



MODELAGEM DE PRÉ-TRATAMENTOS E HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA  
BIOMASSA DE CANA-DE-AÇÚCAR VISANDO À PRODUÇÃO DE ETANOL DE  
SEGUNDA GERAÇÃO

Guilherme Ozorio Cassol

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química.

Orientadores: Argimiro Resende Secchi

Príamo Albuquerque Melo Junior

Rio de Janeiro

Março de 2017

MODELAGEM DE PRÉ-TRATAMENTOS E HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA  
BIOMASSA DE CANA-DE-AÇÚCAR VISANDO À PRODUÇÃO DE ETANOL DE  
SEGUNDA GERAÇÃO

Guilherme Ozorio Cassol

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO  
LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA  
(COPPE) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE  
DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE  
EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA QUÍMICA.

Examinada por:

---

Prof. Argimiro Resende Secchi, D.Sc.

---

Prof. Príamo Albuquerque Melo Junior, D.Sc.

---

Prof. Elba Pinto da Silva Bon, D.Sc.

---

Prof. Maurício Bezerra de Souza Junior, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ BRASIL

MARÇO DE 2017

Cassol, Guilherme Ozorio

Modelagem de Pré-tratamentos e Hidrólise Enzimática da Biomassa de Cana-de-açúcar visando à Produção de Etanol de Segunda Geração/ Guilherme Ozorio Cassol. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2017.

XVIII, 127 f.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Argimiro Resende Secchi

Príamo Albuquerque Melo Junior.

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Engenharia Química, 2017.

Referências Bibliográficas: p. 101 - 109.

1. Pré-tratamento. 2. Etanol de segunda geração. 3. Modelagem. I. Secchi, Argimiro Resende *et al.*. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Química. III. Título.

## Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, aos meus pais e meu irmão que sempre me apoiaram e deram suporte as minhas decisões.

Agradeço meus orientadores, Professor Argimiro R. Secchi e Professor Príamo A. Melo Jr., pela disposição e prontidão na ajuda. Em especial ao Professor Argimiro, por me ajudar a sair da minha zona de conforto.

Agradeço a Professora Elba Pinto da Silva Bon por abrir as portas do Laboratório Bioetanol, fornecendo a infraestrutura e conhecimentos necessários para a realização deste trabalho.

Aos colegas e amigos da G130, que, diariamente, me apoiavam e ajudavam a espalhar. A minha família do Rio: Fabinho, pelas incontáveis trilhas e passeios no Rio de Janeiro e pelo apoio durante estes dois anos; Camila, por lembrar que nunca devemos sonhar pequeno e por me fazer mestre em membranas; Miceli, pelo companheirismo na academia e por me lembrar de que pizza é refeição para qualquer hora; Carneiro, pela convivência nestes dois anos e Daniel por me fazer duvidar dos meus conhecimentos.

À Mariana Moro, Miguel Panaro e Rodrigo Olivieri de Barros, pela paciência e disponibilidade de suas pesquisas, sem a qual a realização deste trabalho não seria possível. À Kese e Lucas pelo tempo e paciência pra explicar a rotina de estimação aprimorada por eles.

Aos pesquisadores do Laboratório Bioetanol, Daniel e Marcelo de Carvalho da área analítica, pela análise das inúmeras amostras. Ao Raul e Rodrigo pela ajuda nos experimentos realizados. A Marcella, Maria Fernanda, Fernanda, Sheron e Jair pela paciência e ajuda durante meu aprendizado no laboratório.

Aos pesquisadores do Laboratório de Tecnologia Mineral, em especial a Yemcy pela ajuda e paciência nas moagens realizadas neste laboratório.

Agradeço a FAPERJ, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro a mim e ao meu programa, sem o qual este trabalho não poderia ter sido realizado.

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

MODELAGEM DE PRÉ-TRATAMENTOS E HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA  
BIOMASSA DE CANA-DE-AÇÚCAR VISANDO À PRODUÇÃO DE ETANOL DE  
SEGUNDA GERAÇÃO

Guilherme Ozorio Cassol

Março/2017

Orientadores: Argimiro Resende Secchi

Príamo Albuquerque Melo Junior

Programa: Engenharia Química

Uma das etapas críticas da produção de etanol de segunda geração é o seu pré-tratamento, cuja função é alterar física e/ou quimicamente a estrutura da biomassa, modificando as interações entre a celulose, a hemicelulose e a lignina e tornando-a mais acessível à etapa de hidrólise enzimática. Neste trabalho, são estudados os efeitos do pré-tratamento no moinho de bolas na hidrólise enzimática, sendo possível obter rendimentos de até 95%. Os resultados sugerem que, quanto menor o teor de umidade na moagem, maior será a concentração final de glicose obtida. Tamanhos iniciais das partículas (na faixa de 215 a 1500  $\mu\text{m}$ ) obtiveram maiores rendimentos para velocidades de rotação específicas (na faixa de 200 a 400 RPM). Experimentos em maior escala indicam uma possibilidade da utilização deste pré-tratamento em um processo industrial. Também foi realizada estimação de parâmetros com dados obtidos na hidrólise enzimática de bagaço e palha de cana-de-açúcar após pré-tratamento hidrotérmico, por extrusão e moagem, para avaliar a influência das condições experimentais de cada pré-tratamento sobre os parâmetros estimados. Simulações de uma parte do processo de formação de xaropes de segunda geração foram realizadas para estimar a energia consumida em cada pré-tratamento. Os resultados mostram que o moinho de bolas planetário possui um custo energético muito elevado quando comparado com os outros pré-tratamentos, embora este obtenha um maior rendimento de glicose, sem produzir efluentes que necessitem de tratamento e inibidores de fermentação.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

MODELING OF SUGARCANE BIOMASS PRETREATMENTS AND ENZYMIC  
HYDROLYSIS FOR SECOND GENERATION ETHANOL PRODUCTION

Guilherme Ozorio Cassol

March/2017

Advisors: Argimiro Resende Secchi

Príamo Albuquerque Melo Junior

Department: Chemical Engineering

Pretreatment is one of the most crucial stages in the production of second generation ethanol, and its purpose is to change the biomass structure physical and chemically, altering the interactions between cellulose, hemicellulose and lignin, making it more susceptible to enzymatic hydrolysis. The effects of ball mill pretreatment in the enzymatic hydrolysis yield were studied; yields up to 95% were achieved. Experimental results suggest that the least amount of water in the milling process will produce the higher amount of glucose. Each initial particle size (from 215 to 1500  $\mu\text{m}$ ) has one rotational speed (between 200 to 400 RPM) which generates a higher yield of glucose. Experiments at a larger scale show possible use of this pretreatment in an industrial process. Additionally, parameter estimation was performed with the experimental data obtained from enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse and straw after hydrothermal, milling and extrusion pretreatments, in order to assess the effect of the operational conditions on the estimated parameters. Finally, simulations of the second generation syrup production were performed to estimate the energy consumed by each pretreatment. The simulations results show that the energy consumption using a planetary ball mill is higher than that observed for other pretreatments, although it produces a higher glucose concentration without generating effluents and fermentation inhibitors.

# Sumário

1.	Introdução.....	1
2.	Revisão Bibliográfica .....	6
2.1	Biorrefinaria e processo de produção .....	6
2.1.1	Bioetanol.....	7
2.1.2	Processo .....	8
2.2	Biomassa.....	11
2.3	Pré-tratamento .....	15
2.4	Pré-tratamento Hidrotérmico .....	17
2.5	Extrusão .....	19
2.5.1	Moagem (Moinho de Bolas).....	22
2.6	Modelagem matemática da hidrólise enzimática.....	24
2.6.1	Modelo cinético de Kadam et al. (2004) .....	25
2.6.2	Modelo adaptado de ANGARITA MARTINEZ (2014) .....	26
2.7	Algoritmo SELEST .....	31
2.8	Enxame de Partículas ( <i>Particle Swarm Optimization – PSO</i> ).....	33
3.	Materiais e Métodos .....	35
3.1	Preparo da Biomassa .....	35
3.2	Caracterização da Biomassa .....	35
3.3	Atividade da celulase (FPA).....	36
3.4	Moagem .....	37
3.5	Hidrólise enzimática .....	38
3.6	Análise cromatográfica.....	38
3.7	Metodologia computacional .....	39

3.7.1	Balanços de massa e energia considerados na simulação em EMSO .....	41
4.	Resultados e Discussão.....	45
4.1	Resultados Experimentais.....	45
4.1.1	Caracterização do Bagaço de Cana-de-Açúcar .....	45
4.1.2	Atividade da Enzima .....	47
4.1.3	Hidrólise Enzimática do Bagaço in natura .....	47
4.1.4	Hidrólise Enzimática após moagem no moinho de bolas planetário.....	48
4.1.4.1	Moagem com diferentes proporções de água adicionadas .....	48
4.1.4.2	Moagem para diferentes tamanhos de partículas e velocidades de rotação .....	55
4.1.4.3	Moagem no moinho de bolas horizontal .....	69
4.2	Resultados Computacionais.....	76
4.2.1	Estimação de parâmetros .....	76
4.2.2	Relação dos parâmetros com as condições operacionais .....	88
4.2.2.1	Moinho de bolas planetário .....	88
4.2.2.2	Tratamento hidrotérmico .....	89
4.2.2.3	Extrusão.....	91
4.2.3	Simulação de um processo de produção de etanol de segunda geração.....	92
5.	Conclusões e sugestões.....	96
6.	Referências bibliográficas .....	101
	APÊNDICE A - Dados experimentais obtidos e parâmetros estimados .....	110
	APÊNDICE B - Curvas de nível dos ajustes dos parâmetros com as condições de operação.....	121
	APÊNDICE C - Cálculo do custo energético.....	127



## Lista de Figuras

Figura 1 – Estrutura da dos materiais lignocelulósicos e efeito do pré-tratamento (Adaptado de Mosier et al., 2005) .....	14
Figura 2 - Mecanismo cinético proposto para hidrólise da celulose (FONTE:ANGARITA MARTINEZ (2014)). .....	27
Figura 3 – Parte do processo simulado da produção de xaropes de biomassa de segunda geração.....	41
Figura 4- Resultados da caracterização do bagaço proveniente da Usina Jalles Machado – Goianésia, GO.....	45
Figura 5 – Resultados da caracterização do bagaço proveniente da Usina Santa Luzia – Palmital, SP. ....	46
Figura 6 – Resultado da hidrólise do bagaço in natura.....	47
Figura 7 - Concentração de glicose obtida na hidrólise após moagem com diferentes proporções de água. ....	48
Figura 8 – Resultados das moagens para as diversas proporções de água: (a) Sem adição, (b) 1 / 0,5, (c) 1 / 1, (d) 1 / 2, (e) 1 / 5, (f) 1 / 15 .....	50
Figura 9 - Rendimentos de glicose obtidos para moagem com diferentes proporções de água. ....	51
Figura 10 - Concentração de xilose obtida na hidrólise após moagem com diferentes proporções de água. ....	52
Figura 11– Variação da concentração de glicose quando as amostras são liofilizadas. ....	54
Figura 12– Concentração de glicose na hidrólise do bagaço com diâmetro médio de partícula de 925 µm pré-tratado em diferentes velocidades de rotação.....	57
Figura 13 - Concentração da celobiose na hidrólise do bagaço com diâmetro médio de partícula de 925 µm pré-tratado em diferentes velocidades de rotação.....	58

Figura 14 – Concentração de celobiose nas horas iniciais da hidrólise do bagaço com diâmetro médio de partícula de 925 µm pré-tratado em 350 RPM. ....	59
Figura 15 - Concentração de xilose na hidrólise do bagaço com diâmetro médio de partícula de 925 µm pré-tratado em diferentes velocidades de rotação.....	60
Figura 16 – Desvio padrão relativo da concentração de glicose na hidrólise do bagaço com diâmetro médio de partícula de 925 µm pré-tratado em diferentes velocidades de rotação.....	61
Figura 17 – Desvio padrão relativo da concentração de celobiose na hidrólise do bagaço com diâmetro médio de partícula de 925 µm pré-tratado em diferentes velocidades de rotação.....	61
Figura 18 – Desvio padrão relativo da concentração de xilose na hidrólise do bagaço com diâmetro médio de partícula de 925 µm pré-tratado em diferentes velocidades de rotação.....	62
Figura 19 - Concentração de glicose na hidrólise do bagaço com diferentes diâmetros médios pré-tratado em 300 RPM. ....	64
Figura 20 - Concentração de celobiose na hidrólise do bagaço com diferentes diâmetros médios pré-tratado em 300RPM. ....	64
Figura 21 - Concentração de xilose na hidrólise do bagaço com diferentes diâmetros médios pré-tratado em 300 RPM. ....	65
Figura 22 - Desvio padrão relativo para as espécies na hidrólise do bagaço com diferentes diâmetros médios pré-tratado em 300RPM. ....	66
Figura 23 – Rendimentos obtidos para 24 h e 48 h de hidrólise após moagem de partículas com diferentes tamanhos iniciais e velocidades de rotação.....	67
Figura 24 - Ajuste dos dados de rendimento em 24 horas de hidrólise.....	68
Figura 25 - Ajuste dos dados de rendimento em 48 horas de hidrólise.....	68
Figura 26 - Resultado da hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de aço. ....	69

Figura 27 - Concentração de celobiose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de aço.....	70
Figura 28 - Concentração de xilose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de aço.....	71
Figura 29 - Concentração de glicose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de aço e alumina. ....	72
Figura 30 - Concentração de celobiose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de aço e alumina. ....	73
Figura 31 - Concentração de xilose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de aço e alumina. ....	74
Figura 32 - Concentração de glicose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de alumina e aço após separação magnética do ferro livre. ....	75
Figura 33 - Concentração de celobiose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de alumina e aço após separação magnética. .	75
Figura 34 - Concentração de xilose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de alumina e aço após separação magnética do ferro livre. ....	76
Figura 35 – Resultados do ajuste do modelo para o conjunto de dados obtidos no pré-tratamento do moinho de bolas planetário com velocidade de rotação de 400 RPM e diâmetro médio de 1.500 $\mu\text{m}$ .....	81
Figura 36 – Taxas de reação durante a hidrólise. ....	83
Figura 37 – Termo de acúmulo das espécies durante a hidrólise. ....	83
Figura 38 – Ajuste obtido para a condição de moagem em 200 RPM e diâmetro inicial de 215 $\mu\text{m}$ . ....	85
Figura 39 – Ajuste dos dados experimentais considerando apenas os dados de glicose e xilose para a condição de 400 RPM e diâmetro inicial de 1500 $\mu\text{m}$ . ....	86

Figura 40 – Ajuste dos dados experimentais considerando apenas os dados de glicose e xilose para a condição de 200 RPM e diâmetro inicial de 215 $\mu\text{m}$ . .....	87
Figura 41 – Ajuste do modelo para os dados de glicose e xilose do pré-tratamento hidrotérmico realizado em uma temperatura de 160 $^{\circ}\text{C}$ durante 50 minutos. ....	90
Figura 42 – Ajuste aos dados de glicose para uma extrusão realizada a 32 $^{\circ}\text{C}$ e 47 RPM.....	92
Figura 43 – Superfície do ajuste de $\log(K_{IX})$ .....	121
Figura 44 – Superfície do ajuste de $\log(k_{2r})$ .....	122
Figura 45 – Superfície do ajuste de $k_{2r}/k_{4r}$ .....	122
Figura 46 – Superfície do ajuste de $K_{IG}.k_{2r}$ .....	123
Figura 47 - Superfície do ajuste de $k_{2r}$ .....	124
Figura 48– Superfície do ajuste de $k_{4r}$ .....	124
Figura 49- Superfície do ajuste de $K_{IG}$ .....	125
Figura 50- Superfície do ajuste de $K_{IG}$ .....	126
Figura 51- Superfície do ajuste de $k_{2r}$ .....	126

## Lista de Tabelas

Tabela 1- Principais pré-tratamentos utilizados (Adaptado de ANDERSEN, 2007).....	17
Tabela 2 - Modelo cinético da hidrólise enzimática da biomassa lignocelulósica ANGARITA MARTINEZ (2014).....	29
Tabela 3 – Modificação das taxas de reação proposta por ANGARITA MARTINEZ (2014).....	31
Tabela 4 – Principais açúcares formados durante a hidrólise ácida das amostras .....	46
Tabela 5 – Valores de F resultantes da ANOVA para os conjuntos de dados de glicose com pequenas adições de água.....	49
Tabela 6 - Resultados da ANOVA para os conjuntos de dados de xilose em moagens com pequenas adições de água.....	53
Tabela 7- Resultados da ANOVA para os conjuntos de dados de glicose em moagens com pequenas adições de água e possibilidade de liofilização .....	55
Tabela 8 – Diferentes condições utilizadas na moagem para avaliação do efeito do tamanho inicial das partículas e da velocidade de rotação .....	56
Tabela 9 – Resultado da ANOVA para o conjuntos de concentração de glicose nas diferentes velocidades de rotação com um diâmetro médio inicial de 925 $\mu\text{m}$ .....	57
Tabela 10 – Resultado da ANOVA para os conjuntos de concentração de glicose no pré-tratamento de partículas com diferentes diâmetros médios iniciais, para uma velocidade de rotação de 300 RPM .....	63
Tabela 11 – Valores estimados dos parâmetros para diferentes rodadas do enxame de partículas (para o conjunto de dados do moinho de bolas com velocidade de rotação em 400 RPM e diâmetro médio inicial de 1500 $\mu\text{m}$ ).....	77
Tabela 12 – Coeficientes de Determinação para o ajuste dos dados experimentais (400 RPM e 1500 $\mu\text{m}$ ) utilizando dez parâmetros (Caso 3 na Tabela 11) .....	78

Tabela 13 – Valor dos parâmetros após a seleção e estimação pela rotina SELEST .....	79
Tabela 14 – Coeficientes de determinação após seleção de parâmetros .....	80
Tabela 15 – Valor dos parâmetros após a seleção e estimação pela rotina SELEST considerando apenas os dados de glicose e xilose .....	88
Tabela 16 – Valores estimados dos parâmetros selecionados para os dados de glicose e xilose do pré-tratamento hidrotérmico realizado em 160 °C durante 50 minutos. ....	90
Tabela 17 – Valores estimados dos parâmetros selecionados para os dados de glicose para uma extrusão realizada a 32 °C e 47 RPM.....	91
Tabela 18 – Condições utilizadas nos equipamentos para simulação do processo .....	93
Tabela 19 – Condições de cada pré-tratamento para maximizar a concentração de glicose produzida .....	95
Tabela 20 – Condições de cada pré-tratamento para minimizar a energia extra necessária por massa de glicose produzida.....	95

## Simbologia

<b>Símbolo</b>	<b>Unidade</b>	<b>Significado</b>
$C$	$g / L$	Concentração de celulose
$C_0$	$g / L$	Concentração inicial de celulose
CO		Número total de condições operacionais
<i>Consumo</i>	$kJ / g$	Consumo energético por grama de biomassa
$D_M$	$\mu m$	Diâmetro médio da partícula
$E_b$	$g / L$	Concentração de enzima adsorvida no substrato
$E_{b_c}$	$g / L$	Concentração de enzima adsorvida na celulose
$E_{b_H}$	$g / L$	Concentração de enzima adsorvida na hemicelulose
$E_f$	$g / L$	Concentração de enzima livre
$E_{max}$	$g / kg$	Capacidade máxima de adsorção da enzima no substrato
$E_T$	$g / L$	Concentração total de enzima
$f_{Liq}$		Eficiência de separação de líquidos
$f_{Sol}$		Eficiência de separação de sólidos
$F_{i,Saída}$	$kg / h$	Vazão mássica de saída do componente i
$F_{i,Entrada}$	$kg / h$	Vazão mássica de entrada do componente i
$F_{Entrada}$	$kg / h$	Vazão mássica total de entrada
$F_{Filtrado}$	$kg / h$	Vazão mássica de saída do diltrado
$F_{Fluído}$	$kg / h$	Vazão mássica de fluído
$F_{OBJ}$		Função objetivo
$F_{Sólidos}$	$kg / h$	Vazão mássica de sólidos
$F_{Torta}$	$kg / h$	Vazão mássica de saída da torta
$F_{Total}$	$kg / h$	Vazão mássica totali
$G$	$g / L$	Concentração de glicose

<b>Símbolo</b>	<b>Unidade</b>	<b>Significado</b>
$G_{i,j}$	$kmol / h$	Taxa de formação ou consumo do componente $i$ na reação $j$
$G_2$	$g / L$	Concentração de celobiose
$H$	$g / L$	Concentração de hemicelulose
$H_0$	$g / L$	Constante de saturação do substrato (celobiose)
$k_{ir}$	$L / (g h)$	Constante da taxa de reação ( $i = 1, 2, 4$ )
$K_{Ad}$	$L / g$	Constante de dissociação da adsorção/desorção da enzima
$K_{iG}$	$g / L$	Constante de inibição para glicose ( $i = 1, \dots, 4$ )
$K_{iG_2}$	$g / L$	Constante de inibição para celobiose ( $i = 1, 2, 4$ )
$K_{iX}$	$g / L$	Constante de inibição para xilose ( $i = 1, \dots, 4$ )
$k_{3r}$	$1 / h$	Constante da taxa de reação
$L$	$g / L$	Concentração de lignina
NA		Número de amostras
NC		Número de componentes
$p_i^{Est}$		Parâmetro estimado na condição de operação $i$
$p_i^{Rel}$		Valor estimado pela relação na condição $i$
$r_i$	$L / (g h)$	Taxa de reação ( $i = 1, \dots, 4$ )
$R^2$		Coefficiente de determinação
$R_C^2$		Coefficiente de determinação da celulose
$R_G^2$		Coefficiente de determinação da glicose
$R_{G_2}^2$		Coefficiente de determinação da celobiose
$R_S$	adimensional	Reatividade do substrato
$R_X^2$		Coefficiente de determinação da xilose
$S_{ij}$		Desvio padrão da variável $i$ no instante $j$
$SQ_{TOT}$		Soma total dos quadrados
$SQ_{RES}$		Soma dos quadrados dos resíduos



<b>Símbolo</b>	<b>Unidade</b>	<b>Significado</b>
$Q_{CombCel}$	$kJ / kmol$	Calor de combustão da celulose
$Q_{CombHemi}$	$kJ / kmol$	Calor de combustão da hemicelulose
$Q_{CombLig}$	$kJ / kmol$	Calor de combustão da lignina
$Q_{CombTotal}$	$kJ / kmol$	Calor de combustão total
$S$	$g / L$	Concentração de sólidos insolúveis
$S_0$	$g / L$	Concentração inicial de sólidos insolúveis
$T$	$^{\circ}C$	Temperatura do pré-tratamento
$V$	$m^3$	Volume do reator
$V_R$	RPM	Velocidade de rotação
$X$	$g / L$	Concentração de xilose
$X_{i,j}$		Conversão da celulose, hemicelulose ou lignina
$X_0$	$g / L$	Concentração inicial de hemicelulose
$y_{ij}^{Exp}$		Variável dependente i no instante j
$y_{ij}^{Mod}$		Variável dependente i predita pelo modelo no instante j
$\bar{y}_i$		Média da variável i
$z_{Fluído,Entrada}$		Composição mássica da corrente de fluídos na entrada
$z_{Sólidos,Entrada}$		Composição mássica da corrente de sólidos na entrada
$z_{Filtrado}$		Composição mássica de saída do filtrado
$z_{Torta}$		Composição mássica de saída da torta
<b>Símbolos Gregos</b>		
$\alpha$	adimensional	Constante da reatividade do substrato
$\phi_i$		Peso dado ao parâmetro estimado na condição i
$\nu_{i,j}$		Coefficiente estequiométrico do componente i na reação j
$\rho$	$kg / m^3$	Densidade da mistura reacional
$\tau$	h	Tempo de residência

## **Lista de abreviaturas e siglas**

FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

IEA – International Energy Agency

RFA - Renewable Fuels Association

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento

GNV – Gás Natural Veicular

HPAEC-PAD - High Performance Anion Exchange Chromatography and Pulse  
Amperometric Detection

DNS - Ácido 3,5-dinitro salicílico

NREL - National Renewable Energy Laboratory

1G – Primeira Geração

2G – Segunda Geração

# 1. INTRODUÇÃO

Na última década, o interesse mundial pelos biocombustíveis tem aumentado, devido à crescente demanda por combustíveis e pela preocupação pelo desenvolvimento de fontes de energia limpas a fim de suavizar os efeitos do aquecimento global, visto como uns dos maiores desafios de nosso tempo (UN, 2012). Segundo a IEA, as principais fontes primárias de energia foram o petróleo (31%), o gás natural (21%) e o carvão (29%) no ano de 2014 (IEA, 2016).

A queima de combustíveis fósseis é a responsável por 73% da emissão de CO<sub>2</sub> na atmosfera, intensificando o efeito estufa e o aquecimento global (BALAT *et al.*, 2008). No ano de 2014, o mundo consumiu em torno de 92 milhões de barris de petróleo por dia (Mb/d), liberando aproximadamente 40,6 milhões de toneladas de CO<sub>2</sub> à atmosfera. Ainda assim, é projetado que o consumo aumentará em 20% nos próximos 15 anos (BP, 2014).

Sabendo disso, os biocombustíveis aparecem como uma alternativa às escassas fontes energéticas fósseis e ao combate desses problemas ambientais, pois sua combustão é mais limpa, evitando que toneladas de poluentes sejam emitidas (LIEW *et al.*, 2013). A participação dos biocombustíveis na matriz energética de um país diminui sua dependência em relação ao petróleo. Isso promove uma maior segurança energética, visto que a oferta de combustíveis fósseis é limitada e a demanda por estes ainda aumenta (VAZ JUNIOR, 2011).

A produção de etanol no Brasil representou 27% da produção mundial no ano 2013, tornando o país o segundo maior produtor de etanol depois dos Estados Unidos, responsável por 57% da produção, segundo a RFA (2014). No Brasil, misturas etanol-gasolina são utilizadas desde 1938. Com o programa Proálcool, em 1975, houve a substituição em larga escala dos derivados do petróleo, gerando um aumento na produção de etanol, ampliando o uso de etanol anidro misturado à gasolina. Em 1979, os altos preços do petróleo viabilizaram a entrada dos veículos movidos a etanol hidratado, que chegaram a representar 95% dos veículos leves produzidos. Em 2005, o Proálcool surgiu novamente, potencializado pela introdução dos veículos

bicombustíveis (Flex), que representam mais de 90% dos veículos comercializados no país (UNICA, 2009).

Os diversos anos de pesquisa e desenvolvimento de tecnologias para a produção de etanol de cana-de-açúcar têm tornado o Brasil o país com os menores custos de produção, o maior exportador e o segundo maior produtor de etanol de primeira geração (aqueles produzidos a partir de fontes agrícolas primárias) (NYKO *et al.*, 2010). O etanol produzido no Brasil contém 370% mais energia do que gasta para a sua obtenção. Um baixíssimo custo/benefício em comparação com o etanol produzido de milho, nos EUA, que produz em energia apenas 10% a mais do que gasta (BARROS, 2007).

O aproveitamento de resíduos lignocelulósicos tem sido uma alternativa bastante promissora para o aumento da eficiência energética do processo de produção de etanol e o aproveitamento do potencial energético da biomassa (LEE *et al.*, 2010). Isso proporciona uma maior quantidade de combustível produzido por área de biomassa plantada. A produção de etanol de segunda geração não compete com a produção de alimentos e com o cultivo de terras agrícolas. Além disso, os resíduos lignocelulósicos estão disponíveis, na maioria dos casos, de forma abundante e barata e necessitam de uma destinação (LIEW *et al.*, 2013).

De forma abrangente, o processo produtivo de etanol de segunda geração necessita de duas etapas adicionais em relação ao processo convencional: uma etapa de pré-tratamento e uma etapa de hidrólise. Uma vez que a biomassa lignocelulósica não dispõe de açúcares livres em sua estrutura para os microrganismos da fermentação, como no caso das matérias-primas do etanol de primeira geração, estas etapas são necessárias. A estrutura lignocelulósica é composta majoritariamente por celulose, hemicelulose e lignina, sendo que as duas primeiras são os substratos que serão transformados em açúcares para posterior fermentação.

A etapa de hidrólise tem a função de converter a celulose e a hemicelulose presentes na estrutura da biomassa em açúcares, principalmente glicose, convertida a partir da celulose, e xilose, a partir da hemicelulose (RABELO *et al.*, 2011). Muitos modelos cinéticos têm sido desenvolvidos para a hidrólise enzimática da biomassa lignocelulósica à glicose, xilose e outros (BANSAL *et al.*, 2009).

A hidrólise enzimática oferece vantagens sobre outras rotas de conversão química de alto rendimento, como por exemplo, a formação mínima de subprodutos, menores requerimentos de energia e condições de operação brandas (pH: 4.8 e T: 45-50°C) (SARKAR *et al.*, 2012). Porém, o alto custo das enzimas (ZHENG, 2007), a baixa taxa de reação (HAHN-HÄGERDAL *et al.*, 2006) e a dificuldade de operar em alta concentração de sólidos (>12%) (HODGE *et al.*, 2009) são as barreiras para a comercialização do bioetanol de segunda geração (ZHENG, 2007).

Todavia, os materiais lignocelulósicos possuem uma estrutura rígida e ordenada, de forma que a celulose e a hemicelulose estão fortemente associadas à lignina que age como uma barreira protetora contra agentes externos. Isso dificulta o acesso das enzimas ao substrato, resultando em rendimentos muito baixos de açúcares na hidrólise enzimática. Dessa forma, a etapa de pré-tratamento tem a função de desordenar a estrutura da biomassa e tornar a celulose e a hemicelulose mais acessíveis às enzimas (LAGAERT *et al.*, 2009). O pré-tratamento é uma etapa crucial, pois exerce uma grande influência nas etapas subsequentes e no custo total do processo (BALAT *et al.*, 2008). Grandes esforços estão sendo focados no pré-tratamento, já que esta é uma das etapas mais caras do processamento da biomassa e sua eficiência influencia fortemente os rendimentos da reação de hidrólise enzimática e, conseqüentemente, a fermentação dos xaropes de biomassa (BNDES, 2008).

Pré-tratamentos físicos, químicos, físico-químicos e biológicos são estudados para melhorar a sacarificação da biomassa. Entre estes processos, podemos citar a moagem, a extrusão e o tratamento hidrotérmico, pré-tratamentos físicos que são focados no presente trabalho.

A extrusão, como mostrado por MORO (2015), proporciona um cisalhamento e mistura da biomassa, alterando a estrutura física da biomassa e reduzindo sua cristalinidade. O mesmo trabalho mostrou que os rendimentos de glicose na etapa de hidrólise se apresentaram inferiores à maioria dos rendimentos dos tratamentos de extrusão encontrados na literatura, principalmente aqueles que associam a extrusão a tratamentos ácidos ou alcalinos. A combinação de altas temperaturas ou baixas temperaturas com altos tempos de residência (baixa velocidade de rotação) resultou nos maiores rendimentos de hidrólise encontrados. A análise do consumo energético da

extrusora mostrou um baixo consumo em comparação com alguns moinhos de bolas encontrados na literatura. Além disso, a extrusão, por não apresentar quase nenhuma desvantagem e apresentar bons rendimentos, torna-se competitiva e promissora frente aos demais pré-tratamentos.

Os resultados experimentais mostrados por PANARO (2016) indicam que o pré-tratamento por moinho de bolas planetário apresenta altos rendimentos de glicose na hidrólise enzimática, seja para bagaço de cana-de-açúcar ou palha de cana-de-açúcar com um menor consumo de energia que os valores projetados na literatura. Foi concluído que, ao contrário do que se tem como consenso, a utilização deste método pode ser vantajoso, uma vez que não é necessária a eliminação de água, como ocorre em pré-tratamentos convencionais, além de altos rendimentos obtidos na etapa de hidrólise. Assim, o moinho de bolas seria uma opção de pré-tratamento, por não utilizar altas temperaturas e pressões.

Por último, o tratamento hidrotérmico da biomassa também apresenta resultados satisfatórios, como mostrado por BARROS (2016). Diversas temperaturas e tempos de pré-tratamento foram utilizadas, sendo que as melhores condições apresentaram um alto teor de celulose na biomassa tratada, além da alta remoção de hemicelulose e baixa concentração de inibidores de fermentação. Além disso, a ampliação de escala apresentou resultados similares aos obtidos em escala de bancada.

Tendo em vista os estudos de pré-tratamentos realizados previamente, o foco deste trabalho é mostrar como cada um destes influencia na hidrólise. Para isto, conjuntos de dados provenientes da hidrólise enzimática de biomassas submetidas a diferentes tratamentos são utilizados para a estimação de parâmetros de modelos cinéticos da hidrólise enzimática já desenvolvidos na literatura. Com isso, o objetivo deste trabalho é encontrar uma relação entre os parâmetros estimados e as condições operacionais de cada pré-tratamento, visando desenvolver modelos que descrevam o comportamento da hidrólise da biomassa tratada em diferentes condições operacionais, permitindo realizar avaliações técnicas e econômicas do processo de produção de etanol de segunda geração para diferentes tratamentos.

Como objetivos específicos, é possível citar:

- Avaliação da proporção de água em relação à quantidade de biomassa no pré-tratamento por moinho de bolas;
- Avaliação da influência do tamanho inicial das partículas e da velocidade de rotação no pré-tratamento por moinho de bolas;
- Estimação de parâmetros de um modelo cinético de hidrólise enzimática, utilizando dados experimentais de hidrólise de biomassas submetidas a diferentes pré-tratamentos;
- Desenvolvimento de relações entre os parâmetros estimados do modelo de hidrólise enzimática com as diferentes condições operacionais de cada pré-tratamento;
- Simulação e otimização do processo de pré-tratamento e hidrólise do bagaço e palha da cana-de-açúcar, com foco no custo energético e rendimento da hidrólise da biomassa.

A dissertação está estruturada em seis capítulos. O presente capítulo é constituído por uma introdução ao assunto abordado e os objetivos gerais e específicos desta pesquisa. O Capítulo 2 apresenta uma revisão bibliográfica que mostra os principais aspectos relacionados ao processo de produção de etanol de segunda geração, com foco nos pré-tratamentos estudados neste trabalho.

Em seguida, o Capítulo 3 descreve a metodologia experimental e computacional empregada, apresentando os materiais e métodos, além de apresentar a formulação proposta para a modelagem e a técnica computacional empregada para a estimação dos parâmetros dos modelos.

Os resultados, tanto dos experimentos quanto da estimação de parâmetros, são apresentados e discutidos no Capítulo 4. Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos nos experimentos, da estimação dos parâmetros, e a avaliação da capacidade de predição das relações desenvolvidas.

No Capítulo 5 apresentam-se as principais conclusões decorrentes dos resultados obtidos e fazem-se algumas sugestões para trabalhos futuros.

Finalmente, no Capítulo 6 se encontra a bibliografia consultada.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O Brasil foi o pioneiro na inserção do etanol em sua matriz energética que, com a criação do Proálcool, intensificou a produção de etanol para substituir a gasolina durante a crise mundial do petróleo (VAZ JUNIOR, 2011). Atualmente, o Brasil e os Estados Unidos são os maiores produtores mundiais de etanol, produzindo juntos 85% de todo o etanol mundial (RFA, 2016), utilizando como principais fontes de matérias-primas o caldo da cana-de-açúcar e o amido de milho, respectivamente (DIAS *et al.*, 2009).

Comparativamente à gasolina, o etanol possibilita uma combustão mais limpa e melhor desempenho dos motores devido a sua maior resistência a auto-detonação (octanagem) e maior massa específica que garante maior potência ao motor. Sua combustão produz menores emissões de poluentes, como monóxido de carbono e óxidos de enxofre e, como aditivo da gasolina, o etanol melhora sua octanagem (BNDES, 2008).

O etanol pode ser utilizado misturado à gasolina ou puro. Motores que utilizam a mistura entre os dois combustíveis não precisam de qualquer modificação em sua estrutura, sendo esta então a forma mais rápida e fácil de uso do etanol como combustível. Os motores movidos a etanol puro hidratado, atualmente, possuem um desempenho tão bom quanto àqueles movidos à gasolina. Além disso, há uma grande frota de veículos flexíveis existente no mercado, capazes de utilizar gasolina, etanol puro, ou uma mistura entre eles (BNDES, 2008).

### 2.1 Biorrefinaria e processo de produção

O conceito de biorrefinaria está embasado principalmente no fato da utilização de fontes de matérias-primas renováveis em seus processos. Assim como em uma refinaria, a biorrefinaria pode ser considerada um complexo que integra diferentes processos para produção de combustíveis, eletricidade, produtos químicos, entre outros produtos (RABELO *et al.*, 2011). Os principais produtos deste setor são o açúcar e o bioetanol.



O etanol produzido nas biorrefinarias pode ser classificado nas três seguintes categorias: primeira geração, em que são produzidos a partir de culturas agrícolas que sejam fontes de açúcar ou amido como, por exemplo, beterraba, trigo, milho e cana-de-açúcar; segunda geração, produzidos a partir da celulose presente em fibras vegetais; e terceira geração, produzidos a partir de micro e macro algas (LIEW *et al.*, 2013).

Cada uma dessas vias de produção enfrenta barreiras tanto tecnológicas quanto econômicas que, muitas vezes, prejudicam a eficiência e a viabilidade do processo. Sendo assim, vários estudos têm sido realizados para melhorar a eficiência de produção com o objetivo de torná-la sustentável.

### **2.1.1 Bioetanol**

O processo produtivo de bioetanol 1G já está maduro e consolidado no país. O maior desafio hoje é aproveitar todo potencial energético fornecido pela biomassa, com o objetivo de produzir uma quantidade maior de combustível por área plantada (VAZ JUNIOR, 2011).

Para isso, os estudos atuais estão focados no desenvolvimento de tecnologias para produção do etanol utilizando como matéria-prima resíduos de biomassa como, por exemplo, o bagaço da cana-de-açúcar (LEE *et al.*, 2010). Este é o chamado etanol de segunda geração, cujo objetivo é se integrar ao processo convencional, complementando a produção do etanol de primeira geração (VAZ JUNIOR, 2011).

Na produção de etanol de primeira geração há o problema de disponibilidade da biomassa, que muitas vezes está sujeita à sazonalidade e consequente variação de preço. O mesmo não ocorre com a biomassa lignocelulósica, uma vez que esta está disponível em grandes quantidades e a baixo custo no mercado (BALAT *et al.* 2008).

Diferentemente do caso da produção de etanol 1G, a utilização de materiais lignocelulósicos tem a grande vantagem de não competir com a produção de alimentos (BNDES, 2008). A utilização desses resíduos como matéria-prima tem como principal vantagem o fato de que estes são os materiais mais abundantes do planeta, além de baratos e renováveis, ao contrário dos materiais fósseis (MOOD *et al.*, 2013). Além disso, o processo agrega valor aos resíduos, pois produz combustíveis e produtos químicos de alto valor. Também é importante destacar que o emprego da biomassa

lignocelulósica para fabricação de etanol de segunda geração fornece uma destinação a estes resíduos (AGUILAR *et al.*, 2002).

Todavia, o custo de produção do etanol de segunda geração ainda é muito alto, devido, principalmente, à complexidade da estrutura do material lignocelulósico que torna sua degradação complicada e, muitas vezes, com alta demanda energética (CARDONA *et al.*, 2010).

### **2.1.2 Processo**

Existem diversas rotas tecnológicas para produção de bioenergia a partir da biomassa. As duas rotas mais promissoras são a bioquímica e a termoquímica que se diferenciam entre si na maneira pela qual é realizada a quebra da estrutura da biomassa.

