



UFOP

Universidade Federal
de Ouro Preto

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE MINAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA AMBIENTAL



HEITOR RÓGER ALVES E DIAS

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA DIGESTÃO
ANAERÓBIA DE HIDROLISADO HEMICELULÓSICO GERADO PELO PRÉ-
TRATAMENTO POR AUTO-HIDRÓLISE DO BAGAÇO DE MALTE

TRABALHO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

Ouro Preto, 2017

HEITOR RÓGER ALVES E DIAS

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA DIGESTÃO ANAERÓBIA DE HIDROLISADO HEMICELULÓSICO GERADO PELO PRÉ-TRATAMENTO POR AUTO-HIDRÓLISE DO BAGAÇO DE MALTE

Monografia apresentada ao curso de Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Ouro Preto como parte dos requisitos para a obtenção de Grau em Engenharia Ambiental.

Orientador: Bruno Eduardo Lobo Baêta

Co-orientador: Paulo Henrique de Miranda Cordeiro

Ouro Preto, 2017

A474a

Alves e Dias, Heitor Róger .

Avaliação da produção de biogás a partir da digestão anaeróbia de hidrolisado hemicelulósico gerado pelo pré-tratamento por auto-hidrólise do bagaço de malte [manuscrito] / Heitor Róger Alves e Dias. - 2018.

70f.: il.: color; grafs; tabs.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Eduardo Lobo Baêta .

Coorientador: Prof. MSc. Paulo Henrique de Miranda Cordeiro.

Monografia (Graduação). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Minas. Departamento de Engenharia Ambiental.

1. Resíduo lignocelulósico . 2. Bagaço de malte. 3. Auto-hidrólise. 4. Biogás .
5. Biocombustível . I. Baêta , Bruno Eduardo Lobo . II. Cordeiro, Paulo Henrique de Miranda . III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Titulo.

CDU: 504

Catálogo: ficha@sisbin.ufop.br

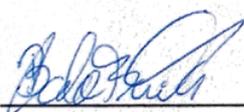
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
Universidade Federal de Ouro Preto – Escola de Minas
Colegiado do Curso de Engenharia Ambiental - CEAMB
Campus Universitário Morro do Cruzeiro-S/N - CEP:35400-000 Ouro Preto – MG
Brasil - Tel.: (31) 3559.1542 – e-mail: ceamb@em.ufop.br

Folha de Aprovação

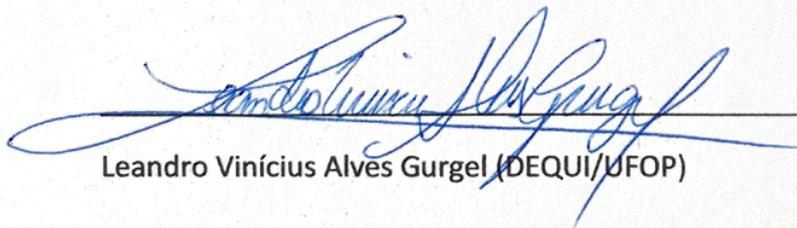
Heitor Róger Alves e Dias

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA DIGESTÃO ANAERÓBIA DE
HIDROLISADO HEMICELULÓSICO GERADO PELO PRÉ- TRATAMENTO POR AUTO-
HIDRÓLISE DO BAGAÇO DE MALTE

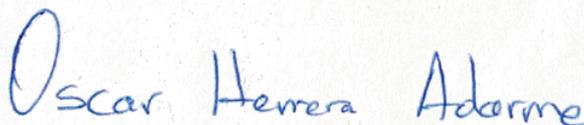
Trabalho Conclusão de Curso defendido e aprovado em 7/02/2018 pela comissão
avaliadora constituída pelos professores:



Bruno Eduardo Lobo Baêta (DEQUI/UFOP)



Leandro Vinícius Alves Gurgel (DEQUI/UFOP)



Oscar Fernando Herrera Adarme (ProAmb/UFOP)

Campus Universitário Morro do Cruzeiro-S/N - CEP:35400-000 Ouro Preto – MG Brasil - Tel.: (31)
3559.1542 – e-mail: ceamb@em.ufop.br

Resumo

A demanda por energia tem aumentado em níveis cada vez maiores. Com isso, evidencia-se a necessidade de substituição dos combustíveis fósseis por combustíveis renováveis. Tal fato é justificado visto que sua utilização tem gerado efeitos adversos ao meio ambiente e à humanidade, como os conflitos geopolíticos, além de que a totalidade de suas reservas são desconhecidas e finitas. O Brasil apresenta elevado potencial na produção de biocombustíveis. Tal potencial é visto tanto para os biocombustíveis de geração direta, como o etanol e o biodiesel, tanto como aqueles gerados pelos resíduos da produção agrícola, como o etanol de segunda geração, o biogás gerado pela fermentação de resíduos, entre outros. Portanto, o presente trabalho avaliou a aplicação da auto-hidrólise como técnica de pré-tratamento do bagaço de malte visando a produção de biogás a partir do hidrolisado hemicelulósico extraído pelo tratamento térmico. A auto-hidrólise se mostrou eficiente na solubilização da hemicelulose e celulose, produzindo hidrolisados com concentrações de até 13,15 g/L de açúcares C5 e C6 e 14,99 g/L de celobiose. O hidrolisado 3 ($T=160^{\circ}\text{C}$, $t=15\text{min}$) foi o que apresentou a maior produção de metano, $0,218 \text{ Nm}^3 \text{ CH}_4/\text{kg}_{\text{DQO}}$, seguido pelos experimentos 5 e 6, com produção de 0,162 e $0,150 \text{ Nm}^3 \text{ CH}_4/\text{kg}_{\text{DQO}}$, respectivamente. Apenas duas condições apresentaram balanço de energia positivo. A condição 6 ($T=180^{\circ}\text{C}$, $t=60\text{min}$) apresentou o maior ganho líquido de energia $0,70 \text{ MJ.Kg}^{-1}_{\text{BMseco}}$, seguida da condição 3, com $0,30 \text{ MJ.Kg}^{-1}_{\text{BMseco}}$.

Palavras chave: biocombustível, auto-hidrólise, bagaço de malte, biogás, lignocelulósico.

Abstract

The need for energy is increasing at ever higher levels. Thus, it is evident the need to replace fossil fuels with renewable fuels. This fact is justified because its use has generated adverse effects on the environment and humanity, such as geopolitical conflicts, in addition to the fact that the oil reserves are unknown and finite. Brazil has high potential in the production of biofuels. Such potential is seen for direct-generated biofuels, ethanol and biodiesel, as well as those generated by agricultural production wastes, such as second-generation ethanol, biogas generated by waste fermentation, among others. Therefore, this paper evaluated the application of auto-hydrolysis as a pretreatment technique for brewery spent grains in order to produce biogas from the hemicellulosic hydrolyzate extracted by the heat treatment. Autohydrolysis was efficient in the solubilization of hemicellulose and cellulose, producing hydrolysates with concentrations of up to 13.15 g/L of C5 and C6 sugars and 14.99 g/L of cellobiose. Hydrolyzate 3 ($T = 160^{\circ}\text{C}$, $t = 15\text{min}$) showed the highest methane production, $0.218\text{Nm}^3\text{CH}_4/\text{kg}_{\text{COD}}$, followed by experiments 5 and 6, yielding 0.162 and $0.150\text{Nm}^3\text{CH}_4/\text{kg}_{\text{DQO}}$, respectively. Only two conditions showed a positive energy balance. Condition 6 ($T = 180^{\circ}\text{C}$, $t = 60\text{min}$) had the highest net energy gain of $0.70\text{MJ.Kg}^{-1}\text{BM}_{\text{seco}}$, followed by condition 3, with $0.30\text{MJ.Kg}^{-1}\text{BM}_{\text{seco}}$.

Key words: biofuel, autohydrolysis, barley spent grain, biogas, lignocellulose.

Lista de Abreviaturas

AA – Ácido acético

AF – Ácido fórmico

AH - Auto hidrólise

AGVs - Ácidos graxos voláteis

ANEEL - Agência Nacional de Energia Elétrica

BM - Bagaço de malte

DA - Digestão anaeróbia

FF - 2-furfuraldeído

HE - Hidrólise enzimática

HH - Hidrolisado hemicelulósico

HMF - 5-hidroximetil-2-furfuraldeído

IEA - International Energy Agency

RLC - Resíduos lignocelulósicos

RSL - Razão sólido/líquido

Lista de Tabelas

Tabela 1. Parâmetros dos experimentos de AH realizados.	38
Tabela 2. Parâmetros dos experimentos de BMP	39
Tabela 3. Resultado da caracterização do bagaço de malte e comparação com a literatura	43
Tabela 4. Caracterização da fase sólida e dos HH, na parte superior, e avaliação da influência dos parâmetros tempo e temperatura nas características dos hidrolisados, parte inferior	48
Tabela 5. Produção acumulada de metano.....	52

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura esquemática da biomassa lignocelulósica. Os hexágonos denotam as subunidades da lignina: p-coumaryl (H), coniferil (G) e sinapil (S)	19
Figura 2. Efeitos do pré-tratamento sobre a biomassa lignocelulósica	21
Figura 3. Possível fluxograma dos materiais lignocelulósicos em uma biorrefinaria.	22
Figura 4. Fluxograma dos materiais lignocelulósicos tratados por auto-hidrólise	27
Figura 5. Fluxograma do processo de degradação anaeróbia da matéria orgânica.	30
Figura 6. Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia de resíduos lignocelulósicos	31
Figura 7. Reatores de vidros utilizados no teste BMP	40
Figura 8. Aspecto visual do BM antes e depois dos experimentos de hidrólise	44
Figura 9. Concentração final de ácidos nos experimentos realizados.....	47
Figura 10. Comportamento da DQO do hidrolisado e solubilização da biomassa lignocelulósica	50
Figura 11. Produção acumulada de metano encontradas no teste BMP.	52
Figura 12. Balanço energético dos experimentos. E+ é a energia gerada pela combustão do biogás, E- é a energia gasta no pré-tratamento e ΔE é o ganho líquido de energia	55

Sumário

Resumo	iv
Abstract.....	v
Lista de Abreviaturas	vi
Lista de Tabelas.....	vii
Lista de Figuras	viii
1. Introdução	11
2. Objetivos	15
2.1. Objetivos gerais.....	15
2.2. Objetivos específicos.....	15
3. Revisão da Literatura	16
3.1. Biomassa - Resíduos Lignocelulósicos	16
3.2. Materiais Lignocelulósicos.....	18
3.3. Técnicas de pré-tratamento aplicadas aos resíduos lignocelulósicos ..	20
3.3.1. Auto-hidrólise como pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos	26
3.4. Produção de biogás a partir de biomassa lignocelulósica	28
3.5. Conclusões da Revisão	32
4. Materiais e métodos.....	33
4.1. Obtenção do bagaço de malte.....	33
4.2. Caracterização do bagaço de malte	33
4.2.1. Determinação do teor de umidade	33
4.2.2. Determinação do teor de extrativos.....	33
4.2.3. Determinação do teor de inorgânicos.....	34
4.3. Determinação do teor de lignina.....	34
4.3.1. Teor de lignina insolúvel pelo método Klason	34
4.3.2. Teor de lignina solúvel	35
4.4. Determinação do teor de celulose e polioses	36

4.5.	Balanço de massa	37
4.6.	Ensaio de auto-hidrólise	37
4.7.	Biodegradabilidade Anaeróbia.....	38
4.8.	Balanço energético.....	40
5.	Resultados e discussões	42
5.1.	Caracterização do bagaço de malte	42
5.2.	Características do HH gerado durante o pré-tratamento por AH do BM e avaliação da influência dos parâmetros tempo e temperatura.....	44
5.3.	Avaliação do potencial de produção de metano a partir dos hidrolisados produzidos	51
5.4.	Balanço energético.....	54
6.	Conclusão	57
7.	Referências.....	58

1. Introdução

Segundo dados da International Energy Agency (IEA), no mundo, os combustíveis fósseis (carvão, petróleo e seus derivados e gás natural) representam 82% da fonte primária de energia. Na América Latina, esse número cai para 70% devido ao baixo uso de carvão mineral nessa região (INTERNATIONAL ENERGY AGENCY, 2017). Tais estatísticas apresentam-se como um panorama crítico quando relaciona tais fontes energéticas aos problemas ambientais, sociopolíticos, quando se pensa em reservas existentes e na longevidade desses recursos. Diante dessas preocupações, os combustíveis renováveis têm tido destaque como forma de fuga da dependência dos combustíveis fósseis.

As energias renováveis representam 13% da fonte primária de energia mundial, dos quais a biomassa representa 10% (INTERNATIONAL ENERGY AGENCY, 2017). O Brasil apresenta lugar de destaque na geração de energia elétrica e combustíveis a partir de biomassa no que diz respeito à produção de etanol, biodiesel e geração de energia a partir da incineração de biomassa lignocelulósica (AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA - ANEEL, 2008).

Apesar dos benefícios da utilização dos combustíveis renováveis, o grande crescimento populacional e a preocupação em suprir as necessidades de uma população mundial cada vez maior tem gerado questionamentos sobre a produção desses recursos. Muitas são as discussões, como a utilização dos alimentos como matéria prima, as extensas áreas utilizadas no plantio e os impactos gerados na produção em larga escala dos biocombustíveis (POPP, LAKNER, *et al.*, 2014). Diante disso, tem-se buscado cada vez mais alternativas para geração de matérias primas mais baratas e desenvolvimento de processos mais eficientes no que diz respeito a produção dos combustíveis renováveis (GUPTA e VERMA, 2015).

