

UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA
DO ALTO URUGUAI E DAS MISSÕES
URI – CAMPUS DE ERECHIM
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

TÁSSIO BENAZZI

Avaliação do pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana usando
CO₂ supercrítico visando à obtenção de açúcares fermentescíveis

Erechim, RS, Brasil

2012.

TÁSSIO BENAZZI

Avaliação do pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana usando CO₂ supercrítico visando à obtenção de açúcares fermentescíveis

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Linha de Pesquisa: Processos Tecnológicos e Biotecnológicos da Universidade URI – Campus de Erechim (URI, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Erechim

2012

FOLHA DE APROVAÇÃO

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,

aprova a Dissertação de Mestrado

Avaliação do pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana usando CO₂ supercrítico visando à obtenção de açúcares fermentescíveis elaborado por

Tássio Benazzi

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Engenharia de Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. Marcio Antonio Mazutti
UFSM, Santa Maria – RS – Brasil
(Orientador)

Prof. Dr. José Vladimir de Oliveira
UFSC, Florianópolis, SC – Brasil
(Orientador)

Prof(a). Dr(a). Clarissa Dalla Rosa
URI, Erechim, RS – Brasil

Prof. Dr. Wagner Luiz Priamo
IFRS, Sertão, RS – Brasil

Erechim, 02 de março de 2012.

NESTA PÁGINA DEVERÁ SER INCLUÍDA A FICHA CATALOGRÁFICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO. ESTA FICHA SERÁ ELABORADA DE ACORDO COM OS PADRÕES DEFINIDOS PELO SETOR DE PROCESSOS TÉCNICOS DA BIBLIOTECA DA URI – CAMPUS DE ERECHIM.

AGRADECIMENTOS

- Há tantos a agradecer, por tanto se dedicarem a mim, não somente por terem ensinado, mas por terem me feito aprender. Obrigado, devo tudo a você **Prof. Dr. Marcio Antônio Mazutti** e ao *Prof. Dr. Jose Vladimir de Oliveira*. Aos que dedicarei, terão meu eterno agradecimento.

- A Esta Universidade, seu corpo de Direção e Administrativo, que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior, eivado pela mais acendrada confiança no mérito e ética aqui presentes. O Muito Obrigado, é mísero por tamanha competência.

- A **Minha Família**, Meus Pais: **Rosmari de Lourdes Benazzi e Luiz Benazzi** e aos Meus Irmãos: **Toni Luiz Benazzi e Táís Benazzi**; nos momentos de minha ausência dedicados ao estudo, sempre fizeram entender que o futuro, é feito apartir da constante dedicação no presente.

- Aos meus amigos e amigas, minha segunda família, são eles o pessoal dos laboratórios da graduação, mestrado e doutorado, que fortaleceram os laços da igualdade, num ambiente fraterno e respeitoso!!! Jamais lhes esquecerei.

- Por final, à aquele, que me permitiu tudo isso, ao longo de toda a minha vida, e, não somente nestes anos como mestrando, à você meu DEUS, obrigado, reconheço cadavez mais em todos os meus momentos, que você é o maior mestre, que uma pessoa pode conhecer e reconhecer.

Segundo Padre Bolzan:

**“Não somos os melhores, mas
também não somos os piores...”**

RESUMO

Dissertação de Mestrado

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos

UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E DAS MISSÕES
CAMPUS DE ERECHIM

Avaliação do pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana usando CO₂ supercrítico visando à obtenção de açúcares fermentescíveis

O Brasil é reconhecido mundialmente como o maior produtor de cana-de-açúcar. No entanto, apenas uma parte da biomassa produzida é usada para a produção de bioenergia, onde um terço da planta é usada para a produção de açúcar/álcool, um terço é bagaço e o restante é deixado no campo. O bagaço de cana apresenta uma grande heterogeneidade morfológica e é composto por 19-24% de lignina, 27-32% de hemicelulose, 32-44% de celulose e 4,5-9,0% de cinzas. As refinarias geram aproximadamente 270-280 kg de bagaço (com 50% de umidade) por tonelada de cana, o que implica em uma produção anual estimada em 186 milhões de toneladas. Parte deste bagaço poderia ser utilizada para a produção de etanol de segunda geração, o que implicaria no desenvolvimento de um processo/técnica para o pré-tratamento da biomassa. Nesse sentido, o objetivo desta proposta foi a avaliação do pré-tratamento e a hidrólise enzimática do bagaço de cana usando CO₂ supercrítico combinado com a tecnologia de ultra-som. Com relação ao pré-tratamento usando CO₂ supercrítico, foi verificado um aumento na concentração de açúcares redutores total (ART) de 0.29 a 0.40 g por grama de bagaço seco. Em todas as condições experimentais avaliadas foi verificado um aumento aproximado de 11% na liberação de ART para o bagaço pré-tratado comparado com o não tratado. Os melhores resultados foram obtidos após 90 minutos de pré-tratamento, na temperatura de 75°C e pressão de 230 bar. O tratamento combinando ultra-som seguido do tratamento com CO₂ supercrítico resultou no aumento de 20% na liberação de ART comparando com o bagaço de cana não tratado. Além

disso, foi verificado um aumento aproximado de 10% na liberação de ART empregando o tratamento combinado (ultra-som +CO₂ supercrítico) em comparação com o tratamento com CO₂ supercrítico.

Palavras-chave: Biorrefinaria. Fluido pressurizado CO₂. Tecnologia de ultra-som. Hidrólise enzimática, bagaço de cana.

ABSTRACT

Pre-treatment of sugarcane bagasse using supercritical CO₂ aiming the obtainment of fermentable sugars

Brazil is the largest producer of sugar cane in the worldwide. However, only 1/3 of biomass is utilized in industry to produce sugar/ethanol. The sugarcane bagasse presents great morphological heterogeneity and is composed by lignin 19-24%, hemicelluloses 27-32%, cellulose 32-44% and ash 4.5-9.0%. The refinery generates about 270-280 kg of bagasse (moisture of 50%) per ton of sugarcane, implying in an annual production of about 186 million ton. Part of this bagasse could be used to produce second generation ethanol, what requires the development of a process/technique to pre-treat the bagasse. In this sense, the main objective of this work was to evaluate the pre-treatment of sugarcane bagasse using supercritical CO₂ combined with ultrasound aiming the obtainment of fermentable sugars by enzymatic hydrolysis. The treatment with supercritical CO₂ makes possible the obtainment of 0.29-0.40 g of total reducing sugars (TRS) per gram of dry bagasse, depending of experimental condition. For all runs carried out was verified an increase of about 11% in the amount of TRS released from the pre-treated bagasse in comparison with the non-treated one. The best results were obtained after 90 minutes of treatment, temperature of 75°C and pressure of 230 bar. The treatment combining ultrasound followed with supercritical CO₂ led to an increase of about 20% in the amount of TRS released compared with the non-treated bagasse. In addition, was verified an increase of 10% in the amount of TRS released using the combined treatment (ultrasound+supercritical CO₂) in comparison with supercritical CO₂ treatment.

Keywords: biorrefinery; supercritical CO₂; ultrasound; enzymatic hydrolysis; sugarcane bagasse.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Change
CNUMA	Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente
OMM	Organização Meteorológica Mundial
PNUMA	Programa das Nações Unidas sobre Meio Ambiente
CQNUMC	Convenção Quadro das Nações sobre Mudanças Climáticas
COP-15 15^a	Conferência das Partes
GEE	Gases de Efeito Estufa
ppmv	Partes por milhão em volume
AECH	Álcool Etílico Carburante Hidratado
HMF	Hidroximetilfurfural
KWh/tc	KWh por tonelada de cana.
KWh/tb	KWh por tonelada de bagaço.
ART	Açúcares redutores totais
E/T	Enzima celulase e tampão acetato de sódio pH 5.5

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Níveis das variáveis independentes aplicadas para o planejamento experimental Plackett-Burman.	56
Tabela 2 - Níveis das variáveis estudados no DCC 2^3 para avaliar o efeito do tempo, pressão e temperatura.	57
Tabela 3 - Valores da variação de concentração de glicose para obtenção da curva padrão.	59
Tabela 4 - Matriz dos resultados experimentais obtidos no planejamento Plackett-Burman com triplicata no ponto central para avaliar o efeito da temperatura, pressão, taxa de despressurização, umidade e tempo.	62
Tabela 5 - Matriz dos resultados experimentais obtidos no (DCC) 2^3 com triplicata no ponto central	64
Tabela 6 - Matriz dos efeitos dos dados experimentais obtidos do DCC com triplicata no ponto central.	65
Tabela 7 - ANOVA para o modelo quadrático gerado a partir dos dados do DCC.....	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Correlação de moagem de cana-de-açúcar e a produção de bagaço (USINA, 2009).	30
Figura 2 - Correlação de produção de bagaço por período de chuvas (USINA, 2009).	30
Figura 3 - A- Fórmula da celulose. B- Grupos terminais da cadeia polimérica de celulose (Fengel e Wegener, 1989).	36
Figura 4 - A - Pontes de hidrogênio intra e intermolecular em duas moléculas adjacentes de celulose nativa; B – Cella unitária da celulose nativa, proposto por Meyer-Misch.....	37
Figura 5 - Estrutura da parede celular (D'almeida, 1988).	38
Figura 6 - Estruturas dos açúcares componentes das hemiceluloses (39-adaptado).	39
Figura 7 - Precursores básicos na formação da molécula de lignina.....	41
Figura 8 - Esquema estrutural da lignina de madeira mole, proposto por Adler compreendendo 16 unidades fenilpropânicas (Sjostrom, 1981).....	42
Figura 9 - Esquema estrutural da lignina de folhosas (Fengel e Wegener, 1989).	44
Figura 10 - Sistema integrado de uma unidade sucroalcooleira com uma biorrefinaria.	46
Figura 11 - Esquema simplificado de separação dos componentes de biomassa.	47
Figura 12 - Transformações a partir da celulose para diversos produtos (Kamm	49
Figura 13 - Lignina como matéria-prima para diversos produtos (Costa, 1989; Gonçalves, 1995; Glasser e Lora, 2002).	50
Figura 14 - O emprego das hemiceluloses para diversos produtos (Silva, 1995; Melaja e Hamalainen, 1977; Dwivedi, 1991).	50
Figura 15 – Unidade experimental do extrator a alta pressão utilizado para obtenção dos dados. A – Cilindro de CO ₂ ; B, C – Banhos termos táticos; D - Extrator; E – Coletor de amostra (Becker 250ml); F – Controlador de alta pressão; G – Transdutor de pressão analógico; H – Aquecedor elétrico.	54

Figura 16 - Foto da unidade experimental a alta pressão (extrator) utilizado para obtenção dos dados.	55
Figura 17 - Curva padrão com variação da concentração de glicose pela média de absorbância para obtenção da equação da reta	59
Figura 18 - Gráfico de Pareto mostrando os efeitos dos parâmetros lineares das variáveis independentes sobre o ART.	63
Figura 19 - Curva de contorno mostrando a influência do tempo e pressão sobre a eficiência do pré-tratamento do bagaço de cana usando CO ₂ supercrítico	66
Figura 20 - Curva de contorno mostrando a influência do tempo e da temperatura sobre a eficiência do pré-tratamento do bagaço de cana usando CO ₂ supercrítico	67
Figura 21 - Curva de contorno mostrando a influência da pressão e da temperatura sobre a eficiência do pré-tratamento do bagaço de cana usando CO ₂ supercrítico	68
Figura 22 - Avaliação cinética para pré-tratamentos físicos combinado com enzimático, na potência de 60% do ultra-som.	69
Figura 23 - Avaliação cinética para pré-tratamentos físicos combinado com enzimático, na potência de 100% no ultra-som.	70

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 Panorama climático mundial e o setor sucroalcooleiro como precursor de fontes alternativas de energia e materiais	21
2.1.1 Mudanças Climáticas	21
2.1.1.1 Evolução do panorama sobre as mudanças climáticas	23
2.1.1.2 Os desafios climáticos mundial	26
2.1.1.3 As energias renováveis e suas contribuições ao meio ambiente.	28
2.1.2 O Bagaço de Cana-de-Açúcar como fonte alternativa de matéria-prima	29
2.1.3 Palha de cana-de-açúcar	31
2.2 Integração entre o setor sucroalcooleiro e a biorrefinaria	32
2.2.1 Bagaço de cana-de-açúcar: de resíduo industrial à matéria-prima	33
2.2.2 Constituintes químicos majoritários	34
2.2.2.1 Celulose	35
2.2.2.2 Hemiceluloses	38
2.2.2.3 Ligninas	40
2.2.3 Biorrefinaria: contribuições e perspectivas	44
2.2.3.1 Biorrefinaria como potencial de agregar valores	47
2.2.3.2 Pré-tratamentos para separação dos componentes majoritários da biomassa	51
3 MATERIAIS E MÉTODOS	53
3.1 Materiais	53
3.2 Aparato experimental da unidade de pré-tratamento do bagaço de cana com CO₂ supercrítico e delineamento experimental	53

3.3 Pré-tratamento do bagaço de cana combinando ultra-som e CO₂ supercrítico	57
3.4 Método do Ácido Dinitrosalicílico (DNS) – Miller (1959)	58
3.4.1 Reagentes utilizados.....	58
3.4.2 Metodologia empregada	58
3.4.2.1 Preparação do reagente DNS	58
3.4.2.2 Obtenção da curva padrão	58
3.4.3 Etapas do desenvolvimento do método (DNS) para as amostras em estudo	60
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
4.1 Pré-tratamento do bagaço de cana usando CO ₂ supercrítico.....	62
4.2 Pré-tratamento do bagaço de cana combinando ultra-som e CO ₂ supercrítico	68
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	71
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda mundial por derivados de petróleo, os efeitos ambientais de seu uso nas atividades industriais, de geração e energia e de transporte, além da forte expectativa de desabastecimento futuro de petróleo, têm promovido uma verdadeira revolução no desenvolvimento e uso de energias alternativas. Dentro do segmento de combustíveis automotivos, com os recentes avanços no desenvolvimento e a implementação dos chamados biocombustíveis, sucedâneos aos clássicos combustíveis fósseis, vêm se consolidando a substituição crescente de gasolina e de óleo diesel de origem não renovável.

Na década de 70, o Brasil iniciou o programa de substituição da gasolina por etanol (Proálcool) com o objetivo de diminuir a dependência do uso de combustíveis fósseis e a flutuação dos preços no mercado internacional. Neste programa, foi escolhida a cana-de-açúcar como matéria-prima para a produção do etanol e, como consequência, intensificaram-se os estudos tecnológicos e agrícolas, levando o Brasil a uma posição favorável em termos de energia obtida a partir da cana. Atualmente, há 448 unidades instaladas para a produção de etanol no Brasil, das quais 354 unidades estão localizadas no sul, sudeste e centro-oeste. De acordo com o Ministério de Minas e Energia, a produção de etanol em 2008 foi de 25 bilhões de litros, dos quais 5,16 bilhões de litros foram exportados, o que corresponde a um aumento de 45,7% da quantidade exportada em 2007 (3,5 bilhões de litros), sendo os Estados Unidos o maior comprador (IBGE, 2009).

No entanto, apenas uma parte da biomassa produzida é usada para a produção de bioenergia, onde um terço da planta é usada para a produção de açúcar/álcool, um terço é bagaço (o qual é usado para a geração de eletricidade através da queima nas caldeiras) e o restante é deixado no campo (o qual é decomposto pelos microrganismos) (Soccol et al., 2010). O bagaço de cana apresenta uma grande heterogeneidade morfológica e é composto por 19-24% de lignina, 27-32% de hemicelulose, 32-44% de celulose e 4,5-9,0% de cinzas. As refinarias geram aproximadamente 270-280 kg de bagaço (com 50% de umidade) por tonelada de cana, o que implica em uma produção anual

estimada em 186 milhões de toneladas (Rodrigues et al., 2003; Soccol et al., 2010).

O desenvolvimento de um processo para a produção de etanol a partir de bagaço de cana é tecnologicamente atrativo, uma vez que o processo pode ser incorporado às atuais refinarias existentes para a produção de etanol/açúcar, requerendo menores investimentos em infra-estrutura, logística e fornecimento de energia. Este é um cenário promissor, uma vez que para cada 10 milhões de toneladas de bagaço seco, pode-se produzir 2,27 bilhões de litros adicionais considerando somente a parte celulósica do bagaço (Soccol et al., 2010).

A produção de etanol a partir de material lignocelulósico inclui o pré-tratamento da biomassa, a hidrólise da celulose, fermentação das hexoses, separação e tratamento de efluentes. Atualmente, tem-se concentrado esforços no desenvolvimento de tecnologias eficientes para a realização do pré-tratamento da biomassa, desenvolvimento de enzimas que melhoram a sacarificação da celulose/hemicelulose e o desenvolvimento de tecnologias para a fermentação simultânea das pentoses e hexoses (Soccol et al., 2010). O pré-tratamento é uma operação unitária chave para o sucesso da conversão de material lignocelulósico à etanol, uma vez que representa um dos maiores custo no processo (Alvira et al., 2010). Isto ocorre devido a forte associação que existe entre os três principais componentes da parede celular da planta (celulose, hemicelulose e lignina), a qual é o fator determinante para a baixa acessibilidade dos carboidratos da planta por processos biológicos, como por exemplo a hidrólise enzimática e fermentação (Gámez et al., 2006). Dessa forma, o papel do pré-tratamento é diminuir a interação entre os principais componentes da parede celular e torná-los susceptível à hidrólise e fermentação.

Diversos métodos de pré-tratamento têm sido investigados para diferentes materiais lignocelulósicos, tais como: explosão com vapor, dióxido de enxofre, amônia e dióxido de carbono, extração com solventes orgânicos, tratamento térmico usando ácidos ou bases, tratamento usando água à elevadas temperaturas, tratamento usando líquidos iônicos, tratamentos usando ultra-som e micro-ondas e tratamento usando microrganismos (Alvira et al., 2010). Entre os métodos de pré-tratamento, o uso de ácidos é o mais

reportado na literatura. Alguns exemplos podem ser citados nos trabalhos (Xu et al., 2005; Chen et al., 2009).

No pré-tratamento ácido o maior objetivo é solubilizar a hemicelulose, tornando a celulose acessível à hidrólise enzimática. Este tipo de pré-tratamento pode ser conduzido usando ácidos concentrados ou diluídos, mas para a produção de etanol é preferível o uso de ácidos diluídos, devido a menor formação de compostos inibidores. O processo pode ser conduzido à elevadas temperaturas por um tempo curto (180°C por poucos minutos) ou baixas temperaturas por longos períodos (90°C por 30-60 minutos). Os ácidos normalmente empregados são o ácido clorídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico e ácido fosfórico. A principal desvantagem deste método é a formação de produtos de decomposição da hemicelulose (ácido acético) e dos monossacarídeos (furfural e 5-hidroxi-metil-furfural), os quais inibem o crescimento microbiano, sendo necessário eliminar estes compostos do meio de fermentação (Alvira et al., 2010; Cardona et al., 2010).

