

CEETPS - CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA

PAULA SOUZA

ETEC TRAJANO CAMARGO

Ensino Médio Integrado ao Técnico em Química

Ana Carolina Sousa dos Reis

Isabela Diomedesi Neves

Jullya Beatriz Pires de Camargo

Orientadores: Prof^a Dr^a. Margarete Galzerano Francescato

Prof^a. Dr^a. Gislaine Aparecida Barana Delbianco

**BIOETANOL: Estudo do Potencial do Subproduto Braspolpa® como
Materia-prima na Síntese do Etanol de Segunda Geração (E2G).**

LIMEIRA - SP

2025

Ana Carolina Sousa dos Reis

Isabela Diomedesi Neves

Jullya Beatriz Pires de Camargo

BIOETANOL: Estudo do Potencial do Subproduto Braspolpa® como Matéria-prima na Síntese do Etanol de Segunda Geração (E2G).

Trabalho apresentado na disciplina Planejamento e Desenvolvimento de Trabalho de Conclusão de Curso (PDTCC) do curso técnico em química da ETEC Trajano Camargo orientado pelos professoras Gislaine Aparecida Barana Delbianco e Margarete Galzerano Francescato como requisito parcial para conclusão da disciplina Planejamento de Trabalho de Conclusão de Curso.

LIMEIRA – SP

2025

DEDICATÓRIA

Para cada obstáculo que tentou nos deter - e para a coragem que, unida ao poder da ciência, transformou nossas quedas em caminho e nossos medos em descoberta.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradecemos a Deus, por nos mostrar que, com coragem e perseverança, caminhos antes inimagináveis podem ser traçados e conquistados.

Aos nossos familiares, expressamos profundo reconhecimento pelo apoio constante, pela força ofertada em cada etapa dessa trajetória e por acreditarem em nosso potencial mesmo diante das dificuldades.

Manifestamos imensa gratidão à Prof.^a Dra. Gislaine Delbianco, cuja dedicação acadêmica e compromisso tornaram possível o desenvolvimento deste projeto. Mesmo diante de inúmeros desafios, sua orientação e apoio foram indispensáveis, especialmente durante nossa participação na 13^a Mostra de Ciências e Tecnologia do Instituto 3M.

Agradecemos também à Prof.^a Me. Jéssica Macedo, por sua disponibilidade e contribuição mesmo não estando mais vinculada à instituição, e à Prof.^a Dra. Margarete Galzerano, por toda a disposição, incentivo e suporte oferecidos ao longo da pesquisa. Ao Prof. Dr. Sérgio Delbianco, registramos nossa gratidão pelas informações compartilhadas, pela atenção e pelo empenho dedicado.

À empresa Tate & Lyle — em especial a Eliabe Gonçalves e José Butzge — agradecemos pela parceria, confiança e pelas doações que viabilizaram parte fundamental do trabalho.

À Etec Trajano Camargo, agradecemos pela formação técnica de excelência e pela oportunidade de vivenciar uma profissionalização que transformou nosso percurso acadêmico.

Estendemos nosso agradecimento à 13^a Mostra de Ciências e Tecnologia, que reconheceu nosso esforço ao nos conceder o 3º lugar na área de Ciências Exatas e da Terra, reafirmando que a ciência, apesar de desafiadora, nos aproxima do extraordinário.

Aos nossos amigos Marcos Lange, Any Freire, Caroline Silva e Fabrício Sapatin, agradecemos a toda a torcida, companhia, incentivo e alegria que tornaram o processo mais leve e significativo.

E, por fim, agradecemos a nós mesmas. Pela confiança mútua, pela resiliência nos momentos difíceis e pela determinação em seguir adiante. Por permanecermos lado a lado, acreditando no projeto e em nosso próprio crescimento — e por agora podermos sorrir pelo caminho que percorremos juntas.

A descoberta começa com a curiosidade, portanto,
nunca subestime o poder de uma mulher curiosa.

Eunice Newton Foote

RESUMO

A matriz energética global permanece fortemente baseada em fontes não renováveis, como petróleo, carvão e gás natural, responsáveis por elevados níveis de poluição atmosférica e degradação ambiental. Essa dependência compromete a sustentabilidade planetária e evidencia a necessidade de alternativas energéticas limpas. O presente estudo investigou o potencial do subproduto Braspolpa®, fornecido pela empresa Tate & Lyle, como matéria-prima para a produção de etanol de segunda geração (2G). Esse etanol é obtido a partir de biomassa lignocelulósica e representa alternativa viável na redução de gases de efeito estufa, em consonância com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da Organização das Nações Unidas (ONU), notadamente o ODS 7 (Energia Limpa e Acessível) e o ODS 13 (Ação Contra a Mudança Global do Clima). O processo de produção do etanol 2G envolve as etapas de pré-tratamento, hidrólise e fermentação, que convertem os polissacarídeos em açúcares fermentáveis e, posteriormente, em etanol por meio da ação de microrganismos. Para fornecer um parâmetro de comparação, realizou-se inicialmente testes utilizando o denominado resíduo branco, solução obtida sem quebra das fibras celulósicas. Os resultados parciais indicaram que, nessa condição, a homogeneização da biomassa exigiu maior diluição, houve baixa disponibilidade de açúcares redutores e não ocorreu fermentação efetiva. Entretanto, o meio apresentou estabilidade em pH 4,5 e sólidos solúveis, confirmando sua viabilidade como referência experimental. Esses achados reforçam a importância do pré-tratamento, hidrólise e fermentação para a produção de etanol 2G a partir do Braspolpa®, fornecendo subsídios para o desenvolvimento eficiente de biocombustíveis sustentáveis.

Palavras-Chave: Etanol Celulósico. Bioeconomia Circular. Gases de Efeito Estufa.

ABSTRACT

The global energy matrix remains heavily based on non-renewable sources such as oil, coal, and natural gas, which are responsible for high levels of air pollution and environmental degradation. This dependence jeopardizes planetary sustainability and highlights the need for clean energy alternatives. The present study investigated the potential of the byproduct Braspolpa®, provided by the company Tate & Lyle, as a raw material to produce second-generation ethanol (2G). This ethanol is obtained from lignocellulosic biomass and represents a viable alternative in reducing greenhouse gas emissions, in line with the United Nations' Sustainable Development Goals (SDGs), notably SDG 7 (Affordable and Clean Energy) and SDG 13 (Climate Action). The production process of 2G ethanol involves the steps of pre-treatment, hydrolysis, and fermentation, which convert polysaccharides into fermentable sugars and subsequently into ethanol through the action of microorganisms. To provide a parameter for comparison, tests were initially conducted using the so-called white residue, a solution obtained without breaking down the cellulose fibers. The partial results indicated that, under this condition, the homogenization of the biomass required greater dilution, there was low availability of reducing sugars, and effective fermentation did not occur. However, the medium showed stability in pH 4,5 and soluble solids, confirming its viability as an experimental reference. These findings reinforce the importance of pre-treatment, hydrolysis, and fermentation to produce 2G ethanol from Braspolpa®, providing support for the efficient development of sustainable biofuels.

Keywords: Cellulosic Ethanol. Circular Bioeconomy. Greenhouse Gas Emissions.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO e JUSTIFICATIVA.....	8
2. OBJETIVOS.....	11
2.2 Objetivos Específicos.....	11
3. DESENVOLVIMENTO TEÓRICO.....	12
3.1 Bioetanol e Etanol Sintético.....	12
3.2 Matriz Energética do Etanol.....	13
3.3 Biomassa Lignocelulósica Braspolpa®.....	14
3.4 Processos de Produção do Etanol Celulósico.....	16
3.4.1 Biomassa Lignocelulósica.....	16
3.4.2 Pré-tratamento da Biomassa Lignocelulósica.....	19
3.5 Tipos de Hidrólise na Produção de Bioetanol.....	21
3.6 Fermentação dos Açúcares (SHF e HFS).....	22
3.7 Purificação do Etanol por Destilação.....	23
3.8 Implementação da Bioeconomia Circular e ODS 13.....	23
3.9 Regulamentações e Incentivos governamentais.....	24
3.9.1 Lei do Bem.....	24
3.9.2 Política Nacional de Biocombustíveis (RenovaBio).....	24
3.9.3 Programa Nacional do Álcool (Proálcool).....	25
3.9.4 Resolução ANP nº 758 de 2018.....	25
3.9.5 ANP nº 19, de 15 de maio de 2015.....	26
3.10 Levedura <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
4.1 Fluxograma do Resíduo Branco.....	28
4.1.2 Homogeneização da Biomassa.....	29
4.1.3 Quantificação de Açúcares Redutores Pré-Fermentação.....	29
4.1.4 Medição de pH.....	29
4.1.5 Fermentação.....	30
4.2 Fluxograma da Síntese do E2G.....	30

4.2.1 Preparo e Pré Tratamento da Amostra.....	30
4.2.2 Hidrólise Ácida (Método Organosolv).....	30
4.2.3 Fermentação Comercial.....	31
4.2.5 Tratamento de Resíduos.....	31
4.2.5.1 Tratamento de Resíduos Sólidos.....	31
4.2.5.2 Tratamento de Resíduos Líquidos.....	32
4.2.5.3 Tratamento de Resíduos Gasosos.....	32
4.2.6 Testes Físico-Químicos.....	32
4.2.6.1 Teste de Chama.....	32
4.2.6.2 Teor Alcoólico.....	33
4.2.6.3 pH.....	33
4.2.6.4 Quantificação de Açúcares Redutores Pré-Fermentação.....	33
4.2.6.5 Brix.....	33
5. DISCUSSÃO DE RESULTADOS.....	34
5.1 Resíduo Branco.....	34
5.1.1 Homogeneização da Biomassa.....	34
5.1.2 Fermentação Comercial.....	35
5.1.3 Quantificação de açúcares (método Fehling).....	36
5.1.4 Medição do pH.....	36
5.1.6 Brix.....	37
5.2 Síntese do E2G.....	38
5.2.1 Preparo e Pré Tratamento da Amostra.....	38
5.2.2 Hidrólise Ácida (Método Organosolv).....	39
5.2.3 Fermentação Comercial.....	40
5.2.6.3 pH.....	40
5.2.6.4 Quantificação de Açúcares Redutores.....	41
5.2.6.5 Brix.....	42
5.2 Síntese do E2G Modificado.....	43
5.2.1 Pré-Tratamento Modificado.....	44

5.2.2 Hidrólise Ácida.....	45
5.2.3 Fermentação Comercial.....	46
5.2.6.3 pH.....	46
5.2.6.4 Quantificação de Açúcares Redutores.....	47
5.2.6.5 Brix.....	47
6. CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS.....	51

1. INTRODUÇÃO e JUSTIFICATIVA

A necessidade da utilização de energia, em suas mais variadas formas, é uma realidade das sociedades desde que essas começaram a se formar. Tal necessidade se intensificou com o advento da Revolução Industrial, devido ao uso intensivo de combustíveis fósseis. Nos séculos subsequentes nos quais a Segunda Revolução Industrial tem seu ápice, iniciou-se o uso desenfreado do petróleo e seus derivados em processos industriais, aumentando a importância da energia fóssil. A partir de então, a mesma ganhou espaço como recurso mais utilizado para gerar energia em escala global (OLIVEIRA; JUNGER, 2020).

Os combustíveis fósseis, são recursos finitos que concentram uma grande quantidade de energia em um volume relativamente pequeno, o que os torna eficientes para o transporte, armazenamento e facilita o uso em diversas aplicações, como geração de eletricidade, propulsão de veículos, produção de calor industrial e até mesmo na síntese de novos materiais (CRUZ, 2024).

Contudo, a utilização desses combustíveis como principal fonte de energia ao longo de mais de um século, aumentou a concentração de dióxido de carbono (CO_2), dióxido de nitrogênio (N_2O) e metano (CH_4) na atmosfera. Esses gases somados aos óxidos de enxofre (SO_x), monóxido de carbono (CO), ozônio troposférico (O_3), clorofluorcarbonos (CFCs), aerossóis e ao vapor d'água (H_2Ov), são conhecidos como gases de efeito estufa (GEE) (CALDAS, 2017).

Este, é um fenômeno natural e benéfico para nós, onde gases presentes na atmosfera retém parte da radiação térmica emitida pela superfície terrestre depois de ter sido aquecida pelo sol, mantendo a temperatura do planeta em um nível adequado para o desenvolvimento da vida. Porém, ações antrópicas têm aumentado significativamente a presença desses gases na atmosfera, fazendo com que eles retenham mais calor, aumentando assim, a temperatura média do planeta e causando distorções climáticas (IBERDROLA, 2025).

Nesse contexto, o Acordo de Paris (2015) reconheceu que as mudanças climáticas representam uma ameaça urgente e potencialmente irreversível para as sociedades humanas e para o planeta e, portanto, requer a mais ampla cooperação de todos os países e sua participação numa resposta internacional, eficaz e apropriada, com vista a acelerar a redução das emissões globais de gases de efeito estufa de forma sustentável (ONU, 2015).

Quando pensamos em sustentabilidade, os biocombustíveis são grandes aliados nas estratégias para essa temática, pois o investimento nesse tipo de combustível contribui para diminuição da utilização de energia fóssil (CAMARGO, 2023). Estes pertencem a uma categoria de combustíveis produzidos a partir da biomassa, matéria-prima orgânica, animal ou vegetal, derivada de resíduos agrícolas, e são uma alternativa importante para contribuir na descarbonização do setor de transporte. Isso se deve ao fato de que eles possuem uma combustão mais limpa e emitem até 80% menos gases de efeito estufa ao longo de seu ciclo de vida (IBP, 2024).

De acordo com a Agência Nacional do Petróleo, os dois principais biocombustíveis líquidos usados no Brasil são o etanol de primeira geração (E1G), obtido a partir de cana-de-açúcar e o biodiesel, que é produzido a partir de óleos vegetais ou de gorduras animais e adicionado ao diesel de petróleo em proporções variáveis (BRASIL, 2021).

O Brasil é pioneiro global na produção e implantação de biocombustíveis, combinando com sucesso mandatos, incentivos financeiros e requisitos de sustentabilidade para expandir o fornecimento seguro e acessível desses produtos. Os mandatos de mistura de etanol à gasolina começaram para valer em 1975, com o programa Proálcool, e desde então a mistura aumentou progressivamente até o atual requisito de 27% (REGO, 2024).

