	19
2.2- BIOCOMBUSTÍVEIS.....	21
2.3- BIOCOMBUSTÍVEIS LIGNOCELULOSICOS.....	23
2.3.1- Bagaço de cana-de-açúcar.....	27
2.3.2- Palha de arroz.....	29
2.3.3- Serragem de madeira.....	30
2.4- BIOETANOL.....	31
2.5- PRÉ-TRATAMENTO.....	33
2.5.1- Pré-tratamento com líquido iônico.....	34
 <i>CAPÍTULO III</i> .....	 38
METODOLOGIA.....	38

3.0- NOMENCLATURA DAS AMOSTRAS.....	38
3.1- SÍNTESE DOS LÍQUIDOS IÔNICOS.....	38
3.1.1.- Brometo de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM][Br]).....	39
3.1.2- Acetato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM][H <sub>3</sub> CCOO]).....	39
3.1.3- Hidrogenosulfato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM][HSO <sub>4</sub> ])	39
3.2- PREPARAÇÃO DAS BIOMASSAS.....	40
3.3- TEOR DE CELULOSE.....	40
3.4- PRÉ-TRATAMENTO DAS AMOSTRAS.....	42
3.5- HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA CELULOSE OBTIDA.....	42
3.6- PROCESSO FERMENTATIVO.....	43
CAPÍTULO IV.....	45
RESULTADO E DISCUSSÃO.....	45
4.0- CONSIDERAÇÕES PRÉVIAS.....	45
4.1- SÍNTESE DOS Lis.....	45
4.2- BIOMASSAS.....	47
4.3- LÍQUIDOS IÔNICOS versus BIOMASSAS.....	50
4.4- PRODUÇÃO DE ÁLCOOL.....	56
CAPÍTULO V.....	59
CONCLUSÃO.....	59
SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS.....	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
APÊNDICES.....	75
APÊNDICE A – CURVA PADRÃO DE GLICOSE.....	76
APÊNDICE B – BIOMASSA RECUPERADA APÓS PRÉ- TRATAMENTO.....	77
APÊNDICE C – CURVA PADRÃO DE GLICOSE EM TERMO DE CONCENTRAÇÃO.....	78
APÊNDICE D – CROMATOGRAMAS DAS AMOSTRAS.....	79



# CAPÍTULO I

## 1 Introdução

Devido às preocupações cada vez maiores sobre a poluição ambiental, segurança energética e futuros dos derivados de petróleo, a comunidade global está buscando combustíveis não petrolíferos alternativos, juntamente com as tecnologias de energia mais avançadas, para aumentar a eficiência do uso de energia (SEMELSBERGER et al., 2006).

Segundo Gül (2007), em torno de 85% da energia global é proveniente de combustíveis de origem fóssil e com expectativa de aumento de cerca de 50% entre 2005-2030, acarretando o uso excessivo dos recursos fósseis, provocando um agravamento na atual situação ambiental.

Existem diversas formas de obtenção de bioenergia, a partir de recursos naturais, que vão desde formas mais simples as mais complexas, e dentre essas formas estão os biocombustíveis.

Atualmente têm-se diferentes maneiras de classificação dos biocombustíveis, sendo a mais comumente utilizada a que denomina os biocombustíveis de 1º, 2º ou 3º geração, de acordo com algumas especificidades, esses dois últimos também podem ser denominados como -avançados. Nesse âmbito os biocombustíveis de 1º geração utilizam-se de culturas de cunho alimentar que já estão consolidadas em produção comercial, porém, o olhar volta-se para o uso de matérias-primas de tendência não-alimentar, para minimizar a —competição de cultivos alimentícios versus energética e enfrentamentos com a indústria alimentícia, e nessa conjuntura sobressaem combustíveis tidos como avançados (2º e 3º geração) (THE REGENTS OF UNIVERSITY OF CALIFORNIA, 2011).

Biocombustíveis avançados são por definição combustíveis baseados em recursos de biomassa celulósica, e uso de solo que não é utilizado para outras necessidades primárias (produção alimentar e têxtil), como os resíduos lenho-celulósicos, da agricultura, florestais, as culturas de rotação rápida, as culturas não-alimentares (de crescimento em área não cultivável ou culturas não alimentícias), a fração orgânica de resíduos urbanos e a biomassa a base

de algas; em suma, biomassa celulósica, lenho-celulósica e algas (SIMBOLOTTI, 2012).

Caracteriza-se como combustível alternativo mais promissor, aquele que produzir um maior impacto na sociedade, no âmbito de emissões de efeito estufa, estoques de alimentos, não petrolíferos, versatilidade, infraestrutura, disponibilidade, economia, segurança (SEMELSBERGER et al., 2006); tudo isso aliada a eficiência, e nesse cenário, figura o etanol lignocelulósico.

O etanol comumente utilizado é de primeira geração, pois é oriundo de açúcares fermentescíveis, obtido de culturas alimentares ou de culturas que ocupam áreas que poderiam estar sendo ocupadas por culturas alimentares. Isto gera diversas correntes de pensadores contrários a essa ideia, devido ao receio da competição do âmbito energético com o alimentar. O etanol lignocelulósico, porém, encerra essa discussão, pois parte do princípio do uso de resíduos (ALVIRA et al., 2010). O bioetanol pode ser definido como uma energia proveniente de recursos renováveis, obtido por meio da fermentação de açúcares, podendo suceder total ou parcialmente a gasolina (LIN et al., 1998)

Dentre as etapas envolvidas na fabricação do etanol lignocelulósico, tem-se o pré-tratamento, para provocar uma melhora na estrutura química de ligações naturais da biomassa lignocelulósica (SOKHANSANJ, 2005); sendo este procedimento imprescindível para a eficácia de rotas tecnológicas, a fim de torna-las viáveis economicamente. Dessa maneira a seleção correta desse mecanismo é de suma importância no resultado final (BINOD, 2010); já que essa etapa se caracteriza por ser a etapa mais onerosa (MOSIER et al., 2005).

Visando a maior eficácia no pré-tratamento, o presente trabalho propõe uma linha de processo aplicando diretamente na biomassa lignocelulósica o líquido iônico (LI), que geralmente são definidos como sais que fundem abaixo de 100 °C e são constituídos inteiramente por íons, podendo ser utilizados para promover a desconstrução da celulose oriunda de biomassa lignocelulósica (DADI et al., 2007). O LI tem sido uma boa opção devido suas propriedades físico-químicas, como: baixa volatilidade, alta estabilidade química e térmica e bom poder de solubilização em compostos orgânicos (SOWMIAH et al., 2009). Consequentemente, essa capacidade tornam os LIs uma promissora alternativa para o pré-tratamento (THOMAS, 2005).

Vislumbra-se que a utilização dos líquidos iônicos resulte em processos menos danosos, melhoramento na hidrólise e recuperação de açúcares, além da oportunidade de reaproveitamento do mesmo, acarretando mais economia ao processo (LI et al., 2008).

O atual cenário de biomassa lignocelulósica e a busca de processos tecnológicos mais rentáveis e viáveis justificam a pesquisa voltada para aplicação de novos conceitos no processo de pré-tratamento, que é o objeto de estudo do presente trabalho, além de tentar solucionar a problemática em torno da aplicação direta de líquidos iônico (LIs).

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 Objetivo Geral**

Verificar o rendimento da hidrólise utilizando aplicação direta de líquido iônico no pré-tratamento de três biomassas lignocelulósicas.

### **1.1.2 Objetivos Específicos**

- i. Sintetizar diferentes LI, com potencial de desconstrução da celulose;
- ii. Quantificar açúcares fermentáveis após pré-tratamento afim de obter o percentual de hidrólise;
- iii. Determinar o percentual de hidrólise das biomassas submetidas aos diferente líquidos iônicos;
- iv. Identificar as condições para uma melhor eficácia no pré-tratamento;
- v. Estimar a produção de etanol após o pré tratamento.

## CAPÍTULO II

### 2. Revisão Bibliográfica

Segundo Szczodrak e Fiedurek (1996), o aumento da população acarreta problemas, como aumento da demanda de energia, o maior consumo de alimentos e o aumento significativo na emissão de poluição. Na contramão disto tudo, a ciência vem tentando solucionar essa problemática, levando os países a buscarem a independência energética de modo menos poluente possível, como o aproveitamento da energia proveniente de biomassa.

Para Gnansounou, Bedniaguine e Dauriat (2005) quando se compara o custo do bioetanol com o da gasolina fóssil, nota-se que o do bioetanol é maior, e ações governamentais de implantação de incentivos especiais se fazem necessárias, como incentivos na tributação.

Já De Fraiture, Giordano e Liao (2008) afirmam que o desenvolvimento e a promoção dos biocombustíveis são geridos pelo setor agrícola, quando o correto seria ser gerido pelo setor energético. Desta maneira, necessita-se de subsídios e programa governamentais, ações essas que representariam perdas nos lucros para o governo, porém se os altos preços do petróleo se sustentarem, e paralelamente termos uma maior eficácia tecnológica, os biocombustíveis serão uma alternativa de baixo custo em pouco tempo.

Dentre as biomassas disponíveis para a produção de energia, destaque-se a lignocelulósica, por ser resíduo, ter grande disponibilidade e seu viés econômico é favorável, ou seja, possui baixo custo econômico. (PANDEY; SOCCOL; 2000). A utilização da mesma vem se mostrando como uma boa alternativa na produção do etanol, combustível menos poluente quando comparado à gasolina, (MACHADO, 2009).

Compostos lignocelulósicos podem ser classificados em quatro grupos com base no tipo de recurso:

- ✓ Resíduos florestais;
- ✓ Resíduos sólidos urbanos;
- ✓ Resíduos de papel;
- ✓ Resíduos de culturas.

Resíduos desses tipos estão sendo investigados, como a palha de arroz (YAO et al., 2007), palha de milho (WANG et al., 2009), o bagaço de palma (CARVALHO et al 2007), entre outros.

De acordo com Bohlmann (2006) materiais lignocelulósicos poderiam produzir até 442.000 milhões de litros por ano de bioetanol.

O etanol pode substituir total ou parcialmente a gasolina, com essa característica as pesquisas voltadas ao mesmo aumentaram exponencialmente nos últimos anos. Esse biocombustível oriundo de biomassa lignocelulosa se destaca por ser gerado por resíduos, eliminando o gargalo defendido por alguns pesquisadores, que indagam que a produção de etanol pode proporcionar a competição alimentar, no que tange a área plantada. Porém, com a utilização de resíduos essa tese não se sustenta, conseqüentemente o etanol lignocelulósico se firma como uma alternativa promissora.

A composição química da biomassa lignocelulósica, entretanto, é um aspecto chave que influencia diretamente na eficiência da produção, além disto, é variável, pois depende de fatores genéticos e ambientais e as suas interações (LEE et al., 2007).

## **2.1 Crise Energética**

A produção de energia é tida como um diferencial na trajetória evolutiva da humanidade, atuando diretamente no desenvolvimento social e econômico da sociedade, que com o passar do tempo diversificou suas fontes de obtenção da mesma (KATWAL e SONI; 2003). A energia de origem fóssil (petróleo, carvão mineral e gás natural) é a mais utilizada mundialmente, sendo que uma parcela significativa desse consumo está relacionada ao setor de transporte (LINDFELDT e WESTERMARK; 2009), como pode ser observado na Tabela 1.

**Tabela 1:** Matriz de consumo final de energia, por setor (% e tep)

Setor	Brasil		OCDE		Outros(*)		Mundo	
	1973	2014	1973	2012	1973	2012	1973	2012
Indústria	29,8	32,9	31,1	20,3	29,8	29,6	30,6	26,0
Transporte	25,0	32,5	22,6	30,3	19,4	22,2	21,4	25,7
Setor Energético	3,3	10,3	8,5	8,3	5,2	7,9	7,2	8,1
Outros Setores	38,7	18,3	30,6	32,6	42,3	32,2	35,1	32,0
Uso Não-Energético	3,1	6,0	7,2	8,5	3,3	8,2	5,7	8,3
<b>Total (%)</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Total – milhões tep</b>	<b>76</b>	<b>266</b>	<b>3.076</b>	<b>3.905</b>	<b>1.883</b>	<b>5.610</b>	<b>5.035</b>	<b>9.768</b>
<b>% do total</b>	1,5	2,6	61,1	40,0	37,4	57,4		

\*Exceto Brasil e países da OCDE  
 Fonte: MME; 2015

Observa-se que nas últimas décadas, principalmente após a crise do petróleo em meados de 1973, que diversos países e segmentos tem se empenhado em possibilitar o uso de biomassas como alternativa ao uso de combustíveis de origem fóssil, em virtude da possibilidade de esgotamento do mesmo; do viés ambiental, já que esse tipo de combustível emite grandes quantidades de poluentes, como dióxido de carbono e enxofre (gases do efeito estufa) e da segurança energética, pois uma matriz energética mais diversificada amplia o horizonte de possibilidades de saída de crises no setor energético. Nesse sentido tem crescido o uso de energias renováveis, e dentre estas, encontra-se os biocombustíveis, como pode ser observado na Tabela 2.

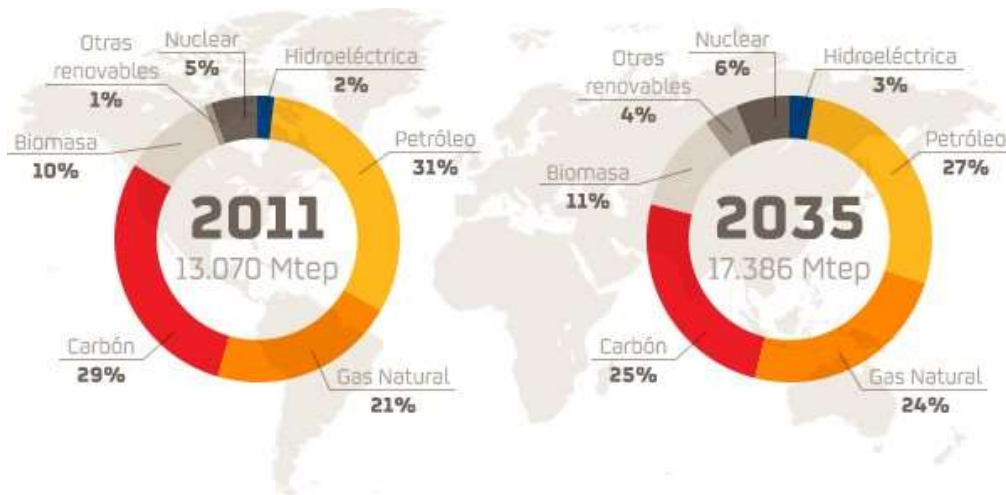
**Tabela 2:** Matriz energética de transportes (% e tep)

Setor	Brasil		OCDE		Outros(*)		Mundo	
	1973	2014	1973	2012	1973	2012	1973	2012
Derivados de petróleo	98,9	80,3	95,7	93,5	91,3	92,8	94,3	92,8
Gás natural	0,0	1,8	2,4	2,1	0,2	5,2	1,6	3,6
Carvão Mineral	0,01	0,0	1,1	0,01	7,0	0,3	3,1	0,1
Eletricidade	0,3	0,2	0,8	0,8	1,4	1,3	1,0	1,0
Bioenergia	0,9	17,6	0,0	3,6	0,02	0,4	0,02	2,4
<b>Total (%)</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Total – milhões tep</b>	<b>19</b>	<b>86</b>	<b>695</b>	<b>1.184</b>	<b>366</b>	<b>1.243</b>	<b>1.080</b>	<b>2.507</b>
<b>% do mundo</b>	1,8	3,2	64,4	47,2	33,8	49,6		

\*Exceto Brasil e países da OCDE  
 Fonte: MME; 2015

## 2.2 Biocombustíveis

Escobar et al (2009) afirma que de toda a energia primaria consumida no mundo, 80% é proveniente de combustíveis fósil, como pode ser visto na Figura 1, sendo que desse percentual 58% é consumida exclusivamente pelo setor de transportes, que contribui substancialmente para as emissões de gases do efeito estufa (GEE),



**Figura 1:** Perspectivas de crescimento da demanda mundial de energia primaria (WEO 2013)

A busca pela redução de emissões de GEE é notória, e com o passar do tempo busca-se cada vez mais por alternativas ambientalmente e economicamente viáveis a essa realidade (MABEE; GREGG E SADDLER; 2005). Essa busca aliada ao esgotamento continuo dos combustíveis de origens fosseis e aumento do consumo mundial de energia (Tabela 1), culminam em uma fonte de energia que seja, renovável, sustentável, eficiente, baixas emissões de gases nocivos e de baixo custo (SINGH et al; 2010). Frente a toda essa problemática os biocombustíveis vem sendo explorados a fim de substituir os combustíveis fosseis (GOMEZ; CLARE e MCQUEEN-MASON; 2008 e DELFORT et. al 2008), aumentando a produção gradualmente, como pode ser observado nas tabelas 3 e 4.

**Tabela 3:** Dados do setor de biocombustíveis nos anos de 2011 e 2012 no Brasil

	<b>Números do setor de biocombustíveis (2011 e 2012)</b>			
	<b>Etanol</b>		<b>Biodiesel</b>	
	2011	2012	2011	2012
Produção (safras 2011/12 e 2012/13 – milhões de m <sup>3</sup> )	22,8	23,5	n.a.	n.a.
Produção (ano civil – milhões de m <sup>3</sup> )	22,9	23,5	2,7	2,7
Consumo combustível (milhões de m <sup>3</sup> )	20,6	19,0	2,7	2,7
Exportações (milhões de m <sup>3</sup> )	1,96	3,1	-	-
Importações (milhões de m <sup>3</sup> )	1,15	0,5	-	-
Capacidade de produção instalada nominal (milhões de m <sup>3</sup> )	n.d.	n.d.	6,0	6,9

Fonte: Adaptado do Boletim Mensal dos Combustíveis Renováveis, Ed. Nº 72

**Tabela 4:** Dados do setor de biocombustíveis nos anos de 2013 e 2014 no Brasil

	<b>Números do setor de biocombustíveis (2013 e 2014)</b>			
	<b>Etanol</b>		<b>Biodiesel</b>	
	2013	2014	2013	2014
Produção (safras 2013/14 e 2014/15 – milhões de m <sup>3</sup> )	27,7	28,65	n.a.	n.a.
Produção (ano civil – milhões de m <sup>3</sup> )	27,8	27,9	2,9	3,4
Consumo combustível (milhões de m <sup>3</sup> )	23,9	24,4	2,9	3,4
Exportações (milhões de m <sup>3</sup> )	2,9	1,39	0,04	0,04
Importações (milhões de m <sup>3</sup> )	0,13	0,44	-	-
Capacidade de produção instalada nominal (milhões de m <sup>3</sup> )	n.d.	n.d.	7,5	7,5

Fonte: Adaptado do Boletim Mensal dos Combustíveis Renováveis, Ed. Nº 89

Os pesquisadores sabem que os combustíveis de primeira geração trazem vantagens em relação à emissão GEE quando comparado aos fósseis, porém, são de certa forma céticos com esses biocombustíveis, pois preocupam-se com os impactos ambientais, competição alimentar e saldo de carbono (LAURSEN, 2006).

Entretanto, os biocombustíveis de segunda geração podem acabar com esse ceticismo, já que se utilizam de biomassa lignocelulósica, naturalmente abundante (SIMPSON-HOLLEY M, HIGSON A, EVANS G; 2007). A produção desse tipo de biocombustível, porém, ainda não se tornou comercial, apesar de projetos pilotos já estarem sendo desenvolvidos, pois para produção em larga escala tem-se que superar alguns gargalos técnicos, como o pré-tratamento,



logística de distribuição, interação entre governo-empresas-universidades (EISBERG; 2006).

Os biocombustíveis de segunda geração ou avançados são produzidos por biomassa lignocelulosicas e essa matéria-prima vegetal tem em sua estrutura polissacarídeos, que por sua vez possuem grandes quantidades de açúcares (PAULY; KEEGSTRA; 2008), que por meio da hidrólise e fermentação resultam em bioetanol.

### **2.3 Biomassa Lignocelulósica**

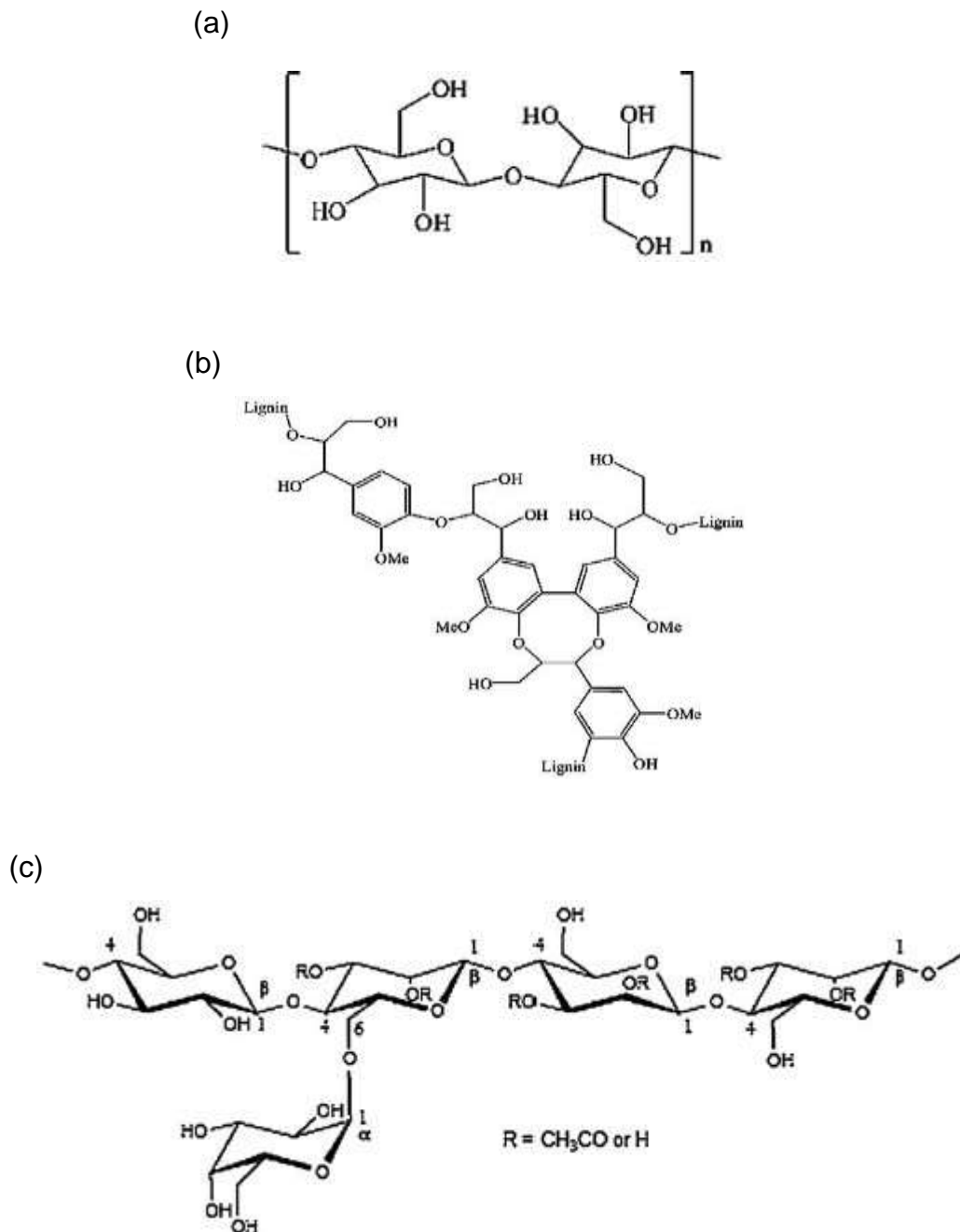
O etanol combustível já é produzido em larga escala, porém busca o ensejo de utilização de matéria-prima de maior disponibilidade e menor custo, já que a mesma representa em torno de 40% a 70% do custo total da produção (QUINTERO et al, 2008).