Enquanto a primeira utiliza enzimas ou substâncias químicas para efetuar a quebra, a segunda o faz por meio de energia térmica. Dessa forma, a plataforma termoquímica se baseia na gaseificação da biomassa, produzindo o gás de síntese, ou na pirólise da biomassa, produzindo o bio-óleo. Ambos os produtos podem ser utilizados para sintetizar combustíveis ou produtos químicos de maior valor agregado (CARVALHEIRO *et al.*, 2008).

A rota bioquímica tem o foco principal na conversão da biomassa em açúcares ou outras substâncias fermentáveis por meio de processos químicos ou enzimas. Posteriormente, os açúcares são convertidos a etanol, similarmente ao processo de produção do etanol 1G. Os açúcares produzidos também podem ser convertidos em uma gama de produtos químicos de maior valor agregado (CARVALHEIRO *et al.*, 2008).

Para ilustrar os aspectos referentes ao processo de produção de etanol 2G por meio da rota bioquímica, será inicialmente explanado o processo de etanol 1G por rota bioquímica a partir da cana-de-açúcar, matéria-prima utilizada neste trabalho.

A rota bioquímica de produção de etanol 1G a partir da cana-de-açúcar envolve, basicamente, as seguintes etapas: limpeza da cana e extração do caldo, tratamento do caldo, concentração e esterilização do caldo, fermentação, destilação e desidratação (POPPE e CORTEZ, 2012).

A primeira etapa consiste na remoção da maior parte das impurezas presentes na cana que vem dos campos. Após a limpeza, o caldo é extraído através de moendas e, então, passa por um pré-tratamento em que é peneirado e tratado quimicamente para eliminação de impurezas. A torta de filtro gerada nesta etapa é que pode ser utilizada como matéria-prima para produção de etanol de segunda geração ou ser queimado em caldeiras para geração de energia (DIAS *et al.*, 2009).

Após o tratamento, o caldo é evaporado para ajustar sua concentração de açúcares (DIAS *et al.*, 2009), posteriormente esterilizado, para evitar contaminação, e fermentado por meio das leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, que convertem a sacarose em frutose e glicose que são posteriormente convertidas em etanol e dióxido de carbono (RABELO *et al.*, 2011).

Após a fermentação, as leveduras podem ser recuperadas por meio de centrifugação, podendo ser recicladas. O meio fermentado é enviado para as colunas de destilação para a recuperação do etanol que se encontra a uma concentração de 7 a 10% (VAZ JUNIOR, 2011). No topo da coluna de destilação é produzido o etanol hidratado e, no fundo, um resíduo chamado vinhaça que pode ser aplicado nos campos reduzindo a necessidade de irrigação e fertilizantes (BNDES, 2008). O etanol hidratado, com um teor de água entre 6,2% e 7,4% em massa, pode ser posteriormente desidratado em uma coluna de desidratação e dar origem ao etanol anidro (VAZ JUNIOR, 2011)

A rota bioquímica de produção de etanol 2G a partir do bagaço e da palha de cana aproveita parte da tecnologia e infraestrutura utilizadas para produção do etanol 1G. Na realidade, são necessárias mais duas etapas adicionais ao processo convencional, de forma que a solução de açúcares produzida na hidrólise da biomassa pode ser misturada ao caldo de cana e seguir para a fermentação (DIAS *et al.*, 2009).

De forma geral, as biomassas lignocelulósicas possuem sua estrutura formada por 35 a 50% de celulose, 20 a 35% de hemicelulose e 15 a 20% de lignina (MOOD *et al.*, 2013). A celulose é um polímero linear formado por duas glicoses como unidades básicas de repetição, a chamada celobiose. A hemicelulose é uma macromolécula altamente ramificada, formada por várias moléculas de açúcares como glicoses, galactoses, manoses, arabinoses e xiloses, sendo, esta última, presente em maior quantidade (BALAT *et al.*, 2008). A lignina é um polímero complexo, com estrutura

predominantemente aromática, amorfo e de alta massa molar, cuja função é manter a estrutura da biomassa unida, conferindo-lhe rigidez e resistência a ataques externos. O alto poder calorífico da lignina lhe confere potencial para ser utilizada como fonte de energia (PEREIRA Jr *et al.*, 2008).

Como a estrutura da biomassa lignocelulósica não apresenta açúcares disponíveis prontos para serem fermentados, é necessária a etapa de hidrólise, que consiste na transformação da celulose e hemicelulose em monômeros de açúcares, por meio de via ácida ou enzimática. A hidrólise das frações celulósica e hemicelulósica gera, principalmente, os açúcares glicose e xilose, respectivamente (AGUILAR *et al.*, 2002). Existem diversos fatores relacionados à biomassa que afetam a hidrólise enzimática, como a cristalinidade, porosidade, o grau de polimerização, o tamanho da área superficial, entre outros (RABELO, 2010). Após essa etapa, os açúcares são fermentados. A fermentação da glicose por meio da levedura *Sacharomyces cerevisiae*, usada na indústria para produção em larga escala, é um processo bem conhecido e consolidado. Entretanto, isso não acontece para o caso das pentoses, uma vez que esta levedura não é capaz de fermentar a xilose em etanol. Dessa forma, estudos vêm sendo conduzidos para tentar desenvolver geneticamente as leveduras *Sacharomyces cerevisiae* para que sejam capazes de fermentar as pentoses com desempenhos satisfatórios (HO *et al.*, 1999).

A lignina, por sua vez, geralmente é utilizada como matéria-prima para produção de vapor e de energia elétrica, uma vez que a geração de etanol através desta não é viável. A geração de energia através da lignina torna a usina autossuficiente em energia. Dessa forma, o bagaço que no processo de primeira geração é levado às caldeiras para geração de energia pode ser substituído pela lignina que é um subproduto da tecnologia de segunda geração, sem comprometer a produção de energia (BNDES, 2008).

A biomassa quando hidrolisada na sua forma natural apresenta rendimentos muito baixos, menores que 20% (MOOD *et al.*, 2013). Isso ocorre porque a biomassa possui uma estrutura celular rígida, complexa e recalcitrante à decomposição devido às características estruturais dos tecidos vegetais e às interações de natureza físico-químicas estabelecidas entre a celulose, hemicelulose e lignina. Assim, o pré-tratamento

visa alterar a estrutura da biomassa permitindo que a celulose se torne mais acessível à hidrólise enzimática (MOOD *et al.*, 2013).

Os principais objetivos do pré-tratamento são: alterar o complexo lignina-hemicelulose - celulose, reduzir a cristalinidade e aumentar sua porosidade e área superficial, tornando-a, dessa forma, mais acessível à reação de hidrólise enzimática. Além disso, um bom pré-tratamento deve evitar a formação de inibidores da fermentação (CARDONA *et al.*, 2010).

A celulose é formada por centenas de unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas, cujo tamanho da cadeia é representado pelo grau de polimerização. Quando maior o grau de polimerização da cadeia menor é a sua solubilidade. A hidrólise da celulose é efetuada pelas enzimas exoglucanases e endoglucanases que atuam nas extremidades e nas porções interiores da cadeia, respectivamente. As  $\beta$ -glucosidases hidrolisam as celudextrinas solúveis e convertem a celobiose em glicose. A redução do grau de polimerização aumenta a quantidade de substrato para ação enzimática da exoglucanase e aumenta a solubilidade da celulose proporcionando maiores rendimentos de hidrólise (LYND *et al.*, 2002).

Como o pré-tratamento é uma das etapas mais caras do processo de produção de etanol de segunda geração e sua eficiência influencia diretamente na etapa de hidrólise, grandes esforços tem sido focados nesta etapa do processo (BNDES, 2008). Neste contexto, avanços nos diferentes tipos de pré-tratamento são fundamentais. (RABELO *et al.*, 2011).

## **2.2 Biomassa**

Pode-se definir como biomassa os recursos naturais que possuem uma forma de energia acumulada, chamada de bioenergia. A bioenergia pode ser transformada em formas de energia convenientes que são mais aproveitadas, como, por exemplo, os biocombustíveis (BNDES, 2008).

A biomassa é a matéria-prima da biorrefinaria, porém para produzir o bioetanol, a biomassa deve conter uma quantidade suficiente de sacarose, amido ou lignocelulose. Como exemplos de biomassas pode-se citar a cana-de-açúcar e a beterraba com

elevadas quantidades de sacarose, o milho e o trigo com elevadas quantidades de amido e o bagaço e a palha da cana-de-açúcar com grandes quantidades de material lignocelulósico em suas estruturas (BNDES, 2008; DIAS *et al.*, 2009).

A produção de etanol a partir da cana-de-açúcar é mais atrativa em relação às demais alternativas de matérias-primas, visto que, suas vantagens energéticas e ambientais são superiores. Pode-se citar, por exemplo, a demanda de quantidades inferiores de fertilizantes, o baixo uso de nitrogênio sintético em suas culturas e a autossuficiência em energia na produção de etanol (BNDES, 2008). No Brasil, as indústrias de etanol já são, praticamente, autossuficientes em energia e, muitas vezes, conseguem exportar o excedente de energia produzida com a queima do bagaço (POPPE e CORTEZ, 2012).

Uma forma de comparar as biomassas se dá através da relação entre a energia renovável produzida dividida pela energia não renovável consumida no processo produtivo. Enquanto a cana e os resíduos lignocelulósicos apresentam relações de energia de 9,3 e 8,3, o milho, o trigo e a beterraba apresentam relações inferiores de 0,6 a 2, 0,97 a 1,11 e 1,2 a 1,8, respectivamente (BNDES, 2008).

Dessa forma, a cana-de-açúcar é a matéria-prima mais favorável e, portanto, a mais competitiva para produção de bioetanol (DIAS *et al.*, 2009). O Brasil está em uma posição favorável em relação a este aspecto, pois é um grande produtor de biomassa, principalmente de cana-de-açúcar (VAZ JUNIOR, 2011).

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e apresenta o clima ideal para o cultivo da planta. A estimativa da safra de 2016/2017 é de 694 milhões de toneladas de produção de cana-de-açúcar e de 27,9 bilhões de litros de etanol (CONAB, 2016). Cerca de uma tonelada de caldo produzido gera 280 kg de bagaço que atualmente é, em sua maioria, aproveitado para geração de energia elétrica, visando atender a demanda energética das próprias usinas. A palha produzida nos campos também pode ser utilizada para produção de energia, mas uma parte deve ficar nos campos para evitar a erosão, manter a umidade do solo e reciclar nutrientes (VAZ JUNIOR, 2011).

Os Estados Unidos são grandes produtores de bioetanol utilizando majoritariamente o milho como biomassa. Entretanto, a produção de etanol a partir do

milho apresenta problemas ambientais, como a erosão do solo e a necessidade de grandes quantidades de nitrogênio como fertilizante nas plantações (BALAT *et al.*, 2008). Dessa forma, países do hemisfério norte vêm buscando desenvolver tecnologias para viabilizar de forma econômica e ambiental a produção de etanol por meio de matérias-primas lignocelulósicas que estão presentes em abundância em todo o mundo (BNDES, 2008).

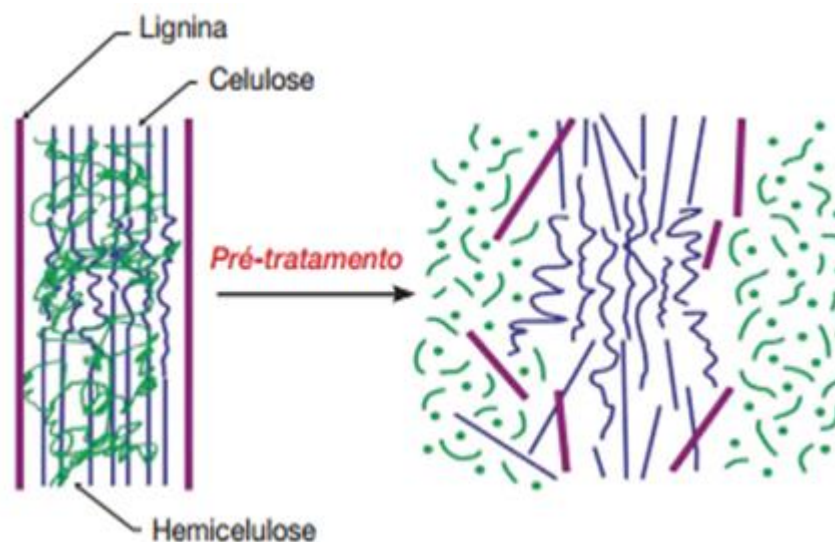
Apesar das matérias-primas lignocelulósicas se constituírem como um resíduo e por isso apresentarem baixo custo, isso não acontece em todos os casos. O bagaço de cana, por exemplo, por ser utilizado como gerador de bioeletricidade nas usinas de biocombustível passou a ser visto como um insumo importante. Por esse motivo, o bagaço possui cotação no Brasil, sendo que este chegou a custar em 2015 mais que a própria cana-de-açúcar, sendo comercializado a R\$ 150,00 por tonelada enquanto que a cana era vendida a R\$ 50,00-60,00 por tonelada. Em 2016, o custo da tonelada de bagaço era R\$ 60,00, podendo ser vendido a R\$ 25,00.

Os materiais lignocelulósicos são os mais abundantes do mundo (50% da biomassa terrestre aproximadamente) e são compostos por polissacarídeos, celulose e hemicelulose, associadas à lignina (PEREIRA Jr. *et al.*, 2008), como pode ser visto na Figura 1. Nas plantas, as cadeias lineares de celulose promovem a rigidez, a lignina atua como barreira física contra o ataque dos microrganismos e água, e a hemicelulose proporciona a ligação entre a celulose e a lignina formando uma complexa rede fibrosa. Assim, os dois maiores obstáculos à hidrólise da celulose dos materiais lignocelulósicos são a recalcitrância da celulose cristalina (proveniente da estrutura linear das cadeias de celulose compactadas em microfibrilas) e a alta proteção que a lignina oferece à estrutura celulósica, servindo de defesa ao ataque das enzimas.

**Celulose:** é um polissacarídeo, um polímero de glicose que forma cadeias com ligações do tipo  $\beta$ -D (1,4) glicosídicas. Este polímero natural mantém uma estrutura plana e linear cuja unidade repetitiva é a celobiose.

Na celulose, as cadeias de glicose estão alinhadas formando fibrilas elementares. As ligações de hidrogênio que unem as fibrilas elementares proporcionam coletivamente uma grande força de ligação que incrementa a resistência da glicose ao ataque da hidrólise. Conjuntos destas fibrilas elementares formam microfibrilas, que

constituem a unidade fundamental da parede celular das plantas e estão orientadas em diferentes ângulos com espessuras distintas. Com cerca de 10 a 25 nanômetros de diâmetro, as microfibrilas se reúnem em feixes maiores, formando as macrofibrilas cujas principais funções são conferir sustentabilidade, rigidez e flexibilidade a planta (ALBERSHEIM *et al.*, 2011).



*Figura 1 – Estrutura da dos materiais lignocelulósicos e efeito do pré-tratamento  
(Adaptado de Mosier et al., 2005)*

As regiões altamente ordenadas dentro das microfibrilas são chamadas "cristalinas", as menos ordenadas são chamadas "amorfas". A intensidade de frações cristalinas presentes pode ser representada pelo índice de cristalinidade. Essa característica influencia no comportamento físico e na reatividade do material, sendo que as regiões amorfas são mais susceptíveis à hidrólise enzimática devido ao arranjo mais desorganizado das moléculas e a maior distância entre as fibrilas, em comparação com as regiões cristalinas. Em geral, o índice de cristalinidade dos materiais lignocelulósicos é alto, sendo interessante o uso de pré-tratamentos que diminuam o índice de cristalinidade da celulose (LYND *et al.*, 2002).

**Hemicelulose:** são polímeros heterogêneos ramificados e, portanto, não apresentam regiões cristalinas, assim, são mais solúveis e mais suscetíveis à hidrólise química (PEREIRA Jr. *et al.*, 2008).



As unidades de açúcar que formam as hemiceluloses podem ser divididas em grupos, tais como pentoses, hexoses, ácidos hexourônicos e desoxi-hexoses. Estas unidades apresentam-se na forma de homopolímeros como a xilana formada por xiloses; ou heteropolímeros como a glico-manana, formada por glicose e manose (McMILLAN, 1994).

**Lignina:** é a macromolécula orgânica mais complexa e menos caracterizada na biomassa lignocelulósica e confere rigidez à parede celular das plantas. A lignina apresenta uma estrutura formada por polimerização de três diferentes monômeros: (i) álcool p-cumarílico; (ii) álcool coniferílico; (iii) álcool sinapílico (PEREIRA Jr. *et al.*, 2008).

Na hidrólise dos materiais lignocelulósicos, a lignina é um composto indesejável que, preferencialmente, deve ser eliminado. Além de ser uma barreira física para as enzimas, as celulases podem ser irreversivelmente ligadas à lignina, aumentando a quantidade de enzima necessária para a hidrólise, e dificultando também a recuperação das enzimas após a hidrólise (ZHENG, 2007).

Além da celulose, hemicelulose e lignina, os materiais lignocelulósicos contêm outros componentes em menor grau, tais como resinas, taninos, ácidos graxos, etc. Compostos de nitrogênio na forma de proteínas também são encontrados em pequenas quantidades. Alguns sais de cálcio, potássio e magnésio também são frequentes (PEREIRA Jr. *et al.*, 2008).

## 2.3 Pré-tratamento

As principais funções do pré-tratamento são remover a lignina e a hemicelulose da biomassa, reduzir a cristalinidade da celulose e/ou aumentar a porosidade do material para melhorar o acesso das enzimas à celulose e assim aumentar a conversão dos polissacarídeos em açúcares (MOSIER *et al.*, 2005), como demonstrado na Figura 1. Além disso, deve-se evitar nesta etapa a perda de possíveis açúcares formados e limitar a formação de inibidores (AGBOR *et al.*, 2011).

Os pré-tratamentos podem ser classificados como físicos, químicos, biológicos ou uma combinação destes. A Tabela 1 apresenta os principais tipos de pré-tratamento utilizados. A implementação de um pré-tratamento depende da natureza do material lignocelulósico e da aplicação do material hidrolisado. Vários fatores podem ser usados como comparação entre diferentes pré-tratamentos, como por exemplo: rendimento, consumo de energia, formação de inibidores tóxicos, preços de reagentes, necessidade de processos adicionais, entre outros. E sua escolha é baseada em critérios técnico-econômicos, uma vez que esta pode ser a etapa mais cara da produção de etanol de segunda geração (TAO *et al.*, 2011).

A maioria dos pré-tratamentos físicos, focos deste trabalho, envolvem redução de tamanho de partícula e diminuição da cristalinidade através de técnicas de trituração e moagem. Melhorias nos resultados de hidrólise enzimática podem ser observadas pela redução da cristalinidade dos materiais tratados, devido a uma melhoria das propriedades de transferência de massa pela redução do tamanho de partícula e aumento de tamanho dos poros (DA COSTA SOUSA *et al.*, 2009). Outros pré-tratamentos físicos, como o pré-tratamento hidrotérmico, têm como objetivo a solubilização de parte da biomassa (como a hemicelulose) para facilitar o acesso das enzimas à celulose (PAN *et al.*, 2005).

Tabela 1- Principais pré-tratamentos utilizados (Adaptado de ANDERSEN, 2007)

<b>Pré-tratamento físicos</b>	<b>Pré-tratamento químicos</b>
	<b>Ácido (Concentrado ou Diluído)</b>
<b>Cominuição Mecânica</b>	<b>Alcalino</b>
<b>Alta Temperatura</b> (Pirólise, Explosão a vapor, Liquid Hot Water)	<b>Agentes Oxidantes</b>
<b>Radiação de Alta Energia</b> (Raios de elétrons, Raios Gamma ( $\gamma$ ), Micro-ondas)	<b>Gás</b>
<b>Extrusão</b>	<b>Solventes da Celulose</b>
<b>Expansão</b>	<b>Solventes de Extração da Lignina</b>
	<b>Deslignificação Oxidativa</b>
	<b>Processo Organosolv</b>
	<b>Líquidos Iônicos</b>
<b>Pré-tratamento físico-químico</b>	<b>Pré-tratamento biológicos</b>
	<b>Fungos Filamentosos:</b>
<b>Explosão de Vapor Catalisada</b>	- Fungo da podridão marrom (ataca a celulose)
<b>AFEX (Ammonia Fibre Explosion)</b>	- Fungo da podridão branco (ataca a lignina e a celulose)
<b>Explosão de CO<sub>2</sub></b>	- Fungo da podridão vermelho (ataca a lignina e a celulose)
<b>Extração com Fluidos Supercríticos</b>	
	<b>Bactérias</b>

## 2.4 Pré-tratamento Hidrotérmico

Dentre os pré-tratamentos hidrotérmicos existentes os mais conhecidos são: o tratamento por explosão a vapor e o tratamento por cozimento com água quente, também conhecido como auto-hidrólise, *liquid hot water* (LHW) ou ainda *hot compressed water* (HCW).

Na técnica de explosão a vapor, a biomassa é submetida a vapor sob pressão por um determinado período de tempo e, ao final deste período, o reator é despressurizado rapidamente. A água pode atuar como ácido a altas temperaturas, devido a sua auto-ionização, assim, este tratamento combina forças mecânicas e químicas com o objetivo de hidrolisar a hemicelulose. Os efeitos mecânicos são causados pela rápida descompressão que provoca a separação das fibras (PAN *et al.*, 2005).

O HCW é um tipo de tratamento hidrotérmicos que não utiliza nenhum tipo de reagente químico e não é necessária a descompressão rápida. Neste tratamento, a pressão é aplicada para manter a água no estado líquido em temperaturas elevadas (160 - 240°C). O principal objetivo deste tratamento é a solubilização da hemicelulose para tornar a celulose mais acessível às enzimas utilizando condições de processo que minimizem a formação de inibidores. A fração líquida gerada ao final deste tratamento pode ser filtrada dando origem a duas correntes, uma delas rica em celulose (resíduo sólido) com alta digestibilidade e outra rica em açúcares derivados da hemicelulose.

Através deste método, a lignina é parcialmente solubilizada e despolimerizada, entretanto a total deslignificação não é possível utilizando somente água quente, devido à recondensação de alguns componentes solúveis presentes na lignina. Em geral, este tipo de tratamento é atrativo do ponto de vista econômico por não requerer catalisadores, por utilizar reatores com baixo custo de construção e por possuir baixo potencial de corrosão. Em comparação com a explosão a vapor este tratamento possui maior recuperação de açúcares de 5 carbonos e menor formação de inibidores, entretanto o consumo de água neste tipo de tratamento é elevado, dificultando a sua implementação em escala industrial (ALVIRA *et al.*, 2010).

Dependendo das condições de operação, os polissacarídeos (principalmente hemiceluloses) são despolimerizados a oligômeros e monômeros, e os açúcares correspondentes (pentoses e hexoses) podem ser desidratados, respectivamente, para furfural e hidroximetilfurfural. Estes aldeídos são inibidores da fermentação (MOSIER *et al.*, 2005).

Recentemente, SOUZA e CRUZ (2013) pré-trataram a palha da cana-de-açúcar a 195°C por 10 min, alcançando uma remoção de hemicelulose de 87% e uma conversão de etanol de 84% com uma carga enzimática de 10 FPU/g e tempo de hidrólise de 72 h.

BARROS (2016) apresentou o resultados da hidrólise enzimática e da fermentação para diferentes pressões iniciais (0, 5, 10, 15 e 20 bar) e gases (CO<sub>2</sub>, ar sintético e N<sub>2</sub>) empregados no tratamento hidrotérmico com o reator a 165 °C durante 25 minutos. Nesta etapa, o uso de gás carbônico e uma pressão de 10 bar apresentou os melhores resultados, com um maior rendimento da hidrólise (50%), menor fração de hemicelulose após o tratamento e maior fração de celulose. Utilizando o mesmo gás e pressão, foi então realizado o estudo do tempo e temperatura de pré-tratamento, onde conversões de até 85% e remoção quase completa da hemicelulose foram obtidas para pré-tratamentos em 200 °C durante 50 minutos. E em condições ótimas, 225 °C e 40 minutos, obteve-se um rendimento de 87%, uma fração de hemicelulose praticamente nula, com a formação de inibidores dentro de uma faixa admissível. O consumo energético do pré-tratamento calculado neste trabalho ficaria na faixa de 74 e 92 kJ/g de biomassa tratada.

## 2.5 Extrusão

A extrusão é um processo bastante antigo, muito utilizado nas indústrias de alimentos e polímeros e é considerada um pré-tratamento físico ao causar mudanças na estrutura física da biomassa. As mudanças são causadas devido aos processos de cisalhamento, mistura e aquecimento ao qual biomassa está sujeita durante o processo de extrusão. Esses efeitos causam a destruição da rígida estrutura da biomassa, o que eleva a exposição da celulose, diminui sua cristalinidade e aumenta a porosidade (KARUNANITHY e MUTHUKUMARAPPAN, 2011; MOOD *et al.*, 2013).

O equipamento consiste, basicamente, em um cilindro que abriga em seu interior parafusos (ou rosca única ou dupla) giratórios. O parafusos giram por meio de um motor que permite que sua velocidade de rotação seja controlada. A matéria-prima entra por um funil de alimentação que, em geral, apresenta uma seção cilíndrica seguida por uma seção cônica (CUNHA, 1999). Quando atinge os parafusos, a matéria-prima é transportada ao longo do cilindro onde está sujeita à mistura, corte e aquecimento. Isso resulta em um desgaste considerável do material, desordenando sua estrutura rígida (HJORTH *et al.*, 2011).

O transporte ao longo do cilindro até a matriz ocorre por meio da rotação dos parafusos. Um aumento na velocidade da rosca influencia no fluxo de avanço aumentando a produção. O cilindro é aquecido por meio de resistências elétricas que permitem que sua temperatura seja controlada, fornecendo calor por condução ao material que é progressivamente aquecido ao longo de sua passagem. No caso da biomassa, a extrusão é realizada com o material no estado sólido e deve-se tomar o cuidado para que a temperatura de aquecimento não cause degradação.

Os parafusos podem ser montados conectando-se os três tipos de elementos de parafusos: de transporte, de mistura e reverso. O primeiro tem a função, principalmente, de transportar o material ao longo do cilindro, o reverso tem a função de transportar o material na direção contrária à saída, aumentando o tempo de residência (HIETALA *et al.*, 2011). Já os elementos de mistura formam a zona de mistura onde o material é intensivamente cisalhado entre a parede do cilindro e os parafusos, tornando-se mais homogêneo.

A eficiência do pré-tratamento, geralmente medida por meio do rendimento da hidrólise, pode sofrer influência dos parâmetros de extrusão, como a velocidade de rotação da rosca, a temperatura do cilindro, a geometria da rosca e as condições de alimentação como vazão, solvente utilizado, teor de umidade e tamanho das partículas (KARUNANITHY e MUTHUKUMARAPPAN, 2011).

Ao pré-tratar a palha de milho em uma extrusora de rosca única, KARUNANITHY e MUTHUKUMARAPPAN (2011) investigaram a influência da velocidade de rotação do parafuso e da temperatura do cilindro no rendimento da hidrólise utilizando diferentes combinações de enzimas e diferentes razões entre elas. Observou que ambas as variáveis apresentaram efeitos significantes sobre a conversão, com valores ótimos de velocidade e temperatura de 75 rpm e 125°C. Nessas condições foram obtidos 75% de conversão de glicose e 49% de xilose, correspondendo a 1,97 e 1,7 vezes os rendimentos de glicose e xilose da biomassa não tratada.

A extrusão apresenta algumas vantagens em relação aos outros pré-tratamentos. Primeiramente, é um processo contínuo que possui alta capacidade de processamento e possibilita a obtenção de um produto mais uniforme em comparação com os processos em batelada (YOO, 2011). Neste processo também não há, geralmente, formação de

inibidores da fermentação (KARUNANITHY e MUTHUKUMARAPPAN, 2010). Também é possível citar como vantagens deste tratamento: curto tempo de residência, temperatura moderada (LEE *et al.*, 2010), não há formação de efluentes, eliminando os custos com o tratamento e a disposição dos mesmos (MOOD *et al.*, 2013)

Para a extrusão de materiais lignocelulósicos faz-se necessário o uso de um aditivo com o objetivo de melhorar as propriedades de fluidez do material, facilitando seu transporte. Caso contrário, podem ocorrer entupimento e degradação da biomassa, principalmente na zona de mistura (SILVA *et al.*, 2013). LEE *et al.* (2010) testaram aditivos com afinidade pela celulose na extrusão da conífera Douglas fir. Dentre os aditivos testados, etilenoglicol, glicerol e dimetil sulfóxido (DMSO), o que obteve maior eficiência na desfibrilação da biomassa foi o etilenoglicol com um rendimento máximo na hidrólise de 62,4% de glicose, proporcionando um produto com tamanho das fibras menor. O resultado máximo alcançado foi 6 vezes maior que o rendimento da biomassa sem tratamento. Estes aditivos não apresentaram inibição às enzimas da hidrólise e por isso não causam prejuízo para esta etapa.

Outros pesquisadores utilizaram a água como aditivo da extrusão (KARUNANITHY e MUTHUKUMARAPPAN, 2010; LAMSAL LEE *et al.* 2010), entretanto o uso da água restringe a operação a temperaturas mais baixas para evitar sua evaporação.

YOO (2011) utilizou como aditivo o amido de milho, pois ele forma uma massa viscosa fundida que facilita o transporte da biomassa, durante a extrusão. Realizou também a extrusão de amostras sem o amido de milho. Para essas amostras a água substituiu o amido como aditivo, sendo assim, foi necessário aumentar a umidade da biomassa para teores que variaram de 40 a 50%. Até 80 °C a extrusão das amostras sem amido aconteceu com facilidade, entretanto nas temperaturas de 110 e 140 °C o autor relata a ocorrência de bloqueios no transporte e até mesmo a combustão da biomassa.

MORO (2015) realizou o pré-tratamento por extrusão de bagaço e palha de cana-de-açúcar variando o aditivo e sua carga, o número de ciclos de extrusão, a temperatura, a velocidade de rotação de extrusão e a configuração dos parafusos. Nos experimentos foi indispensável o uso de um aditivo para auxílio no transporte da biomassa.

Glicerol, em uma carga de 43%, foi o mais apropriado para o pré-tratamento, sendo que cargas superiores aumentavam a fluidez da biomassa e diminuía sua eficiência. O rendimento de glicose alcançado em 72 horas de hidrólise nas condições de 50°C, 30 rpm e processamento com somente 1 ciclo foi de 37,0% para o bagaço e 37,3% para a palha, rendimentos inferiores à maioria dos resultados encontrados na literatura que utilizam extrusão, uma vez que estes geralmente associam a extrusão a tratamentos ácidos ou alcalinos (MORO, 2015).

Com o aumento do número de ciclos o rendimento da hidrólise aumentou para 42,1% após 3 ciclos e o rendimento da palha aumentou até 54,9% após o sétimo o sétimo ciclo. A variação do rendimento com a alteração da temperatura do cilindro e a velocidade de rotação dos parafusos foi pouca, de 35,8 a 41,6%, mesmo com uma grande variação nas condições de operação. A configuração dos parafusos foi o fator que exerceu maior influência, com rendimentos de hidrólise chegando a 68,5% em 72 horas com o uso de elementos reversos. No entanto, o uso deste tipo de elemento dificultou drasticamente a passagem da biomassa, sendo necessário reduzir a vazão de entrada para valores baixos. A análise do consumo energético da extrusora mostrou um baixo consumo em comparação com alguns moinhos de bolas reportados na literatura e mostrou um consumo comparável em relação ao moinho de discos (MORO, 2015).

### **2.5.1 Moagem (Moinho de Bolas)**

O processo de moagem por moinho de bolas utiliza tensão de cisalhamento e força de impacto entre as bolas e o vaso de trituração, produzindo um material particulado que pode atingir a escala nanométrica. A moagem por moinho de bolas é capaz de alterar drasticamente a estrutura da parede celular da planta, e a cristalinidade de celulose pode ser significativamente reduzida (o que aumenta a proporção de celulose amorfa), melhorando assim os rendimentos da hidrólise. Os principais fatores envolvidos no processo e que influenciam na eficiência da moagem são a velocidade de rotação do equipamento, tamanho inicial da partícula, tempo de operação, tamanho e quantidade de bolas, proporção entre o número de bolas presentes e a quantidade de material e proporção sólido/líquido entre o material e o aditivo utilizado.



Dentre suas vantagens, têm-se o aumento da área superficial sem perda de componentes e não geração de inibidores, gases ou frações líquidas (SÁNCHEZ e CARDONA, 2008). Entretanto processos de moagem são conhecidos por terem alto custo energético, dependendo das características do material e o tamanho final das partículas (LASER *et al.*, 2002). O consumo energético durante a moagem dos materiais lignocelulósicos é alto e aumenta exponencialmente com a diminuição do tamanho de partícula e cristalinidade (KOBAYASHI *et al.*, 2011). Além disso, a uma escala industrial, são equipamentos que podem chegar a grandes dimensões.

Nos últimos anos, diversos estudos foram publicados utilizando o moinho de bolas como alternativa atrativa de pré-tratamento para materiais lignocelulósicos. Resultados obtidos com o pré-tratamento de biomassa da cana-de-açúcar geraram rendimentos de 78,7% para bagaço e 77,6% para palha (SILVA *et al.*, 2010). Em ambos os casos, o aumento na digestibilidade de celulose estava relacionado com a redução da cristalinidade. Estudos envolvendo palha de milho pré-tratada em moinho de bolas sob diferentes condições (LIN *et al.*, 2010) resultaram em um rendimento de hidrólise de 87,7%, o que indica que a moagem com bolas é extremamente eficaz no aumento da acessibilidade de biomassa para as enzimas.

PANARO (2016) mostrou que o pré-tratamento por moinho de bolas planetário apresenta altos rendimentos de glicose na hidrólise enzimática, tanto para bagaço de cana-de-açúcar ou palha de cana-de-açúcar, com 82% e 86% de rendimento, respectivamente, com um consumo de energia menor que os valores encontrados na literatura. O autor trabalhou com diferentes tempos de moagem, proporções de biomassa/água e diferentes aditivos.

Para a biomassa seca (sem adição de água), o maior rendimento encontrado, 82%, foi obtido após 3 horas de moagem, sendo que não houve um aumento significativo no rendimento entre este tempo de moagem e 2,5 horas. Para diferentes proporções de água o melhor resultado foi encontrado para a razão de 1 g de biomassa/ 15 g de água, mas com um rendimento inferior a moagem sem adição de água. Em relação aos aditivos utilizados, o melhor resultado encontrado foi para uma mistura de etilenoglicol e glicerol, com 74% e 73% de rendimento após 2,5 horas de moagem. Assim, o moinho de bolas pode ser uma alternativa aos pré-tratamentos convencionais utilizados, uma vez

que não trabalha com altas temperaturas ou pressões, e não gera efluentes durante o processo (PANARO, 2016).

## 2.6 Modelagem matemática da hidrólise enzimática

Na hidrólise enzimática ocorrem reações de múltiplos estágios em um sistema heterogêneo onde a celulose insolúvel é inicialmente degradada pela ação de um conjunto de enzimas. A degradação inicial é acompanhada da hidrólise na fase líquida dos produtos intermediários solúveis (celobiose e cadeias curtas de oligossacarídeos) que são convertidos em glicose pelas  $\beta$ -glicosidasas (ZHANG e LYND, 2004).

Em geral, a hidrólise depende das características das enzimas como: adsorção da enzima no substrato, inibição competitiva ou não competitiva pelo produto final e limitações da transferência de massa que afetam o transporte da enzima para o substrato. A hidrólise é também afetada pelas características do substrato como: composição e distribuição dos componentes do substrato (lignina, hemicelulose, proteínas e gorduras), tamanho de partícula e a cristalinidade (BROWN *et al.*, 2010).

Apesar da complexidade envolvida no processo de hidrólise, o fundamental é que: a enzima deve estar em contato com o substrato para que a reação ocorra e um intermediário enzima-substrato é formado antes que o produto final seja liberado (ANDRÍC *et al.*, 2010).

Diversos são os estudos desenvolvidos para tentar descrever a hidrólise enzimática da celulose. Alguns incorporam múltiplas atividades enzimáticas e parâmetros mensuráveis e interpretáveis fisicamente como o grau de polimerização (GP) e a fração de enlaces beta-glicosídicos acessíveis às celulasas (Fa) (ZHANG e LYND, 2006). Outros utilizam o balanço populacional para descrever a transformação de uma distribuição contínua de cadeias de celulose (GRIGGS *et al.*, 2011); outros modelos incluem as características superficiais da celulose e o comportamento individual das enzimas celulasas, descrevendo os polímeros da celulose como espécies individuais, analisando a concentração de cada comprimento de cadeia (LEVINE *et al.*, 2010). Também foi criada uma abordagem baseada na modelagem molecular estocástica (KUMAR e MURTHY, 2013).

### **2.6.1 Modelo cinético de Kadam et al. (2004)**

O modelo cinético utilizado neste trabalho, adaptado por CÂMARA (2012) e ANGARITA MARTINEZ (2014), para a modelagem matemática da hidrólise enzimática é uma modificação dos modelos de KADAM *et al.* (2004), um modelo capaz de descrever a complexidade da hidrólise de materiais lignocelulósicos. O modelo de KADAM *et al.* (2004) foi verificado experimentalmente (ZHENG *et al.*, 2009), utilizado em diversos trabalhos (MUTTURI e LIDÉN, 2013), e consegue descrever a cinética da hidrólise enzimática do bagaço de cana (CÂMARA, 2012). Este modelo considera a adsorção da enzima, a inibição pelos produtos, a reatividade do substrato, enquanto despreza os efeitos da inativação mecânica e térmica das enzimas. Os aspectos deste modelo são discutidos a seguir.

**Adsorção da enzima:** A adsorção das enzimas sobre a superfície do substrato na hidrólise tem sido modelada usando expressões cinéticas (AL-ZUHAIR, 2008) ou isotermas de adsorção (KADAM *et al.*, 2004). Embora outros modelos de adsorção diferentes do modelo de Langmuir têm sido propostos, poucos têm sido incorporados em modelos cinéticos para prever a taxa da hidrólise (ZHENG, 2007). O modelo de Langmuir tem sido usado para descrever com sucesso a adsorção de sistemas heterogêneos, no entanto, as suposições do modelo de distribuição uniforme de sítios ativos de ligação na superfície do substrato e nenhuma interação entre as moléculas adsorventes podem não ser necessariamente válidas para a adsorção das celulasas na celulose (ZHANG e LYND, 2004). A isoterma de Langmuir assume que o equilíbrio da adsorção é atingido, ignorando que durante a hidrólise acontecem mudanças na estrutura e composição do substrato, conferindo características dinâmicas ao processo (LIAO *et al.*, 2008). Porém, a formulação de Langmuir permanece útil para descrever matematicamente o fenômeno da adsorção da enzima.

**Inibição pelo produto:** A ação das enzimas é fortemente inibida pelos produtos solúveis, principalmente glicose e celobiose (ANDRIĆ *et al.*, 2010). A celobiose tem sido observada ser o mais forte inibidor da hidrólise (FAN e LEE, 1983). ASK *et al.* (2012) constataram o efeito da inibição da xilose e os xilo-oligômeros sobre a taxa da hidrólise. KADAM *et al.* (2004) consideram a inibição da xilose sobre as celulasas e as  $\beta$ -glicosidases em seu modelo. A inibição da taxa de hidrólise pela glicose e celobiose

tem sido considerada em muitos dos modelos propostos, sendo o mecanismo de inibição competitiva mais comum na literatura.