O mercado de biocombustíveis no Brasil deve movimentar cerca de R\$1 trilhão entre 2025 e 2034, conforme estimativas da Empresa de Pesquisa Energética (EPE), vinculada ao Ministério de Minas e Energia. Esse montante considera R\$99,8 bilhões em investimentos e R\$924,4 bilhões em custos operacionais. Caso os investimentos relacionados à produção de açúcar sejam incluídos, os valores sobem para R\$121 bilhões em investimentos e mais de R\$1,3 trilhão em custos operacionais.

Os biocombustíveis podem ser classificados em quatro gerações: a 1^a geração utiliza matérias-primas comestíveis, como cana-de-açúcar e milho, sendo eficaz na redução de emissões de CO₂, mas competindo com a produção de alimentos. A 2^a geração emprega resíduos não comestíveis, como bagaço de cana e madeira, reduzindo ainda mais as emissões e evitando a competição com alimentos. A 3^a geração é baseada em plantas de rápido crescimento, como microalgas, que oferecem alta produtividade e eficiência na captura de carbono. Já a 4^a, faz captura

do carbono por meio de plantas projetadas para obter (e reter) mais gases em suas estruturas do que suas versões originais. (RAÍZEN, 2021).

Entretanto, o aumento da demanda de E1G requer uma alta produção de matéria-prima, aumentando assim, a área necessária de cultivo. Já o E2G é obtido através do processamento do bagaço após a extração do caldo ou mesmo da palha. Por meio de um processo chamado de hidrólise – que liquefaz as fibras de um vegetal com o uso de ácidos ou enzimas específicas – o bagaço e a palha tornam-se aproveitáveis, produzindo-se mais etanol (até 50% mais) a partir desse caldo hidrolisado. Como cerca de metade dos açúcares e da energia da cana-de-açúcar estão presentes nas suas fibras lignocelulósicas (bagaço e palha), seria possível produzir muito mais etanol e energia com a mesma quantidade de material e área plantada (ANDRADE; LORENZI, 2019).

Muito tem se falado do futuro do E2G desde 2011, quando o Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social e a Financiadora de Estudos e Projetos lançaram o Plano BNDES-Finep de Apoio à Inovação dos Setores Sucroenergético e Sucroquímico (Paiss) e algumas usinas e centros de pesquisa – como o Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), a GranBio, a Raízen e a Odebrecht Agroindustrial, anunciaram seus programas de pesquisa, desenvolvimento e produção em escala comercial do combustível. A previsão dessas empresas e institutos de pesquisa, como o Centro de Gestão e Estudos Estratégicos (CGEE, 2009) era de que o E2G se tornasse parte significativa da matriz energética nacional e revolucionasse o setor sucroenergético, com a expectativa de que mais de uma dezena de usinas de segunda geração entrassem em operação até 2025 (ANDRADE; LORENZI, 2019).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Estudar as metodologias de quebra da biomassa lignocelulósica para o desenvolvimento do etanol E2G, buscando minimizar a emissão de gases de efeito estufa (GEE) e analisar o potencial do subproduto da Indústria de Pectina Tate&Lyle, o Braspolpa®, rico em fibra celulósica.

2.2 Objetivos Específicos

- Elaborar formas de atender a metas da ODS 13, Ação contra a Mudança Global do Clima;
- Entender as propriedades e características de quebra da celulose e da lignina na matéria prima de estudo (Braspolpa®);
- Caracterizar as propriedades do etanol 2G sintetizado;
- Compreender as legislações pertinentes;
- Desenvolver um etanol de segunda geração a fim de substituir parcialmente ou mitigar o uso de combustíveis fósseis;
- Analisar o uso do Braspolpa® como matéria prima para a produção de E2G;
- Estudar os processos da produção de um bioetanol;
- Determinar a qualidade, eficiência e características físico-químicas do biocombustível desenvolvido;
- Determinar a concentração de bioetanol produzido;
- Exercer os princípios da bioeconomia circular na formação do produto;
- Adotar uma metodologia potencialmente econômica e produtiva em pequena escala.

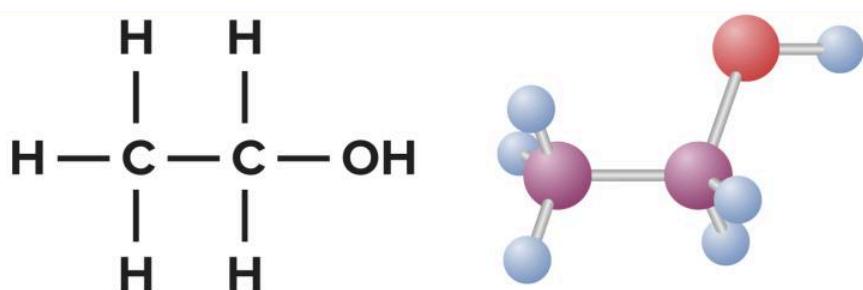
3. DESENVOLVIMENTO TEÓRICO

3.1 Bioetanol e Etanol Sintético

O etanol, conhecido como álcool etílico (C_2H_5OH), é uma substância pura composta por uma molécula com dois átomos de carbono, cinco de hidrogênio e um grupo hidroxila. Ele pertence à função orgânica dos álcoois. O etanol é o principal componente de bebidas alcoólicas, sendo encontrado em pequenas concentrações nestas bebidas. Já em relação ao consumo de etanol combustível, existem dois tipos principais: anidro e hidratado. A diferença entre eles está na concentração de água em sua composição. O etanol anidro contém cerca de 0,5% de água, enquanto o hidratado tem aproximadamente 5% (ECYCLE, 2024).

O bioetanol e o etanol sintético são quimicamente indistinguíveis, ambos são o mesmo composto, C_2H_5OH . A única diferença entre os dois é a composição isotópica dos átomos de carbono (figura 1). O etanol sintético deriva de materiais fósseis brutos, e o bioetanol deriva de materiais contemporâneos. Muito do etanol produzido no mundo é, de fato, derivado do petróleo. Ele é facilmente produzido por hidrólise de etileno, um importante petroquímico. O etanol derivado de petróleo (etanol sintético) é amplamente utilizado como solvente industrial, além de ter uma considerável variedade de outras aplicações (TAMERS, 2006).

Figura 1: Ilustração da Molécula do Etanol.



Fonte: LECTURIO, 2022.

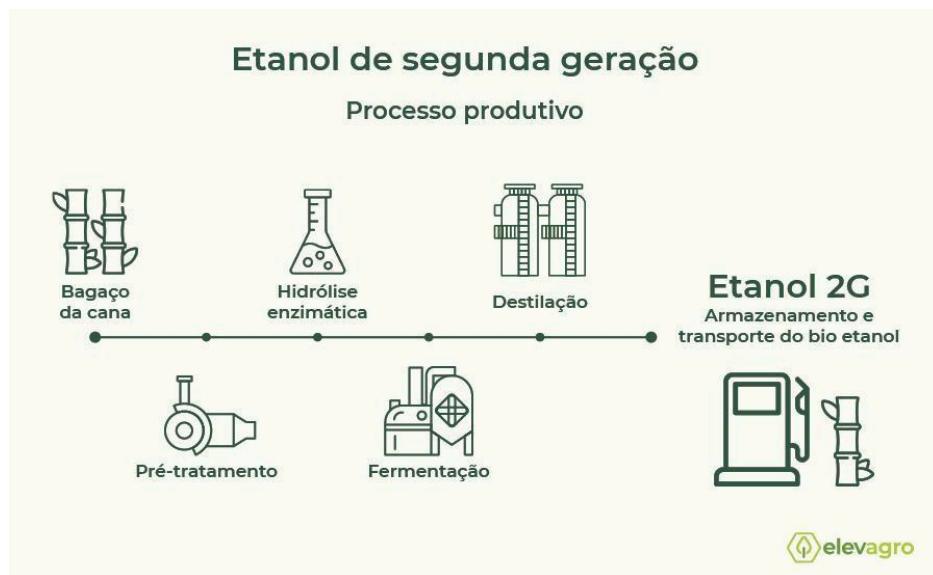
Os registros do bioetanol no Brasil começaram na década de 1970, época da crise do petróleo. A partir de então, o interesse por insumos renováveis começou, e com ele, a preocupação com os gases poluentes e a qualidade do ar nas grandes cidades. A partir de 1980, o investimento em combustíveis fósseis começou a cair

bruscamente, favorecendo ainda mais o cenário de substitutos, no caso, alternativas sustentáveis. Inicialmente, essa jornada durou até 2012. Com a busca da indústria mundial por fontes alternativas (e menos nocivas) de energia e a alta nos preços do petróleo, os biocombustíveis ganharam espaço no mercado (RAÍZEN, 2011).

3.2 Matriz Energética do Etanol

É importante entender que o etanol de primeira geração (E1G) é obtido a partir da fermentação de açúcares e amidos, tem como matéria prima a cana de açúcar, milho, trigo, aveia, cevada, beterraba, sorgo entre outros. Em contrapartida o etanol de segunda geração (E2G) é obtido a partir da quebra de cadeias de celulose por meio de tecnologias como o pré-tratamento e hidrólise, utiliza-se como fonte a biomassa lignocelulósica como palha de bagaço da cana, resíduos agrícolas e outros materiais graxos, os óleos de algas (BOSCHIERO, 2024).

Figura 2: Processos de Produção do Etanol de Segunda Geração.



Fonte: BARROSO, 2022.

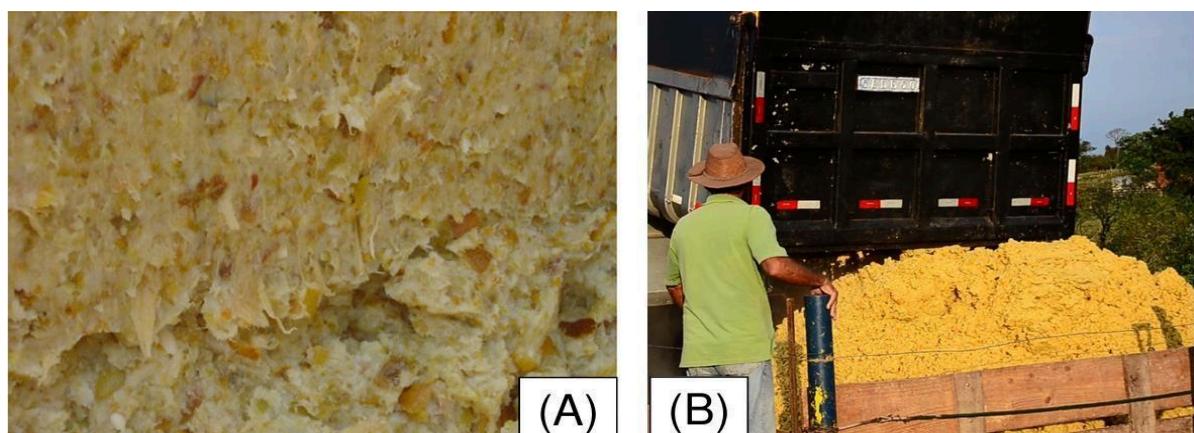
A produção de etanol de segunda geração acontece por um processo altamente tecnológico de pré-tratamento da biomassa, hidrólise e posteriormente fermentação, como representado na figura 2 acima. As estruturas vegetais têm alguns compostos básicos: lignina, celulose, hemicelulose, cinzas e água. A lignina é um composto

estrutural de cadeia longa que confere rigidez à planta. Para que possamos produzir álcool, é necessário disponibilizar os carboidratos (celulose e hemicelulose) e, para isso, precisamos quebrar ou soltar a lignina dos demais compostos (RAÍZEN, 2023).

3.3 Biomassa Lignocelulósica Braspolpa®

O Braspolpa® (figura 3) é um resíduo sólido formado depois da lavagem e separação da casca de laranja, que tem muitas possibilidades de uso e isto vem sendo estudado pela Tate&Lyle o Brasil em diversas áreas de atuação. O uso agrícola é um deles, porém já percebemos que o seu uso pode ser expandido para áreas de biogás, cosméticos, animais domésticos, entre outros (NOGUEIRA, 2017).

Figura 3: (A) Aparência física do Braspolpa® e (B) Armazenamento ao ar livre.



Fonte: NOGUEIRA, 2017.

Em 2017 a produção média de Braspolpa® é de 280 toneladas/dia e a geração de efluente líquido é de 300 m³/dia. Se não houvesse o desenvolvimento do Braspolpa®, o custo com aplicação seria de pelo menos o dobro além disso, aumentaria o raio médio e o custo com transporte do efluente para aplicação em novas áreas todo ano. A sua forma física e pH entre 2 e 3, permite estocagem tanto em ambientes arejados, quanto em forma de silagem (NOGUEIRA, 2017).