O uso de líquidos iônicos para o pré-tratamento de material lignocelulósico tem recebido grande atenção nos últimos anos, uma vez que as propriedades do solvente podem variar em função do ânion utilizado e grupo alquila do cátion. Entre as propriedades interessantes tem-se a estabilidade térmica e química, baixa inflamabilidade, baixa pressão de vapor e a tendência de permanecer líquido para uma ampla faixa de temperatura. Carboidratos e ligninas podem ser solubilizadas nos líquidos iônicos através da atividade do cátion que forma pontes de hidrogênio entre os íons cloro não hidratados do líquido iônico e os prótons hidroxila do açúcar numa estequiometria 1:1. Como resultado, a rede formada pela celulose, hemicelulose e lignina é rompida, com a vantagem de minimizar a formação de produtos tóxicos. No entanto, para a aplicação em larga escala dos líquidos iônicos, é preciso desenvolver métodos eficientes de recuperação destes solventes (Alvira et al., 2010).

O tratamento com ultra-som tem sido usado para extrair a hemicelulose, celulose e lignina, apresentando poucos estudos para avaliar a susceptibilidade do material lignocelulósico à hidrólise. Alguns trabalhos mostram que o uso de ultra-som melhora a sacarificação da celulose usando processos enzimáticos, devido aos efeitos de cavitação causados pela introdução das ondas de ultra-som na solução contendo as enzimas, o que facilita o transporte dos

catalisadores até a superfície do substrato. Além disso, o impacto mecânico causado pelas ondas de ultra-som ajuda a romper a estrutura rígida formada pela celulose, hemicelulose e lignina (Alvira et al., 2010).

A explosão com dióxido de carbono também é usada para o pré-tratamento de material lignocelulósico. O método é baseado na utilização de CO₂ como um fluido supercrítico, removendo eficientemente a lignina, o que aumenta a acessibilidade do substrato à hidrólise. Em soluções aquosas o CO₂ forma ácido carbônico, o qual favorece a hidrólise do polímero. As moléculas do CO₂ são comparadas em tamanho com a água e amônia e elas podem penetrar os pequenos poros do material lignocelulósico. O processo é favorecido pelo uso do CO₂ como um fluido supercrítico, uma vez que a densidade é similar à dos líquidos e a difusividade é similar à dos gases. Com a explosão do CO₂ através da redução da pressão ocorre a ruptura da celulose e da hemicelulose e, como consequência, têm-se um aumento na acessibilidade do substrato à hidrólise enzimática. A operação é realizada a baixas temperaturas em comparação com outros métodos, implicando na redução da liberação de compostos inibidores, tornando o método bastante atrativo para realizar o pré-tratamento de material lignocelulósico (Kim e Hong, 2001).

Todos os métodos de pré-tratamentos têm o objetivo de fazer com que a estrutura lignocelulósica se torne mais acessível ao ataque das enzimas, favorecendo a liberação de açúcares fermentescíveis. No que diz respeito a obtenção de açúcares fermentescíveis a partir de material lignocelulósico, a hidrólise enzimática é uma alternativa promissora para a obtenção de açúcares, mas a baixa acessibilidade da celulose é um problema chave no processo de produção de etanol a partir de biomassa (Cardona et al., 2010).

As etapas sugeridas no processo de produção de etanol de segunda geração a partir de material lignocelulósico compreendem o pré-tratamento, a hidrólise (enzimática ou química), a fermentação (simultânea ou não à hidrólise), recuperação dos produtos formados e tratamento dos resíduos. Do ponto de vista de layout de processo, é interessante propor alternativas que visem redução de etapas, viabilizando técnica e economicamente o processo. Nesse sentido, pode ser interessante combinar as etapas de pré-tratamento e hidrólise numa única etapa através da utilização de fluidos pressurizados,

como CO₂, propano e butano. Na literatura são reportados vários trabalhos que mostram que estes fluídos podem ser usados para o pré-tratamento e para a hidrólise enzimática. Com relação à hidrólise, estes fluídos podem atuar como meio reacional para o processo, aumentando a estabilidade e a atividade das enzimas. No entanto, o processo é realizado em duas etapas: pré-tratamento e hidrólise.

Neste contexto, o objetivo geral deste trabalho é a avaliação do pré-tratamento e a hidrólise enzimática do bagaço de cana usando CO₂ supercrítico e ultra-som visando à obtenção de açúcares fermentescíveis para a produção de etanol de segunda geração em uma única etapa.

Neste presente trabalho o capítulo 2 nos apresenta a revisão bibliográfica o capítulo 3 os materiais e métodos o 4 resultados e discussão o 5 considerações finais e o 6 referências bibliográficas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Panorama climático mundial e o setor sucroalcooleiro como precursor de fontes alternativas de energia e materiais

Esta parte introdutória contextualizará as discussões globais sobre mudanças climáticas, a influência da população mundial como consumidores e contribuidores para o controle de emissões de gases de efeito estufa, o desafio nacional e mundial em buscas de novas fontes de energia e como destaque, o emprego do bagaço de cana-de-açúcar como fonte alternativa. De forma ilustrativa do potencial de excedente de matéria-prima (bagaço de cana) para o aproveitamento em biorrefinarias estão expostos os números de produção de bagaço, consumo para geração térmica e elétrica e a venda de excedente de bagaço de uma unidade industrial de processamento de cana-de-açúcar. O setor sucroalcooleiro já se apresenta como grande contribuidor na produção de energias alternativas. Em conjunto de metodologias de biorrefinaria, o setor pode contribuir com uma parcela na substituição de fontes não renováveis favorecendo o panorama climático.

2.1.1 Mudanças Climáticas

Atualmente, o sistema energético mundial é fortemente dependente de combustíveis fósseis (carvão, petróleo e gás). Cerca de 80% do consumo mundial de energia se originam dessas fontes, consumo este que apresentava um crescimento anual de cerca de 2% (média em 20 anos) e que nos últimos cinco anos cresceu em média 3,1% ao ano (Goldemberg et al., 2008). Esta é uma situação que não pode perdurar, não só pela exaustão gradativa das reservas de combustíveis fósseis como também pelos efeitos negativos ao meio ambiente que resultam do seu uso, entre os quais, a contribuição no acréscimo de gases de efeito estufa podendo vir a favorecer o aumento médio da temperatura terrestre.

O efeito estufa é um fenômeno natural e existe na natureza independentemente da ação do homem, mas pode também ser intensificado

pelas emissões descontroladas de determinados gases na atmosfera terrestre que são chamados de Gases de Efeito Estufa (GEE), entre os quais se destacam: Dióxido de carbono (CO_2), Metano (CH_4), Óxido nitroso (N_2O), Hidrofluorcarbonos (HFCs), Perfluorcarbonos (PFCs) e Hexafluoretos de enxofre (SF_6) (Rocha e Mello, 2004; GRIDA).

No entanto, sabe-se que a presença atmosférica destes gases, medida em termos de concentração, vem aumentando devido às intensas e crescentes atividades socioculturais, econômicas e industriais. Essa intensificação também se denomina como efeito estufa antrópico. Para que uma determinada substância seja considerada como causadora de efeito estufa antrópico, ela precisa ser um gás, nas condições normais de temperatura e de pressão, e apresentar, no mínimo, uma das duas características a seguir (Ometto, 2005):

- Ser capaz de absorver radiação infravermelha e ser estável na atmosfera com tempo de residência de anos a séculos;
- Ser de origem fóssil e convertida em GEE, após lançado para a atmosfera.

Partindo do período pré-industrial (~1800) até os últimos 20 anos as atividades industriais mostraram uma parcela de 100 partes por milhão em volume (ppmv), de contribuição para o aumento da concentração de CO_2 na atmosfera, que corresponde a 31% do total da concentração de dióxido de carbono presente na atmosfera. Ressalta-se que neste período a população era de aproximadamente 1,0 bilhão de habitantes, com expectativa de vida abaixo dos 35 anos e já para os últimos 20 anos (~1990) a população terrestre tornou-se 5,3 bilhões com expectativa de 63 anos. Atualmente a população terrestre é de aproximadamente 6,7 bilhões de pessoas com expectativa de vida de 67 anos (UNFPA). De forma direta o crescimento populacional está relacionado ao consumo industrializado forçando ao aumento das atividades indústrias, à exploração de forma não sustentável dos recursos naturais entre outros.

Os cientistas do IPCC, em seus últimos 30 anos de estudos, posicionam-se alertando para o aumento da concentração dos gases responsáveis pelo efeito estufa, principalmente CO_2 , resultado da combustão de fontes de origem fóssil, e que provocarão um aumento na temperatura média do planeta entre $1,4^\circ\text{C}$ e

5,8°C nos próximos 100 anos caso a emissão de GEE não seja equilibrada (IPCC).

Acrescenta-se que o resultado do possível aquecimento global não seja apenas consequência dos gases de combustão de fontes fósseis, mas tem-se para avaliação o aumento exponencial da população humana. Para as nações em desenvolvimento (crescente produto interno bruto per capita) e as nações desenvolvidas pode-se correlacionar a intensificação das mudanças climáticas tanto como fatores do crescimento econômico e populacional.

Possíveis indícios das mudanças estão sendo observados atualmente com a ocorrência de fenômenos relacionados ao aumento na frequência e intensidade de eventos climáticos extremos, como alterações nos regimes de chuvas, intensificação de períodos de seca, aumento no nível dos oceanos e redução das geleiras nas regiões polares (GRIDA). Estima-se que a disponibilidade de água poderá se tornar limitada, ou até mesmo escassa. As projeções para a produção agrícola são de redução em virtude da alteração dos regimes de precipitação e período de estiagem. Em algumas regiões poderão ocorrer perdas de culturas ou estas terão de ser remanejadas para áreas com clima adequado à cultura ou melhoradas geneticamente para se adaptarem aos novos regimes climáticos (GRIDA).

Países desenvolvidos e em desenvolvimento sentirão de formas variadas os efeitos das mudanças climáticas. Destaca-se que os países em desenvolvimento sentirão os maiores efeitos das mudanças climáticas, seja pela fragilidade tecnológica e de pesquisas, ou pela postergação da criação de políticas voltadas para a adaptação a essas variações.

Assumindo uma posição global, independentemente das causas e consequências das mudanças climáticas, a busca de um desenvolvimento mais limpo, equilibrado e sustentável merece maior atenção e deve ser assumida como o grande desafio para a humanidade.

2.1.1.1 Evolução do panorama sobre as mudanças climáticas

As mudanças climáticas vêm sendo discutidas principalmente a partir da década de 70, nas pautas de reuniões governamentais e de órgãos

internacionais que possibilitaram a criação de mecanismos de gerenciamento ambiental e regulamentação firmadas em acordos estabelecidos entre vários países durante os diversos eventos internacionais realizados (Borges, 2005).

Em 1972 o maior destaque foi atribuído à causa ambiental, com a realização da 1ª Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiental (CNUMA), realizada em Estocolmo.

Este evento deixou explícita a necessidade da criação de medidas de controle efetivo dos fatores que afetam diretamente as alterações no meio ambiente (Barbieri, 2004).

A Conferência de Estocolmo contribuiu de maneira importante para gerar um novo entendimento sobre os problemas ambientais e a maneira como a sociedade provê a sua subsistência. Os acordos ambientais multilaterais, firmados após a Conferência, procuraram considerar a relação meio ambiente e desenvolvimento de modo que não mais seria possível tratar desenvolvimento sem considerar o meio ambiente e vice-versa (Barbieri, 2004).

A preocupação com o aquecimento global incentivou a parceria entre a Organização Meteorológica Mundial (OMM) e o Programa das Nações Unidas sobre Meio Ambiente (PNUMA) que uniram esforços e realizaram, em 1979, a 1ª Conferência do Clima, resultando na instituição, por essas entidades, do Programa Mundial do Clima. Esses dois órgãos, OMM e PNUMA, também instituíram, em 1988, o Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC). Como resultado dos trabalhos do IPCC e do Programa Mundial do Clima, proliferou-se, no âmbito das Nações Unidas, uma série de propostas e resoluções, todas reconhecendo a urgência e importância de enfrentamento do problema. Em 1990, durante a 2ª Conferência do Clima, chegou-se à conclusão de que os Estados deveriam adotar medidas nacionais e regionais destinadas a reduzir as fontes emissoras e também negociar um tratado internacional sobre o tema (Borges, 2005).

Já o período compreendido entre a 1ª CNUMA e a Rio 92 se caracteriza pela busca de uma nova relação entre o meio ambiente e desenvolvimento, uma vez que havia indicações de que a forma como o desenvolvimento estava sendo conduzido poderia causar danos à biosfera e, conseqüentemente, afetar drasticamente a humanidade (Barbieri 2004).

Assim, em 1992, diversos países se reuniram no Rio de Janeiro para a 2ª Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, onde firmaram a Convenção Quadro das Nações sobre Mudanças Climáticas (CQNUMC).

A convenção-quadro foi o primeiro acordo ambiental que envolveu a comunidade internacional e que entrou em vigor em 1994 com apoio de mais de 160 Estados que assumem, assim, um compromisso internacional para a proteção legal do equilíbrio climático, sob os termos da convenção (Cunha, 2005).

Para atingir tais objetivos, foram estabelecidas “responsabilidades comuns, porém diferenciadas” para os países mais industrializados do planeta e que são os responsáveis pela maior parte das emissões históricas de GEE (Cunha, 2005).

O Protocolo de Quioto representou o primeiro acordo realizado no âmbito da CQNUMC a estabelecer compromissos de redução das emissões de Gases de Efeito Estufa, além de definir critérios e diretrizes para a utilização de mecanismos de mercado. Desta forma, foram quantificadas metas de redução de emissões de GEE para os países participantes, em média 5,2% em relação aos níveis de 1990, para um período de compromisso entre 2008 e 2012 (Cunha, 2005).

Para possibilitar que as metas de redução de GEE sejam atingidas, o Protocolo estabelece que qualquer país possa transferir ou adquirir, de qualquer outro país, unidades de redução de emissões a fim de cumprir os compromissos de reduções (Cunha, 2005).

Deve-se ressaltar, contudo, que a CQNUMC não confere a nenhum país uma licença para poluir. Como a mudança do clima é um problema global, os esforços não devem ser centralizados, mas ser global. O que muda é a natureza das obrigações nos diferentes países.

Recentemente, em Copenhague, realizou-se a 15.^a Conferência das Partes (COP-15) sendo um encontro de Estados para discussão de acordos multilaterais ambientais com o objetivo de estabelecer o tratado que substituirá o Protocolo de Quioto, vigente de 2008 a 2012 (DENMARK).

O objetivo desses esforços, contudo, é um futuro em que o desenvolvimento se baseie em um equilibrado consumo de carbono. O Brasil

não tem, de acordo com o regime da Convenção, obrigações quantificadas de limitação ou redução de emissões, mas vem apresentando contribuições significativas de desenvolvimento limpo.

2.1.1.2 Os desafios climáticos mundial

Para os desafios climáticos há diversas interpretações e que confrontam ordens políticas, econômicas, ambientalistas e socioculturais. Contudo os objetivos em comum focalizam-se na preservação do meio habitat no qual vivemos. A humanidade avança como também avança a degradação do meio ambiente. Estima-se que para 2050 a população humana atinja 9.2 bilhões de pessoas (UNFPA) assim, em um período de 40 anos, o desafio para essa humanidade é a preservação do seu próprio habitat, de forma a ser um desenvolvimento equilibrado, sustentável e limpo.

Alguns países, regiões e empresas estão conseguindo um progresso considerável na redução das emissões dos GEE, porém ainda há evidências que o aquecimento global continua em uma curva ascendente. Em parte por causa dessa tendência, as tecnologias de energias mais limpas como turbinas eólicas, sistemas solares fotovoltaicos entre outras tecnologias estão surgindo e são potenciais contribuintes para o controle de emissões dos GEE. Por outro lado, potências econômicas na produção e uso de energia, dependente de combustíveis fósseis incluindo carvão e o petróleo, continuarão a emitirem os GEE (Kammen, 2006).

Vários estudos sugerem que uma transição mundial, mesmo que parcial, dos combustíveis fósseis para fontes de energia renovável seja desejável e viável, acompanhada de maior eficiência energética (Kammen, 2006). Porém, a maioria desses estudos concentra-se nas tecnologias usadas para realizar essa transição, mas não aborda as estratégias políticas e econômicas para a implantação tecnológica. Assim, o desafio não é apenas tecnológico.

Muitas das tecnologias de energia limpa como eólica, nuclear, fotovoltaica e outras ou já estão disponíveis comercialmente ou estão emergindo no mercado. O desafio principal é superar as barreiras que podem

impedir a ampla adoção dessas tecnologias nas próximas décadas, isto é, como implantar uma revolução de energias limpas (Kammen, 2006).

Nas economias modernas, para reduzir estas emissões sem sacrificar o desenvolvimento econômico, as principais proposições são para a substituição dos combustíveis fósseis por outras fontes alternativas e renováveis, como hidroeletricidade, energia solar e biomassa sustentável e também para a conservação ou usar de forma mais eficiente todas as formas de energia usadas pela sociedade.

O mundo é abundante em formas comprovadas de usar energia com mais produtividade, e empresas conscientes caminham para explorá-las. Ao longo da última década, a companhia química DuPont aumentou a produção em 30%, mas cortou o uso de energia em 7% e as emissões de gases-estufa em 72%. Cinco outras grandes empresas, IBM, British Telecom, Alcan, Norske Canada e Bayer reduziram suas emissões de carbono em mais de 60% (LOVINS, 2006).

No contexto brasileiro há um grande potencial de economia de energia entre os consumidores finais, quer seja pelo uso de tecnologias mais eficientes em carros, motores, aparelhos eletrodomésticos, etc., quer seja indiretamente com medidas como a melhoria dos sistemas de transporte.

Acreditando-se que a nova geração de energia seja renovável, o emprego de combustíveis fósseis não irão se ausentar, fato de que é uma matéria-prima de propriedades nobres para setor fabril. Adotando-se o percentual de uso parcial é interessante a busca também de novas tecnologias para o emprego mais eficiente e menos emissora de CO₂, tornando-se também uma forma atrativa de controle de emissões de GEE. Essa atratividade é reforçada pelo fato de que, para manter ou aumentar o uso de fontes de biomassa não-emissoras, dependerá, em parte, deste aperfeiçoamento da eficiência do processo de transformação.

2.1.1.3 As energias renováveis e suas contribuições ao meio ambiente.

O balanço energético é caracterizado pela sua conservação na natureza. Com isso é possível elaborar um balanço partindo-se da energia em sua forma primária (petróleo, lenha, energia hídrica, gás natural, carvão mineral, etc.), passando por uma série de transformações que a convertem em formas secundárias de mais fácil utilização (gasolina, carvão vegetal, eletricidade, coque, etc.) e que é finalmente utilizada nos diversos setores da atividade humana (residências, indústrias, veículos, etc.) (Balanço, 2007).

A maior parte das emissões causadoras do efeito estufa está relacionada a gases que contêm carbono (dióxido de carbono e metano, principalmente). As fontes energéticas ditas fósseis (carvão mineral, petróleo e gás natural) têm sua energia química armazenada sob a forma de compostos de carbono, sendo que para sua formação considera uma escala de tempo de séculos a milênios. As fontes de origem na biomassa armazenam energia em moléculas de carbono retiradas da atmosfera pela fotossíntese dos vegetais que possuem seus ciclos de crescimento vegetativo na ordem de anos a décadas. Logo, o balanço de carbono para a fonte de biomassa é mais dinâmico, pelo fato de capturar o carbono presente na atmosfera e ter a escala de tempo menor quando comparada com a escala de tempo das fontes fósseis para a obtenção de massa (Goldemberg, 2009).