Desta busca surge a biomassa lignocelulosica, que atende aos requisitos mínimos (grande disponibilidade e baixo custo) para ser atraente a produção de bioetanol (CHENG et al., 2008); e ao mesmo tempo acaba com a competição com os alimentos.

Esse tipo de biomassa possui altíssima disponibilidade, chegando a atingir em torno de 50% da biomassa mundial e são provenientes da atividade agrícola, frutas, vegetais, resíduos florestais e outros, desta maneira tornando-a uma excelente alternativa para a produção energética mundial. (SCATENA; SCREMIN-DIAS, 2006). A biomassa lignocelulósica, de modo amplo pode ser dividida em grupos distintos: resíduos de culturas, madeira, resíduos de celulose, biomassa herbácea e resíduos de sólidos urbanos.

O material lignocelulósico é composto celulose e hemicelulose (que são polissacarídeos) e compreende cerca de dois terços da matéria seca, também é composto por lignina (não é utilizado na produção de etanol) e por uma parte restante, como pectina, proteínas, cinzas e extrativos.

De acordo com Brandt et al., (2010) esses materiais têm estruturas complexas e composições onde predominam três componentes principais: celulose, hemicelulose e lignina, como pode ser observado na Figura 2.



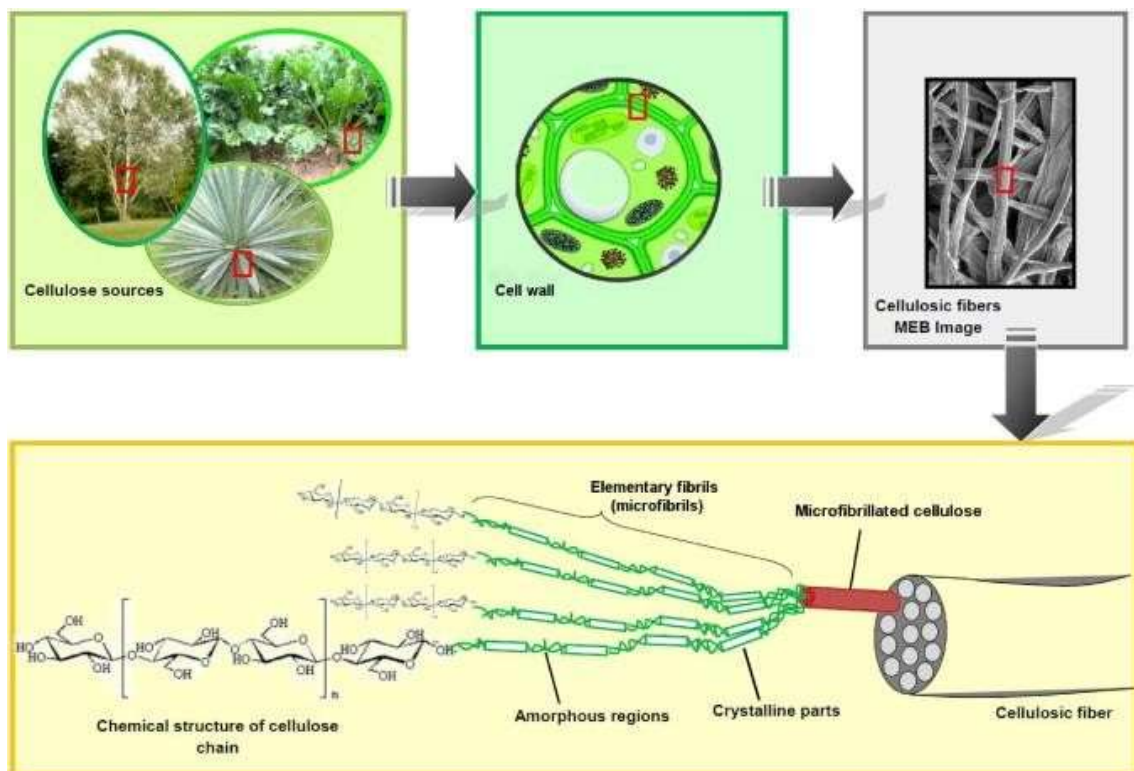
**Figura 2:** (a) estrutura da celulose, (b) estrutura da lignina (SUN et al., 2009), e (c) estrutura da Glucomanana (hemicelulose) (FENGEL et al., 1984)

- I. Celulose é um polímero linear de celobiose, é rígido e difícil de clivar (de polimerizar), na hidrólise é quebrada em moléculas de açúcar livre obtendo a glucose (seis átomos de carbono).
- II. A hemicelulose é constituída por cadeias curtas altamente ramificadas de vários açúcares, principalmente xilose (cinco átomos de carbono), arabinose (cinco átomos de carbono),

galactose, glucose e manose (seis átomos de carbonos). Ele também contém pequenas quantidades de não-açúcares, tais como grupos acetila (LYND, 1996). A hemicelulose, por causa da sua natureza amorfa ramificada, é relativamente fácil para hidrolisar.

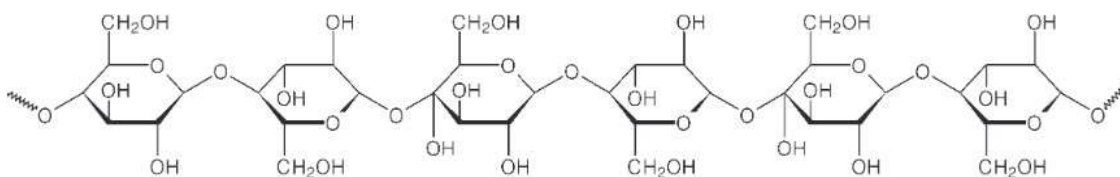
- III. A lignina é um grande complexo polimérico de grupos fenilpropano e metoxi e está presente em toda a biomassa lignocelulósica, conseqüentemente todo processo de produção de etanol terá lignina como um resíduo.

Estruturalmente, a fibra de celulose é composta por aproximadamente 36 moléculas de celulosas individuais agrupadas em unidades maiores denominadas de fibrilas ou microfibrilas elementares, que por sua vez são envelopados em unidades maiores ainda, conhecida como celulose microfibrilada. O conjunto desta celulose microfibrilada origina a fibra de celulose (HABIBI et al., 2010), como apresentado na Figura 3.

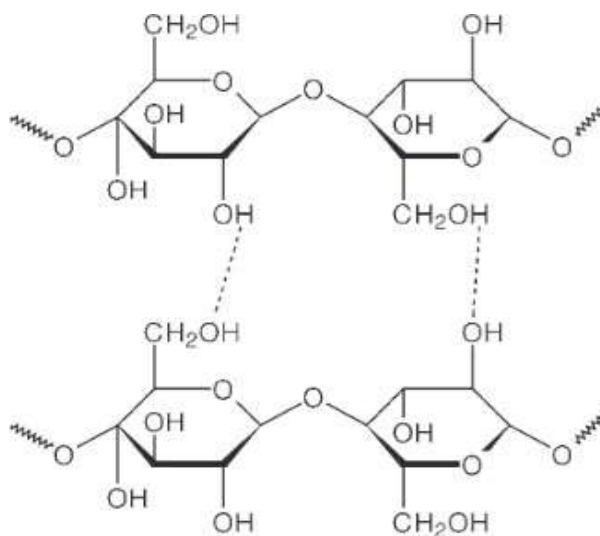


**Figura 3:** Estrutura de fibras celulósicas com ênfase nas microfibrilas de celulose (HABIBI et al., 2010).

De acordo Azizi Samir et al., (2005) as fibrilas elementares possuem 5 nm (cinco nanômetros) de diâmetro, ao passo que a celulose microfibrilada possuem algo em torno de 20 – 50 nm, sendo que cada microfibrila pode ser comparada a um cabo flexível em que se encontra encrustados cristais de celulose com ligações por todo o eixo da mesma, sem ordenação espacial (em termos atômicos). Já as regiões ordenadas são pacotes de cadeias de celulose estabilizados em forte e complexa rede de ligações de hidrogênio (HABIBI et al., 2010), como representado nas Figuras 4 e 5.



**Figura 4:** Estrutura de uma cadeia de celulose (Química nova)



**Figura 5:** Ligações de hidrogênio entre cadeias de celulose (Química nova)

Essa biomassa pode ser convertida para o etanol, por hidrólise da celulose seguida de fermentação, além de processos químicos (US DOE; 2003). O processo de fermentação e hidrólise do composto lignocelulósico é mais complexo do que simplesmente a fermentação do açúcar. Na hidrólise a parte celulósica da biomassa é convertida em açúcares, e a fermentação converte esses açúcares em etanol.

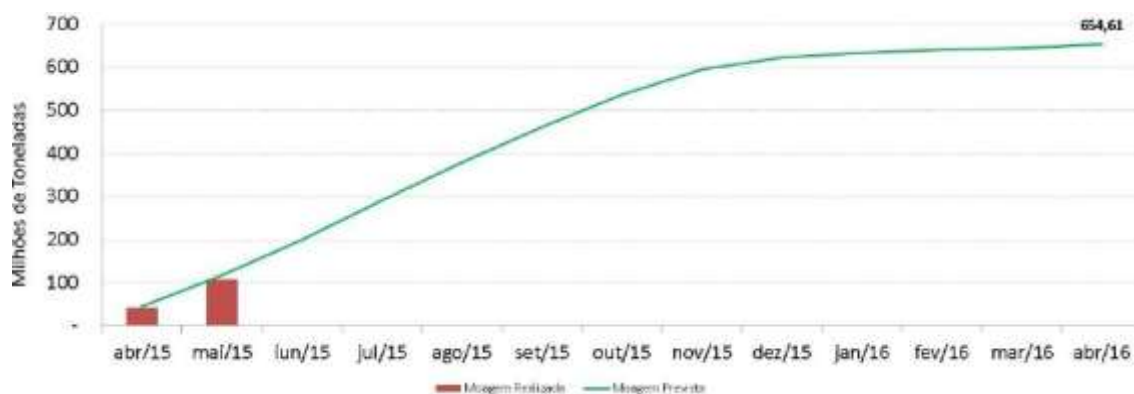
Ramakrishnan (2010) afirma que a produção de açúcar fermentável de biomassa lignocelulósica envolve vários processos:

- I. Redução de tamanho;
- II. Pré-tratamento químico para a remoção de lignina;
- III. Recuperação de resíduos celulósicos;
- IV. Hidrólise da celulose.

Diversas biomassas lignocelulosicas são estudadas como potenciais matéria-prima para produção de etanol de segunda geração, como: bagaço e palha de cana, palha e sabugo de milho, capim elefante, palha de trigo, palha e casca de arroz, palha de algodão, serragem de madeira (CASTRO; 2006) dentre outras.

### 2.3.1 Bagaço de cana-de-açúcar

O bagaço de cana é o resíduo fibroso que geralmente se obtém após a extração do caldo da cana de açúcar, no processo de fabricação do açúcar e é uma das principais biomassas lignocelulosica, pois possui baixo custo e tem grande disponibilidade (MARTÍN et al, 2007a), como mostra a Figura 6, que traz a moagem de cana referente a safra 2015/2016. Essa biomassa possui grande disponibilidade principalmente em países como Brasil, Índia, Cuba, China, México, Indonésia, Colômbia e outros (MARTÍNEZ et al, 2003;. HERNÁNDEZ-SALAS et al., 2009); devidos as numerosas indústrias de açúcar e álcool.



**Figura 6:** Gráfico de moagem de cana – Safra 2015/2016 (CONAB 2016)

A cana é cultivada em mais de 100 países, porém apenas 10 países detêm cerca de 80% da produção mundial, conforme pode ser visto na Tabela 5.

**Tabela 5:** 10 maiores produtores de cana de açúcar

País	Área colhida (10 ha)>	Produção (10%t)	Área Colhida	Produtividade (t/ha)
Brasil	6,153	455,3	30,2	74,0
Índia	4,200	281,3	20,6	67,0
China	1,220	100,7	6,0	82,5
México	0,668	50,6	3,3	75,7
Tailândia	0,936	47,7	4,6	51,0
Paquistão	0,907	44,7	4,6	51,0
Colômbia	0,426	39,8	2,1	93,4
Austrália	0,415	38,2	2,0	92,0
Indonésia	0,370	30,2	1,8	81,6
EUA	0,364	26,8	1,8	73,6
Outros	4,713	276,2	23,1	58,6
<b>Total</b>	<b>20,372</b>	<b>1.391,4</b>	<b>100,0</b>	<b>68,3</b>

Fonte: FAO, 2008

Dentre os maiores países produtores predomina a utilização do bagaço gerado como combustível (queima) para geração de energia, tornando o processo mais eficiente energeticamente (BOTHÁ e BLOTTNITZ, 2006; RAMJEAWON, 2008); deixando de lado a produção de produtos químicos e bioetanol (ALMAZÁN et al., 2001; LASER et al., 2002).

Estatisticamente, temos que uma tonelada de cana gera em torno de 280Kg de bagaço (CERQUEIRA et al., 2007), sendo que metade desse bagaço é utilizado como fonte geradora de energia e a outra metade é armazenada, portanto, há uma forte corrente de pesquisadores empenhados em desenvolver metodologias viáveis ambientalmente e economicamente para esse tipo de material subutilizado ( PANDEY et al, 2000; ADSUL et al., 2004).

O potencial da biomassa lignocelulósica, deve ser apreciado a partir de sua composição estrutural. Em relação ao bagaço de cana, Peng et al.; (2009) mostra que é composto principalmente por lignina (20 – 30 %), celulose (40 – 45%) e hemicelulose (30 – 35%); com um teor de cinza em torno de 2% (Li et al., 2002).

### 2.3.2 Palha de arroz

O arroz é a terceira commodity mais produzida no mundo, ficando atrás apenas do milho e do trigo (Tabela 6), levando a palha de arroz ser uma das biomassas lignocelulosicas mais abundante mundialmente.

**Tabela 6:** Evolução da produção nos Estados Unidos, China, Índia, Brasil e mundo em 2014/15 (milhões de toneladas)

Produtos	Estados Unidos	China	Índia	Brasil	Mundo	Part. (%) destes países/mundo
Milho	356,4	222,0	21,0	74,0	985,4	68%
Trigo	55,2	126,0	95,9	8,0	716,1	40%
Arroz	7,3	144,0	103,0	7,3	477,3	55%
Soja	103,9	12,0	11,0	91,0	304,7	72%
<b>Total</b>	<b>522,8</b>	<b>504,0</b>	<b>230,9</b>	<b>180,3</b>	<b>2.483,5</b>	<b>58%</b>

Fonte: www.fas.usda.gov, elaboração: Ocepar/Getec – Agosto de 2014. Obs. Nos Estados Unidos, China e Índia a partir de setembro inicia a colheita e no caso do Brasil setembro inicia o plantio da safra 2014/15.

A disponibilidade da palha de arroz é enorme, atingindo cerca de 731 milhões de toneladas, podendo produzir algo em torno de 205 milhões de litros de bioetanol por ano (BALAT et al., 2008). Kim e Dale (2004) demonstram a disponibilidade dessa biomassa lignocelulosica por continente frente a sua possível produção de etanol, conforme a tabela 7.

**Tabela 7:** Quantidade de palha de arroz em todo o mundo disponível e produção de etanol teórico.

País	Disponibilidade de Palha de Arroz (milhões de toneladas)	Produção Teórica de Etanol (bilhões de litros)
África	20,93	8,83
Ásia	667,59	281,72
Europa	3,92	1,65
América do Norte	10,95	4,62
América Central	2,77	1,17
América do Sul	23,51	9,92

Fonte: Adaptado de Kim e Dale (2004).

De acordo com Maiorella (1985), cada quilo de arroz colhido produz cerca de 1 – 1,5 quilos de palha, sendo a queima o principal destino

(MUSSATTO e ROBERTO, 2004). Na China, por exemplo, estima-se que em torno de 400 milhões de toneladas de palha que atualmente são desperdiçadas, podem vir a substituir cerca de 200 milhões de toneladas de carvão que atualmente são consumidos neste país (HONGTAO et al.; 2010)

A palha de arroz tem em sua composição estrutural cerca de 40% de celulose, 18% de hemicelulose e 22% de lignina e 20% de resíduos inorgânicos (principalmente cinzas) (OLIVEIRA; 2007).

### **2.3.3 Serragem de Madeira**

Temos inúmeras opções biomassa que podem nos fornecer condições de produzir biocombustíveis, e entre estas opções está a serragem de madeira, que vem chamando muito a atenção dos pesquisadores, devido sua capacidade de renovação e alta disponibilidade, pois uma considerável parcela de indústrias de produtos de origem florestais, tem como subprodutos a serragem, cascas e aparas. Devido a essas características tem-se voltado um maior interesse em otimizar os padrões de processamento e econômicos acerca da conversão dessa biomassa em biocombustível (NEUPANE et al., 2011).

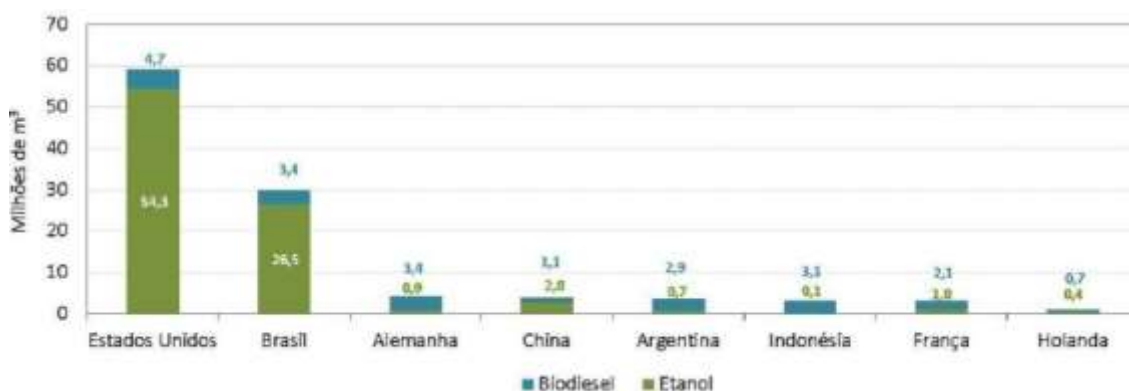
A serragem tem enorme potencial como biomassa lignocelulósica na produção de bioetanol de segunda geração, pois essa matéria-prima possui baixo valor comercial nas indústrias de processamento de material lenhosos. Porém, esse esforço voltado a produção de biocombustíveis a base de resíduos lenhosos, devem primar pela forma sustentável de obtenção do mesmo (LIPPKE et al., 2004).

De acordo com Olsson e Hahn-Hägerdal (1996), a serragem de madeira possuem em sua composição química estrutura, algo em torno de 55% de celulose, 14% de hemicelulose e 21% de lignina. Já Hamelinck, Van Hooijdonk e Faaij (2005), são mais amplos em suas análises, afirmando que os percentuais de celulose são entre 40 – 60%, de hemicelulose são entre 20 – 40% e de lignina são entre 10 – 35%.



## 2.4 Bioetanol

Desde o século XIX o etanol é produzido através de matérias lignocelulósicas, porém, somente nas últimas duas décadas essa alternativa se voltou para o mercado de combustível. Segundo Macedo (2005) aproveitando-se da grande disponibilidade de resíduos orgânicos proveniente de inúmeras fontes o etanol pode ser produzido em praticamente todas as regiões do mundo, como pode visto os dados no Boletim Mensal dos Combustíveis Renováveis, representado pela Figura 7.



**Figura 7:** Gráfico da produção de biocombustíveis por países em 2014 (Boletim Mensal dos Combustíveis Renováveis, Ed. Nº 89)

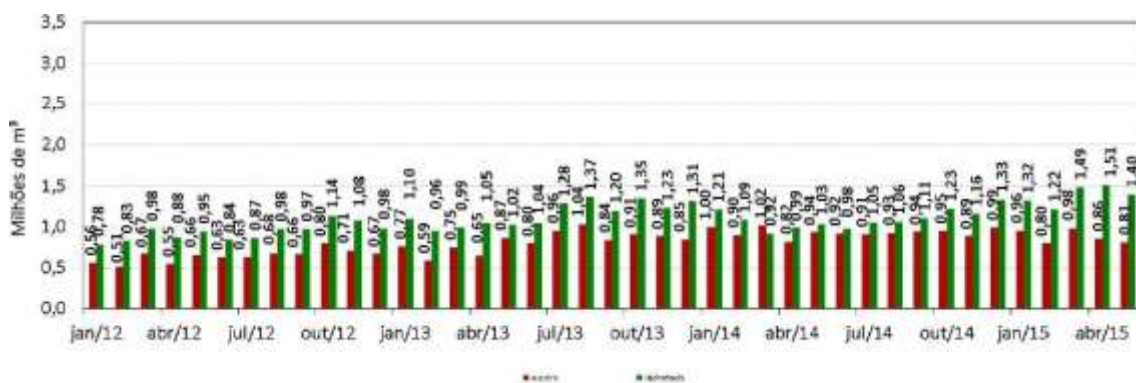
As desvantagens dos combustíveis derivados de fontes fósseis (emissões de gases de efeito estufa, poluição, esgotamento de recursos, relações de demanda de abastecimento desequilibrada) são fortemente reduzidos ou mesmo ausentes com a utilização de biocombustíveis (ROGNER, 2000).

Dentre os biocombustíveis, o etanol já é produzido em larga escala (Figura 8) e é facilmente aplicável em veículos com motores de combustão interna. Sua adição aumenta o poder de octanagem (medida de resistência do combustível à pressão sofrida na câmara de combustão do motor) e reduz a emissão de monóxido de carbono (CO) dentre outros (LYND, 1996).



**Figura 8:** Gráfico da Produção de etanol Carburante (MAPA e ANP, 2015)

Além de ser produzido em larga escala, o etanol já possui seu consumo consolidado, como mostra a Figura 9.



**Figura 9:** Gráfico do Consumo de etanol Carburante (MAPA e ANP; 2015)

É notável que o etanol já possui lugar de destaque na matriz energética mundial, no que tange aos combustíveis líquidos. Entretanto em torno de 90% de todo o etanol é obtido a partir de culturas de açúcar ou amido por fermentação; o resto é produzido sinteticamente (TAHERZADEH, 1999). Existem, porém, certos limites, já que essas culturas têm alto valor de cunho alimentício. Contudo a utilização de processos adequados para a biomassa lignocelulósica pode ir muito além, ou seja, tornando-se mais promissora.

O grande gargalo para a produção de etanol lignocelulósico é -chegarll aos açúcares fermentescíveis, pois esta etapa envolve hidrólise das fibras de celulose e hemicelulose, e paralelamente a quebra da lignina (material que circunda a fibra), tornando o procedimento mais caro quando se compara ao modo tradicional. Essa conversão em açúcares fermentescíveis só ocorre

mediante processos térmicos, químicos ou enzimáticos (LASER et al., 2002). Esses conjuntos de técnicas são denominados de pré-tratamento.