Tabela 1: Análise Bromatológica do Braspolpa®

Análise		Resultados	
Análise Proteína e Compostos Nitrogenados	Matéria Seca (MS)	18,00	%
	Extrativo Não Nitrogenado (ENN)	39,30	%MS
	Proteína Bruta (PB)	4,20	%MS
	Nitrogênio amoniacial (N-NH3)	10,90	%NT
	Nitrogênio Não Protéico (NNP)	24,10	%NT
	Nitrogênio Solúvel (NS)	41,90	%NT
	Nitrogênio Ligado ao FDA (N-FDA)	27,00	%NT
	Nitrogênio Ligado ao FDN (N-FDN)	26,20	%NT
	Fibra em Detergente Neutro (FDN)	63,60	%MS
	Fibra em Detergente Ácido (FDA)	52,20	%MS
Carboidrato s e Fração Fibrosa	Fibra Bruta (FB)	52,80	%MS
	Lignina	2,80	%MS
	Carboidratos não Fibrosos (CNF)	28,60	%MS
	Celulose (CEL)	53,10	%MS
Lipídeos	Hemicelulose	11,40	%MS
	Extrato Etéreo (EE)	3,10	%MS
Minerais	Matéria Mineral (MM)	0,60	%MS
	Energia Líquida de Lactação (NEL)	1,60	Mcal/Kg MS
	Nutrientes Digestíveis Totais (NDT)	51,90	%
Energia		69,30	%

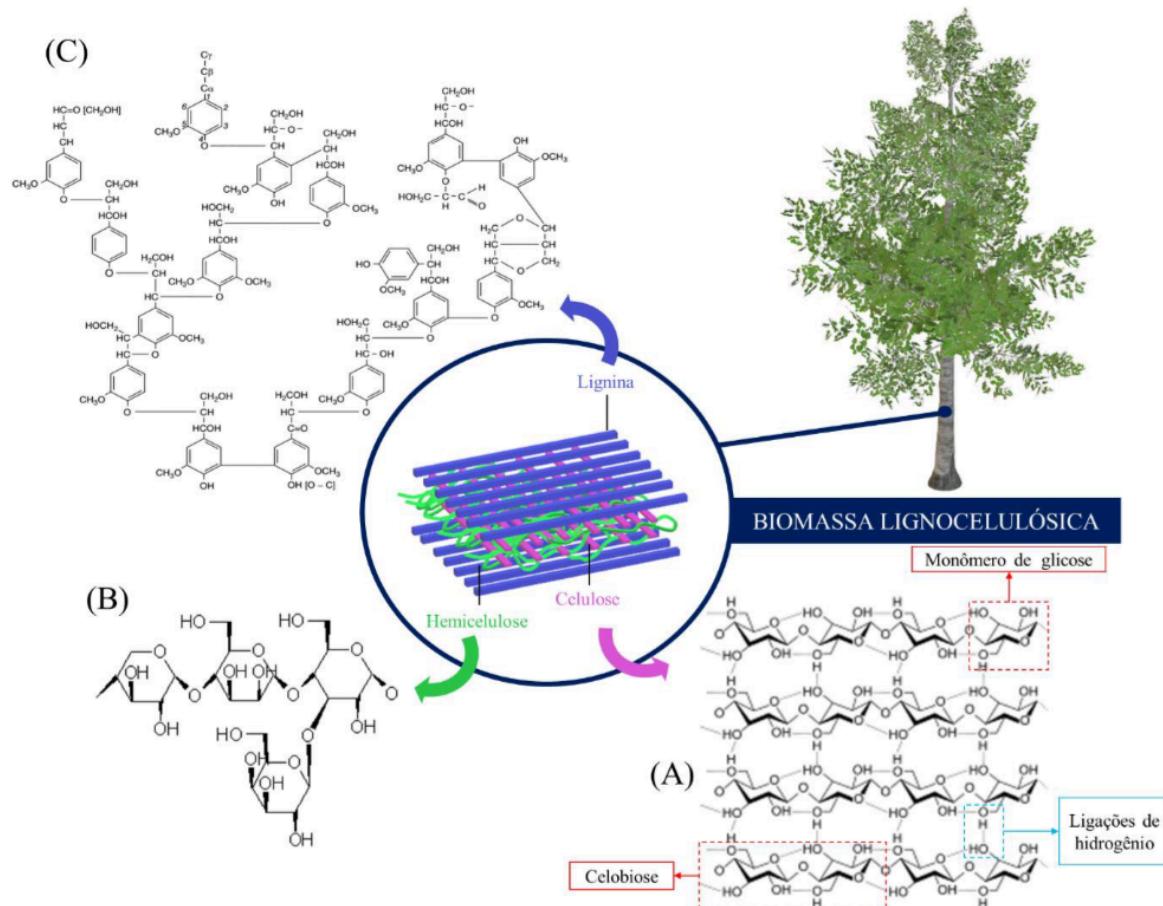
Fonte: SILVA; CARMO, 2024.

3.4 Processos de Produção do Etanol Celulósico

3.4.1 Biomassa Lignocelulósica

A matéria orgânica produzida por fontes vegetais ou resultante do seu processamento, bem como aquela produzida por resíduos agroindustriais, é chamada de biomassa lignocelulósica representada na Figura 4. O estudo deste material mostra vários requisitos de sustentabilidade, sendo possível utilizá-lo como fonte renovável para diversas aplicações, como por exemplo a produção de etanol de segunda geração e outros produtos químicos com valor agregado. Para isso, é preciso desconstruir a parede das células vegetais (pré-tratamento), que são compostas principalmente por biopolímeros como a celulose, hemicelulose e lignina (ZAMBON, 2019).

Figura 4: Representação Esquemática da Estrutura Lignocelulósica



Fonte: COSTA FILHO, 2021

3.4.1.1 Celulose

A celulose (figura 4 item A) é o principal constituinte dos materiais lignocelulósicos. Quimicamente, é uma molécula simples formada por anéis de β -D-glicopiranose unidas por ligações do tipo β -D (1,4) glicosídicas, de fórmula geral $(C_6H_{10}O_5)_n$. Este polímero natural é um homopolissacarídeo linear cuja monômero é a celobiose (RABELO, 2010).

Apesar da sua simplicidade química, existe uma complexa gama de formas físicas da celulose devido principalmente à diversidade de origem e aos processamentos tecnológicos subseqüentes a que a biomassa celulósica é sujeita. A descrição destes substratos inclui propriedades como o tamanho, a forma, a porosidade, o grau de polimerização, a área superficial, a associação com compostos não celulósicos, a conformação molecular e cristalinidade, sendo todos eles relevantes para o processo de hidrólise (BEGUIN; AUBERT, 1994, apud RABELO, 2010, p.22).

3.4.1.2 Hemicelulose

A Hemicelulose (figura 4 item B), por sua vez, é um dos três principais componentes da biomassa lignocelulósica, atuando como uma interligação dissipativa entre a celulose, que fornece resistência, e a lignina, que serve como matriz aglutinante. Juntos, esses componentes formam uma rede coesa e funcional nas paredes celulares vegetais. O heteropolissacarídeo está integrado na estrutura da celulose, onde as fibras cristalinas de celulose são cercadas por matrizes de polissacarídeos laterais não-cristalinas (XU *et al.* 2025, *tradução nossa*).

Introduzido em 1891 por Schulze, o termo hemicelulose refere-se a uma classe de heteropolissacarídeos compostos por diversos monômeros de açúcar, como D-xilose, D-arabinose, D-glicose, entre outros. A espinha dorsal da hemicelulose é formada por monômeros como xilanase e mananase, com ligações β -(1,4)-glicosídicas e, ocasionalmente, β -(1,3)-glicosídicas. É o componente mais complexo da biomassa, formando ligações de hidrogênio com a celulose e se ligando à lignina por meio de ligações covalentes (GAUTAM, *et al.* 2025, *tradução nossa*).

3.4.1.3 Lignina

A lignina (figura 4 item C) não apresenta uma fórmula molecular fixa, pois é um polímero altamente heterogêneo, formado principalmente por unidades fenilpropanóides, como coniferil, sinapil e p-cumaril. Em vez disso, pesquisadores utilizam fórmulas empíricas médias para representar sua composição elementar. Uma estimativa amplamente citada é $C_9H_{10}O_2(OCH_3)$, que expressa as unidades básicas contendo grupos metóxi ($-OCH_3$) (DEMUNER *et al.* 2019, *tradução nossa*).

Trata-se de um polímero aromático complexo que corresponde a cerca de 18% a 35% da massa seca da parede celular das plantas, funcionando como um “cimento” que une a celulose e a hemicelulose. Essa função confere rigidez estrutural, resistência mecânica, impermeabilidade e proteção contra microrganismos e condições ambientais adversas. Sua estrutura tridimensional amorfa resulta da polimerização aleatória de três monolignóis, cuja proporção varia de acordo com a espécie e o tecido vegetal: álcool coniferílico (guaiacil – G), com um grupo metoxila ($-OCH_3$) adjacente à hidroxila ($-OH$); álcool sinapílico (siringil – S), com dois grupos metoxila; e álcool p-cumarílico (p-hidroxifenil – H), sem grupos metoxila no anel aromático (FLUCK *et al.* 2025, *tradução nossa*).

3.4.2 Pré-tratamento da Biomassa Lignocelulósica

As paredes celulares vegetais são uma matriz de redes de polissacarídeos reticulados, proteínas glicosiladas e lignina, nas quais as microfibrilas de celulose estão ligadas às hemiceluloses e embutidas na lignina, sendo como hastes de aço embutidas no concreto. Por causa dessas barreiras físicas, a celulose é inacessível por produtos químicos e enzimas. Portanto, o objetivo final do pré-tratamento é tornar os materiais de biomassa mais acessíveis a produtos químicos ou enzimas para a geração eficiente de produtos. Mais especificamente, o pré-tratamento é o processo para melhorar o fator direto área de superfície acessível (ASA), alterando os fatores indiretos, aumentando assim a acessibilidade da celulose (ZHAO; ZHANG; LIU, 2012, *tradução nossa*).

Tabela 2: Efeito do pré-tratamento na alteração composicional e estrutural da biomassa lignocelulósica.

Pré tratamento	Aumento da Acessibilidade / área superfície	Descristalização da celulose	Solubilização da hemicelulose	Solubilização da lignina	Alteração estrutura lignina	Formação de furfural
Moagem	a	a	c	c	c	c
Irradiação	a	b	b	c	c	b
Explosão de Vapor	a	c	a	b	a	a
Água Quente	a	ND	a	b	b	b
Explosão a Vapor Catalisada	a	c	a	a	a	a
Ácido	a	c	c	b	a	a
alcalino	a	c	b	a	a	b
Oxidativo	a	ND	c	a	a	b
Solução Iônica	a	a	b	c	c	c
Ácido/Térmico	a	ND	a	c	c	a
Alcalino/Térm.	a	ND	b	a	a	b
Oxidativo/Térmico	a	ND	b	a	a	b
Explosão de Fibra por Amônia	a	a	b	a	a	b
Biológico	a	ND	a	a	a	c

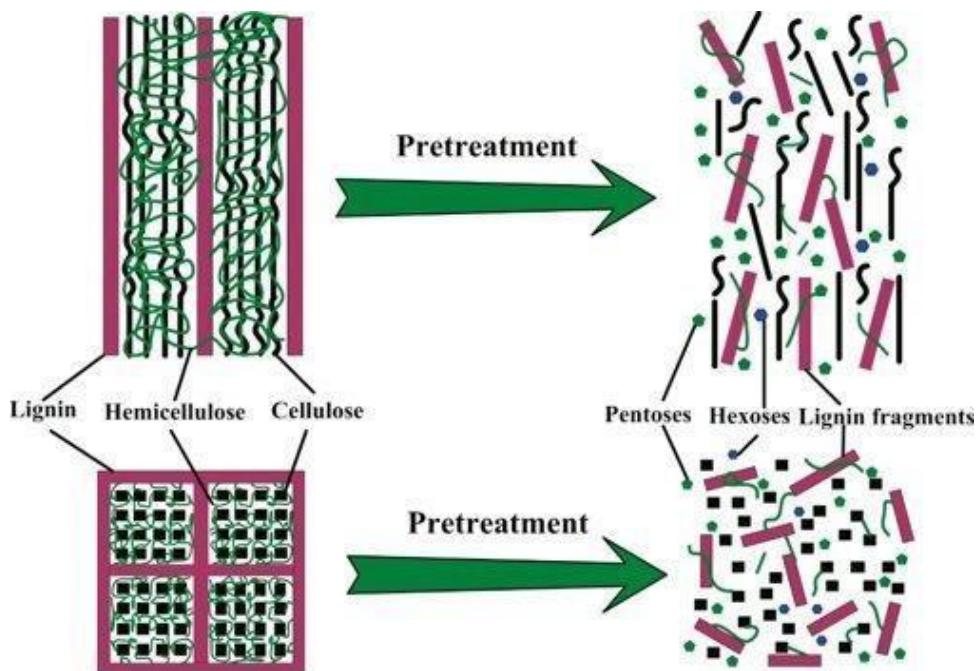
Legenda: a (Maior efeito); b (Menor efeito); c (sem efeito); ND (Não determinado)

Fonte: ZHENG *et al*, 2014. N.T

O pré-tratamento físico visa aumentar a área de superfície reduzindo o tamanho das cadeias poliméricas da biomassa e não usam químicos ou microrganismos durante os processos de pré-tratamento. Já o pré-tratamento químico refere-se ao uso de produtos químicos, tais como ácidos, bases fortes e soluções iônicas, para

alterar as características químicas da biomassa lignocelulósica removendo e/ou deslocam hemiceluloses e lignina, assim quebrando a estrutura da rede de lignina e hemicelulose já o pré-tratamento biológico consiste no uso de microrganismos para degradar a lignina e hemicelulose. A figura 5 ilustra o processo do pré-tratamento da biomassa lignocelulósica (SANTOS, 2019).

Figura 5: Ilustração da atuação do pré-tratamento na fibra da biomassa lignocelulósica



Fonte: ZHAO; ZHANG; LIU, 2012.

3.5 Tipos de Hidrólise na Produção de Bioetanol

O potencial da biomassa lignocelulósica como fonte de açúcares fermentáveis foi reconhecido já no final do século XIX com trabalhos notáveis. No entanto, a estrutura robusta da lignocelulose apresentou desafios significativos. A hidrólise ácida surgiu como um método de conversão de biomassa, fazendo uso de ácido sulfúrico para clivar ligações glicosídicas em celulose e hemicelulose (CELLIGNIS, 2024).

A hidrólise alcalina ou básica, envolve a presença de uma base forte, como hidróxido de sódio (NaOH), que catalisa a reação de quebra. É comumente usada

na produção de sabão a partir de gorduras (saponificação) e na reciclagem de plásticos, como o PET, entretanto pode resultar em subprodutos alcalinos que exigem manejo adequado para evitar danos ao meio ambiente (COSME, 2024).

Em meados do século XX, ocorreu uma mudança de paradigma com a introdução da hidrólise enzimática. Enzimas produzidas por microrganismos foram encontradas para converter eficientemente celulose em glicose. Esta hidrólise foi mais ecológica e rendeu concentrações mais altas de açúcar. Apesar de sua promessa, o custo de produção de enzimas celulase era proibitivo, o que levou a uma ênfase de pesquisa na redução dos custos das enzimas e na melhoria de sua eficiência (CELLIGNIS, 2024).

Tabela 3: Comparação entre a hidrólise ácida e enzimática

Parâmetro	Hidrólise Ácida	Hidrólise Enzimática
Pré-Tratamento	Pode ser necessário	Necessário
Taxa de Hidrólise	Rápida (min)	Lenta (h)
Temperatura	Alta (200°C)	Baixa (45°C)
Pressão	Alta	Atmosférica
Rendimento	Depende do material e processo	Depende do material e processo
Formação de Subprodutos	Provável Formação	Não há formação

Fonte: KRISHNA et al, 2000

Em meados do século XX, ocorreu uma mudança de paradigma com a introdução da hidrólise enzimática. Enzimas produzidas por microrganismos foram encontradas para converter eficientemente celulose em glicose. Esta hidrólise foi mais ecológica e rendeu concentrações mais altas de açúcar. Apesar de sua promessa, o custo de produção de enzimas celulase era proibitivo, o que levou a uma ênfase de pesquisa na redução dos custos das enzimas e na melhoria de sua eficiência (CELLIGNIS, 2024).