Uma possibilidade para produção de biocombustíveis alinhada à atual produção agrícola e industrial, e que atenda ao impasse “alimentos × combustíveis”, é a utilização de resíduos lignocelulósicos (RLC). Os RLC compreendem uma fração dos resíduos sólidos urbanos, resíduos agrícolas industriais e florestais. Como exemplos mais comuns podem-se citar cascas, vagem de cereais e grãos (trigo, cevada, feijão,

café, soja, etc), bagaço de cana, palha de milho, galhos de árvores, serragens, entre outros. Esses resíduos são formados muitas vezes por carboidratos na forma de celulose, lignina e hemiceluloses, além de vários compostos inorgânicos. A produção de bioprodutos de valor agregado e biocombustíveis a partir das biomassas lignocelulósicas têm mostrado balanço energéticos e econômicos viáveis (BAÊTA, LIMA, *et al.*, 2016; PASSOS, CORDEIRO, *et al.*, 2018)

No cenário atual da atividade agroindustrial, muitos RLC são comumente destinados a queima, uso para alimentação animal, disposição em aterros. Entretanto, uma utilização mais nobre desses materiais é a obtenção de produtos de valor agregado e biocombustíveis (GUSMÃO, GURGEL, *et al.*). Atualmente o etanol de segunda geração e a produção de biogás (CH₄ e H₂) a partir dos resíduos lignocelulósicos tem ganhado grande destaque (TAHERZADEH e KARIMI, 2008; CHOUDRI e BAAWAIN, 2015).

O Brasil é o terceiro maior exportador agrícola mundial, conseqüentemente gera quantidades significativas de RLC (SILVA e COSTA, 2010). Diante disso, tem-se a necessidade de desenvolver e adotar tecnologias que visem o melhor aproveitamento desses materiais de modo a produzir uma energia “limpa” e sustentável, além de dar um fim adequado e nobre ao resíduo.

A estrutura química da biomassa lignocelulósica é formada por um complexo de celulose, hemiceluloses e lignina. Tais complexos são altamente organizados e recalcitrantes, o que impede a conversão direta desses materiais em outras substâncias. Diante disso, faz-se necessário a inserção de etapas de pré-tratamento da biomassa, que visam aumentar a acessibilidade da mesma por parte dos micro-organismos nos bioprocessos, e dos produtos químicos nos processos químicos. Alguns estudos mostram de forma geral uma melhora nos rendimentos de produção de bio-produtos quando utiliza-se a biomassa pré-tratada ao invés da biomassa bruta como matéria prima (ALFENORE e JOUVE, 2016).

Diante disso, o uso de técnicas de pré-tratamento para biomassa lignocelulósica passa a ser etapa fundamental e prévia ao processo de conversão biológica dos RLC em bioprodutos e biocombustíveis (KUMAR, BARRETT, *et al.*, 2009).

Em meio as diferentes técnicas de pré-tratamento disponíveis, destacam-se os processos físico-químicos, baseados na utilização de meios ácidos, altas

temperaturas e pressão. Além desses, os processos hidrotérmicos, tais como explosão a vapor e auto hidrólise (AH), vêm sendo amplamente utilizados, tal preferência deve-se ao fato de que neste pré-tratamentos não são adicionados insumos químicos, como ácidos minerais e bases. Tal fato facilita sua implementação, pois, diferentemente dos tratamentos envolvendo ácidos ou bases os reatores utilizados nos processos hidrotérmicos não necessitam ser fabricados com materiais especiais.

No processo de AH ocorre o aquecimento da biomassa em meio aquoso em temperaturas entre 150°C a 220°C por um tempo de 5 a 60 minutos. Nessa faixa de temperatura, parte da hemicelulose hidrolisada é convertida em ácido acético, que atua catalisando a reação de solubilização da biomassa lignocelulósica (ZHENG, ZHAO, *et al.*, 2014).

Muitos estudos apresentam a auto hidrólise como método viável para aplicação em larga escala no processo de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica. Tal fato deve-se a não necessidade de adição de insumos químicos (TARGONSKY, 1985; YU, ZHUANG, *et al.*, 2013). No entanto, associado ao processo de despolimerização e liberação dos açúcares de cadeias C5 e C6 ocorre a formação de compostos inibidores da atividade microbiana. Tais compostos inibidores, 5-hidroximetil-2-furfuraldeído (HMF) e 2-furfuraldeído (FF), são oriundos da degradação térmica dos açúcares previamente gerados durante o tratamento térmico (HENDRIKS e ZEEMAN, 2009). Diante da necessidade de geração máxima de carboidratos na forma monômerica e mínima de compostos inibidores, a otimização das condições de pré-tratamento torna-se extremamente relevante (PANAGIOTOPOULOS, BAKKER, *et al.*, 2011).

Por outro lado, alguns autores apontam o consumo energético na geração de calor como principal desvantagem da AH (HENDRIKS e ZEEMAN, 2009). Uma forma de compensar o gasto energético durante a etapa térmica da AH seria a recuperação energética usando o biogás produzido a partir da digestão anaeróbia (DA) do hidrolisado hemicelulósico (HH), solução rica em pentoses geradas a partir da AH (BAÊTA, 2016). A recuperação energética ocorreria através combustão do biogás (metano e/ou hidrogênio) gerado pela DA, sendo possível a produção de eletricidade e aproveitamento do calor. Segundo Baêta *et al.* (2016), a energia gerada poderia ser

suficiente para compensar a utilização desse tipo de pré-tratamento. Além disso, seria possível realizar a integração da produção de um biocombustível como o etanol celulósico, obtido a partir da fração sólida rica em celulose gerada após o pré-tratamento por AH, com a energia térmica e elétrica obtida a partir da combustão do biogás gerado pela DA do hidrolisado hemicelulósico.

O presente trabalho busca aplicar a técnica de pré-tratamento por auto hidrólise como uma etapa para extrair parte das hemiceluloses presente no bagaço de malte (BM) e gerar uma fração sólida rica em celulose, passível de ser utilizada para produção de etanol 2G. O BM é o resíduo gerado na filtração do mosto no processo de produção de cervejas, sendo gerado entre 14 -25 kg de BM para cada 100 litro de cerveja produzida (CETESB, 2005; ENVIRONMENT CANADA, 1997). O Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja do mundo. Só em 2016 a produção atingiu 14,1 bilhões de litros de cerveja. Tais números representam um potencial energético que pode ser melhor aproveitado, uma vez que a maior parte do BM produzido é destinado a alimentação animal e em menor parte queima e disposição final (PORTAL BRASIL, 2017; BNDES, 2015; CORDEIRO, EL-AOUAR e GUSMÃO, 2012).

Alguns autores demonstraram resultados satisfatórios na obtenção de hidrolisados a partir do BM, com o objetivo de produzir produtos químicos utilizando pré-tratamentos em meio ácido, tratamento alcalino, entre outros (SANTIAGO, 2013; BRITO e ROBERTO; GARCIA, 2012). Porém, não foram encontrados trabalhos na literatura utilizando o pré-tratamento por auto-hidrólise para a geração de biogás a partir da fração hemicelulósica.

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de algumas condições de pré-tratamento por AH do BM na geração de um hidrolisado hemicelulósico capaz de ser usado para produção de biogás. Desta forma, com o conhecimento adquirido será possível determinar a praticabilidade da AH como forma de pré-tratamento do BM, sendo produzido uma fase sólida destinada a hidrolise enzimática (HE), e posterior produção de etanol, e o aproveitamento energético contido no HH na produção de biogás partir da DA.

2. Objetivos

2.1. Objetivos gerais

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o potencial de produção de metano a partir da DA do HH gerado durante o pré- tratamento por AH do BM.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar o bagaço de malte oriundo da produção de cerveja;
- Avaliar os efeitos das variáveis tempo e temperatura nas características do HH gerado durante o pré-tratamento por AH do BM;
- Avaliar o potencial de produção de metano a partir do HH produzido.

3. Revisão da Literatura

3.1. Biomassa - Resíduos Lignocelulósicos

A biomassa compreende a matéria gerada pela fixação do dióxido de carbono durante o ciclo de crescimento, podendo ser de origem terrestre ou aquática. As de origem terrestre podem ser divididas em dois tipos: aquelas ricas em açúcares ou lipídeos de fácil acesso, apresentando altos rendimentos energéticos quando convertidos a biocombustíveis, e a biomassa lignocelulósica, composta principalmente por celulose, hemicelulose, lignina e uma pequena quantidade de outros compostos orgânicos e inorgânicos. As de origem aquática, por sua vez, incluem um diverso grupo de algas fotossintéticas e cianobactérias, variando de seres microscópicos a grandes algas marinhas (YUE, YOU e SNYDER, 2014; SÁNCHEZ, 2009; SINDHU, BINOD e PANDEY, 2016).

A celulose é o principal componente da biomassa, sendo responsável por metade da matéria produzida no planeta por fotossíntese, representando o mais abundante recurso renovável orgânico na superfície terrestre. Os RLC gerados anualmente são comumente mal aproveitados ou descartados de forma incorreta, resultando em degradação ambiental e perda de matéria-prima com elevado potencial de geração de produtos com valor agregado ou energia (SÁNCHEZ, 2009). A biomassa lignocelulósica apresenta elevado potencial de substituir os combustíveis fósseis, sendo tal capacidade dependente do desenvolvimento de tecnologias que tornem sua conversão econômica e energeticamente viável (BHOWMICK, SARMAH e SEN, 2017). Sabe-se que anualmente são produzidos cerca de 220 bilhões de toneladas de material lignocelulósico no planeta e conseqüentemente associa-se à essa produção uma enorme quantidade de resíduos com elevado potencial energético (RAMBO, SCHMIDT e FERREIRA, 2015; REDDY e YANG, 2005).

Compreende RLC, os resíduos da produção agrícola e agroindustrial (palhas, cacas, talos, bagaço de cana, sementes, etc.), resíduos florestais (galhos, tocos, folhas, serragens, etc.), resíduos industriais (papel e celulose, cervejaria, alimentos e bebidas, etc.), resíduos sólidos urbanos (matéria orgânica, podas de arvores e jardinagem, etc.) entre outros (TAHERZADEH e KARIMI, 2008; REDDY e YANG, 2005; PROTÁSIO, BUFALINO, *et al.*, 2013).

O Brasil é o terceiro maior exportador agrícola mundial, conseqüentemente, gera elevada quantidade de biomassa (SILVA e COSTA, 2010; RAMBO, SCHMIDT e FERREIRA, 2015). Desta forma o Brasil assume uma posição de destaque no potencial de produção de biocombustíveis a partir dos RLC, quando considera-se o volume de resíduos produzidos na agricultura, atividades agroflorestais e indústrias (RIBEIRO, PASSOS, *et al.*, 2017).

Dentre os resíduos agroindústrias gerados (bagaço de cana, casca de café e arroz, palha e sabuco de milho, entre outros) podemos citar o BM. A produção anual de malte no mundo é cerca de 145 milhões de toneladas, sendo utilizado principalmente para alimentação animal e fermentação em cervejarias. Os principais resíduos gerados no plantio e nas cervejarias são os de colheitas e os do processamento (palhas, talos, folhagens, etc.), além de resíduos da fermentação (casca após maltagem e fermentação) (FORTUNATI, BENINCASA, *et al.*, 2016; VARGAS, DOMÍNGUEZ, *et al.*, 2015). Em geral tais resíduos são destinados a alimentação animal, porém outras aplicações são encontradas, tais como: material adsorvente, matéria prima para produção de etanol, conversão termoquímica, suplemento na alimentação humana, matéria prima para produção de papel, matéria prima para produção de produtos químicos (ALIYU e BALA, 2011; MUSSATTO, 2014).

O Brasil produz anualmente cerca de 14 bilhões de litros de cerveja, o terceiro maior produtor. Somado a isso, encontra-se entre os 30 países com maior consumo per capita (CERVBRASIL, 2016; BNDES, 2015). Durante a produção de cerveja são gerados de 14 a 25 Kg de bagaço de malte (BM) com umidade de 80%, para cada 100 litros de cerveja, tal resíduo é gerado durante a filtração do mosto. O mesmo é composto principalmente por restos de cascas, polpa dos grãos e restos de mosto (ENVIRONMENT CANADA, 1997; CETESB, 2005).

Calculando de forma direta, a produção brasileira de BM é da ordem de 2,73 milhões de toneladas que normalmente é destinado para alimentação animal, queima ou disposição em aterros (PORTAL BRASIL, 2017; CORDEIRO, EL-AOUAR e GUSMÃO, 2012). Sabendo da possibilidade de melhores destinações (produção etanol 2G, fermentação anaeróbia para produção de biogás, produção de compostos

de valor agregado, etc.) é de fundamental importância o desenvolvimento de técnicas viáveis para o melhor aproveitamento desse resíduo.

3.2. Materiais Lignocelulósicos

Os materiais lignocelulósicos são compostos majoritariamente por uma estrutura polimérica composta por celulose, hemicelulose, e lignina. Tais macromoléculas juntas formam uma complexa estrutura na qual a celulose é o esqueleto, fortificado pela hemicelulose e lignina (BHOWMICK, SARMAH e SEN, 2017; PAUDEL, BANJARA, *et al.*, 2017). A quantidade desses três compostos na biomassa vegetal varia de acordo com a espécie, idade, estágio de crescimento, condições do ambiente e cultivo, entre outros fatores. Normalmente a celulose apresenta-se em maior quantidade (35-50%), seguida por hemicelulose (15-35%) e lignina (15-25%). Além desses três compostos estão presentes em pequena quantidade proteínas, extrativos e cinzas (OH, EOM, *et al.*, 2015; JØRGENSEN, KRISTENSEN e FELBY, 2007; STREFFER, 2014).