As energias renováveis são aquelas que, à nossa escala de tempo, são continuamente disponibilizadas pela natureza, como as fontes eólica, solar, hídrica, a proveniente da biomassa e outras que contribuem para evitar emissões de gases de efeito estufa (BALANÇO, 2007).

A fonte alternativa oriunda de biomassa, admitindo que sua exploração seja feita de uma forma sustentável, apresenta-se com grande potencial no balanço de emissão e captura de carbono. Uma forma possível de estimar a contribuição da biomassa é quantificar as emissões lançadas na atmosfera em decorrência da combustão da biomassa, as quais não são contabilizadas por não contribuírem para o aumento do efeito estufa, uma vez que são absorvidas no processo de fotossíntese durante o crescimento da planta.

As projeções para o futuro indicam a importância da biomassa como fonte alternativa energética e como matéria-prima para a biorrefinaria que objetiva a substituição de alguns possíveis produtos derivados do petróleo, favorecendo o balanço energético e como contribuição na redução de emissões de gases de efeito estufa.

2.1.2 O Bagaço de Cana-de-Açúcar como fonte alternativa de matéria-prima.

O bagaço de cana deixou de ser apenas um resíduo industrial e passou a ser matéria-prima de grandes aplicações na própria indústria produtora como produto de alto valor agregado. Nessa seção a apresentação de dados reais de uma unidade industrial contribui para ilustrar os diversos empregos do bagaço de cana-de-açúcar e a sua disponibilidade. Assim, é pertinente a demonstração da sua produção, o consumo para geração de energia térmica e elétrica, a venda comercial e a possível aplicação em biorrefinarias.

A produção de bagaço de cana-de-açúcar corresponde a uma medida derivada do total de cana esmagada, estabelecendo que o peso de fibra seja o mesmo na entrada e na saída das moendas (Hugot, 1977). A produção de bagaço também se correlaciona com a eficiência de moagem e períodos de chuvas conforme demonstra as Figuras 1 e 2, respectivamente. Estima-se a produção de 24% a 28% de bagaço integral com 50% umidade em relação ao total de cana cortada.

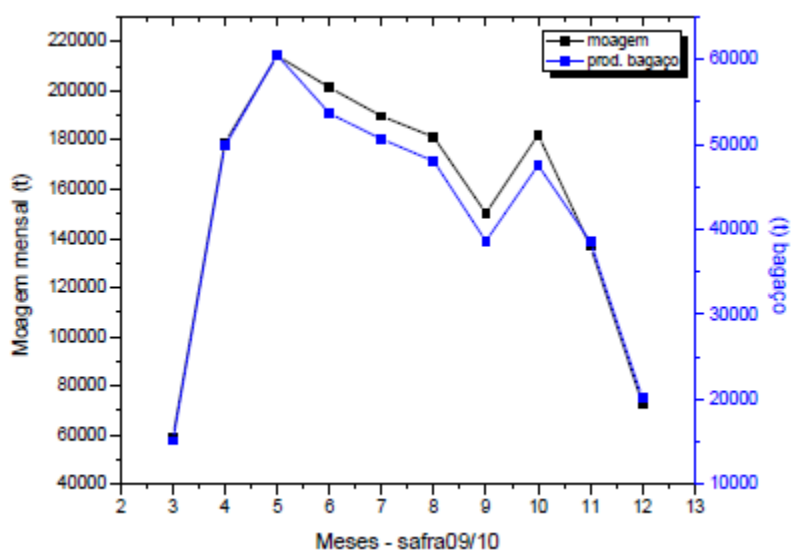


Figura 1 - Correlação de moagem de cana-de-açúcar e a produção de bagaço (USINA, 2009).

Para a região centro-sul, a quantidade de cana processada na safra de 2009 teve um acréscimo de 4,57%, partindo de 490,5 para 512,9 milhões de toneladas (Unica, 2009), gerando um potencial de produção de bagaço (umidade de 50%) de 128,25 milhões de toneladas.

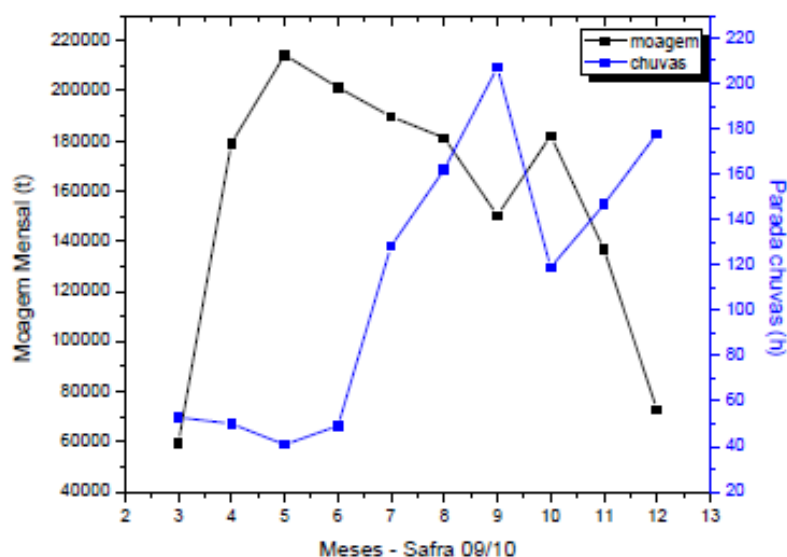


Figura 2 - Correlação de produção de bagaço por período de chuvas (USINA, 2009).

As primeiras idéias de utilização do bagaço de cana foram como combustível para a geração de vapor atendendo à necessidade de aproveitar

este resíduo industrial. O bagaço como combustível representa uma substancial fonte de calor, sendo de aproximadamente 2000 a 2500 Kcal/Kg quando queimado úmido (50%) e 3800 a 4750 Kcal/Kg quando seco (Newton e Fernandez, 1974). Seu aproveitamento nos primeiros anos do programa Pró-Álcool registrou em 1977 o consumo de 20,9 milhões de toneladas, que corresponde a 4,7 milhões de toneladas equivalentes de petróleo (Dantas, 1979). Para a safra de 2009, cerca de 128 milhões de toneladas de bagaço foram produzidas, que corresponde a 29 milhões de toneladas equivalentes de petróleo (ÚNICA, 2009).

A prática da comercialização do bagaço vem declinando devido a futuros projetos de novas unidades estarem contemplando a co-geração de energia de bagaço excedente. Amplos estudos também direcionam para o melhor aproveitamento da biomassa agregando e gerando matéria-prima para diversos produtos. Sendo assim, o que era sério problema ambiental para o setor sucroalcooleiro, hoje contribui para práticas mais sustentáveis de exploração de energia.

2.1.3 Palha de cana-de-açúcar

Outro subproduto da cana-de-açúcar que pode ser incorporado como matéria-prima junto ao bagaço é a palha de cana-de-açúcar. A palha (pontas e folhas) é um resíduo da colheita da cana crua que é descartada na lavoura pós corte e que como consequência assume uma característica de proteção do solo. Considerando-se a rota de corte e limpeza mecanizados de cana picada, seguida de enfardamento e transporte da palha, pode-se adotar índice de 140 Kg de palha, com 15 % de umidade por tonelada de cana moída, e poder calorífico de aproximadamente 3047 Kcal/Kg (Newton e Fernandez, 1974). Nota-se que a significativa característica energética da palha que desperta o interesse de aproveitamento como combustível já que seu poder calorífico é, aproximadamente, 75% maior que o poder calorífico do bagaço (com umidade de 50%) da ordem de 2000 a 2500 Kcal/Kg (Newton e Fernandez, 1974). Porém, pode ser aproveitada energeticamente no sistema de geração de energia colaborando para o aumento da eficiência do processo.

Para aproveitar ao máximo a palha que fica nos campos, pode-se utilizar um dos dois tipos de alternativa abaixo descritos:

- A cana é picada sem queimar e sendo limpa pela colheitadeira mecânica.

Durante a operação, a cana é ventilada quando colhida. Os toletes são conduzidos pelo elevador da máquina até o caminhão ou transbordo e a palha é deixada no campo. Testes de campo indicaram que em média 30% da palha permanece entranhada na cana e o que é deixado sobre o solo pode ser recolhido e enfardado. Em simulações realizadas, utilizando-se esta técnica, foi possível recolher de 50 a 70% da palha na lavoura. O processo de recolhimento foi feito por uma máquina enfardadora que prensa e prepara a palha para o transporte.

- A cana é colhida e carregada sem limpeza. Toda a palha acompanha a cana, mas não poderá ser moída porque diminuiria a capacidade de extração da sacarose. Assim, antes de chegar à indústria, a cana deve ser entregue a uma “estação de limpeza a seco”.

Alguns resultados obtidos com um protótipo da estação de limpeza indicaram que 70% da palha são separadas da cana.

Através das técnicas acima descritas pode-se, portanto, aumentar a eficiência da geração de energia elétrica na usina através da incorporação da palha ao bagaço de cana para a queima nas caldeiras. Essa técnica também pode ser usada para favorecer a geração de energia excedente no período da entressafra e, com isso, garantir o fornecimento de energia elétrica e/ou energia elétrica excedente para suprir o sistema elétrico através da concessionária ou da indústria localizada em seu entorno.

2.2 Integração entre o setor sucroalcooleiro e a biorrefinaria

Esta seção do trabalho abordará a discussão sobre integração entre o setor sucroalcooleiro e a biorrefinaria. O potencial do setor sucroalcooleiro baseia-se na hipótese de se apresentar como um grande fornecedor de matéria-prima (bagaço e palha de cana-de-açúcar).

Sendo assim, a plausível contribuição poderá justificar-se através do estudo da viabilidade do fracionamento dos constituintes físicos e químicos do

bagaço de cana-de-açúcar enfatizando a biorrefinaria. O fracionamento da matéria-prima pode ser realizado por etapas, objetivando-se desagregar a estrutura física da matéria para posteriormente realizar uma separação seletiva dos respectivos constituintes. Uma avaliação em termos de etapas de pré-tratamentos, rendimentos de processos, seletividade reacional bem como produtos e resíduos obtidos torna-se necessário para determinar a viabilidade do sistema empregado. Esta metodologia é investigada por abranger a conversão da biomassa (bagaço e palha de cana-de-açúcar, palha de cereais, madeiras, etc.) para uma variedade de produtos de maior valor agregado (energia, biomateriais e produtos químicos).

2.2.1 Bagaço de cana-de-açúcar: de resíduo industrial à matéria-prima

O bagaço de cana-de-açúcar proveniente do processo de extração da sacarose da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) é um material lignocelulósico e abundante fonte renovável de carbono. O Brasil é o maior produtor mundial de açúcar e álcool a partir da cana-de-açúcar e esta indústria gera uma grande quantidade de resíduos sólidos (palha e bagaço de cana-de-açúcar). Em 2009, a produção nacional de cana-de-açúcar foi de cerca de 687 milhões de toneladas (IBGE, 2008), gerando cerca de 192 milhões de toneladas de bagaço, umidade 50%, ou seja, aproximadamente 28% da massa de cana-de-açúcar produzida. Com a colheita mecanizada a palha da cana é separada e deixada na lavoura, sendo que os fatores limitantes para seu emprego também como combustível em caldeiras são o transporte para as unidades industriais e tecnologia de aplicação. O bagaço de cana é em grande parte usado como combustível na geração de calor para as usinas, embora o excedente seja ainda bastante significativo (Hugot, 1977). Algumas unidades industriais, como focos principais no grande volume de exportação de energia elétrica, já empregam a palha de cana como combustível nas caldeiras, embora possa ser questionável a logística deste processo.

A biomassa vegetal produz compostos orgânicos específicos que devem ser considerados quando se pretende o uso desses recursos como fonte de

insumos para a indústria química e fonte de energia renovável para reduzir a utilização de matéria-prima fóssil em inúmeras aplicações (Rosillo-calle e Walter, 2006).

Outras formas de resíduos são os das indústrias de papel e celulose que empregam a madeira como fonte de fibra vegetal. Esse emprego é favorecido nas regiões onde há grande extensão de reflorestamento, enquanto nas regiões onde predomina a agricultura ocorre uma maior utilização de fibras provenientes de resíduos agrícolas, como o bagaço de cana-de-açúcar (COTE, 1982).

As fibras naturais podem ser denominadas fibras celulósicas devido a seu principal componente que é a celulose, ou fibras lignocelulósicas, considerando-se que contêm adicionalmente um polímero natural polifenólico, denominado lignina, em sua composição (Young, 1997).

2.2.2 Constituintes químicos majoritários

O bagaço de cana-de-açúcar é constituído fisicamente pelas frações fibra e medula que correspondem a mais de 90% dos componentes orgânicos e inorgânicos. Essas frações são compostas por cerca de 55 a 60% de fibra e 30 a 35% de medula. Há também na composição da massa total do bagaço, acima de 5%, os extrativos, como graxas, gomas, amígos, alcalóides, resinas e óleos essenciais (Fengel e Wegener, 1989).

A macroestrutura fibrosa é composta pelos constituintes químicos majoritários celulose (40-50%), hemicelulose (25-30%) e lignina (20-25%), com pequenas quantidades de extrativos e de compostos inorgânicos classificados como constituintes minoritários na estrutura celular (Fengel e Wegener, 1989).

A complexa estrutura vegetal originada por seus macro e micro constituintes oferece uma gama de produtos com potencial para agregação de valor à cadeia produtiva. O maior entendimento da estrutura vegetal e dos principais constituintes do bagaço de cana (celulose, hemiceluloses e lignina) se faz necessário para se atingir o objetivo de separação seletiva.

Como ilustração dos diversos produtos, a glicose obtida da celulose pode ser usada como matéria-prima para a produção de etanol, enquanto

açúcares com 5 carbonos, provenientes da fração de hemiceluloses, podem ser usados para a produção de furfural. Por sua vez, a lignina presente nos tecidos vegetais é uma fonte em potencial para a produção em larga escala de diferentes compostos fenólicos (Klass, 1998).

2.2.2.1 Celulose

O termo celulose foi reportado pela primeira vez no século XIX pelo químico francês Anselme Payen. Com o objetivo preliminar de caracterização de um resistente material fibroso obtido pelo processo de extração de vários tecidos vegetais foi determinada a fórmula molecular $C_6H_{10}O_5$ por análise elementar. Posterior observação da isomeria com o amido complementou-se a caracterização, designando-se celulose (Klemm et al., 2005).

De forma geral, a celulose é uma das mais comuns cadeias poliméricas, representando uma produção anual de cerca de $1,5 \times 10^{12}$ toneladas e que é considerado uma inesgotável fonte de matéria-prima para o desenvolvimento sustentável (Klemm ET al., 2005).

Do ponto de vista químico, a celulose é um polissacarídeo formado a partir de moléculas de glicose ($C_6H_{12}O_6$) que, por sua vez, são sintetizadas pela reação fotossintética.

Para a formação de uma molécula de celulose, a glicose é utilizada como monômero que, na reação de polimerização, perde uma molécula de água para que a nova ligação química seja formada. Assim, a fórmula empírica da celulose é $(C_6H_{10}O_5)_n$, onde n é o grau de polimerização que pode ser calculado pela razão entre a massa molar da celulose e a massa molar de uma unidade de glicose. Em média, o grau de polimerização da celulose situa-se no intervalo de 1.000 a 15.000 que corresponde a uma massa molar entre 162.000 a 2.430.000 (Fengel e Wegener, 1989).

Para a formação de uma molécula de celulose, sucessivas reações entre hidroxilas do carbono 1 de D-glicopiranoses com grupos hidroxilas do carbono 4 de outras unidades D-glicopiranoses devem ocorrer para que origine um polímero linear. Na molécula de celulose, cada unidade de glicose, ou mero, contém três grupos hidroxilas livres, ligados aos carbonos 2, 3 e 6, como

mostra a Figura 3. Portanto, os grupos terminais da molécula de celulose devem diferir entre si, sendo um redutor devido ao grupo hemiacetal e outro não redutor (Fengel e Wegener, 1989; D'almeida, 1988).

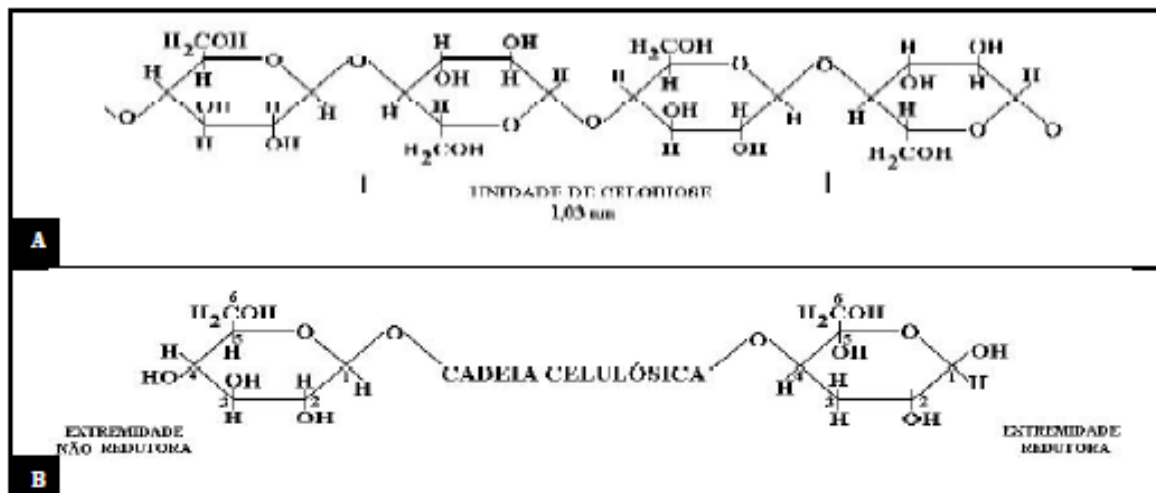


Figura 3 - A- Fórmula da celulose. B- Grupos terminais da cadeia polimérica de celulose (Fengel e Wegener, 1989).

Em relação à reatividade da celulose, as hidroxilas presentes ao longo da cadeia molecular podem reagir com agentes de adição, substituição e oxidação. Os grupos acetais também presentes ao longo da cadeia, podem sofrer hidrólise tanto em meio ácido quanto em meio alcalino e os grupos aldeídicos, presentes em um dos extremos da cadeia molecular, podem ser reduzidos para grupos alcoóis e por oxidação para grupos carboxílicos. No entanto, a acessibilidade de solventes e reagentes à molécula de celulose é dificultada pela presença de regiões cristalinas (D'almeida, 1988).