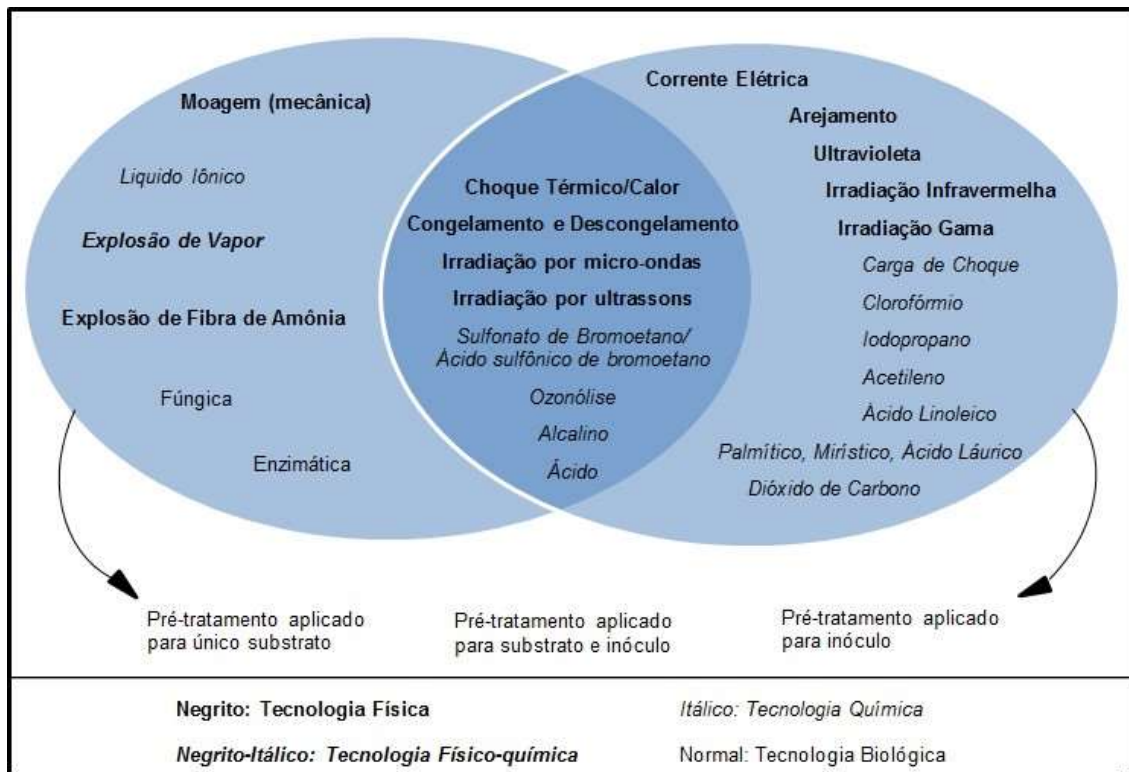
## 2.5 Pré-tratamento

É necessário submeter à biomassa a um pré-tratamento, para facilitar a hidrólise da biomassa, que ao final deve facilitar a conversão em açúcares fermentáveis, consequentemente possibilitando o objetivo principal, que é a produção de bioetanol. Portanto, pode-se dizer que para aumentar o rendimento de hidrólise, um passo de pré-tratamento é necessário, para que —amoleça a biomassa e rompa as estruturas celulares. Ainda, segundo Laser et al (2002) essa é etapa mais onerosa do processo devido sua complexidade.

Estima-se que em torno de 33% do custo total da produção de bioetanol oriundo de palha de arroz, seja proveniente do pré-tratamento, tornando essa etapa um dos principais gargalos a produção em larga escala e exigindo maior atenção e análises (TOMAS-PEJO; OLIVA; BALLESTEROS; 2008)

Dentre os tipos de pré-tratamento disponíveis, tem-se o químico, físico, biológico e o combinado, porém, o químico tem mostrado melhor resposta (RABELO; MACIEL FILHO; COSTA, 2009).

A Figura 7, traz de modo geral as rotas químicas que abrangem o pré-tratamento com líquidos iônicos, ácidos, bases (CUI et al., 2009; CUI e SHEN, 2012; PATTRA et al, 2008), e ozonólise (WU et al., 2013a, 2013b); ao passo que as rotas físicas utilizam-se de pré-tratamento mecânico, térmico (WANG et al, 2003a, 2003b), micro-ondas (ABDELHALIM et al, 2012) e irradiação de ultrassom (LEANO et al., 2012). Já as rotas biológicas incluem o uso de enzimas e fungos (CUI et al., 2010). Nesse sentido diversos estudos têm utilizado de combinações de rotas, visando o aumento do rendimento, sendo que as combinações que surtiram maiores efeitos foram das rotas químicas com as físicas (WONG et al., 2014).



**Figura 10:** Classificação e subclassificação de pré-tratamentos (Adaptado de BUNDHOO; MOHEE e HASSAN; 2015)

Comparações entre rotas de pré-tratamento não são cabíveis, já que existem diversos fatores e condições que podem alterar a relação resposta/rendimento das rotas. Deste modo cada substrato/biomassa tem uma resposta a determinadas condições a elas imposta nessa etapa (SINGH E WAHID, 2015).

Entre as várias possibilidades de pré-tratamento encontra-se a com líquido iônico, que se tem mostrado bastante promissora devido a suas características. Segundo Fukaya (2008) o pré-tratamento que envolve a utilização de líquidos iônicos é promissor, pois eles são solventes voláteis e capazes de desconstruir a fibra, permitindo uma maior acessibilidade a celulose.

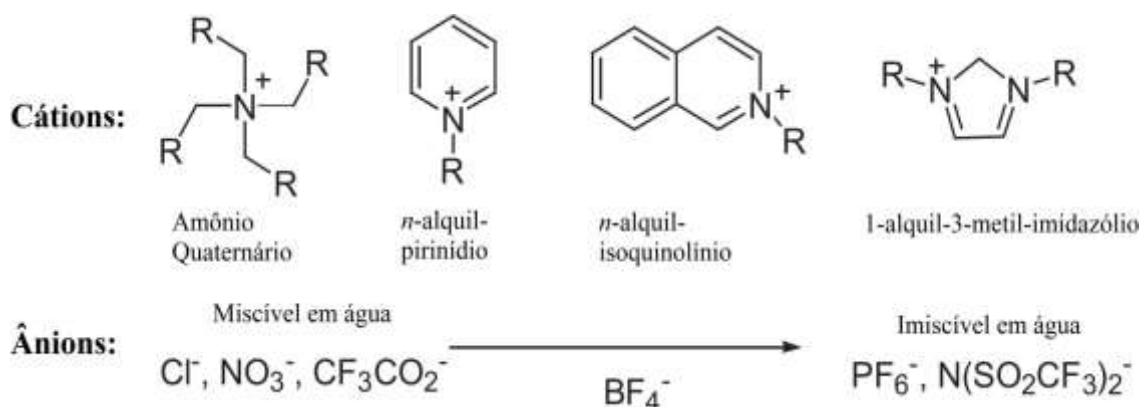
### 2.5.1 Pré-Tratamento com Líquido Iônico

O pré-tratamento tem como objetivo diminuir a cristalinidade da celulose, aumentar a área de superfície da biomassa, remover a hemicelulose e —quebrar a lignina. O tratamento prévio faz com que a celulose fique mais acessível para as enzimas de modo que a conversão de polímeros de

carboidratos em açúcares fermentáveis pode ser realizada mais rapidamente e com maior rendimento. A recalcitrância da estrutura lignocelulósica é um dos principais empecilhos para a produção viavelmente econômica de bioetanol. A abordagem técnica para superar esse aspecto foi o pré-tratamento das matérias-primas de biomassa para remover as barreiras e tornar mais acessível a celulose as enzimas hidrolíticas para a conversão em glucose (ZHU et al., 2008)

Em termos gerais os LIs são compostos constituídos por íons que em temperatura ambiente ou próxima, possuem estado de agregação líquido. Erroneamente, quando descobertos, foram definidos como sais fundidos, porém esse tipo de composto possui alto ponto de fusão e viscosidade, aliada a um aspecto corrosivo; diferenciando dos LIs que são líquidos a temperatura ambiente (GUARDA, 2009). Em linhas gerais os LIs são sais fundidos ecológicos, e que representam uma nova classe de solventes que têm polaridades altas e um ponto de fusão baixo (LEE, 2011).

De modo geral, no que se refere à definição de LIs, os artigos diferem-se entre si, porém o consenso está em torno de que são compostos por íons e o estado de agregação, é líquido a temperaturas ambientes ou próximas. E se tratando de íons, que se refere a cátions e ânions Liu et al (2012), definiu os LIs como substâncias compostas de cátions orgânicos e ânions orgânicos ou inorgânicos, como exemplificado na Figura 11.



**Figura 11:** Composição dos LIs. (Fonte: Adaptado de LIU et al. 2012).

Estes compostos vêm sendo aplicados no pré-tratamento de biomassa lignocelulósica como solventes promissores (FU et al., 2010), e de acordo com

Nguyen et al., (2010) proporcionam várias características atraentes em comparação com os métodos convencionais. Os mesmos têm sido utilizados não apenas como solvente para a celulose e de material lignocelulósico, mas também como meio para a realização *in situ* de derivatização de celulose (HEINZE et al., 2005; STEGMANN et al., 2008).

Para facilitar o acesso a celulose os líquidos iônicos são considerados solventes verdes, muitas vezes exibindo baixa pressão de vapor e com eficiente poder de desestruturação (ROGERS E SEDDON, 2003). Suas principais características são:

- ✓ Não são inflamáveis;
- ✓ Estabilidade térmica;
- ✓ Estabilidade química;
- ✓ Baixa pressão de vapor;
- ✓ Dissolve diversos compostos orgânicos e inorgânicos;
- ✓ Síntese simples e viável;
- ✓ Possibilidade de reutilização.

Existe, porém, vários parâmetros que afetam o processo de pré-tratamento da biomassa com líquidos iônicos, como por exemplo: as propriedades físico-químicas do líquido iônico, o tempo e a temperatura de reação, proporção de biomassa e de líquido iônico, o tipo de biomassa e o conteúdo de água da amostra, destacando-se as propriedades físico-químicas do líquido iônico (ZAKRZEWSKA et al., 2010). Maki-Arvela et al., (2010) mencionou que várias propriedades do líquido iônico tem efeitos significativos sobre o pré-tratamento do material lignocelulósico.

Deve-se considerar, ainda, que o líquido iônico tem propriedades ajustáveis de acordo com a seleção de ânion e cátion, conseqüentemente, pode obter LIs muito eficazes como solvente para biomassa lignocelulósica e seus constituintes, porém vários requisitos têm de ser considerados, para serem utilizados na dissolução da celulose, como: o LI deve possuir um baixo ponto de fusão, não deve provocar a decomposição de celulose; deve ser estável e armazenável, sua recuperação deverá ser fácil, deverá ser não tóxico e ser relativamente barato, bem como ser um bom solvente para a celulose

(HERMANUTZ et al., 2008). Indo além, o LI escolhido deve tolerar quantidades relativamente elevadas de água, uma vez que a secagem extensa dos biomateriais antes da dissolução não é economicamente viável.

A recuperação do LI é de suma importância uma vez que após a regeneração da celulose com água ou mistura de água/acetona, o solvente adicionado ao líquido iônico deve ser evaporado antes da sua reutilização no próximo ciclo de extração (SUN et al., 2009).

Segundo Li et al., (2008) a dissolução de biomassa lignocelulósica em LIs é relativamente fácil e os mesmos são reciclados com sucesso.

Em torno de 40 LIs tem sido avaliados na dissolução de celulose, os mesmos podem conter diversos cátions, sendo que os baseados em imidazol, piridina e em trietilamônio foram identificados como cátions muito promissores no processo de dissolução da celulose (D'ANDOLA et al., 2008).

Fukaya et al., (2008) afirma que líquidos iônicos que possuem baixas viscosidades como o acetato, facilitam a dissolução de celulose a temperaturas inferiores. De modo que já existem várias patentes que relatam o uso de líquidos iônicos para a dissolução da celulose e madeira (D'ANDOLA et al., 2008;. MYLLYMÄKI e AKSELA, 2008; ARGYROPOULOS, 2008).

Por fim, o LI adequado para o pré-tratamento da biomassa deverá ter a capacidade de desconstruir a biomassa a baixas temperaturas, possuindo baixa viscosidade, com estabilidade química e nenhuma decomposição da biomassa, além de baixo custo e de ser facilmente processado, sendo não tóxico para enzima e para a fermentação microbiana, todas essas características aliadas a facilidade de regeneração e reciclagem do mesmo (HOLM e BAS, 2011;. MAKI-ARVELA et al., 2010).

## CAPÍTULO III

### METODOLOGIA

#### 3. Nomenclatura das amostras

Neste trabalho utilizou-se três diferentes biomassas lignocelulosicas: bagaço da cana-de-açúcar; palha de arroz; serragem de madeira e três diferentes tipos de LIs: Brometo de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]); Acetato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H<sub>3</sub>CCOO]) e Hidrogenosulfato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [HSO<sub>4</sub>]), sendo realizadas combinações entre os tipos de biomassa e LIs, e para sistematizar essas combinações, adotou-se a nomenclatura para as amostras mostrada na Tabela 8.

**Tabela 8:** Nomenclaturas de líquidos iônicos e biomassas

Líquidos iônicos	Nomenclatura
Brometo de 1- <i>n</i> -butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br])	L1
Acetato de 1- <i>n</i> -butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H <sub>3</sub> CCOO])	L2
Hidrogenosulfato de 1- <i>n</i> -butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [HSO <sub>4</sub> ])	L3
Biomassa	Nomenclatura
Bagaço de cana-de-açúcar	B1
Palha de arroz	B2
Serragem de madeira	B3

Fonte: Próprio autor

Será adotado os numerais 1 (um) e 2 (dois) entre parenteses nas nomenclaturas para diferenciar o primeiro e o segundo teste respectivamente. Exemplo: L1B1(1) e L1B1(2) referem-se aos ensaios um e dois do LI [BMIM] [Br] com a biomassa de bagaço de cana-de-açúcar respectivamente.

#### 3.1 Síntese dos líquidos iônicos

A obtenção dos LIs foi confirmada por Espectrometria de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), realizada no Laboratório de Pesquisa em Química na Universidade Federal do Tocantins (Lapeq – UFT), utilizando o aparelho da Agilent Technologies modelo FTIR CARY 630, com os seguintes



parâmetros: número de varreduras: 8; resolução:  $4\text{cm}^{-1}$ ; faixa analítica:  $4.000,00 - 650\text{ cm}^{-1}$ .

### 3.1.1 Brometo de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br])

A síntese do brometo de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]) (Figura 9), foi realizada com a mistura de *n*-bromo-butano e 1-metil-imidazol adicionados na razão molar de 1,1: 1 em um balão de fundo chato sob agitação por 48h em temperatura ambiente. Após o tempo de reação foi obtido o LI na sua forma pura, conforme representada pela Figura 12.

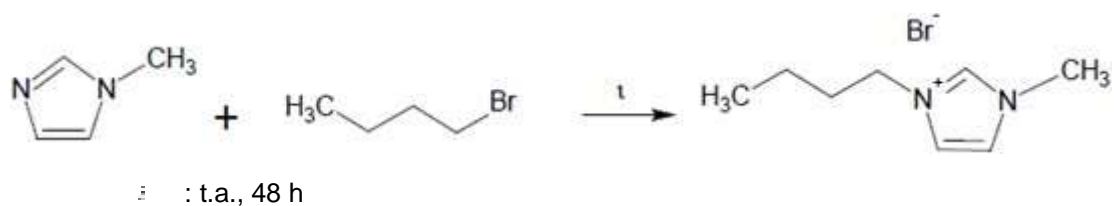


Figura 12: Síntese do ([BMIM] [Br])

### 3.1.2 Acetato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H<sub>3</sub>CCOO])

O ([BMIM] [Br]), obtido em etapa anterior, foi misturado com acetato de sódio na razão molar de 1:1 na presença de clorofórmio. A reação foi conduzida por 24h a  $40^{\circ}\text{C}$  sobre agitação. Após o término da reação o acetato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H<sub>3</sub>CCOO]) formado foi lavado com éter etílico por três vezes, sendo seco sob vácuo. O produto resultante é um líquido viscoso, amarelado. A reação de obtenção é mostrada na Figura 13.

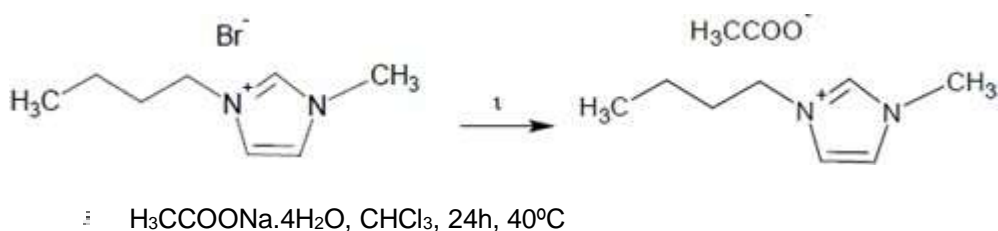
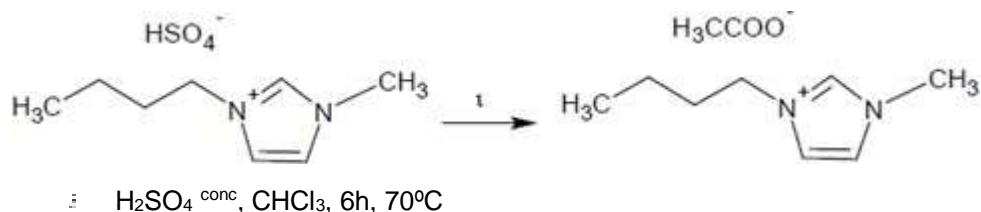


Figura 13 : Síntese do LI [BMIM] [H<sub>3</sub>CCOO]

### 3.1.3 Hidrogenosulfato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [HSO<sub>4</sub>])

Em um balão o ([BMIM] [Br]) foi resfriado em banho de gelo. Após ácido sulfúrico concentrado foi adicionado gota-a-gota sob agitação na presença de

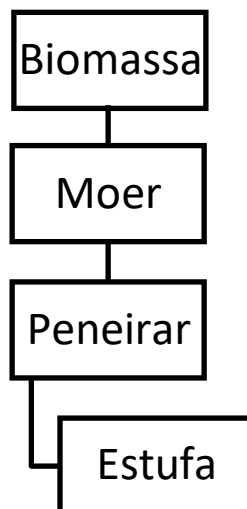
clorofórmio. A reação ocorreu por 6h à 70°C, sob refluxo (FRAGA-DUBREUIL et al., 2002). Ao final da reação extraiu-se o solvente e o produto foi lavado em éter etílico por três vezes e seco sob vácuo. A equação da Figura 14 mostra a síntese deste LI.



**Figura 14:** Síntese do [BMIM] [HSO<sub>4</sub>]

### 3.2 Preparação da biomassa

As biomassas (palha de arroz, bagaço de cana-de-açúcar e serragem) foram moídas e peneiradas afim de se obter partículas uniformes. Logo após foram submetidas a estufa a 120°C durante 48 horas, aonde ocorre a remoção da umidade, como demonstrado no fluxograma (Figura 15) abaixo:

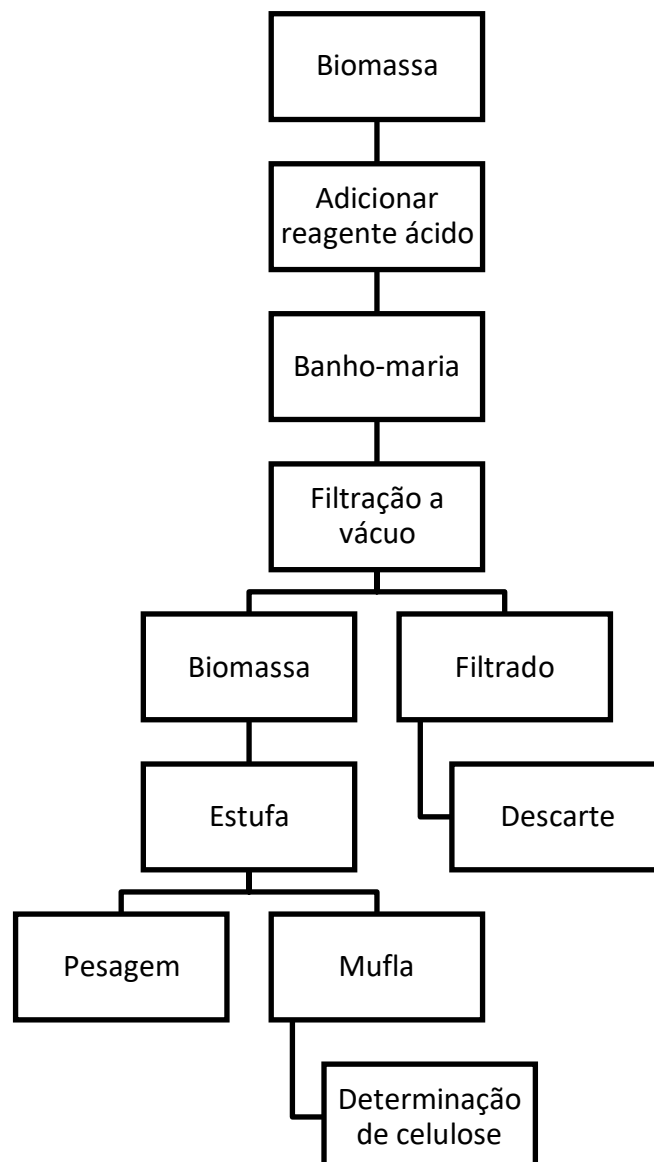


**Figura 15:** Fluxograma simplificado de preparação da biomassa.

### 3.3 Teor de celulose

A quantificação de celulose está esquematizada na Figura 16. Utilizou-se em torno de 1 grama de biomassa seca que foi colocada em tubo de ensaio, sobre a qual adicionou-se 3 ml de um reagente ácido (composto por 72,73% de ácido acético glacial; 18,18% de água destilada e 9,09% de ácido nítrico). Logo após a adição do reagente ácido, levou-se os tubos ao banho-maria por 30

minutos, após o transcorrer desse tempo adicionou-se álcool etílico e deixou resfriar a temperatura ambiente. Após o resfriamento procedeu-se com a filtração a vácuo, sendo lavado por etanol, tolueno e éter sulfúrico todos quentes. Após a filtração o papel de filtro com a amostra foi colocado em um cadinho (previamente calcinado) e levado a estufa a 105°C por 4 horas. Passado o tempo o sistema (cadinho; papel de filtro e amostra) foi pesado e em seguida colocado a mufla a 550°C por 5 minutos (Adaptado de PINTO et al 2013).



**Figura 16:** Fluxograma geral e simplificado da determinação do teor de celulose nas biomassas (Adaptado de PINTO et al 2013)

Após todo o procedimento descrito acima, utilizou-se a equação abaixo a fim de determinar os teores de celulose presente em cada biomassa que foi utilizada.

Equação:

$$\frac{M_i - P}{M_f - P} \times m_A$$

Onde:

M<sub>i</sub> = massa do cadinho + papel + amostra;

P = massa do papel de filtro (papel quantitativo);

M<sub>f</sub> = massa do cadinho+ cinzas;

m<sub>A</sub> = massa da amostra.

### **3.4 Pré-tratamento das amostras**

O pré-tratamento das amostras consistiu na mistura de 0,1g de biomassa previamente preparada e 2mL de LI. A seguir levou-se a mistura para a estufa a 100°C por 2 horas. Ao final do tempo filtrou-se a vácuo, lavando o sólido com água destilada. O resíduo (água e líquido iônico) foi levado ao evaporador rotatório para a recuperação do LI e na biomassa recuperada procedeu-se a hidrólise enzimática.

### **3.5 Hidrólise enzimática da celulose obtida**

Para a hidrólise enzimática corrigiu-se pH das amostras em torno de 5,0 e aqueceu a mistura em banho de óleo na faixa entre 45°C – 50°C, adicionando então, a enzima comercial celulase Cellic CTEC2 (12µL), permanecendo com a temperatura e agitação constante durante 72 horas.

Após a etapa de hidrólise, filtrou-se a solução, sendo a biomassa residual descartada e o filtrado, onde encontram-se os açúcares redutores, procedeu-se a fermentação.