Existem poucos dados sobre a inibição das celulasas em substratos lignocelulósicos pré-tratados (ANDRIĆ *et al.*, 2010) e ainda menos em condições de alta concentração de sólidos (KRISTENSEN *et al.*, 2009).

**Reatividade do substrato:** A reatividade do substrato é um conceito utilizado para representar as características estruturais do substrato como cristalinidade, grau de polimerização, acessibilidade, etc. KADAM *et al.* (2004) admitiram que a celulose é um substrato homogêneo cujas transformações são representadas em um parâmetro de digestibilidade relativa, chamado reatividade do substrato ( $R_s$ ):

$$R_s = \alpha \frac{S}{S_0} \quad (1)$$

Nesta equação,  $R_s$  é a reatividade do substrato,  $S$  é a concentração do substrato em um determinado instante,  $S_0$  é concentração inicial do substrato e  $\alpha$  é uma constante adimensional obtida experimentalmente. KADAM *et al.* (2004) determinaram a reatividade da palha de milho pré-tratada com ácido, o valor obtido para o parâmetro  $\alpha$  foi 0,97. CÂMARA (2012) modelou a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor e conseguiu descrever adequadamente os dados experimentais da hidrólise adotando o valor da unidade para o parâmetro  $\alpha$ ; este mesmo valor é adotado neste trabalho.

### **2.6.2 Modelo adaptado de ANGARITA MARTINEZ (2014)**

CÂMARA (2012) acrescentou ao modelo de KADAM *et al.* (2004) a reação de formação da xilose, uma vez que esta é um produto formado em concentrações significativas na hidrólise e pode apresentar efeitos de inibição. O modelo apresentado por ANGARITA MARTINEZ (2014) foi baseado nos trabalhos de CÂMARA (2012) e é utilizado neste trabalho. A Figura 2 o esquema cinético em que o modelo se baseia. O modelo é baseado em quatro reações, três reações para a formação da glicose a partir da celulose ( $r_1$ ,  $r_2$  e  $r_3$ ) e uma reação para formação de xilose a partir da hemicelulose ( $r_4$ ). Além disso, é considerada uma potencial inibição das reações pelos produtos formados na hidrólise (glicose, celobiose e xilose).

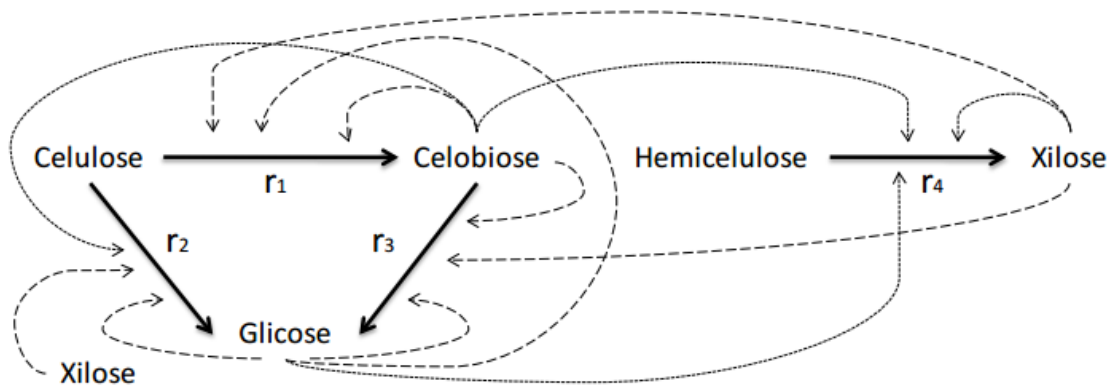


Figura 2 - Mecanismo cinético proposto para hidrólise da celulose  
(FONTE: ANGARITA MARTINEZ (2014)).

As principais hipóteses consideradas para a formulação do modelo são listadas a seguir:

1. Embora existam diversas enzimas envolvidas na hidrólise, para efeitos práticos, o complexo enzimático utilizado foi modelado como uma única pseudo-enzima, assim, as enzimas foram descritas por uma única variável;

2. A atividade enzimática total foi considerada proporcional à concentração de proteína na fase aquosa;

3. A adsorção da enzima segue a isoterma de Langmuir com as reações  $r_1$ ,  $r_2$  e  $r_4$  acontecendo na superfície do substrato;

4. Não há distinção entre celulose amorfa e cristalina, isto é, a celulose é uniformemente suscetível ao ataque enzimático;

5. A estrutura do substrato é uniforme com relação à adsorção, ou seja, a enzima se adsorve uniformemente pela estrutura sem haver preferência pelo substrato. Dado que a composição da superfície apresenta a mesma composição da biomassa, essa composição pode ser usada para calcular a concentração de enzimas adsorvidas na superfície do material (LIAO *et al.*, 2008);

6. A lignina influencia apenas na adsorção e a razão entre a lignina exposta às enzimas e a quantidade total de lignina contida no substrato é igual à unidade;

7. Não há inativação térmica e mecânica da enzima;

8. A conversão da celobiose em glicose ocorre por catálise homogênea em solução e segue a cinética de Michaelis-Menten.

Durante a hidrólise, primeiro as enzimas são adsorvidas sobre os componentes do substrato (celulose, hemicelulose e lignina) na superfície, a seguir as enzimas adsorvidas convertem celulose e hemicelulose em açúcares. A adsorção das enzimas é descrita pela isoterma de Langmuir e as taxas de reação por equações de velocidade baseadas no modo de inibição competitivo, considerando cada reação potencialmente inibida pelos produtos da hidrólise (glicose, celobiose e xilose) (KADAM *et al.*, 2004; CÂMARA, 2012). As equações que compõem o modelo são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Modelo cinético da hidrólise enzimática da biomassa lignocelulósica  
ANGARITA MARTINEZ (2014)

<b>Adsorção da enzima e equações de taxa de reação</b>	
<b>Isoterma de Adsorção de Langmuir</b>	$E_b = \frac{E_{\max} K_{Ad} S E_f}{(1 + K_{Ad} E_f)} \quad (2)$
<b>Enzima adsorvida na celulose (C)</b>	$E_{b_c} = E_b \frac{C}{S} \quad (3)$
<b>Enzima adsorvida na hemicelulose (H)</b>	$E_{b_H} = E_b \frac{H}{S} \quad (4)$
<b>Conversão da celulose (C) em celobiose (G2)</b>	$r_1 = \frac{k_{1r} R_S E_{b_c} C}{\left(1 + \frac{G}{K_{1G}} + \frac{G2}{K_{1G2}} + \frac{X}{K_{1X}}\right)} \quad (5)$
<b>Conversão da celulose (C) em glicose (G)</b>	$r_2 = \frac{k_{2r} R_S E_{b_c} C}{\left(1 + \frac{G}{K_{2G}} + \frac{G2}{K_{2G2}} + \frac{X}{K_{2X}}\right)} \quad (6)$
<b>Conversão da celobiose (G2) em glicose (G)</b>	$r_3 = \frac{k_{3r} E_f G2}{K_{3M} \left(1 + \frac{G}{K_{3G}} + \frac{X}{K_{3X}}\right) + G2} \quad (7)$
<b>Conversão da hemicelulose (H) em xilose (X)</b>	$r_4 = \frac{k_{4r} R_S E_{b_H} H}{\left(1 + \frac{G}{K_{4G}} + \frac{G2}{K_{4G2}} + \frac{X}{K_{4X}}\right)} \quad (8)$

<b>Balanços de massa</b>		
<b>Enzima total</b>	$E_T = E_f + E_b$	(9)
<b>Sólidos insolúveis (S)</b>	$S = H + C + L$	(10)
<b>Celulose</b>	$\frac{dC}{dt} = -r_1 - r_2$	(11)
<b>Celobiose</b>	$\frac{dG2}{dt} = 1,056r_1 - r_3$	(12)
<b>Glicose</b>	$\frac{dG}{dt} = 1,111r_2 + 1,053r_3$	(13)
<b>Hemicelulose</b>	$\frac{dH}{dt} = -r_4$	(14)
<b>Xilose</b>	$\frac{dX}{dt} = 1,136r_4$	(15)

Como mostrado por SIN *et al.* (2010), o modelo proposto por KADAM *et al.* (2004) é superparametrizado. Para superar este problema, ANGARITA MARTINEZ (2014) sugeriu uma modificação das taxas de reação do modelo. No modelo proposto, os parâmetros de inibição das reações que ocorrem na interface sólido-líquido são considerados como apenas um conjunto ( $K_{IG}$ ,  $K_{IG2}$  e  $K_{IX}$ ) já que o complexo enzimático é modelado como uma pseudo-enzima com uma única capacidade. As novas taxas de reação podem ser encontradas na Tabela 3.



Tabela 3 – Modificação das taxas de reação proposta por ANGARITA MARTINEZ (2014)

<b>Equações de taxa de reação</b>	
<b>Conversão da celulose (C) em celobiose (G2)</b>	$r_1 = \frac{k_{1r} \cdot R_s \cdot E_{bc} \cdot C}{\left(1 + \frac{G}{K_{IG}} + \frac{G2}{K_{IG2}} + \frac{X}{K_{IX}}\right)} \quad (16)$
<b>Conversão da celulose (C) em glicose (G)</b>	$r_2 = \frac{k_{2r} \cdot R_s \cdot E_{bc} \cdot C}{\left(1 + \frac{G}{K_{IG}} + \frac{G2}{K_{IG2}} + \frac{X}{K_{IX}}\right)} \quad (17)$
<b>Conversão da hemicelulose (H) em xilose (X)</b>	$r_4 = \frac{k_{4r} \cdot R_s \cdot E_{bH} \cdot H}{\left(1 + \frac{G}{K_{IG}} + \frac{G2}{K_{IG2}} + \frac{X}{K_{IX}}\right)} \quad (18)$

## 2.7 Algoritmo SELEST

Modelos matemáticos podem ser desenvolvidos para as diversas áreas do conhecimento humano. Mas, às vezes, a obtenção de parâmetros estaticamente consistentes não é possível devido ao elevado número de experimentos necessários para a obtenção destes. Uma abordagem geralmente utilizada é a seleção de um grupo de parâmetros para serem estimados, enquanto os outros são mantidos em um valor inicial. Os procedimentos para a escolha destes parâmetros são chamados de identificabilidade de parâmetros (ALBERTON *et al.*, 2013).

Estes procedimentos fazem a seleção de um conjunto de parâmetros do modelo que possam ser consistentemente estimados usando os dados experimentais disponíveis, levando em conta a correlação entre os parâmetros e/ou o efeito deles na predição do modelo. Duas características devem estar presentes nos procedimentos de escolha: Interpretabilidade, ou seja, como cada parâmetro afeta a dinâmica do modelo e o efeito destes nas variáveis de saída; Simplificação, uma vez que apenas um conjunto de

parâmetros irá ser estimado, enquanto os outros continuam em seus valores iniciais, há uma redução no número de variáveis de decisão (ALBERTON *et al.*, 2013).

Muitos procedimentos de identificabilidade são propostos, sendo comum o uso da análise de sensibilidade como ferramenta para verificar a importância de cada parâmetro. Em quase todas as metodologias os parâmetros são avaliados e selecionados do mais estimável para o menos estimável (ALBERTON *et al.*, 2013).

O algoritmo SELEST, utilizado neste trabalho, faz uso da análise de componentes principais da matriz de sensibilidade para medir o efeito de cada parâmetro nas variáveis de saída e a determinação dos menos correlacionados é feita utilizando a distância do vetor de sensibilidade de um parâmetro candidato ao espaço criado pelos parâmetros já estimados. O uso de uma matriz de sensibilidade global também permite que o algoritmo seja utilizado em sistemas dinâmicos ou com múltiplos pontos de operação (SECCHI *et al.*, 2006). A matriz de sensibilidade utilizada é definida de acordo com a Equação 19.

$$\hat{S} = \frac{\delta H}{\delta x} W_x + \frac{\delta H}{\delta \theta} \quad (19)$$

Onde  $H$  é o conjunto de funções que relacionam as variáveis de entrada e estado com a saída,  $x$  são as variáveis de estado,  $W_x$  é a matriz de sensibilidade dos estados em relação aos parâmetros e  $\theta$  são os parâmetros. Considerando a decomposição em valores singulares da matriz de sensibilidade ponderada pelo desvio padrão normalizado, é possível calcular o efeito de cada parâmetro através da Equação 20.

$$E = \frac{|V_m| \lambda}{\sum_{j=1}^m \lambda_j} \quad (20)$$

Em que  $V_m$  é a matriz com as primeiras  $m$  colunas da matriz  $V$  (calculada pela decomposição em valores característicos da matriz de informação de Fisher) e  $\lambda$  são os autovalores provenientes da decomposição.

Além disso, um índice de degradação de previsibilidade e um de degradação da correlação paramétrica são utilizados como critérios de parada do algoritmo de seleção, quando um número suficiente de parâmetros foi escolhido. O índice de degradação de previsibilidade é utilizado uma vez que se espera um aumento na variabilidade de predição quando o número de parâmetros selecionados é maior que o número ótimo de parâmetros. Já o índice de degradação da correlação paramétrica é utilizado para evitar a seleção de um grande número de parâmetros, o que aumentaria a correlação entre eles (SECCHI *et al.*, 2006). O índice de degradação de predibilidade e o índice de degradação da correção paramétrica podem ser calculados pelas Equações 21 e 22.

$$\psi_n = \bar{\rho}_y + \|\xi\|_\infty \quad (21)$$

$$\eta_n = \bar{\rho}_p + \delta_{1,n} \quad (22)$$

Onde  $\bar{\rho}_y$  e  $\bar{\rho}_p$  é o coeficiente de correlação das matrizes de covariância das saídas preditas e dos parâmetros, respectivamente.  $\|\xi\|_\infty$  é o valor máximo dos resíduos normalizados e  $\delta_{1,n}$  é o delta de Kronecker.

## 2.8 Enxame de Partículas (*Particle Swarm Optimization – PSO*)

O algoritmo de otimização PSO é inspirado no comportamento social e cooperativo exibido por várias espécies da necessidade de busca em um espaço. É um método que necessita de poucas ou nenhuma premissas sobre o problema a ser otimizado e é capaz de procurar soluções em espaços de grandes dimensões. No entanto, é um método que não garante que uma solução ideal seja encontrada (KENNEDY e EBERHART, 1995).

O PSO encontra o ótimo criando uma população aleatória de soluções candidatas, também conhecidas como partículas, e movendo estas partículas em torno do espaço de pesquisa, de acordo com fórmulas matemáticas simples sobre a posição e velocidade da partícula. Em termos gerais, o algoritmo guia-se pela experiência individual (de cada partícula), experiência global (dos conjuntos de partículas) e o movimento das partículas atual para decidir as posições seguintes no espaço de busca. O movimento de cada partícula é influenciado pela sua posição atual, mas também é conduzido em direção às

melhores posições conhecidas do espaço de busca, que são por outras partículas. Assim, o objetivo é mover o enxame em direção da melhor solução encontrada. (KENNEDY e EBERHART, 1995).

## **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

Neste capítulo é apresentado a metodologia computacional empregada e os materiais utilizados nos experimentos, bem como a descrição detalhada dos procedimentos de pré-tratamento, de hidrólise enzimática e de caracterização da biomassa. Para acrescentar aos dados obtidos por PANARO (2016), alguns experimentos adicionais foram realizados com o bagaço de cana-de-açúcar utilizando como pré-tratamento o moinho de bolas.

### **3.1 Preparo da Biomassa**

A biomassa de cana-de-açúcar utilizada no trabalho foi cedida pela Usina Santa Luzia e pela Usina Jalles Machado. Para reduzir a proliferação de microrganismos que causam a fermentação do material, as biomassas, inicialmente, foram espalhadas sobre uma lona e deixadas secar a temperatura ambiente durante seis dias e em seguida, foram moídas em um moinho de facas (Retsch SM 300, Alemanha) que reduz as partículas para tamanhos menores que 2,0 mm. Para eliminar resíduos de solo e reduzir os efeitos da heterogeneidade no tamanho das partículas, os materiais foram peneirados e posteriormente armazenados em bolsas fechadas.

### **3.2 Caracterização da Biomassa**

Para avaliar a eficiência da hidrólise e o rendimento de açúcares obtidos, foi realizada a caracterização da biomassa, para obter a composição desta. Inicialmente, as amostras foram peneiradas, sendo separado o material fracionado entre as peneiras de 20 mesh e 80 mesh, ou seja, com diâmetro de partícula entre 180,0  $\mu\text{m}$  e 850,0  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

A análise de composição química consiste em quantificar o teor de carboidratos (celulose e hemicelulose), lignina e cinzas presentes na estrutura lignocelulósica. Primeiramente, o material foi submetido à análise do teor de extrativos. Nesta etapa, aproximadamente 3,0 g do material foram colocados em um cartucho de celulose e submetidos à extração com solventes em duas etapas, utilizando um extrator Soxhlet

equipado com uma manta de aquecimento. A primeira etapa de extração consiste na extração com água por 24 h e a segunda etapa utiliza etanol 96% (p/v) por mais 12 h. A massa de extrativos foi determinada, por diferença com a massa inicial, após secagem em estufa a vácuo durante 48 h a 40°C, de acordo com os procedimentos analíticos padrão de determinação de extrativos em biomassas, adotados pelo NREL (SLUITER *et al.*, 2005).

Após a secagem a vácuo dos materiais sem extrativos, por 48 h à 40 °C, a composição em carboidratos e lignina do material sólido foi determinada com base nos procedimentos analíticos recomendados pelo NREL (SLUITER *et al.*, 2008). Em uma etapa inicial, 300 mg de amostra foram hidrolisadas com 3,0 mL de ácido sulfúrico 72% (p/v) a 30 °C durante 1 h. Em uma etapa subsequente a mistura foi diluída com 84,0 mL de água destilada, de modo a levar a concentração do ácido à 4% (p/v) e em seguida a amostra diluída foi autoclavada durante 1 h. Após o seu resfriamento a mistura foi filtrada a vácuo.

A fração solúvel foi neutralizada com carbonato de cálcio até atingir valores de pH entre 6 e 7. Após a neutralização a suspensão de carbonato foi centrifugada a 5000 RPM por 15 minutos e em seguida o sobrenadante foi diluído e filtrado em membrana de PTFE para ser analisada por HPAEC-PAD. Nesta fração foram quantificadas as concentrações de açúcares e celobiose.

Esta mesma fração solúvel também foi utilizada para a determinação do teor de lignina solúvel em ácido por espectrofotometria na faixa UV a 240 nm. O teor de cinzas foi determinado pela calcinação de 1g de amostra extraída em um forno mufla a 575 ± 25 °C durante 6 h, de acordo com o procedimento adotado pelo NREL (SLUITER *et al.*, 2005).

### **3.3 Atividade da celulase (FPA)**

A atividade de FPase, expressa em FPU/mL, foi determinada de acordo com as recomendações da IUPAC (GHOSE, 1987). O método utiliza tiras de papel de filtro como substrato e mede a concentração dos açúcares redutores liberados durante a sua degradação.

Uma mistura reacional contendo o extrato enzimático e uma tira de papel de filtro Whatman nº1 tamponados em pH 4,8 com tampão citrato de sódio foi incubada a 50 °C. Após uma hora, a reação foi interrompida pela adição de DNS e então fervida por 5 minutos e resfriada em um banho de gelo. A concentração dos açúcares ao final da reação foi determinada em espectrofotômetro a 540 nm, utilizando uma curva padrão de glicose. Uma unidade de FPase (FPU) corresponde à concentração de enzima capaz de liberar 2,0 mg de glicose em 60 minutos de ensaio a 50 °C.

### **3.4 Moagem**

Inicialmente, o pré-tratamento foi realizado em um moinho de bolas planetário Retsch PM400 (Alemanha), no laboratório de Bioetanol (IQ/UFRJ), contendo 4 estações de moagem com vasos de 250 ml. Os vasos de trituração e as bolas eram feitas de óxido de zircônio.

Os vasos foram alimentados com 5 gramas de biomassa, 50 bolas com diâmetro de 10 mm. Em alguns casos também foi adicionada água destilada, para análise do efeito da razão biomassa/água. Além disso, a fim de controlar a temperatura interna do equipamento e evitar perdas do material ou eventual queima do mesmo, foi programado um tempo de pausa de 10 minutos a cada 10 minutos de moagem efetiva. Diferentes velocidades de rotação e tamanhos iniciais de partículas de biomassa foram utilizadas, com o objetivo de analisar a influência desta variável de operação no rendimento da hidrólise. Para analisar o efeito dos tamanhos iniciais, uma parte do bagaço foi passada por peneiras de 2000 µm, 1000 µm, 850 µm, 500 µm, 250 µm e 180 µm. Os conjuntos provenientes destas separações foram utilizados em moagens com variação da velocidade rotação (na faixa de 200 a 400 RPM).

Terminada a moagem, a biomassa tratada era submetida à hidrólise enzimática, com exceção de algumas amostras que passaram por moagem com adição de água, as quais foram submetidas à liofilização para retirada do teor de água, a fim de avaliar se o rendimento da hidrólise após o processo de liofilização é alterado. As amostras foram liofilizadas durante três dias.

Para a análise de aumento de escala do pré-tratamento, também foram realizados moagens da biomassa em um moinho de bolas horizontal, no Laboratório de Tecnologia

Mineral (LTM) do DMM/PEMM/COPPE/UFRJ, com um vaso de 5 litros, utilizando corpos moedores de aço ou alumina com diâmetros médios de 2 cm, em uma velocidade de rotação de 100 RPM.

### **3.5 Hidrólise enzimática**

Todos os ensaios de hidrólise enzimática foram realizados em triplicata em um shaker incubador com agitação orbital, modelo Innova 4230 (New Brunswick, E.U.A), utilizando uma temperatura de 50 °C e rotação de 200 RPM durante 48 h. A coleta das amostras foi realizada nos seguintes instantes: 0 h, 1 h, 1,5 h, 2 h, 3 h, 24h e 48 h, sendo que as alíquotas eram retiradas e colocadas imediatamente em um banho de água fervente por 5 minutos, com o objetivo de desativar as enzimas. O intervalo de tempo utilizado foi escolhido para a obtenção de um melhor perfil da celobiose.

O coquetel enzimático utilizado foi a enzima comercial Power Cell (Prozyn, Brasil) na carga de 10 FPU/g de biomassa. A concentração de biomassa utilizada foi de 100 g de biomassa seca/L. Um tampão de citrato 50 mM com pH 4,8 foi utilizado, de modo que o volume final no erlenmeyer fosse 30 mL. Além disso, azida de sódio foi utilizada para inibir o crescimento de microorganismos e evitar contaminação.

### **3.6 Análise cromatográfica**

As análises para a determinação da concentração dos açúcares (celobiose, glicose e xilose) provenientes da hidrólise ácida, nos ensaios de caracterização, foram realizadas no HPAEC-PAD. Já os açúcares (celobiose, glicose e xilose) dos ensaios de hidrólise enzimática foram analisados e quantificados utilizando um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (ULTIMATE 3000, Thermo Scientific, E.U.A) equipada com um detector de índice de refração, RI-101 (SHODEX, Japão).



### 3.7 Metodologia computacional

As Equações 16, 17 e 18 e as demais equações encontradas na Tabela 2, na Seção 2.6.2, formam o modelo utilizado para a estimação de parâmetros deste trabalho. Além dos dados de hidrólise dos experimentos feitos com o bagaço após pré-tratamento em um moinho de bolas deste trabalho, também foram utilizados os dados do pré-tratamento hidrotérmico de BARROS(2016) e do pré-tratamento por extrusão do bagaço de MORO (2015) na estimação de parâmetros.

O *software* MATLAB (versão R2014a) foi utilizado para estimar os parâmetros do modelo cinético. A função dos mínimos quadrados ponderados, apresentada pela Equação 23, foi empregada como função objetivo a ser minimizada. Devido a simplicidade de solução do conjunto de equações diferenciais, a integração do modelo foi realizada utilizando a função *ode23* do *software*. Uma primeira tentativa de estimação foi realizada utilizando-se apenas o enxame de partículas. Infelizmente, devido à alta correlação dos parâmetros e problemas de identificabilidade, já reportados por ANGARITA MARTINEZ (2014), uma seleção de um conjunto de parâmetros identificáveis deve ser feita. Assim, o algoritmo SELEST é utilizado para a seleção e estimação dos parâmetros, sendo que a função *lsqnonlin* do MATLAB é empregada para minimização da função objetivo utilizando o método *trust-region-reflective* (MATHWORKS, 2016).

$$F_{OBJ} = \sum_{i=1}^{NC} \sum_{j=1}^{NA} \frac{(y_{ij}^{Exp} - y_{ij}^{Mod})^2}{(S_{ij})^2} \quad (23)$$

em que  $y_{ij}^{Exp}$  é o valor experimental obtido para o componente  $i$  no instante  $j$ ,  $y_{ij}^{Mod}$  é o valor estimado pelo modelo para o componente  $i$  no instante  $j$ ,  $S_{ij}$  é o valor do desvio padrão amostral para o componente  $i$  no instante  $j$ ,  $NC$  é o número total de componentes e  $NA$  é o número de amostras retiradas no intervalo de tempo analisado. O enxame de partículas foi utilizado após a rotina SELEST, para garantir o ponto mínimo da função objetivo em relação ao conjunto de parâmetros selecionados.

Um dos critérios utilizados para definir como está o grau de ajuste do modelo foi o coeficiente de determinação, apresentado nas Equações 24, 25 e 26:

$$R^2 = 1 - \frac{SQ_{RES}}{SQ_{TOT}} \quad (24)$$

$$SQ_{RES} = \sum_{i=1}^{NC} \sum_{j=1}^{NA} (y_{ij}^{Exp} - y_{ij}^{Mod})^2 \quad (25)$$

$$SQ_{TOT} = \sum_{i=1}^{NC} \sum_{j=1}^{NA} (y_{ij}^{Exp} - \bar{y}_i)^2 \quad (26)$$

Como há três conjuntos de dados em cada experimento, quatro coeficientes foram definidos, um para o ajuste considerando dados de todos os componentes (o coeficiente de determinação definido acima), e três coeficientes utilizando os dados de cada componente.

Após a estimação de parâmetros, deseja-se encontrar uma relação entre as condições de operação e os parâmetros estimados. Com esta relação é possível estimar o resultado dos pré-tratamentos em outras condições de operação e avaliar sua eficiência nestes pontos, além de ser possível prever o comportamento cinético da hidrólise enzimática. Para isso, realizou-se a estimação de parâmetros de diferentes formas funcionais, de modo a minimizar a função objetivo apresentada na Equação 27.

$$F_{OBJ} = \sum_{i=1}^{CO} (p_i^{Est} - p_i^{Rel})^2 \phi_i \quad (27)$$

na qual,  $p_i^{Est}$  é o valor do parâmetro estimado na condição de operação  $i$  de um pré-tratamento,  $p_i^{Rel}$  é o valor estimado pela relação utilizada nesta condição,  $\phi_i$  é um peso dado ao parâmetro estimado na condição e CO é o número total de condições operacionais utilizadas no pré-tratamento.

Por último, utilizou-se o *software* EMSO (versão 0.10.9) para a simulação de parte do processo de produção de etanol de segunda geração, a fim de avaliar a relação entre o rendimento de açúcar obtido na hidrólise com os gastos energéticos do processo para os diferentes pré-tratamentos e condições de operação destes. Neste sistema foram considerados quatro processos: o pré-tratamento, a hidrólise enzimática, uma etapa de centrifugação e o processo de queima de sólidos em uma caldeira.

No pré-tratamento foram consideradas quaisquer mudanças na composição da biomassa, como ocorre, por exemplo, no pré-tratamento hidrotérmico. No reator de hidrólise ocorre a hidrólise enzimática do sólido proveniente do pré-tratamento. Na centrifugação é feita a separação do filtrado, que possui os açúcares desejados, e da torta, rica em sólidos. Uma caldeira foi utilizada para a queima dos sólidos da torta, com o objetivo de gerar energia no processo. A Figura 3 mostra a parte do processo considerada. Os balanços de massa e energia considerados em cada equipamento podem ser encontrados na sessão 3.7.1.

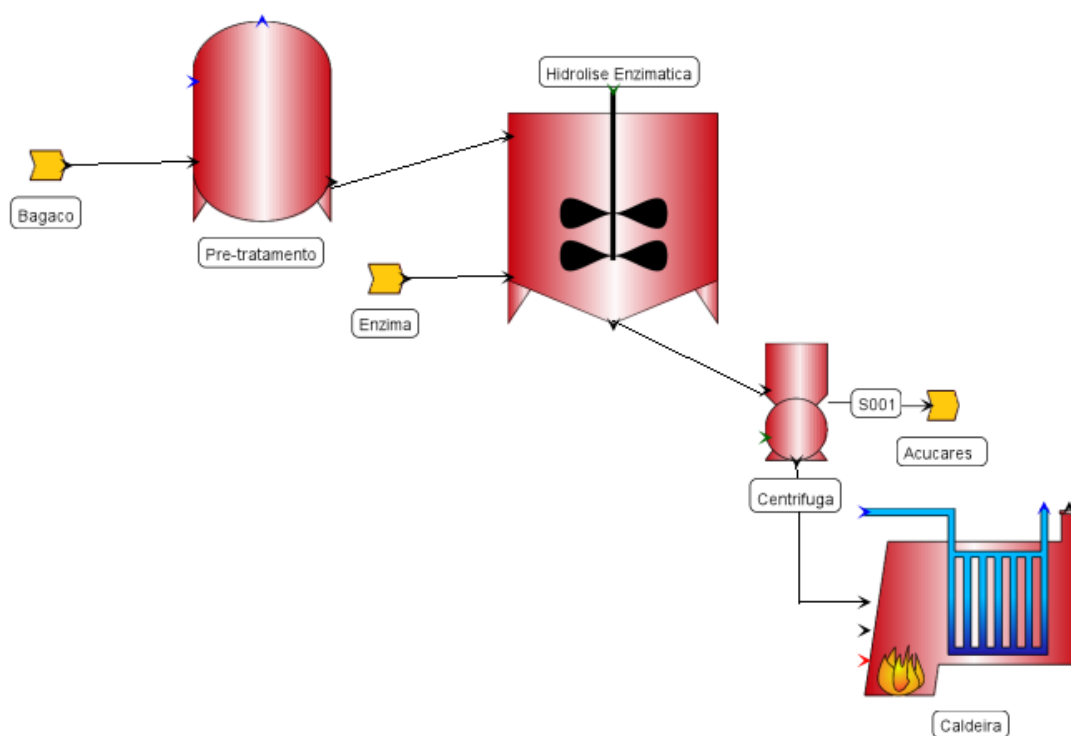


Figura 3 – Parte do processo simulado da produção de xaropes de biomassa de segunda geração.

### 3.7.1 Balanços de massa e energia considerados na simulação em EMSO

- Pré-tratamento:

A etapa de pré-tratamento apenas era utilizada no pré-tratamento hidrotérmico, uma vez que este é o único dos pré-tratamentos considerados neste trabalho no qual há

alguma mudança na composição química. As relações de composição mostradas por BARROS (2016) em seu trabalho foram consideradas para a composição de saída. O consumo de energia de cada pré-tratamento era calculado de acordo com as relações apresentadas no APÊNDICE C.

- Hidrólise Enzimática:

O reator de hidrólise enzimática considerado era um CSTR em estado estacionário, em que a composição de saída era a composição dentro do reator, de modo que o balanço de massa da Equação 28 era considerado para todos os componentes.

$$F_{i,Saída} = F_{i,Entrada} + V \sum_{j=1}^{NR} \nu_{i,j} r_j \quad (28)$$

Na qual,  $F_{i,Saída}$  é a vazão mássica de saída do reator do componente  $i$ ,  $F_{i,Entrada}$  é a vazão mássica de entrada do componente  $i$ ,  $V$  é o volume do reator,  $\nu_{i,j}$  é o coeficiente estequiométrico, em massa, do componente  $i$  na reação  $j$  (razão entre a massa molar do componente  $i$  e o componente utilizado como base na reação  $j$ ), sendo negativo para reagentes e positivo para produtos, e  $r_j$  é a taxa de reação  $j$  (apenas são consideradas as reações apresentadas na Seção 3.7) calculada na composição de saída do reator.

O volume do reator é calculado pela vazão mássica total e o tempo de residência utilizado, como mostrado na Equação 29.

$$V = \frac{F_{Total} \tau}{\rho} \quad (29)$$

Em que,  $F_{Total}$  é a vazão mássica total,  $\tau$  é o tempo de residência e  $\rho$  é a densidade da mistura reacional no reator, considerada neste trabalho como a densidade da água, devido à baixa carga de sólidos utilizada.

- Centrífuga:

O balanço de massa da centrífuga foi realizado considerando que o equipamento está em estado estacionário e que as composições das fases sólida e líquida não mudariam após o processo. Assim, as Equações 30, 31, 32, 33 e 34 são obtidas para este equipamento.

$$F_{Entrada} = F_{Torta} + F_{Filtrado} \quad (30)$$

$$F_{Filtrado} = F_{Fluido,Entrada} f_{Liq} \quad (31)$$

$$z_{Filtrado} = z_{Fluido,Entrada} \quad (32)$$

$$F_{Torta} = F_{Sólidos,Entrada} f_{Sol} \quad (33)$$

$$z_{Torta} = z_{Sólidos,Entrada} \quad (34)$$

Na qual,  $F_{Entrada}$  é vazão mássica total da corrente de entrada, a qual é constituída de uma corrente de fluído ( $F_{Fluido,Entrada}$ ) e uma corrente de sólidos ( $F_{Sólidos,Entrada}$ ),  $F_{Torta}$  é a vazão mássica de saída da torta,  $F_{Filtrado}$  é a vazão mássica de saída do filtrado,  $f_{Liq}$  é a eficiência de separação de líquidos,  $f_{Sol}$  é a eficiência de separação dos sólidos,  $z_{Fluido,Entrada}$  é a composição, em base mássica, da corrente de fluídos na entrada,  $z_{Sólidos,Entrada}$  é a composição, em base mássica, da corrente de sólidos na entrada,  $z_{Filtrado}$  é a composição, em base mássica, de saída do filtrado e  $z_{Torta}$  é a composição, em base mássica, de saída da torta.

- Caldeira:

Para este equipamento também foi considerado estado estacionário, sendo que apenas as reações de combustão da celulose, hemicelulose e lignina foram consideradas, como mostrado nas Equações 35, 36 e 37. O calor de combustão de cada componente foi retirado de DIAS (2011).

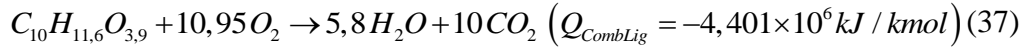
- Celulose:



- Hemicelulose:



- Lignina:



Assim, apenas os componentes presentes nas reações reagem na caldeira, qualquer outro componente é considerado inerte. O ar que entra na caldeira para combustão é considerado em excesso. Com isso, é possível obter o balanço de massa apresentado na Equação 38

$$F_{i,Saída} = F_{i,Entrada} + \sum_{j=1}^3 G_{i,j} \quad (38)$$

Na qual,  $F_{i,Saída}$  é a vazão molar de saída do componente i,  $F_{i,Entrada}$  é a vazão molar de entrada do componente i, e  $G_{i,j}$  é a taxa de formação ou consumo do componente i na reação j. A taxa de consumo é determinada para os componentes sólidos, como mostrado na Equação 39.

$$G_{i,j} = X_{i,j} F_{Entrada,i} \quad (39)$$

Em que,  $X_{i,j}$  é a conversão já determinada da celulose, hemicelulose e lignina. Com as taxas de consumo dos componentes sólidos definidas, é possível calcular a formação e consumo das outras espécies presentes. O calor total liberado na combustão é a soma dos calores de combustão de cada reação multiplicados pela taxa de consumo das espécies sólidas, como mostrado na Equação 40.

$$Q_{CombTotal} = G_{Lig} Q_{CombLig} + G_{Hemi} Q_{CombHemi} + G_{Cel} Q_{CombCel} \quad (40)$$

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Resultados Experimentais

#### 4.1.1 Caracterização do Bagaço de Cana-de-Açúcar

Os bagaços de cana-de-açúcar utilizados nos experimentos, recebidos da empresa Usina Santa Luzia e da Usina Jalles Machado, foram caracterizados quanto ao teor de celulose, hemicelulose, lignina, cinzas e extrativos, de acordo com a metodologia de análise composicional descrita na Seção 3.2. Os resultados desta análise estão apresentados nas Figura 4 e Figura 5. Os resultados obtidos na caracterização química da biomassa de cana-de-açúcar se encontram em conformidade com os resultados médios reportados na literatura, os quais mostram que o bagaço de cana-de-açúcar produzido no Brasil apresenta de 38,4 a 45,5% de celulose, 22,7 a 27% de hemicelulose e 19,1 a 32,4% de lignina (CANILHA *et al.*, 2012). Eventuais diferenças podem ser atribuídas a fatores como: o tipo e época de colheita, local de plantio, índice pluviométrico, tempo de estocagem, entre outros.

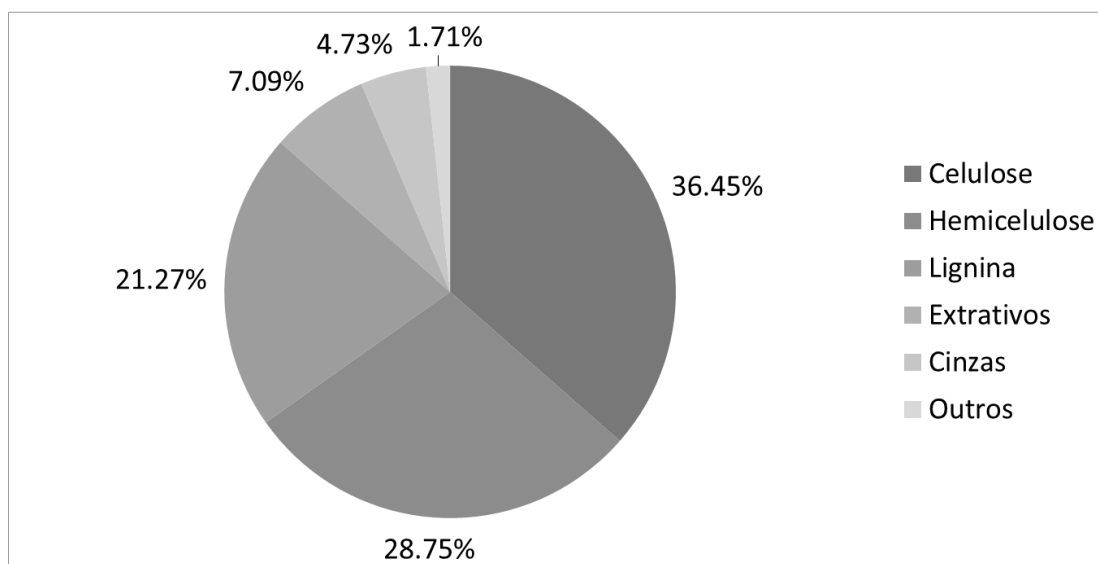


Figura 4- Resultados da caracterização do bagaço proveniente da Usina Jalles Machado – Goianésia, GO.