3.6 Fermentação dos Açúcares (SHF e HFS)

Vários relatórios e análises foram publicados sobre a produção de fermentação de etanol por microrganismos, e várias bactérias, leveduras e fungos foram usados para a produção de etanol. O micrório comumente utilizado tem sido a levedura, *Saccharomyces cerevisiae*, é a preferida para a maioria das fermentações de etanol (LIN; TANAKA, 2005, *tradução nossa*).

Os processos de hidrólise e fermentação simultânea (SHF) se realizam em um mesmo reator, o que tem vantagens econômicas e na redução da inibição pelo produto, uma vez que os açúcares formados são convertidos pelos microrganismos fermentadores à medida que são liberados, porém, a desvantagem do processo SSF é que a levedura utilizada neste processo é difícil de ser recuperada, já que se encontra misturada com o resíduo sólido, principalmente lignina (BERECHE, 2011).

O processo de hidrólise e fermentação separadas (SFH), a vantagem é o processo de fermentação realizada em um meio líquido, em lugar de uma suspensão contendo material sólido como é o caso do (SHF), o que facilita a transferência de massa e torna possível reciclar a levedura após a fermentação, a desvantagem é que a glicose e a celobiose que são liberadas, inibem as enzimas envolvidas neste processo, também resulta na perda de açúcares na separação dos sólidos e líquidos após a hidrólise enzimática (BERECHE, 2011).

3.7 Purificação do Etanol por Destilação

A purificação do etanol é fundamental para qualquer tipo de finalidade. A purificação é feita principalmente por destilação. Embora a destilação seja uma técnica de separação forte, apresenta várias desvantagens, principalmente na sua capacidade de separação de compostos voláteis e custos. Não há muitos estudos sobre a área de técnicas de purificação de etanol que poderiam substituir a destilação (NIMANGRE, 2021, *tradução nossa*).

A destilação é a técnica de purificação industrial mais dominante e reconhecida do etanol. Ele utiliza as diferenças de volatilidades dos componentes em uma mistura. O princípio básico é que, ao aquecer uma mistura, os componentes de baixo ponto de ebulição são concentrados na fase de vapor. Ao condensar este vapor, obtém-se compostos mais concentrados e menos voláteis na fase líquida (NIMANGRE, 2021, *tradução nossa*).

3.8 Implementação da Bioeconomia Circular e ODS

Alinhados com o Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 13 (ODS 13 – Ação contra a Mudança Global do Clima), que visa adotar medidas urgentes para combater as alterações climáticas e os seus impactos, os biocombustíveis emitem menor quantidade de GEE e são produzidos a partir de fontes renováveis como a biomassa. Além disso, esse tipo de combustível é biodegradável, sendo considerado um produto ecológico, alinhando-se também com o ODS 7 – Energia Limpa e Acessível, tendo como uma das suas metas aumentar a participação de energias renováveis na matriz energética global até 2030 (ENTRE SOLOS, 2022).

Diante da importância de descarbonizar a economia, novos modelos de desenvolvimento baseados na integração entre os sistemas econômicos e ecológicos estão surgindo. A indústria de base tecnológica tem a oportunidade única de alavancar seus negócios, inovando com a implementação da bioeconomia circular. Substituição de energia fóssil por energia renovável, uso dos recursos naturais dos biomas para produzir bens e substituição de materiais sintéticos são alternativas que estão sendo aproveitadas pelas empresas (SEBRAE, 2023).

3.9 Regulamentações e Incentivos governamentais

3.9.1 Lei do Bem

Em complemento aos investimentos das companhias, os incentivos fiscais que estimulam as atividades de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação tecnológica (PD&I) são instrumentos importantes para promover o desenvolvimento dos setores produtivos, estimulando a inovação e compartilhando o risco tecnológico inerente ao processo de inovar (BRASIL, 2023).

Nesse contexto, a Lei nº 11.196/2005, conhecida como a Lei do Bem, regulamentado pelo Decreto nº 5.798, de 7 de junho de 2006, é considerada o principal instrumento de estímulo às atividades de PD&I nas empresas brasileiras. Isso porque oferece a estas, em seu Capítulo III, a possibilidade de uso de alguns incentivos fiscais, abarcando todos os setores da economia e regiões do país. Contribui, assim, efetivamente para a inovação, o desenvolvimento da capacidade técnico-produtiva das empresas e o aumento do valor agregado da produção de bens e serviços (BRASIL, 2023).

3.9.2 Política Nacional de Biocombustíveis (RenovaBio)

RenovaBio é a Política Nacional de Biocombustíveis, instituída pela Lei nº 13.576/2017, com os seguintes objetivos: I- Fornecer uma importante contribuição para o cumprimento dos compromissos determinados pelo Brasil no âmbito do Acordo de Paris; II- Promover a adequada expansão dos biocombustíveis na matriz energética, com ênfase na regularidade do abastecimento de combustíveis; e III- Assegurar previsibilidade para o mercado de combustíveis, induzindo ganhos de eficiência energética e de redução de emissões de gases causadores do efeito estufa na produção, comercialização e uso de biocombustíveis (BRASIL, 2025).

3.9.3 Programa Nacional do Álcool (Proálcool)

O Programa Nacional do Álcool ou Proálcool foi criado em 14 de novembro de 1975 pelo decreto nº 76.593, com o objetivo de estimular a produção do álcool, visando o atendimento das necessidades da política de combustíveis automotivos. De 1975 a 2000 o Programa substituiu por uma fração de álcool anidro (entre 1,1% a 25%) um volume de gasolina pura consumida por uma frota superior a 10 milhões de veículos a gasolina, evitando, nesse período, emissões de gás carbônico da ordem de 110 milhões de toneladas de carbono contido no CO₂ (BIODIESELBR, 2012).

De acordo com o decreto, a produção do álcool oriundo da cana-de-açúcar, da mandioca ou de qualquer outro insumo deveria ser incentivada por meio da expansão da oferta de matérias-primas, com especial ênfase no aumento da produção agrícola, da modernização e ampliação das destilarias existentes e da instalação de novas unidades produtoras, anexas a usinas ou autônomas, e de unidades armazenadoras (BIODIESELBR, 2012).

3.9.4 Resolução ANP nº 758 de 2018

A Resolução ANP nº 758, de 2018, estabelece um conjunto de diretrizes que visam a certificação de biocombustíveis, incluindo o etanol de segunda geração (2G), no Brasil. Esta norma é parte integrante dos esforços da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) para regulamentar a produção e

comercialização de biocombustíveis, promovendo a sustentabilidade e a eficiência no setor energético. A resolução tem como finalidade garantir a qualidade e a rastreabilidade dos biocombustíveis, os produtores de biocombustíveis são obrigados a manter registros detalhados acerca da origem da biomassa, dos processos de produção e das informações relacionadas à comercialização dos produtos (COSTA, 2018).

3.9.5 ANP nº 19, de 15 de maio de 2015

A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) regula as especificações do etanol combustível no Brasil. Além do teor alcoólico, a ANP define limites para impurezas, teor de água, condutividade elétrica e proíbe contaminantes como o metanol. Atender a essas normas assegura a qualidade, segurança e eficiência do combustível. Assim, o protótipo de bioetanol de segunda geração deve visar o cumprimento dessas exigências para garantir seu uso sustentável e seguro (ANP, 2020).

As especificações técnicas do Etanol Combustível Hidratado (ECH) e Etanol Combustível Anidro (ECA), apresentados na tabela 4 e definidas pela Resolução ANP nº 19/2015, garantem sua qualidade, segurança e eficiência energética. O etanol anidro deve apresentar teor alcoólico mínimo de 99,6% em volume, enquanto o hidratado deve variar entre 95,1% e 96,0%. Também são exigidos limites para impurezas, acidez, condutividade elétrica e presença de contaminantes como metanol e metais. Esses parâmetros asseguram uma queima mais limpa, menor emissão de poluentes e compatibilidade com motores automotivos (ANP, 2011).

Tabela 4: Especificações Técnicas do Etanol Combustível (ANP N° 19/2015)

Característica (máx)	Unid.	Limite EAC	Limite EHC	NBR	ASTM
Aspecto	–	Límpido e isento	Límpido e isento	Visual	–
Cor	–	(2)	(3)	Visual	–
Acidez total (máx.)	mg/L	30	30	9866	–
Condutividade elétrica	µS/m	350	350	10547	–
Massa específica a 20 °C	kg/m³	≤ 791,5	807,6 – 811,0	5992 / 15639	D4052
Teor alcoólico (% vol.)	% vol.	≥ 99,6	95,1 – 96,0	5992 / 15639	–
Teor alcoólico (% massa)	% massa	≥ 99,3	92,5 – 93,8	5992 / 15639	–
(pH)	–	–	6,0 – 8,0	10891	–
Teor de etanol (mín.)	% vol.	98,0	94,5	–	D5501
Teor de água	% vol.	0,4	4,9	15531 / 15888	E203
Teor de metanol	% vol.	1,0	1,0	–	HPLC
Resíduo por evaporação	mg/100 mL	5	5	8644	–
Teor de hidrocarbonetos	% vol.	3	3	13993	–
Teor de cloreto	mg/kg	1	1	10894	D7328 / D7319
Teor de sulfato	mg/kg	4	4	10894	D7328 / D7319
Teor de ferro	mg/kg	5	5	11331	–
Teor de sódio	mg/kg	2	2	10422	–
Teor de cobre	mg/kg	0,07	0,07	11331	–

Fonte: LEGISWEB, 2011

3.10 Levedura *Saccharomyces cerevisiae*

Ao longo de milhares de anos de coexistência com a humanidade, esta levedura sofreu diferentes pressões seletivas que acabaram por domesticá-la e gerar um verdadeiro micro-organismo de trabalho para a indústria de fermentação. Embora as estirpes de *S. cerevisiae* diferem geneticamente e fenotipicamente dependendo do setor industrial em que são encontradas, algumas características comuns tornam a espécie a preferida na fermentação alcoólica, como a capacidade de fermentar açúcares de forma eficiente mesmo na presença de oxigênio (CLARK; CHOI; DOUGLAS, 2018).

Além disso, essa levedura pode tolerar: (I) altas concentrações de etanol nas etapas finais da fermentação, (II) baixos níveis de pH do meio, (III) estresse osmótico causado pelas altas concentrações de açúcares, e (IV) pressão hidrostática causada pelo grande volume de líquido contido nos tanques de fermentação. Esta levedura também se destaca por estar entre os melhores fermentadores de glicose, que é o açúcar mais abundante em resíduos lignocelulósicos (CLARK; CHOI; DOUGLAS, 2018).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

As atividades experimentais estão sendo realizadas nos laboratórios da ETEC Trajano Camargo, sob a orientação da Prof^a. Dr^a Gislaine Ap. Barana Delbianco e Prof^a Eng^a. Margarete Galzerano Francescato. O projeto se baseia no Trabalho de Conclusão de Curso em Técnico em Química, MACEDO; TEODORO; BIANQUINI, na ETEC Trajano Camargo: Etanol à Base de Resíduos Orgânicos.

4.1 Fluxograma do Resíduo Branco

É chamado de Resíduo Branco neste projeto, a solução obtida no processo de fermentação sem ocorrer a quebra das fibras celulósicas. O intuito de realizar o resíduo branco é obter uma comparação da fermentação dos açúcares redutores em um processo sem a quebra e num processo com a quebra da celulose.

Figura 6: Fluxograma do Resíduo Branco



Fonte: As Autoras, 2025

4.1.2 Homogeneização da Biomassa

Para a preparação da biomassa, deverá ser utilizado um liquidificador industrial, com a proporção de biomassa para água de 1:3. A mistura deverá ser homogeneizada até que se obtenha um líquido com as partículas da biomassa devidamente suspensas, auxiliando a fermentação comercial.

4.1.3 Quantificação de Açúcares Redutores Pré-Fermentação

O teste de Fehling será empregado para a determinação de açúcares redutores. Para a quantificação, devem ser adicionados 2 mL do reagente de Fehling A e 2 mL do reagente de Fehling B. Em seguida, adiciona-se 2 mL da solução preparada para a análise, após adicionar os reagentes e a solução, deve-se colocar o tubo de ensaio no banho maria por 10 minutos depois de ter feito a agitação correta.

4.1.4 Medição de pH

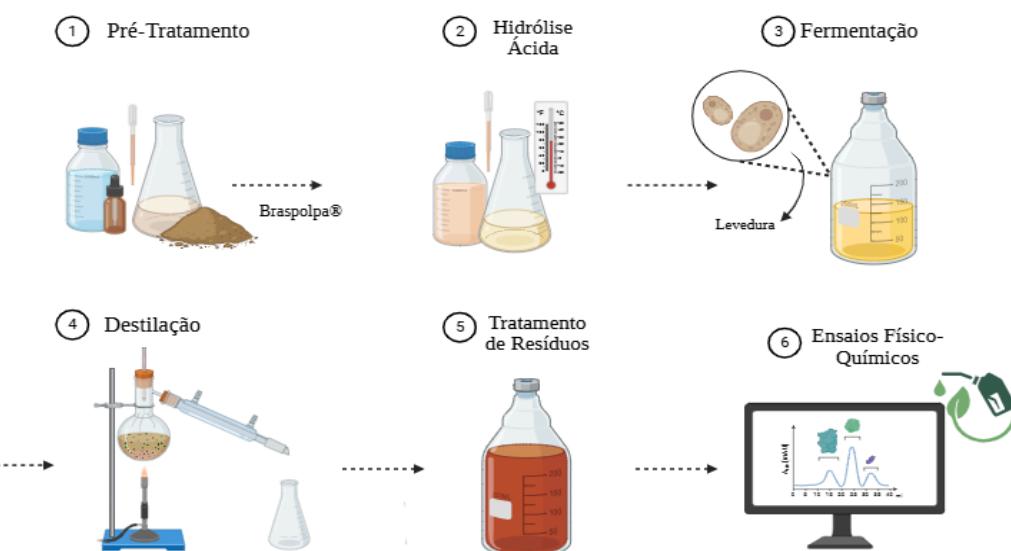
Para a medição do pH, deve-se calibrar o pHmetro adequadamente. Após a calibração e limpeza do equipamento, insere-se a camada gelatinosa na solução preparada e realiza-se a medição.

4.1.5 Fermentação

Para a inoculação da levedura, a *Saccharomyces cerevisiae* deverá ser ativada em uma porção de água pré-aquecida a uma temperatura de até 35°C. Após pesar a quantidade necessária de levedura, homogeneiza-se com a porção de água aquecida para garantir uma distribuição uniforme.