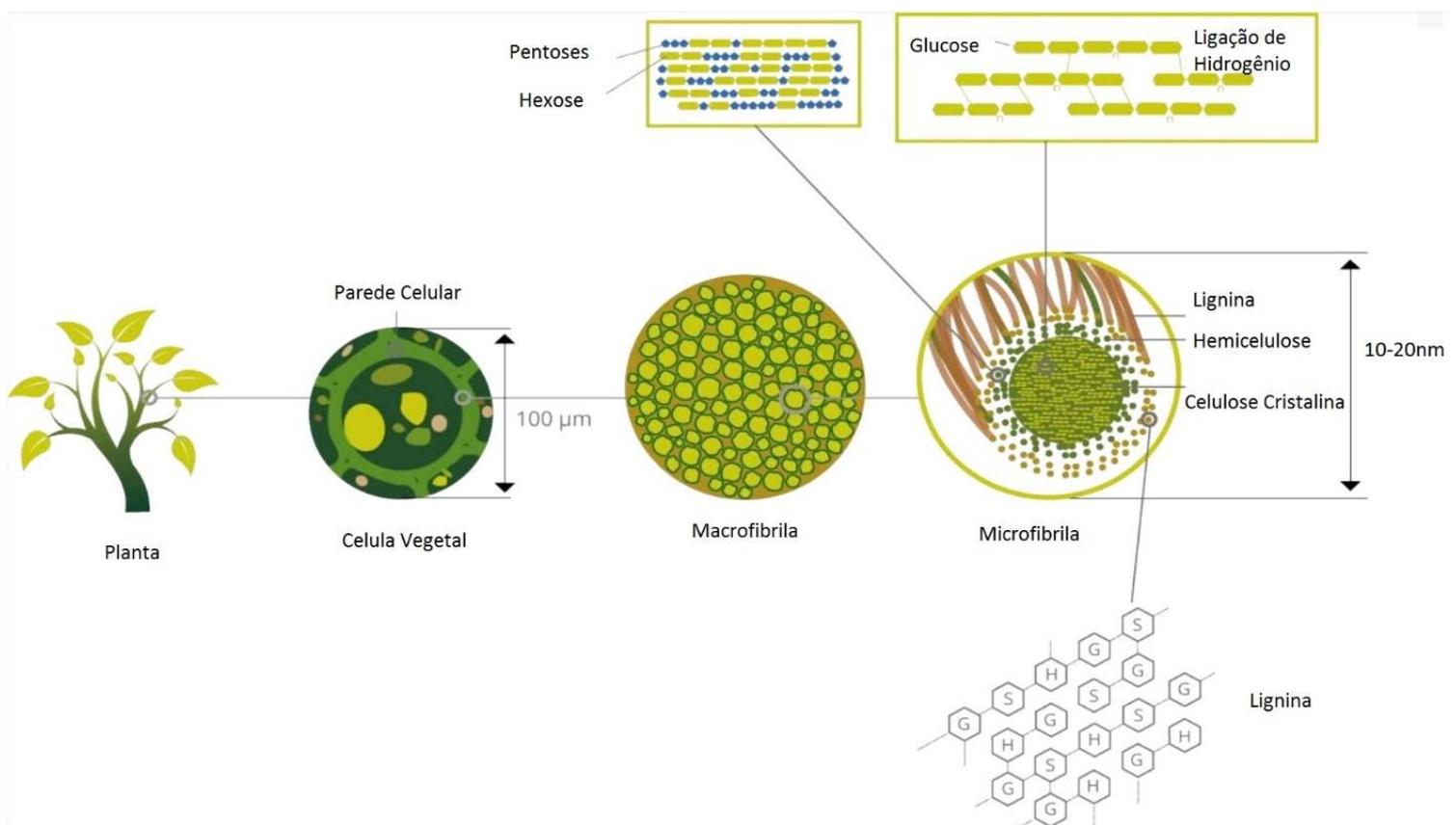
Como apresentado na Figura 1, a parede celular dos vegetais é vista como feixes paralelos de celulose envolvidos por uma matriz amorfa de hemicelulose e lignina (MONLAU, BARAKAT, *et al.*, 2013).

A celulose é o principal componente estrutural da parede celular responsável pela rigidez estrutural (OH, EOM, *et al.*, 2015). É encontrada na forma de fibras bem organizadas, formada por 10000 ou mais monômeros de D-glucose unidas por ligações β -(1,4)-glicosídicas, gerando a celobiose (PAUDEL, BANJARA, *et al.*, 2017). A repetição das unidades de celobiose constituem as cadeias de celulose. Longas cadeias de celobiose são formadas por ligações de hidrogênio e van der Waals, levando à formação das microfibrilas. Essa complexa formação da celulose faz dela resistente a tratamentos biológicos e químicos, insolúvel em água e na maioria dos solventes, sendo biodegradável quando despolimerizada (MONLAU, BARAKAT, *et al.*, 2013; TAHERZADEH e KARIMI, 2008).

A hemicelulose é formada por uma complexa estrutura de até 200 carboidratos ramificados e adornados com grupos funcionais. É resultado da polimerização de diferentes pentoses (como xilose e arabinose), hexoses (como glucose, galactose, manose) e ácidos urônicos (como ácido glucurônico e galacturônicos) (HENDRIKS e

ZEEMAN, 2009). É ligada por ligações não covalentes às fibrilas de celulose, agindo como uma matriz amorfa que segura as mesmas (BHOWMICK, SARMAH e SEN, 2017). A hemicelulose funciona como uma conexão entre as fibras de celulose e a lignina conferindo mais rigidez a rede celulose-hemicelulose-lignina (HENDRIKS e ZEEMAN, 2009). Ao contrário da celulose, a hemicelulose tem uma estrutura amorfa e ramificada, conferindo a ela pouca resistência a hidrólise, sendo assim mais facilmente hidrolisáveis a seus monômeros (TAHERZADEH e KARIMI, 2008). Em madeiras moles tem-se a predominância do monômero de manose na composição da hemicelulose, enquanto em madeiras duras e resíduos agrícolas predomina a xilose (MONLAU, BARAKAT, *et al.*, 2013; OH, EOM, *et al.*, 2015).

Figura 1. Estrutura esquemática da biomassa lignocelulósica. Os hexágonos denotam as subunidades da lignina: *p*-coumaryl (H), coniferil (G) e sinapil (S)



Fonte: Adaptado de STREFFER *et al.*, 2014.

A lignina é o segundo composto mais abundante na natureza, sendo um heteropolímero aromático, hidrofóbico e amorfo (ZHENG, ZHAO, *et al.*, 2014). É

constituído de monômeros de três diferentes álcoois fenilpropanos: p-coumarílico (H), coniferílico (G) e sinapílico (S), os quais variam em quantidade de acordo com espécie, maturidade e localização celular (MONLAU, BARAKAT, *et al.*, 2013; BHOWMICK, SARMAH e SEN, 2017).

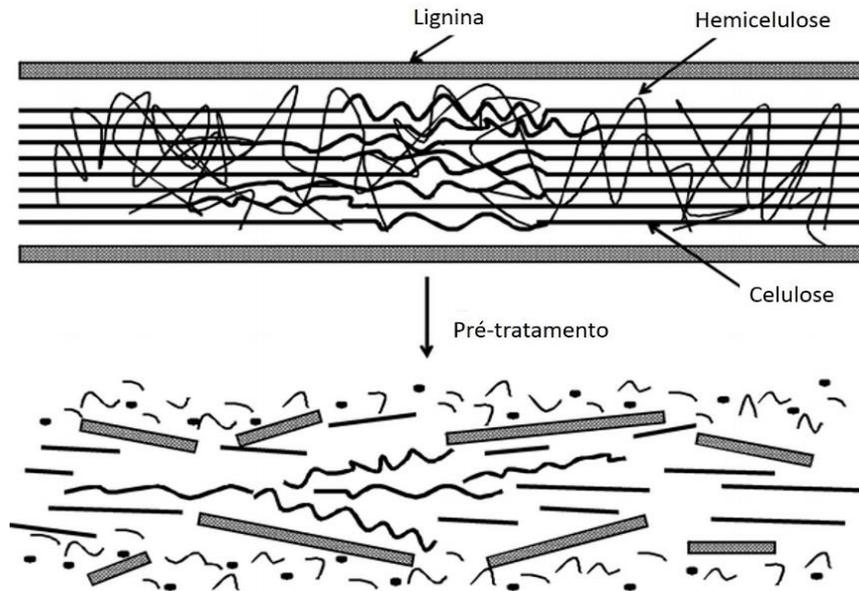
A lignina age como concreto, preenchendo os espaços entre as estruturas da hemicelulose, cobrindo as microfibrilas de celulose, sendo considerada o principal composto recalcitrante na conversão da biomassa (PAUDEL, BANJARA, *et al.*, 2017; KUMAR, BARRETT, *et al.*, 2009). Dessa forma, o principal propósito da lignina é proporcionar rigidez estrutural, impermeabilidade e resistência contra ataques microbiológicos e stress oxidativos (MONLAU, BARAKAT, *et al.*, 2013; JØRGENSEN, KRISTENSEN e FELBY, 2007).

As propriedades mecânicas, físicas, químicas e biológicas dos materiais lignocelulósicos são dependentes não apenas da composição química, mas também de como os seus constituintes estão organizados na biomassa e como é a interação entre eles (MONLAU, BARAKAT, *et al.*, 2013). Devido a complexidades dessas propriedades que conferem resistência a biodegradabilidade, é necessário a aplicação de tratamentos com o objetivo de tornar a biomassa passível de conversão a outros produtos. Dessa forma os métodos de pré-tratamento visam a quebra, solubilização e separação dos monômeros da matéria lignocelulósica em componentes mais biodegradáveis (PAUDEL, BANJARA, *et al.*, 2017).

3.3. Técnicas de pré-tratamento aplicadas aos resíduos lignocelulósicos

O principal objetivo do pré-tratamento é alterar as propriedades da biomassa de modo a eliminar ou diminuir as barreiras químicas e físicas e melhorar o acesso dos micro-organismos e enzimas aos polímeros e carboidratos presentes nas estruturas, agindo desde a estrutura submicroscópica a macroscópica (PAUDEL, BANJARA, *et al.*, 2017; ZABED, SAHU, *et al.*, 2016). A Figura 2 mostra os efeitos dos métodos de pré-tratamento na biomassa lignocelulósica.

Figura 2. Efeitos do pré-tratamento sobre a biomassa lignocelulósica



Fonte: Adaptado de CHATURVEDI et al.,2013.

Os pré-tratamentos têm como objetivos: i) Aumento da área superficial e/ou porosidade, ii) Modificação da estrutura da lignina, iii) Remoção da lignina, iv) Despolimerização (parcial) da celulose, v) Remoção da hemicelulose e vi) Redução da cristalinidade da celulose (HARMSSEN, HUIJGEN, *et al.*, 2010).

O pré-tratamento é uma das etapas cruciais de uma biorrefinaria, logo se faz necessário que tal processo apresente alta eficiência, custo favorável, baixa produção de compostos inibidores e geração de resíduos, mínima demanda energética, consumo de pouco ou nenhum produto químico, que seja aplicável a diferentes biomassas, que reduza custo de produção dos reatores de pré-tratamento, entre outras características que o tornem mais sustentável (TAHERZADEH e KARIMI, 2008; MUPONDWA, LI, *et al.*, 2017; HARMSSEN, HUIJGEN, *et al.*, 2010; GARCÍA, ALRIOLS e LABIDI, 2014).

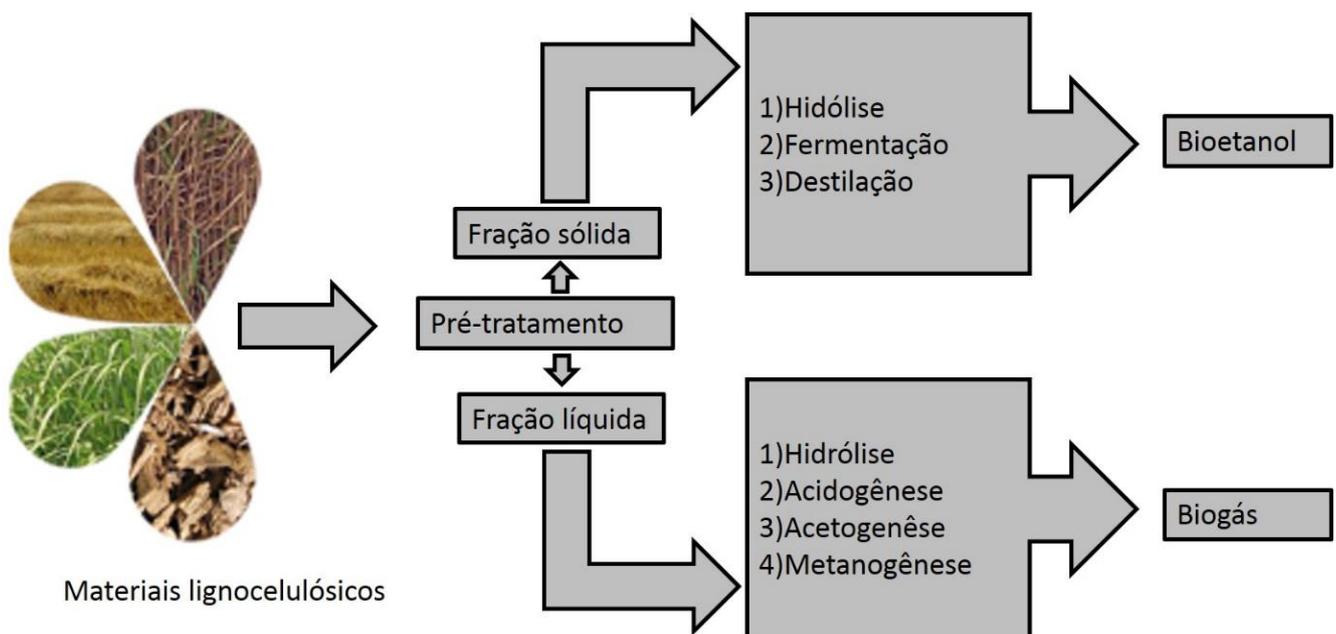
Boa parte dos estudos de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica visam a produção de etanol 2G. A produção de etanol geralmente utiliza açúcares provenientes da celulose. As pentoses presentes na hemicelulose não são fermentáveis diretamente pelas cepas convencionais usadas para fermentação das hexoses, sendo necessário a utilização de organismos geneticamente modificados, ou de culturas puras capazes de metabolizarem a pentose através da via das pentoses-fosfato à xilulose-5-fosfato e posteriormente a etanol. A biomassa tratada

por auto-hidrólise pode gerar uma fase sólida rica em celulose e uma fase líquida rica em açúcares C5. A fase sólida geralmente é submetida a hidrólise enzimática gerando um licor rico em açúcares C6, que, após fermentação, gera o etanol celulósico. Uma alternativa para melhor aproveitar a fração líquida rica em pentoses, é a digestão anaeróbia do hidrolisado hemicelulósico visando à produção de biogás. O biogás gerado a partir do hidrolisado hemicelulósico pode maximizar a recuperação de energia a partir da biomassa, além de ser capaz de gerar energia suficiente para compensar os gastos energéticos demandados com a etapa do pré-tratamento por AH (BARAKAT, MONLAU, *et al.*, 2012).