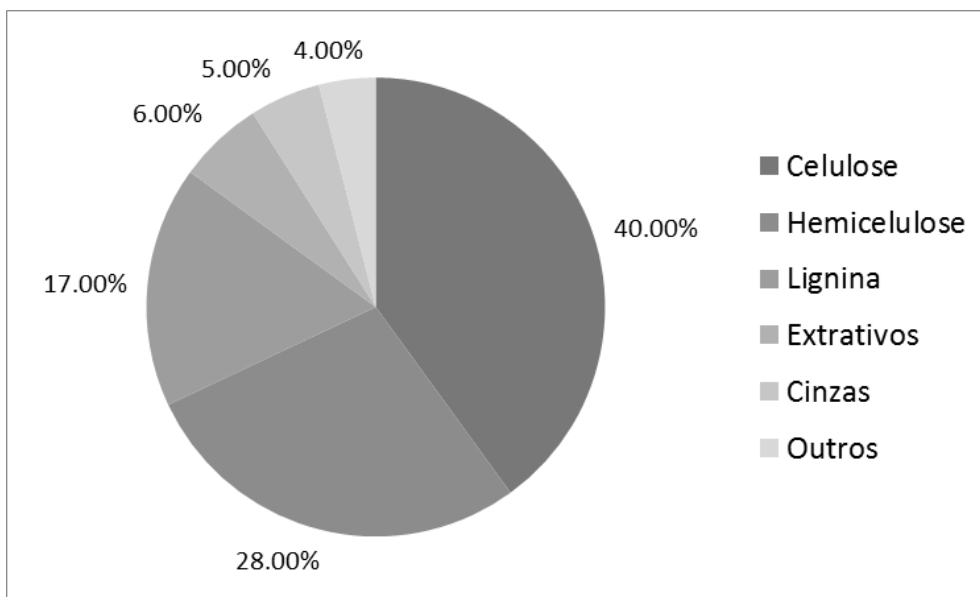


Figura 5 – Resultados da caracterização do bagaço proveniente da Usina Santa Luzia – Palmital, SP.

A Tabela 4 mostra as percentagens de açúcares formados durante a hidrólise ácida das amostras. É importante lembrar que estes açúcares são formados a partir da celulose e hemicelulose.

Tabela 4 – Principais açúcares formados durante a hidrólise ácida das amostras

	Percentual de massa de Carboidratos			
	Glicose	Xilose	Galactose	Arabinose
Bagaço Usina Jalles Machado	36,45	23,40	0,75	4,6
Bagaço Santa Luzia	46,28	28,72	1,37	3,48



#### 4.1.2 Atividade da Enzima

Seguindo o procedimento apresentado na Seção 3.3, o resultado da atividade de celulase encontrado foi de 197 FPU/g do coquetel enzimático Power Cell.

#### 4.1.3 Hidrólise Enzimática do Bagaço *in natura*

A Figura 6 apresenta os resultados da hidrólise enzimática do bagaço *in natura*, ou seja, sem nenhum pré-tratamento realizado. As concentrações de glicose obtidas após 24h e 48h de hidrólise estão na média de 5,25 g/l e 6,02 g/l, respectivamente, o que corresponde a um rendimento em relação à celulose de 11,9 e 13,6 %, nestes dois instantes. Os valores encontrados estão próximos aos já encontrados por PANARO (2016) e MORO (2015) para a hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar *in natura*. A hidrólise do bagaço de cana *in natura* foi realizada para comparações com o rendimento do bagaço pré-tratado, a fim de se obter uma estimativa da eficiência do processo de pré-tratamento.

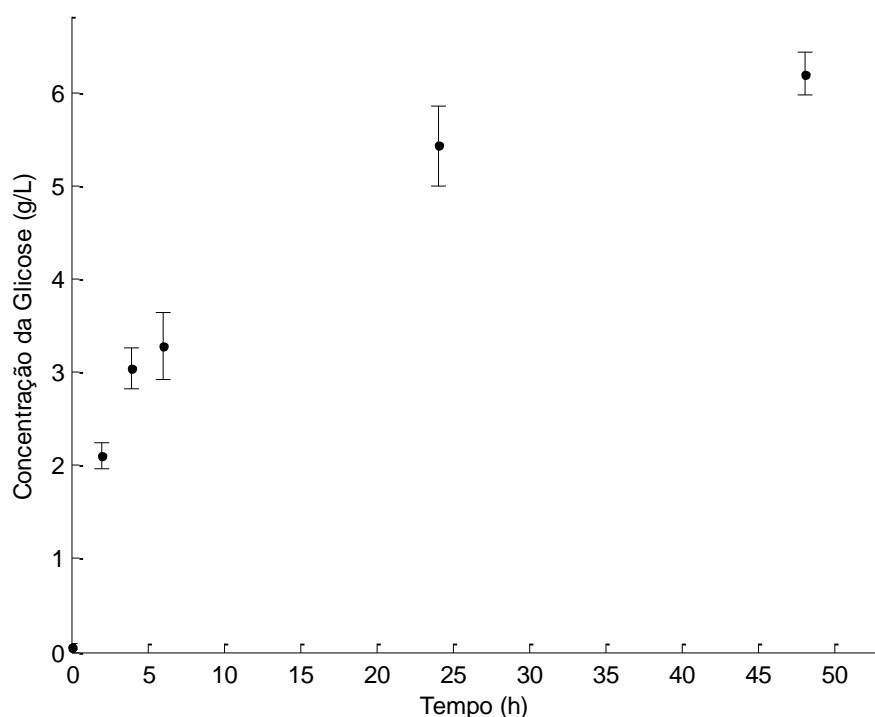


Figura 6 – Resultado da hidrólise do bagaço *in natura*.

#### 4.1.4 Hidrólise Enzimática após moagem no moinho de bolas planetário

##### 4.1.4.1 Moagem com diferentes proporções de água adicionadas

Inicialmente, foram realizadas moagens do bagaço de cana-de-açúcar com diferentes proporções de água em um moinho de bolas de escala de bancada do tipo planetário. Como mostrado por PANARO (2016), a adição de uma grande quantidade de água ao vaso de moagem começa a diminuir o rendimento da hidrólise enzimática. Sabendo disso, as proporções de 1/0,5, 1/1 e 1/2 (g de biomassa/g de água adicionada) foram utilizadas, além disso, as proporções de 1/5 e 1/15 também foram utilizadas para reproduzir os resultados encontrados por PANARO (2016). As proporções de 1/0,5 até 1/2 foram escolhidas devido a umidade contida no bagaço após a retirada do caldo de cana-de-açúcar, o qual geralmente possui 50% de umidade (DELGADO e CASANOVA, 2001), ou seja, uma proporção de 1/1. Os resultados da hidrólise enzimática podem ser vistos na *Figura 7*.

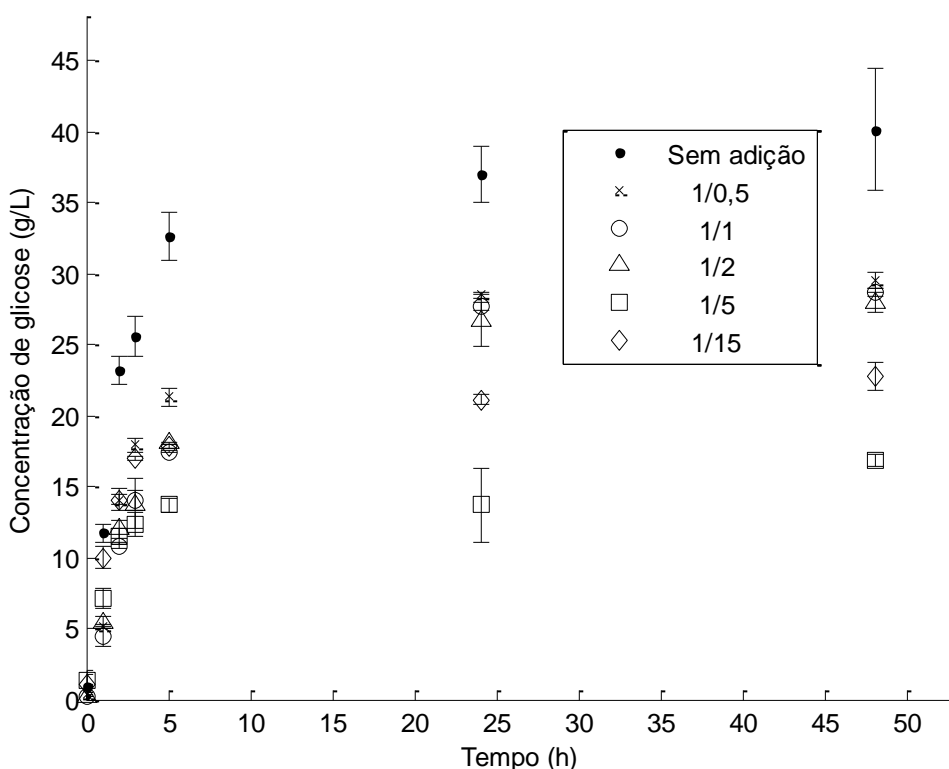


Figura 7 - Concentração de glicose obtida na hidrólise após moagem com diferentes proporções de água.

É possível notar que o a maior concentração de açúcar é obtida para a moagem sem adição de água. Para proporções próximas a 1/1 não há muita diferença na concentração de açúcar obtida. Para proporções maiores, há um decréscimo na eficiência da hidrólise, sendo que a pior proporção é encontrada em 1/5, como foi observado por PANARO (2016). Ao comparar os resultados da hidrólise após moagem no moinho de bolas com a hidrólise do bagaço *in natura* é possível notar que o rendimento da hidrólise após 24h está na faixa de 2,6 a 7 vezes do que o rendimento sem tratamento, sendo o menor rendimento para a proporção de 1/5 e o maior rendimento para a moagem sem adição de água. Para 48h esta faixa está entre 2,8 a 6,67, nas mesmas condições descritas. A diferença pode ser visualmente notada na Figura 8, para a moagem sem adição, um pó é formado após a moagem, com o aumento da proporção de água há um aumento da aglomeração do material final, quando a proporção 1/5 é utilizada, a aglomeração interfere no resultado final, de modo que é possível observar partes do bagaço que não se modificam após a moagem. Para uma proporção de 1/15, o resultado após moagem é um líquido sem ser possível notar sólidos na mistura. A Tabela 5 foi obtida após a realização de uma ANOVA (Análise de Variância) nos dados experimentais, para um nível de significância de 0,05.

Tabela 5 – Valores de *F* resultantes da ANOVA para os conjuntos de dados de glicose com pequenas adições de água

Tempo(h)	Conjuntos 1/0,5 & 1/1	Conjuntos 1/0,5 & 1/2	Conjuntos 1/1 & 1/2	F crítico: 7,709
0	11,373	9,667	<b>4,320</b>	
1	<b>5,393</b>	<b>3,848</b>	9,343	
2	45,879	<b>7,111</b>	17,317	
3,5	69,193	9,281	<b>0,505</b>	
4,5	79,117	55,724	335,894	
24	9,224	<b>0,777</b>	<b>0,112</b>	
48	<b>1,354</b>	<b>3,636</b>	<b>1,538</b>	



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

*Figura 8 – Resultados das moagens para as diversas proporções de água: (a) Sem adição, (b) 1/0,5, (c) 1/1, (d) 1/2, (e) 1/5, (f) 1/15*

Para valores de  $F$  menores que  $F$  crítico, não podemos rejeitar a hipótese que os conjuntos sejam equivalentes (possuam a mesma média). Quanto maior o valor de  $F$  na Tabela 5, mais distintos são os conjuntos. A *Figura 9* mostra os resultados obtidos para o mesmo conjunto de dados considerando o rendimento da hidrólise enzimática após 24 e 48 h.

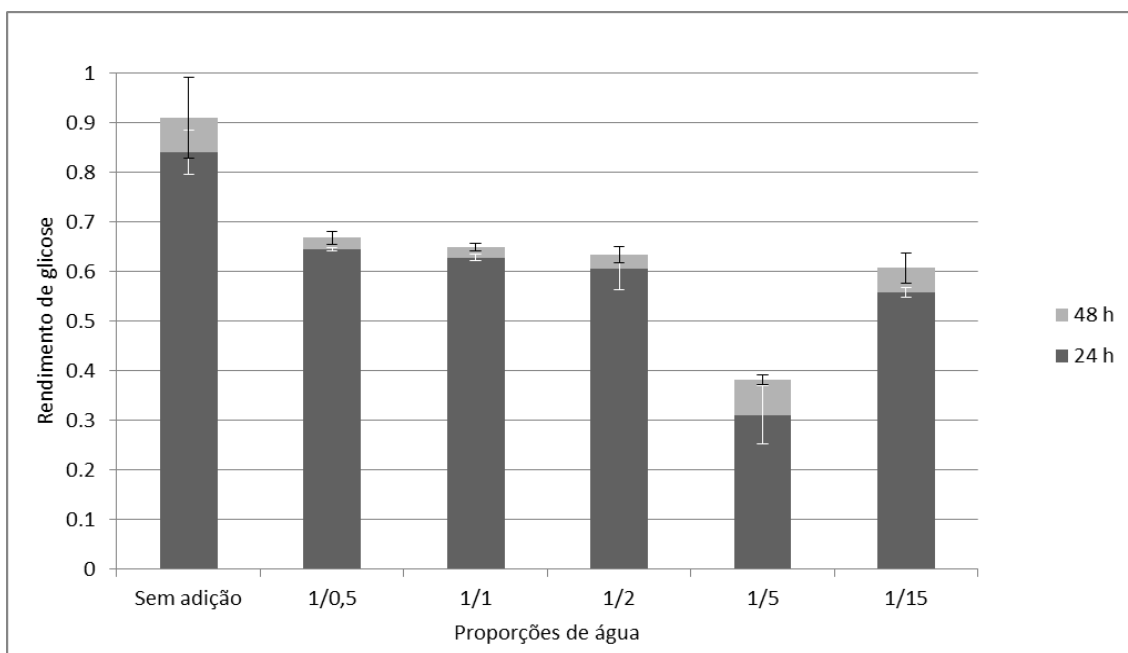


Figura 9 - *Rendimentos de glicose obtidos para moagem com diferentes proporções de água.*

É possível notar que, para maioria dos casos, a maior formação da glicose ocorre nas primeiras 24 horas, sendo que pouco rendimento a mais é obtido quando 48 h são utilizadas. Como o bagaço que vem do processo de extração do caldo de cana-de-açúcar geralmente possui uma umidade média de 50%, espera-se que o rendimento da hidrólise enzimática para este caso esteja entre uma faixa de 60-70%.

É interessante notar que o mesmo comportamento observado para glicose, também ocorre na formação da xilose, como mostrado na *Figura 10*. Diferentemente da glicose, a concentração de xilose ainda aumenta consideravelmente após 24 h de hidrólise, mas a maior concentração de xilose obtida ainda ocorre para o pré-tratamento no moinho de bolas sem adição de água ao vaso de moagem. Além disso, novamente não há muita diferença entre as condições de moagem com pequenas adições. Na Tabela 6 se encontram os resultados para a ANOVA dos conjuntos de dados de xilose. Em apenas alguns pontos é realmente possível considerar que as diferentes condições de pré-tratamento utilizadas influenciam na formação da xilose.

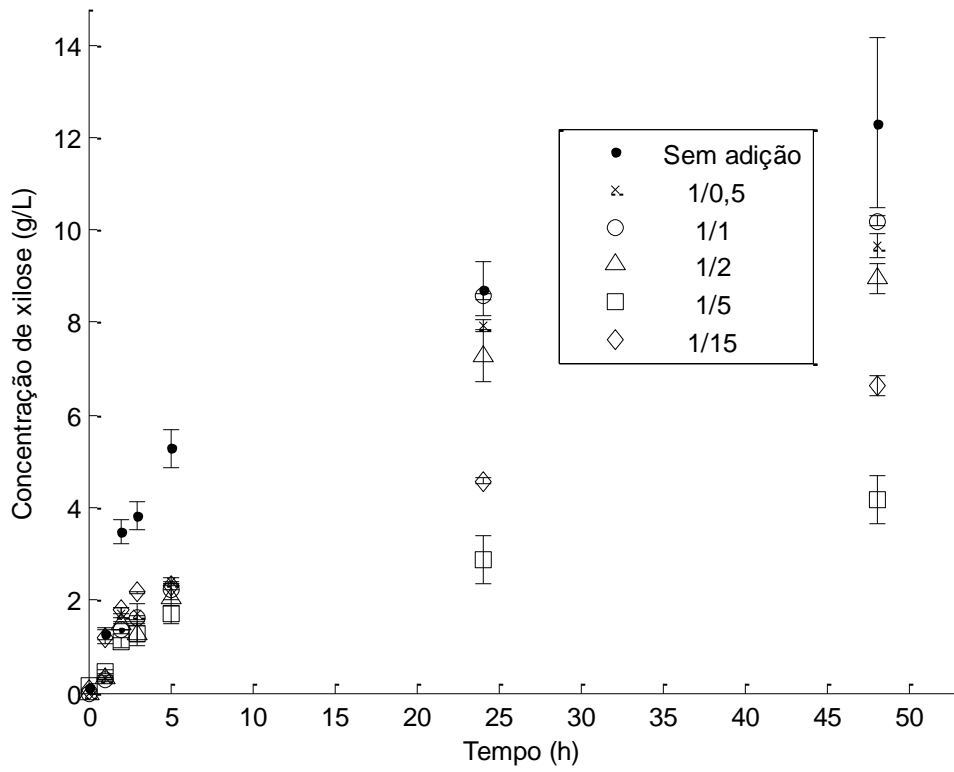


Figura 10 - Concentração de xilose obtida na hidrólise após moagem com diferentes proporções de água.

Tabela 6 - *Resultados da ANOVA para os conjuntos de dados de xilose em moagens com pequenas adições de água*

<b>Tempo(h)</b>	<b>Conjuntos 1/0,5 &amp; 1/1</b>	<b>Conjuntos 1/0,5 &amp; 1/2</b>	<b>Conjuntos 1/1 &amp; 1/2</b>	<b>F crítico: 7,709</b>
0	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	
1	0,829	<b>2,245</b>	<b>2,774</b>	
2	34,248	9,657	66,951	
3,5	<b>0,024</b>	<b>1,349</b>	<b>2,738</b>	
4,5	<b>0,869</b>	13,651	<b>2,463</b>	
24	70,065	<b>1,259</b>	11,472	
48	17,154	<b>4,030</b>	32,454	

Em seu trabalho, PANARO (2016) realizou a liofilização das amostras após moagem em meio úmido para melhor determinar a quantidade de biomassa que era utilizada na hidrólise. A fim de avaliar o efeito deste tratamento na hidrólise, biomassas que haviam passado pelo pré-tratamento com adição de água foram liofilizadas e hidrolisadas, em comparação com amostras que não haviam sido liofilizadas. Os resultados podem ser observados na Figura 11.

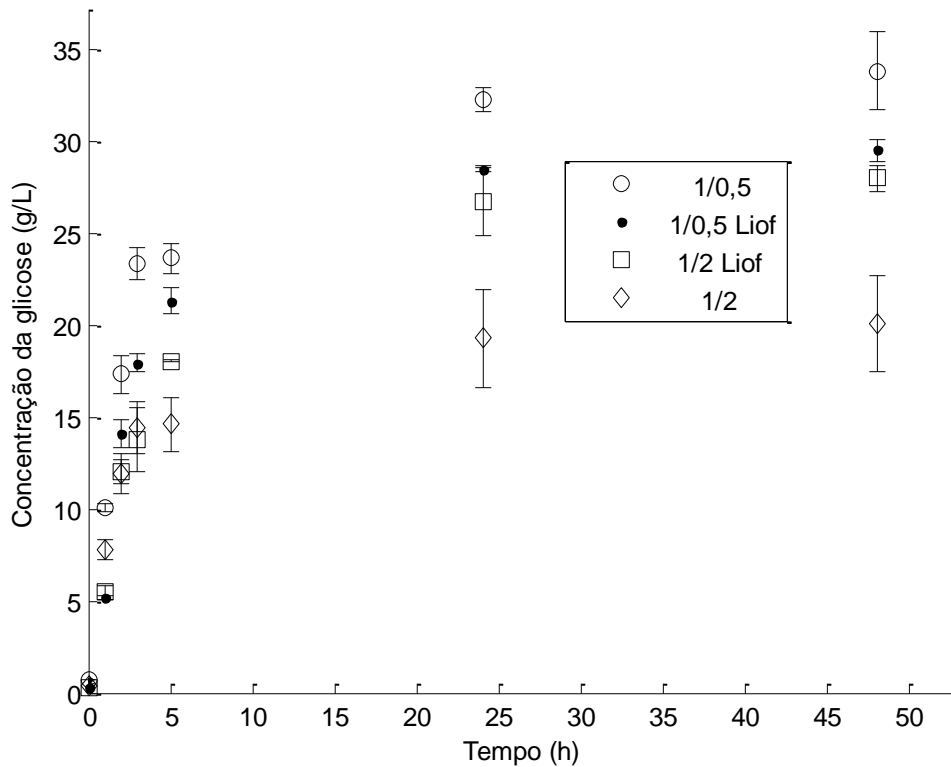


Figura 11– *Varição da concentração de glicose quando as amostras são liofilizadas.*

A maior conversão de celulose é obtida para a amostra não liofilizada com proporção de 1/0,5, mas a menor concentração de glicose é obtida na amostra não liofilizada com proporção de 1/2. As amostras liofilizadas têm menor variância entre as concentrações finais de glicose obtida, enquanto as amostras não liofilizadas possuem uma variância maior nessas concentrações. A Tabela 7 mostra os resultados da ANOVA entre os conjuntos liofilizados e não liofilizados. É possível confirmar que os conjuntos de dados são distintos, há apenas alguns pontos para tempos de hidrólise mais baixos em que não é possível afirmar que os conjuntos são diferentes.



Tabela 7- Resultados da ANOVA para os conjuntos de dados de glicose em moagens com pequenas adições de água e possibilidade de liofilização

Tempo(h)	Conjuntos 1/0,5 & 1/0,5 Liof	Conjuntos 1/2 & 1/2 Liof	F crítico: 7,709
0	22,19	943,57	
1	977,98	27,76	
2	<b>7,57</b>	<b>1,22</b>	
3,5	81,68	<b>0,28</b>	
4,5	13,10	22,94	
24	96,49	24,49	
48	8,06	35,72	

#### 4.1.4.2 Moagem para diferentes tamanhos de partículas e velocidades de rotação

Para analisar a influência da velocidade de rotação do moinho e do tamanho inicial das partículas, foram realizados experimentos em diferentes condições destas variáveis. Como o bagaço e a palha de cana-de-açúcar são materiais fibrosos, e assim possuem um comprimento geralmente maior que o seu diâmetro, ao serem peneirados são separados geralmente pela menor dimensão, ou seja, o diâmetro das partículas. Portanto, os tamanhos das partículas aqui considerados são na realidade os diâmetros destas, sendo que partículas com o mesmo diâmetro podem apresentar comprimentos diferentes. As condições de velocidade de rotação e diâmetro inicial das partículas são apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8 – *Diferentes condições utilizadas na moagem para avaliação do efeito do tamanho inicial das partículas e da velocidade de rotação*

<b>Tamanho dos furos da peneira maior (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Tamanho dos furos da peneira menor (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Média entre os tamanhos (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Velocidade de Rotação (RPM)</b>
2.000	1.500	1.500	400
1.000	850	925	400
1.000	850	925	350
250	180	215	350
1.000	850	925	300
850	500	675	300
500	250	375	300
1.000	850	925	250
250	180	215	250
500	250	375	200
250	180	215	200

As outras condições de moagem foram mantidas constantes (número de bolas, massa de biomassa, tempo de moagem, intervalo de funcionamento) e todas as moagens foram feitas sem adição de água. Os resultados para diferentes velocidades de rotação com um diâmetro inicial de 925  $\mu\text{m}$  podem ser vistos Figura 12, Figura 13, Figura 14 e Figura 15. A Figura 12 apresenta a concentração de glicose obtida através da hidrólise para as quatro velocidades de rotação utilizadas no pré-tratamento. O rendimento de glicose obtido é quase de 90% para as três velocidades de rotação altas, mas para a condição de rotação baixa, o rendimento com este diâmetro médio inicial das partículas decaiu muito, chegando a quase 20%. Novamente, é possível concluir que o rendimento em 48h de hidrólise não aumenta muito em comparação ao obtido em 24 horas.

A Tabela 9 apresenta os resultados da ANOVA para os conjuntos de dados de glicose obtidos nestas condições. É possível concluir que os conjuntos são distintos, devido ao pequeno desvio padrão, e, logo, variância, nos conjuntos de dados encontrados.

Tabela 9 – Resultado da ANOVA para o conjuntos de concentração de glicose nas diferentes velocidades de rotação com um diâmetro médio inicial de 925  $\mu\text{m}$

Tempo(h)	Conjuntos 250 & 300 RPM	Conjuntos 350 & 300 RPM	Conjuntos 350 & 400 RPM	Conjuntos 300 & 400 RPM	F crítico: 7,709
0	245,91	3,53	103,83	1268,53	
1	1175,40	15,78	400,57	464,17	
1,5	2649,04	14,08	246,80	481,37	
2	2267,82	18,32	188,73	105,19	
2,5	17953,65	25,44	73,43	49,82	
24	396536,92	216,30	28,72	66,55	
48	165896,65	420,67	77,42	138,07	

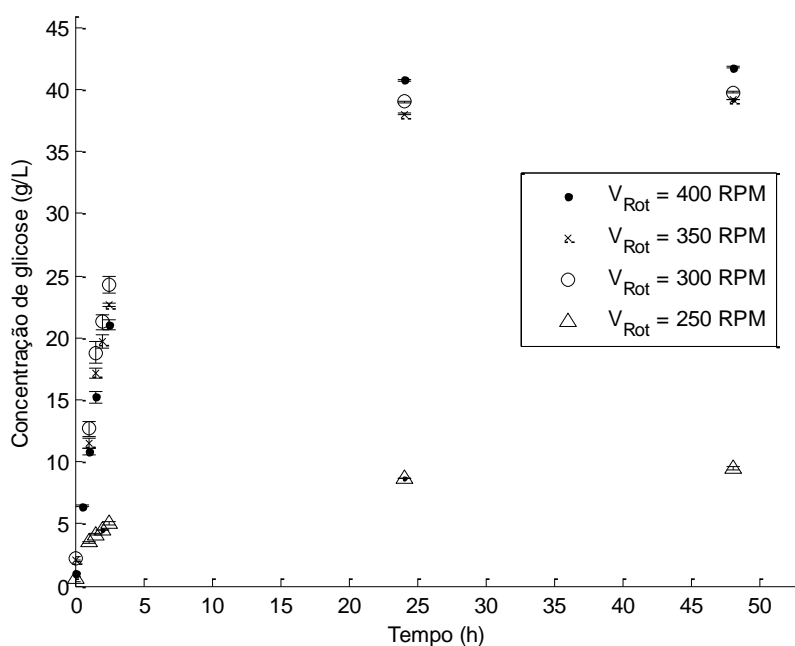


Figura 12– Concentração de glicose na hidrólise do bagaço com diâmetro médio de partícula de 925  $\mu\text{m}$  pré-tratado em diferentes velocidades de rotação.

O perfil de concentração de celobiose obtido nas condições de pré-tratamento pode ser visualizado na Figura 13. É possível notar que, para as três velocidades de rotação onde há uma grande conversão de celulose, há também uma maior formação de

celobiose. Isto é esperado, uma vez que, após sua conversão, a celobiose dará origem à glicose. Também é interessante observar a rápida formação e consumo da celobiose, sendo que em após 5 horas ela já não consegue ser mais detectada no HPLC. A Figura 14 mostra o conjunto de dados de celobiose obtidos para as partículas com diâmetro médio inicial de 925  $\mu\text{m}$  pré-tratados no moinho com uma velocidade de rotação de 350 RPM. Observa-se com mais clareza o perfil de concentração da celobiose, sua rápida formação e consumo nas primeiras 5 horas de hidrólise.

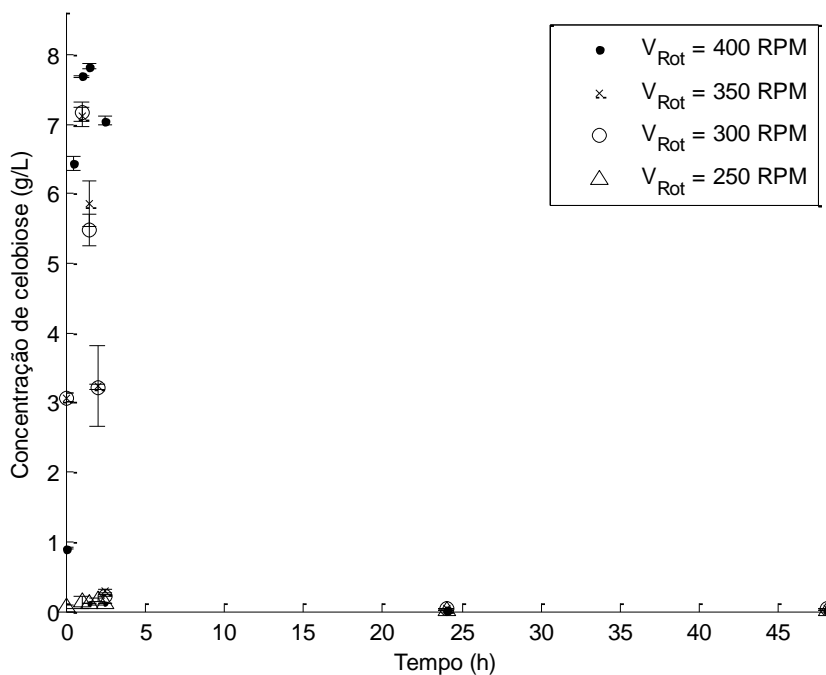


Figura 13 - Concentração da celobiose na hidrólise do bagaço com diâmetro médio de partícula de 925  $\mu\text{m}$  pré-tratado em diferentes velocidades de rotação.

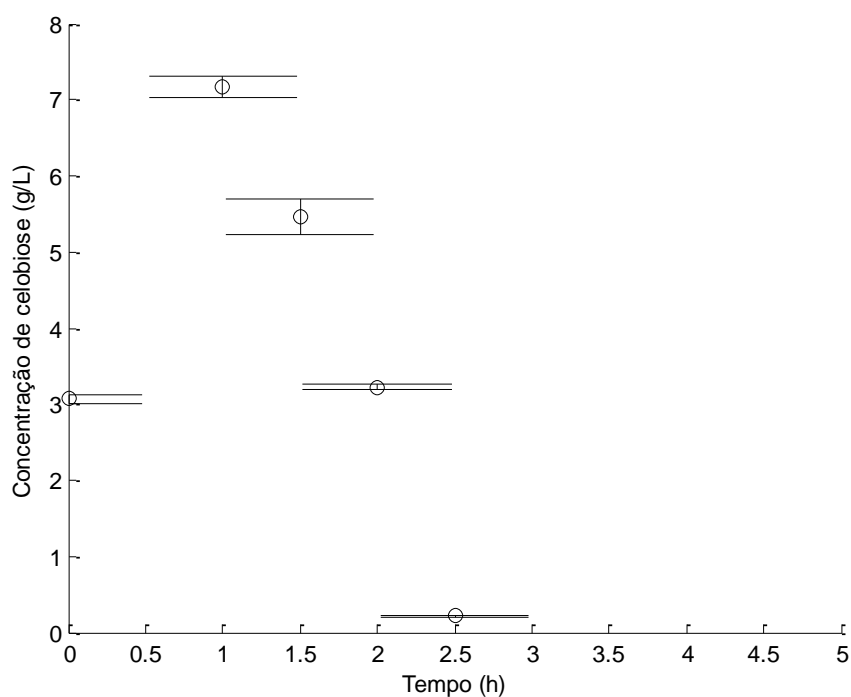


Figura 14 – *Concentração de celobiose nas horas iniciais da hidrólise do bagaço com diâmetro médio de partícula de 925  $\mu\text{m}$  pré-tratado em 350 RPM.*

A Figura 15 apresenta a concentração de xilose para as diferentes velocidades de rotação utilizadas. Nota-se que as mesmas condições em que a glicose é formada com maior facilidade também são as condições onde a xilose também é formada em maior quantidade. Isto indica uma maior eficiência da hidrólise enzimática, ou seja, o pré-tratamento consegue alterar a estrutura da biomassa de maneira que esta se torna mais suscetível ao ataque enzimático, facilitando a ação de qualquer enzima e aumentando a concentração dos produtos finais formados.

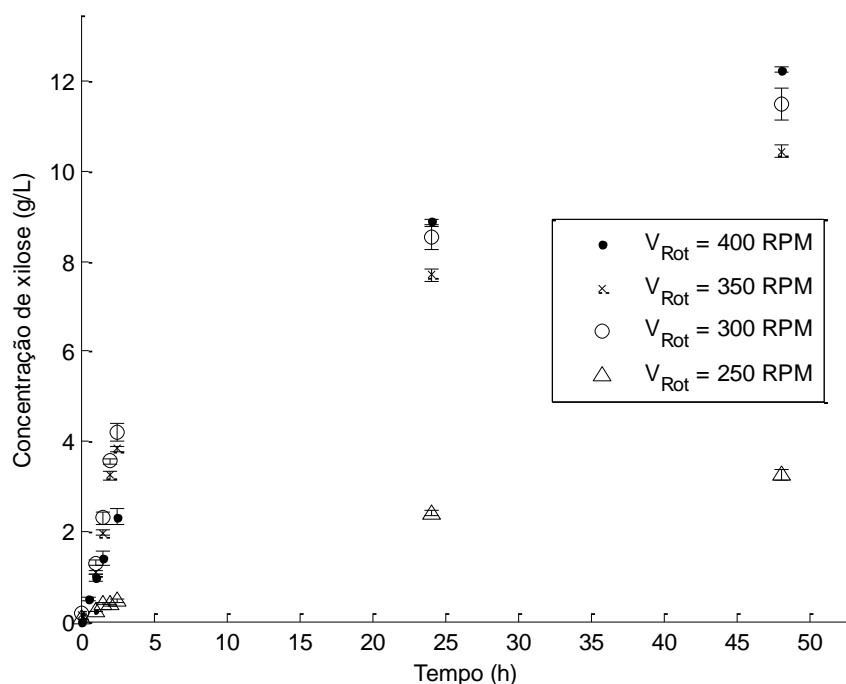


Figura 15 - Concentração de xilose na hidrólise do bagaço com diâmetro médio de partícula de 925  $\mu\text{m}$  pré-tratado em diferentes velocidades de rotação.

As Figura 16 e Figura 17 mostram o desvio médio relativo, também chamado de coeficiente de variação, para as concentrações de glicose e celobiose, respectivamente. Este coeficiente é definido como a razão do desvio padrão de um conjunto de amostras pela média deste conjunto. Como os experimentos de hidrólise enzimática foram realizados em triplicata, é possível calcular o coeficiente de variação para cada ponto de amostragem. Percebe-se que o coeficiente de variação da glicose tem sua maior variação nos tempos iniciais, sendo que o maior conjunto de dados apresenta um valor de quase 0,3, ou seja, um desvio padrão absoluto com o valor de 30% da média da amostra.

Por sua vez, a celobiose também apresenta os maiores coeficientes de variação nos menores momentos de hidrólise, sendo que o maior desvio padrão de um conjunto de amostras é de aproximadamente 70% do valor da média neste ponto. Estes valores de variância elevados no início da reação se devem ao fato das taxas de reação de formação (e consumo para a celobiose) serem maiores nestes instantes, o que aumenta a sensibilidade e consequente variabilidade das amostras.

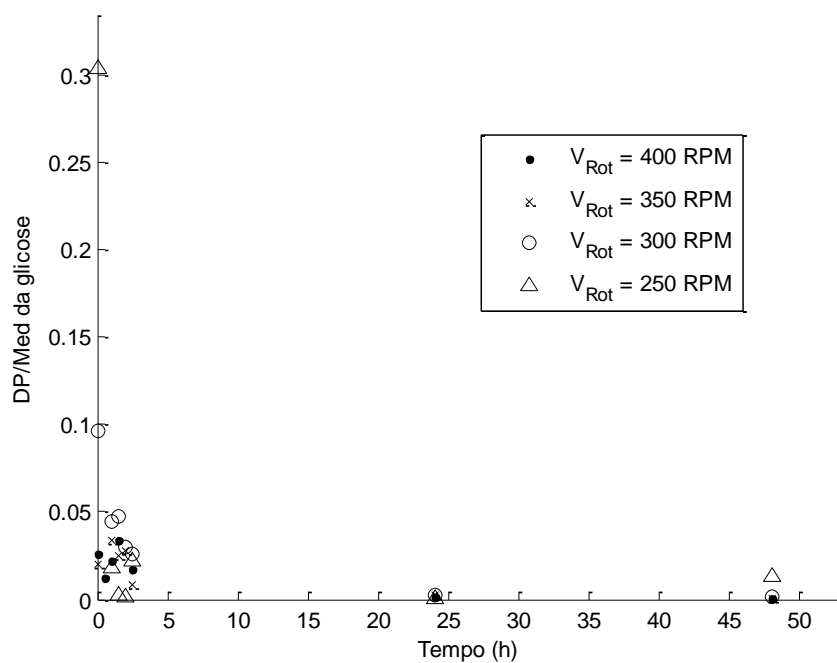


Figura 16 – Desvio padrão relativo da concentração de glicose na hidrólise do bagaço com diâmetro médio de partícula de 925  $\mu\text{m}$  pré-tratado em diferentes velocidades de rotação.

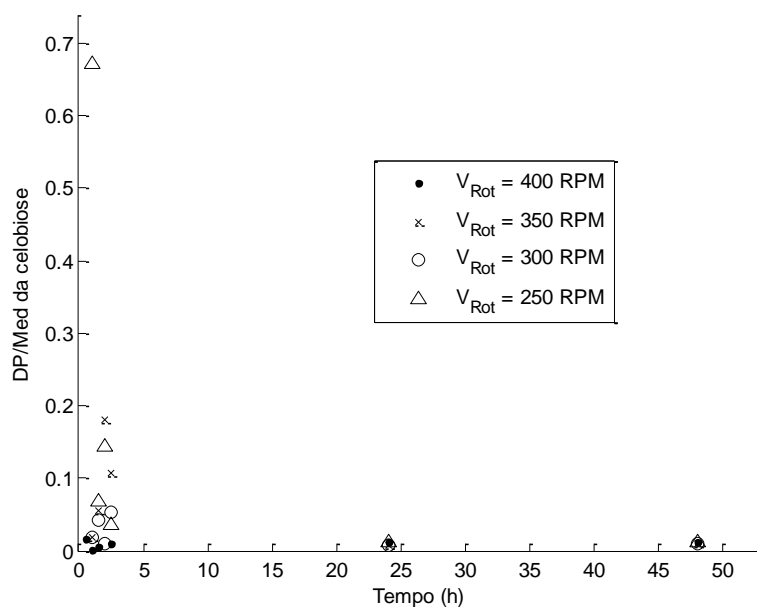


Figura 17 – Desvio padrão relativo da concentração de celobiose na hidrólise do bagaço com diâmetro médio de partícula de 925  $\mu\text{m}$  pré-tratado em diferentes velocidades de rotação.