A presença dos grupos OH das unidades de glicose, por toda a extensão da cadeia celulósica, é responsável tanto pela sua estabilidade quanto pelo comportamento físico e químico conferido à molécula, devido à formação de ligações de hidrogênio. Dois tipos de ligações de hidrogênio são formados na molécula de celulose: intramolecular, pela interação de grupos OH de unidades de uma mesma cadeia e intermolecular, pela interação dos grupos OH de moléculas vizinhas. As pontes de hidrogênio intramoleculares tornam a molécula de celulose mais rígida, enquanto aquelas intermoleculares permitem a formação de uma complexa estrutura tridimensional correspondendo também

ao aparecimento de regiões cristalinas em uma associação primária de moléculas de celulose (Fengel e Wegener, 1989).

A estrutura cristalina da celulose nos tecidos vegetais, denominada celulose I, pode ser afetada em função do tratamento químico a que esta é submetida. Assim, existem três outros tipos de estruturas cristalinas denominadas celulose II, celulose III e celulose IV, dentre as quais a mais importante é a celulose II que pode ser obtida por meio do tratamento da celulose com uma solução alcalina, ou através de uma etapa de dissolução da celulose seguida de posterior regeneração (Fengel e Wegener, 1989). A Figura 4 ilustra a formação de ligações de hidrogênio e a cela unitária na celulose nativa.

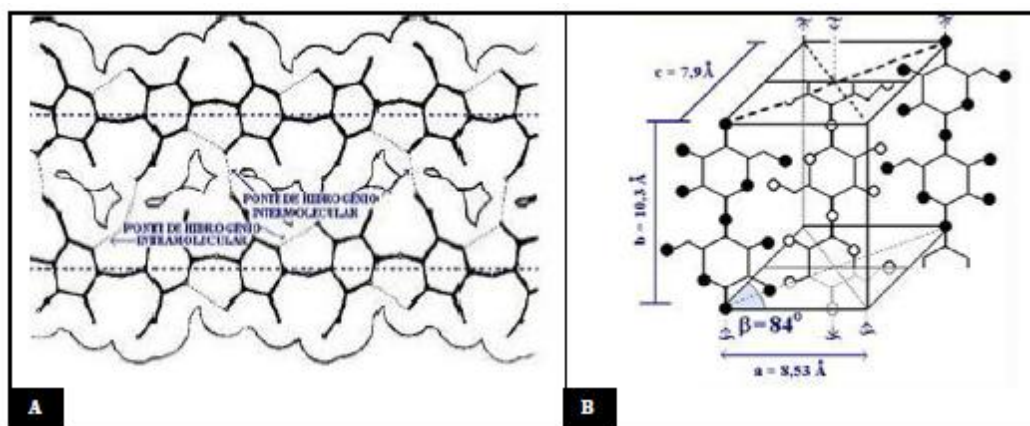


Figura 4 - A - Pontes de hidrogênio intra e intermolecular em duas moléculas adjacentes de celulose nativa; B – Cella unitária da celulose nativa, proposto por Meyer-Misch.

O grau de cristalinidade varia de uma espécie para outra e apresenta valores de até 80% para o algodão, entre 60 e 70% em pastas de madeira e aproximadamente 45% em rayon.

A celulose também pode ser classificada após tratamento com solução aquosa de NaOH 17,5%, obtendo-se duas frações de celulose. A parte que não solubiliza denomina-se alfacelulose. Atribui-se a denominação de beta-celulose quando a fração que solubilizou é neutralizada e parte da celulose dissolvida precipita. Uma terceira fração, solúvel em meios alcalino e neutro, recebe o nome de gama-celulose e pode ser precipitada com a adição de álcoois alifáticos de cadeia curta (Fengel e Wegener, 1989; D'almeida, 1988).

As hemiceluloses diferem da celulose em relação à composição química, uma vez que na celulose apenas unidades de glicose são utilizadas para a formação do polímero, enquanto nas hemiceluloses podem aparecer, em proporções variadas, os seguintes açúcares, como mostra a figura 6: -D-xilose, -D-manose, -D-glicose, -L-arabinose, -D-galactose, ácido -D-glicurônico, ácido -D-galacturônico, e ácido -D-4-O-metilglicurônico, -L-ramnose e -L-fucose.

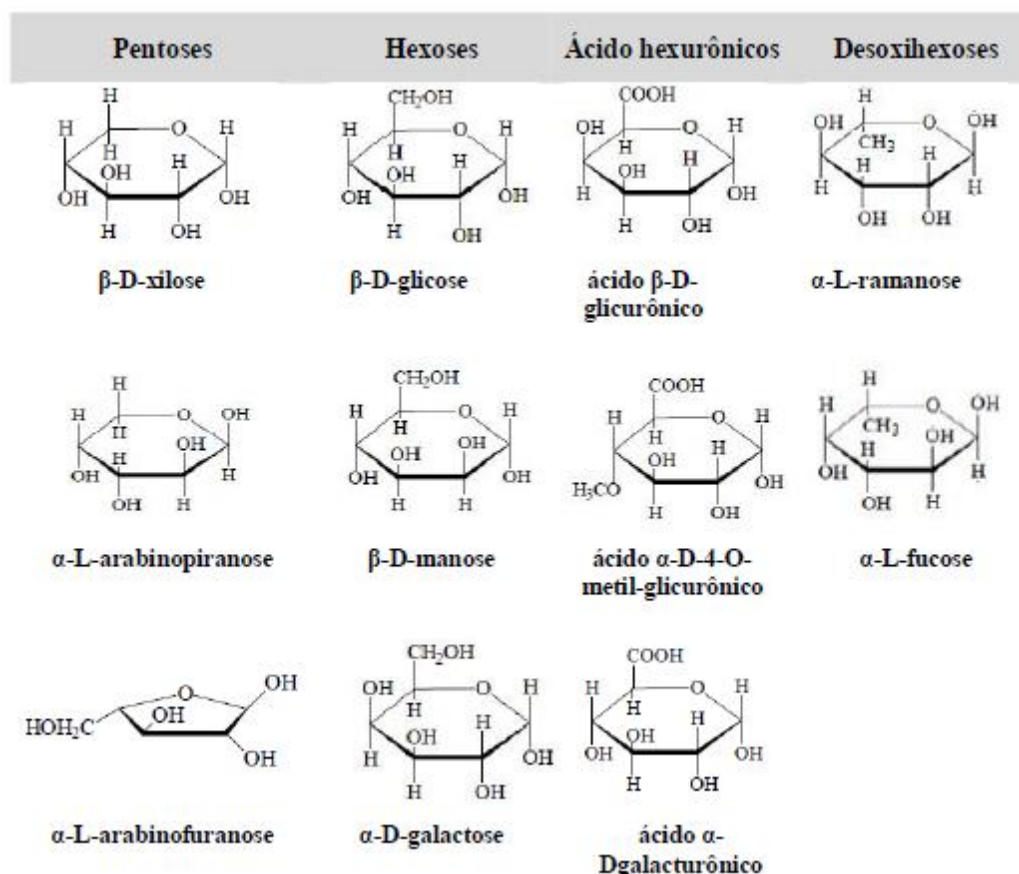


Figura 6 - Estruturas dos açúcares componentes das hemiceluloses (39-adaptado).

Nas hemiceluloses algumas unidades de açúcar possuem apenas cinco átomos de carbono e são denominadas pentoses, enquanto outras, as hexoses, possuem seis átomos de carbono. Os polímeros formados pela condensação de pentoses são chamados pentosanas, e os formados por hexoses, hexosanas. As hemiceluloses não são, portanto, um composto químico definido, mas sim uma classe de compostos poliméricos presentes em vegetais fibrosos, possuindo cada um destes componentes propriedades peculiares (D'almeida, 1988).

Há grandes diversificações na formação de cadeias poliméricas que podem ser classificadas como homopolimérica (unidades de um mesmo tipo de açúcar) e heteropolimérica (unidades diferentes de açúcar). No bagaço de cana, a principal hemicelulose presente é a xilose e que pode formar as xilanas (homopolímeros) e as arabinoxilanas (heteropolímeros) (Fengel e Wegener, 1989).

Além das diferenças citadas, ressalta-se que as hemiceluloses não apresentam regiões cristalinas, são atacadas rapidamente por ácido mineral diluído e à quente e são solúveis em meio alcalino, o que não acontece com a celulose.

Estas macromoléculas podem representar de 20 a 35 % da massa seca da biomassa e exercem, dentre outras funções, a de atuar como interface ou agente de ligação entre as moléculas de celulose e de lignina. Essa interface é dada por formação de moléculas emaranhadas e com grandes números de pontes de hidrogênio formadas, ausentando-se de ligações covalentes entre os constituintes nos modelos propostos. Essas complexidades estruturais e macromoleculares dificultam uma separação seletiva para quantificação dos diversos tipos de cadeias poliméricas que compõem o tecido vegetal (D'almeida, 1988).

2.2.2.3 Ligninas

Após a celulose, as ligninas são as substâncias orgânicas naturais mais abundantes e a maior fonte de carbonos aromáticos. Além de agir como material de incrustação, a lignina desempenha múltiplos papéis essenciais para a planta. Pelo fato de promover a impermeabilização das paredes celulares, a lignina permite um eficiente transporte de água pelos tecidos vegetais. Adicionalmente, confere rigidez e protege o vegetal contra ataque de microorganismos. É uma substância que vai sendo incorporada durante o crescimento do vegetal, sendo composta basicamente de unidades fenilpropano formando uma macromolécula tridimensional e amorfa, representando de 20 a 30% da massa total do material lignocelulósico (Fengel e Wegener, 1989; D'almeida, 1988). Pode ser considerada como um material

macromolecular amorfo formado pela polimerização desidrogenativa de três álcoois precursores: álcool pcumarílico(I), álcool coniferílico(II) e álcool sinapílico(III), apresentados na figura 7. O processo de biossíntese da lignina leva a um crescimento aleatório de uma macromolécula com diferentes tipos de ligações entre as unidades monoméricas, principalmente do tipo éter e carbono-carbono.

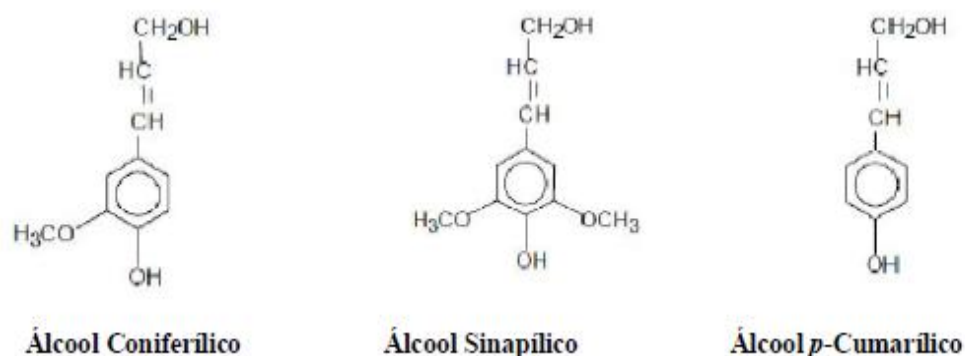


Figura 7 - Precursores básicos na formação da molécula de lignina.

As ligninas não podem ser consideradas uma substância única e sim uma classe de substâncias similares, pois as ligninas não são a mesma em todas as espécies. As denominadas ligninas G possuem como precursor majoritário o álcool coniferílico, estão presentes na maioria das madeiras de coníferas (gimnospermas). As ligninas guaiacila-siringila (GS) têm como precursores os álcoois sinapílico e coniferílico, estão presentes em madeiras de folhosas (angiospermas). Possuem quantidades aproximadas de unidades guaiacila e siringila. As ligninas (HGS) são características de plantas anuais e gramíneas, apresentando maior quantidade de unidades *p*-hidroxifenila do que a encontrada em madeiras de coníferas ou folhosas, mas sempre em proporções menores do que as outras unidades (Fengel e Wegener, 1989). As unidades monoméricas da lignina se encontram unidas por diferentes tipos de ligações.

A composição e a estrutura da lignina variam dependendo da região de cultivo do vegetal, espécie, parte e idade da planta.

O primeiro modelo estrutural de lignina foi proposto por Freudenberg para a lignina coníferas (Fengel e Wegener, 1989). Este modelo foi baseado no

conceito de polimerização desidrogenativa e satisfazia todos os dados analíticos disponíveis na época. Baseados na distribuição de unidades monoméricas e ligações entre elas, Adler e Freudenberg construíram esquemas estruturais para a lignina de madeira do tipo abeto e Nimz construiu para lignina de madeira de faia. A Figura 8 representa o esquema descrito por Adler (Sjostrom, 1981) e a Figura 9, o modelo descrito por Nimz. A estrutura da lignina pode ser representada por modelos, como os mostrados a seguir, devem ser vistos apenas como veículos de ilustração dos tipos e modos de ligação dos elementos estruturais.

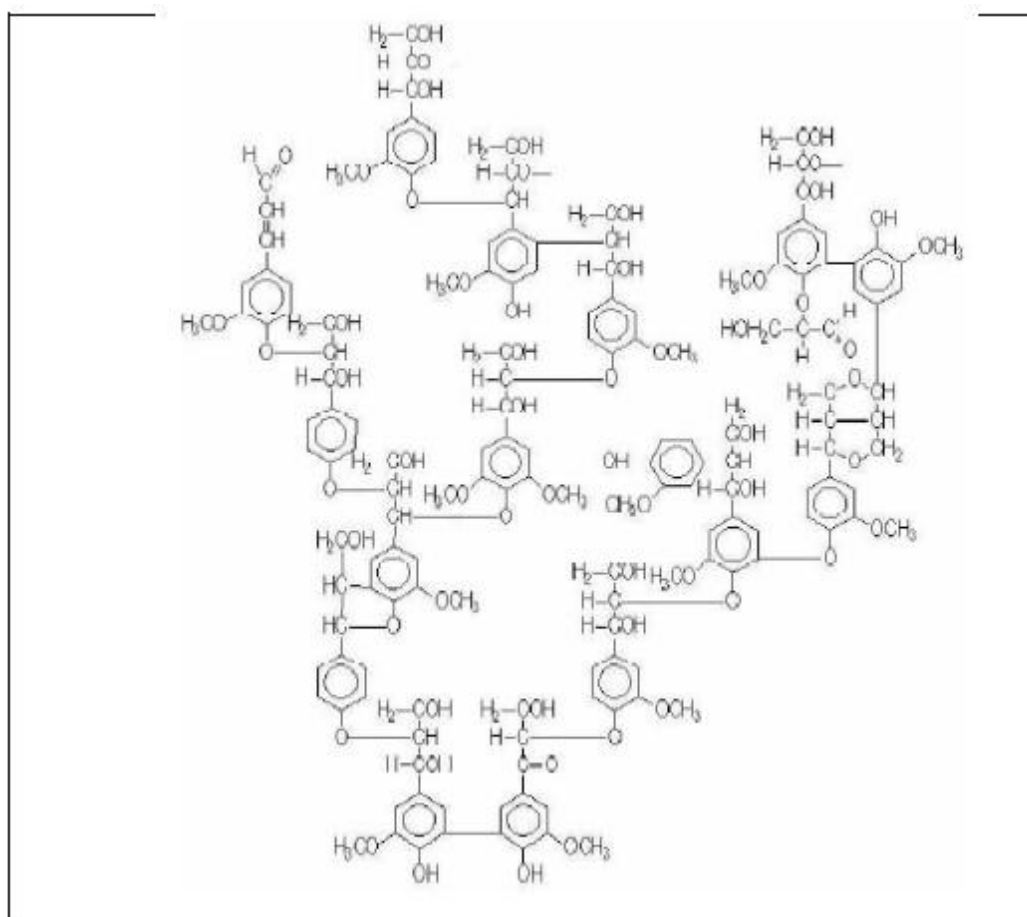


Figura 8 - Esquema estrutural da lignina de madeira mole, proposto por Adler compreendendo 16 unidades fenilpropânicas (Sjostrom, 1981).

Embora não esteja indicado no modelo estrutural, há evidências de que a lignina está ocasionalmente ligada aos polissacarídeos, principalmente através de unidades de arabinose, xilose e galactose.

A distribuição dos grupos funcionais existentes na lignina pode variar de acordo com a região morfológica da planta, com a espécie da planta e com o método de isolamento, já que a lignina precisa ser fragmentada para que possa ser retirada da planta e, dependendo dos reagentes utilizados no processo de isolamento, podem ser gerados diferentes tipos de grupos funcionais.

A lignina de bagaço de cana-de-açúcar apresenta, em seus extremos, unidades de ácido p-cumárico que estão ligados a lignina através de ligações éster. Este tipo de ligação pode ser facilmente rompido, gerando, então, como um dos produtos de degradação desta lignina, o ácido p-cumárico (Sjostrom, 1981).

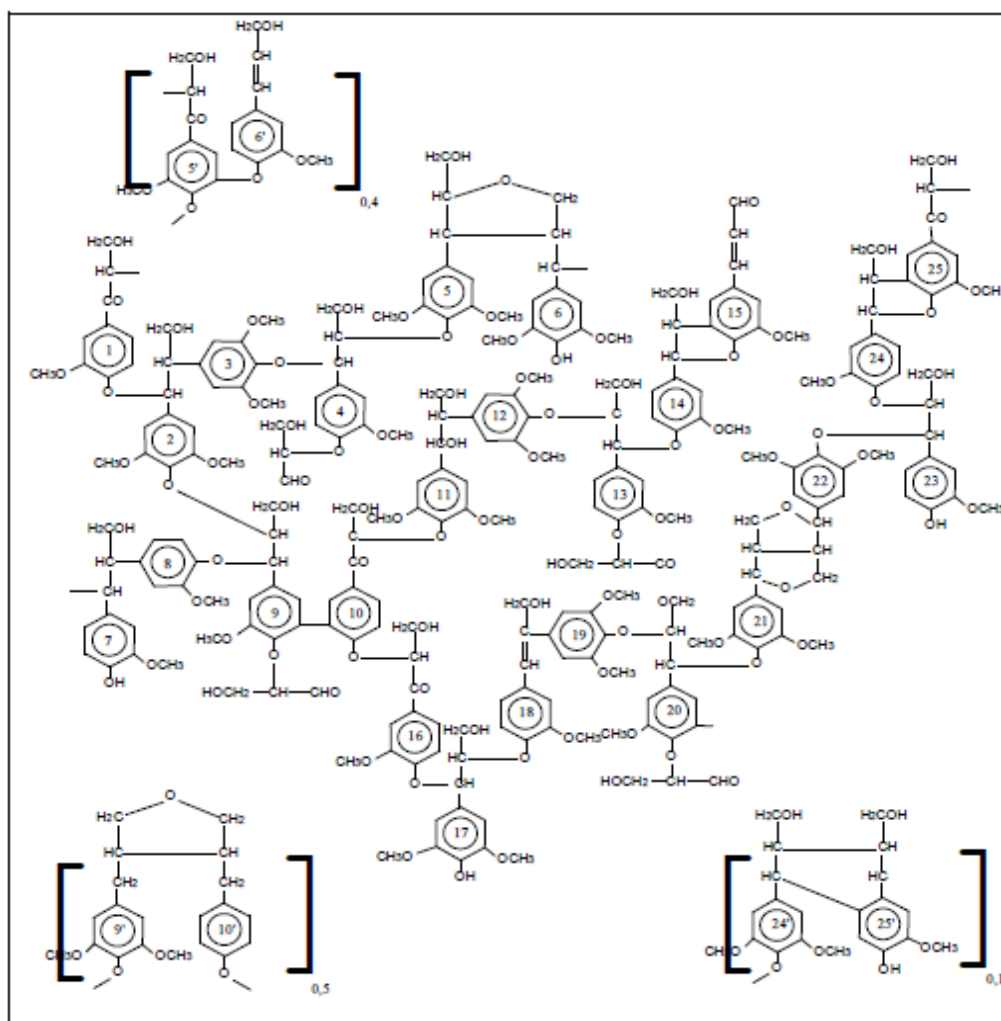


Figura 9 - Esquema estrutural da lignina de folhosas (Fengel e Wegener, 1989).