Os pré-tratamentos de RLC podem ser divididos em diferentes categorias: físicos (moagem, trituração, pulverização, etc.), químicos (alcalino, ácido, oxidação, solventes orgânicos, etc.), físico-químicos (explosão a vapor, *ammonia fibre expansion*, auto hidrólise, hidrotérmico, oxidação húmida, etc.) e biológicos (fungos, consórcios de bactérias, etc.), ou a combinação desses métodos. Em geral é difícil classificar tais métodos em apenas uma categoria, sendo comum encontrar diferentes classificações (GALBE e ZACCHI, 2007).

A Figura 3 apresenta um fluxograma genérico da produção de etanol e biogás a partir de material lignocelulósico.

Figura 3. Possível fluxograma dos materiais lignocelulósicos em uma biorrefinaria.



Fonte: Adaptado de TAHERZADEH et al., 2008.

Os pré-tratamentos físicos/mecânicos são fundamentados nos processos de cominuição e diminuição do tamanho das partículas da biomassa, que conseqüentemente aumenta a área superficial da biomassa facilitando o acesso à celulose que será submetida a hidrólise. (PAUDEL, BANJARA, *et al.*, 2017). Além disso, os pré-tratamentos físicos alteram a estrutura interna da biomassa lignocelulósica, reduz o grau de cristalização da celulose, diminui o grau de polimerização da celulose, tornando a biomassa mais acessível e minimiza a formação de compostos inibidores (ZHENG, ZHAO, *et al.*, 2014). Tais métodos são considerados inviáveis para serem aplicados em grande escala e consomem grande quantidade de energia (ZABED, SAHU, *et al.*, 2016). Os métodos físicos geralmente são associados a outras tecnologias, levando a bons resultados finais (MUPONDWA, LI, *et al.*, 2017).

Os pré-tratamentos químicos são feitos na presença de reagentes que auxiliam e aceleram o processo de despolimerização e desestabilização da estrutura lignocelulósica. Tal processo consiste na quebra das ligações entre os carboidratos da lignina, quebra da matriz cristalina da celulose ou hidrólise da hemicelulose (PAUDEL, BANJARA, *et al.*, 2017). Os insumos químicos utilizados variam de ácidos (H_2SO_4 , HNO_3 , H_3PO_4 , HCl , ácido acético, etc.), bases ($NaOH$, KOH , $Ca(OH)_2$, NH_3 , etc.), solventes orgânicos (etanol, metanol, acetona, fenol, etc.), agentes oxidantes (H_2O_2 , O_3 , O_2 , etc.), líquidos iônicos (Cloreto de 1-Nbutil-imidazólio, N-metilmorfolina-N-óxido mono-hidratado, Cloreto de 1-alil-3-metilimidazólio, cloreto de amônio, etc.), entre outros (ZHENG, ZHAO, *et al.*, 2014).

Os tratamentos ácidos podem ser realizados em diferentes concentrações (4-77%), temperaturas variando entre 40 e 210°C e com o tempo de contato podendo ir de minutos a horas (ZABED, SAHU, *et al.*, 2016; TAHERZADEH e KARIMI, 2008). Em geral, tem-se uma alta solubilização de hemicelulose e precipitação da lignina (especialmente quando utiliza-se ácidos concentrados) (CHATURVEDI e VERMA, 2013). Nesses processos normalmente tem-se a formação de compostos inibidores, depreciação dos equipamentos, alto custo operacional o que torna o processo não muito atrativo para aplicação industrial (JÖNSSON e MARTÍN, 2016).

O pré-tratamento básico tem como principal efeito a remoção da lignina e o aumento da porosidade e da área superficial, facilitando, dessa forma, a hidrólise da celulose e hemicelulose (HARMSSEN, HUIJGEN, *et al.*, 2010). Pode ser realizado em temperatura ambiente e baixas pressões, isso leva a uma menor degradação de açúcares quando comparado a tratamentos ácidos, porém, o tempo de reação pode chegar de horas até semanas. De forma similar ao tratamento ácido, tem-se a necessidade de recuperação dos reagentes e um alto consumo energético (quando não realizado em temperatura ambiente) (RABEMANOLONTSOA e SAKA, 2016; RAJENDRAN, DRIELAK, *et al.*, 2017).

No tratamento com solventes orgânicos tem-se principalmente a extração da lignina e parte da hemicelulose, deixando a celulose na fase sólida, que é normalmente direcionado à hidrólise enzimática. O processo pode ocorrer com o solvente tanto diluído quanto concentrado, normalmente à 150-200°C (CHATURVEDI e VERMA, 2013). De forma semelhante aos outros métodos, é necessário a recuperação do reagente adicionado com o objetivo de diminuir custos, e evitar uma eventual inibição dos micro-organismos em etapas futuras de fermentação (TAHERZADEH e KARIMI, 2008). Tal processo de recuperação é custoso e muitas vezes podem gerar passivos ambientais tais como a gipsita (CaSO_4), produzida durante o processo de detoxificação do hidrolisado usando hidróxido de cálcio, o que a torna pouco aplicável em grandes escalas (CHATURVEDI e VERMA, 2013).

A utilização de agentes oxidantes converte a lignina em ácidos e reduz a cristalinidade da celulose. Durante o pré-tratamento a hemicelulose é degradada e torna-se inviável a fermentação (JÖNSSON e MARTÍN, 2016; CHATURVEDI e VERMA, 2013). As principais desvantagens dessa metodologia residem na necessidade de temperatura e pressão elevadas e da presença de um agente oxidante forte. Dessa forma, o método é custoso e requer altos investimentos de implantação e manutenção (CHATURVEDI e VERMA, 2013).

O pré-tratamento com líquidos iônicos promove a dissolução da celulose pela quebra das ligações de hidrogênio que mantêm sua estrutura estável, dessa forma, aumenta a porosidade da biomassa lignocelulósica e diminui a cristalinidade da celulose (ZHENG, ZHAO, *et al.*, 2014). Pesquisas com líquidos iônicos tem-se destacado como um método promissor e vem sendo categorizado como solvente

verde devido sua alta estabilidade térmica, baixa pressão de vapor e alta recuperabilidade. Essas características promovem uma menor formação de compostos inibidores (MUPONDWA, LI, *et al.*, 2017). Por outro lado, os líquidos iônicos têm um custo elevado, o processo de recuperação consome grande quantidade de energia e não se conhece sua toxicidade nem sua biodegradabilidade (RABEMANOLONTSOA e SAKA, 2016).

Os métodos de pré-tratamento físico-químico têm ação baseada na combinação de agentes físicos e químicos. Agem principalmente aumentando a área superficial, diminuindo a cristalinidade da celulose e removendo hemicelulose e lignina (ZABED, SAHU, *et al.*, 2016). Como exemplo tem-se a explosão a vapor, *ammonia fibre explosion (AFEX)*, auto-hidrólise ou *liquid hot water-LHW*, entre outros.

O método de explosão a vapor usa elevadas pressões (0,69-4,83Mpa) com temperatura na faixa de 160-260°C, com o tempo curto (segundos a minutos). Nesse processo, o vapor penetra na biomassa e expande a parede celular previamente a explosão, após a redução instantânea da pressão de trabalho para a pressão atmosférica, o vapor de dentro da célula é forçado a sair, o que provoca a desintegração física das fibras e uma hidrólise parcial da hemicelulose e celulose. Os principais efeitos são o aumento da área superficial e a diminuição do grau de polimerização da hemicelulose e da celulose ((RABEMANOLONTSOA e SAKA, 2016; RAJENDRAN, DRIELAK, *et al.*, 2017). É um dos métodos mais rentáveis com pouco consumo energético, pouco consumo de insumos, entretanto, pode levar à formação de compostos inibidores a fermentação, dessa forma, faz-se necessário a otimização do método, ou adição de uma etapa posterior de detoxificação (RABEMANOLONTSOA e SAKA, 2016).

Ammonia fibre expansion envolve a exposição da biomassa lignocelulósica à amônia líquida em alta pressão (250-300 psi) e temperaturas baixas (60-100° C) seguido por rápida despressurização. Pode ser entendida como a combinação dos métodos de explosão a vapor com o tratamento alcalino com amônia (MUPONDWA, LI, *et al.*, 2017; GALBE e ZACCHI, 2007). Apresenta boa eficiência na descristalização da celulose e hidrólise da hemicelulose, porém, é pouco efetiva em biomassa com altos teores de lignina (CHATURVEDI e VERMA, 2013). As principais desvantagens estão associadas ao elevado custo, que pode ser minimizado com o

reciclo da amônia, a toxicidade da amônia, a formação de produtos indesejados, além das limitações relacionadas aos altos teores de lignina (TAHERZADEH e KARIMI, 2008).

Como enumerado, os métodos de pré-tratamento são diversos, podendo ser aplicados de forma combinada com o objetivo de se obter melhores resultados. Dessa forma, deve-se avaliar a melhor alternativa aplicada as diferentes biomassas.

3.3.1. Auto-hidrólise como pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos

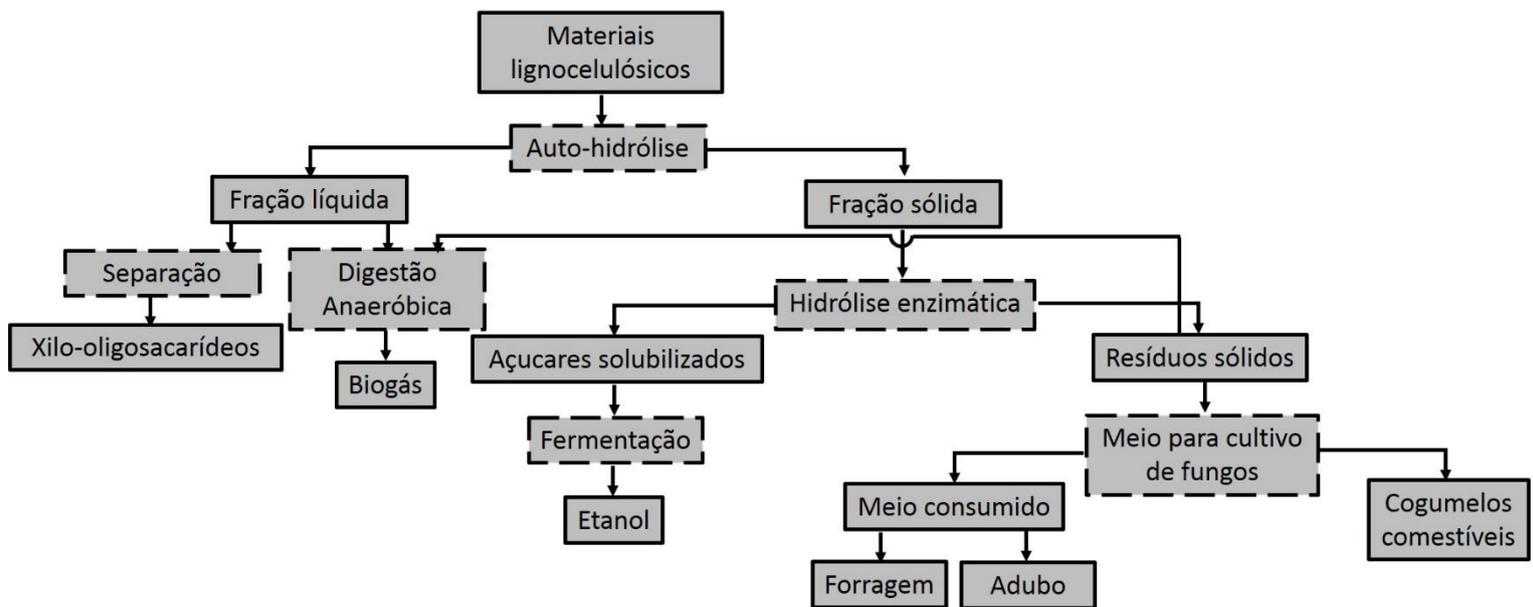
O processo de auto hidrólise é também conhecido como *liquid hot water (LHW)*, *liquid compressed water (LCW)*, *hot compressed water (HCA)*, hidrotérmolise, tratamento hidrotérmico, processo aquassolve, *pressure-cooking in water*, liquefação ou extração aquosa, tratamento subcrítico em água, entre outros (GULLÓN, ROMANÍ, *et al.*, 2012; RUIZ, RODRÍGUEZ-JASSO, *et al.*, 2012). É um pré-tratamento físico-químico no qual a biomassa é colocada em contato com a água, único solvente adicionado, em altas temperaturas e pressão (>5Mpa) (MUPONDWA, LI, *et al.*, 2017).

A água penetra na estrutura celular da biomassa, hidratando a celulose, solubilizando a hemicelulose e removendo parcialmente a lignina (ZHENG, ZHAO, *et al.*, 2014; GULLÓN, ROMANÍ, *et al.*, 2012). Nessa faixa de temperatura – 160 °C a 230°C - ocorre a auto ionização da água, que leva à formação de íons hidrônio. Esses íons, somados aos íons hidrônios da auto ionização dos ácidos acético e glicurônico gerados pela despolimerização da hemicelulose, agem como catalisadores na degradação dos polissacarídeos (GARROTE, DOMÍNGUEZ e PARAJO, 1999; RUIZ, RODRÍGUEZ-JASSO, *et al.*, 2012). Ao final do processo é gerado uma fase líquida (hidrolisado hemicelulósico) rica em monossacarídeos, ácidos orgânicos, oligômeros de xilose e aromáticos solúveis e uma fase sólida rica em celulose (ZHUANG, WANG, *et al.*, 2016). A Figura 4 apresenta um esquema de produção de etanol e outros produtos de valor agregado tendo a auto-hidrólise como técnica de pré-tratamento.