A xilose, por sua vez, também apresenta uma maior variação nos momentos iniciais de reação, como mostrado na *Figura 18*, mas seus valores do coeficiente de variação são menores quando comparados aos dados de glicose e celobiose, não chegando em 12% para o maior valor encontrado.

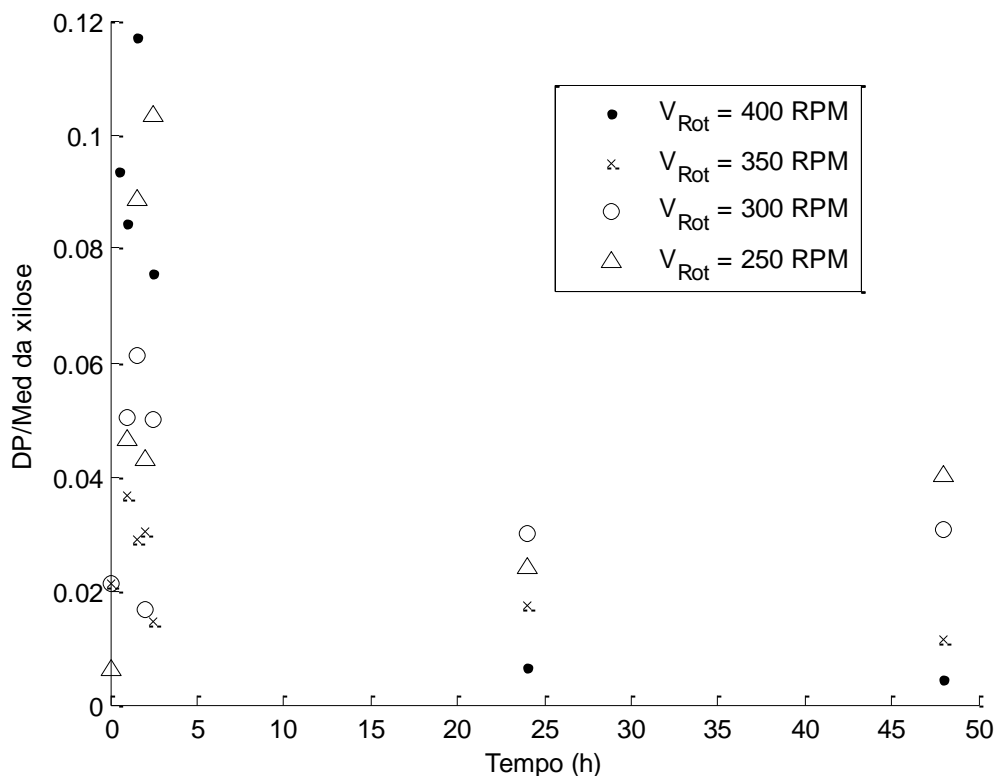


Figura 18 – Desvio padrão relativo da concentração de xilose na hidrólise do bagaço com diâmetro médio de partícula de 925  $\mu\text{m}$  pré-tratado em diferentes velocidades de rotação.

Um segundo conjunto de resultados é apresentado nas *Figura 19*, *Figura 20* e *Figura 21*. Para este conjunto uma mesma velocidade de rotação (300 RPM) foi utilizada com diferentes diâmetros médios iniciais de biomassa (925, 675 e 375  $\mu\text{m}$ ). Observou-se um aumento da conversão da celulose para os diâmetros maiores das partículas para esta velocidade de rotação, o que provavelmente se deve a uma maior probabilidade de choque entre os corpos moedores com estas partículas, uma vez que as partículas com diâmetros maiores apresentam um maior comprimento de partícula, aumentando suas chances de choques. A Tabela 10 apresenta os resultados da ANOVA para a concentração de glicose dos conjuntos de dados apresentados.



Tabela 10 – Resultado da ANOVA para os conjuntos de concentração de glicose no pré-tratamento de partículas com diferentes diâmetros médios iniciais, para uma velocidade de rotação de 300 RPM

Tempo(h)	Conjuntos 925 & 675 µm	Conjuntos 925 & 375 µm	Conjuntos 675 & 375 µm	F crítico: 7,709
0	410,76	43,05	1447,37	
1	<b>0,78</b>	<b>1,44</b>	<b>0,00</b>	
1,5	17,45	<b>0,08</b>	24,79	
2	<b>0,42</b>	<b>0,08</b>	<b>0,89</b>	
2,5	161,21	30,76	210,59	
24	137,28	944,38	1196,79	
48	18,20	9234,17	1627,82	

Nota-se que os conjuntos apresentam semelhanças nos dados iniciais, mas, ao final da hidrólise, apenas os conjuntos de 925 & 675 µm apresentam uma variância menor entre seus dados.

A Figura 19 apresenta o perfil de concentração de glicose para a hidrólise do bagaço pré-tratado na mesma velocidade de rotação, mas com diferentes diâmetros iniciais. Um rendimento de glicose de quase 90% em relação à celulose é alcançado para a melhor condição, e um rendimento de quase 80% é alcançado para a pior condição. Este valor ainda é alto quando comparado com os valores obtidos para a hidrólise do bagaço *in natura* ou em relação a outros pré-tratamentos.

Na Figura 20 é possível ver o perfil de concentração de celobiose para as mesmas condições de pré-tratamento já descritas. Novamente, a celobiose é rapidamente formada no início da hidrólise, mas rapidamente é consumida para a formação glicose. Além disso, para todas as condições apresentadas neste conjunto de

dados, a concentração de celobiose foi alta. Isto mostra uma relação de maior formação de glicose com uma maior formação de celobiose.

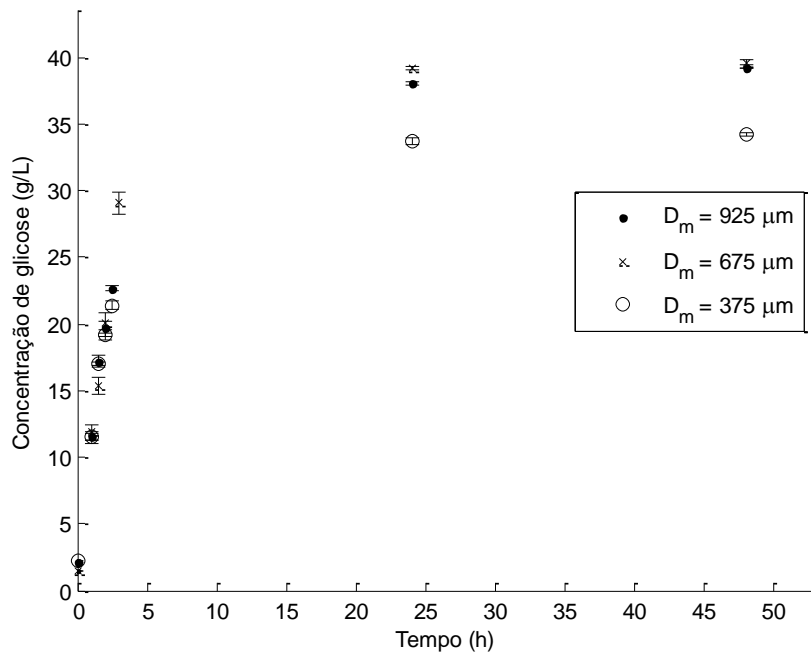


Figura 19 - *Concentração de glicose na hidrólise do bagaço com diferentes diâmetros médios pré-tratado em 300 RPM.*

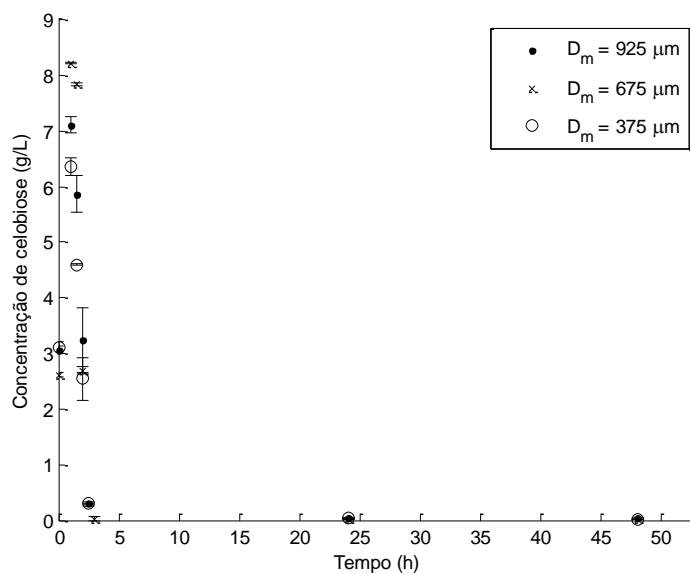


Figura 20 - *Concentração de celobiose na hidrólise do bagaço com diferentes diâmetros médios pré-tratado em 300RPM.*

A Figura 21 apresenta a concentração de xilose para as condições de pré-tratamento já descritas. Novamente, é possível observar que os conjuntos de dados que apresentaram um maior rendimento de glicose, também são aqueles que apresentam as maiores concentrações de xilose, o que indica uma maior eficiência na hidrólise, e, consequentemente, do pré-tratamento realizado.

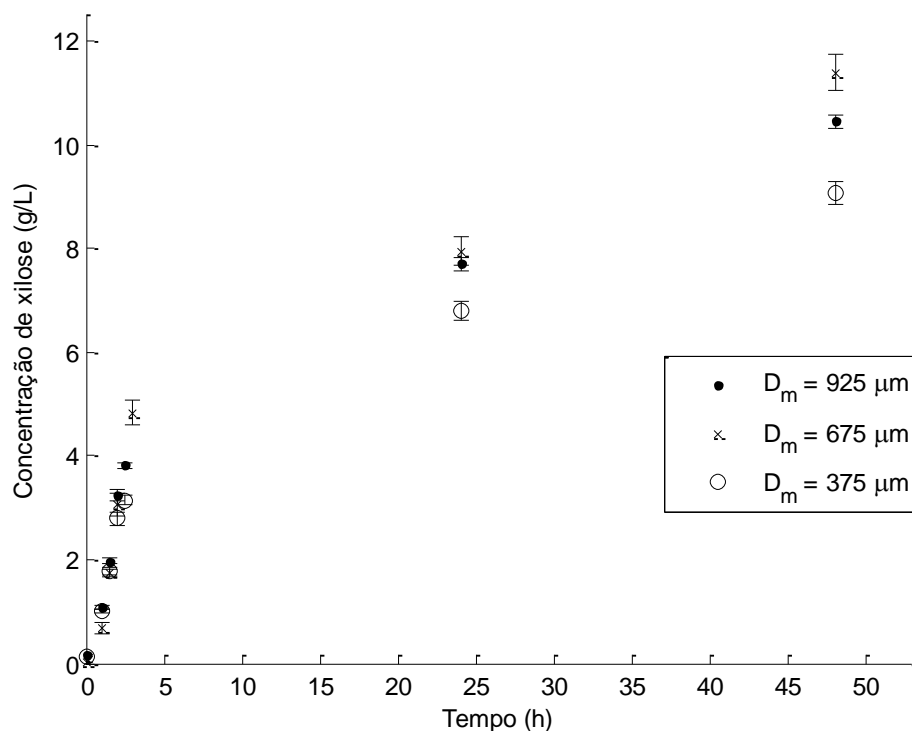


Figura 21 - *Concentração de xilose na hidrólise do bagaço com diferentes diâmetros médios pré-tratado em 300 RPM.*

A Figura 22 apresenta os coeficientes de variação para os conjuntos de dados apresentados. Um maior coeficiente de variação é verificado, novamente, nos momentos iniciais de hidrólise enzimática. Assim, é possível concluir mais uma vez que as espécies apresentaram uma maior variabilidade de amostragem nos instantes iniciais, onde há uma maior taxa de reação.

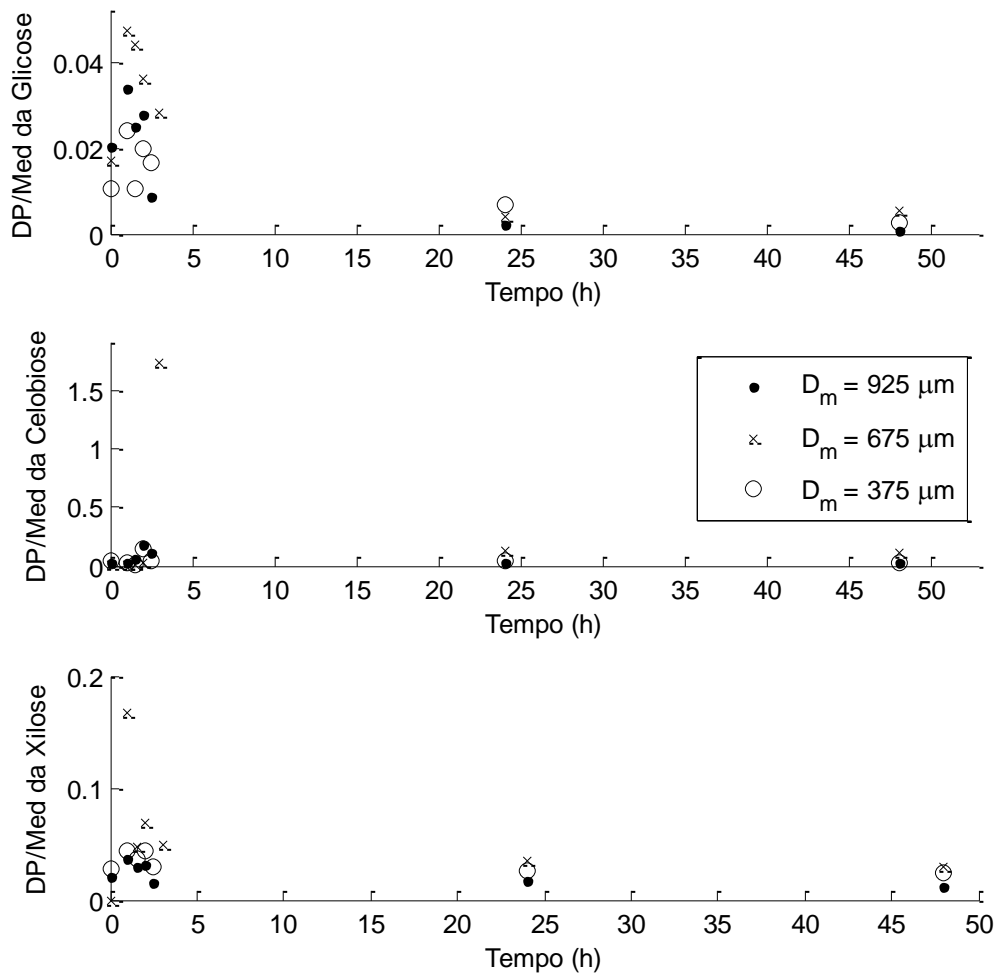


Figura 22 - Desvio padrão relativo para as espécies na hidrólise do bagaço com diferentes diâmetros médios pré-tratado em 300RPM.

A Figura 23 apresenta os resultados de rendimentos para todas as condições de pré-tratamento consideradas. Maiores conversões de celulose para glicose foram obtidas em condições com velocidade de rotação entre 300 e 400 RPM, sendo que há um grande decréscimo para velocidades de rotação menores. Os maiores rendimentos foram obtidos para partículas maiores, chegando a mais de 90%. Para 300 RPM, o maior rendimento é obtido para partículas com diâmetro inicial de 675  $\mu\text{m}$ . Partículas menores obtiveram um menor rendimento em altas velocidades de rotação. No entanto, quando a

velocidade de rotação é menor (250 e 200 RPM), estas partículas apresentam maiores rendimentos em relação às partículas maiores. Esta situação provavelmente ocorre devido à menor energia dos corpos moedores nestas velocidades de rotação, a qual não deve ser suficiente para conseguir efetivamente quebrar as partículas de diâmetros maiores.

Estes resultados sugerem que existe uma velocidade de rotação para cada diâmetro inicial de partícula que obterá um maior rendimento.

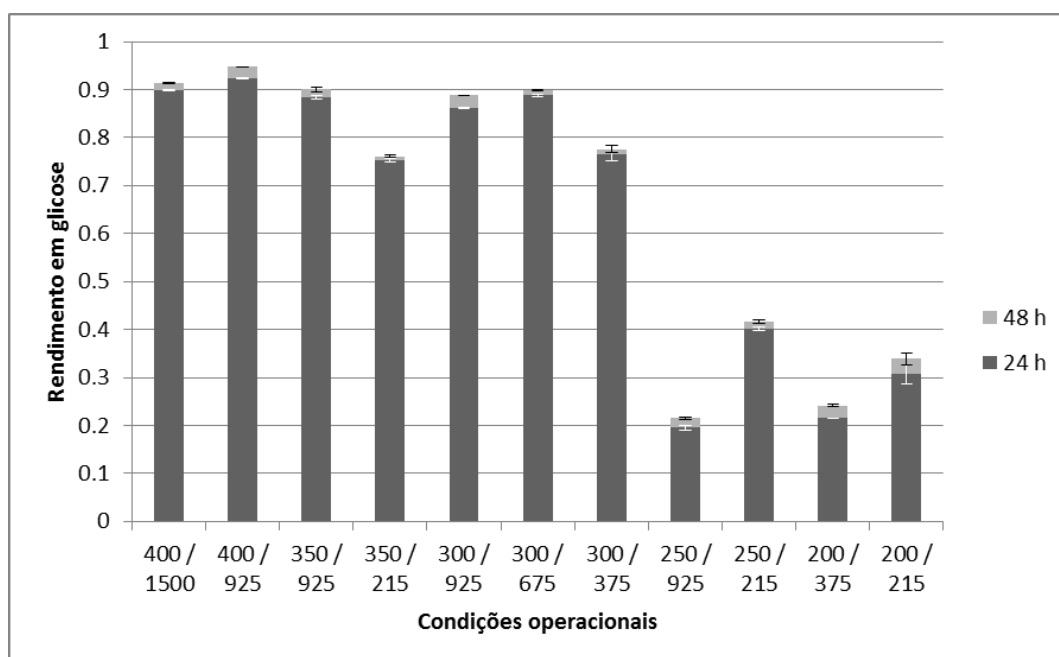


Figura 23 – Rendimentos obtidos para 24 h e 48 h de hidrólise após moagem de partículas com diferentes tamanhos iniciais e velocidades de rotação.

A Figura 24 e a Figura 25 mostram as curvas de nível dos ajustes para o rendimento em 24 e 48 horas. Novamente, é possível que cada diâmetro de partícula possui uma velocidade de rotação que atinge maiores rendimentos na hidrólise. Pelas curvas de nível, é possível notar que o diâmetro ótimo para cada velocidade não muda muito com 24 ou 48 horas de hidrólise. O modelo apresentou um ajuste de 94,9%. O modelo quadrático ajustado é dado na Equação 41 para 24 horas de hidrólise e na Equação 42 para o rendimento de 48 horas, com o rendimento em função da velocidade de rotação ( $V_R$ ), em RPM, e diâmetro médio das partículas ( $D_m$ ), em  $\mu\text{m}$ .

$$R_{24} = -2,62 + 0,022 V_R - 0,00134 D_m - 0,3655 \times 10^{-4} V_R^2 + 0,7 \times 10^{-5} V_R D_m - 0,67 \times 10^{-6} D_m^2 \quad (41)$$

$$R_{48} = -2,49 + 0,021 V_R - 0,00132 D_m - 0,3556 \times 10^{-4} V_R^2 + 0,71 \times 10^{-5} V_R D_m - 0,696 \times 10^{-6} D_m^2 \quad (42)$$

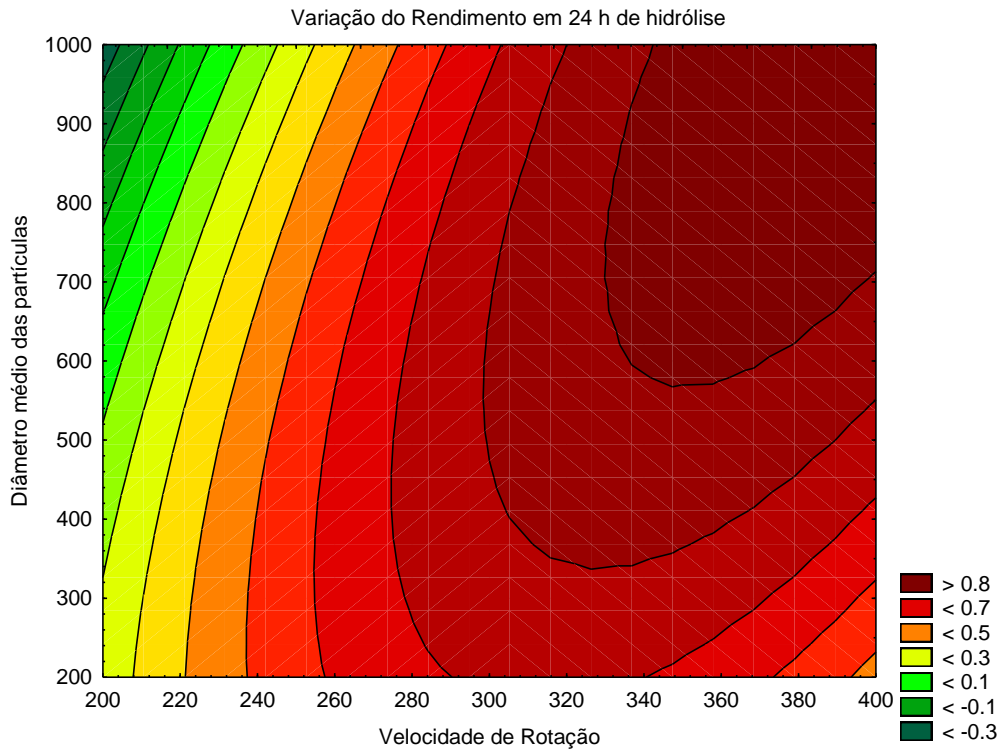


Figura 24 - Ajuste dos dados de rendimento em 24 horas de hidrólise.

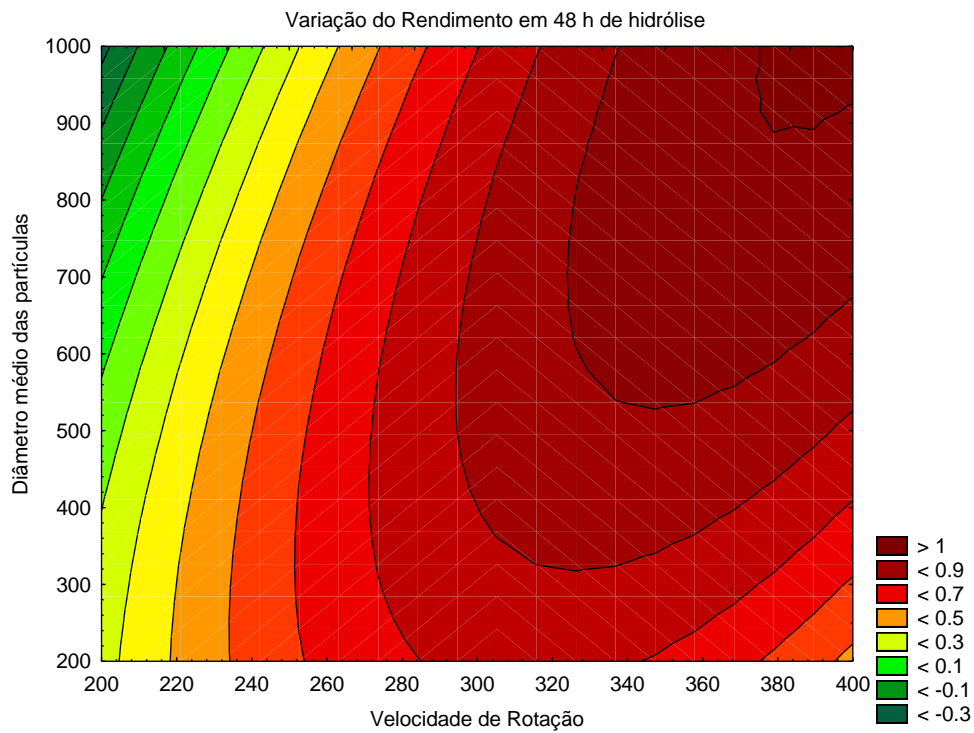


Figura 25 - Ajuste dos dados de rendimento em 48 horas de hidrólise.

#### 4.1.4.3 Moagem no moinho de bolas horizontal

Algumas moagens foram realizadas em um moinho de bolas horizontal com vaso de moagem de 5 litros, com corpos de moagem de 2 cm e velocidade de rotação de 100 RPM, rotação única do equipamento. O mesmo tempo de moagem efetivo dos experimentos com o moinho planetário (3 horas) foi utilizado. Inicialmente, corpos de moagem de aço foram utilizados e o resultado da hidrólise do bagaço pré-tratado nestas condições, com dois diâmetros iniciais diferentes, pode ser observado na *Figura 26*.

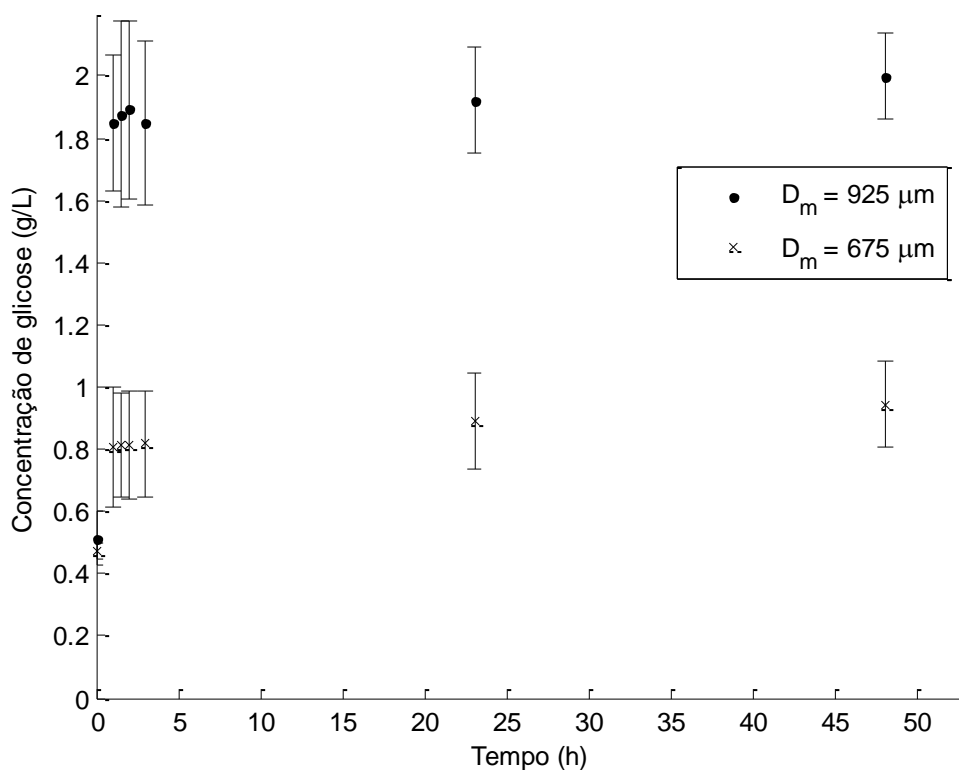


Figura 26 - Resultado da hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de aço.

É possível observar que o rendimento da hidrólise diminui muito com o pré-tratamento feito nestas condições, alcançando concentrações menores do que a hidrólise do bagaço *in natura*. Isto se deve à contaminação do bagaço por ferro devido ao desgaste dos corpos de moagem, fato comprovado em outros ensaios, conforme descrito mais adiante. O ferro presente no meio de hidrólise pode se ligar às enzimas, inutilizando-as, ou impedindo que estas se adsorvam na superfície do material, o que

explicaria o baixo rendimento alcançado. A *Figura 27* mostra que a celobiose que é formada não é convertida como nos experimentos anteriores, o que pode significar que a enzima livre não está conseguindo degradá-la, o que resulta em uma concentração relativamente alta de celobiose mesmo após 48 h de reação.

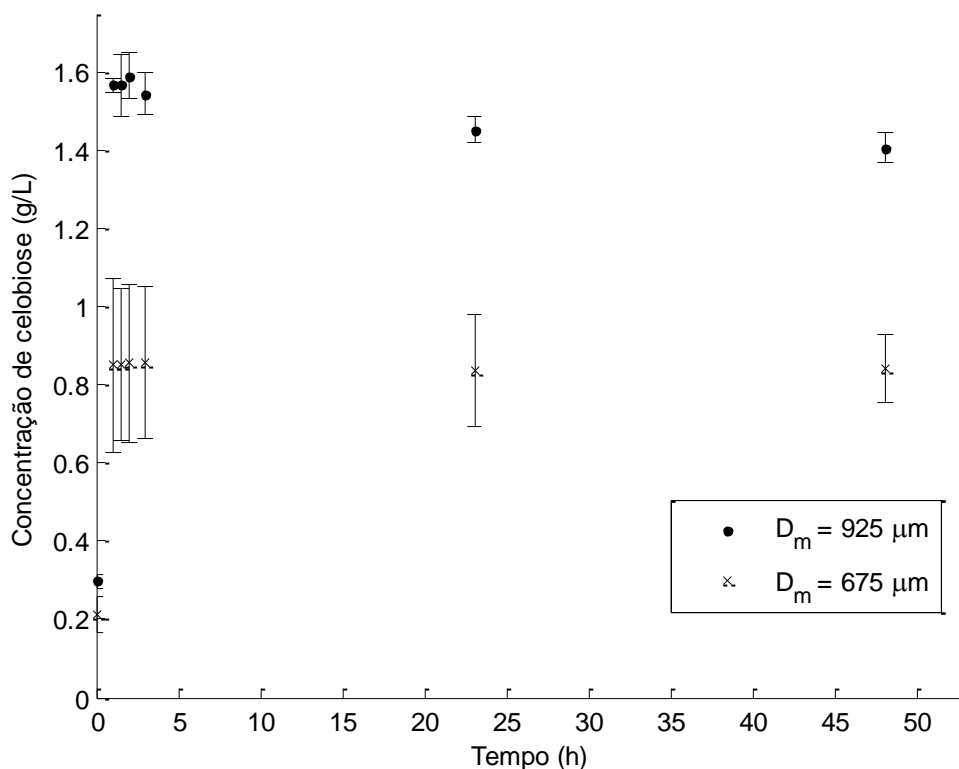


Figura 27 - *Concentração de celobiose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de aço.*

A *Figura 28* mostra o perfil de concentração da xilose nas mesmas condições. É evidente que a concentração obtida está bem abaixo do que aquelas obtidas anteriormente em qualquer condição de hidrólise realizada. Isto indica claramente uma baixa eficiência da hidrólise enzimática nestas condições de operação. Além disso, o ferro parece inutilizar ou não permitir o ataque de qualquer enzima, não somente as enzimas livres no meio reacional.



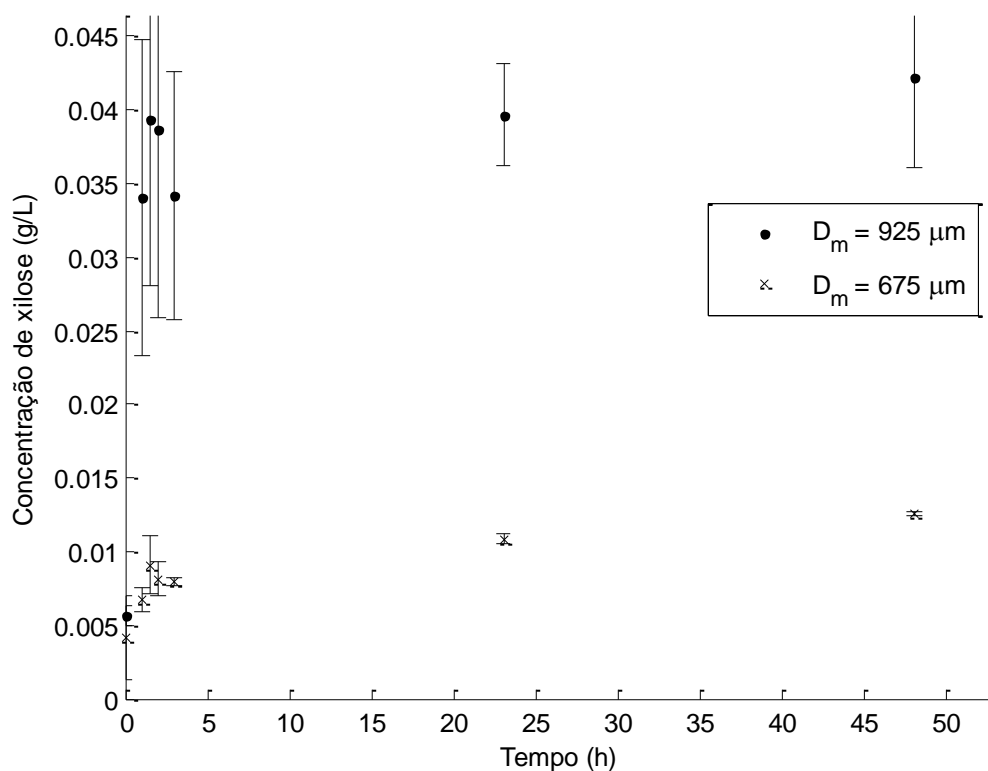


Figura 28 - Concentração de xilose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de aço.

Para tentar clarificar os efeitos da degradação dos corpos de moagem de aço durante a moagem, foi realizado um novo pré-tratamento no moinho horizontal, com o mesmo vaso de moagem e na mesma velocidade de rotação, mas utilizando corpos de alumina com o mesmo diâmetro, material que não se desgasta. Como estes corpos são mais leves que os corpos de aço, e, conseqüentemente, tem menos energia no impacto com as partículas, o dobro de tempo de moagem foi utilizado para garantir a eficiência do processo. Um diâmetro médio inicial de 925  $\mu\text{m}$  foi utilizado nesta moagem. Geralmente, dobrar o tempo de moagem quando se utiliza corpos de alumina funciona para minérios, assim a mesma condição foi adotada para o bagaço de cana-de-açúcar.

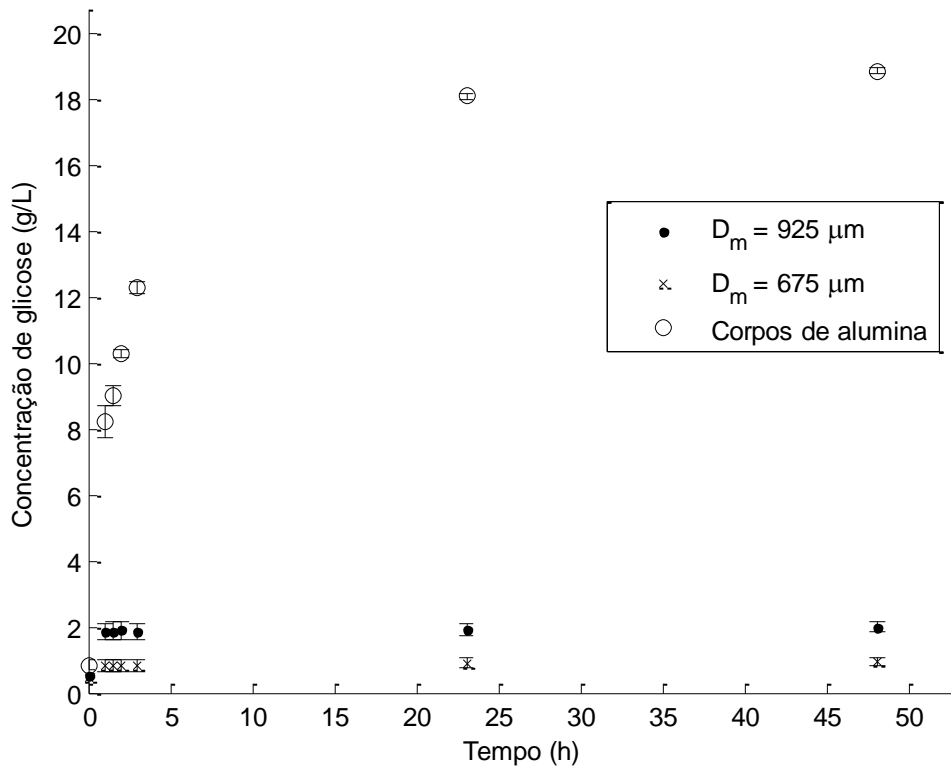


Figura 29 - Concentração de glicose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de aço e alumina.

Na Figura 29 é possível observar uma grande diferença na concentração de glicose formada na hidrólise do bagaço tratado com bolas de alumina em relação ao bagaço com corpos de moagem de aço. Este resultado mostra que há uma influência do ferro originado pelo desgaste dos corpos moedores na ação das enzimas.

O rendimento nestas condições chega a quase 50%, maior do que o rendimento obtido na hidrólise do bagaço *in natura*, mas menor que o rendimento obtido para as hidrólises utilizando o moinho de bolas planetário em velocidades maiores que 300 RPM.

A Figura 30 mostra o perfil de celobiose para as condições de moagem utilizadas. O perfil obtido anteriormente no pré-tratamento utilizando o moinho de bolas planetário é novamente encontrado. A celobiose novamente é formada e consumida nas primeiras horas de hidrólise, aumentando a concentração final de glicose formada.

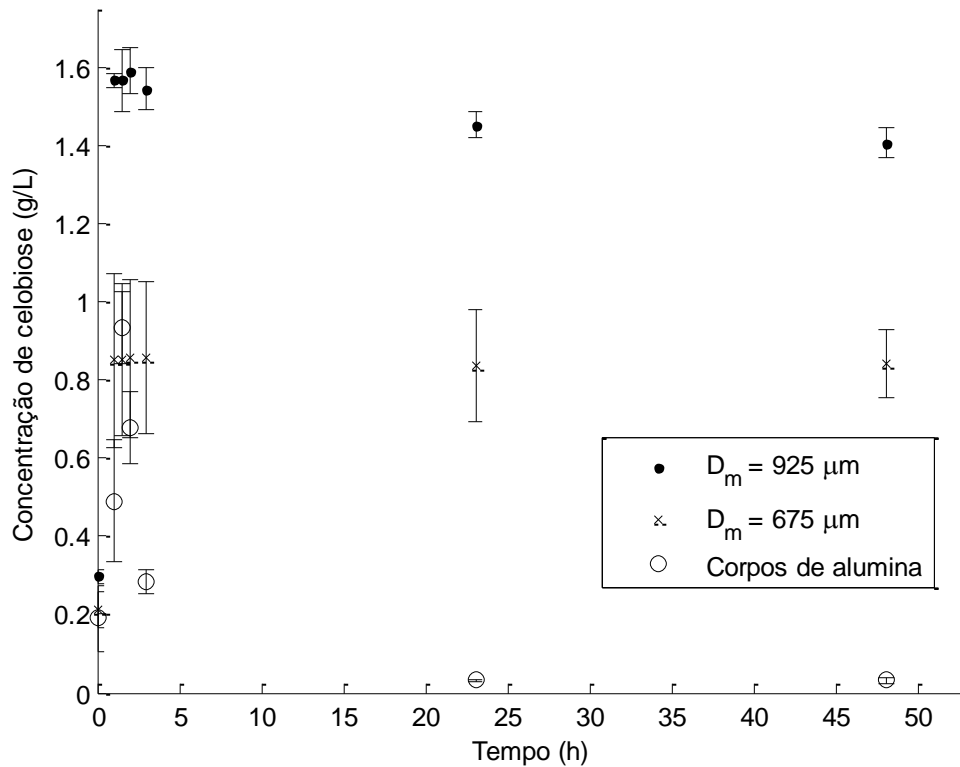


Figura 30 - *Concentração de celobiose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de aço e alumina.*

Ao observar-se *Figura 31*, mais uma vez é possível concluir que a eficiência total da hidrólise aumentou com o pré-tratamento com corpos de alumina, já que a concentração obtida de xilose é maior do que a obtida anteriormente.