2.2.3 Biorrefinaria: contribuições e perspectivas

Embora recentes descobertas para explorações de novas reservas de petróleo como no atual cenário brasileiro após a descoberta da camada pré-sal na bacia de Santos, buscas de fontes alternativas energéticas para a substituição parcial ou mesmo integral do petróleo vêm dominando as discussões e as estratégias de planejamento político, tecnológico e econômico mundial. Porém, interesses de governos, instituições e pesquisadores não se restringem apenas ao álcool combustível, mas tende a se estender ao etanol grau químico, além de outros produtos, revitalizando assim o conceito da alcoolquímica.

O Brasil, país tropical que apresenta uma agricultura extensa e diversificada com grandes áreas agriculturáveis, como a cana-de-açúcar, grãos e outros, torna-se grande fornecedor de matérias-primas renováveis. Naturalmente, é provável que o avanço da álcoolquímica no Brasil se dê, inicialmente, com a cana-de-açúcar, resultado da tecnologia de fabricação do álcool existente e a intensa busca de tecnologia do álcool de segunda geração.

Além de ser renovável, o cultivo da cana-de-açúcar para a fabricação de álcool, substituinte da gasolina, tem outra importante consequência que é a redução das emissões de gases de efeito estufa (principalmente CO₂). Sendo a cana-de-açúcar uma planta de metabolismo fotossintético C₄, é considerada altamente eficiente na conversão de energia radiante em energia química (Rodrigues, 1995).

Embora se considere o setor sucroalcooleiro sustentável, ainda há a necessidade de transformá-lo em referência de desenvolvimento limpo. Entretanto, se faz necessária a substituição de insumos utilizados na lavoura e no processo industrial (fertilizantes, calcário, ácido sulfúrico e outros) por fontes alternativas e com o melhor aproveitamento de resíduos industriais como a vinhaça e o bagaço de cana (Macedo et al., 2004).

Como princípios da clássica refinaria, o emprego do bagaço de cana-de-açúcar abrangendo o fracionamento desse material lignocelulósico visa à liberação e separação de seus constituintes para posteriores tratamentos e são uma das motivações principais da biorrefinaria.

A possibilidade de conversão da biomassa (bagaço e palha de cana-de-açúcar, palha de cereais, madeiras, etc.) para uma variedade de produtos de maior valor agregado (energia, biomateriais e produtos químicos) contribuirá para o melhor balanço energético e a sustentabilidade de desenvolvimento econômico (Gravitis, 1998). Logo, a estratégia é a busca de desenvolvimento tecnológico na fabricação de produtos idênticos aos produzidos na indústria petroquímica, ou desenvolver e produzir produtos semelhantes que possam substituir os produtos petroquímicos a partir de biomassa vegetal.

Em particular para o setor sucroalcooleiro, a biorrefinaria começa na lavoura, com a colheita da produção agrícola. As colheitadeiras mecanizadas separam e transportam apenas partes específicas da planta (colmos), deixando na lavoura grande quantidade da biomassa produzida (palha e ponteiros). Após

o processamento da cana já nas unidades industriais, gera-se o bagaço de cana, material fibroso lignocelulósico, sendo um dos principais subprodutos da agroindústria, como proposto na Figura 10.

Considerando-se as etapas de fracionamento da biomassa, a contribuição do setor de fabricação de polpa celulósica e papel deve ser vista como uma possível fornecedora de tecnologia de processo e equipamentos, sendo que tradicionalmente ambas operam com biomassa vegetal (Curvelo, 2008).

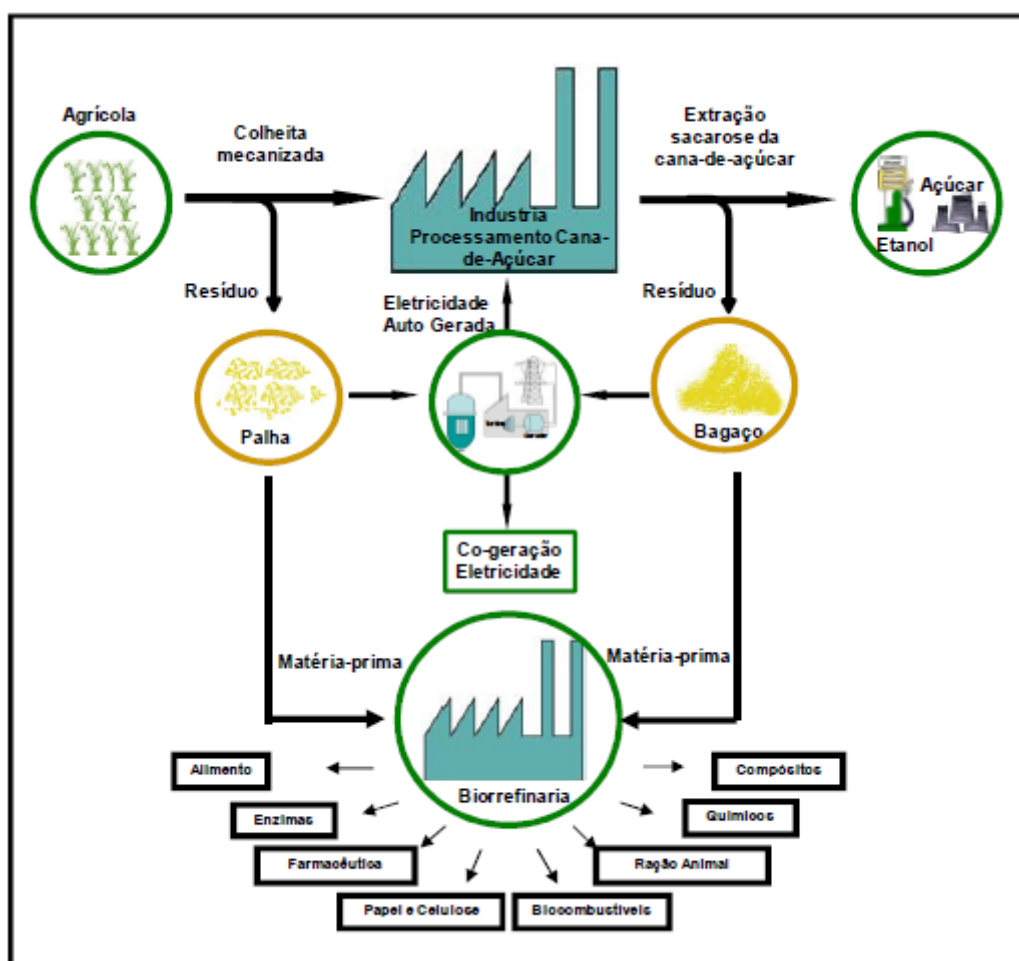


Figura 10 - Sistema integrado de uma unidade sucroalcooleira com uma biorrefinaria.

Especialistas em refinaria de biomassa acreditam que as futuras tecnologias para a biorrefinaria constituirão a indústria-chave para o presente século, promovendo o que se pode designar como uma nova revolução industrial, tamanha é a importância de que se reveste em termos de tecnologia

e dos seus efeitos sobre o atual paradigma industrial, tão dependente da matriz energética dominada pelo petróleo e seus derivados.

2.2.3.1 Biorrefinaria como potencial de agregar valores

A utilização de resíduos industriais, florestais, entre outros mais complexos como resíduos municipais, para matéria-prima na fabricação de inúmeros produtos, passam a ser indispensáveis para uma política econômica sustentável. Assim, a produção de derivados a partir destas matérias-primas, em especial a biomassa lignocelulósica, envolve tanto a transformação destes componentes, sem prévia separação, compreendendo, por exemplo, sacarificação, quanto à utilização de seus componentes principais após a realização de prétratamentos (Kamm e Kamm, 2004). Na Figura 11, encontra-se um esquema simplificado da separação dos componentes físicos e químicos.

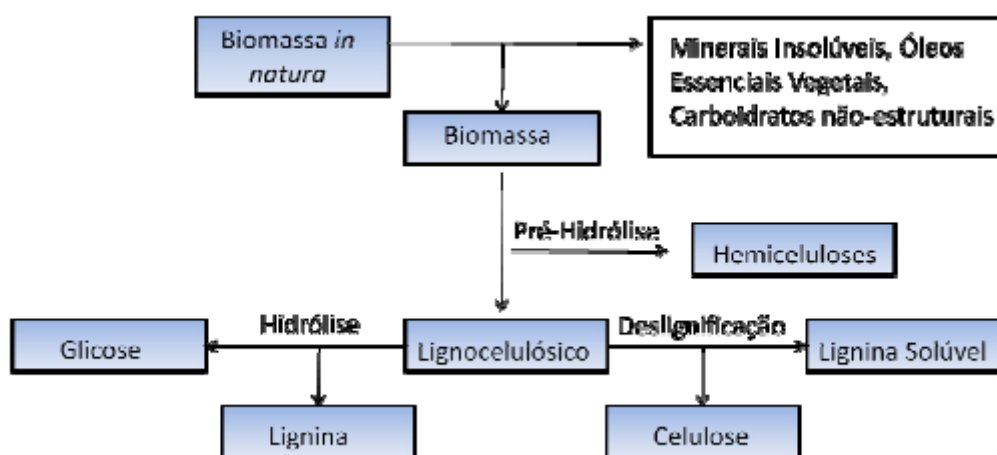


Figura 11 - Esquema simplificado de separação dos componentes de biomassa.

O desenvolvimento da biorrefinaria contempla desde a produção de produtos similares ao já obtidos por processos convencionais como produtos mais complexos na forma de obtenção e aplicação. Diversos produtos como o etanol, biodiesel, glicerol, lipídios, óleos, ácido cítrico, ácido lático, ácido acético, metanol, isopropanol, vitaminas, açúcares e proteína poderiam ser

produzidos para diversos segmentos industriais como o de alimentos, cosmético, farmacêutico entre outros (Gravitis, 1998).

Logo, a viabilidade de separação com altos rendimentos junto à obtenção dos constituintes com alto teor de pureza dado pelo caráter seletivo de reação de pré-tratamentos da biomassa se faz necessária para as posteriores etapas de transformação.

Para cavacos de madeira (resíduos da indústria de papel e celulose) e o bagaço de cana-de-açúcar (resíduo de usina de açúcar e álcool) o constituinte majoritário da biomassa, a celulose, já é utilizado na produção de polpas celulósicas e na obtenção de fibras naturais. Já para as etapas de transformações da celulose em insumos químicos tem-se, como uns dos diversos precursores, a glicose obtida através da hidrólise. A glicose pode ser transformada em etanol pelo processo convencional de fermentação etanólica e, posteriormente, transformada em etileno, propileno, butadieno e ácido acrílico. Através de outros processos fermentativos pode-se ainda obter butanol, isopropanol, glicerol, acetona, ácido acético e outros (Kamm e Kamm, 2004).

No processo de hidrólise da celulose com ácidos diluídos pode-se favorecer a reação para obter o hidroximetilfurfural (HMF) que pode ser clivado em ácido levulínico e ácido fórmico. O ácido levulínico pode ser um interessante insumo para poliésteres (Kamm e Kamm, 2004). A Figura 12 ilustra algumas possíveis transformações, empregando a celulose como matéria-prima e a glicose como precursora na obtenção de produtos de maior valor agregado.

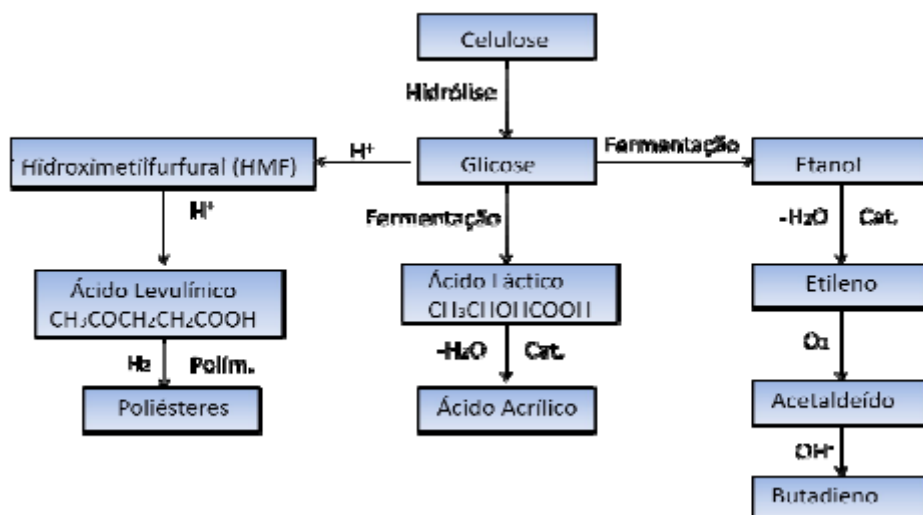


Figura 12 - Transformações a partir da celulose para diversos produtos (Kamm e Kamm, 2004).

As ligninas, o segundo constituinte majoritário da biomassa, são mais hidrofóbicas e podem ser transformadas em óleos através da hidrogenólise (Costa, 1989). Com maior interesse para as indústrias químicas produtos como fenol e ácido acético podem ser obtidos pelo processo pirolítico (Rocha et al., 2004). Para o processo oxidativos há a formação de produtos também como fenol, vanilina e ligninas oxidadas (Gonçalves, 1995). Uma vasta aplicação também para as ligninas incluem a produção de resinas fenol formaldeído e também resinas epoxi (Glasser e Lora, 1995). A Figura 13 mostra alguns produtos obtidos da lignina.

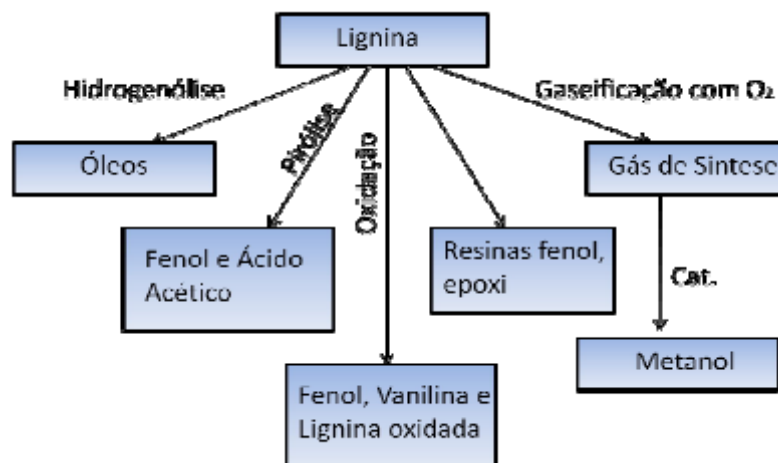


Figura 13 - Lignina como matéria-prima para diversos produtos (Costa, 1989; Gonçalves, 1995; Glasser e Lora, 2002).

Para maior aproveitamento das hemiceluloses, alguns processos de conversão podem ser adotados como o processo de pré-hidrólise em condições suaves que hidrolisa as hemiceluloses em açúcares (pentoses) para a fermentação etanólica. A separação das hemiceluloses através do processo físico de explosão a vapor leva à produção principal de furfural que forma resinas com fenol e uréia, podendo também ser hidrolisados para ácido maleico (Silva, 1995). Pode-se ainda produzir, por hidrogenação catalítica, xilitol a partir da xilose (Melaja e Hamalainen, 1977), manitol a partir de manose (Dwivedi, 1991) e um grande número de outros produtos. A Figura 14 demonstra alguns produtos obtidos a partir das hemiceluloses.

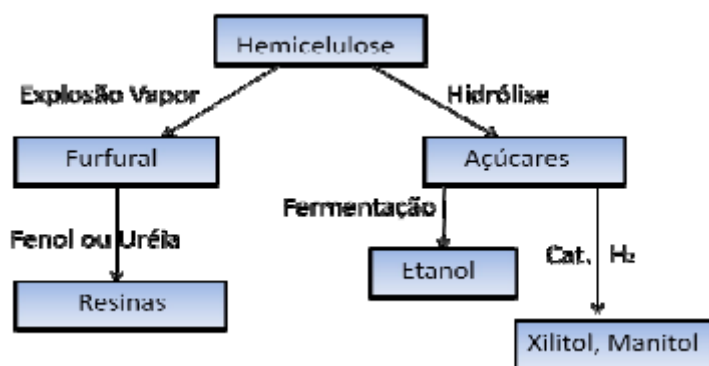


Figura 14 - O emprego das hemiceluloses para diversos produtos (Silva, 1995; Melaja e Hamalainen, 1977; Dwivedi, 1991).

As investigações de pré-tratamentos de biomassa apresentam-se amplamente desenvolvidas. Logo, a necessidade dos produtos a serem obtidos é que direcionará o mecanismo reacional a ser empregado para o melhor aproveitamento da matéria-prima.

2.2.3.2 Pré-tratamentos para separação dos componentes majoritários da biomassa

As madeiras, o bagaço de cana-de-açúcar, assim como outros materiais lignocelulósicos, são matérias-primas formadas de fibras em múltiplas camadas, ligadas entre si por forças interfibrilares e pela lignina que age como ligante. A celulose compactada e complexada na matriz juntamente com a lignina e as hemiceluloses apresenta-se altamente ordenada e cristalina com regiões amorfas (Fengel e Wegener, 1989). Obviamente que a redução da cristalinidade da celulose e a remoção da lignina e das hemiceluloses são importantes objetivos para uma separação seletiva dos constituintes majoritários da biomassa.

Logo, em termos gerais, os processos de pré-tratamentos são empregados para desorganizar a estrutura lignocelulósica (celulose, hemiceluloses e lignina) do vegetal e posteriormente, a separação seletivamente de seus constituintes.

Diversos métodos de pré-tratamentos do material lignocelulósico vêm sendo discutidos amplamente na literatura. Dos muitos métodos de pré-tratamentos, alguns têm demonstrado ser eficientes na separação exclusiva das ligninas, largamente empregado nas indústrias de papel e celulose. Outros métodos objetivam a remoção exclusiva dos complexos de carboidratos e outros a própria estrutura de celulose. Esses pré-tratamentos são geralmente classificados como pré-tratamento físico, pré-tratamento químico e pré-tratamento biológico (Fan et al., 1987).

Dentre os vários métodos de pré-tratamentos, os processos químicos têm sido extensivamente utilizados para a remoção da lignina da matriz lignocelulósica e para a desorganização da estrutura cristalina da celulose. Tradicionalmente, a indústria de papel emprega a deslignificação química para

a produção de seus produtos derivados da polpa celulósica. Dentre os vários métodos, os processos químicos de polpação que empregam reagentes inorgânicos são os processos Soda, processo Kraft e processo Sulfito. Os processos organossolve utilizam solventes orgânicos geralmente associados com água (Curvelo, 1992). O processo organossolve etanol/água tem se mostrado promissor pela alta eficiência, sistema simples de recuperação de solvente e da fração de lignina extraída, com potencial para diversas aplicações industriais (Glasser e Lora, 2002). O pré-tratamento ácido do material lignocelulósico tem sido amplamente empregado para a remoção da fração de hemicelulose (Bungay, 1992).