Uma boa eficiência no processo associada a pouca geração de compostos inibidores está intrinsecamente associada às características estruturais da biomassa e às condições do pré-tratamento, que se resume na interação entre as variáveis temperatura e tempo, e conseqüentemente na severidade do pré-tratamento. Temperatura (160-230°C), tempo de reação, razão líquido/sólido (1-40 g/g), tamanho

de partícula, controle de pH e outras características devem ser controladas com o objetivo de se obter um hidrolisado rico em açúcares, com baixa concentração de inibidores e uma fase sólida rica em celulose (RUIZ, RODRÍGUEZ-JASSO, *et al.*, 2012; GARROTE, DOMÍNGUEZ e PARAJO, 1999; TAHERZADEH e KARIMI, 2008)

Figura 4. Fluxograma dos materiais lignocelulósicos tratados por auto-hidrólise



Fonte: Adaptado de ZHUANG et al.,2016.

As principais vantagens do processo são: i) não adição de produtos químicos e não necessidade de materiais especiais na construção de reatores; ii) baixas temperaturas de operação, o que representa baixo consumo energético; iii) altas eficiências de hidrólise e recuperação de hemicelulose (80-100%) e xilose (88-98%); iv) reduzida geração de subprodutos tóxicos/inibidores quando bem otimizado; v) não necessidade de uma etapa de cominuição da biomassa; vi) operação simples e economicamente viável; vii) poucos problemas com corrosão de equipamentos, entre outras características favoráveis (TAHERZADEH e KARIMI, 2008; MUPONDWA, LI, *et al.*, 2017; RUIZ, RODRÍGUEZ-JASSO, *et al.*, 2012; GARROTE, DOMÍNGUEZ e PARAJO, 1999; CAPOLUPO e FARACO, 2016).

A partir das características do processo podemos afirmar que a auto-hidrólise tem potencial de produzir um hidrolisado rico em pentoses com menores concentrações

de subprodutos tóxicos e uma fase sólida rica em celulose, quando comparado aos pré-tratamentos ácido ou por explosão na presença de amônia. A otimização do processo para as diferentes biomassas e suas misturas são de suma importância para alcançar melhores rendimentos relacionados à produção de biogás via digestão anaeróbia, à produção de etanol e de moléculas usadas em plataformas químicas (BAËTA, LIMA, *et al.*, 2016; GONZALES, SIVAGURUNATHAN, *et al.*, 2016).

O pré-tratamento da biomassa lignocelulósica pode levar a formação de compostos tóxicos a micro-organismos. A natureza e concentração desses compostos dependem não apenas do pré-tratamento, mas também da biomassa lignocelulósica. Os principais inibidores são furfural, 5-hidroximetilfurfural e fragmentos de moléculas de massas intermediárias gerados em maior parte pela degradação da lignina (BARAKAT, MONLAU, *et al.*, 2012).

Estudos mostram que tais substâncias são limitantes à conversão dos materiais lignocelulósicos a outros produtos, uma vez que são tóxicos à micro-organismos responsáveis pela degradação dessas e outras substâncias liberadas pelo tratamento da biomassa lignocelulósica (ZABED, SAHU, *et al.*, 2016; HARMSEN, HUIJGEN, *et al.*, 2010; PAUDEL, BANJARA, *et al.*, 2017; MONLAU, BARAKAT, *et al.*, 2013). Diante disso, o presente trabalho visa avaliar diferentes condições de pré-tratamento por auto-hidrólise afim de gerar uma fase sólida rica em celulose, uma fase líquida rica em açúcares fermentáveis e com mínima concentração de subprodutos tóxicos.

3.4. Produção de biogás a partir de biomassa lignocelulósica

O biogás é um dos produtos da digestão anaeróbia (DA), produzido pela degradação de compostos orgânicos, sendo uma potencial fonte energética. É composto principalmente por metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2) e nitrogênio (N_2). No entanto, é possível encontrar traços de gás sulfídrico (H_2S), hidrogênio (H_2), oxigênio (O_2), monóxido de carbono (CO), além de água e outras compostos (KHAN, OTHMAN, *et al.*, 2017).

A DA é um processo que ocorre naturalmente em áreas alagadas, pântanos, áreas de depósito de resíduos sólidos, estômago de animais, entre outros ambientes. Além disso, o processo é utilizado de forma controlada e otimizada no tratamento de

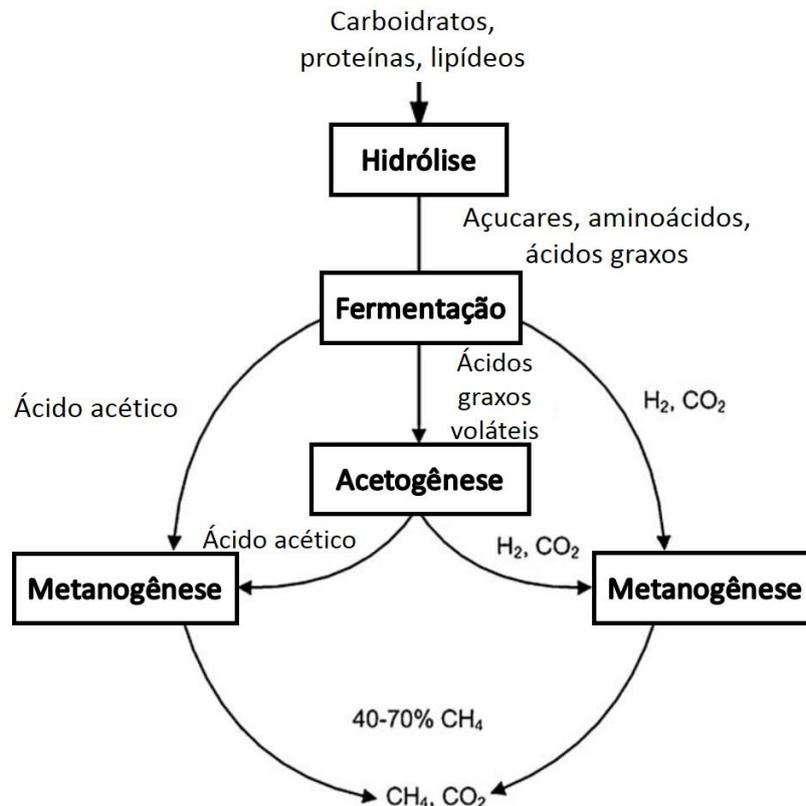
resíduos sólidos e líquidos visando a estabilização de compostos poluentes e produção de biogás (VASCO-CORREA, KHANAL, *et al.*, 2018).

A DA é um processo bioquímico realizada por um conjunto de micro-organismos facultativos e/ou estritamente anaeróbicos, pertencentes aos grupos de bactérias fermentativas, bactérias acetogênicas e archeas metanogênicas, que realizam a estabilização da matéria orgânica e conversão da mesma a metano, gás carbônico e novas células (CHERNICHARO, 1997). É dividido basicamente em quatro etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metagênese (ZHENG, ZHAO, *et al.*, 2014).

Na hidrólise, primeira fase do processo, enzimas extracelulares produzidas por micro-organismos hidrolíticos decompõem os complexos poliméricos orgânicos em monômeros mais solúveis e biodegradáveis. Posteriormente, na acidogênese, açúcares, aminoácidos e ácidos graxos são fermentados à ácidos de cadeia curta, moléculas C1-C5 (ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico), álcoois, hidrogênio e dióxido de carbono, além de novas células bacterianas. Após essa etapas, na acetogênese os produtos da acidogênese são convertidos em substratos para produção de metano (acetato, dióxido de carbono e/ou hidrogênio). Tais produtos são substratos diretos pra o último grupo de bactérias, as metanogênicas, que realizarão a metanogênese, a última etapa do processo de digestão anaeróbia, que gera o biogás (CHANDRA, TAKEUCHI e HASEGAWA, 2012; APPELS, BAEYENS e DEWIL, 2018). A Figura 5 apresenta o fluxo da matéria carbonácea no processo de degradação da matéria orgânica para geração de metano.

As condições ambientais têm papel fundamental para alcançar elevadas eficiências na conversão da matéria orgânica em biogás, uma vez que, diferentes grupos microbianos necessitam de condições ideais para crescimento e degradação do substrato (CHERNICHARO, 1997). Dessa forma, é necessário um bom controle do processo. Os principais fatores que interferem no processo de digestão anaeróbia são: pH, alcalinidade, concentração de AGVs no meio, temperatura, presença de nutrientes e compostos inibidores, quantidade de matéria degradável disponível, pressão de hidrogênio, características da biomassa, entre outros fatores (VELUCHAMY e KALAMDHAD, 2017; CHANDRA, TAKEUCHI e HASEGAWA, 2012; COSTA, PINHEIRO, *et al.*, 2014).

Figura 5. Fluxograma do processo de degradação anaeróbia da matéria orgânica.



Fonte: Adaptado de LI et al. 2011.

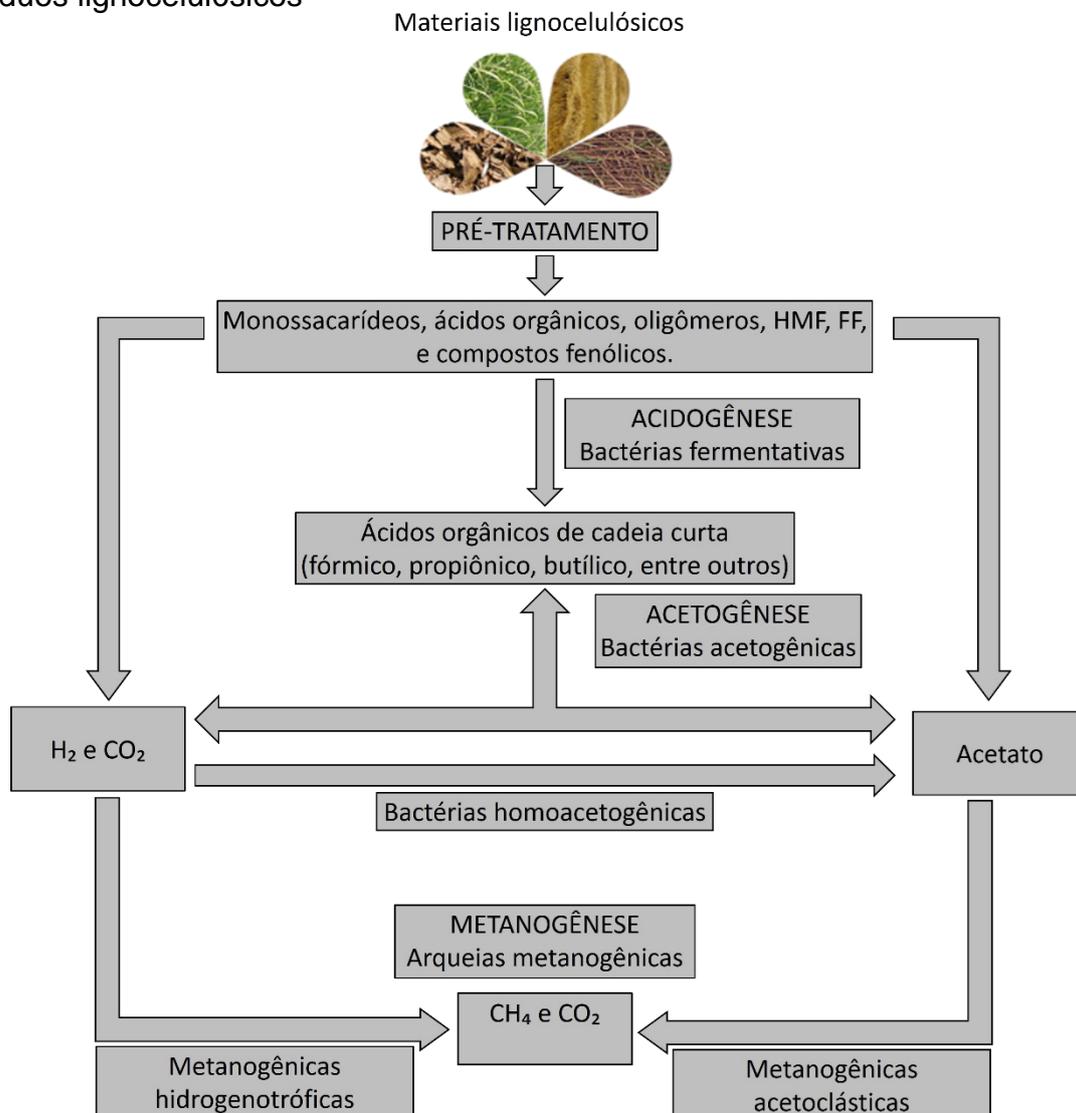
Os materiais lignocelulósicos apresentam características mecânicas, físicas, químicas e biológicas que conferem recalcitrância na etapa de hidrólise e, conseqüentemente, prejudicam as etapas posteriores do processo de DA. As exoenzimas liberadas pelos micro-organismos são ineficientes ou insuficientes na decomposição dos compostos poliméricos. Dessa forma, a etapa de hidrólise é considerada à limitante do processo, sendo de fundamental importância a adição do pré-tratamento para garantir a viabilidade de produção do biogás (MONLAU, BARAKAT, *et al.*, 2013; ZHENG, ZHAO, *et al.*, 2014; SHRESTHA, FONOLL, *et al.*, 2017).

A Figura 6 apresenta o processo de degradação de hidrolisado gerado por pré-tratamento de biomassa lignocelulósica e explicado por Ribeiro (2016):

Ao ser submetida ao pré-tratamento, a biomassa lignocelulósica, constituída basicamente de celulose, hemiceluloses e lignina, terá sua estrutura modificada, de forma a liberar compostos fermentescíveis.