Para confirmar se o ferro proveniente do desgaste dos corpos de aço realmente tem alguma influência na hidrólise enzimática, ou seja, se este realmente altera a ação das enzimas no bagaço, uma separação magnética foi realizada no bagaço que passou por moagem com os corpos de aço e diâmetro médio inicial de 925 µm. Para isso, corpos magnéticos e um agitador magnético foram utilizados na separação, até que a quantidade de ferro livre presente na amostra fosse retirada.

O resultado da hidrólise após separação magnética pode ser visto nas *Figura 32*, *Figura 33* e *Figura 34*.

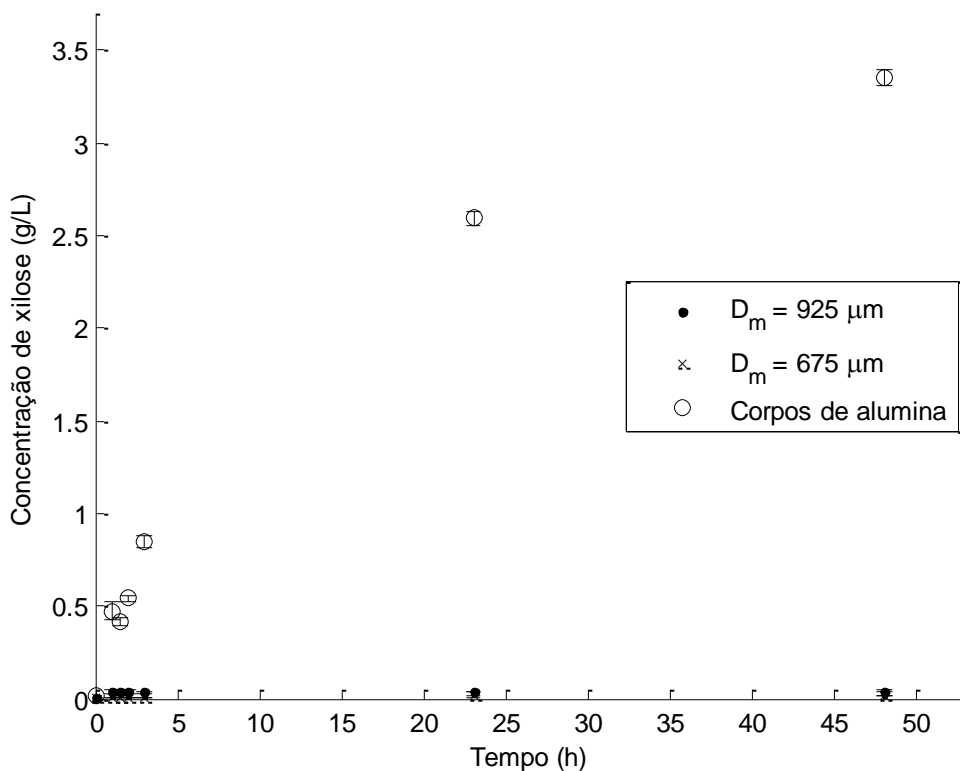


Figura 31 - Concentração de xilose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de aço e alumina.

O perfil de glicose obtido é bem diferente dos anteriores, com um rendimento de glicose alcançado de aproximadamente 35 %, como apresentado na *Figura 32*. Contudo, o desvio padrão das amostras retiradas é maior do que de dados apresentados anteriormente, o que mostra uma diferença na eficiência da separação magnética das triplicatas utilizadas na hidrólise.

Com o maior rendimento de glicose obtido, foi possível confirmar que o ferro presente na amostra realmente influencia na ação das enzimas durante a hidrólise enzimática.

A *Figura 33* mostra o perfil de celobiose obtido na hidrólise enzimática após separação magnética. O perfil obtido é semelhante ao esperado das hidrólises anteriores, com rápida formação e consumo de celobiose nos momentos iniciais da hidrólise enzimática. Infelizmente, novamente é possível notar o grande desvio padrão obtido dos

dados experimentais, mostrando que a separação magnética foi diferente para cada amostra utilizada na triplicata de hidrólise.

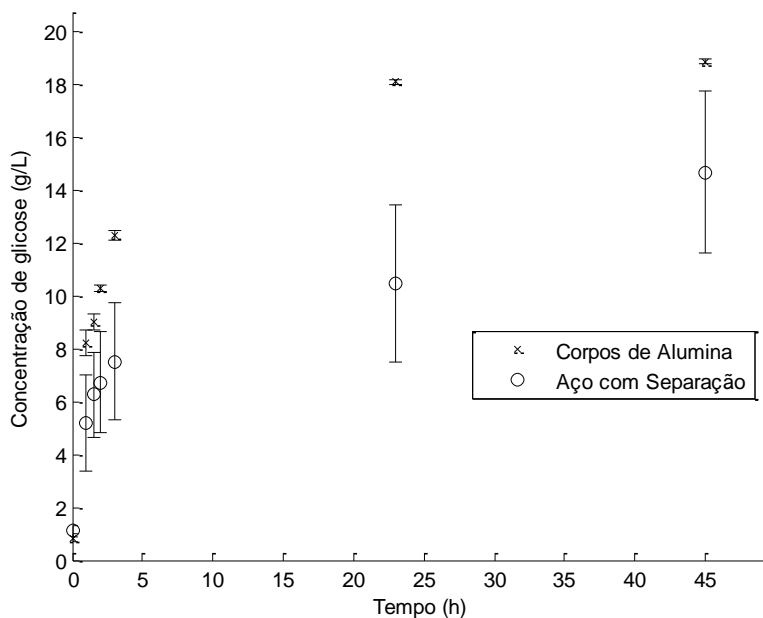


Figura 32 - Concentração de glicose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de alumina e aço após separação magnética do ferro livre.

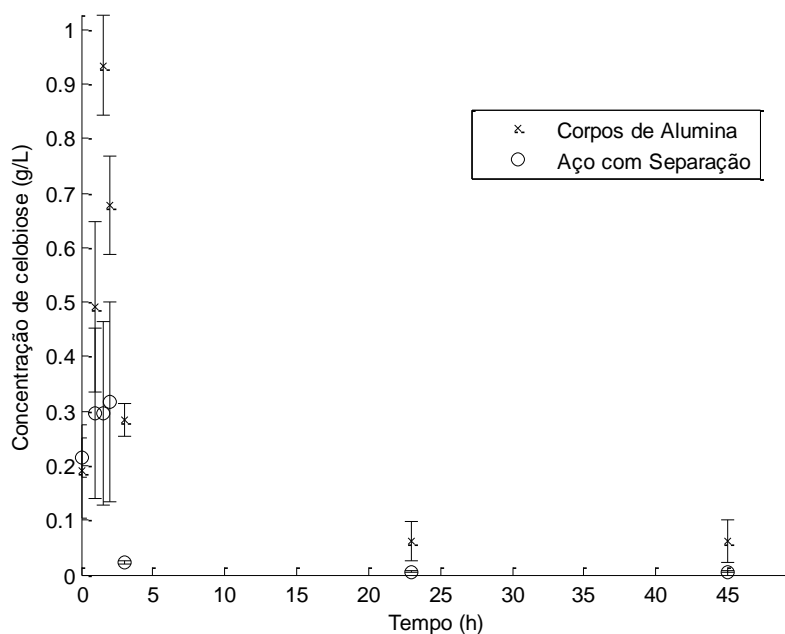


Figura 33 - Concentração de celobiose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de alumina e aço após separação magnética.

A Figura 34 mostra o perfil de xilose obtido na hidrólise. É possível concluir mais uma vez que a eficiência total da hidrólise aumentou após a separação magnética e que o ferro inibe a ação de qualquer enzima presente no meio reacional.

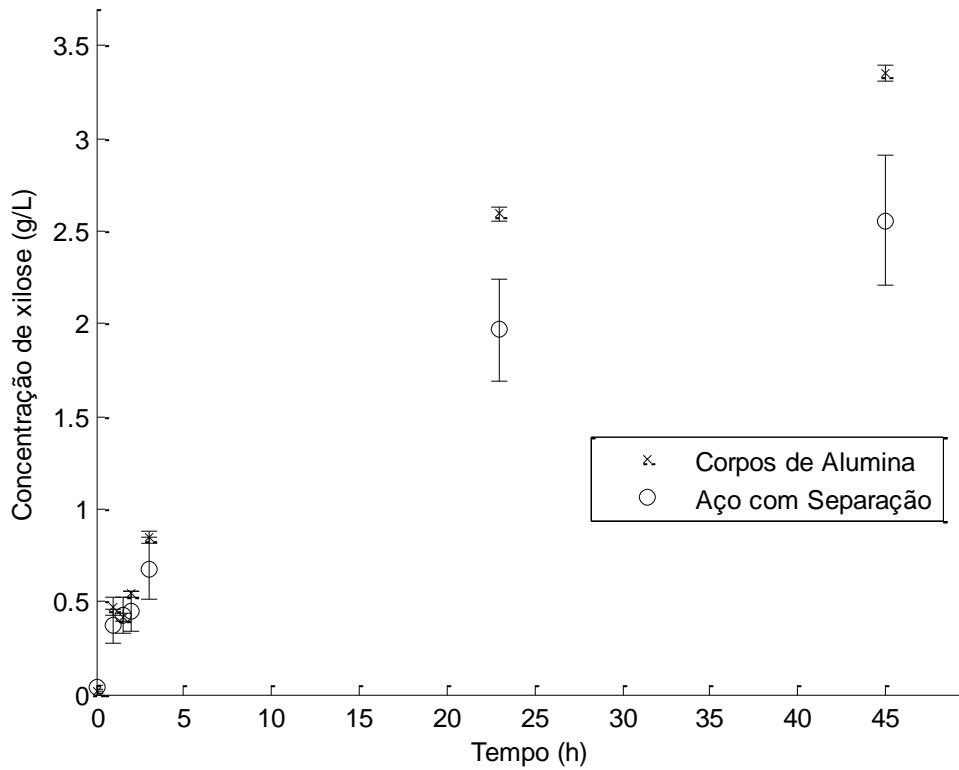


Figura 34 - Concentração de xilose na hidrólise do bagaço pré-tratado no moinho de bolas horizontal com corpos de alumina e aço após separação magnética do ferro livre.

## 4.2 Resultados Computacionais

### 4.2.1 Estimação de parâmetros

Ao realizar uma primeira tentativa de estimação de parâmetros com o conjunto de dados experimentais obtidos no pré-tratamento no moinho de bolas planetário com velocidade de rotação em 400 RPM e diâmetro médio de partículas de 1500  $\mu\text{m}$  e o modelo cinético mostrado na Seção 3.7, os resultados obtidos na Tabela 11 foram

encontrados. Esta tabela mostra os resultados obtidos ao realizar a estimação utilizando apenas o enxame de partícula mais de uma vez. Como o método do enxame é estocástico, é possível notar que valores distintos dos parâmetros conseguem obter um mesmo valor para a função objetivo, uma vez que diferentes mínimos locais são alcançados. Devido ao modelo proposto e o conjunto de dados experimentais, a correlação entre os parâmetros é grande, de modo que os parâmetros não podem ser estimados corretamente. Além disso, os parâmetros de adsorção devem ser estimados em um experimento separado, ou em experimentos com diferentes cargas de enzima. Como nenhum experimento foi realizado para a estimação dos parâmetros de adsorção, os valores apresentados por ANGARITA MARTINEZ (2014) foram utilizados.

Tabela 11 – *Valores estimados dos parâmetros para diferentes rodadas do enxame de partículas (para o conjunto de dados do moinho de bolas com velocidade de rotação em 400 RPM e diâmetro médio inicial de 1500  $\mu\text{m}$ )*

Parâmetros	Valor dos Parâmetros		
	Resultado 1	Resultado 2	Resultado 3
$k_{1r} (L/(gh))$	$6,76 \times 10^{-1}$	$3,722 \times 10^{-1}$	9,28
$K_{1X} (g/L)$	$8,113 \times 10^{-1}$	1,547	$4,19 \times 10^{-2}$
$k_{2r} (L/(gh))$	$6,087 \times 10^{-1}$	$2,112 \times 10^{-1}$	8,81
$k_{3r} (1/h)$	$2,414 \times 10^2$	$1,023 \times 10^3$	$2,01 \times 10^2$
$K_{3M} (g/L)$	$8,817 \times 10^{-1}$	$4,407 \times 10^{-1}$	1,11
$K_{3G} (g/L)$	$4,986 \times 10^7$	1,445	$1,65 \times 10^1$
$k_{4r} (L/(gh))$	$9,237 \times 10^{-2}$	$4,165 \times 10^{-2}$	1,29
$K_{1G2} (g/L)$	2,475	7,937	$1,15 \times 10^{-1}$
$K_{1G} (g/L)$	13,83	$9,999 \times 10^{+7}$	$1,00 \times 10^{10}$
$K_{3X} (g/L)$	$1,337 \times 10^{-2}$	$9,710 \times 10^{-9}$	1,02
<b>F<sub>obj</sub></b>	<b><math>3,092 \times 10^2</math></b>	<b><math>3,092 \times 10^2</math></b>	<b><math>3,092 \times 10^2</math></b>

Para mostrar o ajuste aos dados experimentais, o coeficiente de determinação total e de cada espécie são mostrados na Tabela 12.

Tabela 12 – *Coefficientes de Determinação para o ajuste dos dados experimentais (400 RPM e 1500  $\mu\text{m}$ ) utilizando dez parâmetros (Caso 3 na Tabela 11)*

<b>Coefficiente de determinação</b>	<b>Valor</b>
$R^2$	0,9948
$R_G^2$	0,9942
$R_{G2}^2$	0,9997
$R_X^2$	0,9989

Para contornar a existência de múltiplos mínimos da função objetivo, a rotina SELEST foi utilizada. Esta rotina realiza a seleção de um conjunto de parâmetros mais significativos do modelo, sem diminuir sua capacidade de ajuste aos dados. Os parâmetros não selecionados são mantidos em um valor inicial, enquanto os outros parâmetros são estimados. Os valores estimados no trabalho de ANGARITA MARTINEZ (2014) foram utilizados como valores iniciais. Dos dez parâmetros a serem estimados, apenas seis são selecionados. A Tabela 13 apresenta o valor dos parâmetros estimados após a seleção, para o mesmo conjunto de dados utilizado anteriormente (400 RPM e 1500  $\mu\text{m}$ ), sendo que os parâmetros em negrito foram os selecionados pelo algoritmo. Além disso, o método do enxame de partículas foi utilizado após a rotina SELEST, apenas estimando os parâmetros identificáveis, para garantir o mínimo atingido. É importante comentar que, em todos os conjuntos de dados experimentais, o parâmetro  $K_{1G}$  sempre apresentou valores elevados, assim, como este é um parâmetro de inibição, ele foi fixado em um valor de  $10^{10}$ , indicando que a inibição por glicose não é tão relevante como a inibição por xilose ou celobiose, indicando que a inibição por glicose não é relevante no modelo em comparação a xilose ou celobiose.



Tabela 13 – Valor dos parâmetros após a seleção e estimação pela rotina SELEST

Parâmetros	Valor dos Parâmetros
$k_{1r} (L/(g h))$	<b>9,232</b>
$K_{1X} (g/L)$	<b>0,042</b>
$k_{2r} (L/(g h))$	8,810
$k_{3r} (1/h)$	201,000
$K_{3M} (g/L)$	<b>1,102</b>
$K_{3G} (g/L)$	<b>16,67</b>
$k_{4r} (L/(g h))$	<b>1,289</b>
$K_{1G2} (g/L)$	<b>0,115</b>
$K_{1G} (g/L)$	1010
$K_{3X} (g/L)$	1,023

A *Tabela 14* mostra novos valores dos coeficientes de determinação após seleção dos parâmetros, é possível concluir que o modelo não perde a capacidade de ajuste mesmo após a redução dos parâmetros totais a serem estimados. A estimação para todos os conjuntos de dados nas diferentes condições do pré-tratamento no moinho de bolas planetário se encontra no APÊNDICE A.

Observa-se que os valores apresentados na *Tabela 12* diferem um pouco dos novos valores apresentados. Embora um número maior de parâmetros a serem estimados possa melhorar o ajuste do modelo, também ocorre o aumento do número de variáveis com que o otimizador (apenas o Enxame de partículas, para o caso de dez parâmetros) deve trabalhar. Assim, um maior número de variáveis livres faz com a eficiência do otimizador diminua (dependendo do número de partículas e iterações utilizado). Ao utilizar a rotina SELEST, não apenas o número de variáveis a serem estimadas diminui, mas a própria rotina já realiza uma primeira estimação dos parâmetros, o que, ao utilizar-se o enxame após a seleção e estimação, aumenta a

eficiência do otimizador. Por este motivo, é possível explicar o motivo dos valores encontrados na Tabela 12 serem diferentes e um pouco menores que os encontrados na Tabela 14.

Tabela 14 – Coeficientes de determinação após seleção de parâmetros

<b>Coeficiente de determinação</b>	<b>Valor</b>
$R^2$	0,9950
$R_G^2$	0,9944
$R_{G2}^2$	0,9997
$R_X^2$	0,9990

O resultado do ajuste do modelo aos dados experimentais obtidos no pré-tratamento no moinho de bolas planetário com velocidade de rotação em 400 RPM e diâmetro médio de partículas de 1.500  $\mu\text{m}$  pode ser encontrado na Figura 35.

Algumas conclusões podem ser tiradas deste ajuste. Inicialmente, é possível notar que mais da metade da glicose formada a partir da celulose é originada pela rota do intermediário de celobiose, isto pode ser visto no ajuste aos dados de glicose, onde a curva sólida representa a concentração total de glicose, a pontilhada representa a formação de glicose com intermediário de celobiose e a tracejada, a formação de glicose diretamente da celulose:

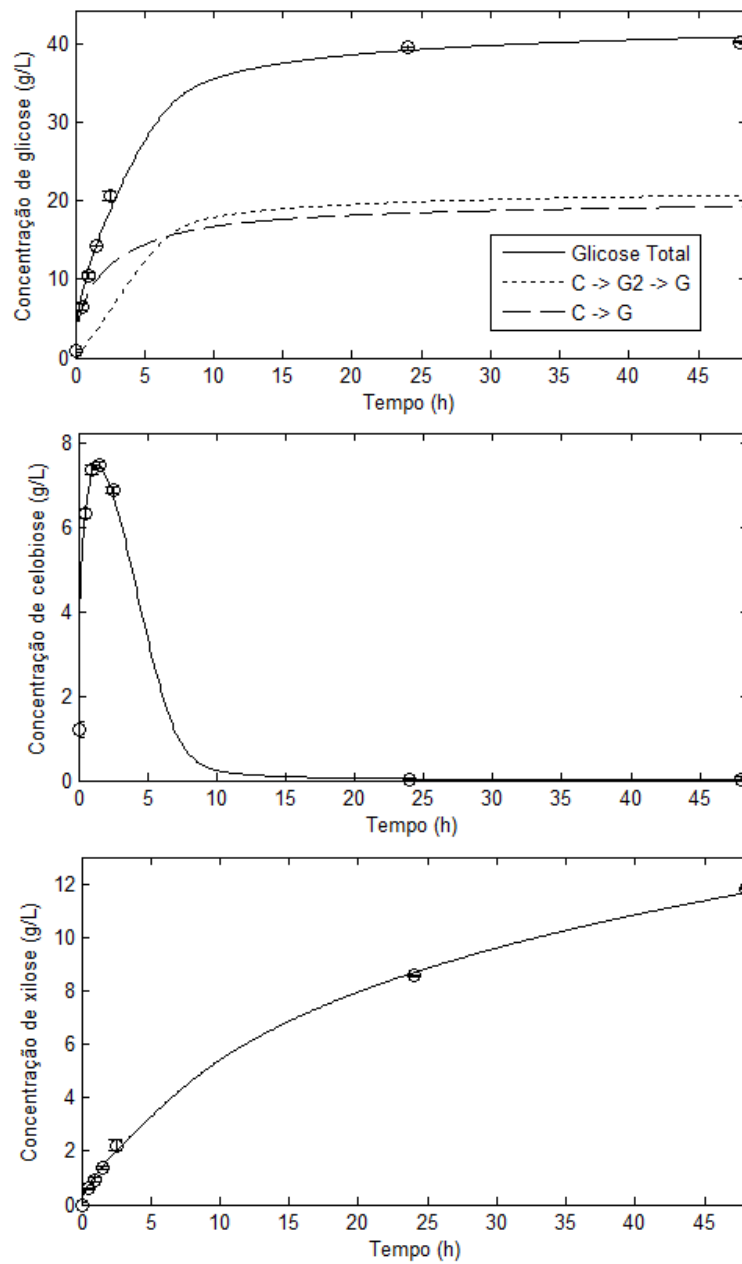


Figura 35 – Resultados do ajuste do modelo para o conjunto de dados obtidos no pré-tratamento do moinho de bolas planetário com velocidade de rotação de 400 RPM e diâmetro médio de 1.500  $\mu\text{m}$ .

Além disso, há uma grande formação de glicose inicialmente, correspondendo à rápida formação e consumo da celobiose. Quando a concentração de celobiose diminui no meio (entre 5 e 10h), a velocidade de formação de glicose também cai drasticamente.

Em relação ao ajuste aos dados de celobiose, o modelo consegue se ajustar muito bem à rápida formação e consumo da celobiose, sendo possível concluir, através do modelo, que após 15 horas de hidrólise a concentração deste composto é quase não significativa. Por sua vez, a formação de xilose parece continuar mesmo após as 48 horas utilizadas para a coleta de dados experimentais. Apesar do menor número de pontos em momentos avançados, é possível um bom ajuste aos dados experimentais obtidos.

Na Figura 36, as taxas de reação utilizadas no modelo foram calculadas em todos os instantes e representadas. A taxa  $r_1$  representa formação de celobiose a partir da celulose. Observa-se que esta taxa de reação é alta logo no início da reação. O mesmo comportamento pode ser observado na segunda taxa de reação, relacionada à formação de glicose diretamente da celulose.  $r_3$  representa a formação de glicose a partir da celobiose e é uma taxa que tem um aumento nos instantes iniciais e um posterior declínio mais lento, o que está ligado à formação e ao consumo da celobiose. Já a taxa de formação de xilose,  $r_4$  também tem um rápido declínio logo no início da reação, o que leva a formação mais lenta de xilose. Estes efeitos podem ser vistos claramente na Figura 37, na qual a taxa de variação das espécies é representada.

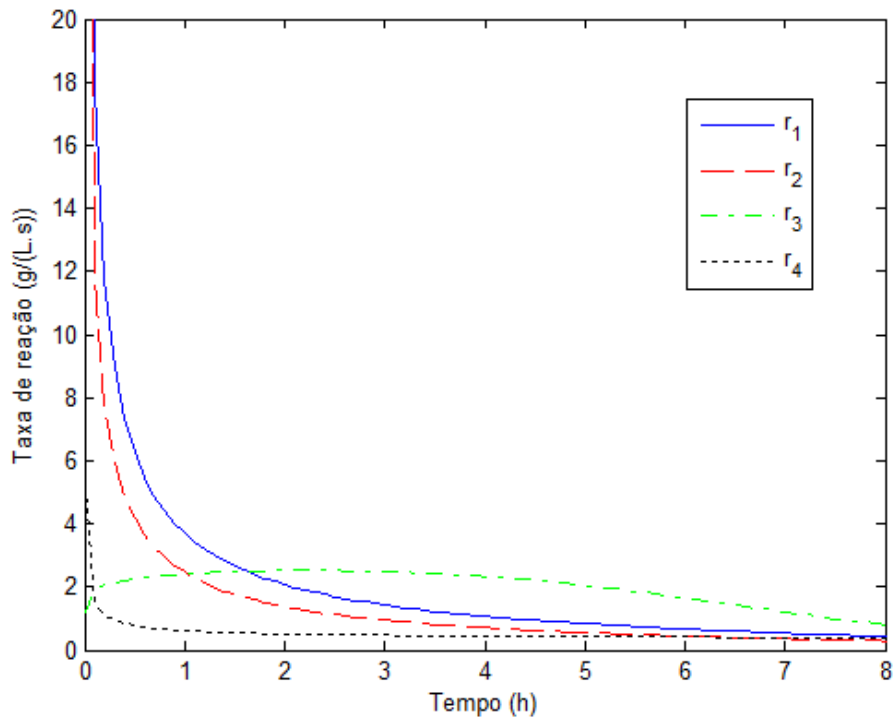


Figura 36 – Taxas de reação durante a hidrólise.

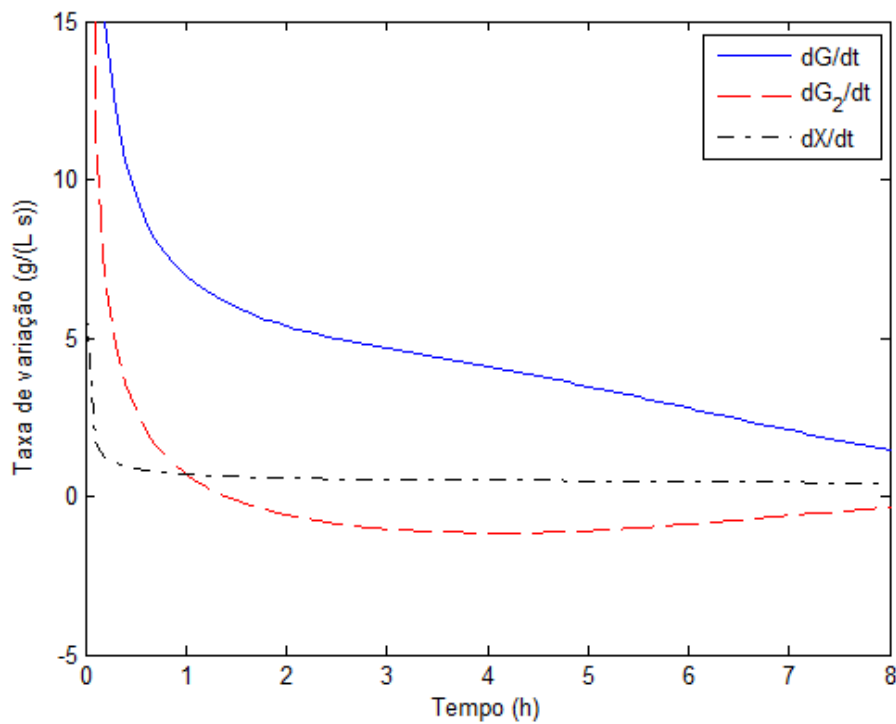


Figura 37 – Termo de acúmulo das espécies durante a hidrólise.

Infelizmente, não foram todos os conjuntos de dados experimentais que se ajustaram bem ao conjunto de parâmetros selecionados. Conjuntos com baixa formação de celobiose, e conseqüentemente uma baixa formação de glicose, não conseguem ser bem ajustados pelo modelo utilizando a rotina de estimação. É de esperar que os dados de celobiose tenham uma menor significância na função objetivo, uma vez que os desvios relativos para este composto são maiores. A Figura 38 mostra o resultado obtido para o ajuste dos dados obtidos do pré-tratamento com o moinho de bolas planetário em 200 RPM e 215  $\mu\text{m}$  de diâmetro inicial.

Para este conjunto de dados, o modelo não consegue se ajustar bem aos dados de celobiose, uma vez que estes apresentam valores pequenos e, conseqüentemente, tem problemas para se ajustar aos valores de glicose.

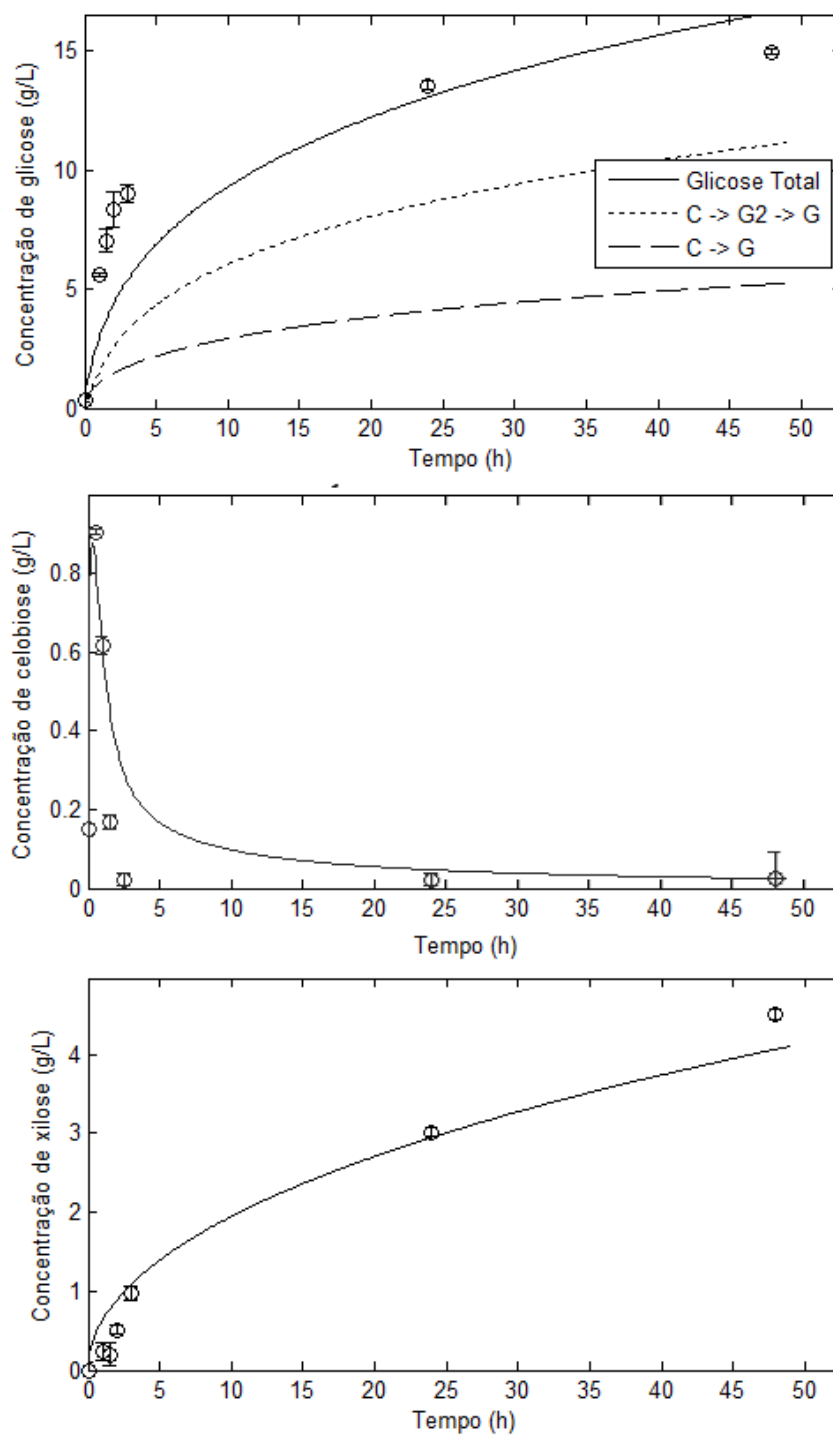


Figura 38 – Ajuste obtido para a condição de moagem em 200 RPM e diâmetro inicial de 215  $\mu\text{m}$ .

Como este tipo de situação pode acarretar maiores problemas nas etapas posteriores deste trabalho, uma simplificação foi feita na estimação. Ao invés de utilizar o conjunto de dados de todas as espécies, apenas consideraram-se os dados de glicose e xilose, sendo que os dados de celobiose não são mais ponderados no ajuste. Realizando novamente a seleção dos parâmetros apenas considerando estas duas espécies, um conjunto de quatro parâmetros foi suficiente para ajustar os dados experimentais. Os resultados das novas estimações para os conjuntos de dados já apresentados estão representados nas Figura 39 e Figura 40. O valor dos parâmetros estimados pode ser encontrado na Tabela 15, e os valores para os outros conjuntos de dados podem ser encontrados no APÊNDICE A.

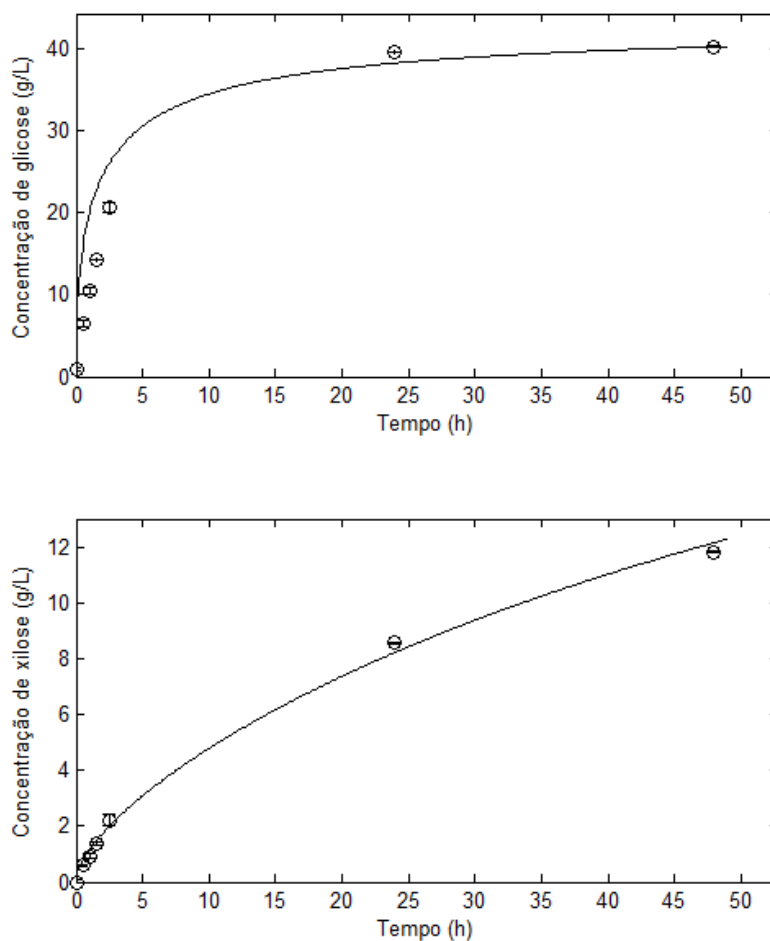


Figura 39 – Ajuste dos dados experimentais considerando apenas os dados de glicose e xilose para a condição de 400 RPM e diâmetro inicial de 1500  $\mu\text{m}$ .



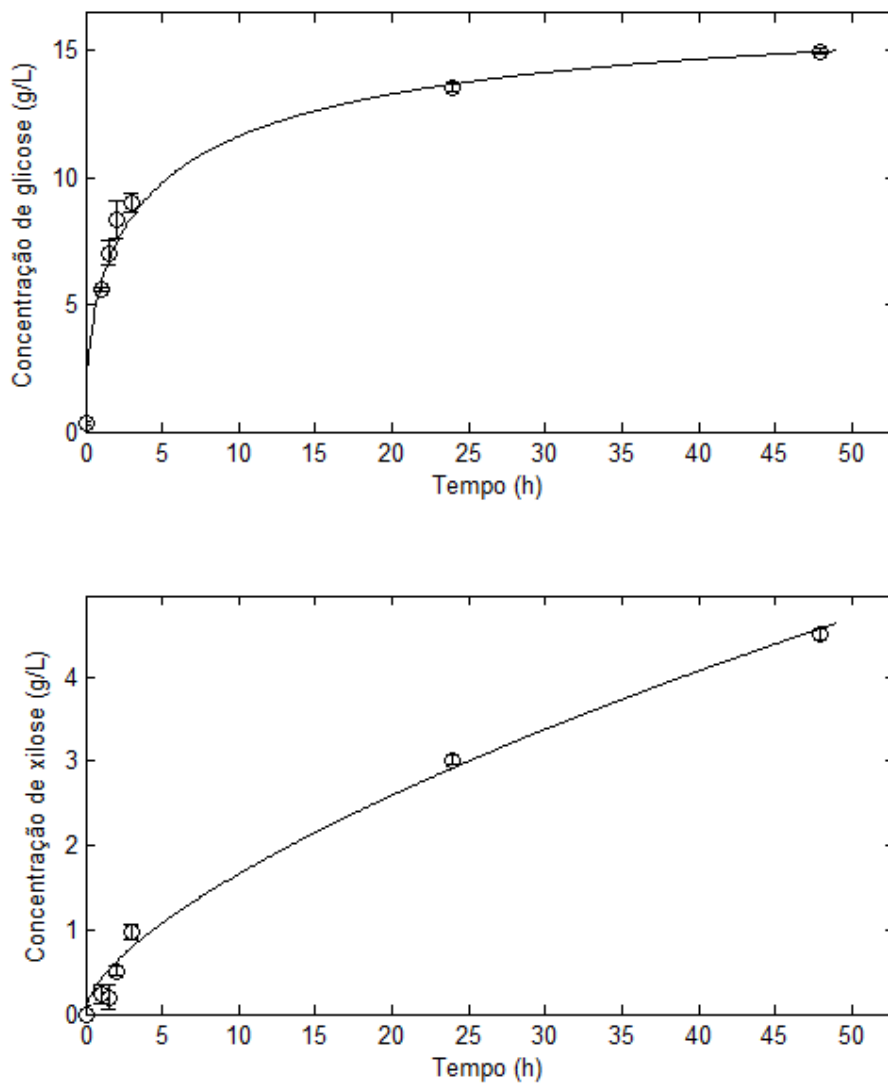


Figura 40 – Ajuste dos dados experimentais considerando apenas os dados de glicose e xilose para a condição de 200 RPM e diâmetro inicial de 215  $\mu\text{m}$ .

É possível notar que o modelo perde sua capacidade de se ajustar aos dados iniciais para alguns conjuntos de dados, mas ainda é capaz de prever o resultado final da hidrólise, fator importante nas próximas etapas deste trabalho.

*Tabela 15 – Valor dos parâmetros após a seleção e estimação pela rotina SELEST considerando apenas os dados de glicose e xilose*

Parâmetros	Valor dos Parâmetros	
	Conjunto de dados 400 RPM e 1500 $\mu\text{m}$	Conjunto de dados 200 RPM e 215 $\mu\text{m}$
$K_{1X} (g / L)$	$9,82 \times 10^{-4}$	$7,199 \times 10^{-2}$
$k_{2r} (L / (g h))$	$2,631 \times 10^4$	6,146
$k_{4r} (L / (g h))$	$1,632 \times 10^3$	0,634138
$K_{1G} (g / L)$	$1,75 \times 10^{-4}$	$4,5098 \times 10^{-2}$

#### **4.2.2 Relação dos parâmetros com as condições operacionais**

Uma vez estimados os parâmetros selecionados para todas as condições operacionais, é possível tentar construir uma relação entre eles. Dados experimentais de três pré-tratamentos diferentes foram considerados neste trabalho: o conjunto de dados já apresentado, para o moinho de bolas planetário operando em diferentes velocidades de rotação e diâmetros médios de partículas; dados obtidos por MORO (2015), para diferentes temperaturas e velocidades de rotação na extrusão do bagaço de cana-de-açúcar; e dados do tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar, obtidos por BARROS (2016), para diferentes temperaturas e tempos de pré-tratamento.