4.2 Fluxograma da Síntese do E2G

Figura 7: Fluxograma de Processos Técnicos



Fonte: As Autoras, 2025

4.2.1 Preparo e Pré Tratamento da Amostra

Em uma vidraria adequada, prepara-se as soluções de Etanol (96° GI), Acetona (p.a), Água deionizada (H_2O), Sulfato de Ferro II (Fe_2SO_4) e Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) sendo respectivamente as quantidades de 125 mL, 125 mL, 250 mL, 0,623 gramas e 3 mL. Após o término das amostras, realiza-se o aquecimento em banho-maria durante uma hora com temperatura de 50°C.

4.2.2 Hidrólise Ácida (Método Organosolv)

Na amostra preparada e pré tratada, acrescenta-se 30 mL de Ácido Sulfúrico (P.A) (H_2SO_4), 250 mL de Etanol e 250 mL de Água Deionizada (H_2O). Com a amostra pronta, é necessário levar a solução para o aquecimento em banho-maria durante 1 hora com temperatura de 70°C.

4.2.3 Fermentação Comercial

Após a hidrólise enzimática, a fase líquida será submetida à fermentação alcoólica com a utilização da levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* (Fleischmann®). Para isso, o pH das amostras será previamente ajustado, e serão adicionados aproximadamente 0,09 g de levedura para cada 20 mL do hidrolisado. As amostras permanecerão em fermentação a uma temperatura de aproximadamente 30 °C por um período de 24 horas. Não será realizada nenhuma modificação adicional no processo fermentativo, como a adição de sais ou nutrientes para enriquecimento do meio.

4.2.4 Destilação

Para a realização da destilação fracionada do etanol de segunda geração, a amostra fermentada deve ser primeiramente filtrada para remover sólidos indesejados e, em seguida, transferida para um balão de destilação contendo pedras de ebulição, que auxiliam na uniformização da temperatura durante o aquecimento. O sistema de destilação é então montado, incluindo uma coluna de fracionamento, um termômetro, um condensador e um frasco coletor, todos devidamente conectados para garantir a eficiência do processo.

A mistura é aquecida de forma gradual, e a coleta do etanol é iniciada quando a temperatura atinge um intervalo crítico entre 78 °C e 85 °C. É fundamental monitorar a temperatura com precisão, pois a coleta deve ser interrompida ao ultrapassar esse intervalo, uma vez que isso indica a evaporação de impurezas ou outros componentes voláteis da mistura, o que comprometeria a pureza do etanol obtido. Este controle rigoroso das condições de destilação é essencial para maximizar a eficiência do processo e garantir a qualidade do produto.

4.2.5 Tratamento de Resíduos

4.2.5.1 Tratamento de Resíduos Sólidos

Após a conclusão das etapas de hidrólise e fermentação, todo o material fibroso residual deve ser separado e transferido para um recipiente aberto, preferencialmente metálico. Esse resíduo deve ser exposto ao sol até a completa redução da umidade. Após a secagem, as fibras resultantes podem ser destinadas à compostagem, servindo como condicionador orgânico para o solo.

4.2.5.2 Tratamento de Resíduos Líquidos

Para o tratamento do efluente líquido proveniente das etapas do processo, a fração líquida coletada deve ser submetida à neutralização por meio da adição controlada de hidróxido de cálcio $[Ca(OH)_2]$, até que o pH atinja a faixa de neutralidade (6,5 – 7,5). Em seguida, o efluente deve ser mantido em repouso por aproximadamente 24 horas, permitindo a sedimentação natural dos sólidos em suspensão. Após esse período, realiza-se a separação das fases por filtração, utilizando filtro de papel ou membrana apropriada, obtendo-se assim a fração líquida clarificada. A água recuperada poderá ser destinada a atividades como irrigação ou limpeza de equipamentos, desde que haja monitoramento prévio da sua qualidade físico-química e microbiológica.

4.2.5.3 Tratamento de Resíduos Gasosos

Para mitigar a emissão de gás carbônico (CO_2) gerado na etapa de fermentação, pode-se realizar a captura e neutralização desse gás utilizando óxido de cálcio (CaO). Esse procedimento deve ocorrer de forma simultânea à fermentação do hidrolisado. Para isso, em um erlenmeyer de 250 mL, adiciona-se 250 mL de suspensão de CaO, no qual é inserido um tubo de vidro conectado ao sistema de fermentação, de forma que o CO_2 liberado seja direcionado para o interior do recipiente contendo CaO. A reação entre o gás e o óxido de cálcio forma carbonato de cálcio (CaCO_3) sólido. Após a reação, o CaCO_3 pode ser separado por filtração, seco e posteriormente utilizado como corretivo agrícola para o solo

4.2.6 Testes Físico-Químicos

4.2.6.1 Teste de Chama

O fio metálico será limpo com solução de HCl 10% e levado à chama até não apresentar coloração. Após resfriamento, será mergulhado na amostra de etanol e novamente exposto à chama. A coloração observada indicará a presença ou ausência de impurezas. O teste será repetido três vezes e comparado com etanol PA (padrão).

4.2.6.2 Teor Alcoólico

Esse teste será realizado pela Tate&Lyle, e poderá ser realizada dois tipos de análises, na primeira, utilizam líquido desprovido de sólidos que pode realizar a medição de temperatura e densidade em laboratório e correlacionar pela tabela do Perry's Chemical Eng. Handbook. E a segunda que utiliza a cromatografia líquida de alta eficiência **HPLC (High-Performance Liquid Chromatography)**.

4.2.6.3 pH

O eletrodo do pHmetro será mergulhado em solução diluída da amostra. Após estabilização da leitura, o valor será registrado. O processo será repetido três vezes, com lavagem do eletrodo com água destilada entre as medições. Impurezas: Devido às limitações do laboratório, as impurezas serão avaliadas indiretamente por meio da comparação entre ponto de ebulição e densidade da amostra com os padrões de etanol e metanol (impureza comum em etanol de segunda geração).

4.2.6.4 Quantificação de Açúcares Redutores Pré-Fermentação

O teste de Fehling será empregado para a determinação de açúcares redutores. Para a quantificação, devem ser adicionados 2 mL do reagente de Fehling A e 2 mL do reagente de Fehling B. Em seguida, adiciona-se 2 mL da solução preparada para a análise, após adicionar os reagentes e a solução, deve-se colocar o tubo de ensaio no banho maria por 10 minutos depois de ter feito a agitação correta.

4.2.6.5 Brix

Para medir o °Brix no etanol de segunda geração calibra-se o refratômetro com água destilada, coloca-se algumas gotas da amostra na lente do aparelho, fecha-se a tampa para espalhar o líquido uniformemente e lê-se o valor no visor, que indica a concentração de sólidos solúveis.

5. DISCUSSÃO DE RESULTADOS

5.1 Resíduo Branco

5.1.1 Homogeneinização da Biomassa

O processo de moagem do Braspolpa® foi feito inicialmente com a proporção indicada, de 1 parte de Braspolpa® para 3 partes de água. Para a moagem, foi pesadas 200 gramas de Braspolpa® para 600mL de água. Após fazer essa moagem percebeu-se que a consistência estava muito grossa, parecido com um “mingau”. Foi necessário, portanto, adicionar mais 600mL de água na mistura permitindo um fluxo melhor das fibras na solução. Importante ressaltar que a biomassa já apresentava uma característica pastosa antes de ser homogeneizada, uma outra característica observada na biomassa era seu cheiro fortemente cítrico.

Figura 8: Característica da Biomassa antes (esquerda) e depois (direita) de ser homogeneizada.



Fonte: As Autoras, 2025.

Na figura 8 (direita) é possível observar a consistência da mistura de água e Braspolpa® com uma proporção de 1:3. Era esperado uma mistura líquida, com uma dispersão maior de fibras em água, assim como na imagem abaixo (figura 9). A proporção final foi de 1 parte de Braspolpa® para 6 partes de água (1:6).

5.1.2 Fermentação Comercial

Após realizar a mistura, foi feita a inoculação da levedura. Foi pesado em balança semi-analítica, 3,0 gramas de *Saccharomyces cerevisiae*. Em uma panela média com uma pequena quantidade de água pré-aquecida à 35°C, foi solubilizada a

massa de levedura pesada e adicionado à mistura. Foi feito oxigenação durante 5 minutos com intervalo de 2 minutos. A fermentação foi monitorada em 3 ciclos de 24 horas, totalizando 72 horas em uma temperatura média de 21°C. A mistura não apresentou nenhuma característica de fermentação ao longo das 72 horas, não houve separação de fases, cheiro característico de álcool muito menos apresentou uma coloração mais clara. Na medida de Brix no refratômetro não houve mudança característica.

Figura 9: Oxigenação da Mistura com Levedura



Fonte: As Autoras, 2025.

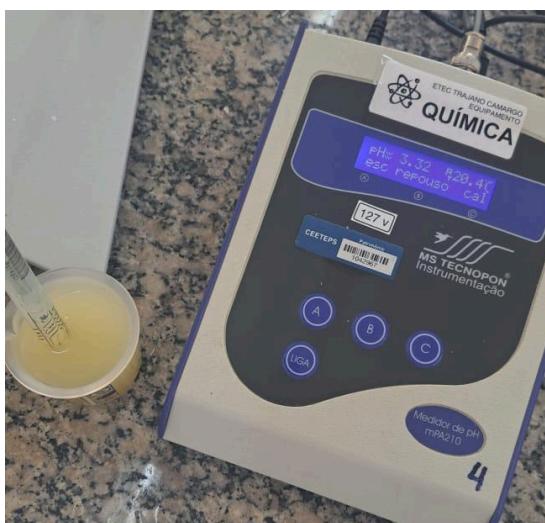
5.1.3 Quantificação de açúcares (método Fehling)

No método Fehling buscou-se quantificar açúcares redutores presentes na mistura antes da fermentação. Após realizar o teste fehling não observou a formação do precipitado de CuO (coloração vermelho-tijolo). É interessante relembrar o processo de obtenção do Braspolpa® para entender o porquê de não ter obtido significativamente um conteúdo precipitado. Antes do processo da biomassa residual, uma etapa de lavagem antecede a extração da pectina. Nessa lavagem é retirada a quantidade de açúcares disponíveis na casca da laranja. Os processos do Braspolpa® podem ser encontrados no documento de NOGUEIRA (2017). Essa lavagem justifica a não quantificação de açúcares.

5.1.4 Medição do pH

Para medir o pH da solução, foi utilizado um pHmetro devidamente calibrado. Coletou-se uma quantidade da mistura da biomassa e filtrou-se as fibras presentes para não atrapalhar na medição. Registrou-se o pH 3 vezes a cada 24 horas.

Figura 10: Medição de pH da Mistura do Braspolpa® com pHmetro



Fonte: As Autoras, 2025

Liu, et al. (2015) esclarecem que o baixo pH inicial facilita o crescimento das leveduras, porém, valores de pH menores que 2,5 podem inibir esse crescimento, resultando em uma taxa de fermentação menor. O pH não é o único fator que corrobora para uma fermentação, muito menos sua redução ao longo dos dias conforme na tabela abaixo. A variação mínima do pH da solução pode ter ocorrido por um ajuste natural do meio.

Tabela 5: Dados de pH Registrados

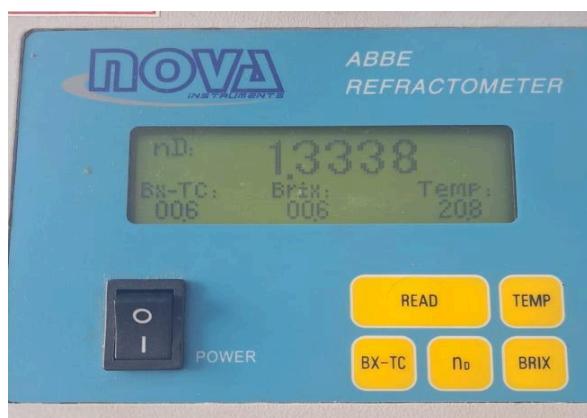
Tempo	pH
1° Dia	3,63
2° Dia (24h)	3,43
3° Dia (48h)	3,43
4° Dia (72h)	3,45

Fonte: As Autoras, 2025

5.1.6 Brix

Para medir o grau, Brix filtrou-se uma pequena quantidade da solução novamente para retirar pedaços de fibras que poderiam interromper a leitura no refratômetro. Foi utilizado um refratômetro devidamente calibrado para obter os resultados de nD (índice de refração) e brix (Bx°)

Figura 11: Medida de Sólidos Solúveis e Índice de Refração



Fonte: As Autoras, 2025

O índice de refração de 1,3339 ligeiramente superior ao da água pura (1,3330), indica que a amostra contém uma baixa concentração de solutos dissolvidos. Conforme a tabela do refratômetro Kruess, pequenos aumentos no índice de refração correspondem a pequenas quantidades de soluto na solução, o que justifica o valor obtido como representativo de uma solução aquosa diluída. O Brix° correspondente indica um baixo teor de sólidos solúveis presente na solução da biomassa.

Tabela 6: Valores Obtidos no Refratômetro em 20,8°C

Tempo	Brix°	Índice de Refração (nD)
1° Dia	00,6	1,3339
2° Dia (24h)	00,5	1,3337
3° Dia (48h)	00,5	1,3337
4° Dia (72)	00,2	1,3333

Fonte: As Autoras, 2025

5.2 Síntese do Etanol 2G

5.2.1 Preparo e Pré Tratamento da Amostra

Foram pesadas 50 gramas de amostra úmida em balança semi-analítica para realizar os processos posteriores. Na metodologia Organosolv indica-se a secagem da amostra, entretanto, foi realizado com a amostra úmida para fazer uma comparação. Na etapa de pré-tratamento foi adicionado 175,90 mL de etanol 95°GL (foi utilizado álcool de cereais), posteriormente adicionou-se 175,90 mL de acetona, 351,81 mL de $H_2O_{(d)}$, 0,8795 g de sulfato de ferro II e 4,22 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4). Após adicionar os reagentes, iniciou-se o aquecimento da solução em banho maria, nos primeiros 5 minutos de aquecimento já foi possível observar uma mudança significativa. A solução permaneceu em aquecimento por 37 minutos.

Figura 12: Característica da Biomassa após Pré-Tratamento



Fonte: As Autoras, 2025.

A biomassa apresentou na fase sólida partículas menores e depositou no fundo do béquer e na parte líquida, apresentou uma coloração verde clara (figura 12, item B), diferente da biomassa na água, que ficou com a fase líquida turva e aglomerados de biomassa. Segundo SANTOS (2019), o pré-tratamento visa a degradação da biomassa lignocelulósica em partículas menores, aumentando sua superfície de contato. Portanto, indica-se que o pré-tratamento foi concluído com sucesso.