Outro método aplicado para o pré-tratamento, que é o nosso caso em estudo neste presente trabalho, é por explosão com fluido pressurizado CO_2 através de um extrator, para a hidrólise da biomassa lignocelulósica. O método baseia-se na utilização de CO_2 como um fluido supercrítico, que se refere a um fluido que está na forma de estado gasoso, mas é comprimido a temperatura e pressão até o seu ponto crítico. A explosão de pressão com o fluido supercrítico penetra em pequenos poros da lignocelulose, com isso ocorre uma perturbação da celulose e da estrutura hemicelulose e conseqüentemente ocorre um aumento da área de superfície acessível do substrato ao ataque enzimático (Kim e Hong, 2001).

Operação em temperaturas baixas em comparação com outros métodos impede a degradação de monossacarídeos. De qualquer forma, os esforços atuais para desenvolver esses métodos não garantem viabilidade econômica ainda. A requisitos de pressão muito alta, por este fato, é especialmente uma questão preocupante. Por outro lado, a utilização de dióxido de carbono é uma alternativa atraente para reduzir custos devido à sua co-produção de etanol durante a fermentação. Outras vantagens são a não-toxicidade, não-inflamabilidade e fácil recuperação após a extração (Zheng et al., 1998).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Neste trabalho foi usado um complexo celulolítico obtido de *Trichoderma reesei* (NS 50013), gentilmente cedido pela Novozymes-Brasil. Este complexo enzimático catalisa a quebra das ligações da celulose em glicose e celobiose, além de polímeros de glicose com alto grau de polimerização, sendo este último em menor intensidade. O dióxido de carbono (CO₂) utilizado foi fornecido pela White Martins S.A. (99% de pureza na fase líquida). O bagaço de cana foi obtido em uma destilaria local, após a prensagem para a extração do caldo.

O bagaço de cana foi seco em estufa à 105°C durante 24 horas, moído em engenho (moedor de cana elétrica) e peneirado. Foi coletada a fração que passou pela peneira de mesh 40 (abertura da malha de 0,42mm), sendo armazenada em ambiente inerte até o momento dos experimentos.

3.2 Aparato experimental da unidade de pré-tratamento do bagaço de cana com CO₂ supercrítico e delineamento experimental

A unidade experimental é constituída de um reator encamisado com diâmetro de 4 cm e comprimento de 20 cm, dois banhos termostáticos, uma bomba de seringa (Teledyne ISCO Modelo 500D), um cilindro de CO₂, um transdutor de pressão, (Smar, LD301) equipado com um programador portátil (Smar, HT 201) com uma precisão de 0,12 bar e uma válvula micrométrica, conforme diagrama esquemático apresentado na Figura 15.

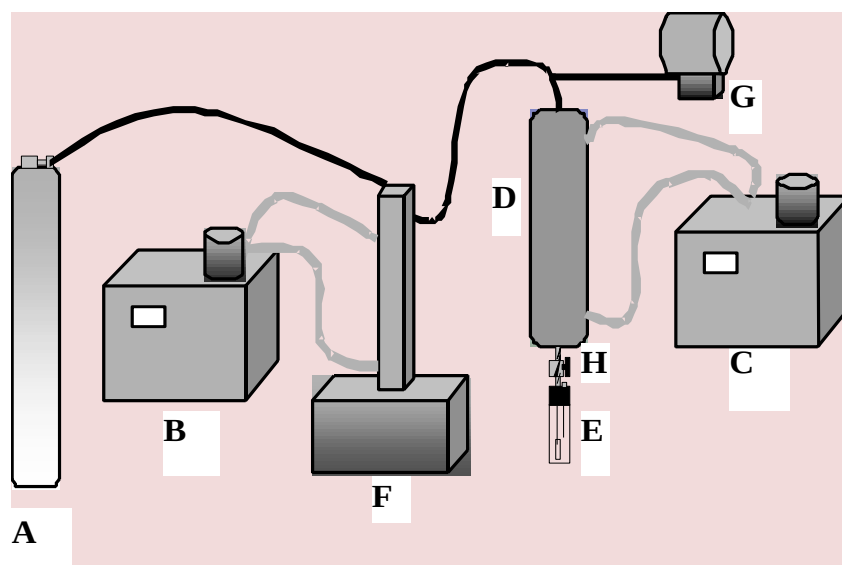


Figura 15 – Unidade experimental do extrator a alta pressão utilizado para obtenção dos dados. A – Cilindro de CO₂; B, C – Banhos termos táctic os; D - Extrator; E – Coletor de amostra (Becker 250ml); F – Controlador de alta pressão; G – Transdutor de pressão analógico; H – Aquecedor elétrico.

Na Figura 16, é mostrada uma fotografia da unidade montada do extrator com um cilindro de CO₂ com todos os seus respectivos componentes necessário para a obtenção dos dados.



Figura 16 - Foto da unidade experimental a alta pressão (extrator) utilizado para obtenção dos dados.

O procedimento experimental para o pré-tratamento do bagaço de cana consistiu na adição de aproximadamente 10g de amostra com umidade definida. Após este procedimento o reator era fechado e o sistema todo pressurizado e aquecido até a pressão e temperatura estabelecidas. Atingida a temperatura e pressão desejada iniciava-se o experimento por um tempo estabelecido pelo planejamento. Ao final, o sistema era despressurizado à taxa constante e o material sólido retirado do reator e levado à estufa a 105°C durante 24 horas para a remoção da água.

A eficiência de hidrólise foi avaliada através da realização da hidrólise enzimática do bagaço de cana pré-tratado. Para as reações de hidrólise foram empregados 1 g de material sólido seco à 50°C, usando tampão acetato de sódio 0.1M pH 4.5 durante 8 horas sob agitação orbital de 100 rpm. As condições de reação foram previamente definidas no trabalho de Balsan et al., 2012. Todos os resultados foram expressos em termos de g de açúcares redutores totais (ART) por grama de bagaço seco pré-tratado (g ART/gds).

Inicialmente, 5 variáveis foram investigadas durante o pré-tratamento do bagaço de cana usando CO₂ supercrítico: temperatura, pressão, taxa de despressurização, umidade e tempo. Para avaliar o efeito de cada uma dessas variáveis na eficiência de hidrólise foi realizado um planejamento do tipo Plackett-Burman com 12 experimentos, mais a triplicata no ponto central (PB12).

As faixas de cada uma das variáveis estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Níveis das variáveis independentes aplicadas para o planejamento experimental Plackett-Burman.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	1
Temperatura (°C)	40	60	80
Pressão (bar)	100	175	250
Taxa de despressurização (Kg/m ³ .min)	50	125	200
Umidade (g)	45	55	65
Tempo (min)	30	75	120

Baseado na análise dos resultados do PB12, um novo delineamento composto central (DCC) foi realizado para avaliar o efeito de temperatura, pressão e tempo de reação. Neste DCC, a umidade foi mantida constante em 65% e a taxa de despressurização em 200 kg.m⁻³.min⁻¹.

A Tabela 2 apresenta os níveis avaliados no DCC. Todos os resultados foram analisados usando o software Statistica 8.0.

Tabela 2 - Níveis das variáveis estudados no DCC 2³ para avaliar o efeito do tempo, pressão e temperatura.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	1
Tempo (min)	60	120	180
Pressão (bar)	100	175	250
Temperatura (°C)	60	70	80

3.3 Pré-tratamento do bagaço de cana combinando ultra-som e CO₂ supercrítico

Visando aumentar a eficiência de hidrólise do bagaço de cana, foi empregado o tratamento combinado de ultra-som com CO₂ supercrítico. O aparato experimental referente ao tratamento com ultra-som consistiu de um banho ultrassônico (USC - 1800A, UNIQUE, com frequência ultrassônica de 40 KHz e potência total de 155 W), além da unidade de pré-tratamento com CO₂ supercrítica descrita acima.

Inicialmente, 8 amostras contendo 10 g de bagaço de cana com 65% de umidade foram mantidas no banho de ultra-som por um período de 1-8 horas de reação. A cada hora de reação uma amostra era retirada do banho, sendo divididas em duas frações de 5 g cada. Uma fração era usada para a realização de hidrólise imediatamente após o tratamento com ultra-som e a outra levada ao pré-tratamento com CO₂ supercrítico antes do processo de hidrólise. As condições de pré-tratamento com CO₂ supercrítico foram mantidas fixas: pressão 250 bar, temperatura 80°C, umidade 65%, tempo de reação de 2h e taxa de despressurização 200 kg.m⁻³.min⁻¹). O mesmo procedimento foi realizado considerando 100% e 60% da potência ultrassônica (155 e 93W, respectivamente).

3.4 Método do Ácido Dinitrosalicílico (DNS) – Miller (1959)

Para quantificação do ART foi adotado o método colorimétrico do 3,5-Dinitrosalicílico (DNS) (Miller, 1959). Todos os reagentes utilizados nas análises foram de pureza analítica de 99,9%, onde foram tomados os devidos cuidados nas pesagens e medidas de volume.

3.4.1 Reagentes utilizados

Os reagentes utilizados para produção do (DNS) (Miller, 1959).

- Ácido dinitrosalicílico (DNS);
- NaOH 2N;
- Tartarato duplo de Sódio e Potássio (Sal de Rochelle);
- Glicose.

3.4.2 Metodologia empregada

3.4.2.1 Preparação do reagente DNS

Adicionar 50 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 2N a 2,5 g de DNS e aproximadamente 125 mL de água destilada e agitar até à dissolução. Posteriormente, adicionar 75g do sal de Rochelle e completar o volume da solução para 250 mL. Este reagente é instável na presença de luz e CO₂.

3.4.2.2 Obtenção da curva padrão

Conforme Tabela 3, após adicionar o reagente de DNS, agitar a mistura e levar os tubos ao banho-maria a 100 °C durante 5 minutos. Deixar esfriar a temperatura ambiente e completar o volume para 5 mL com água destilada. Fazer a leitura em $\lambda = 540\text{nm}$ no espectrofotômetro U.V.

Tabela 3 - Valores da variação de concentração de glicose para obtenção da curva padrão.

	Concetração de glicose	Absorbância 1	Absorbância 2	Média de absorbância
1	0,3	0,0737	0,0684	0,0711
2	0,5	0,1317	0,1435	0,1376
3	0,6	0,1824	0,1751	0,1788
4	0,9	0,2695	0,2626	0,2661
5	1,2	0,3940	0,3812	0,3876
6	1,8	0,6060	0,6221	0,6141
7	2,4	0,8072	0,8376	0,8224
8	3,0	0,9292	1,0325	0,9809

Com os valores das médias de absorbância plotamos um gráfico de dispersão para obtenção da curva padrão. A Figura 17 nos apresenta a curva padrão.

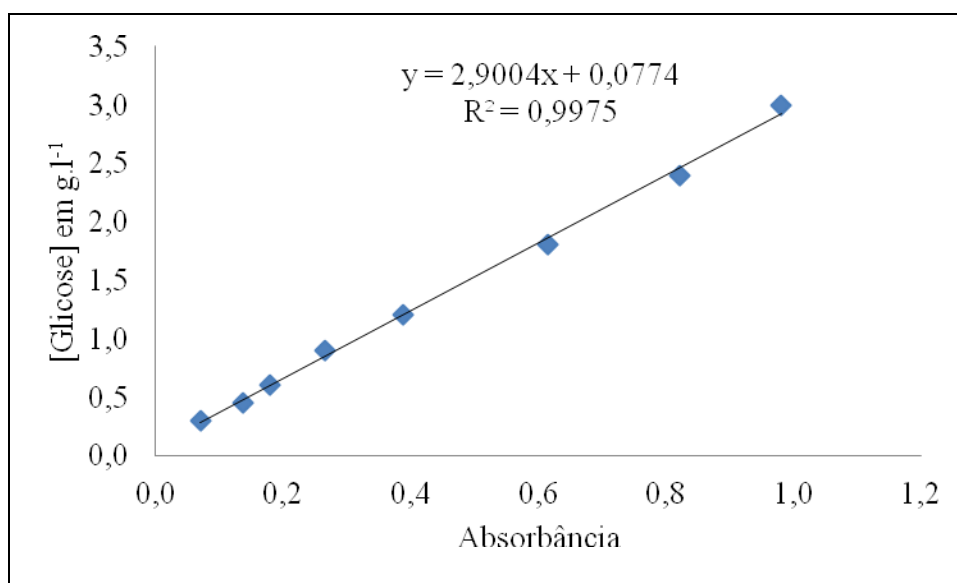


Figura 17 - Curva padrão com variação da concentração de glicose pela média de absorbância para obtenção da equação da reta

A equação da reta obtida na Figura 17, será aplicada nos cálculos posteriores para conversão de ART total g/g, grama de glicose por grama de bagaço de cana pré-tratado.

3.4.3 Etapas do desenvolvimento do método (DNS) para as amostras em estudo

Abaixo estão descritas as etapas do desenvolvimento do método de DNS aplicado nas amostras em estudo:

- Primeiramente o complexo celulolítico (enzima celulase) foi diluída. A diluição feita foi de 1:10, E/T, (1) enzima celulase, (10) tampão acetato de sódio pH 5.5;

- Nos tubos de ensaio foram adicionados:

Amostra que passaram pelo processo do pré-tratamento físico vam para o enzimático: 1g de substrato (bagaço de cana) pré-tratado físico mais 3,3ml da diluição 1:10 preparada acima E/T e mais 6,7ml tampão acetato de sódio pH 5.5.

Amostras que passaram pelo pré-tratamento físico e não vam para o enzimático, ou seja, sem tratamento enzimático (Branco): 1g de substrato (bagaço de cana) pré-tratado a alta pressão mais 10 ml tampão acetato de sódio pH 5.5.

- Após a etapa anterior os tubos de ensaio vam para um banho maria a 50°C.
- Os tubos de ensaios contendo as amostras sem tratamento enzimático (branco) permanecem 1 hora em banho maria, já os tubos de ensaio contendo as amostras com tratamento enzimático permanecem 8 horas em banho maria.
- Após 1 hora em banho maria os tubos de ensaio contendo as amostras sem tratamento enzimático (branco), vam direto para etapa final. O restante dos tubos de ensaio sao retirados do banho maria após 8 horas, são os tubos de ensaio contendo as amostras com tratamento

enzimático, as mesmas são diluídas novamente em 1:10, explicado no item abaixo e após passaram para a etapa final.

- Após o tempo de residencia em banho maria de 8 horas os tubos de ensaio contendo as amostras com tratamento enzimático foram diluídos novamente em água destilada diluição de 1:10, (1) é retirado 1 ml do liquido sobrenadante após centrifugação para remover o resíduo sólido do bagaço de cana pré-tratado físico e enzimático e (10) é adicionado 9 ml de água destilada.

- Etapa Final do método de (DNS), foi adicionado em tubos de ensaios vazios:

- Com um pipetador automático foram adicionados em novos tubos de ensaio 0,5 ml da amostra mais 0,5 ml de DNS.
- Fazer o branco, para comparar os valores obtidos de açúcar redutor e um valor padrão sem açúcar redutor, que é a solução pura de dns mais água destilada ficando isenta de açúcar redutor.

Obs: para obtenção do branco, adiciona-se com um pipetador automático 0,5 ml H₂O destilada mais 0,5 ml de (DNS).

- Colocar os tubos reagirem em temperatura de ebulição por 5 min.
- Colocar os tubos em banho de gelo, para parar a reação.
- Adicionar 8 ml de tartarato.
- Agitar.
- Ler a absorbância das amostras em triplicata em espectrofotometria visível a 540nm.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Pré-tratamento do bagaço de cana usando CO₂ supercrítico

Na Tabela 4, é apresentada a Matriz dos resultados experimentais obtidos no planejamento Plackett-Burman com triplicata no ponto central para avaliar o efeito da temperatura, pressão, taxa de despressurização, umidade e tempo no pré-tratamento do bagaço de cana usando CO₂ supercrítico. A influência das variáveis de processo foi determinada através da hidrólise enzimática da celulose e quantificada em termos da quantidade de açúcar redutor total liberado.

Tabela 4 - Matriz dos resultados experimentais obtidos no planejamento Plackett-Burman com triplicata no ponto central para avaliar o efeito da temperatura, pressão, taxa de despressurização, umidade e tempo.

Exp.	Tempera. (°C)	Pressão (bar)	Taxa despressurização (Kg/m ³ .min)	Umidade (g)	Tempo (min)	Art (g/g)
1	(80) 1	(100) -1	(200) 1	(45) -1	(30) -1	0,24
2	(80) 1	(250) 1	(50) -1	(65) 1	(30) -1	0,33
3	(40) -1	(250) 1	(200) 1	(45) -1	(120) 1	0,26
4	(80) 1	(100) -1	(200) 1	(65) 1	(30) -1	0,22
5	(80) 1	(250) 1	(50) -1	(65) 1	(120) 1	0,38
6	(80) 1	(250) 1	(200) 1	(45) -1	(120) 1	0,36
7	(40) -1	(250) 1	(200) 1	(65) 1	(30) -1	0,21
8	(40) -1	(100) -1	(200) 1	(65) 1	(120) 1	0,22
9	(40) -1	(100) -1	(50) -1	(65) 1	(120) 1	0,21
10	(80) 1	(100) -1	(50) -1	(45) -1	(120) 1	0,25
11	(40) -1	(250) 1	(50) -1	(45) -1	(30) -1	0,22
12	(40) -1	(100) -1	(50) -1	(45) -1	(30) -1	0,19
13	(60) 0	(175) 0	(125) 0	(55) 0	(75) 0	0,20
14	(60) 0	(175) 0	(125) 0	(55) 0	(75) 0	0,24
15	(60) 0	(175) 0	(125) 0	(55) 0	(75) 0	0,22

Os valores de ART apresentados na Tabela 4 mostram uma variação de 0,19 a 0,38 (g/g), ou seja, de 190 a 380mg de ART em 1g de bagaço.

Os dados da Tabela 4 foram usados para o cálculo dos efeitos principais das variáveis independentes, cujos resultados estão apresentados na Figura 18, na forma de gráfico de Pareto.