Logo após a hidrólise enzimática e subsequente filtração, realizou-se a quantificação dos açúcares redutores do filtrado, através do Ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959). Essa técnica baseia-se em que

elevadas temperaturas e meio básico, o DNS passa a 3-amino-5-nitrosalicílico, apresentando coloração amarelada, sendo absorvida pelo espectrofotômetro a 540 nm. Primeiramente foram preparados 10 tubos de ensaio, cada um contendo 1000 µL de DNS, com diferentes quantidades de água destilada e glicose, de modo a completar um total de 2000 µL; antes de serem levados a banho-maria por 5 minutos. Ao final da fervura adicionou-se 3000 µL de água destilada e deixou-se resfriar até temperatura ambiente. Após atingi-la procedeu-se as leituras no espectrofotômetro Hach DR 5000 em comprimento de onda de 540 nm no Lapeq-UFT, e os dados obtidos foram utilizados para confeccionar a curva padrão de glicose (ver Apêndice A). Em seguida preparou-se as amostras da mesma maneira e realizou-se a leitura da absorbância no espectrofotômetro.

### 3.6 Processo fermentativo

O processo fermentativo se deu com a padronização de todas as amostras a 20 (vinte) mililitros. Adicionou-se 0,09 gramas da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, permanecendo a 25° C durante 24 horas, sem adição de nutriente.

Ao final, após a etapa de fermentação direta, a produção de etanol foi avaliada por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectroscopia de Massas (CG-EM). Antes das leituras cromatográficas, prepararam-se as amostras, o branco-branco (BB) e o branco-contaminado (BC), utilizando-se o butanol como padrão interno, conforme Tabela 9 .

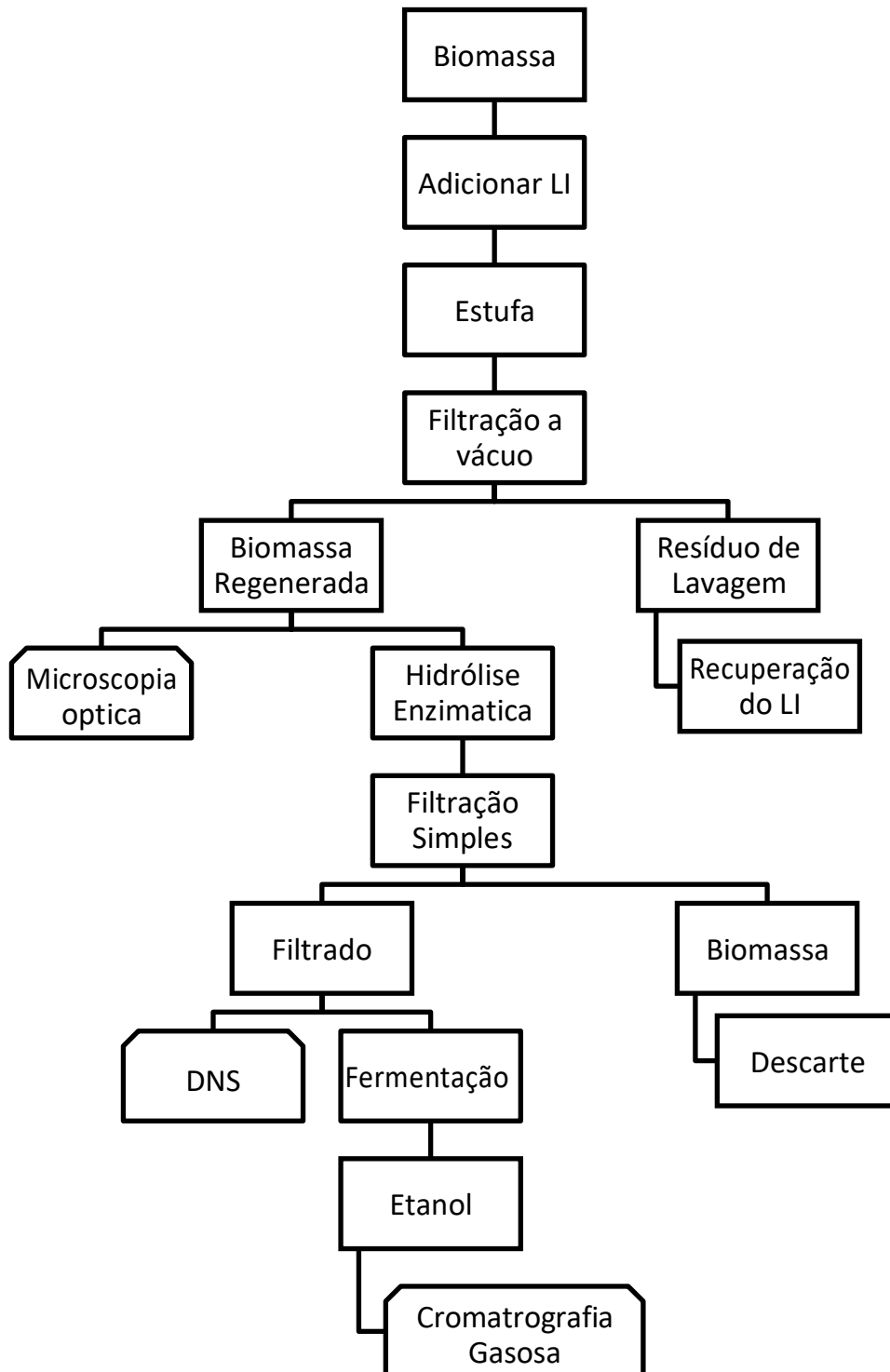
**Tabela 9:** Componentes do BB, BC e Amostras

Identificação	Componentes
Branco-Branco	Água destilada (1000 µl) e Butanol (100 µl)
Branco-Contaminado	Água destilada (1000 µl); Butanol (100 µl) e Etanol (100 µl)
Amostras	Amostra (1000 µl) e Butanol (10 µl)

Fonte: Próprio autor

A CG - EM foi feita em cromatógrafo Agilent 7890A GC, complementado por o Agilent 5975C inert XL MSD com detector de eixo triplo no laboratório de análises da Polícia Civil do Estado do Tocantins.

A rota do processo proposta neste trabalho é esquematizada no fluxograma geral e simplificado, mostrado na Figura 17, que se mostrou-se adequada para os objetivos.



**Figura 17:** Fluxograma geral e simplificado do pré-tratamento das amostras e produção de etanol.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

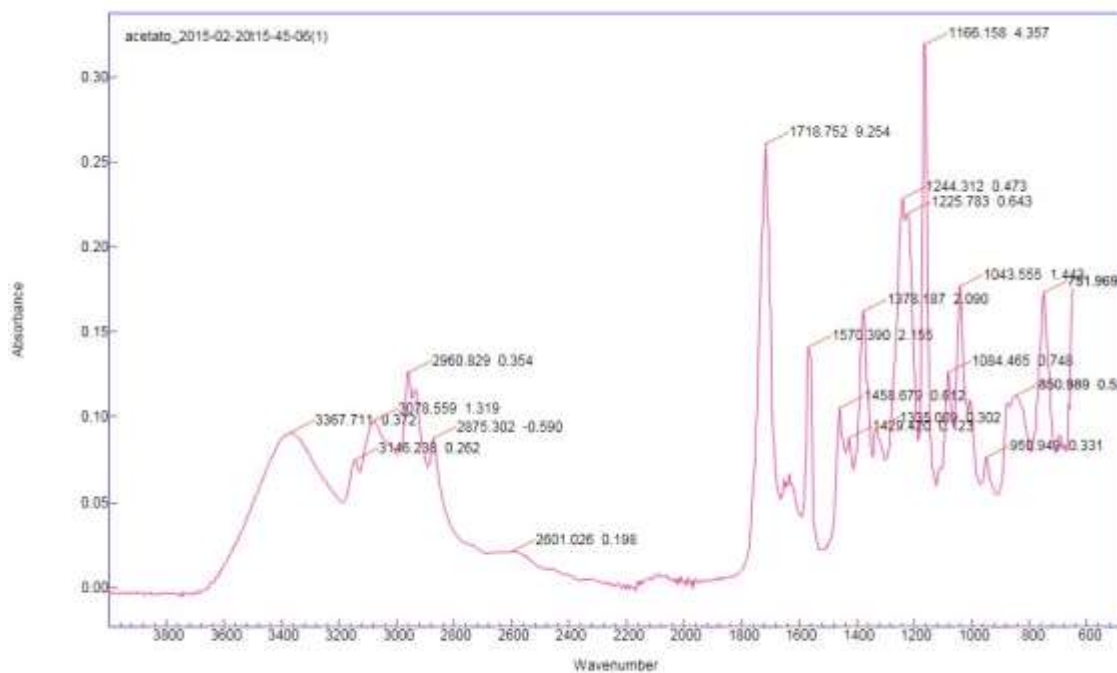
#### 4. Considerações prévias

Para efeito de cálculos todos os resultados obtidos foram calculados a partir da quantidade de biomassa obtida após o pré-tratamento (Apêndice B) e teores de celulose presentes na biomassa (Tabela 10).

#### 4.1 Sínteses dos LIs

Após a sínteses dos LIs, submeteu-se os mesmos ao análise por FT-IR, afim de se verificar o êxito do procedimento, conforme Figuras 18; 19 e 20. Pode-se observar que todos os LIs foram obtidos adequadamente.

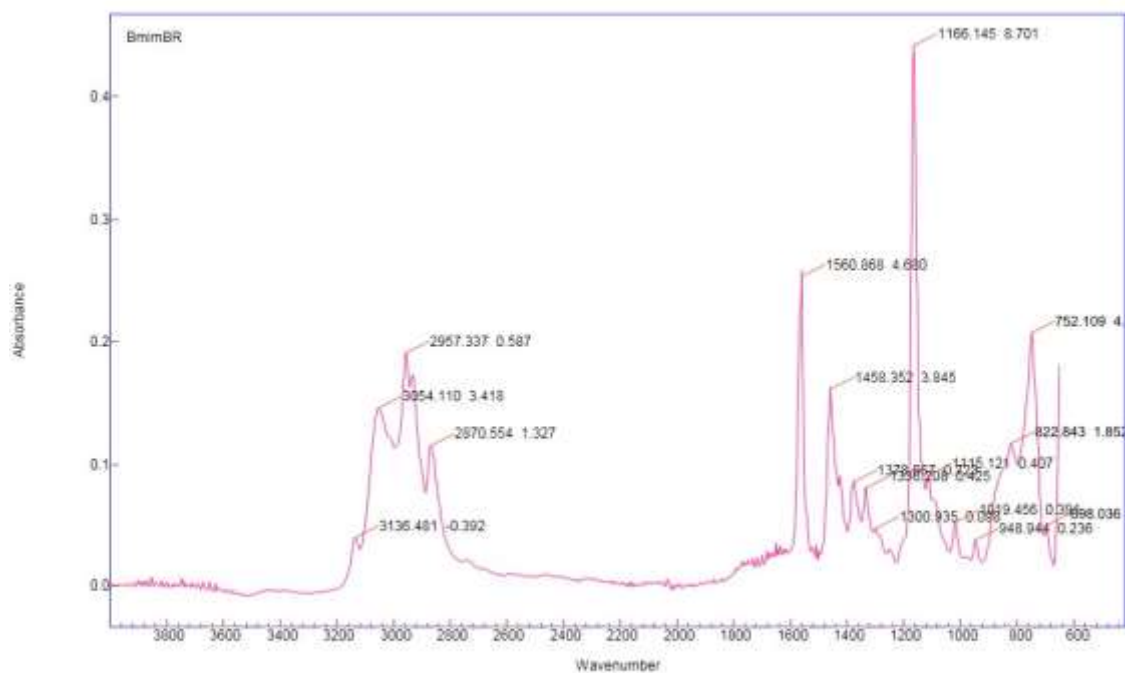
Agilent Resolutions Pro



Name
acetato_2015-02-2015-45-06(1)

Figura 18 : Infravermelho do LI [BMIM] [H<sub>3</sub>CCOO]

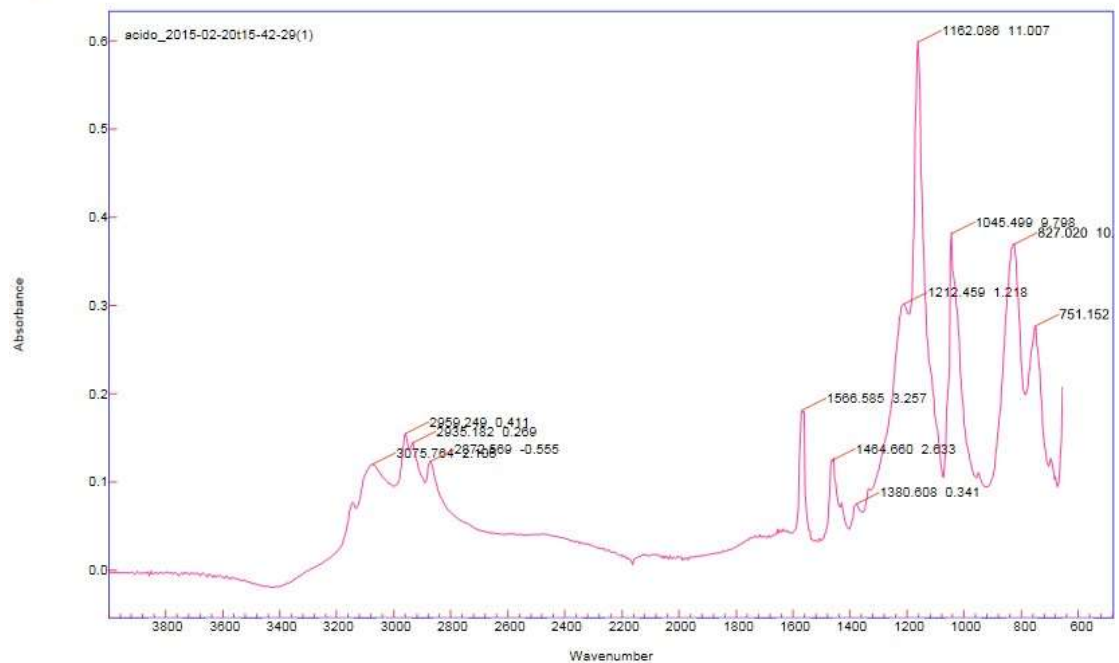
Agilent Resolutions Pro



Name
BmimBR

Figura 19 : Infravermelho do LI [BMIM] [Br]

Agilent Resolutions Pro



Name
acido_2015-02-20t15-42-29(1)

Figura 20: Infravermelho do LI [BMIM] [HSO₄]



Os espectros de absorção na região do infravermelho dos líquidos iônicos possuem certa semelhança, em que as bandas compreendidas entre 3146 e 2870  $\text{cm}^{-1}$ , corresponde aos picos característicos do anel imidazólico, como ligação C-H em aromáticos. Nesta mesma região encontram-se também picos correspondentes aos estiramentos C-H, dos grupos  $\text{CH}_2$  entre 2960 e 2957  $\text{cm}^{-1}$  e dos grupos  $\text{CH}_3$  entre 2875 e 2870  $\text{cm}^{-1}$  da cadeia lateral do cátion imidazólico.

Observou-se também que os estiramentos do anel imidazólico, C = C entre 1464 e 1458  $\text{cm}^{-1}$  e estiramentos C = N entre 1560 e 1570  $\text{cm}^{-1}$ , além de deformações C – H e N - H compreendida entre 1300 – 1380  $\text{cm}^{-1}$  e talvez o pico mais característico que é o que corresponde a vibração do anel imidazólico entre 1162 - 1166  $\text{cm}^{-1}$  (SILVERSTEIN e WEBSTER; 2000).

O espectro do LI [BMIM] [ $\text{H}_3\text{CCOO}$ ] mostrou picos na região de 3367  $\text{cm}^{-1}$  que pode ser atribuída a grupos OH da água adsorvida nos compostos ou devido ao acetato usado na síntese ser tetra hidratado. A presença da água pode ter atrapalhado o desempenho desse LI no pré-tratamento das biomassas, já que ele apresentou a pior média geral de hidrólise (Tabela 13).

## 4.2 Biomassa

O teor de celulose presente nas biomassas lignocelulosicas é um dos fatores determinantes para a utilização das mesmas na produção de biocombustível. A fim de se verificar a viabilidade de diversas biomassas foram e são realizados diversas pesquisas e em uma delas De Camargo et al (2014); afirma que o teor de celulose presente no bagaço de cana-de-açúcar é em torno de 32%; Reyes et al (1998) demonstra que na palha de arroz esse teor gira em torno de 40%; já Barbosa et al (2014) afirma que na serragem de madeira encontra-se algo entre 37 à 62% de celulose dependendo do tipo de madeira que a origina. A Tabela 10 mostra os valores de celulose determinados experimentalmente para as biomassas utilizada nesta pesquisa.

**Tabela 10:** Teor médio de celulose nas biomassas utilizadas (%)

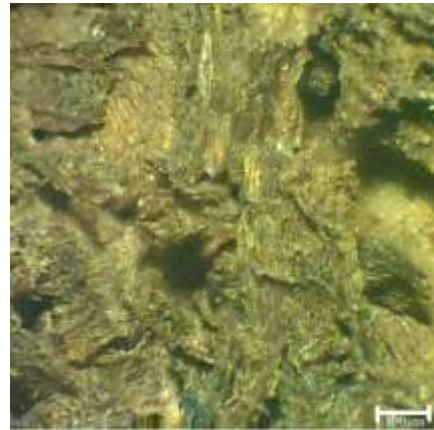
BIOMASSAS		
B1	B2	B3
32,56	47,30	46,56

Como pode-se notar os valores encontrados estão em conformidade com a literatura, além de mostrar o real potencial dessas biomassas na produção de biocombustíveis.

As três biomassas estudadas apesar de possuírem alguns componentes químicos iguais são quimicamente diferentes, diferindo, tanto em formato estrutural quanto em composição química. Afim de confirmar eventuais alterações estruturais tratou-se B1; B2 e B3 com o mesmo LI, o L3 (Hidrogenosulfato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol) e logo após o tratamento procedeu-se a microscopia óptica, no aparelho Zeiss do modelo Prismus Star Trinocular, acoplado com câmera de definição 10,0 MP da Opticam, a fim de comparação das mesmas, como pode ser visto nas Figuras 21; 22 e 23.



**Antes**

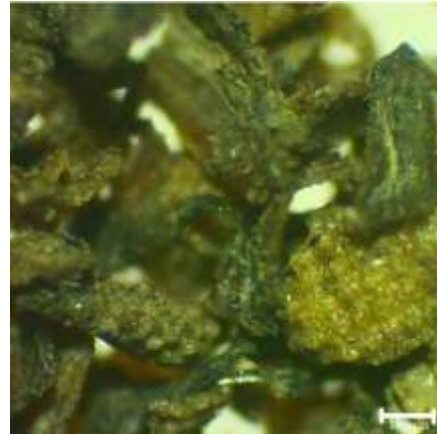


**Depois**

**Figura 21:** Foto de microscopia óptica de B1 antes e depois de pre-tratada com LI



**Antes**



**Depois**

**Figura 22:** Foto de microscopia óptica de B2 antes e depois de pre-tratada com LI



**Antes**



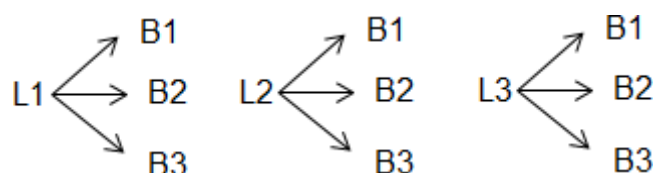
**Depois**

**Figura 23:** Foto de microscopia óptica de B3 antes e depois de pre-tratada com LI

Apesar das biomassas terem sido padronizadas em termos trituração e granulometria, a fim de se uniformizar o melhor possível a superfície de contato das mesmas, ao analisar as figuras acima, visualmente podemos notar que as três biomassas responderam diferentemente ao pré-tratamento com o mesmo LI. A biomassa B2 visualmente foi a que apresentou maior modificação estrutural após o tratamento com o LI, levando-nos acreditar que uma desconstrução da fibra pode ter ocorrido com maior proporção. Na amostra B3 podemos observar a manutenção de algumas fibras originais o que pode significar a regeneração da celulose presente, já que a serragem de madeira possui o maior teor de celulose das três biomassas estudadas, porém apresentou a pior média geral de hidrólise (Tabela 10). De uma forma geral podemos observar alguma alteração estrutural nas três amostras, indicando a atuação do LI.

#### 4.3 Líquidos Iônicos versus Biomassas

Realizou-se uma combinação de pré-tratamento entre Líquidos iônicos (L1, L2 e L3) e biomassas (B1, B2 e B3), conforme Figura 24; de modo que todos os três tipos de LI e biomassas fossem testados, afim de verificar o comportamento de ambos, frente a hidrólise da celulose.



**Figura 24:** Combinações entre LI e Biomassas

Após as combinações na etapa do pré-tratamento, efetuou-se a hidrólise das mesmas e analisou por DNS a concentração de glicose, os dados são mostrados na Tabela 11.

**Tabela 11:** Valor de absorvância (Abs.) e concentração de glicose [Gli] em gramas por litro (g/L)

L1			L2			L3		
Combinações	Abs.	[Gli] g/L	Combinações	Abs.	[Gli] g/L	Combinações	Abs.	[Gli] g/L
L1B1(1)	0,383	1,08	L2B1(1)	0,229	0,66	L3B1(1)	0,128	0,40
L1B1(2)	0,332	0,94	L2B1(2)	0,238	0,69	L3B1(2)	0,146	0,45
L1B2(1)	0,175	0,52	L2B2(1)	0,237	0,68	L3B2(1)	0,093	0,30
L1B2(2)	0,215	0,63	L2B2(2)	0,208	0,61	L3B2(2)	0,079	0,26
L1B3(1)	0,122	0,38	L2B3(1)	0,092	0,30	L3B3(1)	0,022	0,11
L1B3(2)	0,105	0,33	L2B3(2)	0,096	0,31	L3B3(2)	0,029	0,13

Os valores da concentração de glicose foram obtidos através da equação da curva padrão em termos de concentração (Apêndice C), sendo que os resultados de todas as combinações e suas repetições estão contidos na Tabela 12 e condensados no gráfico da Figura 24.