5.2.2 Hidrólise Ácida (Método Organosolv)

Foi adicionado ao líquido pré-tratado, 300mL de etanol (95°) e 42,21mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4). A solução foi então encaminhada ao banho maria à 85°C em um

período de 37 minutos, onde se observou uma diferença na coloração da solução, o que é um indicador de que ocorreu reação no meio. Houve também formação de espuma no meio. A equação química abaixo representa a reação que ocorreu durante a hidrólise química

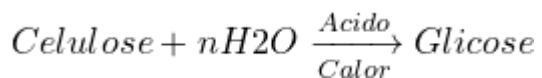


Figura 13: Característica da Solução após Hidrólise Química



Fonte: As Autoras, 2025

5.2.3 Fermentação Comercial

Para fermentar o líquido hidrolisado, pesou-se 7,5 gramas de *saccharomyces cerevisiae* e aqueceu-se uma quantidade de água de 35°C a 40°C para homogeneizar a levedura. Entretanto, para inocular a levedura é preciso uma faixa de pH de 4,0 à 5,0 (DIÓGENES; CARMO, 2021) e o pH da solução estava entre 0 e 1, o qual não permite o crescimento desse microrganismo. Portanto a fermentação comercial não pode ser realizada até o ajuste do pH, conforme (item 5.2.6.3 Medição do pH)

5.2.6.3 Medição de pH

Como mencionado no (item 5.2.3 Fermentação Comercial), o pH registrado após as etapas de pré-tratamento e hidrólise ácida estava 0,30 no pHmetro. Para ajustar o pH foi usado inicialmente hidróxido de sódio 0,1 mol, mas não houve mudanças no pH. Partiu-se então para hidróxido de sódio (pa) diluído, mas também não houve mudanças. Após uma conversa com os professores de química Gislaine Delbianco e Sérgio Delbianco Filho, chegou-se à conclusão de que a solução estava tamponada e, portanto, não seria possível modificar o pH.

Figura 14: Medição do pH da solução hidrolisada

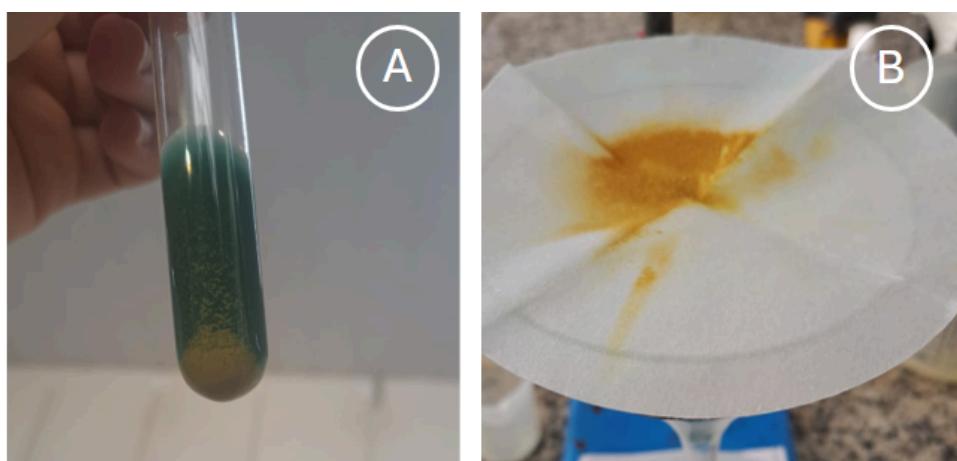


Fonte: As Autoras, 2025

5.2.6.4 Quantificação de Açúcares Redutores

Para realizar a quantificação de açúcares redutores a partir dos reagentes de Fehling, adicionou-se em um tubo de ensaio 2 mL do reativo A, 2 mL do reativo B e 2 mL da solução. Ao adicionar à solução aos reativos A e B, foi possível perceber uma diferença na cor registrada que anteriormente era azul e passou a ser verde. Continuou-se a quantificação em banho maria até a formação do precipitado, que foi de 14 minutos. Na figura 14 abaixo, é possível observar o precipitado na cor amarela e o líquido da cor esverdeada. Entretanto, a cor desejada era vermelho tijolo no precipitado e azul no líquido.

Figura 15: Precipitado Formado (A) e Filtrado (B) após Teste Fehling



Fonte: As Autoras, 2025

Discutiu-se que a coloração do precipitado e do líquido ficaram diferentes por conta da concentração do ácido presente na solução (já discutido anteriormente no item 5.2.6.3 Medição de pH). Portanto, chegou-se à conclusão de que era necessário realizar novos testes com uma menor concentração de ácido para verificar a cor do precipitado.

5.2.6.5 Brix

Para realizar o brix, retirou-se uma alíquota da solução hidrolisada sem fibras para não atrapalhar na análise. A limpeza do equipamento foi feita e adicionou-se uma gota da solução e fez a leitura.

Figura 16: Medida de Sólidos Solúveis e Índice de Refração



Fonte: As Autoras, 2025

Na figura 15 acima, é possível visualizar o visor do refratômetro indicando 18,2% Brix e um índice de refração de 1,3609. O professor de química Sérgio Delbianco Filho, ressaltou que o brix faz a medida da quantidade de sólidos solúveis numa solução e não a quantidade de açúcar disponível.

Tabela 7: Valores Obtidos antes e depois da Hidrólise Química

Amostra	Antes da Quebra	Depois da Quebra
	Celulósica (20,8°C)	Celulósica (26,5°C)
Brix°	00,6	18,2
Índice de Refração	1,3339	1,3609

Fonte: As Autoras, 2025

Entretanto, com a quebra da celulose com o resíduo branco, houve uma diferença de 17,6°Bx. Isso indica que o alto valor dos sólidos solúveis registrados é proveniente da quebra, mas não necessariamente são açúcares, por isso é realizado a quantificação de açúcares redutores.

5.2 Síntese do Etanol 2G Modificado

Após a realização das etapas conforme a metodologia de referência (MACEDO; TEODORO; BIANQUINI, 2013) foi necessário refletir sobre as fontes de erro que ocasionaram no tamponamento da solução. Lendo os trabalhos de ROCHA (2016) sobre a hidrólise ácida do albedo de laranja lima e DIAS et al, 2019 sobre hidrólise ácida com sorgo conífero, percebeu-se que a porcentagem de ácido usada para realizar a hidrólise, foi de 1%. Não foi possível reduzir o volume de ácido sulfúrico para 1% utilizando 10 gramas de biomassa, esse volume tornou-se insuficiente, portanto, usou-se 10% de ácido. Segundo o método usado de referência, tanto o original quanto o modificado usaram mais de 20% de ácido para realizar a quebra. Entretanto, os trabalhos em que esta pesquisa foi baseada, não tiveram problemas referente ao ajuste de pH, reforçando, portanto, que cada biomassa reage de uma forma.

Tabela 8: Tabela de Modificações feitas para melhorar teste

Repetições	Etapas Empregadas para Quebra Celulósica
Amostra 1	Pré-Tratamento Físico + Hidrólise Ácida Modificado (MACEDO; TEODORO; BIANQUINI, 2013)
Amostra 2	Pré-Tratamento Físico + Hidrólise Ácida 10%
Amostra 3	Pré-Tratamento Ácido + Hidrólise Ácida (MACEDO; TEODORO; BIANQUINI, 2013)
Amostra 4	Pré-Tratamento Ácido + Hidrólise Ácida 10%

Fonte: As Autoras, 2025

Tornou-se necessário, portanto, repetir os processos com uma menor quantidade de ácido e também com um pré-tratamento diferente, já que a etapa de pré-tratamento também faz uso de ácido sulfúrico. Além disso, dessa vez a biomassa foi seca, ao invés de utilizar mufla, o Braspolpa® foi seco em exposição ao sol por 2 dias. A tabela 8 acima, dispõe das modificações e das amostras realizadas.

5.2.1 Pré-Tratamento Modificado

Para realizar o pré-tratamento físico mencionado na tabela 8 foi preciso inicialmente secar a biomassa. Diversas metodologias fazem o uso de estufa para retirar a umidade e secar a biomassa, neste caso, foi utilizado a exposição solar. A biomassa ficou secando por 2 dias no sol e após a secagem, foi feita uma Trituração em um moedor de milho no intuito de diminuir o Braspolpa® em partículas menores, tornando acessível a quebra ácida.

Figura 17: Braspolpa® Seco Triturado (A) e sem Triturar (B)



Fonte: As Autoras, 2025.

Nas amostras 3 e 4 indicadas na tabela 8, também utilizou-se a biomassa triturada para avaliar a eficiência do pré-tratamento ácido em conjunto com o pré-tratamento físico. Na amostra 3 foi adicionado 35,18 mL de etanol, 35,18 mL de acetona, 70,36 mL de H₂O (d), 0,1750 g de sulfato de ferro e 0,8 mL de ácido sulfúrico. Na amostra 4 foi adicionado também, 35,18 mL de etanol 95° e de acetona, 70,36 mL de H₂O (d), 0,175g de sulfato de ferro e 0,8 mL de ácido sulfúrico. As amostras foram aquecidas em banho maria por 30 minutos a uma

temperatura de 85°C. Após esse período, percebeu-se uma leve mudança na coloração e pouca formação de espuma. Desta vez não foi possível ver a desfragmentação da biomassa por conta do processo mecânico feito com o Braspolpa®.

5.2.2 Hidrólise Ácida

Como mencionado anteriormente, todas as quatro amostras foram submetidas à etapa de hidrólise. No bêquer correspondente à Amostra 1, foram adicionados 60 mL de etanol (95°) e 8,4 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4). Para a Amostra 2, foram empregados 60 mL de etanol (95°) e 1 mL de ácido sulfúrico. Já na Amostra 3, a composição foi de 8,45 mL de ácido sulfúrico, 70,35 mL de etanol (95°) e 70,36 mL de água destilada H_2O (d). Por fim, na Amostra 4, adicionaram-se 1 mL de ácido sulfúrico, 70,35 mL de etanol (95°) e H_2O (d) em volume correspondente. As amostras foram aquecidas em banho-maria a uma temperatura média de 90 °C, durante um período de 30 a 60 minutos. Inicialmente, os procedimentos foram realizados com as amostras 1 e 2.

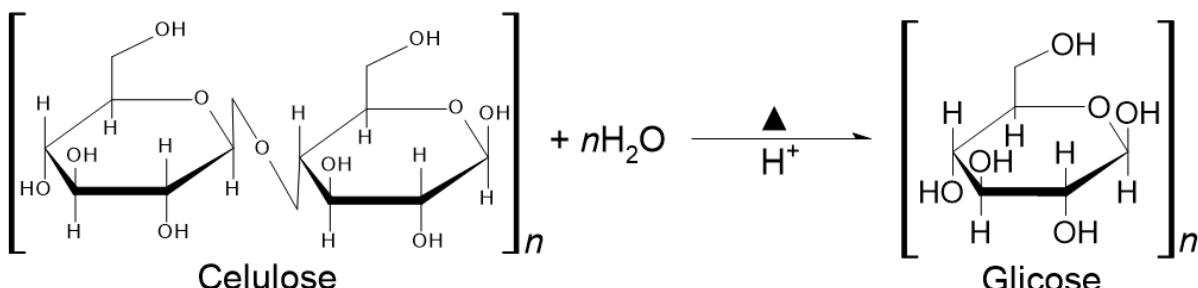
Figura 18: Amostra 1 e 2 (A) e 3 e 4 (B) na Etapa de Hidrólise Ácida



Fonte: As Autoras, 2025

Na Amostra 1, não foi adicionada água, uma vez que essa etapa está relacionada ao pré-tratamento ácido, não sendo necessária durante a hidrólise etanólica. Assim, o líquido presente no béquer era composto exclusivamente por etanol e ácido sulfúrico. Considerando que o ponto de ebulação do etanol é aproximadamente 78,5°C e a hidrólise foi conduzida a 90°C, observou-se a ebulação do etanol. Para minimizar a perda do solvente orgânico, o sistema foi parcialmente vedado com papel alumínio. Além disso, devido à perda de volume observada durante o aquecimento, foi necessário adicionar 50 mL de água destilada, tanto para facilitar a medição do pH quanto para viabilizar a etapa posterior de fermentação.

Figura 19: Reação da Hidrólise da Celulose



Fonte: As Autoras, 2025

A reação química acima (figura 18) equaciona o processo feito com a biomassa. O ácido e o calor atuam como catalisadores, protonando as ligações glicosídicas β -(1,4) da celulose, a água então ataca essas ligações enfraquecidas, convertendo a celulose em seus monômeros de glicose (açúcares simples).

5.2.3 Fermentação Comercial

Para a etapa de fermentação, foram utilizados, em cada uma das quatro amostras, aproximadamente 4 g de levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Após a pesagem, 20 mL de água destilada foram aquecidos até atingir uma temperatura de 35 °C, com o objetivo de promover a dissolução e ativação das leveduras.

Em seguida, foi realizada a oxigenação das amostras, procedimento que consistiu na transferência sucessiva do conteúdo de um béquer para outro, a fim de favorecer um crescimento celular saudável e otimizar o processo de respiração anaeróbica facultativa característico da espécie *S. cerevisiae*.

Figura 20: Amostras 1,2,3 e 4 no 1º Dia de Processo Fermentativo



Fonte: As Autoras, 2025

Essa levedura é classificada como um microrganismo mesófilo, ou seja, apresenta melhor desempenho em faixas intermediárias de temperatura. De acordo com a literatura, seu crescimento ideal ocorre entre 20 °C e 38 °C. Durante o experimento, a temperatura ambiente registrada no momento da inoculação foi de 20,8 °C, mantendo-se entre 20 °C e 25 °C até o quarto dia do processo fermentativo.

O monitoramento das amostras foi realizado dois dias após a inoculação da levedura, quando se observou, nas amostras 2 e 4, um odor característico de álcool, distinto do verificado no início da fermentação. Nessas mesmas amostras, também foi possível notar a formação de bolhas na superfície, indicativo visual da ocorrência de atividade fermentativa, conforme descrito por SÁNCHEZ-ROCA (2024).