A fração líquida gerada nesse processo, denominada como hidrolisado hemicelulósico, contém monossacarídeos, ácidos orgânicos, oligômeros de xilose e aromáticos solúveis. Após a etapa de pré-tratamento, este hidrolisado hemicelulósico é submetido ao processo de digestão anaeróbia. Na etapa hidrolítica, os compostos presentes na fração líquida obtida do pré-tratamento são hidrolisados gerando xilose, arabinose, glicose, HMF, FF e compostos fenólicos. Estes compostos são então submetidos à etapa de acidogênese, produzindo ácidos de cadeia curta. Em seguida, as bactérias acetogênicas convertem os ácidos orgânicos de cadeia curta em acetato, hidrogênio e dióxido de carbono. Por fim, as arqueias metanogênicas convertem esses produtos em metano e dióxido decarbono (CHERNICHARO, 2007; MONLAU et al., 2013)”

Figura 6. Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia de resíduos lignocelulósicos



Fonte: Adaptado de MONLAU et al.2013 apud RIBEIRO, 2016

3.5. Conclusões da Revisão

A revisão da literatura mostrou que os resíduos lignocelulósicos apresentam-se como potencial fonte de carboidratos para a produção de biocombustíveis, como o etanol de segunda geração e biogás, além de outros produtos químicos de valor agregado. Para tanto, observou-se a necessidade de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica a fim de se obter bons rendimentos e balanços energéticos e econômicos viáveis. As técnicas de pré-tratamentos são tidas como principal ferramenta na fragmentação, despolimerização, e aumento da biodegradabilidade dos materiais lignocelulósicos.

Das diversas técnicas de pré-tratamento apresentadas, destaca-se a auto-hidrólise. Esse processo físico-químico apresenta diversas vantagens quando comparado a outras, tais como: a não adição de insumos químicos no processo, a eficiência no aumento da acessibilidade aos açúcares, o aumento da área superficial, além da possível geração de um hidrolisado com menores concentrações de subprodutos inibidores. Diante das vantagens apresentadas, diversos estudos utilizam tal técnica no pré-tratamento de diferentes biomassas lignocelulósicas, porém, a maioria dos trabalhos visam a produção de etanol 2G.

Não foram encontrados estudos envolvendo a DA de hidrolisado hemicelulósico obtido a partir do BM oriundo da auto-hidrólise da casca do malte de cevada proveniente de uma indústria cervejeira. Diante do exposto, o presente trabalho contribuirá para o desenvolvimento e avanço na área de biorrefinarias.

4. Materiais e métodos

4.1. Obtenção do bagaço de malte

O BM foi fornecido por um produtor artesanal de cervejas (Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil). O BM foi seco a temperatura ambiente por 24 horas depois armazenado refrigerado em saco plástico para ensaios futuros.

4.2. Caracterização do bagaço de malte

4.2.1. Determinação do teor de umidade

A determinação dos teores de umidade das amostras foi realizada em balança OHAUS modelo MB25. Cerca de 1 g de amostra foi pesada na balança termogravimétrica. O equipamento aqueceu a amostra até 105°C por um período de tempo até que a variação do teor de umidade fosse mínima, menor que 5%. O teor de umidade foi calculado por meio da equação (1)

$$U, \% = \left(\frac{m_{total} - m_{seca}}{m_{total}} \right) \times 100 \quad (1)$$

em que U é a umidade da amostra (%), m_{seca} é a massa seca (g) obtida após o teste e m_{total} é a massa total (g) utilizada no teste.

4.2.2. Determinação do teor de extrativos

Para quantificação dos extrativos presentes na biomassa foi utilizado 100,00 g de BM em base seca. A massa de BM foi adicionada a um cartucho especial para extração do tipo Soxhlet, previamente pesado e tarado. Em um balão volumétrico de 500 mL adicionou-se 125 mL de ciclohexano e 125 mL de etanol (99%). O sistema de extração foi montado e a biomassa foi submetida a uma extração por 48 h. Após etapa de extração o cartucho juntamente com a biomassa foi lavados com abundância de água (100 mL). Após a lavagem o cartucho foi levado a uma estufa para secagem ajustada em 60°C por 72 h. Após a etapa de secagem o sistema cartucho mais biomassa livre de extrativos foi pesado. Para realização dos cálculos de perda de

massa uma amostra de biomassa foi retirada e submetida a análise de umidade. O teor de extrativos foi então determinado por gravimetria.

4.2.3. Determinação do teor de inorgânicos

O teor de inorgânicos (cinzas) da amostra foi determinado segundo a Norma TAPPI T211 om-02. Os cadinhos de porcelana foram calcinados em mufla a 525°C por 4 h e depois resfriados à temperatura ambiente em dessecador e tarados. Cerca de 1,00 g de amostra (40- 60 mesh) livre de umidade foi pesada em um cadinho previamente tarado. Esse procedimento foi realizado em triplicata. Os cadinhos foram aquecidos a 100°C e nessa temperatura permaneceram por 1 h. Após esse tempo a temperatura foi aumentada gradualmente de 50 em 50°C a cada 40 min (rampa de 1,25°C/min.) a fim de carbonizar a amostra suavemente para que não haja projeções. Os cadinhos foram mantidos a 525°C por 4 h e resfriados a temperatura ambiente em dessecador. O teor de inorgânicos foi determinado gravimetricamente e calculado segundo a equação (2).

$$\text{Inorgânicos, \%} = \left(\frac{m_f}{m_i} \right) \times 100 \quad (2)$$

em que m_f é a massa final (g) após a calcinação e m_i é a massa inicial (g) de amostra livre de umidade.

4.3. Determinação do teor de lignina

O teor de lignina total do bagaço de cana consiste na soma das frações insolúvel e solúvel.

4.3.1. Teor de lignina insolúvel pelo método Klason

O teor de lignina insolúvel foi determinado segundo a Norma TAPPI T222 om-02, modificada de acordo com o descrito a seguir. Pesou-se cerca de 0,7133 g (base seca) de BM previamente moído (40-60 mesh) e transferiu-se para um tubo autoclavável de 500 mL, contendo 10,7 mL de solução de ácido sulfúrico 72% (d =

1,6338 g/mL). A mistura bagaço/ácido permaneceu sob agitação em chapa magnética por um período de 2 horas. Após o término da chamada fase de condensação, iniciou-se a etapa de hidrólise. Durante esta etapa, o ácido foi diluído a uma concentração de 3% (m/v), adicionando-se aos tubos autoclaváveis 400 mL de água destilada. Posteriormente os tubos foram levados a uma autoclave previamente aquecida, a uma temperatura de 121°C, por onde permaneceu pelo período de 1 hora. Após a etapa de hidrólise, iniciou-se a etapa de filtração. Nesta etapa, a solução foi filtrada a quente em funil de placa sinterizada (tipo ASTM 10-15M) previamente calcinado, em estufa a 525°C, por 1 hora. Depois desse processo, ela é armazenada para análises posteriores. O material insolúvel foi seco em estufa a 80°C por 4 horas e resfriado em dessecador. Após esta etapa, o cadinho pesado foi levado à mufla a 525°C por um período de 2 horas a uma taxa de aquecimento de 2°C por minuto. Posteriormente, os cadinhos foram retirados e levados ao dessecador e então pesados. Nesta etapa, considerou-se que toda a matéria orgânica insolúvel é lignina. O teor de lignina insolúvel foi, então, determinado gravimetricamente e calculado conforme a equação (3).

$$\text{Lignina insolúvel, \%} = \left(\frac{m_f}{m_i} \right) \times 100 \quad (3)$$

em que m_f é a massa de lignina residual (g) e m_i é a massa inicial (g) de amostra livre de umidade.

4.3.2. Teor de lignina solúvel

Para determinação da lignina solúvel, utilizou-se o filtrado obtido durante a determinação da lignina insolúvel. A quantificação de lignina solúvel foi feita através das medidas de absorvância em 215 nm e 280 nm em espectrofotômetro (Hp UV-vis, modelo 8453), seguindo metodologia adaptada por (MARABEZI, 2009). As concentrações de lignina solúvel foram calculadas utilizando a equação (4).

$$C, \text{ g/L} = \left(\frac{4,53 \times A_{215} - A_{280}}{300} \right) \quad (4)$$

A equação (4) é resultado da solução simultânea das equações (5) e (6):

$$A_{280} = 0,68C_D + 18C_L \quad (5)$$

$$A_{215} = 0,15C_D + 70C_L \quad (6)$$

Em que: A_{280} são valores de absorvância da solução a 280 nm; A_{215} são valores da absorvância a 215nm; C_L concentração de lignina solúvel(g/L) e C_D concentração de carboidratos.

Os valores 0,68 e 0,15 são respectivamente as absortividades molares dos carboidratos em 280 nm e 215 nm, respectivamente, e os valores 18 e 70 são as absortividades molares da lignina solúvel em 280 e 215 nm, respectivamente

4.4. Determinação do teor de celulose e polioses

Os teores de celulose e polioses foram determinados pela análise cromatográfica dos componentes da solução resultante do método de determinação do teor de lignina. Essa determinação foi realizada por meio da detecção dos seguintes compostos na solução: celobiose, glicose, xilose, arabinose, ácido fórmico, ácido acético, 2-furfuraldeído (FF) e hidroximetil-2- furfuraldeído (HMF).

A análise dos açúcares foi realizada em um cromatógrafo de fase líquida de alta eficiência (CLAE) da Shimadzu, equipado com detector de índice de refração (RID-6A Shimadzu) e coluna Aminex HPX 87H (300 x 7,8 mm Bio-Rad). A mistura eluente é composta de ácido sulfúrico 5 mmol/L e o fluxo no qual o eluente foi bombeado para o sistema e foi de 0,6 mL/min. A temperatura do forno (CTO-10A Shimadzu) na qual a coluna foi mantida à 45°C.

As condições cromatográficas para determinação dos ácidos orgânicos, FF e HMF foram iguais às condições para determinação dos açúcares. A única alteração estava relacionada à detecção dos compostos. Ambos os compostos foram detectados com auxílio de um detector UV-Vis (SPD-10AV Shimadzu) operado em dois, comprimentos de onda 210 nm para determinação dos ácidos e 274 nm para análise do FF e HMF.

Após as análises, as massas de celobiose e glicose foram convertidas em quantidade de glucanas; as massas de xilose e arabinose foram convertidas em xilana e arabinana, respectivamente; a massa de ácido acético foi convertida em grupos acetil. Além disso, os teores de HMF e FF foram convertidos em quantidade

de glucanas e xilanas, multiplicando-se a quantidade de HMF e FF pelos fatores estequiométrico de hidrólise 1,286 e 1,375, respectivamente. A conversão dos componentes do hidrolisado em celulose e polioses (hemiceluloses) foi feita de acordo com as equações (7) e (8).

$$Celulose, \% = \left\{ \frac{[(0,95 \times C_{celobiose}) + (0,9 \times C_{glicose}) + (3,52 \times C_{ácido\ fórmico}) + (1,29 \times C_{HMF})] \times V_{H_2O + H_2SO_4}}{m_i} \right\} \quad (6)$$

$$Polioses, \% = \left\{ \frac{[(0,88 \times C_{xilose}) + (0,88 \times C_{arabinose}) + (1,375 \times C_{HMF}) + (1,29 \times C_{FF})] \times V_{H_2O + H_2SO_4}}{m_i} \right\} \quad (7)$$

4.5. Balanço de massa

O balanço de massa para os componentes do bagaço de cana-de-açúcar foi calculado utilizando-se a equação (8)

$$\text{Balanço de massa, \%} = C + P + L + I \quad (8)$$

em que C é o teor de celulose (%), P o teor de poliose(hemicelilose) (%), L o teor de lignina (solúvel+insolúvel) (%) e I o teor de inorgânicos(%).

4.6. Ensaio de auto-hidrólise

Os ensaios de auto-hidrólise do BM foram realizados em reatores tubulares de aço inox 316L do tipo autoclave com anel de vedação de politetrafluoretileno (PTFE), com volume útil de 475 mL. Para o aquecimento dos reatores durante a etapa de hidrólise utilizou-se um banho termostatizado de 25 L contendo glicerina como fluido de aquecimento. As temperaturas ideais foram programadas e monitoradas com auxílio de um termopar. O conteúdo de água do bagaço de cana foi contabilizado na adição de água para adequação da razão líquido/sólido. Nos 6 ensaios realizados a massa de BM utilizada foi 30,0 g (base seca). Após o pré-tratamento, o reator foi imediatamente resfriado num banho de gelo e aberto, e o BM pré-tratado foi submetido a uma operação de separação sólido-líquido (filtração a vácuo) . O volume

da fração líquida obtido após prensagem foi medido e posteriormente parte do hidrolisado hemicelulósico (HH) foi filtrado em filtros de nitrocelulose com tamanhos de poros de 0,45 µm. Os filtrados foram submetidos a cromatografia para quantificação dos açúcares, ácidos orgânicos, FF e HMF conforme a metodologia descrita à acima. Além da caracterização cromatográfica, parte do HH filtrado foi submetido a uma análise de demanda química de oxigênio (DQO). Uma quantidade de HH sem filtrar foi reservada para os ensaios de DA.

A Tabela 1 apresenta as condições dos 6 diferentes experimentos de AH realizados.

Tabela 1. Parâmetros dos experimentos de AH realizados.

Experimento	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Log R _o	L/S (mL/g _{seco})
1	120	15	1,76	6,0
2		60	2,37	
3	160	15	2,94	
4		60	3,54	
5	180	15	3,53	
6		60	4,13	

No qual Log R_o representa a severidade do pré-tratamento em função do tempo e temperatura, calculados segundo a equação 9 (BAÊTA, CORDEIRO, *et al.*, 2017).

$$\text{Log R}_o = \log \left[t \times e^{\left(\frac{T-100}{17,75} \right)} \right] \quad (9)$$

Em que *t* é o tempo (min) de reação e *T* é a temperatura (°C) na qual ocorre o processo.