Como existem conjuntos de dados experimentais em certas condições que o modelo apresenta um melhor ajuste, o peso considerado na Equação 27 na Seção 3.7 foi a soma dos coeficientes de determinação da celulose e xilose. Diversas relações foram testadas, sendo que a relação que apresentou o melhor ajuste para os conjuntos de dados foi utilizada.

##### **4.2.2.1 Moinho de bolas planetário**

Para o conjunto de dados do moinho de bolas planetário quatro parâmetros foram selecionados. A estimação de parâmetros para todos os conjuntos de dados obtidos neste trabalho se encontra no APÊNDICE A. A partir destas estimações foi

possível construir ajustes entre os parâmetros e as condições operacionais, apresentados nas Equações 43, 44, 45 e 46. As curvas de nível para cada ajuste podem ser encontradas no APÊNDICE B.

$$\log k_{2r} = -8,864 + 0,0682 V_R - 0,0055 D_M - 1,4 \times 10^{-4} V_R + 6,635 \times 10^{-5} V_R D_M - 1,03 \times 10^{-5} D_M^2 \quad (43)$$

$$k_{4r} = \frac{k_{2r}}{-68,711 + 0,573 V_R - 0,0313 D_M - 9,59 \times 10^{-4} V_R + 1,94 \times 10^{-4} V_R D_M - 2,67 \times 10^{-5} D_M^2} \quad (44)$$

$$K_{IG} = \frac{-13,004 - 0,02222 V_R - 0,03044 D_M - 4,8 \times 10^{-4} V_R^2 - 2,249 \times 10^{-4} V_R \cdot D_M - 1,7 \times 10^{-5} D_M^2}{k_{2r}} \quad (45)$$

$$\log K_{IX} = 16,276 - 0,141 V_R - 0,00463 D_M - 2,64 \times 10^{-4} V_R^2 - 2,032 \times 10^{-5} V_R D_M - 1,01 \times 10^{-7} D_M^2 \quad (46)$$

#### 4.2.2.2 Tratamento hidrotérmico

Os dados obtidos por BARROS (2016) estudam a variação do rendimento obtido da hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar após tratamento hidrotérmico em diferentes tempos e temperaturas de tratamento. Como o pré-tratamento hidrotérmico altera a composição do material, as relações encontrados pelo autor para a composição depois do tratamento também são utilizadas neste trabalho.

A *Figura 41* apresenta o ajuste do modelo utilizado neste trabalho para os dados de xilose e glicose obtidos na hidrólise da palha de cana-de-açúcar após um pré-tratamento a 160 °C durante 50 minutos. O modelo consegue se adequar bem aos dados experimentais, e três parâmetros foram selecionados para o conjunto de dados do pré-tratamento hidrotérmico. O resultado para a estimativa nas condições operacionais apresentada está na *Tabela 16*.

Tabela 16 – Valores estimados dos parâmetros selecionados para os dados de glicose e xilose do pré-tratamento hidrotérmico realizado em 160 °C durante 50 minutos.

Parâmetros	Valor dos Parâmetros
$k_{2r} (L/(g h))$	$1,732 \times 10^1$
$k_{4r} (L/(g h))$	9,211
$K_{1G} (g/L)$	$2,101 \times 10^{-2}$

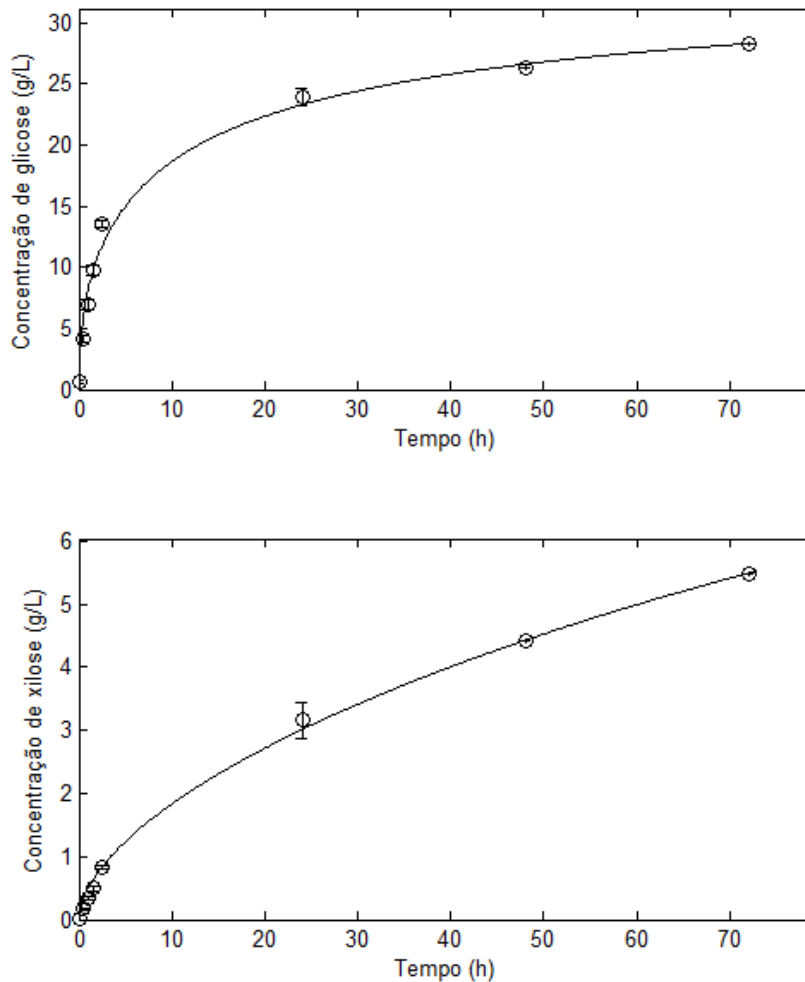


Figura 41 – Ajuste do modelo para os dados de glicose e xilose do pré-tratamento hidrotérmico realizado em uma temperatura de 160 °C durante 50 minutos.

Os ajustes encontrados entre os parâmetros e as condições de operação utilizadas estão apresentados nas Equações 47, 48 e 49. As curvas de nível para cada ajuste podem ser encontradas no APÊNDICE B.

$$k_{2r} = 1643,4 - 21,1017T - 7,063t - 6,723 \times 10^{-2} T^2 + 4,722 \times 10^{-2} Tt - 2,3453 \times 10^{-2} t^2 \quad (47)$$

$$k_{4r} = 13403 - 165,42T - 71,8t - 0,503 \times 10^{-2} T^2 + 0,4609Tt - 3,22 \times 10^{-2} t^2 \quad (48)$$

$$K_{1G} = -0,165 - 2,52 \times 10^{-2} T + 3,42 \times 10^{-4} t - 8,4 \times 10^{-5} T^2 - 0,233 \times 10^{-6} Tt - 2,73 \times 10^{-6} t^2 \quad (49)$$

#### 4.2.2.3 Extrusão

MORO (2015) realizou a extrusão do bagaço e palha de cana-de-açúcar para diferentes velocidades de rotação e temperaturas de operação. No conjunto de dados obtido só a concentração de glicose foi medida durante a hidrólise, assim, apenas os conjunto de dados para esta espécie pode ser utilizado na estimação. A *Figura 42* mostra o ajuste obtido para os dados do pré-tratamento feito para uma temperatura de 32 °C e velocidade de rotação de 47 RPM. Como há um menor número de dados para serem usados na estimação, apenas dois parâmetros do modelo são suficientes para ajustá-los.

Tabela 17 – *Valores estimados dos parâmetros selecionados para os dados de glicose para uma extrusão realizada a 32 °C e 47 RPM.*

<b>Parâmetros</b>	<b>Valor dos Parâmetros</b>
$k_{2r} (L/(g h))$	$1,446 \times 10^1$
$K_{1G} (g/L)$	$1,108 \times 10^{-1}$

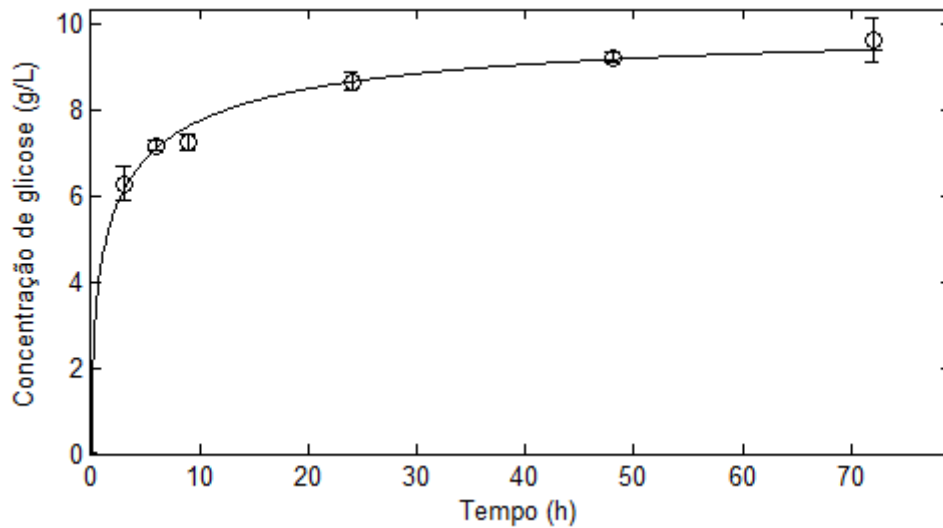


Figura 42 – Ajuste aos dados de glicose para uma extrusão realizada a 32 °C e 47 RPM.

As Equações 50 e 51 representam os ajustes obtidos para o conjunto de dados em todas as condições de operação consideradas. As curvas de nível para cada ajuste podem ser encontradas no APÊNDICE B.

$$k_{2r} = 50,57 + 0,202T - 1,038V_R - 4,69 \times 10^{-3}T^2 + 3,3 \times 10^{-3}TV_R + 4,36 \times 10^{-3}V_R^2 \quad (50)$$

$$K_{IG} = 2,32 \times 10^{-2} + 7,2 \times 10^{-3}T - 2,8 \times 10^{-3}V_R - 6,3 \times 10^{-5}T^2 - 1,68 \times 10^{-7}TV_R + 1,33 \times 10^{-5}V_R^2 \quad (51)$$

#### 4.2.3 Simulação de um processo de produção de etanol de segunda geração

Após a obtenção das relações entre parâmetros e condições operacionais para os diversos pré-tratamentos considerados, simulações em EMSO foram realizadas considerando uma pequena parte do processo de produção de etanol de segunda geração. Como discutido na Seção 3.7, foram simuladas apenas as etapas de pré-tratamento e hidrólise enzimática, sendo que o produto do reator era submetido a uma filtração e a torta resultante desta filtração era enviada a uma caldeira para geração de energia. Assim, foi considerada a energia extra necessária para realização do pré-tratamento, ou seja, a energia necessária para o pré-tratamento menos a energia obtida na caldeira pela queima dos restos de sólidos da hidrólise enzimática.

Como o reator considerado era um CSTR, diferentemente do que foi realizado experimentalmente, considerou-se que os valores das taxas de reação não iriam se alterar. As condições (composição do bagaço ou palha de cana-de-açúcar, carga de sólidos, carga de enzimas, entre outros) foram as mesmas das condições utilizadas na realização dos experimentos para cada pré-tratamento. As condições utilizadas nos equipamentos são apresentadas na *Tabela 18*.

Tabela 18 – *Condições utilizadas nos equipamentos para simulação do processo*

<b>Equipamento</b>	<b>Variável</b>	<b>Valor</b>
Reator Hidrólise Enzimática	Tempo de Residência	10 horas
Centrífuga	Fração mássica de sólidos na torta	0,9
	Fração de líquido no filtrado	0,99
Caldeira	Conversão de Celulose	0,85
	Conversão de Hemicelulose	0,85
	Conversão de Lignina	0,85

Nenhuma avaliação foi realizada em relação ao dimensionamento dos equipamentos. Foi considerada apenas a energia consumida em cada pré-tratamento e a energia liberada na queima do restante do material na caldeira. A energia consumida em cada pré-tratamento foi extrapolado de dados dos trabalhos de MORO (2015), BARROS (2016) e PANARO (2016). As relações utilizadas para os cálculos da energia necessária se encontram no APÊNDICE C.

A *Tabela 19* e a *Tabela 20* mostram os resultados para a otimização da simulação em dois casos. A primeira otimização busca apenas a maior concentração de glicose que pode ser produzida. A segunda otimização busca a menor razão entre energia extra necessária para a produção (energia necessária no pré-tratamento menos energia gerada na caldeira) e a quantidade de glicose produzida.

Para o primeiro caso, as condições ótimas para moagem são uma velocidade de rotação alta com partículas de diâmetro grande. Isto está de acordo com o encontrado

experimentalmente, onde as maiores conversões foram obtidas exatamente nestas condições. Já o tratamento hidrotérmico teria suas melhores condições em altas temperaturas com altos tempos de residência, o que também está de acordo com o que foi obtido experimentalmente. A extrusão, por sua vez, não tem sua condição ótima com base no que foi obtido experimentalmente, uma vez que as melhores condições encontradas para aumento do rendimento foram temperaturas mais altas com altas ou baixas velocidade de rotação.

Os resultados do segundo caso estão coerentes com o que foi visto experimentalmente. Para o moinho de bolas, velocidades de rotação baixas conseguem uma menor concentração de glicose do que em comparação a maiores velocidades, mas as concentrações obtidas de partículas menores nestas condições são maiores, assim, há um menor valor de energia necessária por grama de glicose produzida nas condições apresentadas. Os valores altos de energia são característicos de moinhos de bolas planetários. O tratamento hidrotérmico prevê condições ótimas de alta temperatura com baixos tempos de tratamento, o que está ligado ao fato de que um maior tempo de pré-tratamento necessitaria de mais energia. Experimentalmente, também foi concluído que temperaturas mais altas aumentariam o rendimento da hidrólise. A extrusão, por sua vez, teria um menor gasto energético em rotações mais baixas e temperaturas mais altas, o que não está de acordo com os resultados obtidos por MORO (2015), em que a menor razão energia/grama de glicose foi obtida para baixas temperaturas e altas rotações.

É importante lembrar que os valores do consumo energético usados neste trabalho são extrapolações de poucos dados encontrados.



Tabela 19 – *Condições de cada pré-tratamento para maximizar a concentração de glicose produzida*

<b>Pré-tratamento</b>	<b>Condições de operação</b>	<b>Concentração de glicose (g/l)</b>	<b>Razão energia extra/massa de glicose obtida (kJ/g)</b>
Moinho de bolas	300 RPM e 380 $\mu$ m	36,21	1.073,14
Hidrotérmico	188 °C e 40 min	22,39	188,83
Extrusão	20 RPM e 94 °C	20,3	274,38

Tabela 20 – *Condições de cada pré-tratamento para minimizar a energia extra necessária por massa de glicose produzida*

<b>Pré-tratamento</b>	<b>Condições de operação</b>	<b>Concentração de glicose (g/l)</b>	<b>Razão energia extra/massa de glicose obtida (kJ/g)</b>
Moinho de bolas	200 RPM e 225 $\mu$ m	25,45	564,58
Hidrotérmico	188 °C e 10 min	21,28	188,83
Extrusão	20 RPM e 90 °C	18,13	260,38

## 5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Avaliou-se o efeito do pré-tratamento do bagaço da cana-de-açúcar por moagem na hidrólise enzimática do material, alterando o teor de água, o diâmetro inicial das partículas e a velocidade de rotação em um moinho de bolas planetário. A moagem conseguiu alterar a estrutura física do material, sendo possível obter rendimentos na hidrólise na faixa de 20 a 95 %.

A alteração no teor de água inicial da moagem mostrou que o aumento nos rendimentos de hidrólise é proporcional à redução da proporção de água adicionada ao material. Para o material sem adição de água, rendimentos na hidrólise enzimática de 85% e 90%, para 24 h e 48h respectivamente, foram obtidos. Para proporções de massa de biomassa (g) /massa de água (g), na faixa de 1/0,5 até 1/2, não há muita diferença no rendimento final obtido. Assim, se o pré-tratamento fosse utilizado em um bagaço após a extração do caldo de cana-de-açúcar, cuja umidade presente é, geralmente, próxima de 50%, os rendimentos da hidrólise estariam entre 60 e 65%. Um mínimo no rendimento (30% para 24 h e 38% para 48 h de hidrólise) ocorre quando uma proporção de 1/5 é utilizada. Mas, ao utilizar-se uma proporção de 1/15, o rendimento aumenta novamente, atingindo 60% de rendimento com 48 h de hidrólise.

Como esperado, a velocidade de rotação do moinho afeta o resultado final da moagem, assim como o tamanho inicial das partículas. Para cada tamanho inicial de partículas há uma velocidade ótima a ser utilizada, na qual um maior rendimento de hidrólise é obtido. Partículas menores (com diâmetros iniciais de 300  $\mu\text{m}$ ) obtêm rendimentos maiores para velocidades de rotação próximas a 300 RPM, chegando a 80%. Já partículas médias (com diâmetros médios de 600  $\mu\text{m}$ ) apresentam rendimentos de 85% em velocidades próximas a 300 RPM. Por último, as partículas maiores (com diâmetros próximos a 1000  $\mu\text{m}$ ) proporcionam maiores rendimentos (de quase 95%) quando velocidades de 400 RPM são utilizadas. Sendo assim, é possível concluir que para cada diâmetro inicial de partículas há uma velocidade de rotação no qual um maior rendimento é obtido.

Na maioria dos casos foi possível notar que quanto maior a concentração de glicose formada, maior será a formação de xilose, indicando alteração da estrutura física do material durante a moagem, o que torna mais suscetível o ataque das enzimas presentes no meio de hidrólise.

Em todos os experimentos realizados foi observado que o maior erro experimental das amostras se encontra nos momentos iniciais da hidrólise enzimática, uma vez que, em condições normais, é no início da reação que os açúcares e seus intermediários são formados e/ou consumidos em maior velocidade, aumentando a sensibilidade das medidas e os respectivos erros.

Para os experimentos realizados, o rendimento de glicose em relação à celulose alcançado em 48 horas é ligeiramente maior que o obtido quando o experimento é realizado até 24 horas. A celobiose é formada e consumida rapidamente no início da reação, sendo difícil a sua detecção após 5 horas de hidrólise. O rápido consumo da celobiose se deve à grande proporção de  $\beta$ -glucosidase presente no coquetel enzimático *Power Cell*. Por sua vez, a concentração de xilose ainda aumenta após 48 horas de hidrólise, e, novamente, é possível notar que quanto maior a concentração de glicose produzida maior será a concentração de xilose, indicando a eficiência do pré-tratamento na alteração da estrutura de biomassa.

Experimentos realizados em um moinho horizontal de maior escala mostraram que o material do corpo de moagem influencia na eficiência da hidrólise enzimática. Ao utilizarem-se corpos de aço, o material sofre desgaste e o ferro permanece com a amostra após a moagem. Quando a amostra é colocada no meio de hidrólise com as enzimas, há uma interação com o ferro, inibindo as ações destas. O resultado é uma concentração muito baixa de glicose, menor que a concentração obtida na hidrólise do material sem pré-tratamento. Não só a glicose é afetada, a celobiose se forma em pequena quantidade e não é consumida, mesmo após 48 horas de reação. A formação de xilose também é afetada, com concentrações pequenas sendo formadas.

Uma separação magnética na amostra confirma que o ferro pode afetar a hidrólise enzimática, visto que, ao ser realizada, o mesmo comportamento dos produtos observado anteriormente é obtido, ou seja, as concentrações de glicose e xilose obtidas são maiores que a do material sem pré-tratamento e há uma geração e consumo de

celobiose. Uma variação na eficiência da separação magnética foi observada, uma vez que as amostras retiradas da hidrólise após separação mostraram uma grande variação das concentrações dos compostos formados.

A utilização de corpos de alumina para moagem ajuda a confirmar a interação do ferro com a enzima. Ao realizar a moagem com estes corpos, o comportamento esperado dos produtos foi mais uma vez obtido. O rendimento com os corpos de alumina foi o maior obtido nos experimentos em escala maior, alcançando um pouco mais de 40%. Este rendimento foi apenas obtido ao utilizar-se o dobro do tempo de moagem utilizado nos outros experimentos, condição necessária devido a menor densidade destes corpos. Mesmo assim, os experimentos mostraram que o pré-tratamento pelo moinho de bolas consegue chegar a rendimentos de hidrólise elevados quando comparado a outros pré-tratamentos físicos.

Com um modelo já desenvolvido em trabalhos da literatura, foi possível ajustar os dados experimentais e estimar os parâmetros do modelo. O modelo utilizado, mesmo simplificando os parâmetros de inibição, se ajustou bem à maioria dos dados experimentais.

Uma vez ajustado, foi possível tirar algumas conclusões sobre a dinâmica da hidrólise enzimática através do modelo. A rota de formação e consumo da celobiose se mostrou essencial para a formação da glicose, sendo que mais de 50% da glicose produzida é formada por esta rota. Com o modelo, foi possível comprovar que as taxas de formação ou consumo são maiores no início da hidrólise, o que justifica os maiores desvios padrões relativos nos pontos iniciais.

O algoritmo SELEST foi capaz de selecionar os parâmetros mais significativos, uma vez que os dados experimentais não são suficientes para estimar todos os parâmetros. Apenas seis parâmetros seriam necessários para ajustar o modelo aos dados experimentais de glicose, celobiose e xilose, sem perder qualidade no ajuste. Infelizmente, o ajuste não foi apropriado aos dados de celobiose obtidos em algumas condições experimentais, sendo assim, a estimação foi feita utilizando-se os dados de glicose e xilose. Para isso, apenas quatro parâmetros do modelo foram necessários.

Uma vez selecionados os parâmetros, foi também realizada a estimação para dados obtidos em trabalhos anteriores que utilizaram o pré-tratamento hidrotérmico e a

extrusão. Com os parâmetros estimados em todas as condições dos pré-tratamentos, realizou-se um ajuste dos valores dos parâmetros às condições operacionais.

Para finalizar, as simulações realizadas com os modelos matemáticos obtidos para os diversos pré-tratamentos mostraram que a energia necessária para o pré-tratamento com o moinho de bolas planetário é elevada, embora este pré-tratamento obtenha a maior concentração de glicose entre os pré-tratamentos estudados, além de não gerar efluentes que necessitam tratamento ou inibidores de fermentação. Para o pré-tratamento hidrotérmico, temperaturas elevadas no pré-tratamento obtêm concentrações mais elevadas de glicose, o que também foi visto na simulação. Tempos de pré-tratamento menores irão obter uma concentração menor de glicose, mas irão consumir menos energia que um tempo maior de pré-tratamento.

Para a extrusão, as simulações realizadas, considerando que as taxas de reação poderiam ser utilizadas em outros modos de operação da hidrólise (neste caso, um reator contínuo), obtiveram condições ótimas um pouco diferentes das obtidas experimentalmente em um reator batelada. A simulação indicava uma velocidade de rotação baixa com uma temperatura moderada como condição ótima, enquanto que, experimentalmente, as melhores condições obtidas foram velocidades de rotação baixas com temperaturas elevadas ou baixas.

Para trabalhos futuros, algumas sugestões são propostas:

- Realizar experimentos com esferas de outros tamanhos, para avaliar o efeito da razão entre o diâmetro das esferas e o tamanho das partículas;
- Realizar mais experimentos em moinhos de bolas de escala maior, para avaliar a viabilidade da aplicação do pré-tratamento em um processo de produção de etanol de segunda geração;
- Utilizar diferentes corpos de moagem, como, por exemplo, corpos cerâmicos, a fim de encontrar um material que melhore a eficiência do pré-tratamento sem afetar a etapa de hidrólise enzimática;
- Expandir o planejamento experimental, com o objetivo de encontrar condições para maior identificabilidade dos parâmetros, como a etapa de adsorção das enzimas;

- Adicionar mais etapas do processo de produção de etanol, para avaliar o efeito da produção do etanol de segunda geração no processo.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBOR, V. B., CICEK, N., SPARLING, R., BERLIN, A., LEVIN, D. B., 2011. "Biomass pretreatment: fundamentals toward application". *Biotechnology Advances*, v.29, pp. 675-685.

AGUILAR, R., RAMIREZ, J. A., GARROTE, G., VÁZQUEZ, M., 2002 "Kinetic Study of the Acid Hydrolysis of Sugar Cane Bagasse", *Journal of Food Engineering* v. 55, pp. 309-318.

ALBERSHEIM, P., DARVILL, A., ROBERTS, K., SEDEROFF, R., 2011, *Plant Cell Walls*. 1 ed. Garland Science, Taylor and Francis Group, LLC, New York, USA.

ALBERTON, K. P.F., ALBERTON, A. L., M, J. A., D., M. S., SECCHI, A. R., 2013. Accelerating the parameters identifiability procedure: set by set selection. *Computers & Chemical Engineering*, v. 55, p. 181-197.

ALVIRA, P., TOMÁS-PEJÓ E., BALLESTEROS M., NEGRO M. J., 2010. "Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review". *Bioresource Technology*, v.101, pp. 4851-4861.

AL-ZUHAIR, S., 2008. "The effect of crystallinity of cellulose on the rate of reducing sugars production by heterogeneous enzymatic hydrolysis". *Bioresource Technology*, v.99: pp. 4078-4085.

ANDERSEN, N., 2007. *Enzymatic hydrolysis of cellulose*. Experimental and modeling studies. Ph.D thesis, BioCentrum-DTU, Technical University of Denmark, Copenhagen, Denmark.

ANDRIĆ, P., MEYER, A. S., JENSEN, P. A., DAM-JOHANSEN, K., 2010b. "Reactor design for minimizing product inhibition during enzymatic lignocellulose hydrolysis: I. Significance and mechanism of cellobiose and glucose inhibition on cellulolytic enzymes". *Biotechnology Advances*, v.28, pp. 308-324

ANGARITA MARTINEZ, J. D., 2014. *Modelagem Cinética da Hidrólise Enzimática da Palha de Cana-de-Açúcar Pré-tratada Hidrotermicamente*, Dissertação de Mestrado. UFRJ/COPPE, Brasil.

ASK, M., OLOFSSON, K., DI FELICE, T., 2012. "Challenges in enzymatic hydrolysis and fermentation of pretreated *Arundo donax* revealed by a comparison between SHF and SSF". *Process Biochemistry*, v.47, pp. 1452-1459.

BALAT, M., BALAT, H., OZ, C., 2008, "Progress in Bioethanol Processing", *Progress in Energy and Combustion Science* v. 34, pp. 551-573.

BARROS, R. O., PAREDES, R. S., ENDO, T., BON, E. P. S., LEE, S. H., 2013, "Association of Wet Disk Milling and Ozonolysis as Pretreatment for Enzymatic Saccharification of Sugarcane Bagasse and Straw", *Bioresource Technology* v. 136, pp.288-294.

BARROS, R. O., 2016. *Otimização dos parâmetros do tratamento hidrotérmico visando a melhoria da hidrólise enzimática da palha de cana-de-açúcar e fermentação alcoólica*. Tese de Doutorado, IQ/UFRJ, Brasil

BANSAL, P., HALL, M., REALFF, M. J., LEE, J. H., BOMMARIUS, A. S., 2009."Modeling cellulase kinetics on lignocellulosic substrates". *Biotechnology Advances*, v.27, pp. 833-848.

BNDES – Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social, 2008, *Bioetanol de Cana-de-açúcar: Energia para o Desenvolvimento Sustentável*. BNDES e CGEE (Org). 1 ed. Rio de Janeiro.

BP, 2014. *BP Energy Outlook 2035*. British Petroleum, London, UK. Disponível em: <<http://www.bp.com/content/dam/bp/pdf/energy-economics/energy-outlook-2016/bp-energy-outlook-2016.pdf>>. Acesso em: 20 jan. 2016.

BROWN, R. F., AGBOGBO, F. K., HOLTZAPPLE, M. T., 2010. "Comparison of mechanistic models in the initial rate enzymatic hydrolysis of AFEX-treated wheat straw". *Biotechnology for Biofuels*, v.3:6

CÂMARA, M. M., 2012. *Modelagem e simulação da hidrólise de bagaço de cana prétratado com peróxido de hidrogênio em meio alcalino*. Dissertação de M.Sc., UEM, Maringá, Paraná (PR), Brasil.



CARDONA, C. A., QUINTERO, J. A., PAZ, I. C., 2010, "Production of Bioethanol from Sugarcane Bagasse: Status and Perspectives", *Bioresource Technology* v. 101, pp. 4754-4766.

CARVALHEIRO, F., DUARTE, L. C., GÍRIO, F. M., 2008, "Hemicellulose biorefineries: a review on biomass pretreatments", *Journal of Scientific & Industrial Research* v. 67, pp. 849-864.

CONAB, 2013, *Levantamentos de Safra*. CONAB, Brasília, Brasil. Disponível em: < <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253>>. Acesso em: 14 jan. 2017.

CUNHA, A. L., 1999, *Modelling and Optimization of Single Screw Extrusion*, Ph.D. dissertation, University of Minho, Braga, Portugal.

DA COSTA SOUSA, L.; CHUNDAWAT, S.P.S; BALAN, V.; DALE, B.E., 2009. Cradle-to-grave assessment of existing lignocellulose pretreatment technologies. *Current Opinion on Biotechnology*, 20: 339 - 347.

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

DIAS, M. O. S., 2011, *Desenvolvimento e otimização de processos de produção de etanol de primeira e segunda geração e eletricidade a partir da cana-de-açúcar*. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP.

FAN, L. T., LEE, Y-H., 1983. "Kinetic studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose: Derivation of a mechanistic kinetic model". *Biotechnology and Bioengineering*, v.25, pp. 2707-2733.

GHOSE, T. K., 1987. Measurement of cellulase activities. *Pure and Applied Chemistry*, v. 59, n. 2.

GRIGGS, A. J., STICKEL, J. J., LISCHESKE, J. J., 2011. "A mechanistic model for enzymatic saccharification of cellulose using continuous distribution kinetics I: Depolymerization by EGI and CBHI". *Biotechnology and Bioengineering*, v.109, pp. 665-675.

HAHN-HÄGERDAL, B., GALBE, M., GORWA-GRAUSLUND, M. F., LIDÉN, G., ZACCHI, G., 2006. "Bio-ethanol – the fuel of tomorrow from the residues of today". *Trends in Biotechnology*, v.24, pp. 549-556.

HIETALA, M., NIINIMAKI, J., OKASMAN, K., 2011, "The Use of Twin-screw Extrusion in Processing of Wood: the Effect of Processing Parameters and Pretreatment", *Bioresources* v. 6, pp. 4615-4625.

HJORTH, M., GRÄNITZ, K., ADAMSEN, A. S., MOLLER, H. B., 2011, "Extrusion as a Pretreatment to Increase Biogas Production", *Bioresource Technology* v. 102, pp. 4989–4994.

HO, N. W. Y., CHEN, Z., BRAINARD, A. P., SEDLAK, M., 1999. "Successful Design and Development of Genetically Engineered *Saccharomyces* Yeasts for Effective Cofermentation of Glucose and Xylose from Cellulosic Biomass to Fuel Etanol". In: *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology* v. 65, G.T. Tsao , Berlin: Springer – Verlag, pp. 163 – 192.

HODGE, D. B., KARIM, M. N., 2002. "Modeling and advanced control of recombinant *Zymomonas mobilis* fed-batch fermentation". *Biotechnology Progress*, v.18, pp. 572-579.

IEA, 2016. *IEA Energy Atlas*. Disponível em: <<http://energyatlas.iea.org/#!/tellmap/-1920537974>>. Acesso em: 17 jan. 2016.

KADAM, K. L., RYDHOLM, E. C., McMILLAN, J. D., 2004. "Development and validation of a kinetic model for enzymatic saccharification of lignocellulosic biomass". *Biotechnology Progress*, v.20, pp. 698-705

KARUNANITHY, C., MUTHUKUMARAPPAN, K., 2010a, "Influence of Extruder Temperature and Screw Speed on Pretreatment of Corn Stover while Varying Enzymes and Their Ratios", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 162, pp. 264-279.

KARUNANITHY, C., MUTHUKUMARAPPAN, K., 2011, "Influence of Extruder and Feedstock Variables on Torque Requirement During Pretreatment of Different Types of Biomass - A Response Surface Analysis", *Biosystems Engineering* v. 109, pp. 37-51.

KENNEDY, J., EBERHART, R., 1995, "Particle Swarm Optimization". *Proceedings of IEEE International Conference on Neural Networks*, IV, pp. 1942–1948

KOBAYASHI, N.; SAKAKURA, Y.; TANABE, Y.; ITAYA, Y., 2011. Effect of pulverization technique of woody biomass by a multiple tube vibration mill. *Journal of the Japan Institute of Energy*, v. 90, p. 1024-1030.

KRISTENSEN, J. B., FELBY, C., JØRGENSEN, H., 2009. "Yield-determining factors in high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose". *Biotechnology for Biofuels*, v.2:11.

KUMAR, D., MURTHY, G. S., 2013. "Stochastic molecular model of enzymatic hydrolysis of cellulose for ethanol production". *Biotechnology for Biofuels*.v.6:63.

LAGAERT, S., BELIËNB, T., VOLCKAERTA, G., 2009, "Plant cell walls: Protecting the barrier from degradation by microbial enzymes", *Seminars in Cell & Developmental Biology* v.20, pp. 1064–1073.

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

LEE, S., INOUE, S., TERAMOTO, Y., ENDO, T., 2010, "Enzymatic saccharification of woody biomass micro/nanofibrillated by continuous extrusion process II: Effect of hot-compressed water treatment", *Bioresource Technology* v. 101, pp. 9645–9649.

LEVINE, S. E., FOX, J. M., BLANCH, H. W., CLARK, D. S., 2010. "A mechanistic model of the enzymatic hydrolysis of cellulose". *Biotechnology and Bioengineering*, v.107, pp. 37-51.

LIAO, W., LIU, Y., WEN, Z., FREAR, C., CHEN, S., 2008. "Kinetic modeling of enzymatic hydrolysis of cellulose in differently pretreated fibers from dairy manure". *Biotechnology and Bioengineering*, v.101, pp. 441-451.

LIEW, W. H., HASSIM, M. H., D. K. S, “Review of evolution and sustainability assessment of biofuel production”, *6th International Conference on Process Systems Engineering*, 930–935, Kuala Lumpur, Malaysia, 25-27 June 2013.

LIN, Z., HUANG, H.; ZHANG, H.; ZHANG, L.; YAN, L.; CHEN, J., 2010. Ball Milling Pretreatment of Corn Stover for Enhancing the Efficiency of Enzymatic Hydrolysis, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 162, p. 1872–1880.

LYND, L. R., WEIMER, P. L., ZYL, W. H., PRETORIUS, I. S, 2002, “Microbial Celulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology”. *Microbiology Molecular Biology Reviews* v. 66, n.3, p.506-577.

MATHWORKS, 2016. *Equation Solving Algorithms*. Disponível em: <<https://www.mathworks.com/help/optim/ug/equation-solving-algorithms.html#brnpdsm>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

McMILLAN, J. D., “Pretreatment of lignocellulosic biomass”. In: Himmel, M.E., Baker, J.O., Overend, R.P. (eds), *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*, chapter 15, Washington, USA, American Chemical Society, 2004

MOOD, S. H., GOLFESHAN, A. H., TABATABAEI, M., JOUZANI, G. S., NAJAFI, G. H., GHOLAMI, M., ARDJMAND, M., 2013, ”Lignocellulosic Biomass to Bioethanol, a Comprehensive Review with a Focus on Pretreatment”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* v. 27, pp. 77–93.

MORO, M. K., 2015. *Pré-tratamento da biomassa de cana-de-açúcar por extrusão com dupla-rosca*. Dissertação de Mestrado, COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.

MOSIER, N., WYMAN, C., DALE, B., RICHARD, E., LEE, Y.Y., HOLTZAPPLE, M., LADISCH, M., 2005, “Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass”, *Bioresource Technology* v. 96, pp. 673–686.

MUTTURI, S., LIDEN, G., 2013. "Model-based estimation of optimal temperature profile during simultaneous saccharification and fermentation of *Arundo donax*". *Biotechnology and Bioengineering*

NYKO, D., GARCIA, J. L. F., MILANEZ, A. Y., DUNHAM, F. B., 2010. "A corrida tecnológica pelos biocombustíveis de segunda geração: uma perspectiva comparada". *Biocombustíveis-BNDES*, v.32, pp. 5-48.

PAN, X.; XIE, D.; GILKES, N.; GREGG, D. J.; SADDLER, J. N., 2005. Strategies to enhance the enzymatic hydrolysis of pretreated softwood with high residual lignin content. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 124, p. 1069–1079.

PANARO, M. S., 2016. *Impacto no pré-tratamento por moinho de bolas na produção de etanol de segunda geração*. Projeto de Final de Curso, Escola de Química/UFRJ, Brasil.

PEREIRA, Jr. N., COUTO, M. A. P. G., SANTA ANNA, L. M. M., 2008, "Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and the context of biorefinery". In: Pereira, Jr.N. (ed), *Series on Biotechnology*, 1 ed., Rio de Janeiro, Brazil, Brazilian National Library.

POPPE, M. K., CORTEZ, L. B., 2012, *Sustainability of sugarcane bioenergy*. 1 ed., Center for Strategic Studies and Management (CGEE), Brasília, Brazil, Corporate Financial Center.

RABELO, S. C., 2010, *Avaliação e Otimização de Pré-tratamentos e Hidrólise Enzimática do Bagaço de Cana-de-açúcar para a Produção de Etanol de Segunda Geração*. Tese de D.Sc., Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Bras

RABELO, S. C., CARRERE, H., MACIEL FILHO, R., COSTA, A. C., 2011, "Production of Bioethanol, Methane and Heat from Sugarcane Bagasse in a Biorefinery Concept", *Bioresource Technology* v. 102, pp. 7887–7895

RFA, 2014. *Falling walls & rising tides: 2014 Ethanol industry outlook*. Renewable Fuels Association. Washington, D.C. Disponível em: < <http://ethanolrfa.org/wp-content/uploads/2015/09/2014-Ethanol-Industry-Outlook1.pdf> >. Acesso em: 20 jan. 2016.

RFA, 2016. *Industry Statistics*. Renewable Fuels Association. Washington, D.C. Disponível em: < <http://ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/#1454098996479-8715d404-e546>>. Acesso em: 15 jan. 2016.

SÁNCHEZ, O. J.; CARDONA, C. A., 2008. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresource Technology*, v. 99(13), pp. 5270–5295.

SARKAR, N., GHOSH, S. K., BANNERJEE, S., AIKAT, K., 2012. "Bioethanol production from agricultural wastes: An overview". *Renewable Energy*, v.37, pp. 19-27.

SECCHI, A. R.; CARDOZO, N. S. M. ; ALMEIDA NETO, E. ; FINKLER, T., 2006 . An Algorithm for Automatic Selection and Estimation of Model Parameters. In: *International Symposium on Advanced Control of Chemical Processes*, 2006, Gramado. ADCHEM 2006, v. 2. p. 789-794.

SILVA, A. S., INOUE, H., ENDO, T., YANO, S., BON, E. P. S., 2010, “Milling Pretreatment of Sugarcane Bagasse and Straw for Enzymatic Hydrolysis and Ethanol Fermentation”, *Bioresource Technology* v. 101, pp. 7402-7409.