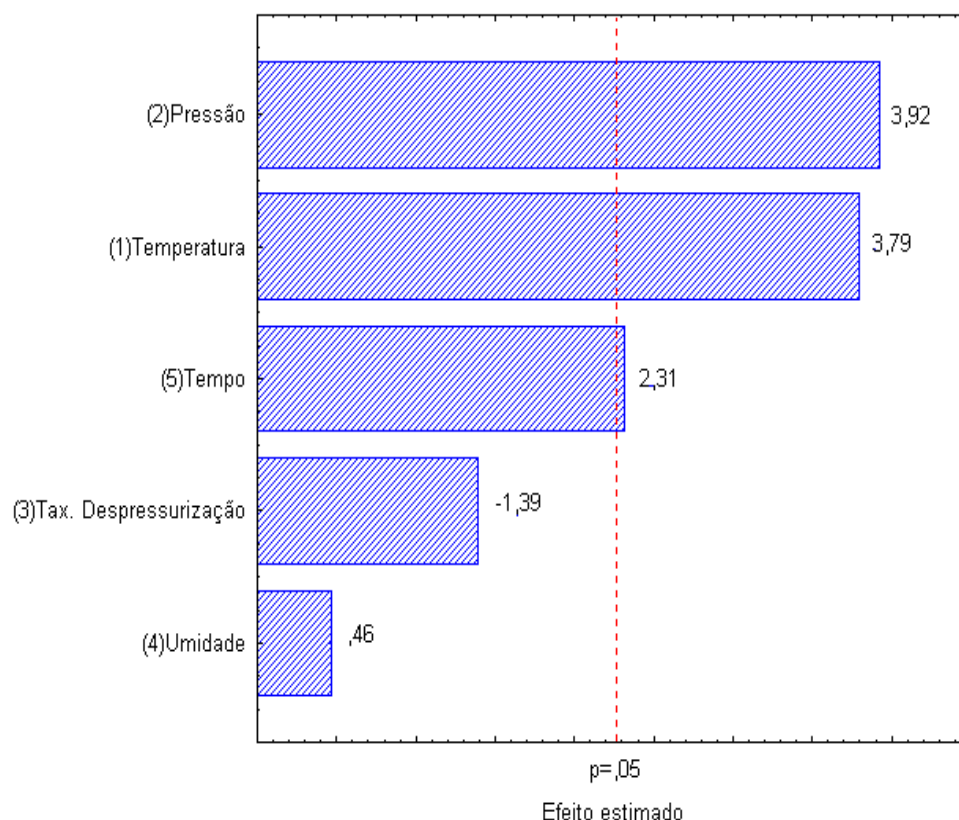


Figura 18 - Gráfico de Pareto mostrando os efeitos dos parâmetros lineares das variáveis independentes sobre o ART.

Como pode ser visto, as variáveis pressão, temperatura e tempo de tratamento foram estatisticamente significativas ($p < 0.05$). Os efeitos destas variáveis foram positivos, indicando que o aumento das suas faixas de avaliação poderia levar ao aumento da liberação de ART. As demais variáveis (taxa de despressurização e umidade) não foram estatisticamente significativas. O gráfico de Pareto apresenta os efeitos que cada variável independente representa no planejamento aplicado. A pressão, temperatura e o tempo foram significativos a nível de confiança estipulados de 95%.

Baseado nos resultados obtidos no delineamento PB12, um novo delineamento composto central (DCC) foi realizado para avaliar os efeitos de temperatura, pressão e tempo de tratamento, sendo deslocados os seus níveis para avaliar uma faixa maior. As variáveis umidade e taxa de despressurização foram fixadas para todos os experimentos, sendo mantidas em 65% e 200 kg.m⁻³.min⁻¹, respectivamente.

Na Tabela 5 são apresentados os resultados experimentais obtidos no DCC 2³ com triplicata no ponto central para avaliar o efeito do tempo, pressão e temperatura. Os valores apresentados com relação a liberação de ART mostram uma variação de 0,22 a 0,40 (g/g), ou seja, de 220 a 400mg de ART em 1g de bagaço.

Tabela 5 - Matriz dos resultados experimentais obtidos no (DCC) 2³ com triplicata no ponto central

Exp.	Tempo (min)	Pressão (bar)	Temperatura (°C)	Art (g/g)
1	(60) -1	(100) -1	(60) -1	0,22
2	(180) 1	(100) -1	(60) -1	0,24
3	(60) -1	(250) 1	(60) -1	0,24
4	(180) 1	(250) 1	(60) -1	0,26
5	(60) -1	(100) -1	(80) 1	0,24
6	(180) 1	(100) -1	(80) 1	0,27
7	(60) -1	(250) 1	(80) 1	0,37
8	(180) 1	(250) 1	(80) 1	0,40
9	(120) 0	(175) 0	(70) 0	0,32
10	(120) 0	(175) 0	(70) 0	0,33
11	(120) 0	(175) 0	(70) 0	0,30

Os dados da Tabela 5 foram usados para o cálculo dos efeitos lineares e de interação entre as variáveis independentes e os resultados estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Matriz dos efeitos dos dados experimentais obtidos do DCC com triplicata no ponto central.

	Efeito	Erro padrão	t(4)	p	-95,%	+95,%
Médias	0,197069	0,008485	23,22615	0,000020	0,173511	0,220626
(1)Tempo	0,011192	0,019899	0,56247	0,603824	-0,044055	0,066440
(2)Pressão	0,066762	0,019899	3,35510	0,028434	0,011514	0,122009
(3)Temperatura	0,070592	0,019899	3,54761	0,023850	0,015345	0,125840
1 by 2	-0,002254	0,019899	-0,11327	0,915276	-0,057501	0,052993
1 by 3	0,003423	0,019899	0,17203	0,871769	-0,051824	0,058670
2 by 3	0,060685	0,019899	3,04970	0,038039	0,005437	0,115932

Os termos lineares referentes à pressão e temperatura, bem como a interação entre eles foram estatisticamente significativos ($p < 0.05$), ou seja, a nível de confiança de 95% sendo todos positivos. Os demais termos não apresentaram influência estatisticamente positiva a nível de confiança estipulado. Embora a análise dos efeitos tenha indicado que o aumento da temperatura e pressão poderia levar ao incremento da quantidade de ART liberado através da hidrólise enzimática, não foi realizado mais um delineamento investigando estas variáveis, pois o reator já estava operando no limite máximo para pressão (250 bar). Com relação à temperatura não foi aumentado o seu valor acima de 80°C, pois uma das principais vantagens do uso de CO₂ supercrítico para o pré-tratamento de materiais lignocelulósicos é o uso de temperaturas amenas, o que minimiza a formação de compostos de degradação da lignina, os quais inibem a fermentação.

Para melhor visualizar a influência das variáveis de processo na liberação de ART, os efeitos apresentados na Tabela 6 foram usados para a determinação dos coeficientes de regressão do modelo quadrático, os quais são calculados dividindo o efeito por dois. Para a validação desse modelo, o mesmo foi submetido à análise de variância (ANOVA), cujos resultados estão apresentados na Tabela 7. Como pode ser visto, o modelo gerado é válido, uma vez que apresenta um coeficiente de regressão de 0.9428, indicando que o modelo consegue explicar 94% das variações experimentais, além de um valor de F calculado cerca de 5 vezes maior que o F tabelado. Nesse sentido, o

modelo pode ser usado para o cálculo das curvas de contorno, as quais estão apresentadas nas Figuras 18, 19 e 20.

Tabela 7 - ANOVA para o modelo quadrático gerado a partir dos dados do DCC.

Tratamento	SQ	GL	QM	F _(cal)
Regressão	0,026530	6	0,026530	33,501525
Resíduo	0,003168	4	0,000792	
Total	0,029698	10		

$F_{(tab)6;4;0,95}: 6,163132 \quad R^2=0,9428 \quad \text{Modelo válido: } f_{(cal)} > f_{(tab)}$

Como pode ser visualizado na Figura 19, para interação do tempo e pressão, a máxima quantidade de ART é obtida para uma faixa de tempo compreendida entre 60 e 180 min, dependendo da pressão estabelecida, pode se obter um rendimento maior diminuindo a pressão e aumentando o tempo de residência no extrator, ou vice-versa, diminuindo o tempo e aumentando a pressão obtemos o mesmo rendimento ótimo.

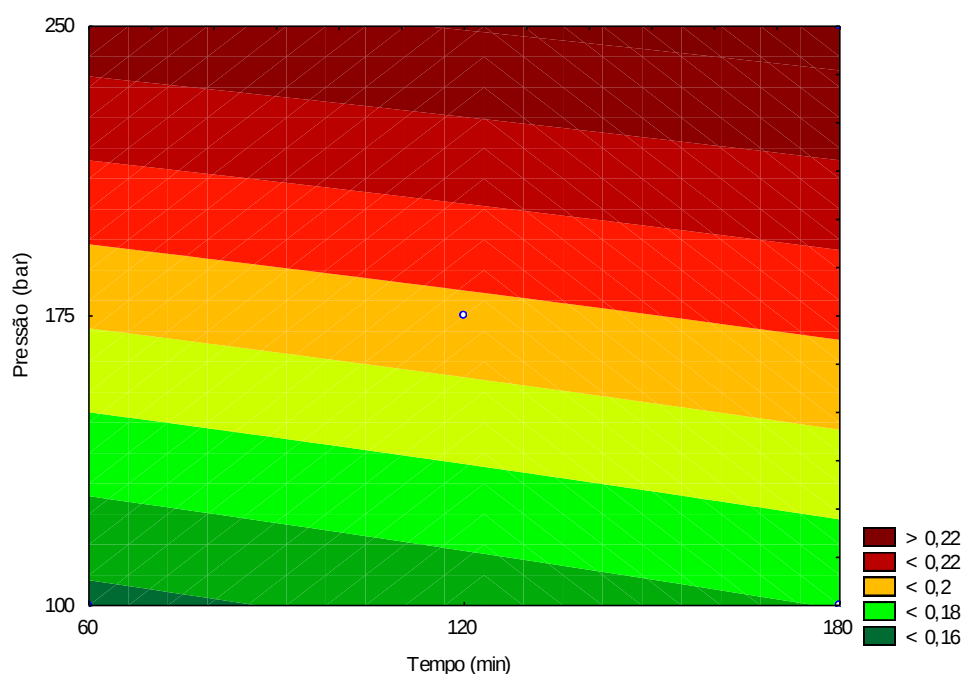


Figura 19 - Curva de contorno mostrando a influência do tempo e pressão sobre a eficiência do pré-tratamento do bagaço de cana usando CO₂ supercrítico

Como pode ser visualizado na Figura 20, para interação do tempo e temperatura, a máxima quantidade de ART é obtida para uma faixa de tempo compreendida entre 60 e 180 min, dependendo da temperatura estabelecida, pode se obter um rendimento maior diminuindo a temperatura e aumentando o tempo de residência no extrator, ou vice-versa, diminuindo o tempo e aumentando a temperatura obtemos o mesmo rendimento ótimo.

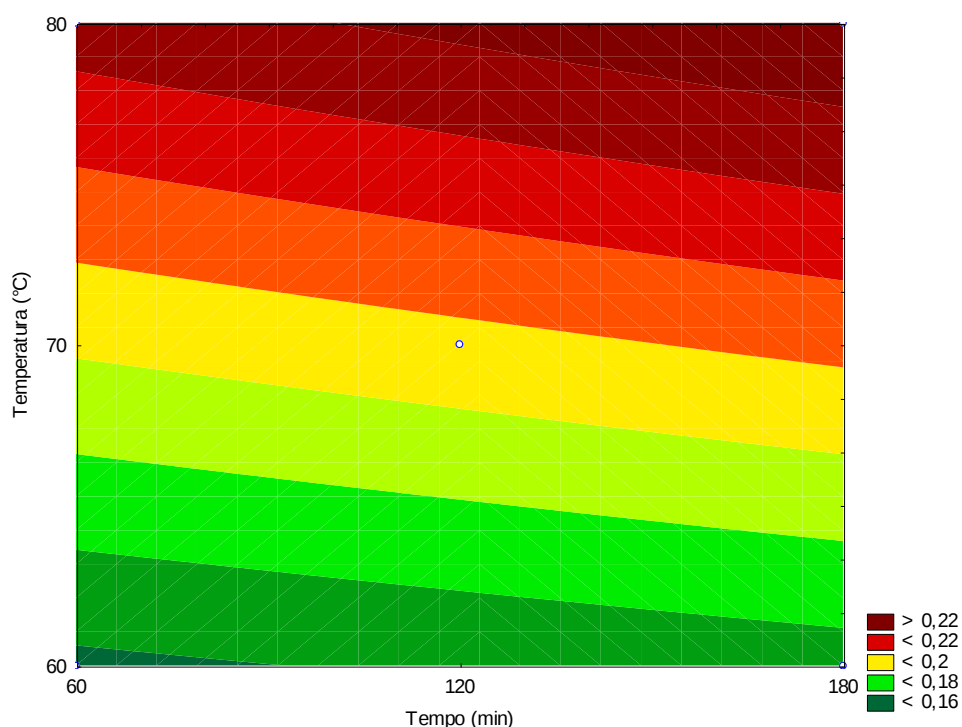


Figura 20 - Curva de contorno mostrando a influência do tempo e da temperatura sobre a eficiência do pré-tratamento do bagaço de cana usando CO₂ supercrítico

Como pode ser visualizado na Figura 21, para interação de pressão e temperatura, a máxima quantidade de ART é obtida para uma faixa de pressão compreendida acima de 230 bar, e para a temperatura acima de 75 °C

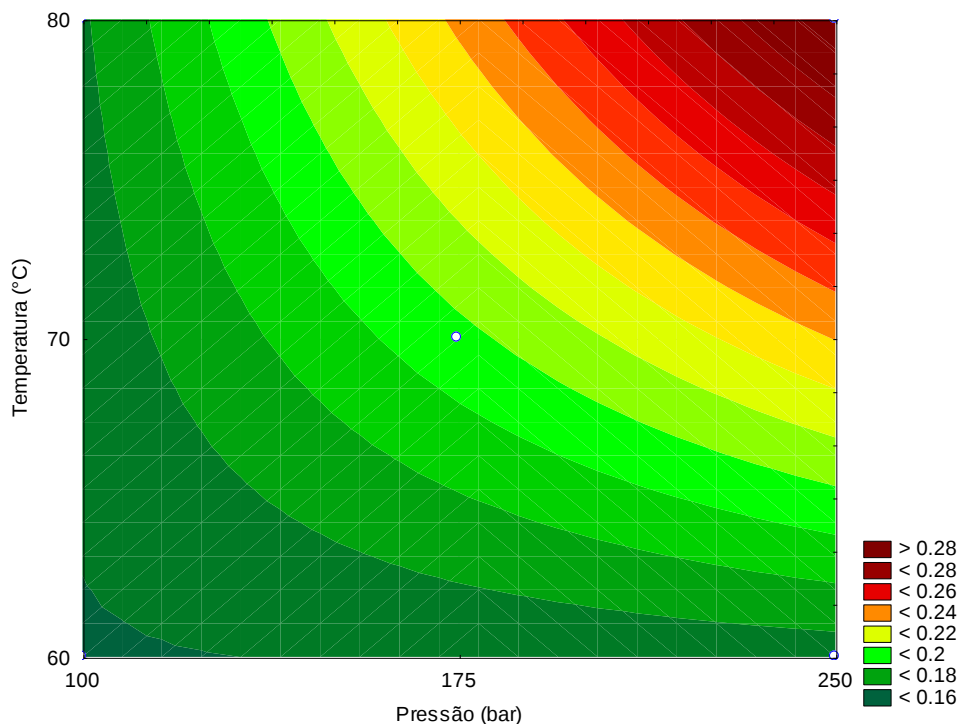


Figura 21 - Curva de contorno mostrando a influência da pressão e da temperatura sobre a eficiência do pré-tratamento do bagaço de cana usando CO₂ supercrítico

4.2 Pré-tratamento do bagaço de cana combinando ultra-som e CO₂ supercrítico

Tendo em vista os resultados anteriores que sugerem o aumento da eficiência de hidrólise da celulose presente no bagaço de cana e, levando-se em conta a limitação de equipamento/processo para aumentar as variáveis pressão/temperatura, optou-se por realizar um tratamento no bagaço de cana antes do tratamento com CO₂ supercrítico, conforme descrição na seção material e métodos. A Figura 22 apresenta os resultados obtidos considerando o tratamento com ultra-som para uma potência ultrassônica de 92 W (60% da potência nominal). A partir dessa Figura é possível verificar que o tratamento somente com ultra-som ou combinando ultra-som com CO₂ supercrítico sem a hidrólise enzimática apresenta baixa conversão. No entanto, é possível verificar que o tratamento com ultra-som combinado com CO₂ supercrítico propiciou um aumento considerável na conversão da celulose pelo complexo enzimático celulolítico, indicando que estes procedimentos são efetivos para o tratamento

de material lignocelulósico. Além disso, é possível verificar que após 4 horas de tratamento com ultra-som não é verificada variação expressiva na liberação de ART.

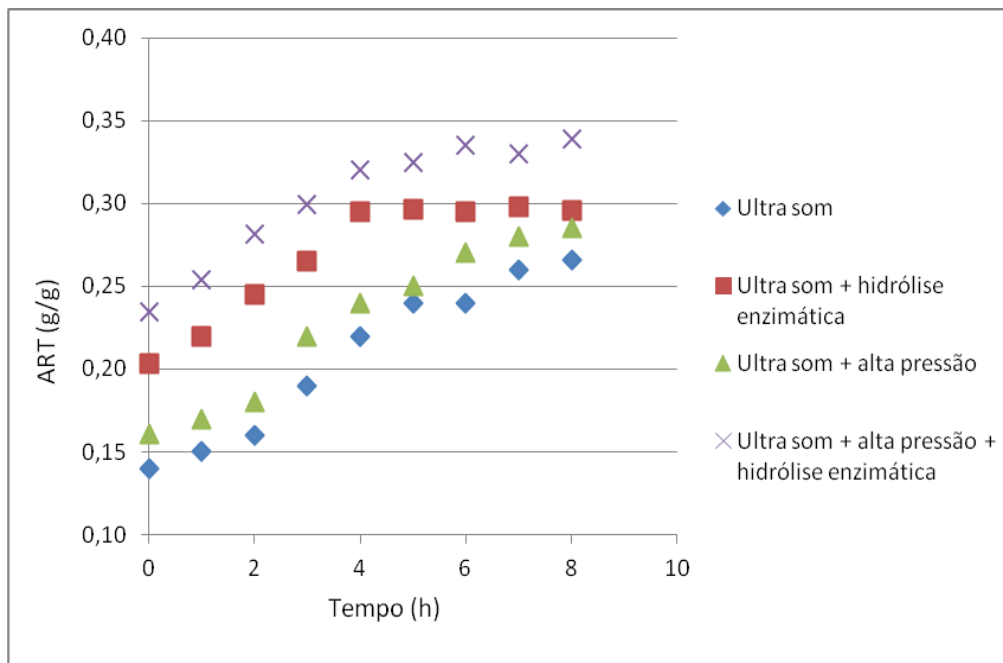


Figura 22 - Avaliação cinética para pré-tratamentos físicos combinado com enzimático, na potência de 60% do ultra-som.

A Figura 23 apresenta os resultados referentes ao tratamento com ultra-som considerando 100% da potência nominal do banho (154 W). A partir desta figura é possível verificar um comportamento similar ao obtido na potência de 92W. A diferença está nas primeiras horas de residência das amostras no ultra som, ocorreram uma maior obtenção de ART, pelo fato que a vibração ultra-sônica foi maior fazendo com que ocorresse uma maior solubilização e rompimento da celulose e hemicelulose.