No quarto dia de fermentação, constatou-se aumento na formação de bolhas nas Amostras 2, 3 e 4. O odor alcoólico tornou-se mais intenso nas Amostras 2 e 4, enquanto na Amostra 3 observou-se um cheiro forte e cítrico. A Amostra 1, por sua vez, não apresentou odor característico de álcool, mantendo apenas o cheiro típico do resíduo de Braspolpa®; contudo, foi possível visualizar bolhas ascendendo do fundo da garrafa PET, sugerindo leve atividade fermentativa.

No quinto dia de fermentação, optou-se por interromper o processo fermentativo. A Amostra 2 apresentava, neste momento, um odor amargo, enquanto a Amostra 4 mantinha o cheiro característico de álcool. Já a Amostra 3 apresentava um odor adocicado, e a Amostra 1 continuava sem indícios claros de formação de etanol. Durante a supervisão do experimento, a Prof.^a Dr.^a Margarete Galzerano Francescato recomendou a interrupção antecipada do processo e sugeriu que o

odor identificado na Amostra 3 poderia estar relacionado à formação de acetato. As amostras foram vedadas e armazenadas na geladeira do laboratório de química, conforme a figura 21, para posteriores análises físico-químicas.

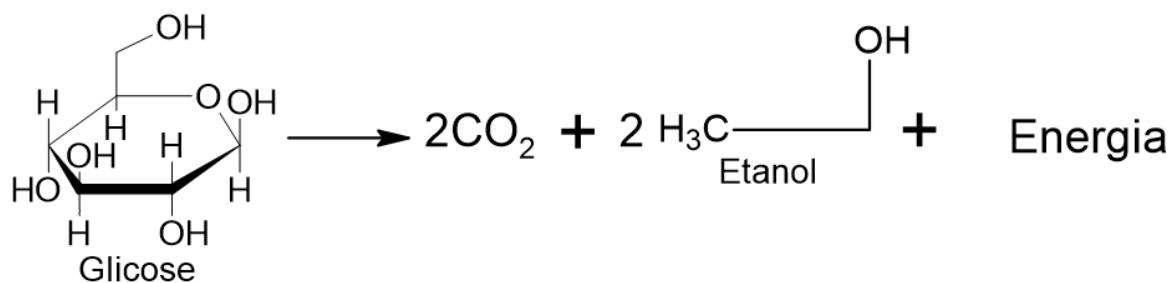
Figura 21: Amostras Armazenadas em Geladeira



Fonte: As Autoras, 2025

A reação apresentada na Figura 21 ilustra, de forma simplificada, o processo químico que ocorre durante a fermentação alcoólica. Nesse processo, a glicose presente no líquido hidrolisado é absorvida pela levedura, que a utiliza como fonte de energia para manter suas funções metabólicas vitais. Como resultado, ocorre a conversão da glicose em etanol, dióxido de carbono (CO_2) e energia, representando a transformação bioquímica fundamental da fermentação.

Figura 22: Reação do Processo Fermentativo



Fonte: As Autoras, 2025

5.2.4 Destilação

A destilação foi conduzida utilizando um sistema de destilação simples. Após a montagem do aparato, verificou-se o fluxo adequado de água no condensador para garantir o resfriamento, e a amostra 2 foi transferida para o balão de destilação. Quando a temperatura atingiu aproximadamente 75 °C, observou-se o início da ebulição, indicando a aproximação do ponto de ebulição do etanol.

Para manter a temperatura dentro da faixa desejada, foi necessário desligar periodicamente a chama do bico de Bunsen, religando-a apenas após o resfriamento parcial do sistema. Esse procedimento prolongou o processo, que durou cerca de 1h30min e resultou na obtenção de apenas 1 mL de destilado.

Figura 23: Sistema de Destilação Simples



Fonte: As Autoras, 2025

O líquido coletado apresentou coloração turva, sugerindo que o destilado não era composto exclusivamente por etanol, mas continha impurezas, possivelmente água e partículas provenientes da borra. Diante dessas características, o método mais adequado para a separação seria a destilação fracionada, uma vez que esse sistema utiliza uma coluna de fracionamento capaz de separar líquidos miscíveis com pontos de ebulição próximos, como o etanol (78 °C) e a água (100 °C), aumentando a eficiência e a pureza do produto destilado.

5.2.6.3 Medição de pH

Para a verificação do pH das amostras e com o intuito de otimizar a etapa de fermentação, foram adicionados aproximadamente 200 mL de água destilada H₂O

(d) a cada uma das amostras. Em seguida, foi realizado o registro do pH inicial (conforme apresentado na Tabela 9) e procedeu-se à correção do pH por meio da adição de hidróxido de sódio (NaOH). Para essa etapa, preparou-se uma solução diluída de NaOH em um bêquer de 50 mL, utilizando uma quantidade qualitativa do reagente (equivalente a uma espátula). Essa solução foi gradualmente adicionada às amostras até a obtenção de pH próximo a 4,5, valor considerado ideal para o início da fermentação.

No caso específico da Amostra 1, o hidróxido de sódio sólido foi adicionado diretamente, sem diluição, em razão do pH extremamente baixo (0,30). Já nas demais amostras, empregou-se a solução diluída de NaOH, complementada pela adição qualitativa de água deionizada, a qual também contribuiu para a elevação gradual do pH. Cabe ressaltar que, em comparação à primeira medição de pH (item 5.2.6.3 – Medição de pH), esta etapa apresentou maior facilidade de ajuste. Tal diferença pode ser atribuída a diversos fatores, entre eles: o pré-tratamento físico do material, que reduziu a necessidade de ácido; a maior quantidade de água utilizada antes da medição do pH; a quantidade de Braspolpa® empregada; e, principalmente, a diminuição do teor de ácido nas etapas anteriores do processo. O produto destilado apresentou pH 6, conforme indica a resolução ANP Nº 19/2015 (tabela 4), medida registrada como característica do Etanol Hidratado Combustível (EHC).

Tabela 9: Registro de pH das amostras

pH	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4
Inicial	0,30	0,36	1,64	1,45
Final	4,55	4,56	4,52	4,57

Fonte: As Autoras, 2025.

5.2.6.4 Quantificação de Açúcares Redutores

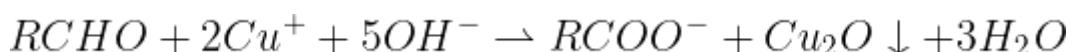
Para realizar o teste Fehling, dispõe de um tubo de ensaio onde foram adicionados 2 mL de solução de Fehling A e 2 mL de solução de Fehling B. Após a adição, a mistura foi homogeneizada e, em seguida, incorporados 2 mL da amostra hidrolisada. Esse processo foi aplicado nas 4 amostras. O tubo foi então submetido a um banho-maria pré-aquecido a 70°C, onde permaneceu em aquecimento até a formação de precipitado, o que ocorreu em um tempo médio de 15 minutos.

Figura 22: Precipitado Formado após Teste Fehling



Fonte: As Autoras, 2025.

Obteve-se resultados positivos nas quatro amostras, caracterizadas pela aparição de uma coloração avermelhada, o que indica a presença de açúcares redutores. A formação de precipitados avermelhados surge devido a reação abaixo:



Segundo PEREIRA et al, 2016 a reação de Fehling é um teste químico utilizado para identificar a presença de açúcares redutores ou compostos que possuem grupos aldeídios (-CHO). O reagente é formado por duas soluções: a Solução A, com sulfato de cobre (II) ($CuSO_4$), e a Solução B, com hidróxido de sódio ($NaOH$) e tartarato duplo de sódio e potássio, que mantém o cobre solúvel em meio alcalino.

Quando misturadas, formam um complexo azul de cobre (II). Durante o teste, os açúcares redutores reduzem os íons Cu^{2+} a Cu^+ , formando um precipitado vermelho de óxido cuproso (Cu_2O), resultado positivo da reação. Se não houver compostos redutores, a solução permanece azul.

5.2.6.5 Grau Brix

A avaliação das amostras foi realizada por meio de um refratômetro, no qual foi depositada uma gota da mistura para a leitura do grau Brix de cada amostra. Os

valores obtidos foram: 17,3 para a Amostra 1, 20,5 para a Amostra 2, 4,8 para a Amostra 3 e 3,6 para a Amostra 4. Após discussão com a Prof.^a Me. Jéssica Macedo, levantou-se a hipótese de que os resultados referentes às Amostras 3 e 4 apresentaram erro de leitura, uma vez que havia indícios de quebra das ligações glicosídicas nas etapas anteriores do processo, o que poderia alterar a concentração de açúcares detectável pelo refratômetro. Como recomendação para maior confiabilidade nas análises, sugeriu-se a utilização da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Segundo Bioquímica Brasil (2019), o diferencial dessa técnica está em sua alta seletividade para diferentes monossacarídeos e dissacarídeos, permitindo sua quantificação simultânea em uma única análise. A CLAE é amplamente empregada para determinar açúcares como glicose, frutose e sacarose. Contudo, ressalta-se que o laboratório de Química da instituição não dispõe atualmente desse equipamento, o que inviabilizou a aplicação da técnica no presente estudo.

6. CONCLUSÃO

A dependência histórica e crescente dos combustíveis fósseis, juntamente com seus impactos ambientais, como o aumento da concentração de gases estufas na atmosfera e as consequentes mudanças climáticas, se caracterizam como um dos maiores parâmetros da emergente ameaça que assombram a população mundial. Em contexto ao mercado internacional, o Brasil se demonstra um dos pioneiros na criação e implantação de políticas voltadas para estes tipos de problemas, com uma solução que valoriza a biodiversidade brasileira e seus recursos naturais: os biocombustíveis.

O projeto se propôs a desenvolver metodologias para a quebra de matéria lignocelulósica a fim de desenvolver etanol de segunda geração (E2G) analisando o potencial do subproduto sólido denominado Braspolpa®, rico em fibras celulósicas, como matéria-prima. Atingindo objetivos relacionados ao principal produto; atender às metas do ODS 13 relacionadas ao combate às mudanças climáticas, compreender as propriedades da celulose e lignina, caracterizando o etanol produzido, conhecer a legislação aplicável, aplicando princípios da bioeconomia circular e adotar uma metodologia econômica e produtiva em pequena escala.

Analisa-se que a biomassa lignocelulósica representa uma fonte promissora e sustentável para a produção de etanol de segunda geração, desde que submetida a pré-tratamentos adequados que possibilitem a eficiente conversão da celulose em açúcares fermentáveis. A diversidade de métodos de pré-tratamento e hidrólise, evidencia o avanço tecnológico necessário para superar os desafios inerentes à estrutura complexa da biomassa. A fermentação, e a purificação do etanol por destilação são etapas fundamentais para garantir a viabilidade do processo. A integração da produção de biocombustíveis à bioeconomia circular e o alinhamento com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável reforçam o papel estratégico dessa tecnologia na mitigação das mudanças climáticas.

Nos estudos e atividades práticas, o pré-tratamento físico da biomassa visa aumentar a área de superfície e o contato, além de reduzir o tamanho das cadeias poliméricas, sem adicionar reagentes. Em seguida, a hidrólise ácida, pelo método Organosolv, usa um solvente orgânico em mistura aquosa e um catalisador ácido para quebrar as ligações glicosídicas, degradando a celulose. Na fermentação, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é empregada pela sua eficiência e resistência a

condições adversas. A purificação do etanol ocorre principalmente por destilação, técnica eficaz e comum na indústria petrolífera.

O processo iniciou com o preparo de duas amostras onde foram realizadas sem e com a quebra das ligações glicosídicas, apresentando 0,6°Bx e 18,2°Bx, demonstrando que a etapa de hidrólise da celulose é imprescindível. Entretanto, o processo fermentativo não foi realizado por um suposto tamponamento do líquido hidrolisado resultando na interrupção do ciclo de vida das leveduras comerciais. Posteriormente, foi necessário elaborar 4 amostras com metodologias alternativas, envolvendo pré-tratamento ácido e físico, além de hidrólise ácida com diferentes concentrações de ácido. A quantificação de açúcares por meio do precipitado vermelho-tijolo, demonstrou que a quebra das ligações glicosídicas foi o suficiente para liberar açúcares redutores. Desta forma, foi possível realizar a fermentação das 4 amostras não sendo encontrado problemas em corrigir o pH das amostras. Por fim, detectou-se produção de álcool em duas amostras hidrolisadas.

Conclui-se que, para viabilizar a produção de etanol de segunda geração (E2G) a partir do Braspolpa®, é essencial aprimorar as metodologias de pré-tratamento, hidrólise e fermentação, buscando alternativas mais eficientes e inovadoras que aumentem a liberação de açúcares fermentáveis. O desenvolvimento de técnicas avançadas permite não somente otimizar a conversão da biomassa e elevar o rendimento do etanol, mas também promover o aproveitamento integral de resíduos de citriculturas, fortalecendo os princípios da bioeconomia circular. A combinação entre recursos naturais abundantes, biodiversidade, infraestrutura consolidada do setor sucroenergético e investimento em pesquisa e inovação posiciona o país como um dos líderes em potencial no desenvolvimento e produção sustentável de biocombustíveis de segunda geração, contribuindo significativamente para a transição energética e a redução das emissões de gases de efeito estufa.

REFERÊNCIAS

A SHORT History of Biofuels. Disponível em:

<https://lee-enterprises.com/a-shorthistory-of-biofuels/>. Acesso em: 07 dez. 2024.

ACORDO de Paris sobre o Clima. ONU, 2015. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/88191-acordo-de-paris-sobre-o-clima>. Acesso em: 06 jan. 2025.

ANDRADE, Thales Haddad Novaes De; LORENZI, Bruno Rossi. O etanol de segunda geração no brasil: políticas e redes sociotécnicas. SciELO, 2019.

Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rbcsoc/a/j5wbgmgNHJcNh8YDM7L98Gzx/?lang=pt>. Acesso em: 08 jan. 2025.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS – ANP. Resolução ANP nº 19, de 15 de maio de 2015. Estabelece as especificações do etanol anidro combustível e do etanol hidratado combustível. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br>. Acesso em: 15 jul. 2025

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. Resolução ANP nº 7, de 09 de fevereiro de 2011. Estabelece as especificações do álcool etílico anidro ou hidratado combustível, contidas no Regulamento Técnico ANP nº 3/2011, e define obrigações quanto ao controle de qualidade. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 10 fev. 2011. Disponível em: <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=115852> . Acesso em: 15 jul. 2025.

ARAUJO, Michelle Fernandes. Integração dos processos de produção de etanol de segunda geração e biodiesel. 2021. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2021. Disponível em: araudo_michellefernandes_m.pdf. Acesso em: 07 jan. 2025.