Os cálculos de rendimento de hidrólise de cada amostra foram feitos através da seguinte equação:

$$[ \quad ]$$

Onde:

$RH(\%)$  = Percentual de hidrólise

[Gli] = Concentração de glicose na amostra

$V_a$  = Volume da amostra

$Q_{AR}$  = Quantidade de amostra recuperada

$Cel_B$  = Percentual de celulose calculado na biomassa

**Tabela 12:** Rendimento da hidrólise (%)

L1		L2		L3	
Combinações	Rendimento (%)	Combinações	Rendimento (%)	Combinações	Rendimento (%)
L1B1(1)	81,5	L2B1(1)	42,9	L3B1(1)	80,4
L1B1(2)	79,8	L2B1(2)	43,6	L3B1(2)	81,1
L1B2(1)	26,3	L2B2(1)	30,6	L3B2(1)	30,2
L1B2(2)	29,5	L2B2(2)	26,2	L3B2(2)	24,9
L1B3(1)	19,1	L2B3(1)	12,3	L3B3(1)	9,2
L1B3(2)	15,2	L2B3(2)	13,1	L3B3(2)	9,2

Com base nesses dados foi possível calcular o rendimento médio da hidrólise em relação aos LIs e biomassas, como pode-se observar na Tabela 13 e 14. As médias foram obtidas utilizando os valores da Tabela 12 pela seguinte equação:

✓ Para Líquidos Iônicos:

Onde:

$Med_{(%)}$  = Média da hidrólise em percentual

HÁ = percentual de hidrólise das amostras em um mesmo LI

TA = total de amostras

**Tabela 13:** Médias de hidrólise de celulose correlacionada aos LI (%)

LIQUIDOS IONICOS		
L1	L2	L3
41,91	28,11	39,20

Fonte: Próprio autor

✓ Para Biomassas:

Onde:

$Med_{(%)}$  = Média da hidrólise em percentual

HA = percentual de hidrólise das amostras em uma mesma biomassa

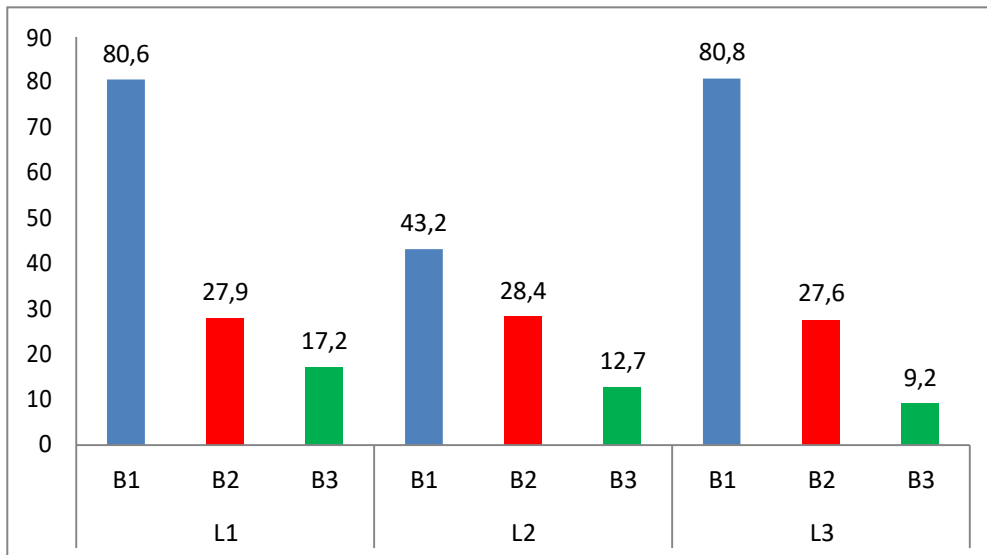
TA = total de amostras

**Tabela 14:** Médias de hidrólise de celulose nas biomassas utilizadas (%)

BIOMASSAS		
B1	B2	B3
68,22	27,96	13,04

Fonte: Próprio autor

Pode-se visualiza melhor estes resultados a partir do gráfico da figura 25.



**Figura 25:** Rendimento médio da hidrólise (%)

Analisando o gráfico acima, podemos notar uma linearidade nos comportamentos dos LIs e das biomassas apresentando coerência dentro das combinações possíveis.

Apesar de uma tendência, em média o L1 apresentou um melhor resultado frente ao pré-tratamento, porém obteve resultado semelhante ao L3, quando comparamos apenas B1 e B2, o fator determinante para uma melhor média de L1 em relação a L3 foi o tratamento de B3, onde a diferença de hidrólise ficou em torno de 8% entre os dois LIs; o que foi uma grata surpresa, já que esperava-se uma degradação da celulose devido ao alto caráter ácido desse LI.

Já o L2 apresentou um rendimento abaixo do esperado, que pode ser explicado pela presença de água no mesmo, confirmado pelo espectro de infravermelho, existindo duas possibilidades cabíveis para a presença de água: utilização de reagente tetra hidratado ou pelo caráter hidrofílico que este LI possui.

Realizou-se a reciclagem/purificação dos LIs presente na água de lavagem, por meio do rota evaporadora e sistema trap, os mesmos foram armazenados para uma avaliação em trabalho futuro, em torno do seu real potencial de aplicação após a reciclagem.

As biomassa utilizadas responderam bem ao pré-tratamento, sempre dentro dos apontamentos realizados na literatura, com o bagaço de cana-de-

açúcar apresentando o melhor resultado, seguido pela palha de arroz e serragem de madeira respectivamente.

Apesar de possuir o menor teor de celulose quando comparada com as demais biomassas estudadas, B1 apresentou uma melhor eficácia na geração de glicose após a hidrólise, independente do LI. Isso pode ser explicado devido a sua estrutura química permitir ao LI ter tido uma maior facilidade de acesso a celulose, conseqüentemente deixando-a mais susceptível ao —ataquell das enzimas, na etapa da hidrólise, conseqüentemente efetuando uma maior e melhor quebra em açúcares livres.

Pode-se notar também que a melhor rendimento de glicose médio obtido foi com a combinação L3B1, porém quando analisamos separadamente todas as combinações e sua respectiva repetição observamos que o ensaio L1B1(1) foi o que apresentou o melhor resultado individualmente (Tabela 12) em relação a hidrólise.

Uma comparação fiel com a literatura fica um pouco injusto, já que a mesma não utilizam-se da mesma de pré-tratamento proposto neste trabalho, porém, traçando uma comparação com os dados encontrados na mesma encontra-se algumas faixas de amplitude.

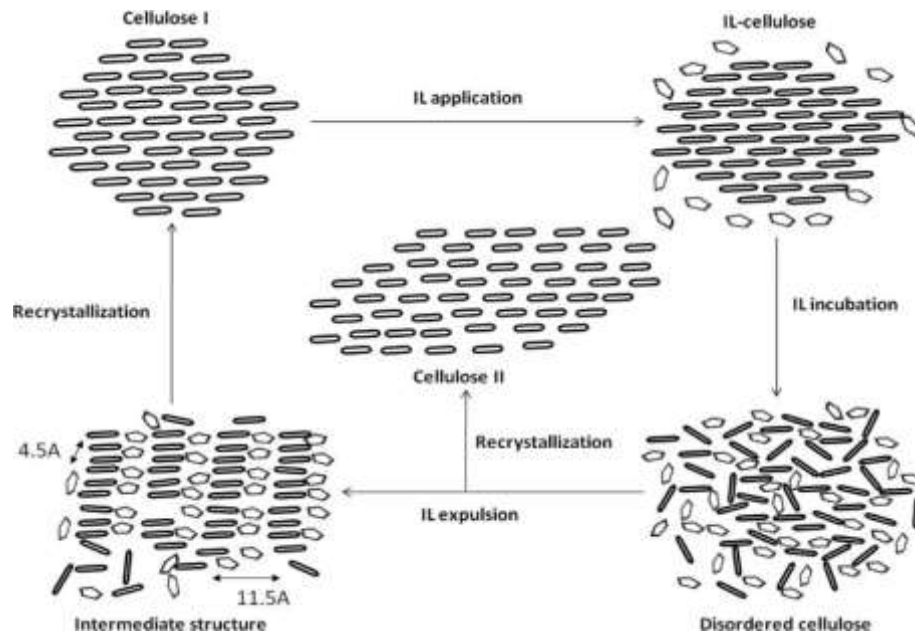
Na literatura encontram-se percentuais de hidrólise para o bagaço de cana-de-açúcar em torno de 62% (KRISHNAN et al., 2010); 74,9% (CARDONA; QUINTERO E PAZ; 2010); 76,9% (VELMURUGAN e MUTHUKUMAR; 2011); 87,0 % (QIU e AITA; 2013) e 91,4% (ZHU; ZHU e WU; 2012 ) dentre outros, mostrando que os percentuais de hidrólise para o bagaço de cana-de-açúcar obtidos neste trabalho estão em consonância com a literatura. Esta análise não fica muito característica apenas nas amostras de bagaço de cana-de-açúcar tratadas com o L2.

Já em relação a palha de arroz, encontramos trabalhos com percentuais de hidrólise de 46,2% (AMIRI; KARIMI e ZILOUEI; 2014); 50,0% (MILLER e HESTER; 2007) e 52,0% (BAK et al., 2009) dentre outros, percentuais esse são um pouco acima dos verificados neste trabalho.

A serragem de madeira apresentou resultados de hidrólise, abaixo do encontrado na literatura; sendo que Sidiras (2012) afirma que em condições ótimas, obteve um rendimento de 38% de hidrólise; já Kim et al (2013) apresentou de rendimento de hidrólise entre 67,1% - 73,6% e Viell et al (2013)



obteve entre 70,5 % à 90,2 % de rendimento de hidrólise. Esse resultado abaixo do registrado na literatura em geral, pode ser resultado do tempo em que a biomassa ficou exposta aos LIs na etapa de pré-tratamento, ocasionando uma maior agressividade à biomassa, podendo inclusive ter havido uma degradação ou alteração estrutural de parte da celulose.



**Figura 26:** Representação esquemática de penetração LI, do deslocamento de LI e com água e a recristalização de fibras de celulose. Elipses representam anéis de piranose e pentágonos representam o LI.

A Figura 26 ilustra a aplicação de LI em fibras de celulose, e a complexidade das interações possíveis. Em um primeiro momento o complexo LI-celulose, que após um período de incubação forma a celulose desordenada. Em seguida a esse período desejado de incubação e a eliminação da água, uma estrutura intermediária é formada com a expansão de fibrilas de celulose intercaladas por LI. Com a continuação da lavagem e secagem, a celulose recristaliza em celulose I ou II, dependendo da severidade do tratamento com LI.

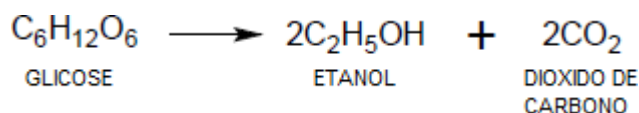
Samayam et al (2011) afirma que os rendimentos de hidrólise se mostraram significativamente melhores para as amostras de biomassa pré-tratadas que continham a celulose II, quando comparada as amostras que continham a celulose I; seu estudo mostra que o aumento do rendimento da hidrólise de biomassa pré-tratada com LIs está diretamente ligado a conversão

de celulose I para celulose II, independentemente se as amostras estão completamente secas ou não.

Deste modo, o percentual de hidrólise abaixo do esperado apresentado pela serragem de madeira, pode ser explicado pelo tempo de pré-tratamento, que foi padronizado para todas as biomassas. Com o passar do tempo pode ter ocorrido um excesso de exposição da serragem de madeira aos LIs, levando a uma recristalização e formação de celulose I, resultando em uma redução do rendimento de hidrólise para essa biomassa. Situação essa que também pode ter ocorrido com a palha de arroz, porém em melhor escala.

#### 4.4 Produção de álcool

A fermentação e posterior quantificação do álcool foram um passo adicional afim de se verificar a capacidade de produção de etanol das biomassas avaliadas. A quantificação do álcool se deu através de cromatografia gasosa. A análise de todos os cromatogramas mostra a presença de picos com tempo de retenção na região de 1,6 (Apêndice D), indicando presença etanol nas amostras. Levou-se em consideração a quantidade máxima de álcool teórico, através da equação de conversão da glicose a etanol e dióxido de carbono, apresentado pela equação na Figura 27.



**Figura 27:** Conversão estequiométrica da glicose a etanol e dióxido de carbono (equação de Gay-Lussac)

Para a quantificação do álcool obtida utilizou-se o percentual de etanol verificado nos cromatogramas, baseando-se na quantidade máxima teórica que poderia ser obtido, resumindo-se na Tabela 15 abaixo:

**Tabela 15:** Álcool obtido em cada amostra.

<b>Amostras</b>	<b>Concentração de Glicose (g/L)</b>	<b>Álcool máximo teórico (g/L)</b>	<b>Álcool Obtido (%)</b>
L1B1(1)	1,08	0,552	47,10
L1B1(2)	0,94	0,480	45,83
L1B2(1)	0,52	0,265	37,73
L1B2(2)	0,63	0,322	34,16
L1B3(1)	0,38	0,349	22,92
L1B3(2)	0,33	0,168	17,85
L2B1(1)	0,66	0,337	41,54
L2B1(2)	0,69	0,352	42,61
L2B2(1)	0,68	0,347	37,46
L2B2(2)	0,61	0,311	35,36
L2B3(1)	0,30	0,153	19,60
L2B3(2)	0,31	0,158	9,49
L3B1(1)	0,40	0,204	44,11
L3B1(2)	0,45	0,230	43,47
L3B2(1)	0,30	0,153	32,67
L3B2(2)	0,26	0,132	30,30
L3B3(1)	0,11	0,056	8,9
L3B3(2)	0,13	0,066	7,57

O rendimento de álcool obtido mostrou-se coerente com os demais procedimentos anteriores, sendo o bagaço de cana-de-açúcar a biomassa

lignocelulósica que apresentou um maior rendimento, seguida pela palha de arroz e finalmente a serragem de madeira.

Nos LIs a coerência se manteve também, sendo que o pré-tratamento das biomassas com o LI [BMIM] [Br] proporcionou mais rendimento em termos de etanol, seguido por [BMIM] [HSO<sub>4</sub>] e [BMIM] [H<sub>3</sub>CCOO].

A combinação que apresentou um melhor rendimento foi L1B1(1) em torno de 47,10% estando em concordância com seu índice de hidrolise. O rendimento médio geral foi de 32,48%, o que pode ser considerado um bom rendimento. Deve-se levar em consideração que neste trabalho fez-se o uso de biomassa lignocelulósica residual, ou seja, material que naturalmente seria apenas descartado ou queimado.

Em termos gerais as biomassas e os LIs mantiveram uma resposta uniforme durante todos os processos, demonstrando um bom padrão de resposta e coerência nos resultados.

Artigos e trabalhos científicos mostram a produção de etanol proveniente do bagaço de cana-de-açúcar em torno 34 – 36 g/L com de rendimento teórico de 92% (KRISHNAN et al., 2010); 8,11 g/L com de rendimento teórico de 91,8% (VELMURUGAN e MUTHUKUMAR; 2011); 19,0 g/l (CHENG et al., 2008); 4,7 - 5,0g/L (HERNÁNDEZ-SALAS et al., 2009) e 6,5 g/L (CHANDEL et al., 2007) dentre outros.

Em relação à palha de arroz, encontramos trabalhos com 30% de rendimento (PUNNAPAYAK e EMERT; 1986); 40 – 74% (KARIMI et al., 2006) e 29,1 g/L (BINOD et al., 2010) dentre outros.

Já em relação a produção de bioetanol gerado pela serragem de madeira, Olsson e Hahn-Hägerdal (1996), afirmam ser de 0,305 litros por quilo de serragem seca. Já Demirbas (2005), apresentou seus dados em porcentagem, sendo que o rendimento aferido pelo mesmo ficou entre 32 – 35% do total de biomassa utilizada. Kim et al., (2013) mostra produção de 16,5 g/L; 30,1 g/L e 39,9 g/L com rendimentos de 63,9%; 78,4% e 81,7% respectivamente, já Ayeni et al., (2014) obteve 7,35 g/L.

Como podemos notar a literatura diverge bastante em relação à produção de etanol nas três biomassas estudadas, com grandes diferenças de valores, dificultando uma comparação com a produção verificada neste

trabalho, além de que esses percentuais não se referem à metodologia de aplicação direta de LIs no pré-tratamento, como a usada no presente trabalho.

Apesar disto podemos afirmar que os rendimentos deste trabalho em termos de produção de etanol, de modo geral, ficaram abaixo do verificado na literatura para algumas biomassas e acima para outras, representando um real potencial de obtenção de etanol de segunda geração por esta metodologia.

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSÃO**

Os LIs estudados se mostraram viáveis para serem utilizados na etapa de pré-tratamento, pois de fato facilitaram o acesso a celulose presente na biomassa lignocelulósica, sendo que o líquido iônico Brometo de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]) apresentou o melhor resultado, com 41,9% de rendimento médio de hidrólise frente a todas as biomassas testadas.

Em relação as biomassas avaliadas, as mesmas se mostraram com potencial, por serem biomassas residuais, com baixo valor agregado e comumente material de descarte, os percentuais de hidrólise são totalmente satisfatórios e aceitáveis, sendo o bagaço de cana-de-açúcar obteve o melhor percentual médio, em torno de 68,2%.

E dentre todas as combinações possíveis entre LIs vs biomassas e suas respectivas repetições, o conjunto L1B1(1), que trata-se do LI [BMIM] [Br] e da biomassa cana-de-açúcar, resultou no melhor percentual de rendimento de hidrólise, 81,5%, por fim, em termos de rendimento de hidrólise, que é o objetivo principal do trabalho, o processo foi satisfatório, atendendo as

expectativas e em relação a produção alcoólica não se pode fazer uma fiel comparação com a literatura.

Ao final podemos afirmar que o pré-tratamento de biomassa lignocelulosicas com líquido iônico tem grande potencial de aplicação, na facilitação do acesso a celulose, devido sua característica de desconstrução da fibra, porém deve-se atentar a exposição da biomassa ao líquido iônico, pois o mesmo pode acabar atacando excessivamente a fibra e consequentemente causando uma maior degradação da fibra celulósica, aspecto esse que não é o desejável.

## ***SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS***

Por fim, a viabilidade de utilização direta de líquidos iônicos na etapa de pré-tratamento de biomassas lignocelulosica para uma melhor hidrólise é positiva, porém em um trabalho futuro é necessário abrir mais o leque de opções, tanto em tipos de líquidos iônicos quanto em tipos de biomassas, uma análise mais aprofundada de quantas reciclagens de LIs são possíveis; pois um estudo mais abrangente pode contribuir ainda mais significativamente na elucidação de alguma dúvida que tenha restado, além de que estudos futuros se fazem necessários para que consigamos aperfeiçoar ainda mais a rota tecnológica adotada neste trabalho, a fim de obtermos melhores rendimentos em produção de etanol em menores intervalos de tempo e processos menos onerosos. Este trabalho pode ser precursor de diversos outros, pois abriu inúmeras possibilidades de variações que podem ser realizadas a fim de expandir o entendimento acerca de todas as potencialidades dos LIs frente as biomassas lignocelulosicas.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABDELHALIM, B. E. A.; BRUNSTERMANN, R.; IBRAHIM, M. H. A.; WIDMANN, R.; 2012. ***Biohydrogen Production from Scenedesmus sp. Using Dark Fermentation.*** Cairo University.

ADSUL, M. G.; GHULE, J. E.; SINGH, R.; SHAIKH, H.; BASTAWDE, K. B.; OKHALE, D. V.; VARMA, A. J.; 2004. ***Polysaccharides from bagasse: applications in cellulase and xylanase production.*** Carbohydr. Polym. 57, 67–72.

ALMAZÁN, O.; GONZÁLEZ, L.; GÁLVEZ, L.; 2001. ***The sugarcane, its byproducts and coproducts.*** Sugar Cane Int. 7, 3–8.

ALVIRA, P., TOMÁS-PEJÓ, E., BALLESTEROS, M., NEGRO, M.J., 2010. ***Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review.*** Bioresour. Technol. 101, 4851–4861.

AMIRI, H.; KARIMI, K.; ZILOUEI, H.; ***Organosolv pretreatment of rice straw for efficient acetone, butanol and ethanol production.*** Bioresour. Technol., 152 (2014), pp. 450–456

AYENI, A. O.; OMOLEYE, J.; MUDLIAR, S.; HYMORE, F. K.; PANDEY, R. A.; (2014). ***Utilization of lignocellulosic waste for ethanol production: enzymatic digestibility and fermentation of pretreated shea tree sawdust.*** Korean J Chem Eng 31:1180–1186.

BAK, J. S.; KO, J. K.; HAN, Y. H.; LEE, B. C.; CHOI, I. G.; KIM, K. H.; ***Improved enzymatic hydrolysis yield of rice straw using electron beam irradiation pretreatment.*** Bioresour. Technol., 100 (2009), pp. 1285–1290

BALAT, M.; BALAT, H.; OZ, C.; 2008. ***Progress in bioethanol processing.*** Prog. Energy Combust. Sci. 34, 551–573.

BINOD, P.; SINDHU, R.; SINGHANIA, R. R.; VIKRAM, S.; DEVI, L.; NAGALAKSHMI, S.; KURIEN, N.; SUKUMARAN, R. K.; PANDEY, A.; ***Bioethanol production from rice straw: An overview.*** Bioresource Technology, 2010; 101 (13): 4767-4774.

BOTHA, T.; BLOTTNITZ, H. V.; 2006. ***A comparison of the environmental benefits of bagasse-derived electricity and fuel ethanol on a life-cycle basis.*** Energy Policy 34, 2654–2661.

BRANDT, A.; HALLETT, J. P.; LEAK, D. J.; MURPHY, R. J.; WELTON, T.; 2010. ***The effect of the ionic liquid anion in the pretreatment of pine wood chips.*** Green Chem. 12 (4), 672–679.

CARDONA, C. A.; QUINTERO, J. A.; PAZ, I. C.; ***Production of bioethanol from sugarcane bagasse: status and perspectives.*** Bioresour. Technol., 101 (13) (2010), pp. 4754–4766



CARVALHO, H. M.; ***Impactos econômicos, sociais e ambientais devido à expansão da oferta do etanol no Brasil***. Land Research Action Network. Curitiba, 2007.

CASTRO, A. M.; ***Produção e propriedades de celulases de fungos filamentosos obtida a partir da celulignina de bagaço de cana-de-açúcar (Saccharum spp.)***. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Brasil. 2006.

CERQUEIRA, D. A.; RODRIGUES, G.; MEIRELES, C. D.; 2007. ***Optimization of sugarcane bagasse cellulose acetylation***. Carbohydr. Polym. 69, 579–582.

CHANDEL, A. K.; KAPOOR, R. K.; SINGH, A.; KUHAD, R. C.; 2007. ***Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production by Candida shehatae NCIM 3501***. Bioresour. Technol. 98, 1947–1950.

CHENG, K. K.; CAI, B. Y.; ZHANG, J. A.; LING, H. Z.; ZHOU, Y. J.; GE, J. P.; XU, J. M.; 2008. ***Sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for ethanol production by acid recovery process***. Biochem. Eng. J. 38, 105–109

CUI, M.; SHEN, J.; 2012. ***Effects of acid and alkaline pretreatments on the biohydrogen production from grass by anaerobic dark fermentation***. Int. J. Hydrog. Energy 37,1120e1124.

CUI, M.; YUAN, Z.; ZHI, X.; SHEN, J.; 2009. ***Optimization of biohydrogen production from beer lees using anaerobic mixed bacteria***. Int. J. Hydrog. Energy 34, 7971e7978.

CUI, M.; YUAN, Z.; ZHI, X.; WEI, L.; SHEN, J.; 2010. ***Biohydrogen production from poplar leaves pretreated by different methods using anaerobic mixed bacteria***. Int. J. Hydrog. Energy 35 (9), 4041e4047.

DADI, A.; SCHALL, C.; VARANASI, S.; 2007. **Mitigation of cellulose recalcitrance to enzymatic hydrolysis by ionic liquid pretreatment.** Appl. Biochem. Biotechnol.137–140, 407–421.

De FRAITURE, C.; GIORDANO, M.; LIAO, Y.; 2008. **Biofuels and implications for agricultural water use: blue impacts of green energy.** Water Policy 10, 67–81.

DELFORT, B.; DURAND, I.; HILLION, G.; JAECKER-VOIROL, A.; MONTAGNE, X.; **Glycerin for new biodiesel formulation.** Oil Gas Sci Technol e Rev IFP 2008;63(4):395e404.

DEMIRBAS, A.; (2005) **Bioethanol from cellulosic materials: a renewable motor fuel from biomass.** Energy Sources, 27: 327-337.

EISBERG, N.; **Harvesting energy.** Chem Ind 2006;17:24–5.

ESCOBAR, J. C.; LORA, E. S.; VENTURINI, O. J.; YANEZ, E. E.; CASTILLO E. F.; ALMAZAN, O.; **Biofuels: environment, technology and food security.** Renew. Sustain Energy Rev 2009;13:1275e87.

FENGEL, D. e WEGENER, G.; 1984. **Wood, Chemistry, Ultrastructure, Reactions.** Walter de Gruyter, Berlin, New York.

FU, D.; MAZZA, G.; TAMAKI, Y.; 2010. **Lignin extraction from straw by ionic liquids and enzymatic hydrolysis of the cellulosic residues.** J. Agric. Food. Chem. 58 (5), 2915–2922.

FUKAYA, Y.; HAYASHI, K.; WADA, M.; OHNO, H. **Green Chem.** 2008, 10, 44–46.