4.7. Biodegradabilidade Anaeróbia

Os testes de digestão anaeróbia em batelada foram realizados semelhante a metodologia aplicada por Baêta (2016) em hidrolisado hemicelulósico proveniente da auto-hidrolise do bagaço de cana de açúcar. Foram realizados ensaios em duplicata para avaliar o potencial bioquímico de metano (PBM) dos HH obtidos a partir da AH do BM. Um teste controle, sem substrato, também foi incluído nos ensaios para verificar a atividade metanogênica endógena. Todos os experimentos foram realizados em condições mesofílicas em reatores de vidro de 120 mL que colocados

num agitador orbital termostaticado ($35,0 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$) a 180 rpm com faixa de pH inicial de 6,9 a 7,2. O volume de trabalho foi de 72 mL, sendo deixado 48 mL dedicados ao head space. Após inoculação os frascos foram purgados com N_2 gasoso por dois minutos e fechados hermeticamente com tampa de borracha e lacre de alumínio. O inóculo anaeróbico usado para os testes de BMP foi obtido a partir de um reator UASB alimentado com esgoto sanitário operado em escala de demonstração no Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento (CePTS) da UFMG-COPASA. Os inóculos foram previamente incubado por quatro dias a 35°C para eliminar a produção de metano a partir da biodegradação de material orgânico residual.

Uma amostra de HH de 7,2 mL foi adicionada aos frascos de vidro para manter uma razão alimentação/micro-organismo de $0,4 \text{ g DQO.gSSV}^{-1}$. Em cada experimento, foi adicionado uma solução contendo bicarbonato de sódio (tampão) e micro- e macronutrientes. A concentração destes foi determinada para manter uma proporção mínima de DQO:N:P de 350:5:1 de acordo com Baêta et al. (2013).

A Tabela 2 apresenta as condições dos experimentos de BMP realizados e a Figura 7 os reatores no dia de encubação.

Tabela 2. Parâmetros dos experimentos de BMP

Experimento	Vol. HH (mL)	Relação F/M (gDQO/gSSV)	DQO HH (g/mL)	Fator de diluição (x)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Agitação (RPM)	pH _{inicial}
1			0,0337				
2			0,0404				
3	7,2	0,4	0,0472	10	$35,0 \pm 0,3$	180	6,9-7,2
4			0,0760				
5			0,0583				
6			0,0894				

Figura 7. Reatores de vidros utilizados no teste BMP



4.8. Balanço energético

O balanço energético foi estimado para cada condição considerando a quantidade de energia gerada (E+) pela combustão (85% de eficiência) do metano ($\Delta H_{\text{Combustão}}=39,9 \text{ MJ.Nm}^{-3}\text{CH}_4$) produzido no ensaio BMP. A energia gasta durante o pré-tratamento (E-)foi considerada para calcular o ganho líquido de energia (ΔE) do processo. A fim de calcular a energia gasta, a razão sólido/líquido (RSL) utilizada nos experimentos assim como a temperatura do pré-tratamento (T_{AH}), a temperatura de entrada do material ($T_{BM}=25^\circ\text{C}$) e temperatura da água ($T_{H2O}=100^\circ\text{C}$) foram consideradas. A temperatura de entrada da água a 100°C pode ser considerada uma vez que seria utilizado a água do processo de resfriamento de um motor a combustão ou aquela aquecida pelos gases gerados no processo de combustão do metano. Os valores de calor específico (C_p) utilizados para o BM e água foram $1,63 \times 10^{-3}$ e $4,19 \times 10^{-3} \text{ MJ.}(\text{kg}^\circ\text{C})^{-1}$, respectivamente (JANGI, MORTAZAVI, *et al.*, 2011). O ΔE foi estimado a partir da equação 10.

$$\Delta E = E (+) - E(-)$$

$$\Delta E = \left[(\text{BMP} \times \Delta H_{\text{Combustão}}) \times \frac{\text{kg}_{DQO}}{\text{kg}_{BM\text{seco}}} \times 0,85 \right] - \left\{ [Cp_{BM} \times m_{BM} \times (T_{AH} - T_{BM,25^\circ\text{C}})] + \left[Cp_{H2O} \times \frac{1}{RSL} \times \rho_{H2O} \times (T_{AH} - T_{H2O,100^\circ\text{C}}) \right] \right\} \quad (10)$$

Onde BMP é o potencial bioquímico de produção de metano, $\text{kg}_{\text{DQO}}/\text{Kg}_{\text{BMseco}}$ é a DQO gerada em forma de HH por quilograma BM seco pré-tratado por AH e $\rho_{\text{H}_2\text{O}}$ é o peso específico da água ($1,0 \text{ g.cm}^3$). Os cálculos foram realizados com base em 1 kg de BM seco processado.

5. Resultados e discussões

5.1. Caracterização do bagaço de malte

A caracterização do BM foi feita e os teores de 16,4% de hemiceluloses, 49,4% de celulose, 34,9% de lignina e 0,4% de cinzas (inorgânicos) foram encontrados. Como apresentado na Tabela 3, tais valores diferem um pouco quando comparado à caracterização de matérias com características semelhantes. Porém, diversos autores justificam tal diferença devido à espécie do grão, às características do local, a forma e estação de cultivo, às condições de colheita (quando se refere à palha de malte), às condições de maltagem, trituração e fermentação, à quantidade e tipo de outros grãos e produtos adicionados no processo de fermentação, aos métodos analíticos utilizados, entre outros fatores (SHEIKH, KIM, *et al.*, 2014; MUSSATTO, 2014).

Outra justificativa possível para a alta quantidade de celulose, baseada em justificativa apresentada por Dehnavi (2010), é a possível presença de amidos não hidrolisados no processo de produção da cerveja, fato que também afetaria nas concentrações dos outros componentes, uma vez que atrapalhariam no balaço de massa.

Tabela 3. Resultado da caracterização do bagaço de malte e comparação com a literatura

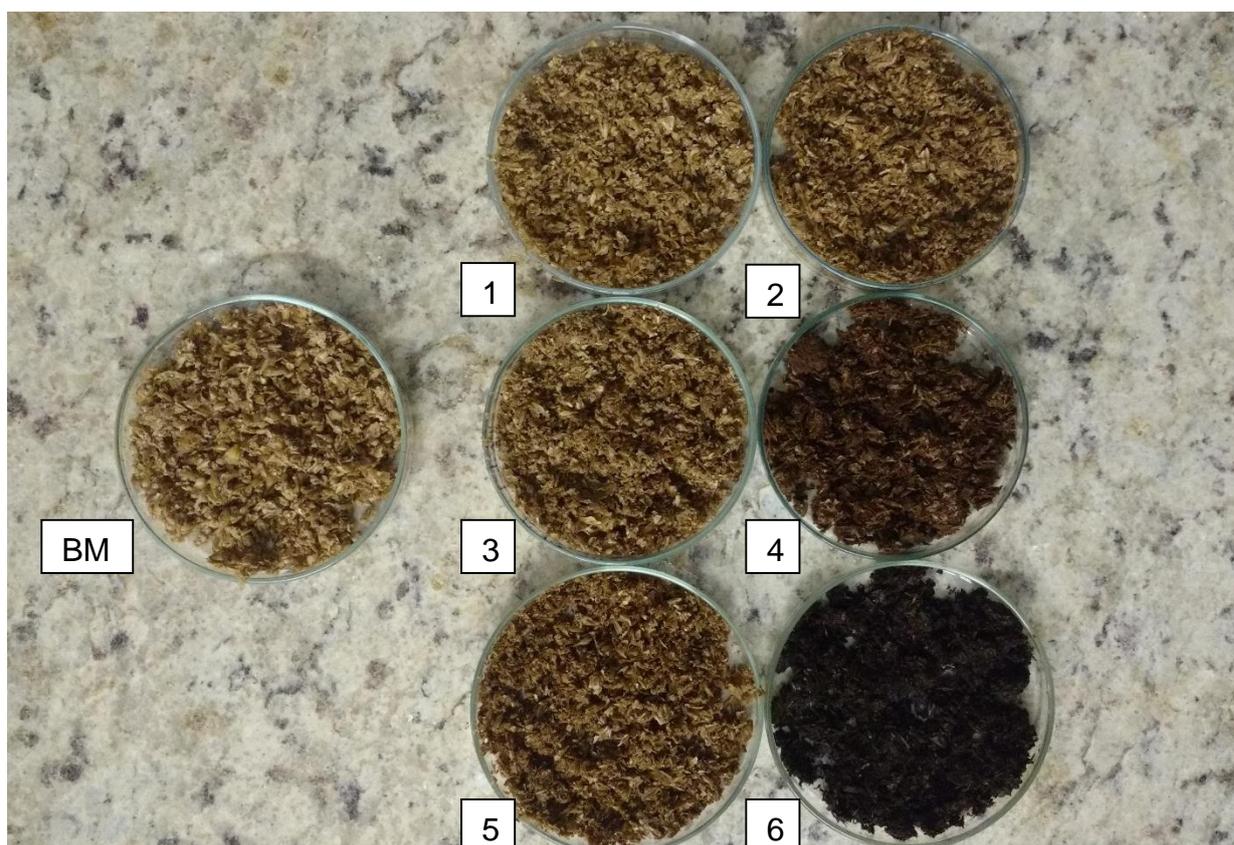
Características do material	Composição g/100g (%)					Referências da literatura
	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Cinzas	Outros	
Bagaço de grãos maltados e processados por indústria cervejeira	49,4	16,4	34,9	0,4	-	Presente estudo
	21,7	19,2	19,4	4,2	35,4	Menezes et al., 2013
	21,9	29,7	21,7	1,2	35,6	Carvalho et al., 2004
	15,1	32,5	13,4	3,4	35,6	Dehnavi et al., 2010
	25,3	41,9	16,9	4,6	9,5	Silva et al., 2004
	25,4	21,8	11,9	2,4	24,0	Kanauchi et al., 2001
Bagaço de cevada maltada e processada por indústria cervejeira	26,0	22,2	-	1,1	33,1	Walters et al., 2012
	17-22	22-29	13-17	-	23-33	Robertson et al., 2010
	12,0	40,2	11,5	3,3	27,5	Xiros et al., 2009
	16,8	28,4	27,8	4,6	22,5	Mussatto and Roberto, 2006
Casca de cevada	2,3-4,8	65,9-66,1	21,4-22,3	-	17,2-18,6	Germec et al., 2017
	39,0	12,0	22,0	-	19,0	Bledzki et al., 2010
	34,7	31,8	24,8	9,1	-	Roos et al., 2009
	33,6	36,6	19,3	3,6	0,8	Kim et al., 2008
	23,0	32,7	21,4	-	22,9	Cruz et al., 2007
Palha de cevada	39,2	24,4	12,8	9,0	-	Sheikh et al., 2015
	37,2	24,4	16,1	6,4	20,6	Panagiotopoulos et al., 2015
	35,1	24,6	19,8	7,6	8,8	Vargas et al., 2016
	35,6	19,0	23,1	2,5	19,8	Han et al., 2013

5.2. Características do HH gerado durante o pré-tratamento por AH do BM e avaliação da influência dos parâmetros tempo e temperatura

A Tabela 4, nas linhas superiores, apresenta as caracterizações da fase sólida e dos HH produzidos a partir dos ensaios de auto hidrólise e, nas linhas inferiores, uma comparação e avaliação da influência dos parâmetros tempo e temperatura nas características dos hidrolisados. É possível perceber que as caracterizações da fase sólida apresentam boa exatidão, uma vez que os valores variam de 98,98 a 104,03%. A Figura 8 apresenta o aspecto visual da fase sólida antes e após as hidrólises.

A partir dos resultados percebe-se que na maioria dos experimentos a AH foi eficiente na solubilização da celulose e hemicelulose, visto que a lignina tem predomínio na fase sólida. Além disso, foi detectado nos hidrolisados altas concentrações de celobiose, que é produto da hidrólise incompleta da celulose. Acredita-se que tal celobiose possa ser maltose, advinda da não fermentação incompleta do malte durante a produção de cerveja. Tal afirmação pode ser verdadeira uma vez que a maltose se diferencia da celobiose apenas na ligação entre as duas moléculas de glicose.

Figura 8. Aspecto visual do BM antes e depois dos experimentos de hidrólise



O tratamento 6 ($T=180^{\circ}\text{C}$, $t=60\text{min}$, $\text{Log } Ro=4,13$) apresentou o melhor desempenho na solubilização de açúcares monoméricos, demonstrando concentração final de 13,15g/L, sendo os principais açúcares encontrados, a glicose com 7,10g/L e a xilose com 4,55g/L, o fato da alta presença de monômeros a base de açúcares C6 pode ser justificada pela elevada severidade do pré-tratamento, condições de elevadas temperaturas e tempo podem ser capazes de agir sobre a fração amorfa da celulose que interage com as cadeias de hemicelulose.

Observa-se também que, nos outros 5 experimentos a concentração final de glicose nos hidrolisados foi bem semelhante quando avalia-se a variação dos parâmetros temperatura e tempo, isto pode indicar que a celulose do BM está mais acessível e conseqüentemente menores severidades do pré-tratamento são capazes de garantir uma hidrólise da celulose ou que a glicose é proveniente da maltose não fermentada presente no BM. No entanto, é válido ressaltar que as maiores concentrações de açúcares C6 foi observada para os pré-tratamentos mais severos. A elevada remoção de celulose da fase sólida para fase líquida pode prejudicar a utilização da fração sólida remanescente para geração de outros produtos como o etanol celulósico.

Um dos pontos discutidos na literatura para justificar a influência de altas temperaturas e tempos na eficiência de remoção de açúcares da biomassa lignocelulósica está no fato de que, nessas condições, o pH do meio é mais ácido, especialmente pela concentração de ácido acético e ácido fórmico. O ácido acético é produzido principalmente pela quebra dos grupos acetil presentes na estrutura da hemicelulose e o ácido fórmico é um subproduto da degradação dos furanos, que são formados pela degradação de açúcares (JÖNSSON e MARTÍN, 2016). Estes resultados se confirmam quando avaliamos os teores desses ácidos na fração líquida para cada pré-tratamento. Os maiores valores de açúcares no hidrolisado é encontrado para o pré-tratamento 6 com maior severidade, conforme pode ser visto na Tabela 4.