SILVA, A. S., TEIXEIRA, R. S., ENDO, T., BON, E. S., LEE, S., 2013, “Continuous Pretreatment of Sugarcane Bagasse at High Loading in an Ionic Liquid Using a Twinscrew Extruder”, *Green Chemistry* v. 15, pp. 1991-2001.

SIN, G., MEYER, A. S., GERNAEY, K. V., 2010. "Assessing reliability of cellulose hydrolysis models to support biofuel process design-Identifiability and uncertainty analysis". *Computers and Chemical Engineering*, v.34, pp. 1385-1392.

SLUITER, A.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D., 2015. *Determination of Extratives in Biomass: Laboratory Analytical Procedure*, NREL/TP-510-42619. <<http://www.nrel.gov/docs/gen/fy08/42619.pdf>>.

SLUITER, A., HAMES, B., RUIZ, R., SCARLATE, C., SLUITER, J. *Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass: Laboratory Analytical Procedure*, NREL/TP-510-42628, 2008. <<http://www.nrel.gov/docs/gen/fy13/42618.pdf>>

SOUZA, R. B. A., CRUZ, A. J. G., "Pré-tratamento, hidrólise enzimática e fermentação da palha de cana-de-açúcar". *XIX simpósio nacional de bioprocessos e X*

*simpósio de hidrólise enzimática de biomassas*, Foz de Iguaçu, PR, Brasil, 30 de julho-02 de agosto de 2013.

TAO, L., ADEN, A., ELANDER, R., 2011. "Process and technoeconomic analysis of leading pretreatment technologies for lignocellulosic ethanol production using switchgrass". *Bioresource Technology*, v.102, pp. 11105-11114.

UN, 2012. *Report of the United Nations conference on sustainable development*. In: Report A/CONF.216/16, United Nations, Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

UNICA, 2009. *Etanol e bioeletricidade: A cana-de-açúcar no futuro da matriz energética*. União da Indústria de Cana-de-açúcar, São Paulo (SP), Brasil.

VAZ JUNIOR, S., 2011, *Biorrefinarias: Cenários e Perspectivas*. 1 ed. Brasília, Embrapa Agroenergia.

YOO, J., 2011, *Technical and Economical Assessment of Thermo-mechanical Extrusion Pretreatment for Cellulosic Ethanol Production*. D.Sc thesis, Department of Grain Science and Industry, College of Agriculture, Kansas State University, Manhattan, Kansas.

ZHANG, Y-H. P., LYND, L. R., 2004. "Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: Noncomplexed cellulase systems". *Biotechnology and Bioengineering*, v.88, pp. 797-824.

ZHENG, Y., 2007. *Kinetic modeling of enzymatic saccharification and particleboard characteristics of saline biomass*. Ph.D thesis, University of California Davis, Davis (CA), USA.

## APÊNDICE A - Dados experimentais obtidos e parâmetros estimados

- Velocidade de rotação 400 RPM e diâmetro médio inicial 1500  $\mu\text{m}$

- Dados Experimentais:

Tempo (h)	Média (g/l)			Desvio padrão (g/l)		
	Glicose	Celobiose	Xilose	Glicose	Celobiose	Xilose
0	0,8948	1,1971	0	0,1820	0,1955	0
0,5	6,4915	6,32855	0,5928	0,3781	0,1055	0,0280
1	10,52345	7,36345	0,92845	0,4509	0,0952	0,0815
1,5	14,2268	7,48585	1,3812	0,0306	0,0685	0,0434
2,5	20,61265	6,8841	2,2149	0,6111	0,0883	0,2001
24	39,62755	0,02255	8,5928	0,0585	0,0212	0,0240
48	40,2983	0,0224	11,86295	0,0525	0,0524	0,0284

- Parâmetros Estimados:

Seis Parâmetros		Quatro Parâmetros	
Parâmetros	Valor dos Parâmetros	Parâmetros	Valor dos Parâmetros
$k_{1r} (L/(g h))$	9,232	$K_{1X} (g/L)$	0,000211
$K_{1X} (g/L)$	0,042	$k_{2r} (L/(g h))$	123508,8
$K_{3M} (g/L)$	1,102	$k_{4r} (L/(g h))$	7688,469
$K_{3G} (g/L)$	16,67	$K_{IG} (g/L)$	$3,725 \cdot 10^{-5}$
$k_{4r} (L/(g h))$	1,289		
$K_{IG2} (g/L)$	0,115		



- Velocidade de rotação 400 RPM e diâmetro médio inicial 925  $\mu\text{m}$

- Dados Experimentais:

Tempo (h)	Média (g/l)			Desvio padrão (g/l)		
	Glicose	Celobiose	Xilose	Glicose	Celobiose	Xilose
0	1,0092	0,8998	0	0,0257	0,0151	0
0,5	6,4083	6,4419	0,4794	0,0779	0,1058	0,0448
1	10,8583	7,6826	0,9512	0,2378	0,0059	0,0801
1,5	15,2033	7,8311	1,3870	0,5172	0,0408	0,1622
2,5	21,0582	7,0435	2,3174	0,3577	0,0632	0,1755
24	40,7527	0,0228	8,8807	0,0630	0,0424	0,0584
48	41,8137	0,0226	12,2680	0,0366	0,0707	0,0529

- Parâmetros Estimados:

Seis Parâmetros		Quatro Parâmetros	
Parâmetros	Valor dos Parâmetros	Parâmetros	Valor dos Parâmetros
$k_{1r} (L/(gh))$	16,3949	$K_{1X} (g/L)$	$2,559 \cdot 10^1$
$K_{1X} (g/L)$	0,0470	$k_{2r} (L/(gh))$	$5,140 \cdot 10^5$
$K_{3M} (g/L)$	1,9680	$k_{4r} (L/(gh))$	$2,241 \cdot 10^4$
$K_{3G} (g/L)$	11,4193	$K_{IG} (g/L)$	$1,402 \cdot 10^5$
$k_{4r} (L/(gh))$	1,3569		
$K_{IG2} (g/L)$	0,0669		

- Velocidade de rotação 300 RPM e diâmetro médio inicial 675  $\mu\text{m}$

- Dados Experimentais:

Tempo (h)	Média (g/l)			Desvio padrão (g/l)		
	Glicose	Celobiose	Xilose	Glicose	Celobiose	Xilose
0	1,4484	2,6109	0	0,02475	0,03988	0
1	11,9003	8,2229	0,6713	0,56618	0,00474	0,11179
1,5	15,3467	7,8486	1,7331	0,67819	0,03274	0,08280
2	20,0794	2,6963	3,0628	0,72804	0,07000	0,21270
3	29,0797	0,0220	4,8274	0,81756	0,03828	0,23568
24	39,2206	0,0227	7,9410	0,14807	0,02828	0,27506
48	39,6354	0,0225	11,4004	0,22026	0,04950	0,33687

- Parâmetros Estimados:

Seis Parâmetros		Quatro Parâmetros	
Parâmetros	Valor dos Parâmetros	Parâmetros	Valor dos Parâmetros
$k_{1r} (L/(g h))$	11,629	$K_{1X} (g/L)$	$6,2646 \cdot 10^{-5}$
$K_{1X} (g/L)$	0,03714	$k_{2r} (L/(g h))$	$1,0543 \cdot 10^5$
$K_{3M} (g/L)$	4,06351	$k_{4r} (L/(g h))$	$4,1080 \cdot 10^3$
$K_{3G} (g/L)$	$1,20886 \cdot 10^{14}$	$K_{IG} (g/L)$	$7,6202 \cdot 10^{-5}$
$k_{4r} (L/(g h))$	1,38947		
$K_{IG2} (g/L)$	0,488064		

- Velocidade de rotação 200 RPM e diâmetro médio inicial 215  $\mu\text{m}$

- Dados Experimentais:

Tempo (h)	Média (g/l)			Desvio padrão (g/l)		
	Glicose	Celobiose	Xilose	Glicose	Celobiose	Xilose
0	0,3457	0,1496	0	0,0508	0,0158	0
1	5,6114	0,9060	0,2355	0,0849	0,0543	0,1212
1,5	7,0385	0,6170	0,1952	0,4728	0,0221	0,1466
2	8,3342	0,1676	0,5129	0,7285	0,0174	0,0589
3	9,0311	0,0220	0,9685	0,3593	0,0141	0,0854
24	13,5643	0,0224	3,0196	0,1665	0,0141	0,0616
48	14,9593	0,0225	4,5168	0,0508	0,0158	0,1000

- Parâmetros Estimados:

Seis Parâmetros		Quatro Parâmetros	
Parâmetros	Valor dos Parâmetros	Parâmetros	Valor dos Parâmetros
$k_{1r} (L/(gh))$	1,8326	$K_{1x} (g/L)$	0,07199
$K_{1x} (g/L)$	$1,0868 \cdot 10^{-3}$	$k_{2r} (L/(gh))$	6,14655
$K_{3M} (g/L)$	$0,42298 \cdot 10^{-1}$	$k_{4r} (L/(gh))$	0,63414
$K_{3G} (g/L)$	$3,0378 \cdot 10^7$	$K_{IG} (g/L)$	0,04510
$k_{4r} (L/(gh))$	4,0643		
$K_{IG2} (g/L)$	$2,8064 \cdot 10^3$		

- Velocidade de rotação 300 RPM e diâmetro médio inicial 925  $\mu\text{m}$

- Dados Experimentais:

Tempo (h)	Média (g/l)			Desvio padrão (g/l)		
	Glicose	Celobiose	Xilose	Glicose	Celobiose	Xilose
0	2,0410	3,0615	0,1541	0,0415	0,0636	0,0033
1	11,4768	7,1107	1,0798	0,3895	0,1381	0,0395
1,5	17,1855	5,8626	1,9646	0,4321	0,3268	0,0570
2	19,6629	3,2369	3,2426	0,5448	0,5865	0,0986
3	22,6600	0,2927	3,8300	0,1983	0,0314	0,0556
24	38,0531	0,3608	7,7097	0,0805	0,0117	0,1348
48	39,1894	0,2917	10,4554	0,0415	0,0636	0,0033

- Parâmetros Estimados:

Seis Parâmetros		Quatro Parâmetros	
Parâmetros	Valor dos Parâmetros	Parâmetros	Valor dos Parâmetros
$k_{1r} (L/(gh))$	13,109	$K_{1X} (g/L)$	$2,8071 \cdot 10^{-6}$
$K_{1X} (g/L)$	0,020325	$k_{2r} (L/(gh))$	$8,6183 \cdot 10^5$
$K_{3M} (g/L)$	2,5640	$k_{4r} (L/(gh))$	$3,1119 \cdot 10^4$
$K_{3G} (g/L)$	$3,6890 \cdot 10^7$	$K_{IG} (g/L)$	$1,2728 \cdot 10^{-5}$
$k_{4r} (L/(gh))$	1,7789		
$K_{IG2} (g/L)$	0,22989		

- Velocidade de rotação 350 RPM e diâmetro médio inicial 925  $\mu\text{m}$

- Dados Experimentais:

Tempo (h)	Média (g/l)			Desvio padrão (g/l)		
	Glicose	Celobiose	Xilose	Glicose	Celobiose	Xilose
0	2,1694	3,0659	0,1951	0,2083	0,0643	0,0042
1	12,6495	7,1732	1,2976	0,5571	0,1329	0,0652
1,5	18,7968	5,4685	2,2958	0,8952	0,2293	0,1404
2	21,2559	3,2232	3,5665	0,6397	0,0295	0,0588
3	24,2541	0,2220	4,2015	0,6339	0,0116	0,2101
24	39,0055	0,3641	8,5233	0,0894	0,0187	0,2550
48	39,7741	0,2903	11,4881	0,0461	0,0080	0,3531

- Parâmetros Estimados:

Seis Parâmetros		Quatro Parâmetros	
Parâmetros	Valor dos Parâmetros	Parâmetros	Valor dos Parâmetros
$k_{1r} (L/(gh))$	23,847	$K_{1X} (g/L)$	$1,2167 \cdot 10^{-6}$
$K_{1X} (g/L)$	0,018115	$k_{2r} (L/(gh))$	$2,8892 \cdot 10^6$
$K_{3M} (g/L)$	4,2398	$k_{4r} (L/(gh))$	$8,6267 \cdot 10^4$
$K_{3G} (g/L)$	$3,7820 \cdot 10^9$	$K_{IG} (g/L)$	$5,7975 \cdot 10^{-6}$
$k_{4r} (L/(gh))$	2,5911		
$K_{IG2} (g/L)$	0,14390		

- Velocidade de rotação 350 RPM e diâmetro médio inicial 215  $\mu\text{m}$

- Dados Experimentais:

Tempo (h)	Média (g/l)			Desvio padrão (g/l)		
	Glicose	Celobiose	Xilose	Glicose	Celobiose	Xilose
0	2,5296	3,4423	0,1125	0,2116	0,2015	0,0170
1	12,4833	6,3789	0,9794	0,9021	0,1196	0,1120
1,5	18,0439	4,3471	1,6368	1,1306	0,5201	0,0670
2	20,1438	2,4637	2,5268	1,2620	0,5542	0,1812
2,5	22,6723	0,4433	2,6807	0,5593	0,0054	0,0706
24	33,2861	0,0220	6,1070	0,5735	0,0006	0,4303
48	33,6149	0,0226	8,0750	0,2116	0,2015	0,0170

- Parâmetros Estimados:

Seis Parâmetros		Quatro Parâmetros	
Parâmetros	Valor dos Parâmetros	Parâmetros	Valor dos Parâmetros
$k_{1r} (L/(gh))$	$2,5190 \cdot 10^4$	$K_{1X} (g/L)$	$6,9900 \cdot 10^{-3}$
$K_{1X} (g/L)$	$5,2652 \cdot 10^{-6}$	$k_{2r} (L/(gh))$	74,475
$K_{3M} (g/L)$	3,9248	$k_{4r} (L/(gh))$	3,1159
$K_{3G} (g/L)$	$1,2110 \cdot 10^9$	$K_{IG} (g/L)$	0,41767
$k_{4r} (L/(gh))$	$4,3371 \cdot 10^3$		
$K_{IG2} (g/L)$	$1,2978 \cdot 10^3$		

- Velocidade de rotação 300 RPM e diâmetro médio inicial 375  $\mu\text{m}$

- Dados Experimentais:

Tempo (h)	Média (g/l)			Desvio padrão (g/l)		
	Glicose	Celobiose	Xilose	Glicose	Celobiose	Xilose
0	2,19475	3,11295	0,11375	0,0233	0,1097	0,0032
1	11,5356	6,35665	1,01145	0,2778	0,1517	0,0435
1,5	17,01375	4,5983	1,7809	0,1808	0,0202	0,0665
2	19,1772	2,54555	2,79725	0,3837	0,3895	0,1244
2,5	21,41555	0,2992	3,13745	0,3576	0,0150	0,0937
24	33,7396	0,32515	6,79495	0,2220	0,0155	0,1763
48	34,24975	0,02235	9,06395	0,0863	0,0005	0,2162

- Parâmetros Estimados:

Seis Parâmetros		Quatro Parâmetros	
Parâmetros	Valor dos Parâmetros	Parâmetros	Valor dos Parâmetros
$k_{1r} (L/(gh))$	$2,8823 \cdot 10^3$	$K_{1X} (g/L)$	$6,9035 \cdot 10^{-3}$
$K_{1X} (g/L)$	$6,9446 \cdot 10^{-5}$	$k_{2r} (L/(gh))$	90,504
$K_{3M} (g/L)$	6,4852	$k_{4r} (L/(gh))$	4,8362
$K_{3G} (g/L)$	$5,0138 \cdot 10^3$	$K_{IG} (g/L)$	0,14172
$k_{4r} (L/(gh))$	$3,6064 \cdot 10^2$		
$K_{IG2} (g/L)$	$1,2967 \cdot 10^9$		

- Velocidade de rotação 200 RPM e diâmetro médio inicial 375  $\mu\text{m}$

- Dados Experimentais:

Tempo (h)	Média (g/l)			Desvio padrão (g/l)		
	Glicose	Celobiose	Xilose	Glicose	Celobiose	Xilose
0	0,6490	0,0467	0,0419	0,2684	0,0229	0,0094
1	3,6059	0,3189	0,1774	0,2105	0,0159	0,0071
1,5	4,6195	0,2904	0,3448	0,2259	0,0061	0,0057
2	4,9399	0,1835	0,3441	0,1798	0,0829	0,0013
2,5	5,0814	0,0905	0,4420	0,4487	0,0085	0,0045
24	9,5100	0,0248	2,4049	0,1471	0,0004	0,0231
48	10,6522	0,0221	3,3835	0,2684	0,0229	0,0094

- Parâmetros Estimados:

Seis Parâmetros		Quatro Parâmetros	
Parâmetros	Valor dos Parâmetros	Parâmetros	Valor dos Parâmetros
$k_{1r} (L/(gh))$	12,876	$K_{1X} (g/L)$	$1,5546 \cdot 10^{-2}$
$K_{1X} (g/L)$	$2,1682 \cdot 10^2$	$k_{2r} (L/(gh))$	3,9692
$K_{3M} (g/L)$	4,1096	$k_{4r} (L/(gh))$	$0,63061 \cdot 10^{-1}$
$K_{3G} (g/L)$	$4,9337 \cdot 10^7$	$K_{IG} (g/L)$	$2,7324 \cdot 10^{-2}$
$k_{4r} (L/(gh))$	11,427		
$K_{IG2} (g/L)$	$1,6237 \cdot 10^3$		



- Velocidade de rotação 250 RPM e diâmetro médio inicial 925  $\mu\text{m}$

- Dados Experimentais:

Tempo (h)	Média (g/l)			Desvio padrão (g/l)		
	Glicose	Celobiose	Xilose	Glicose	Celobiose	Xilose
0	0,5452	0,0638	0,0474	0,1657	0,0207	0,0003
1	3,5308	0,1340	0,2211	0,0638	0,0901	0,0103
1,5	4,1686	0,1110	0,3940	0,0110	0,0075	0,0349
2	4,4580	0,1569	0,3621	0,0055	0,0225	0,0156
2,5	5,0133	0,1180	0,4522	0,1093	0,0043	0,0467
24	8,6390	0,0228	2,4064	0,0074	0,0003	0,0581
48	9,4905	0,0223	3,2511	0,1238	0,0003	0,1308

- Parâmetros Estimados:

Seis Parâmetros		Quatro Parâmetros	
Parâmetros	Valor dos Parâmetros	Parâmetros	Valor dos Parâmetros
$k_{1r} (L/(gh))$	49,363	$K_{1X} (g/L)$	$8,8512 \cdot 10^{-3}$
$K_{1X} (g/L)$	$6,9226 \cdot 10^{-2}$	$k_{2r} (L/(gh))$	3,3088
$K_{3M} (g/L)$	4,7921	$k_{4r} (L/(gh))$	0,52573
$K_{3G} (g/L)$	$2,0375 \cdot 10^6$	$K_{IG} (g/L)$	$4,5367 \cdot 10^{-2}$
$k_{4r} (L/(gh))$	5,2625		
$K_{IG2} (g/L)$	$6,8693 \cdot 10^{-2}$		

- Velocidade de rotação 250 RPM e diâmetro médio inicial 215  $\mu\text{m}$

- Dados Experimentais:

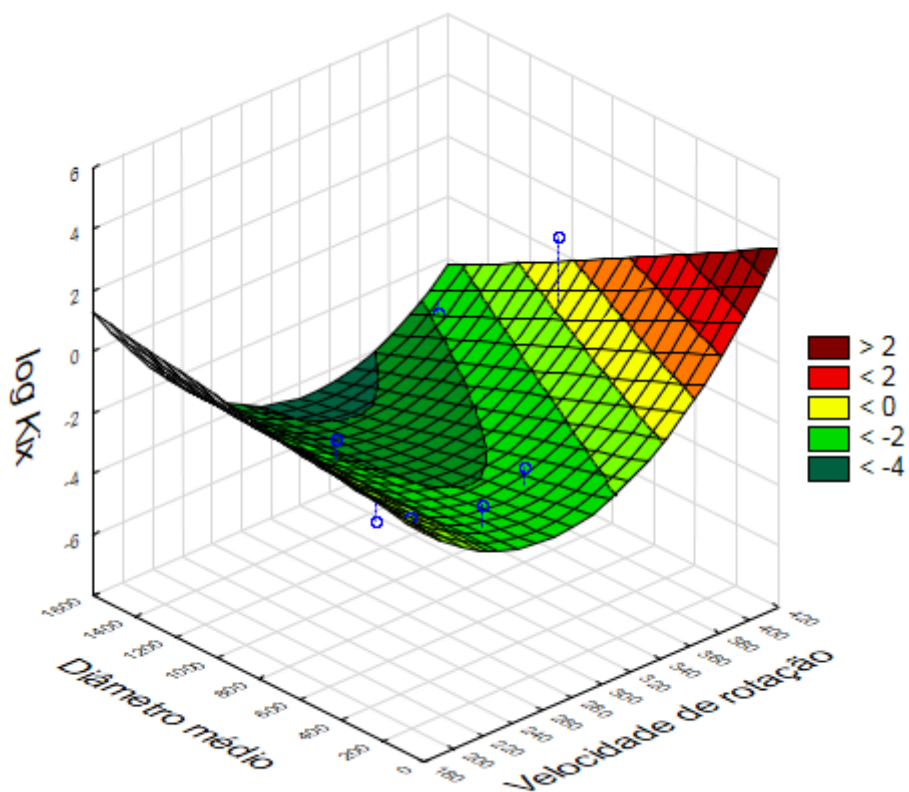
Tempo (h)	Média (g/l)			Desvio padrão (g/l)		
	Glicose	Celobiose	Xilose	Glicose	Celobiose	Xilose
0	1,4294	0,4594	0,0434	0,2418	0,2502	0,0055
1	9,5878	0,6269	0,6736	0,1858	0,2165	0,0246
1,5	10,4661	0,9886	0,6204	0,2260	0,1529	0,0049
2	11,6852	0,3429	0,7966	0,2823	0,2570	0,0096
3	13,0088	0,0758	1,1053	0,2198	0,0220	0,0209
24	17,7276	0,0275	3,6606	0,8657	0,0064	0,0738
48	18,3940	0,0453	4,9275	0,5418	0,0035	0,1686

- Parâmetros Estimados:

Seis Parâmetros		Quatro Parâmetros	
Parâmetros	Valor dos Parâmetros	Parâmetros	Valor dos Parâmetros
$k_{1r} (L/(gh))$	1,8295	$K_{1X} (g/L)$	0,016558
$K_{1X} (g/L)$	$1,6247 \cdot 10^{-3}$	$k_{2r} (L/(gh))$	7,7312
$K_{3M} (g/L)$	0,32536	$k_{4r} (L/(gh))$	0,49568
$K_{3G} (g/L)$	$1,5400 \cdot 10^{10}$	$K_{IG} (g/L)$	0,41875
$k_{4r} (L/(gh))$	3,8434		
$K_{IG2} (g/L)$	$1,0811 \cdot 10^7$		

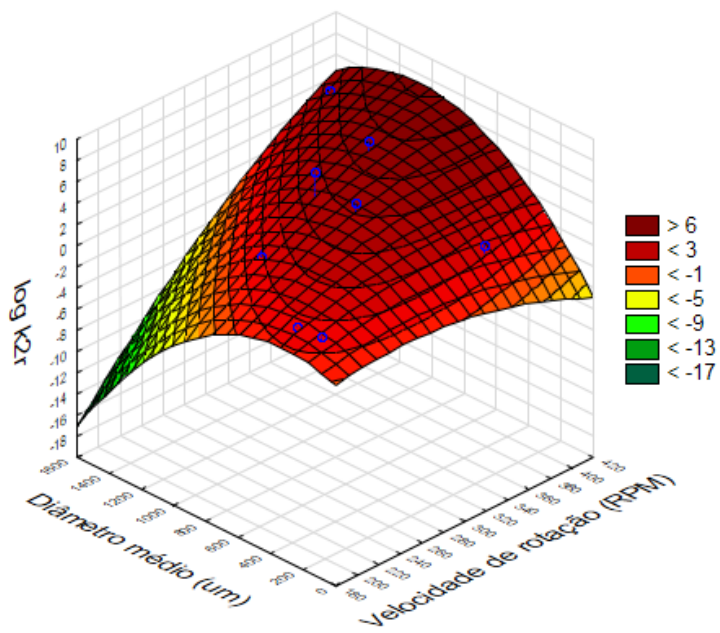
## APÊNDICE B - Curvas de nível dos ajustes dos parâmetros com as condições de operação

- Moinho de Bolas



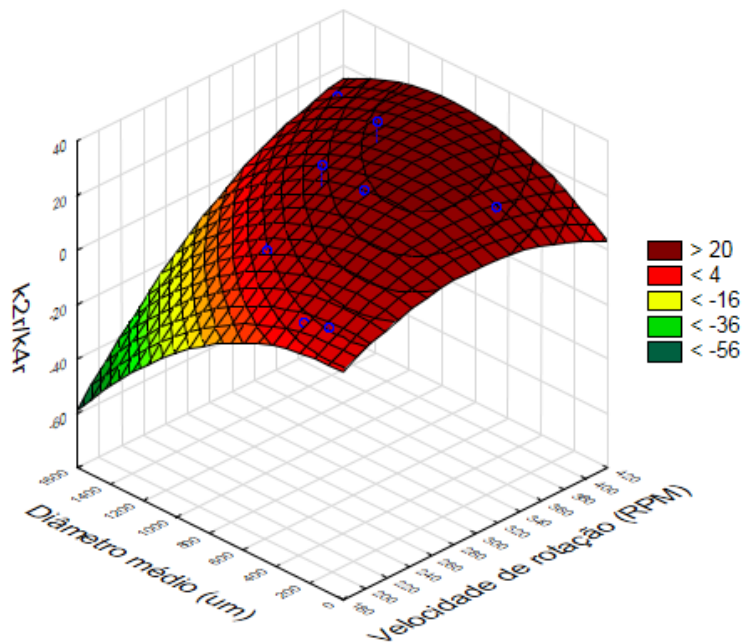
$$R^2 = 0,7674$$

Figura 43 – Superfície do ajuste de  $\log(K_{IX})$



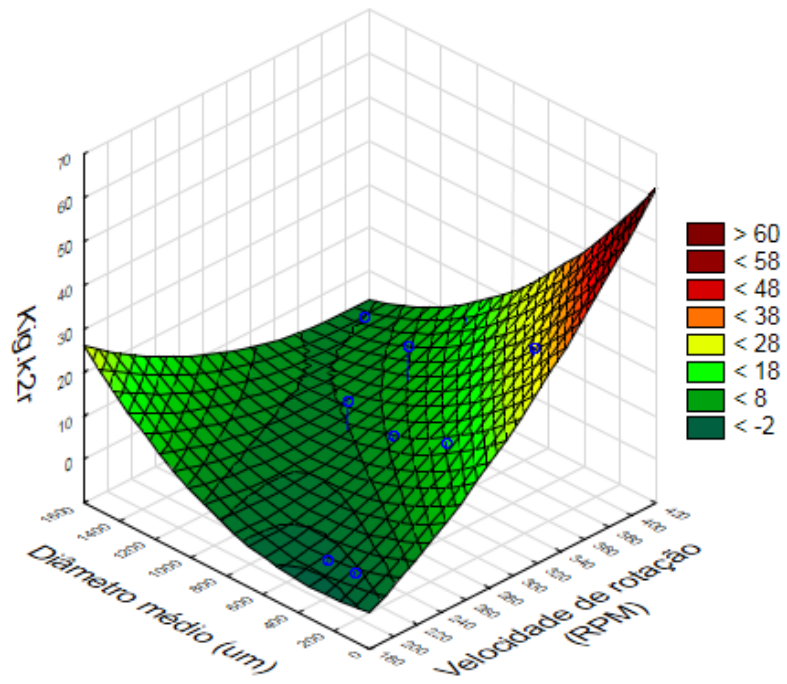
$$R^2 = 0,9025$$

Figura 44 – Superfície do ajuste de  $\log(k_{2r})$



$$R^2 = 0,8642$$

Figura 45 – Superfície do ajuste de  $k_{2r}/k_{4r}$



$$R^2 = 0,8686$$

Figura 46 – Superfície do ajuste de  $K_{1G} \cdot k_{2r}$

- Pré-tratamento hidrotérmico

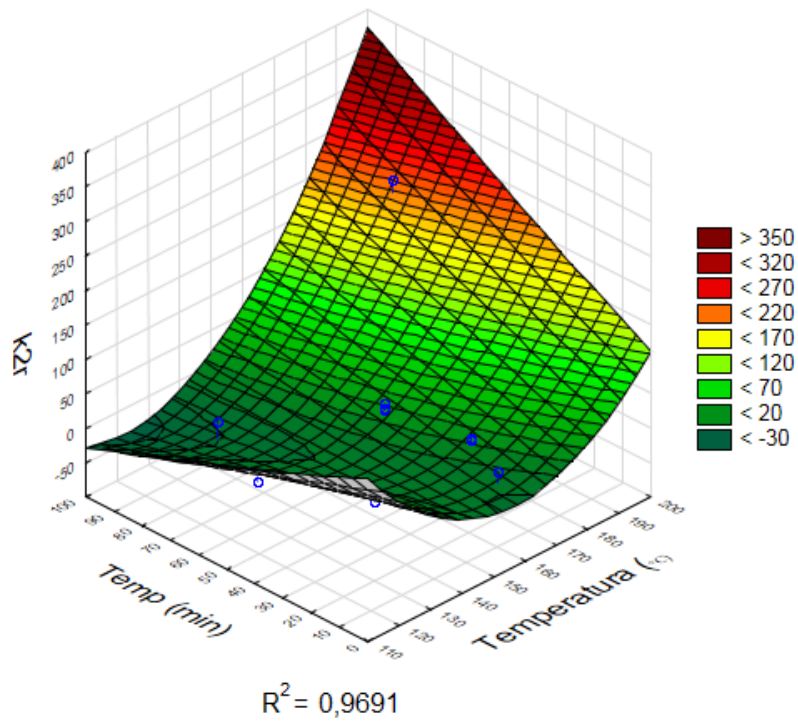


Figura 47 - Superfície do ajuste de  $k_{2r}$

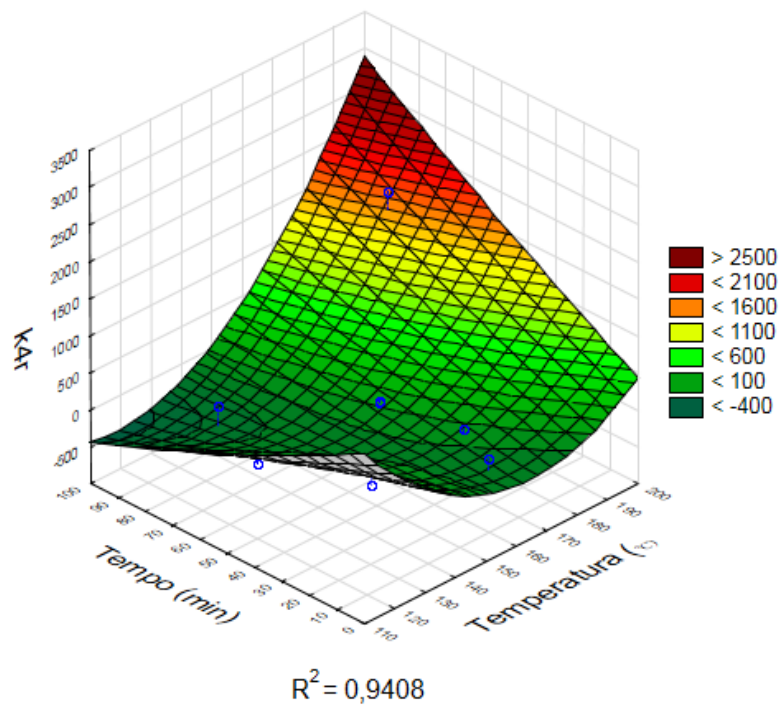


Figura 48- Superfície do ajuste de  $k_{4r}$

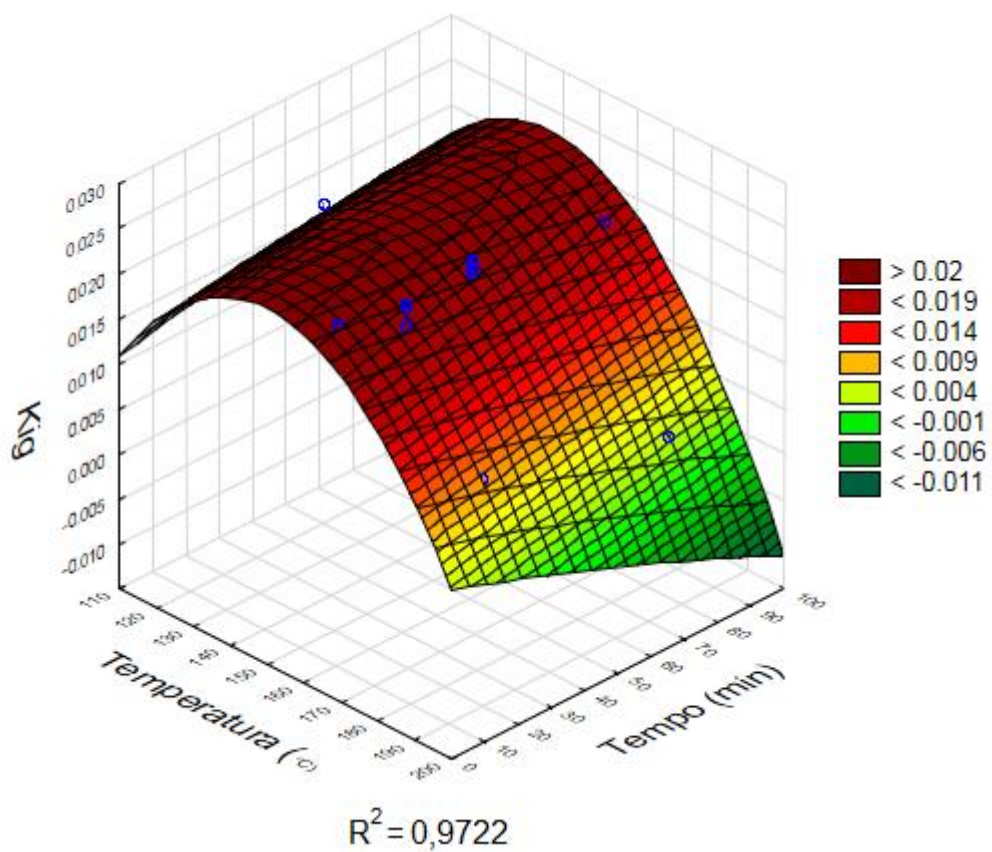
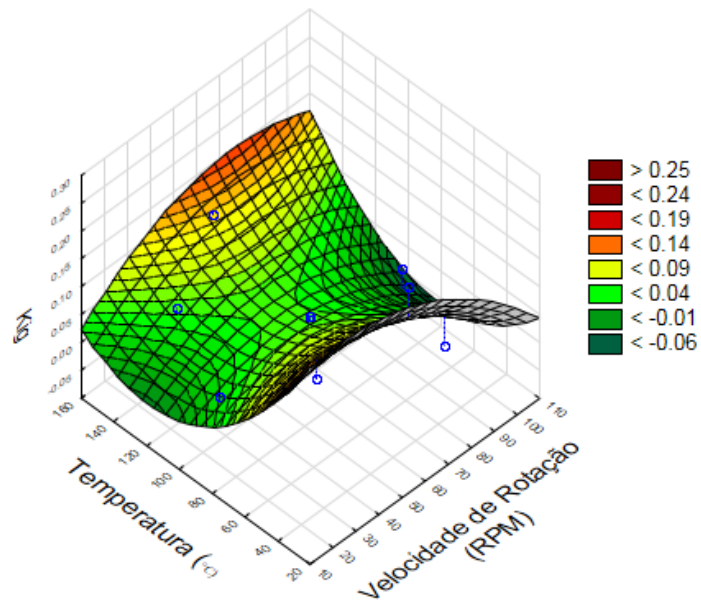


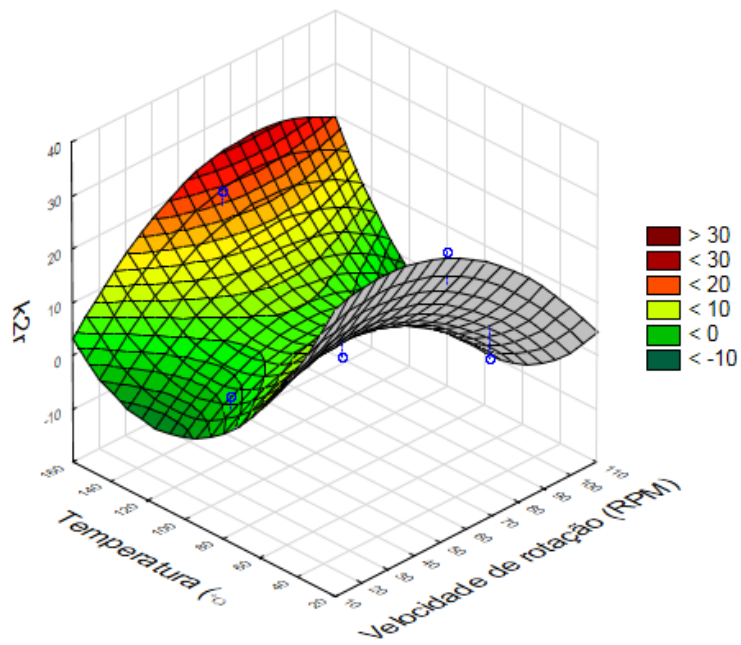
Figura 49- Superfície do ajuste de  $K_{IG}$

- Extrusão:



$$R^2 = 0,9107$$

Figura 50- Superfície do ajuste de  $K_{1G}$



$$R^2 = 0,8937$$

Figura 51- Superfície do ajuste de  $k_{2r}$



## APÊNDICE C - Cálculo do custo energético

- Moinho de bolas planetário:

No trabalho de PANARO (2014), o gasto energético por grama de biomassa tratada no moinho foi estimado em 392 kJ/g de biomassa, para uma moagem realizada por 3 horas em 400 RPM. Para este trabalho considerou-se um crescimento exponencial do consumo em relação à velocidade, como mostrado na Equação 52, sem haver mudanças no consumo para os diferentes diâmetros iniciais de partículas.

$$\text{Consumo}(kJ / g) = 392 \frac{V_R (RPM)}{400} e^{\left(\frac{V_R (RPM) - 400}{400}\right)} \quad (52)$$

- Pré-tratamento hidrotérmico:

No trabalho de BARROS (2016), o consumo energético foi calculado em duas condições operacionais diferentes. Este trabalho considerou o gasto energético diretamente proporcional ao tempo de pré-tratamento e a temperatura utilizada, como mostrado na Equação 53.

$$\text{Consumo}(kJ / g) = 2214 + 18,6947[t(\text{min}) - 10] + 5,5[T(^{\circ}C) - 186] \quad (53)$$

- Extrusão:

No trabalho de MORO (2015), o consumo energético foi calculado para quatro condições operacionais diferentes. Neste trabalho foi utilizado o ajuste originado a partir destas condições operacionais, como mostrado na Equação 54.

$$\text{Consumo}(kJ / g) = 103 + 0,2069T(^{\circ}C) - 0,9764V_R (RPM) \quad (54)$$