GNANSOUNOU, E.; BEDNIAGUINE, D.; DAURIAT, A.; **Promoting bioethanol production through clean development mechanism: findings and lessons**

**learnt from ASIATIC project.** In: Proceedings of the 7th IAEE European energy conference, Bergen, Norway, August 28–30; 2005.

GOMEZ, L. D.; CLARE, G. S.; MCQUEEN-MASON, J.; **Sustainable liquid biofuels from biomass: the writing's on the walls.** *New Phytol* 2008;178:473–85.

GÜL, T. **“An energy-economic scenario analysis,”** PhD dissertation University of Stuttgart, Germany, 229pp, 2007.

HAMELINCK, C. N.; VAN HOOIJDONK, G.; FAAIJ A. P. C.; **Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short, middle and long-term.** *Biomass Bioenergy* 2005;28: 384e410.

HEINZE, T.; SCHWIKAL, K.; BARTHEL, S.; 2005. **Ionic liquids as reaction medium in cellulose functionalization.** *Macromol. Biosci.* 5, 520–525.

HERNÁNDEZ-SALAS, J. M.; VILLA-RAMÍREZ, M. S.; VELOZ-RENDÓN, J. S.; RIVERA-HERNÁNDEZ, K. N.; GONZÁLEZ-CÉSAR, R. A.; PLASCENCIA-ESPINOSA, M. A.; TREJO-ESTRADA, S. R.; 2009. **Comparative hydrolysis and fermentation of sugarcane and agave bagasse.** *Bioresour. Technol.* 100, 1238–1245.

HOLM, J. e LASSI, U.; 2011. **Ionic liquids in the pretreatment of lignocellulosic biomass.** In: Kokorin, A. (Ed.), *Ionic Liquids: Applications and Perspectives.* InTech, pp. 547–560.

HONGTAO, L.; KAREN, R. P.; YOU MIN, X.; JU'E, G.; **Comprehensive evaluation of effects of straw-based electricity generation: A Chinese case;** *Energy Policy*, 2010; 38:6153–6160

KARIMI, K.; EMTIAZI, G.; TAHERZADEH, M. J.; 2006. **Ethanol production from dilute-acid pretreated rice straw by simultaneous saccharification**

*and fermentation with Mucor indicus, Rhizopus oryzae, and Saccharomyces cerevisiae.* Enzyme Microbiol. Technol. 40, 138–144.

KATWAL, R. P. S. e SONI, P. L.; 2003. ***Biofuels: an opportunity for socioeconomic development and cleaner environment.*** Indian For. 129, 939-949.

KIM, S., DALE, B.E., 2004. ***Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues.*** Biomass Bioenergy 26, 361–375.

KRISHNAN, C.; DA COSTA SOUSA, L.; JIN, M.; CHANG, L.; DALE, B. E.; BALAN, V.; ***Alkali-based AFEX pretreatment for the conversion of sugarcane bagasse and cane leaf residues to ethanol.*** Biotechnology and Bioengineering, 107, (2010), pp. 441–450

LASER, M.; SCHULMAN, D.; ALLEN, S. G.; LICHWA, J.; ANTAL, M. J.; LYND, L. R.; 2002. ***A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol.*** Bioresour. Technol. 81, 33–44.

LAURSEN, W.; ***Students take a green initiative.*** Chem Eng 2006;32–4.

LEANO, E. P.; ANCENO, A. J.; BABEL, S.; 2012. ***Ultrasonic pretreatment of palm oil mill effluent: Impact on biohydrogen production, bioelectricity generation, and underlying microbial communities.*** Int. J. Hydrog. Energy 37, 12241e12249.

LEANO, E. P.; BABEL, S.; 2012. ***Effects of pretreatment methods on cassava wastewater for biohydrogen production optimization.*** Renew. Energy 39, 339e346.

LEE, D.; OWENS, V. N.; BOE, A.; JERANYAMA, P.; ***Composition of herbaceous biomass feedstocks.*** South Dakota State University Publication, SGINC1-07, Brookings, SD; June 2007.

LEE, J. M.; 2011. **Solvent properties of piperidinium ionic liquids**. Chem. Eng. J. 172 (2–3), 1066–1071

LEE, M. J.; SONG, J. H.; HWANG, S. J.; 2009. **Effects of acid pre-treatment on bio-hydrogen production and microbial communities during dark fermentation**. Bioresour. Technol. 100, 1491e1493.

LEE, S. H.; DOHERTY, T. V.; LINHARDT, R. J.; DORDICK, J. S.; 2009. **Ionic liquid-mediated selective extraction of lignin from wood leading to enhanced enzymatic cellulose hydrolysis**. Biotechnol. Bioeng. 102, 1368–1373.

LI, C.; WANG, Q.; ZHAO, Z. K.; 2008. **Acid in ionic liquid: an efficient system for hydrolysis of lignocellulose**. Green Chem. 10, 177–182.

LIN, W. R. *et al.* **Purification and characterization of acetate kinase from Clostridium thermocellum**. Tetrahedron Letters, v. 54 p. 15915-15925, 1998.

LINDFELDT, E. G. e WESTERMARK, M. O.; 2009. **Biofuel production with CCS as a strategy for creating a CO<sub>2</sub>-neutral road transport sector**. Energ. Procedia 1, 4111-4118.

LIPPKE, B.; WILSON, J.; PEREZ-GARCIA, J.; BOWYER, J.; MEIL, J.; 2004. **CORRIM: life-cycle environmental performance of renewable building materials**. Forest Products Journal 54 (6), 8e19.

LYND, L.; 1996. **Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass: technology, economics, the environment, and policy**. Annual review of Energy and the Environment 21: 403-465

MABEE, W. E.; GREGG, D. J.; SADDLER, J. N.; **Assessing the emerging biorefinery sector in Canada**. Appl Biochem Biotechnol 2005;121–124:765–78.

MACEDO, I.; 2005. ***A Energia da Cana-de-Açúcar (Sugarcane's energy: twelve studies on Brazilian sugarcane agribusiness and its sustainability)***. UNICA (São Paulo Sugarcane Agroindustry Union). São Paulo, Brazil. See also:<<http://www.Portalunica.com.br/portalunica/?Secao=referencia&SubSecao=publicações&SubSubSecao=livros>>.

MACHADO, D. S.; ***Seleção de fungos capazes de hidrolisar bagaço de cana de açúcar***. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2009.

MAIORELLA, B.L., 1985. ***Ethanol***. In: Moo-Young, M. (Ed.), ***Comprehensive Biotechnology***. Pergamon Press, Oxford, pp. 861–914.

MAKI-ARVELA, P.; ANUGWOM, I.; VIRTANEN, P.; SJOHOLM, R.; MIKKOLA, J. P.; 2010. ***Dissolution of lignocellulosic materials and its constituents using ionic liquids-a review***. Ind. Crops Prod. 32 (3), 175–201.

MARTÍN, C.; KLINKE, H. B.; THOMSEN, A. B.; 2007. ***Wet oxidation as a pretreatment method for enhancing the enzymatic convertibility of sugarcane bagasse***. Enzyme Microb. Technol. 40, 426–432.

MARTÍNEZ, E. A.; SILVA, S. S.; SILVA, J. B. A.; SOLENZAL, A. I. N.; FELIPE, M. G. A.; 2003. ***The influence of pH and dilution rate on continuous production of xylitol from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate by C. Guilliermondii***. Process Biochem. 38, 1677–1683.

MILLER, S. e HESTER, R.; ***Concentrated acid conversion of pine sawdust to sugars. Part II; high temperature batch reactor kinetics of pretreated pine sawdust***. Chem. Eng. Commun.,194 (2007), pp. 103–116

MOSIER, N. et al. ***Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass***. Bioresource Technology, v. 96, p. 673-686, 2005.

MOSIER, N., WYMAN, C., DALE, B., ELANDER, R., LEE, Y.Y., HOLTZAPPLE, M., LADISCH, M., 2005. **Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass.** Bioresour. Tech. 96, 673–686.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C.; 2004. **Optimal experimental condition for hemicellulosic hydrolyzate treatment with activated charcoal for xylitol production.** Biotechnol. Prog. 20, 134–139.

NEUPANE, B.; HALOG, A.; DHUNGEL, S.; 2011. **Attributional life cycle assessment of woodchips for bioethanol production.** Journal of Cleaner Production 19 (6e7), 733e741. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2010.12.002>.

NGUYEN, T. A. D.; KIM, K. R.; NGUYEN, M. T.; KIM, M. S.; KIM, D.; SIM, S. J.; 2010a. **Enhancement of fermentative hydrogen production from green algal biomass of *Thermotoga neapolitana* by various pretreatment methods.** Int. J. Hydrog. Energy 35, 13035e13040.

OLIVEIRA, A. P. N. de.; MONTEDO, O. R. K.; JUNKES J. A.; DELLA, V. P.; HOTZA, D.; **Obtenção de sílica amorfa a partir da casca de arroz.** Patente: PI 0504966-0 A, Data de Publicação: 07/08/2007.

OLSSON, L.; HAHN-HÄGERDAL, B.; 1996. **Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production.** Enzyme Microb. Technol. 18, 312–331.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V. T.; 2000. **Biotechnological potential of agro-industrial residues. I. Sugarcane bagasse.** Bioresour. Technol. 74 (2), 69–80.

PANDEY, A.; SOCCOL, C.; SOCCOL, V. **Biotechnological potential of agro-industrial residues: Sugarcane bagasse.** Bioresource Technology, v. 74, n. 2, p. 69, 2000.

PATTRA, S.; SANGYOKA, S.; BOONMEE, M.; REUNGSANG, A.; 2008. **Biohydrogen production from the fermentation of sugarcane bagasse**

**hydrolysate by *Clostridium butyricum***. Int. J. Hydrog. Energy 33, 5256e5265.

PAULY, M.; KEEGSTRA, K.; **Cell-wall carbohydrates and their modification as a resource for biofuels**. Plant J 2008;54:559–68.

PENG, F.; REN, J. L.; XU, F.; BIAN, J.; PENG, P.; SUN, R. C.; 2009. **Comparative study of hemicelluloses obtained by graded ethanol precipitation from sugarcane bagasse**. J. Agric. Food Chem.. doi:10.1021/jf900986b.

QIU, Z. H. e AITA, G. M.; **Pretreatment of energy cane bagasse with recycled ionic liquid for enzymatic hydrolysis**. Bioresource Technology, 129 (2013), pp. 532–537

QUINTERO, J. A.; MONTOYA, M. I.; SÁNCHEZ, O. J.; GIRALDO, O. H.; CARDONA, C. A.; 2008. **Fuel ethanol production from sugarcane and corn: comparative analysis for a Colombian case**. Energy 33, 385–399.

RABELO, S. C.; MACIEL FILHO, R.; COSTA, A. C.; **A comparison between lime and alkaline hydrogen peroxide pretreatments of sugarcane bagasse for ethanol production**. Applied Biochemistry and Biotechnology, v. 144, p. 87-100, 2009.

RAMAKRISHNAN, S.; COLLIER, J.; OYETUNJI, R.; STUTTS, B.; BURNETT, R.; **Enzymatic hydrolysis of cellulose dissolved in N-methyl morpholine oxide/water solutions**. Bioresour Technol 2010;101:4965–70.

RAMJEAWON, T.; 2008. **Life cycle assessment of electricity generation from bagasse in Mauritius**. J. Cleaner Prod. 16, 1727–1734.

ROGERS, R. D. e SEDDON, K.; 2003. **Ionic liquids–solvents for future**. Science 302 (31), 792–793.



ROGNER, H. H.; **Energy resources**. In: GOLDEMBERG, J.; BAKER, J. W.; HATIB, H.; BA-N'DAW, S.; POPESCU, A.; VIRAY, F. L.; editors. **World Energy Assessment; energy and the challenge of sustainability**. New York NY USA: United Nations Development Programme UNDP; 2000. p. 135–71 (Chapter 5).

S. M. (Ed.) **Anatomia Vegetal**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006. p. 109-119.

SAMAYAM, I. P.; HANSON, B. L.; LANGAN, P.; SCHALL, C. A.; **Ionic-liquid induced changes in cellulose structure associated with enhanced biomass hydrolysis**. *Biomacromolecules* 2011, **12**(8):3091-3098.

SCATENA, V. L.; SCREMIN-DIAS, E. **Parênquima, colênquima e esclerênquima**. In: APPEZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLOGUERREIRO,

SEMELSBERGER, T. A.; BORUP, R. L.; GREENE, H. L.; **Dimethyl ether (DME) as an alternative fuel**, *Journal of Power Sources*, Volume 156, Issue 2, Junho 2006, Páginas 497-511, ISSN 0378-7753.

SIDIRAS, D.; **Simulation of acid hydrolysis of lignocellulosic residues to fermentable sugar for bioethanol production**. AIP Conference Proceedings, 2012, Vol.1504, pp.1091-1094.

SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F. X., **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 6ª. ed. LTC Livros Técnicos e Científicos, Rio de Janeiro, 2000.

SIMBOLOTTI, G. **“Production of Liquid Biofuels,”** IEA-ETSAP, 2012.

SIMPSON-HOLLEY, M.; HIGSON, A.; EVANS, G.; **Bring on the biorefinery**. *Chem Eng* 2007;46–9.

SINGH, A.; SMYTH, B. M.; MURPHY, J. D.; ***A biofuel strategy for Ireland with an emphasis on production of biomethane and minimization of land-take.*** Renew Sustain Energy Rev 2010;14(1):277e88.

SINGH, L.; WAHID, Z. A.; 2015. ***Methods for enhancing bio-hydrogen production from biological process: a review.*** J. Ind. Eng. Chem. 21, 70e80.  
SOKHANSANJ, S.; MANI, S.; BI, X.; ZAINI, P.; TABIL, L. G.; ***Binderless pelletization of biomass;*** ASAE annual International Meeting, Tampa Convention Centre, Tampa, Florida 2005; July 17-20, Paper Number 056061, 2950 Niles Road, St. Joseph, MI 49085-9659 USA.

SOWMIAH, S.; SRINIVASADESIKAN, V.; TSENG, M. C.; CHU, Y. H.; ***Molecules***, 2009, 14, 3780-3813.

STEGMANN, V.; MASSONNE, K.; MAASE, M.; UERDINGEN, E.; LUTZ, M.; HERMANUTZ, F.; GAEHR, F.; 2008. ***Solvent system based on molten ionic liquids, its production and use for producing regenerated carbohydrates.*** US 2008/0269477 A1.

SUN, N.; RAHMAN, M.; QIN, Y.; MAXIM, M. L.; RODRIGUEZ, H.; ROGERS, R. D.; 2009. ***Complete dissolution and partial delignification of wood in the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate.*** Green Chem. 11, 646–655.

SZCZODRAK, J.; FIEDUREK, J.; ***Technology for conversion of lignocellulosic biomass to ethanol.*** Biomass and Bioenergy, v. 10, p. 367-375, 1996.

KIM, T. H.; CHOI, C. H.; OH, K. K.; ***Bioconversion of sawdust into ethanol using dilute sulfuric acid-assisted continuous twin screw-driven reactor pretreatment and fed-batch simultaneous saccharification and fermentation.*** Bioresour. Technol., 130 (2013),

TAHERZADEH, M. J.; ***Ethanol from lignocellulose: Physiological effects of inhibitors and fermentation strategies (PhD thesis).*** Chalmers University of

Technology, Department of Chemical Reaction Engineering. Göteborg Sweden. 1999. 56pp.

The Regents of the University of California “**SUSTAINABLE TRANSPORTATION ENERGY PATHWAYS - A Research Summary for Decision Makers**”, Institute of Transportation Studies - University of California, USA, California, 25 pp, 2011.

THOMAS, H. KSSB. ***Ionic liquids as reaction medium in cellulose functionalization.*** Macromol Biosci 2005;5:520e5.

TOMAS-PEJO, E.; OLIVA, J. M.; BALLESTEROS, M.; ***Realistic approach for full-scale bioethanol production from lignocellulose: a review.*** Journal of Scientific & Industrial Research, 2008; **67**: 874–884.

US DOE. Advanced bioethanol technology—website: <http://www.ott.doe.gov/biofuels/http://www.ott.doe.gov/biofuels/>. US Department of Energy, Office of Energy Efficiency and Renewable Energy, Office of Transportation Technologies. Washington DC USA. 2003.

VELMURUGAN, R. e MUTHUKUMAR, K.; ***Utilization of sugarcane bagasse for bioethanol production: sono assisted acid hydrolysis approach.*** Bioresource Technology, 102 (2011), pp. 7119–7123

VIELL, J. H.; WULFHORST, T.; SCHMIDT, U.; ***Commandeur, R. Fischer, A. Spiess, W. Marquardt. An efficient process for the saccharification of wood chips by combined ionic liquid pretreatment and enzymatic hydrolysis.*** Bioresour. Technol., 146 (2013), pp. 144–151

WANG, C. C.; CHANG, C. W.; CHU, C. P.; LEE, D. J.; CHANG, B. V.; 2003a. ***Sequential production of hydrogen and methane from wastewater sludge using anaerobic fermentation.*** J. Chin. Inst. Chem. Eng. 34 (6), 683e687.

WANG, C. C.; CHANG, C. W.; CHU, C. P.; LEE, D. J.; CHANG, B. V.; LIAO, C. S.; 2003b. ***Producing hydrogen form wastewater sludge by Clostridium bifermentans.*** J. Biotechnol. 102, 83e92.

WANG, L.; HANNA, M. A.; WELLER, C. L.; JONES, D. D.; ***Technical and economical analyses of combined heat and power generation from distillers grains and corn stover in ethanol plants.*** Energy Convers Manage 2009;50:1704–13.

WONG, Y. M.; WU, T. Y.; JUAN, J. C.; 2014A. ***A review of sustainable hydrogen production using seed sludge via dark fermentation.*** Renew. Sustain. Energy Rev. 34, 471e482.

WU, J.; EIN-MOZAFFARI, F.; UPRETI, S.; 2013a. ***Effect of ozone pretreatment on hydrogen production from barley straw.*** Int. J. Hydrog. Energy 144, 344e349.

WU, J.; UPRETI, S.; EIN-MOZAFFARI, F.; 2013b. ***Ozone pretreatment of wheat straw for enhanced biohydrogen production.*** Int. J. Hydrog. Energy 38, 10270e10276.

YANG, F.; LI, L.; LI, Q.; TAN, W.; LIU, W.; XIAN, M.; 2010. ***Enhancement of enzymatic in situ saccharification of cellulose in aqueous-ionic liquid media by ultrasonic intensification.*** Carbohydr. Polym. 81 (2), 311–316.

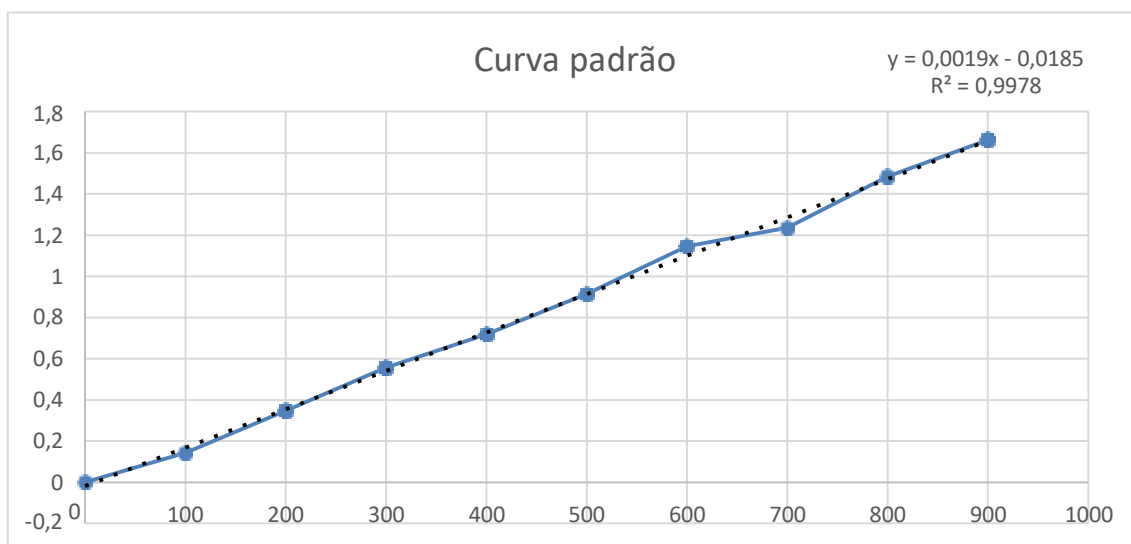
YAO, R.; QI, B.; DENG, S.; LIU, N.; PENG, S.; CUI, Q.; ***Use of surfactants in enzymatic hydrolysis of rice straw and lactic acid production from rice straw by simultaneous saccharification and fermentation.*** BioResources 2007;2:389–98.

ZAKRZEWSKA, M. E.; BOGEL-ŁUKASIK, E.; BOGEL-ŁUKASIK, R.; 2010. ***Solubility of carbohydrates in ionic liquids.*** Energy Fuels 24 (2), 737–745.

ZHU LY, ZONG MH, WU H. ***Efficient lipid production with T. fermentas and its use for biodiesel preparation.*** Bioresour Technol 2008;99:7881e5.

ZHU, Z.; ZHU, M.; WU, Z. ***Pretreatment of sugarcane bagasse with NH<sub>4</sub>OH-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and ionic liquid for efficient hydrolysis and bioethanol production.*** *Bioresource Technology*, 119, (2012), pp. 199-207.