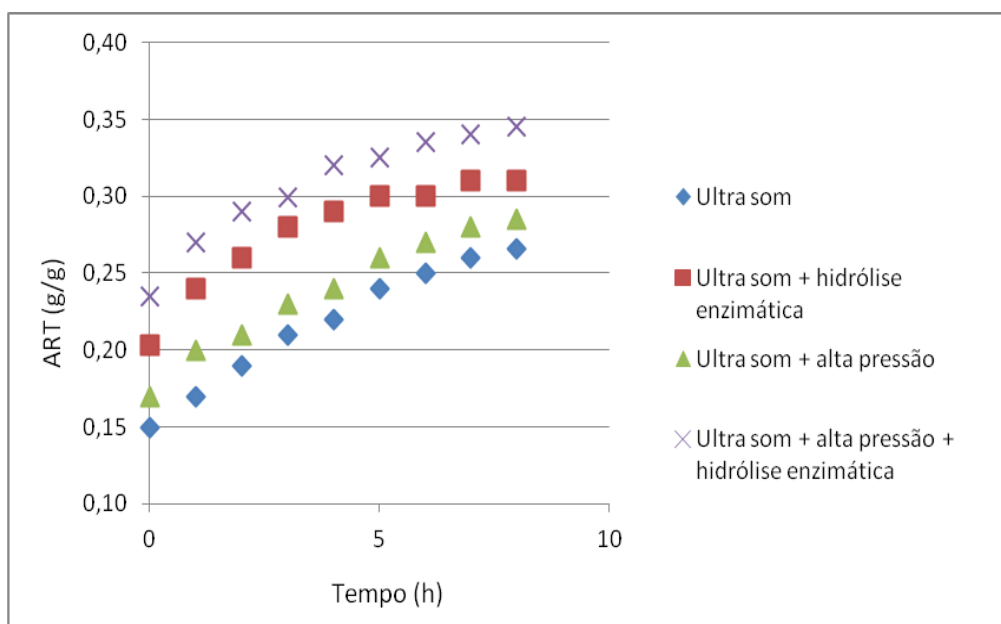


Figura 23 - Avaliação cinética para pré-tratamentos físicos combinado com enzimático, na potência de 100% no ultra-som.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que:

➤ Pré-tratamento do bagaço de cana usando CO₂ supercrítico

Postula-se que, devido o CO₂ formar ácido carbônico (H₂CO₃) quando dissolvidos em água, o ácido aumenta a melhor efetividade na remoção da hemicelulose, pois o CO₂ em solução aquosa forma ácido carbônico responsável pela maior degradação da xilana, no entanto, esse processo ainda é limitado devido a baixa temperatura do processo, o que reduz também a possibilidade de degradação da celulose. Após a liberação da pressão, a explosão pelo dióxido de carbono causa o rompimento da estrutura celulósica aumentando a superfície do substrato para a hidrólise.

O processo de explosão, a CO₂ recupera significativamente a fração de celulose. Um aumento na pressão facilita rápida penetração das moléculas de CO₂ nas estruturas cristalinas, produzindo mais glicose após a explosão

Em relação ao pré-tratamento físico para hidrólise da celulose e hemicelulose, o método utilizando a alta pressão com fluido pressurizado CO₂, no (DCC) 2³ com triplicata no ponto central, ocorreu um aumento nos resultados de 150 mg para 290mg ART em 1g de bagaço de cana de açúcar pré tratado, nas condições ótimas de operação tempo de 95 min, temperatura 75°C e pressão de 230 bar. O mesmo pré-tratamento em série com tratamento enzimático utilizando a enzima celulase obtemos nas mesmas condições um aumento de aproximadamente 11%, que foi de 290mg para 400mg de ART em 1g de bagaço de cana de açúcar pré-tratado.

Dentre as vantagens deste pré-tratamento estão a não-toxicidade, não inflamabilidade, a não formação de alguns tipos de inibidores, fácil recuperação após a extração e aceitabilidade ambiental. Como desvantagens pode-se considerar que a dificuldade de operação é uma desvantagem, por se trabalhar com gás a altas pressões e equipamentos específicos. É um processo de alto custo para aplicações industriais.

➤ Pré-tratamento do bagaço de cana combinando ultra-som e CO₂ supercrítico

A cinética com pré-tratamento ultra-sônico com potência de 60% teve um efeito positivo na obtenção de ART. Já o tempo de residência no equipamento ultra-sônico para a máxima hidrólise foi de 5 horas, após se manteve estável. Após esse tempo se obteve com ultra-som 0,24 (g/g), ou seja, 240 mg, ultra-som + alta pressão 0,25 (g/g), ou seja, 250mg, ultra-som + hidrólise enzimática 0,30 (g/g), ou seja, 300mg e ultra-som + alta pressão + hidrólise enzimática 0,33 (g/g), ou seja, 330mg de ART em 1g de bagaço.

Já na potência de 100% no ultra-som a quantificação de ART foi semelhante. A diferença está nas primeiras horas de residência das amostras no ultra som, ocorreram uma maior obtenção de ART, pelo fato que a vibração ultra-sônica foi maior fazendo com que ocorresse uma maior solubilização e rompimento da celulose e hemicelulose

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agência Nacional de Energia Eletrica - ANEEL, 2007. **Matriz de energia elétrica**. Disponível em: <<http://www.aneel.gov.br/area.cfm?idArea=15>>. Acesso em: 20 abr. 2007.
- Alvira, P.; Tomás-Pejó, E.; Ballesteros, M.; Negro, M. J. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process base don enzymatic hydrolysis: a review. *Bioresource Technology*, v. 101, pg. 4851-4861, 2010.
- Balanço de carbono nas atividades energéticas do Brasil: versão para discussão. **Economia e Energia**. Rio de Janeiro, n.62, 2007. ISSN 0035-0362. Edição especial.
- Barbieri, J. C. **Gestão ambiental empresarial: conceitos, modelos e instrumentos**. São Paulo: Editora Saraiva, 2004.
- Borges, F. H. A evolução da preocupação ambiental e seus reflexos no ambiente dos negócios: uma abordagem histórica. In: XXV ENEGEP Encontro Nacional de Engenharia de Produção, ENEGEP,25,2005, Porto Alegre.**Resumos...** Porto Alegre: Editora ABEPRO, 2005. p.5235-5242.
- Bungay, H. Product opportunities for biomass refining. **Enzyme Microbiological Technology**, v.14, n.1, p.501-507, 1992. C.(Ed.).**Alternative sweeteners**. 2nd. ed, New York: Marcel Dekker, 1991.
- Cardona, C. A.; Quintero, J. A.; Paz, I. C. Production of bioethanol from sugarcane bagasse: status and perspectives. *Bioresource Technology*, v. 101, pg. 4754-4766, 2010.
- Chen, J. S.; Balaban, M. O.; Wei, C. L.; Marshall, M. R.; Hsu, W. Y. Inactivation of polyphenol oxidase by high-pressure carbon dioxide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 40 pg. 2345, 1992.
- Costa, J. L. M. **Liquefação direta de lixivia negra e de lignina da hidrólise ácida de eucalipto em reatores batelada e contínuo**. 1989.177p Tese (Doutorado) – Instituto de Química – UNICAMP, Campinas,1989.
- Cunha, K. B. **Mecanismo de desenvolvimento limpo: evolução do instrumento e suas perspectivas**. 2005.212p. Dissertação (Mestrado) –

Faculdade de Engenharia Mecânica – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

Curvelo, A. A. S. Biorrefinaria: a matéria-prima definindo o processamento. **Revista Opiniões**, v.12 n.23, p.1-2,2008.

Curvelo, A. A. S. **Processos de deslignificação organossolve**. 1992.94p. Tese (Livre Docência) – Instituto de Física e Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos,1992.

D'almeida, M. L. O. **Celulose e papel**: tecnologia de fabricação de pasta celulósica. 2.ed. São Paulo: IPT, 1988. v.1,405p.

Dantas, R. B. Álcool e outras fontes alternativas de energia elétrica com substitutivas do petróleo. **Brasil Açúcareiro**, Rio de Janeiro, v.96, n.10, p.21-37, 1979.

Dwivedi, B. K. Sorbitol and mannitol In: NABORS, L. O.; GELARDI, R. Fan, L.T.; Gharpuray, M.M.; Lee, Y-H.; **Cellulose hydrolysis**. New York: Springer-Verlag, 1987. 198p.

Fengel, D.; Wegener, G. **Wood**: chemistry, ultrastructure, reactions. New York: Walter de Gruyter, 1989. 613p.

Fricks, A. T.; Souza, D. P. B.; Oestreicher, E. G.; Antunes, O. A. C.; Girardi, J. S.; Oliveira, D.; Dariva, C. Evaluation of radish (*Raphanus sativus* L.) peroxidase activity after high-pressure treatment with carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 38, pg. 347, 2006.

Gámez, S.; onzález-Cabriales, J. J.; Ramírez, J. A.; Garrote, G. Study of the hydrolysis of sugar cane bagasse using phosphoric acid. *Journal of Food Engineering*, v. 74, pg. 78-88, 2006.

Gießauf, A.; Gamse, T. A simple process for increasing the specific activity of porcine pancreatic lipase by supercritical carbon dioxide treatment. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 9, pg. 57, 2000.

Glasser, W.G.; Lora, J.H. Recent industrial applications of lignin: a sustainable alternative to nonrenewable materials. **Journal of Polymers and the Environment**, v.10, n.1-2. , p. 39-48, 2002.

Goldemberg, J. Biomassa e energia. **Química Nova**, v.32, n.3, p. 582-587, 2009.

- Goldemberg, J.; Nigro, F. E. B.; Coelho, S. T. **Bioenergia no Estado de São Paulo: situação atual, perspectivas, barreiras e propostas.** São Paulo: Imprensa Oficial do Estado de São Paulo, 2008. 152p.
- Gonçalves, A.R. **Oxidação de ligninas e modelos de lignina com oxigênio molecular em meio ácido.** 1995.94p. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, UNICAMP, Campinas, 1995.
- Gravitis, J. A biochemical approach to attributing value to biodiversity – the concept of the zero emissions biorefinery. In: ANNUAL WORLD CONGRESS ON ZERO EMISSIONS IN WINDHOEK, 4, 1998, Namibia. **Proceedings...** Namibia: UNU/UNESCO, 1998.p.1-18.
- Habulin, M.; Knez, Z. Activity and stability of lipases from different sources in supercritical carbon dioxide and near-critical propane. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 76, pg. 1260, 2001.
- Hugot, E. **Manual da engenharia açucareira.** São Paulo: Editora Mestre Jou, 1977.v.1, 544p.
- IBGE, 2008. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Evolução da produtividade da cana-de-açúcar no Brasil. 2008. Disponível em: www.ibge.gov.br.
- Intergovernmental Panel on Climate Change – IPCC. **Climate Change 2001: impacts, adaptation and vulnerability.** Disponível em: <http://www.grida.no/publications/other/ipcc_tar>. Acesso em: 12 jun. 2006.
- Intergovernmental Panel on Climate Change – IPCC; 2006. Intergovernmental Panel on Climate Change – IPCC; 2007. **The Climate change 2007: impacts, adaptation and vulnerability.** Disponível em: <http://www.ipcc.ch/publications_and_data/publications_ipcc_fourth_assessment_report_wg_2_report_impacts_adaptation_and_vulnerability.htm>. Acesso em: 12 jun. 2006.
- Kamm, B.; Kamm, M. Biorefinery – systems. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly.** v.18, n.1, p.1-6, 2004.
- Kasche, V.; Schlothauer, R.; Brunner, G. Enzyme denaturation in supercritical CO₂: stabilizing effect of S-S bonds during the depressurization step. *Biotechnology Letters*, v. 10, pg. 569, 1988.

- Kim, K.; Hong, J. Supercritical CO₂ pretreatment of lignocellulose enhances enzymatic cellulose hydrolysis. *Bioresource Technology*, v. 77, pg. 139-144, 2001.
- Klass, L. D. **Biomass for renewable energy, fuels, and chemicals**. San Diego, California: Academic Press, 1998.500p.
- Klemm, D.; Heublein, B.; Fink, H-P.; Bohn, A. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie**, v.44, n.22, p.3358-3393, 2005.
- Knez, Z.; Habulin, M.; Krmelj, V. Enzyme catalyzed reactions in dense gases. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 14, pg. 17, 1998.
- Kumar, R.; Madras, S.; Modak, J. Enzymatic Synthesis of Ethyl Palmitate in Supercritical Carbon Dioxide. *Industrial & Engineering Chemical Research*, v. 43, pg. 1568, 2004.
- Lanza, M.; Priamo, W. L.; Oliveira, J. V.; Dariva, C.; Oliveira, D. The effect of temperature, pressure, exposure time and depressurization rate on lipase activity in SCCO₂. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 113-116, pg. 181, 2005.
- Leal, M. R. L. V. Co-geração como opção tecnológica eficiente e complementar. In: FORÚM PERMANENTE DE ENERGIA E AMBIENTE, 2004, Campinas. **Anais eletrônicos...**Campinas: UNICAMP, 2004. Disponível em: <<http://www.cori.unicamp.br/foruns/energia/evento2/REGIS.pps>>. Acesso em: 17 mar. 2007.
- Macedo, I. C.; LEAL, M.R.L.; SILVA, J.E.A.R. **Balanço das emissões de gases do efeito estufa na produção e no uso do etanol no Brasil**. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, 2004. 32p. Relatório.
- Melaja, A.J.; Hamalainen, L. **Process of making xylitol**. US Patent 4.008.285, 18 June 1975, 15 Feb. 1977.
- Miller, G.L. 1959. Use of the dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31:426-428.
- Nakaya, H.; Miyawaki, O.; Nakamura, G. Determination of log P for pressurized carbon dioxide and its characterization as a medium for enzyme reaction. *Enzyme and Microbial Technology*, 28, pg. 176, 2001.

- Ndiaye, P. M.; Franceschi, E.; Oliveira, D.; Dariva, C.; Tavares, F. W.; Oliveira, J. V. Phase behavior of soybean oil, castor oil and their fatty acid ethyl esters in carbon dioxide at high pressures. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 37, pg. 29, 2006.
- Newton, L.; Fernandez, R. Captación de polvo em caldeiras alimentadas a bagazo. **Sugar y Azúcar**, New York, v.69, n.3, p.45-50,1974.
- Oliveira, D.; Feihrmann, A. C.; Dariva, C.; Cunha, A. G.; Bevilaqua, J. V.; Destain, J.; Oliveira, J. V.; Freire, D. M. G. Influence of compressed fluids treatment on the activity of *Yarrowia lipolytica* lipase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 39, n° 1-4, pg. 117, 2006a.
- Oliveira, D.; Feihrmann, A. C.; Rubira, A. F.; Kunita, M. H.; Dariva, C.; Oliveira, J. V. Assessment of two immobilized lipases activity treated in compressed fluids. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 38, pg. 127, 2006b.
- Oliveira, D.; OLIVEIRA, J. V. Kinetics of enzymatic alcoholysis of palm kernel oil in SC-CO₂. *Industrial & Engineering Chemical Research*, v. 39, pg. 4450, 2000.
- Ometto, A. R. **Avaliação do ciclo de vida álcool etílico hidratado combustível pelos métodos EDIP, exergia e emergia**. 2005.200p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
- Regional impacts of climate change: **an assessment of vulnerability**. Disponível em: <<http://www.grida.no/climate/ipcc/regional/index.htm>>. Acesso em:12 jun. 2006.
- Rocha, J. D.; Pérez, J.M.M.; Cortez, L.A.B. **Aspectos teóricos e práticos do processo de pirólise de biomassa**. Campinas: NIPE - Núcleo Interdisciplinar de Planejamento Energético, 2004. 22p. Relatório.
- Rocha, M. T.; Mello, P. C. O efeito estufa e o mecanismo de desenvolvimento limpo. In: TEIXEIRA, A.C. (Coord.) **A questão ambiental: desenvolvimento e sustentabilidade**. Rio de Janeiro: Funenseg, 2004.
- Rodrigues, R. C. L. B.; Felipe, M. G. A.; Sil, J. B. A.; Vitolo, M. Response surface methodology for xylitol production from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolyzate using controlled vacuum evaporation process variables. *Process Biochemistry*, v. 38, pg. 1231-1237, 2003.

- Rosillo-calle F.; Walter, A. Global market for bioethanol: historical trends and future prospects. **Energy for Sustainable Development**, v. 10, n. 1, p. 20-32, 2006.
- Sanches, C.S. **Mecanismo de desenvolvimento limpo do protocolo de Quioto: há perspectivas para o setor sucro-alcooleiro paulista?** 2003.300p. Tese (Doutorado) – Escola de Administração e Economia de São Paulo, Fundação Getúlio Vargas, São Paulo, 2003.
- Silva, F.T. **Obtenção de insumos químicos a partir do aproveitamento integral do bagaço de cana.** 1995.120p Tese (Doutorado) – Instituto de Química/UNICAMP, Campinas, 1995.
- Sjostrom, E. **Wood chemistry: fundamentals and applications.** New York: Academic Press, 1981. 223p.
- Socol, C. R.; Vandenberghe, L. P. S.; Medeiros, A. B. P.; Karp, S. G.; Buckeridge, M.; Ramos, L. P.; Pitarelo, A. P.; Ferreira-Leitão, V.; Gottschalk, L. M. F.; Ferrara, M. A.; Bon, E. P. S.; Moraes, L. M. P.; Araújo, M. A.; Torres, F. A. G. Bioethanol from lignocelluloses: status and perspectives in Brazil. *Bioresource Technology*, v. 101, pg. 4820-4825, 2010.
- Souza, Z. J.; Burnquist, H. L. **A comercialização de energia elétrica co-gerada pelo setor sucro-alcooleiro.** São Paulo: CEPEA/Plêiada, 2000.
- Taniguchi, M.; Kamihira, M.; Kobayashi, T. Effect of treatment with supercritical carbon dioxide on enzymatic activity. *Agricultural and Biological Chemistry*, v. 51, pg. 593, 1987.
- Tedjo, W.; Eshtiaghi, M. N.; Knorr, D. Impact of supercritical carbon dioxide and high pressure on lipoxygenase and peroxidase activity. *Journal of Food Science*, v. 65, pg. 1284, 2000.
- União da Indústria da Cana-de-açúcar – UNICA, 2009. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/noticias>>. Acesso em: 27 dez. 2009.
- United Nation Population Fund – UNFPA. State of World Population - **Facing a changing world: women, population and climate.** Disponível em: <<http://www.unfpa.org/swp/>> Acesso em: 10 set. 2009.
- United Nations Framework Convention on Climate Change – UNFCCC. **CDM project activities – registered, project 0193: HFC23 decomposition project of Zhejiang Juhua co.** Disponível em:

<<http://cdm.unfccc.int/Projects/DB/DNVCUK1135255248.44/view.html>>
Acesso em: 25 out. 2009.

Xavier, B.J. **As dificuldades da implantação da co-geração sob os aspectos técnicos e comerciais no cenário atual.** Campinas: CPFL, 2001. Relatório.

Young, R.A. Utilization of natural fiber: characterization, modification and applications. In: LEO, A. L.; CARVALHO, F. X.; FROLLINI, E. (Eds.). **Lignocellulosic-plastic composites.** São Paulo:USP/UNESP,1997.

Zheng, Y., Lin, H.M., Tsao, G.T., 1998. Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion. *Biotechnol. Prog.* 14, 890–896.