BARROSO, Marlon do Valle. A Poderosa Diversidade Microbiana do Rúmen pode ser a Chave para a Produção de Biocombustível. 2022. Disponível em: <https://elevagro.com/blog/a-poderosa-diversidade-microbiana-do-rumen-pode-ser-a-chave-para-a-producao-de-biocombustivel/> Acesso em 28 dez. 2024

BERECHÉ, Reynaldo Palacios. rModelagem e integração energética do processo de produção de etanol a partir da biomassa de cana-de-açúcar. 2011. Tese (Pós-Graduação em Engenharia Mecânica) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2011. Disponível em:
<https://1library.org/document/q51e49ry-modelagem-integracaoenergetica-processo-producao-partir-biomassa-acucar.html> Acesso em: 04 jan. 2025.

BIOCOMBUSTÍVEIS: Afinal, Quais são as suas Vantagens? 2021. Disponível em:
<https://www.raizen.com.br/blog/biocombustiveis#:~:text=Biocombustíveis%20são%20combustíveis%20produzidos> Acesso em: 07 dez. 2024

BIOCOMBUSTÍVEIS: afinal, quais são as suas vantagens?. Raízen, 2021. Disponível em: <https://www.raizen.com.br/blog/biocombustiveis>. Acesso em: 07 jan. 2025.

BIOMASS Development For The Hydrolysis Of Lignocellulosic Biomass. Disponível em: <https://celignis.com/bioprocess-hydrolysis.php> Acesso em: 04 jan. 2025.

BOSCHIERO, Beatriz Nastaro. Biocombustíveis: Conheça as 4 gerações que vão de etanol à biocombustíveis sintéticos. 2024. Disponível em:
<https://agroadvance.com.br/blog-biocombustiveis-conheca-as-4-geracoes/> Acesso em: 07 dez. 2024.

BRASIL. Brasil avança no setor de biocombustíveis. gov.br, 2021. Disponível em:
<https://www.gov.br/pt-br/noticias/energia-minerais-ecombustiveis/2021/07/brasil-avanca-no-setor-de-biocombustiveis>. Acesso em: 07 jan. 2025.

BRASIL. Etanol. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 2024. Disponível em:
<https://www.gov.br/anp/pt-br/assuntos/producao-e-fornecimento-de-biocombustiveis/etanol>. Acesso em: 08 jan. 2025.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. O Que é a Lei do Bem. [Brasília] MCTI, 21 mar. 2023. Disponível em:
<https://www.gov.br/mcti/ptbr/acompanhe-o-mcti/lei-do-bem/paginas/o-que-e-a-lei-do-bem> Acesso em: 04 jan. 2025.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. RenovaBio - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. [Brasília] MME. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/assuntos/renovabio> Acesso em: 07 jan. 2025.

CALDAS, Leonardo Araujo. Perspectivas da substituição gradual de termelétricas a combustíveis fósseis por sistemas fotovoltaicos em microgeração distribuída. 2017. Dissertação (Mestrado em Energias Renováveis) - Centro de Energias Alternativas e Renováveis, Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/12709/1/Arquivototal.pdf>. Acesso em: 05 jan. 2025.

CAMARGO, Kelly Cristina Costa. Estudo sobre a viabilidade de produção do etanol de primeira geração e etanol de segunda geração. 2023. Dissertação (Mestrado em Eficiência Energética e Sustentabilidade) - Faculdade de Engenharias, Arquitetura e Urbanismo e Geografia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Mato Grosso do Sul, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufms.br/retrieve/-/DissertacaodeMestradoKellyCristinaCostaCamargo.pdf>. Acesso em: 06 jan. 2025.

COSME, Ana Luiza. Hidrólise- O Que É, Tipos, Importância e Aplicações. [2025?]. Disponível em: <https://123ecos.com.br/docs/hidrolise/> Acesso em: 03 jan. 2025.

CRUZ, Cintia. Combustíveis fósseis: tipos, vantagens e soluções. [2024?]. Disponível em: <https://123ecos.com.br/docs/combustiveis-fosseis/>. Acesso em: 05 jan. 2025.

COSTA, Décio Fabrício Oddone da. Resolução ANP Nº 758 DE 23/11/2018. Disponível em: Resolução ANP Nº 758 DE 23/11/2018 - Federal – LegisWeb. Acesso em: 6 abr 2025.

DIAS, Warlen Agnelo; MILANI, Laura Fernandes; FERREIRA, Layse Caixeta; COUTINHO FILHO, Ubirajara. Hidrólise ácida com sorgo granífero. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 1., 2019, São Paulo. Anais... São Paulo: Editora Blucher, 2019. p.2548-2554. Disponível em:

<https://pdf.blucher.com.br/chemicalengineeringproceedings/cobecic2019/PBIO21.pdf>
. Acesso em: 19 out. 2025.

ETANOL de Segunda Geração: potencial e oportunidades. 2023. Disponível em:
<https://www.raizen.com.br/blog/etanol-de-segunda-geracao> Acesso em: 07 de. 2024.

ETANOL: O que é, Produção e Benefícios. Disponível em:
<https://www.ecycle.com.br/etanol/> Acesso em: 07 dez. 2024.

ETHANOL Metabolism. 2022. Disponível em:
<https://www.lecturio.com/concepts/ethanol-metabolism/> Acesso em: 07 dez. 2024.

KRISHNA, S. H.; RAO, K. C. S.; BABU, J. S.; REDDY, D. S. Studies on the production and application of cellulose from *Trichoderma reesei* QM-9414. *Bioprocess Engineering*, v.22, p.467-470, 2000. Disponível em: Studies on the production and application of cellulase from *Trichoderma reesei* QM-9414 | *Bioprocess and Biosystems Engineering*. Acesso em: 19 mar 2025.

IBERDROLA. As consequências do efeito estufa: da desertificação as inundações. [2025?]. Disponível em:
<https://www.iberdrola.com/sustentabilidade/consequencias-efeito-estufa>. Acesso em: 06 jan. 2025.

IBP. Os biocombustíveis e sua importância para a transição energética brasileira. Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás, [2024?]. Disponível em:
<https://www.ibp.org.br/personalizado/uploads/2024/05/a-importancia-dosbiocombustiveis-na-transicao-energetica-no-brasil-portugues.pdf>. Acesso em: 08 jan. 2025.

LIN, Yan., TANAKA, Shuzo. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. 2006. *Appl Microbiol Biotechnol* 69, 627–642 (2006). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0229-x> Acesso em: 04 jan. 2025.

LIU, Xingyan; JIA, Bing; SUN, Xiaochuan; AI, Jianguo; WANG, Lizhen; WANG, Chu; ZHAO, Fen; ZHAN, Jingjing; HUANG, Weidong. Effect of Initial PH on Growth Characteristics and Fermentation Properties of *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Food Science**, [s.l.], v. 80, n. 10, p. M2273-M2281, out. 2015. Disponível em:

<https://dictionary.cambridge.org/dictionary/portuguese-english/artigo>. Acesso em: 14 set. 2025.

MACEDO, Jéssica Carolina Paschoal de; TEODORO, Talitha Gonçalves; BIANQUINI, Tatiane Silveira. Eanol à base de resíduos orgânicos. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Técnico em Química) - Escola Técnica Trajano Camargo, Limeira, 2012.

MADIGAN, Michael T.; BENDER, Kelly S.; BUCKLEY, Daniel H.; SATTLEY, W. Matthew; STAHL, David A. Brock Biology of Microorganisms. 16. ed. Harlow: Pearson Education Limited, 2021. p. 115–125. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/340717858_Brock_Biology_of_Microorganisms_16e. Acesso em: 7 maio 2025.

MEDEIROS, A. G. Utilização de líquidos iônicos na obtenção de glicose a partir de matérias lignocelulósicos e no estudo mecanístico da reação de UGI. 2014. Tese (Mestrado em Química) – Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

NIMANGRE, Laxman S.; PATIL, Pranali P.; SANKPAL, Poournima S.; PATIL, Dr. Sachinkumar V. Ethanol Production, Purification, and Analysis Techniques. IJCRT. Kolhapur, v. 9, p. 117-127, 2021. Disponível em: <https://ijcrt.org/papers/IJCRT2107433.pdf> Acesso em: 02 jan. 2025.

NOGUEIRA, Matheus Vigo Vercesi Almada. Braspolpa® : Alimento Sustentável para Animais. 2017. Limeira, 2017. Disponível em: <https://www.fiesp.com.br> Acesso em: 27 dez. 2024.

O QUE é Bioeconomia Circular. 2023. Disponível em: <https://sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-que-e-a-bioeconomiacircular,760d6f102af94810VgnVCM100000d701210aRCRD#:~:text=A%20bioeconomia%20circular%20é%20um%20conceito%20econômico%20que,utilizar%20matériasprias%20de%20origem%20natural%20em%20ciclos%20fechados> Acesso em 27 dez. 2024.

O QUE são biocombustíveis. Disponível em: <https://cbie.com.br/biocombustiveis/> Acesso em: 07 dez. 2024. .

OPENSTAX. Biology for AP® Courses. Houston: OpenStax, 2018. Cap. 6, seção 6.5 – Enzymes, p. 178–183. Disponível em: <https://d3bxy9euw4e147.cloudfront.net/oscms-prodcms/media/documents/APBiology-LR.pdf>. Acesso em: 7 maio 2025.

OPENSTAX. Biology for AP® Courses. Houston: OpenStax, 2018. Cap. 13 – Biological Diversity, sub-seção sobre fungi (yeasts), p. 392–397. Disponível em: <https://d3bxy9euw4e147.cloudfront.net/oscms-prodcms/media/documents/APBiology-LR.pdf>. Acesso em: 7 maio 2025.

PEREIRA, Simone Cristina L.; GALLINA, André L.; BANCZEK, Everson P.; MAIA, Guilherme A. R.; RODRIGUES, Paulo Rogério P. Estudo da Produção de Álcool Utilizando como Matéria-Prima a *Cyperus esculentus* (Tiririca). Revista Virtual de Química, [S. I.], v. 8, n. 5, p. 1510-1523, 2016. Disponível em: <http://static.sites.sjq.org.br/rvq.sjq.org.br/pdf/v8n5a18.pdf>. Acesso em: 19 out. 2025.

PRÓALCOOL - Programa Brasileiro de Álcool. 2012. Disponível em: <https://www.biodeselbr.com/proalcool/pro-alcool/programa-etanol> Acesso em: 07 jan. 2025.

PINKERT, A. MARSH, K. N. PANG, S. STAIGER, M. P. Ionic Liquids and Their Interaction with Cellulose. *Chem. Rev.*, v. 109, p. 6712-6728, 2009.

PRODUÇÃO de biocombustíveis no Brasil alinhada com o Desenvolvimento Sustentável. 2022. Disponível em: <https://www.entreosolos.org.br/producao-debiocombustiveis-no-brasil-alinhada-com-o-desenvolvimento-sustentavel/> Acesso em: 27 dez de 2024.

RABELO, Sarita Cândida

RAMOS, P.; PELEGREN, R. A. M. A trajetória da agroindústria canavieira paulista: do próalcool à crise na década de 1990. *Anais do Congresso Brasileiro de História Econômica e Congresso Internacional de História de Empresas*. v.14, 2019

ROCHA, Glauco Yves Gomes dos Santos. Hidrólise ácida do albedo de laranja lima. 2016. Dissertação (Mestrado em Energia da Biomassa) – Programa de Pós-Graduação em Energia da Biomassa, Centro de Ciências Agrárias,

Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2016. Disponível em:
<https://repositorio.ufal.br/bitstream/riufal/1628/1/Hidr%C3%B3lise%20%C3%A1cida%20do%20albedo%20de%20laranja%20lima.pdf>. Acesso em: 19 out. 2025.

RUBIN, Edward. Genomics of Cellulosic Biofuels. *Nature*. Londres, v. 454, p. 841-845, 2008. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature07190> . Acesso em: 02 jan. 2025.

SÁNCHEZ-ROCA, Ángel; LATORRE-BIEL, Juan-Ignacio; JIMÉNEZ-MACÍAS, Emilio; SÁENZ-DÍEZ, Juan Carlos; BLANCO-FERNÁNDEZ, Julio. The characterization of the alcoholic fermentation process in wine production based on acoustic emission analysis. *Applied Sciences*, [S. I.], 2024. Disponível em: [Link do Artigo, se disponível]. Acesso em: 19 out. 2025.

SANTOS, Liliana Andréa dos. Potencial de Geração de Biogás a partir de Resíduos Agroindustriais de Frutas. 2019. Tese (Pós-Graduação em Engenharia Cívil) Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2019. Disponível em:
<https://1library.org/document/q0g5lxxz-potencial-de-geracao-biogas-partir-residuos-agroindustriais-frutas.html> Acesso em: 04 jan. 2025.

SILVA, Joyce Cristiane N.; CARMO, João Pedro M. Laudo de Análise. 2024. Departamento de Zootecnia – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” ESALQ.

SILVA, Ana Beatriz Pajote Matado de Sá. Solubilidade de princípios ativos em água através de líquidos iônicos biocompatíveis. 2020. Tese (Mestrado em Bioquímica) - Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2020.

TAMERS, Murry. A Diferença entre Bioetanol e Etanol de Petróleo. 2006. Disponível em:
<https://www.betalabservices.com/portugues/biocombustiveis/petroleo-etanol.html>. Acesso em: 07 dez. 2024.

XU, Rui; DOSKALIUK, Nataliia; PANG, Bo; XU, Jiayun; XU, Wenyang; XU, Chunlin; ANTONIETTI, Markus; FILONENKO, Svitlana. Hemicellulose from mild extraction of biomass: Revealing structural insights and advancing potential value. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, [S. I.], v. 10, 2025. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S266683892400030X>. Acesso em: 19 out. 2025.

ZAMBON, Sandra. Estudo da Desconstrução e valorização de biomassa lignocelulósica. 2019. Disponível em: <https://www5.iqsc.usp.br/2019/estudo-dadesconstrucao-e-valorizacao-de-biomassa-lignocelulosica/> Acesso em: 27 dez. 2024.

ZHAO, Xuebing; ZHANG, Lihua; LIU, Dehua. Biomass recalcitrance. Part II: Fundamentals of different pre treatments to increase the enzymatic digestibility of lignocellulose. SCI. New York, v. 6, p. 561-579, 2012. Disponível em: <https://scijournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bbb.1350>. Acesso em: 04 jan. 202

ZHENG, Yi; ZHAO, Jia; XU, Fuqing; LI, Yebo. Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Enhanced Biogas Production. ScienceDirect. v. 42, p. 35-53, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0360128514000021?via3Dihub>, Acesso em 04 jan. 2025.