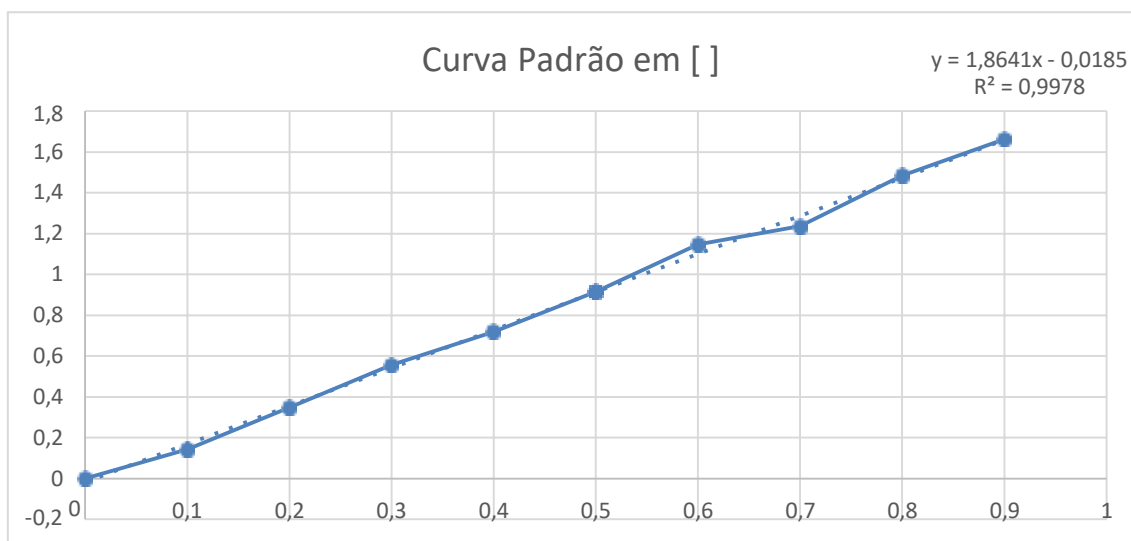
## APÊNDICE A – CURVA PADRÃO DE GLICOSE



## APÊNDICE B – BIOMASSA RECUPERADA APÓS PRÉ-TRATAMENTO

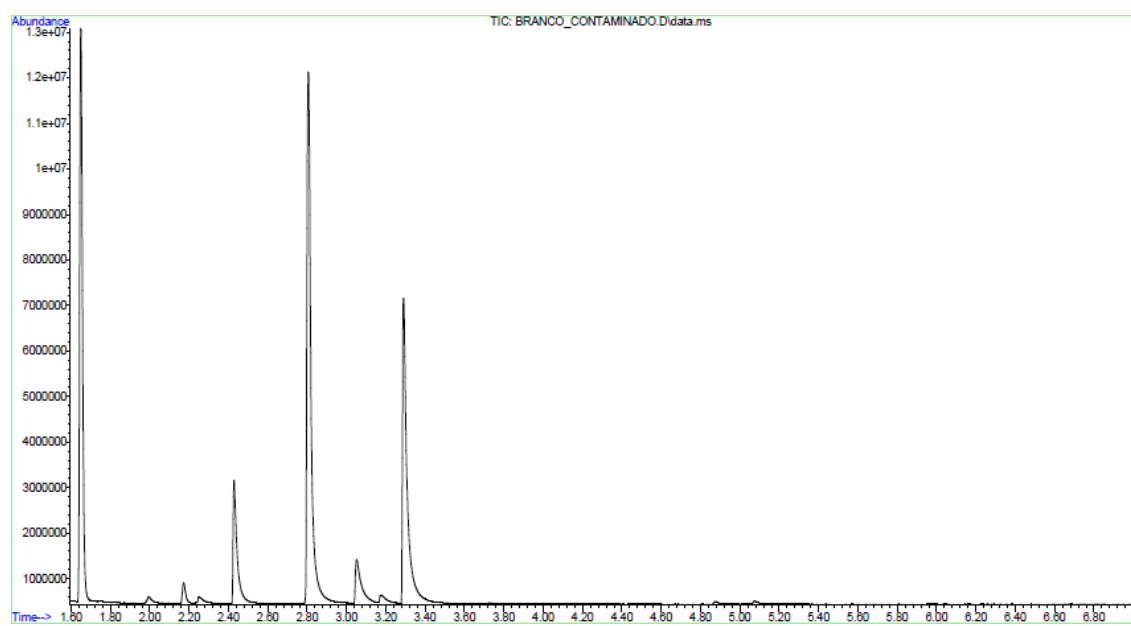
L1		L2		L3	
Combinações	Quantidade (g)	Combinações	Quantidade (g)	Combinações	Quantidade (g)
L1B1(1)	0,0812	L2B1(1)	0,095	L3B1(1)	0,03
L1B1(2)	0,0724	L2B1(2)	0,097	L3B1(2)	0,0334
L1B2(1)	0,0833	L2B2(1)	0,0948	L3B2(1)	0,0418
L1B2(2)	0,0898	L2B2(2)	0,098	L3B2(2)	0,0444
L1B3(1)	0,0845	L2B3(1)	0,1034	L3B3(1)	0,0504
L1B3(2)	0,0933	L2B3(2)	0,1007	L3B3(2)	0,0594

### APÊNDICE C – CURVA PADRÃO DE GLICOSE EM TERMO DE CONCENTRAÇÃO

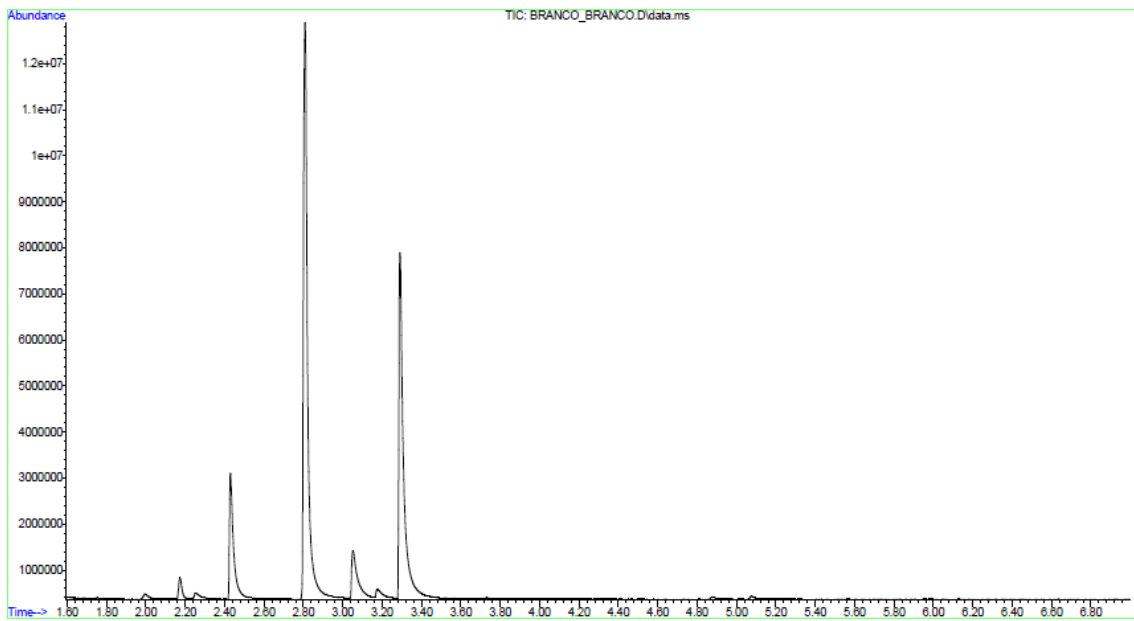




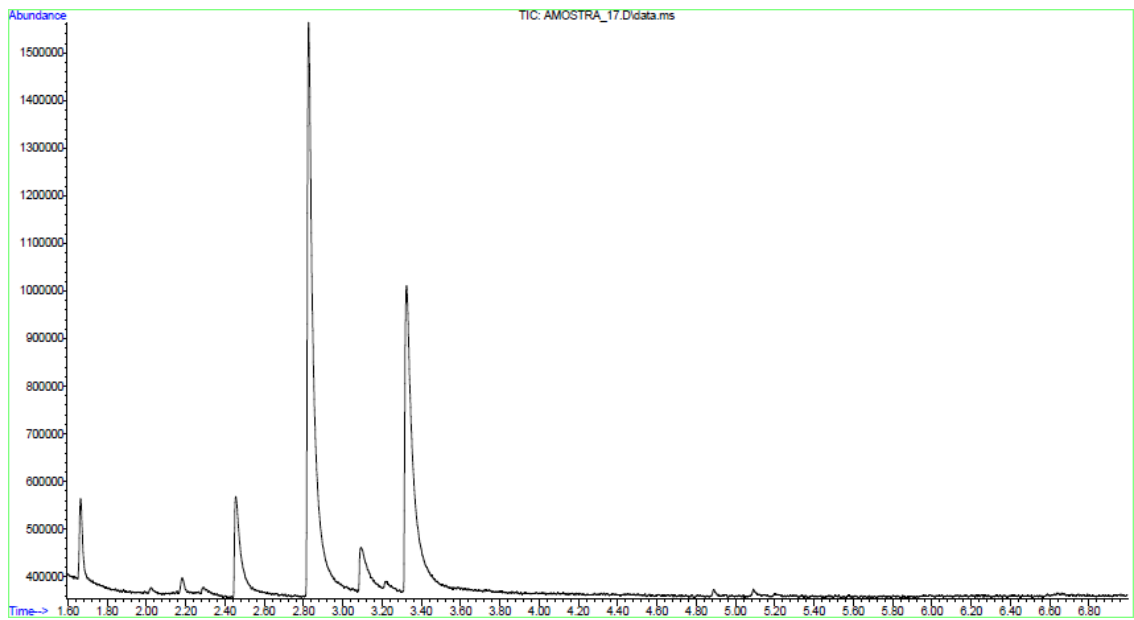
## APÊNDICE D – CROMATOGRAMAS DAS AMOSTRAS



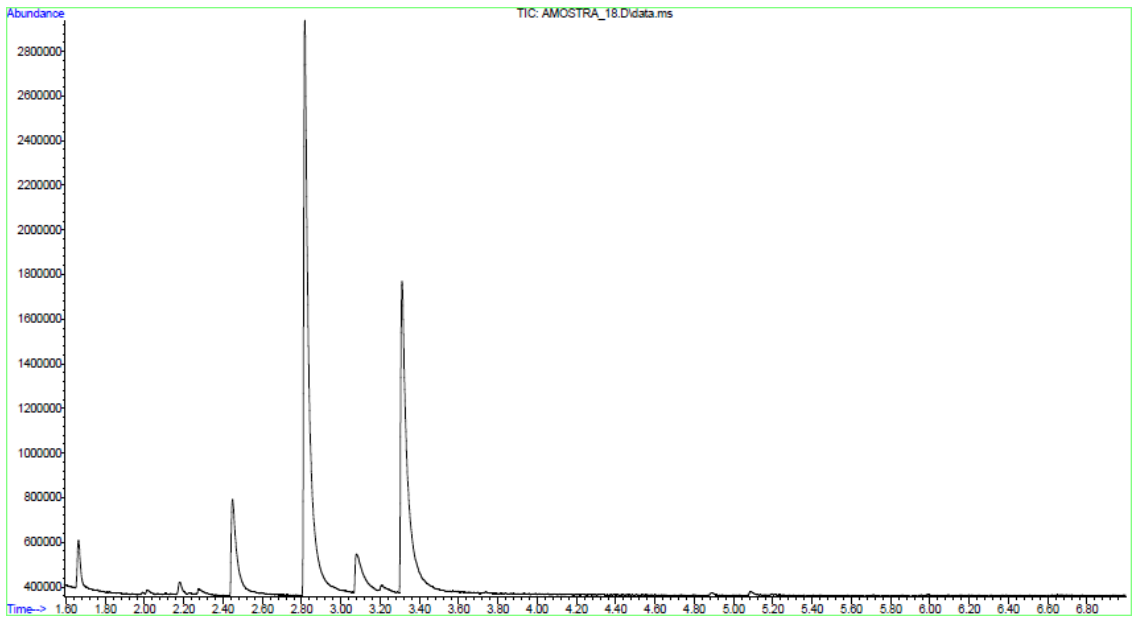
Cromatograma referente à amostra BC



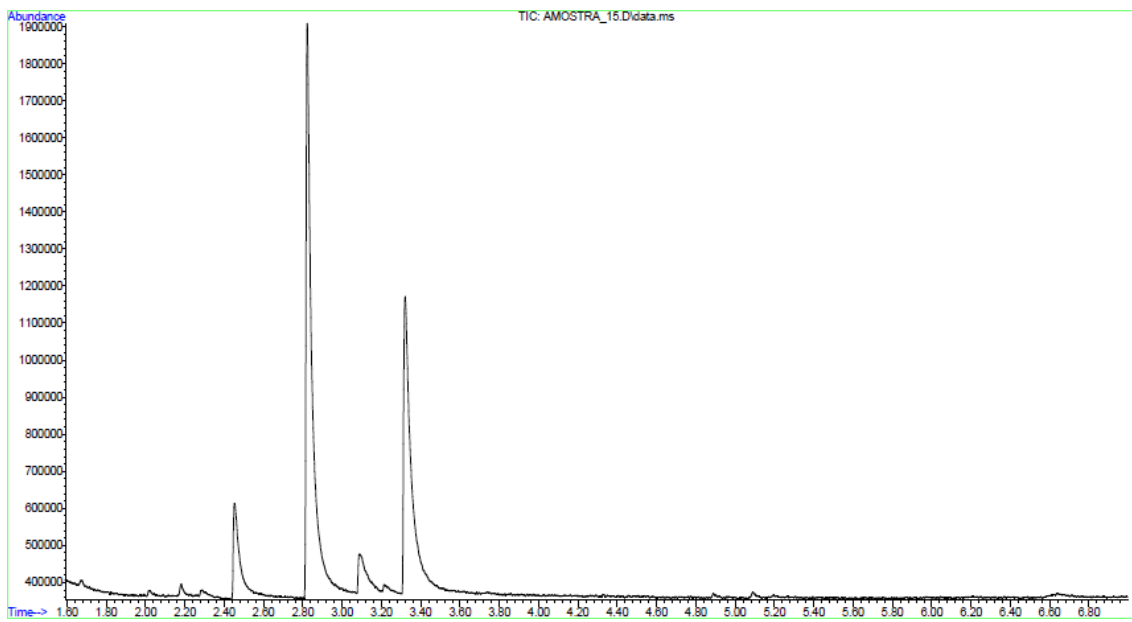
**Cromatograma referente à amostra BB**



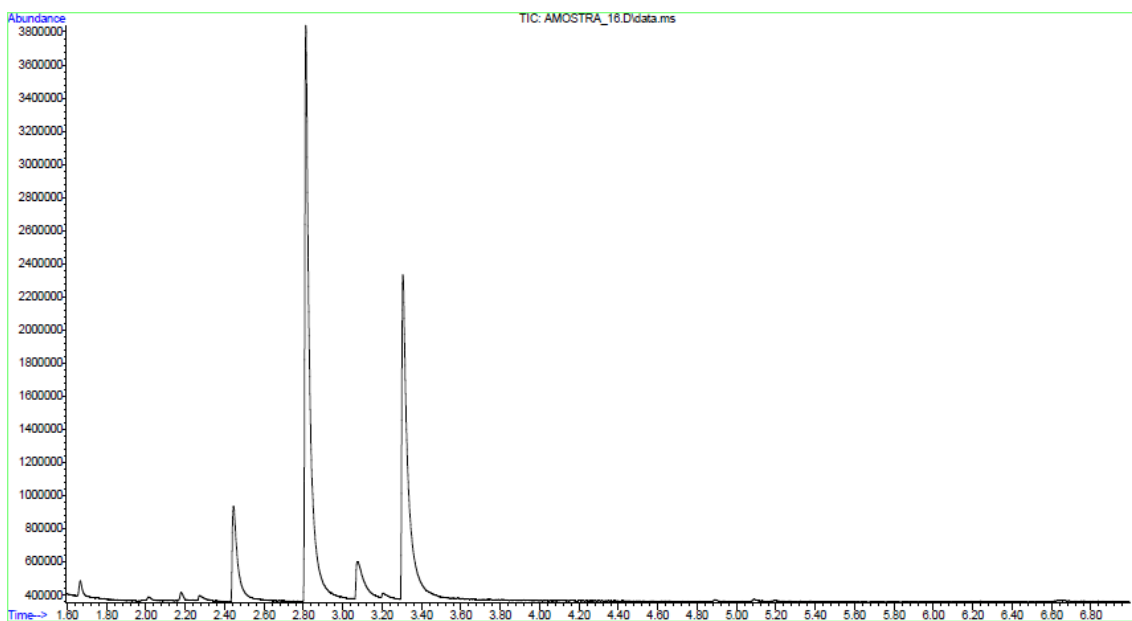
**Cromatograma referente à amostra B1L1(1)**



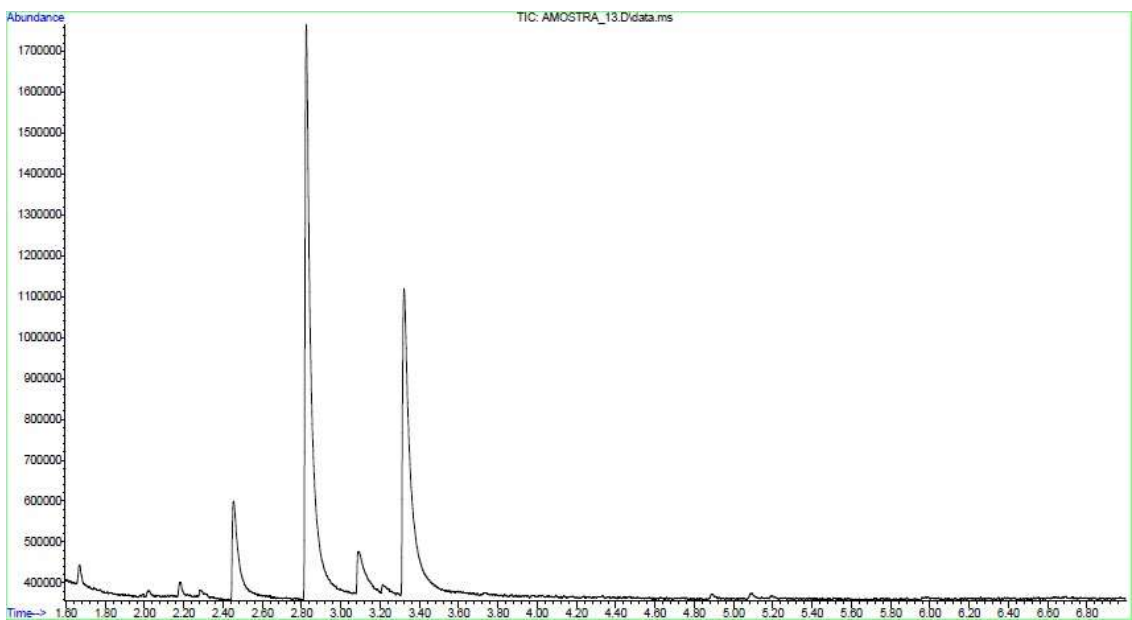
**Cromatograma referente à amostra B1L1(2)**



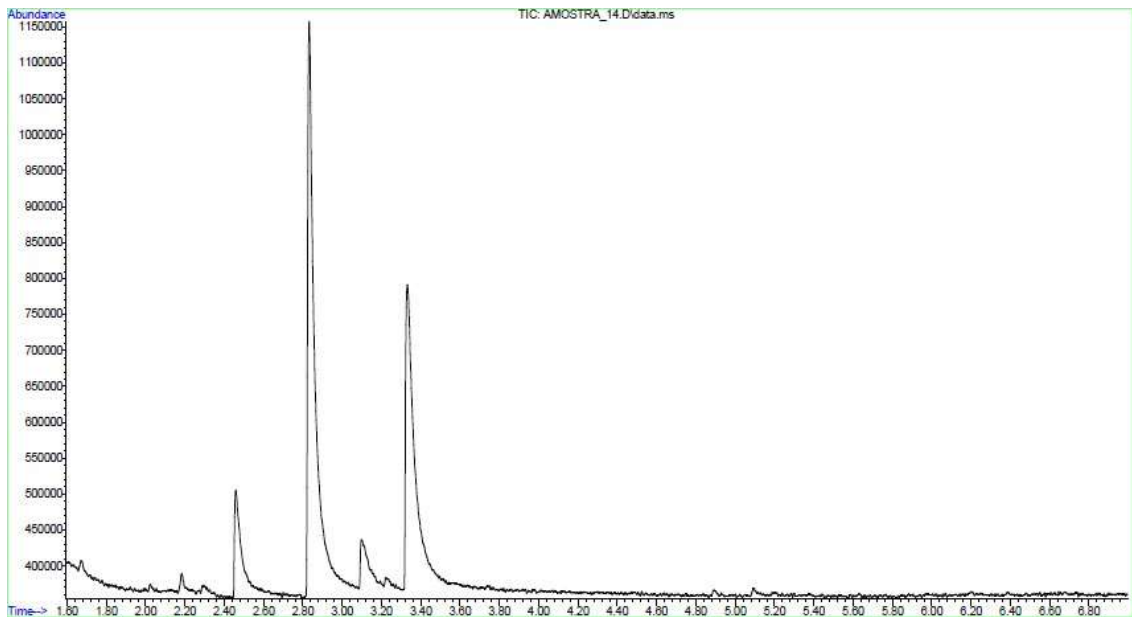
**Cromatograma referente à amostra B2L1(1)**



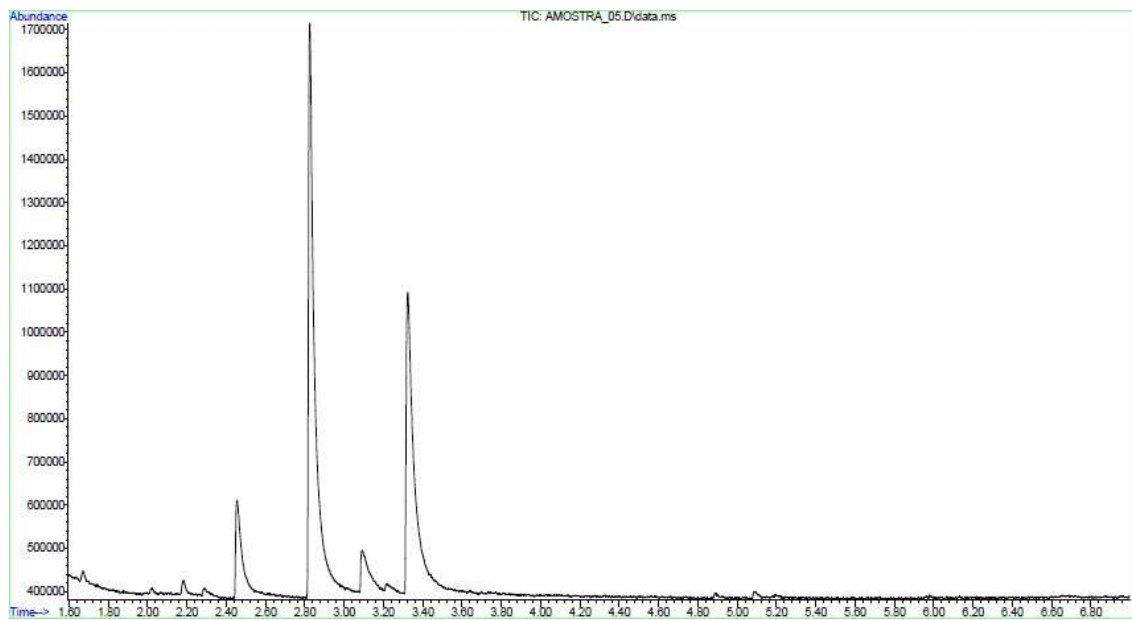
**Cromatograma referente à amostra B2L1(2)**



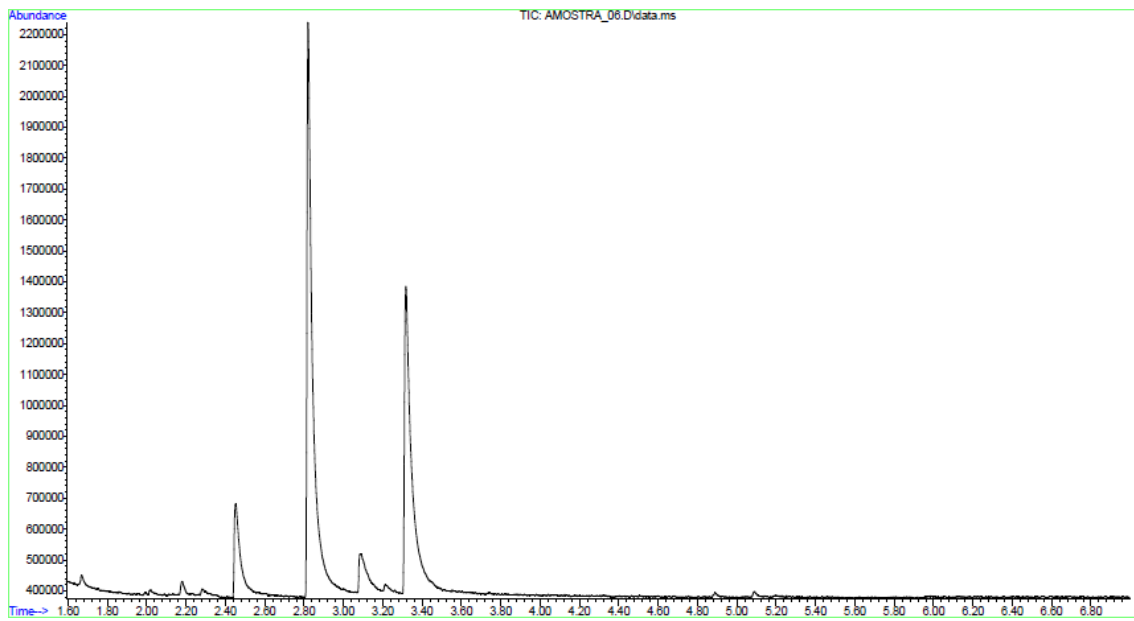
**Cromatograma referente à amostra B3L1(1)**



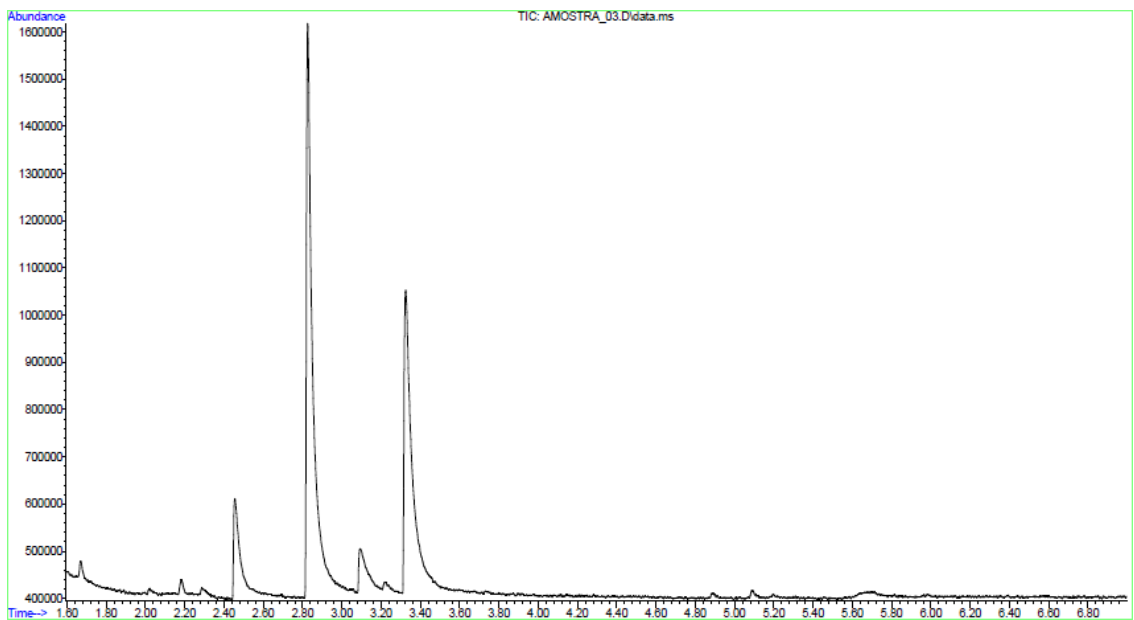
**Cromatograma referente à amostra B3L1(2)**



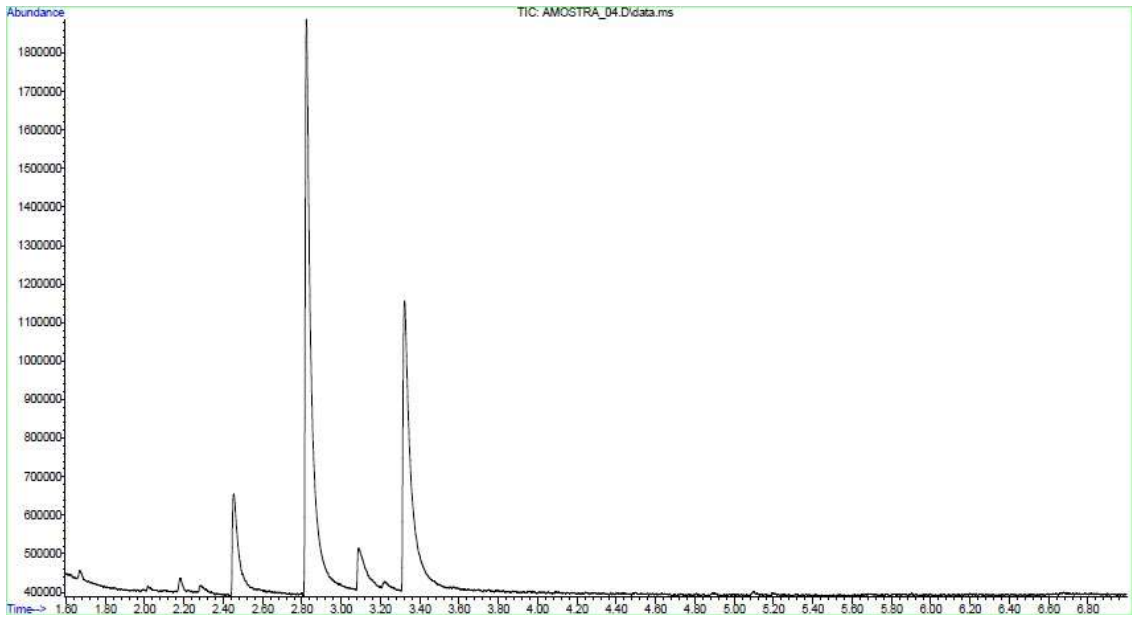
**Cromatograma referente à amostra B1L2(1)**



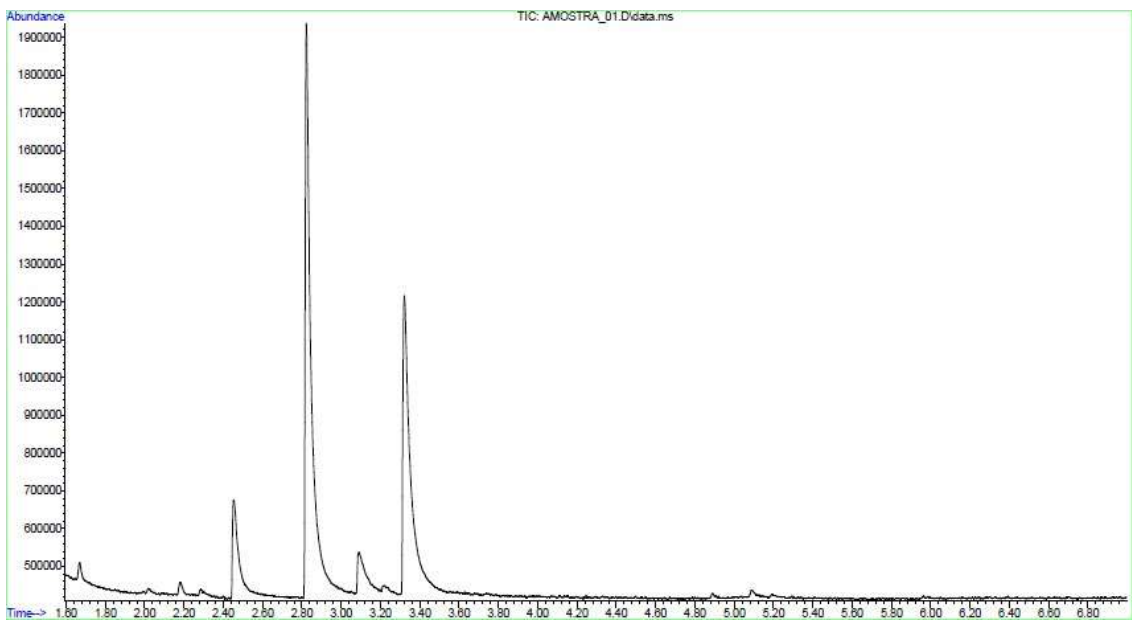
**Cromatograma referente à amostra B1L2(2)**



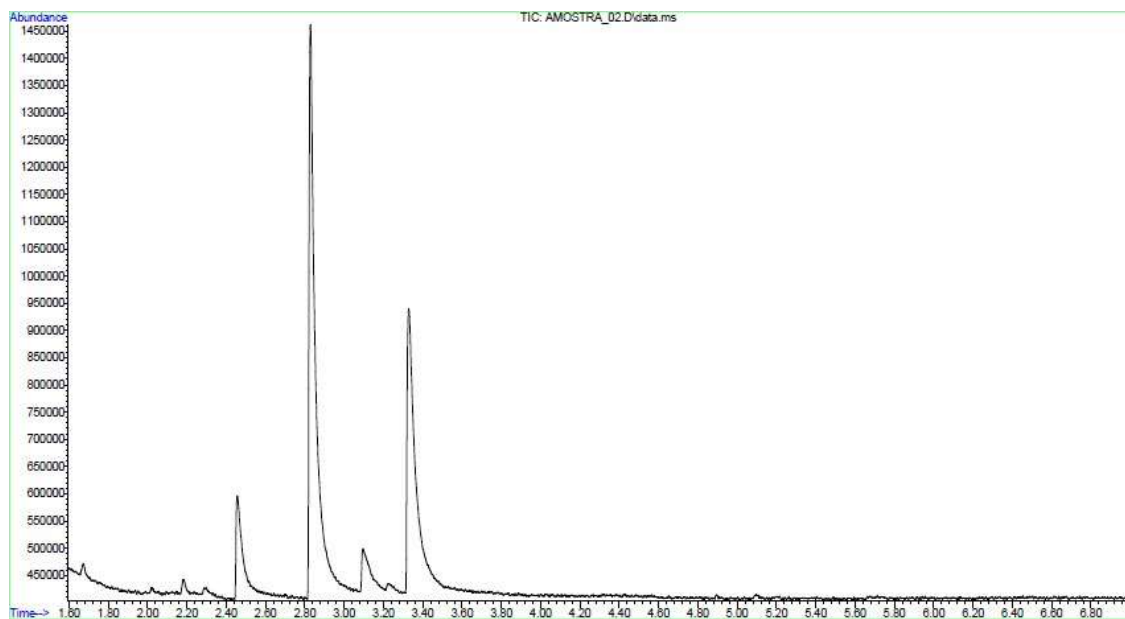
**Cromatograma referente à amostra B2L2(1)**



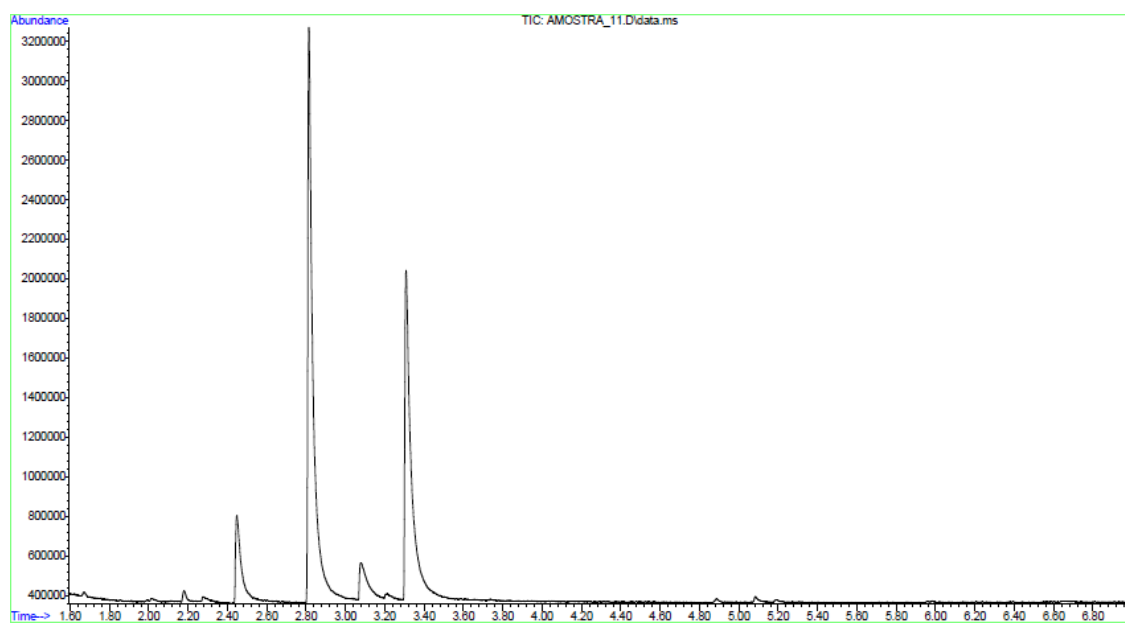
**Cromatograma referente à amostra B2L2(2)**



**Cromatograma referente à amostra B3L2(1)**

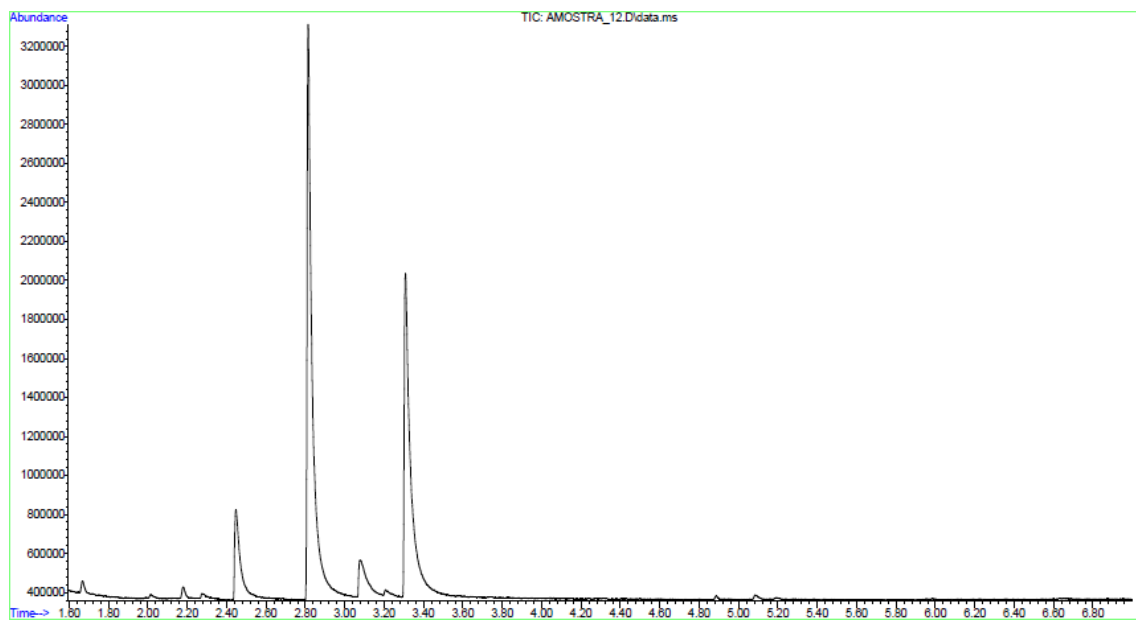


**Cromatograma referente à amostra B3L2(2)**

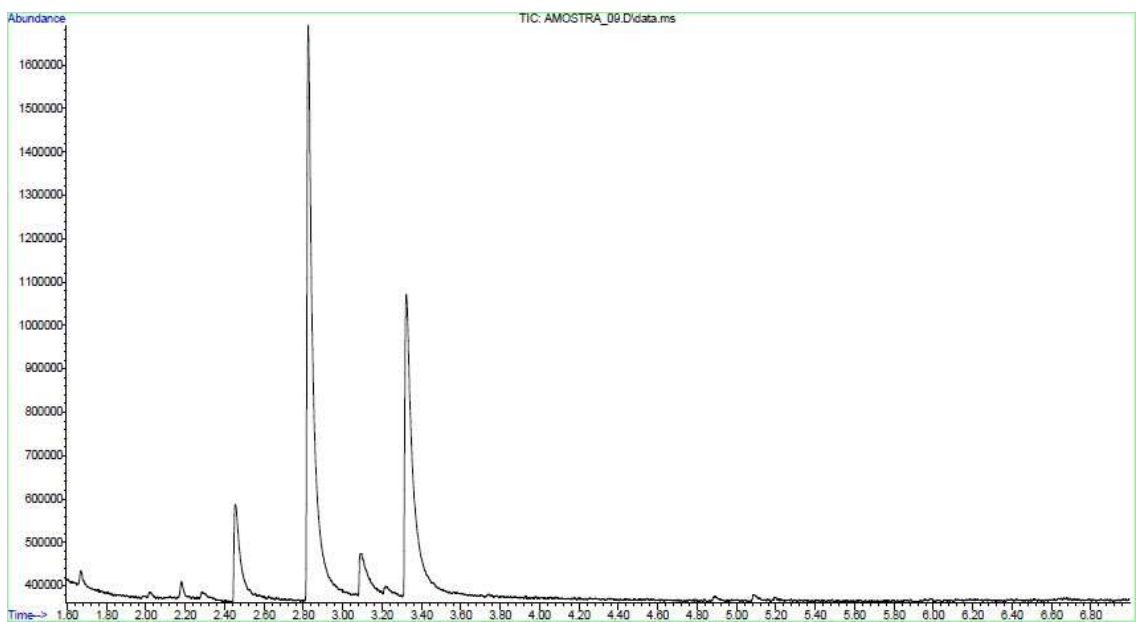


**Cromatograma referente à amostra B1L3(1)**

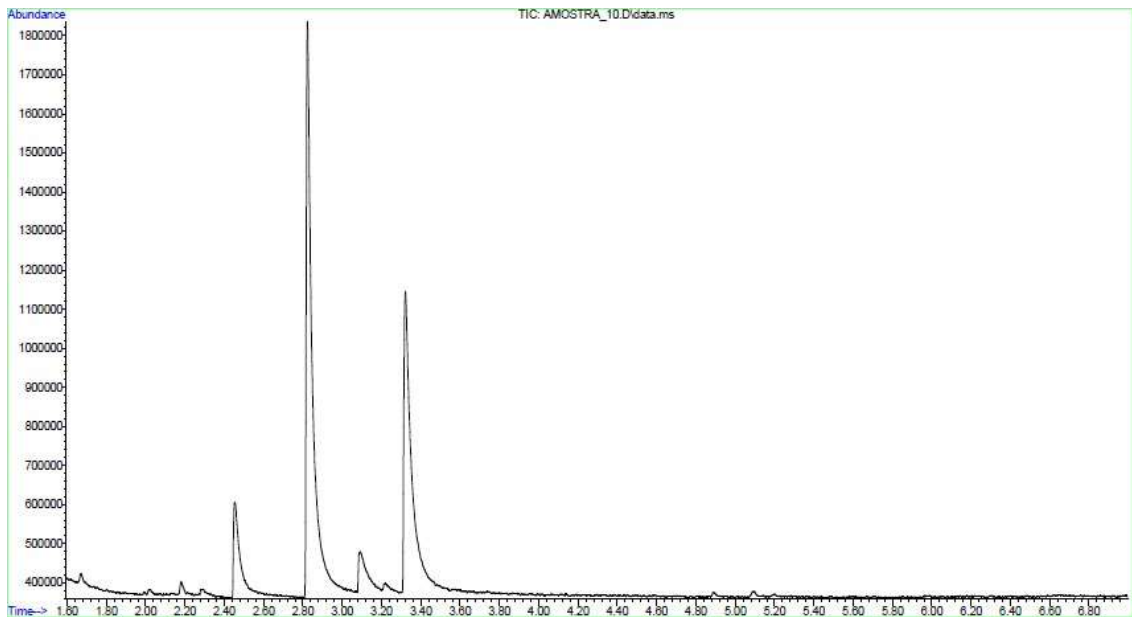




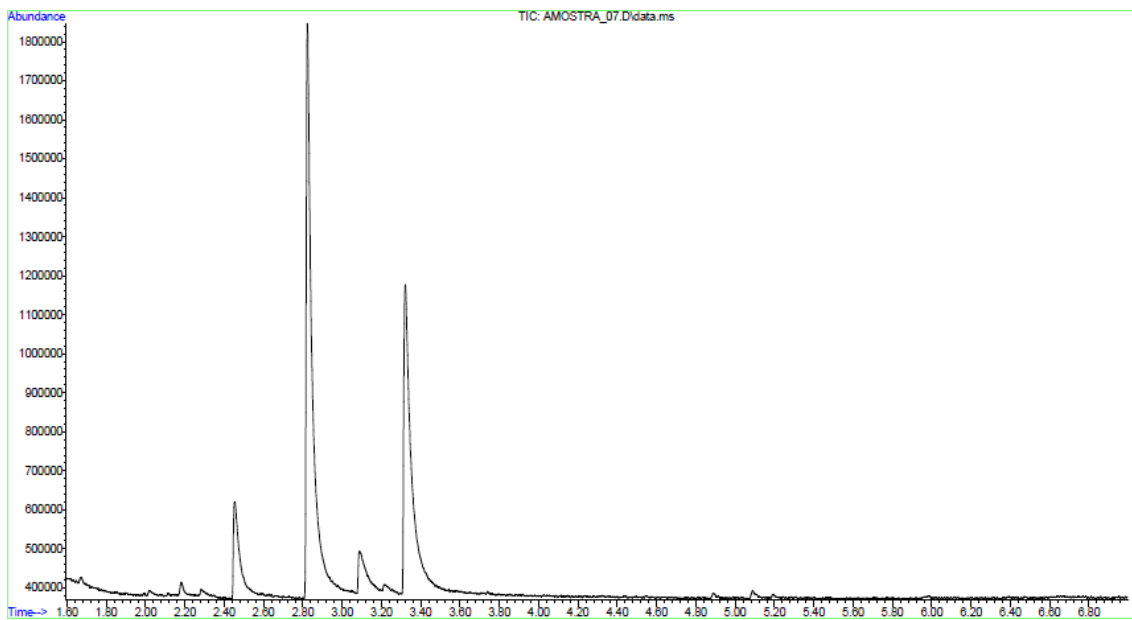
**Cromatograma referente à amostra B1L3(2)**



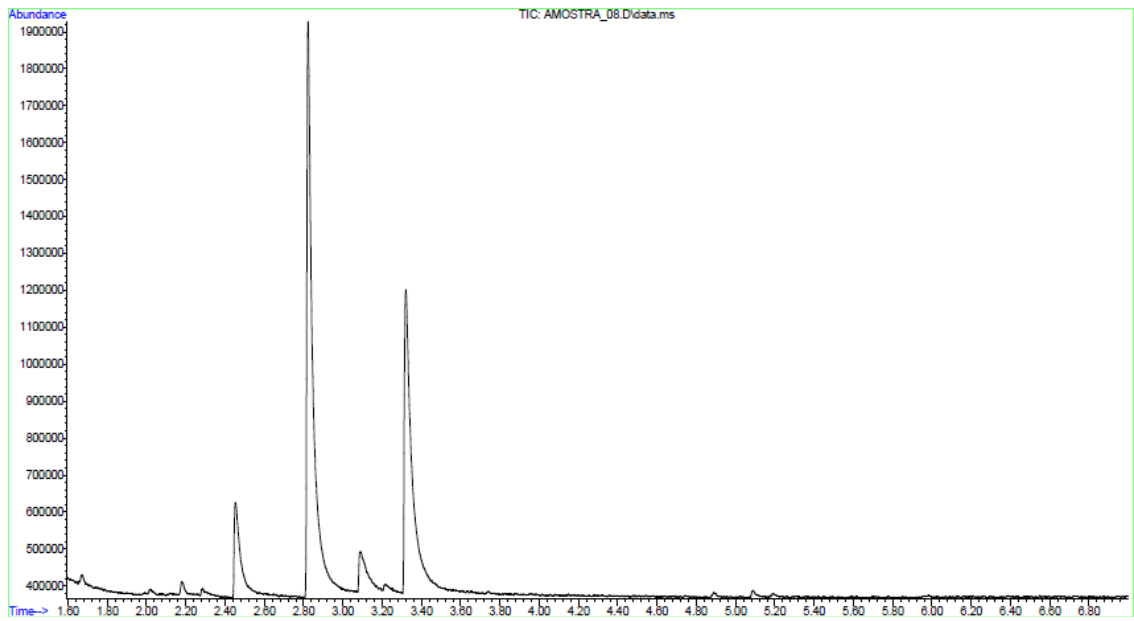
**Cromatograma referente à amostra B2L3(1)**



**Cromatograma referente à amostra B2L3(2)**



**Cromatograma referente à amostra B3L3(1)**



**Cromatograma referente à amostra B3L3(2)**