Ainda na Tabela 4 podemos avaliar como os parâmetros tempo e temperatura influenciaram na liberação de açúcares C5 e C6. Em apenas uma das comparações, sendo está o aumento da temperatura com tempo constante, comparando os experimentos 6 e 4, foi evidenciado uma diminuição da concentração final de

arabinose. Pode-se justificar essa redução devido à severidade do tratamento 6, no qual possivelmente ocorre formação de furanos a partir da desidratação da arabinose, uma vez que a concentração desses aumentou 707,21% para o HMF e 798,29% para o FF.

Dessa forma deve ser evidenciada a influência positiva do aumento da temperatura e duração da auto-hidrólise na solubilização dos açúcares monoméricos. Porém, deve-se avaliar os efeitos desse aumento na DA uma vez que associado à solubilização dos açúcares tem-se um aumento da concentração de AGVs e furanos, que podem ser tóxicos ou inibidores aos micro-organismos.

Quanto à celobiose, esperava-se uma concentração mais baixa nos hidrolisados, uma vez que o tratamento objetivava a solubilização da hemicelulose e geração de uma fase sólida rica em celulose. Uma das possíveis justificativas para as altas concentrações está no fato de que o material havia passado por outros processos de hidrólise durante a produção da cerveja, dessa forma estando mais sensível à hidrólise nesse tratamento e possivelmente apresentar carboidratos residuais em sua estrutura, como a maltose.

As concentrações encontradas de celobiose são semelhantes para os experimentos 1, 2, 3 e 5, apresentando média de 14,44 g/L e desvio de 0,37 g/L (2,57%). Tais resultados podem ser justificados pela alta energia de ativação necessária para quebrar a ligação entre as moléculas de glicose, sendo tal energia possivelmente não alcançada nesses experimentos. Além disso as características da biomassa e cristalinidade da celulose afetam a sua acessibilidade no processo de hidrólise. Quando analisamos os experimentos 4 e 6, com maior tempo ($t=60\text{min}$), temperaturas ($T=160^\circ\text{C}$ e $T=180^\circ\text{C}$) e severidade ($\text{Log } Ro=3,54$, $\text{Log } Ro=4,13$) empregados, observa-se menores concentrações de celobiose, e ao mesmo tempo, as maiores concentrações de glicose e produtos de degradação dos açúcares C5 e C6, indicando que uma maior efetividade na hidrólise da celobiose.

Quando avaliamos a influência do aumento tempo na concentração da celobiose observa-se que em todos os casos ocorre redução da mesma e aumento da glicose. Além disso, percebe-se que durante a variação do tempo, nas maiores temperaturas, tem-se uma maior redução da concentração da celobiose devido a maior hidrólise da mesma. De forma semelhante, a temperatura apresenta fator importante na redução

da concentração da celobiose, sendo evidente quando se compara os experimentos 4 e 6 aos experimentos 1, 2, 3 e 5.

A Figura 9 apresenta a concentração dos ácidos fórmico e acético presentes nos hidrolisados. Observa-se que nas condições 4 e 6 ($T=160^{\circ}\text{C}$, $t=60\text{min}$ e $T=180^{\circ}\text{C}$, $t=60\text{min}$), a concentração de ácido fórmico é maior que a concentração de ácido acético, o que não ocorre nos outros experimentos. Possivelmente, a maior severidade desses pré-tratamentos tenha contribuído para uma maior desidratação dos açúcares C6 em 5-HMF e consequente a desidratação de 5-HMF à ácido fórmico. Além disto, em tais experimentos foram encontradas as maiores concentrações finais de ácidos, 4,11 g/L para o experimento 4 e 19,61 g/L para o 6.

Como relatado anteriormente, tais ácidos são oriundos dos grupos acetil presentes na hemicelulose e pela degradação de furanos, sendo gerados em maiores concentrações em condições com maiores temperatura e tempos associados. Tais condições são encontradas nos experimentos 4 e 6, justificando assim a elevada concentração desses ácidos nos hidrolisados.

Figura 9. Concentração final de ácidos nos experimentos realizados

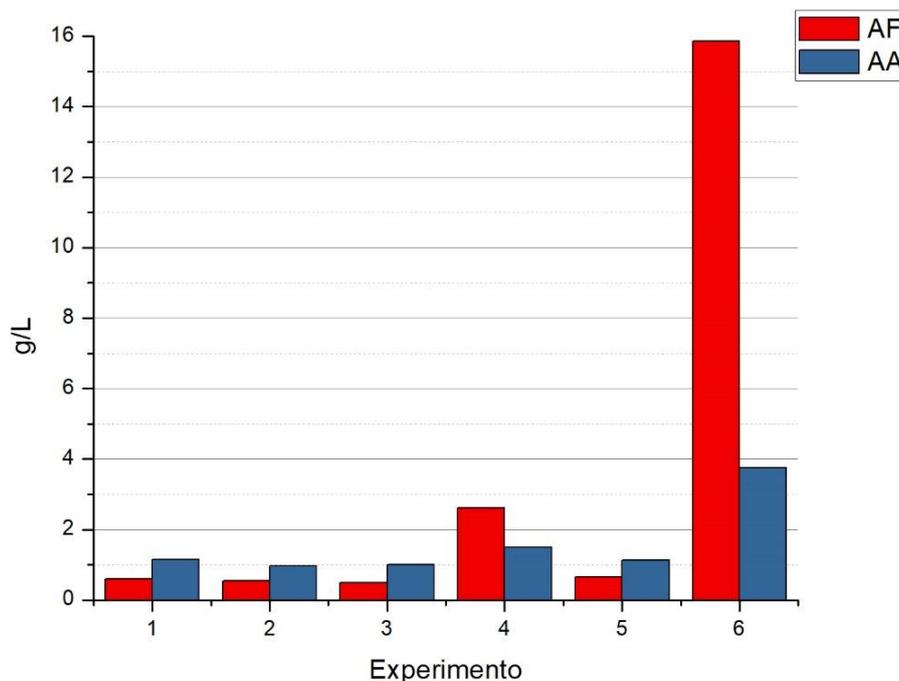


Tabela 4. Caracterização da fase sólida e dos HH, na parte superior, e avaliação da influência dos parâmetros tempo e temperatura nas características dos hidrolisados, parte inferior

Exp.	Composição Fração sólida (%)						Características HH									
	Celu. ¹	Hemi. ²	Lig. ³	Ciz. ⁴	BM ⁵	Solubilização	Açúcares (g/L)				AGVs (g/L)		Furanos (g/L)		DQO (g/L)	Volume (mL)
							Celob. ⁶	Glic. ⁷	Xilo. ⁸	Arab. ⁹	AF	AA	HMF	FF		
BM	49,42	14,94	34,86	0,39	99,61											
1	35,68	34,84	32,78	0,74	104,03	13,00	14,250	3,294	0,660		0,608	1,146		0,120	33,72	163,3
2	29,60	25,97	38,79	0,63	94,98	16,21	14,198	3,437	0,738	0,287	0,538	0,963		0,095	40,39	173,6
3	31,28	29,48	37,53	0,80	99,09	23,64	14,997	3,370	0,691	0,310	0,487	1,000		0,074	47,17	175,9
4	29,17	17,05	51,54	0,59	98,36	46,52	11,677	3,690	1,710	2,844	2,614	1,497	0,139	0,329	75,98	181,4
5	28,63	25,79	40,21	0,52	95,15	33,97	14,346	3,501	0,968	1,182	0,648	1,127		0,164	58,32	178,3
6	26,81	6,67	66,39	0,23	100,10	57,70	6,625	7,109	4,551	1,493	15,859	3,753	1,122	2,953	89,37	182,9

Parâmetro avaliado	Parâmetro alterado	Parâmetro constante	Comparação	Variação da concentração dos componentes (%)								Variação da Solubilização (%)	
				Açúcares				AGVs		Furanos			DQO
				Celob.	Glic.	Xilo.	Arab.	AF	AA	HMF	FF		
Influência do tempo	15→60 min	120°C	2&1	-0,36	4,36	11,83		-11,41	-15,95		-20,79	19,78	24,72
		160°C	4&3	-22,14	9,50	147,54	817,15	437,10	49,62		345,88	61,09	96,77
		180°C	6&5	-53,82	103,08	370,29	26,34	2346,82	232,92		1699,22	53,25	69,86
Influência da temperatura	120→160°C	15min	3&1	5,24	2,31	4,72		-19,92	-12,69		-38,36	39,88	81,85
		15min	5&1	0,67	6,29	46,64		6,65	-1,63		37,22	72,95	161,32
		15min	5&3	-4,34	3,89	40,04	281,14	33,17	12,67		122,61	23,64	43,69
		60min	4&2	-17,75	7,35	131,80	891,09	385,51	55,43		246,99	88,12	186,91
		60min	6&2	-53,34	106,83	516,71	420,35	2845,51	289,66		3017,02	121,28	255,89
		60min	6&4	-43,27	92,66	166,05	-47,50	506,68	150,70	707,21	798,29	17,63	24,04

1: Celulose; 2: Hemicelulose; 3: Lignina; 4: Cinzas; 5: Balanço de massa; 6: Celobiose; 7: Glicose; 8: Xilose; 9: Arabinose;

Quando avaliamos a influência da variação do tempo quanto à formação dos ácidos, percebe-se que, na maioria dos casos o aumento do tempo levou a uma concentração maior que o de menor tempo.

Ao analisarmos o efeito da temperatura na concentração de ácidos, quando esta é aumentada, é evidenciada uma menor influência quando o ensaio tem duração de 15 minutos. Analisando os ensaios 3x1, nota-se diminuição da concentração final de ácidos no hidrolisado para o experimento de maior temperatura, como apresenta o experimento 3. Em todos os outros experimentos, especialmente os de 60 minutos de duração, tem-se um aumento da concentração final de ácidos, sendo mais expressivo esse aumento quando comparamos aos experimentos 6 e 2.

Ao variar a temperatura de 120 para 180°C, com tempo de ensaio de 60 minutos, visualiza-se mais facilmente, como em altas temperaturas ocorre uma maior formação de ácido fórmico e acético. Foi encontrado uma concentração 29,5 e 3,9 vezes maior de AF e AA, respectivamente, no hidrolisado 6 quando comparado ao 2. Dessa forma, pode-se afirmar que ocorre uma maior formação de AA e AF, quando ensaios de AH são realizados em altas temperaturas e em longos períodos de tempo. Os resultados são semelhantes aos encontrados por Baêta (2016), no qual o bagaço de cana foi pré-tratado por auto-hidrólise e as maiores concentrações de AA foram obtidas nos experimentos de maior tempo de contato e temperatura.

Quanto à geração de furanos, pela Tabela 4, verifica-se a presença de FF em todos experimentos e do HMF nos experimentos 4 e 6, que são os de maiores tempos e temperaturas associados, desse forma os com maiores valores de severidade. Tais resultados são semelhantes aos encontrados para os açúcares, mostrando a influência da temperatura e tempo de contato na degradação de carboidratos. A concentração de 2,95 g/L e 1,112 g/L para FF e HMF, encontradas no experimento 6 ($T=160^{\circ}\text{C}$, $t=60\text{min}$, $\text{Log } Ro=4,13$), contrasta com as concentrações de 0,095 g/L de FF encontrada no experimento 2 ($T=120^{\circ}\text{C}$, $t=60\text{min}$, $\text{Log } Ro=2,37$) demonstrando essa influência.

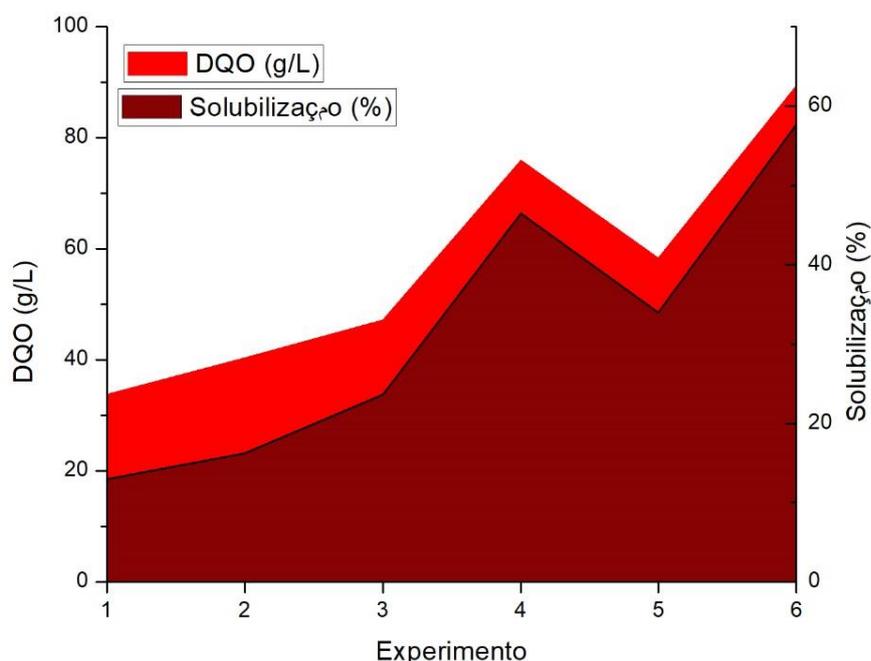
Pela comparação dos ensaios pode-se evidenciar esse comportamento na maioria dos casos. Ao avaliar o aumento do tempo para a temperatura de 120°C, evidencia-se uma redução da concentração de FF de 20,79%. Acredita-se que este fato ocorre devido à conversão para um produto de degradação, provavelmente diferente do AF

ou polimerização do FF e AF, uma vez que nessa mesma condição a concentração deste diminui. Outra variação de parâmetro na qual a concentração de FF diminui ocorre quando aumenta-se a temperatura de 120°C para 160°C, com tempo de 15 minutos, encontrando concentração de FF 39,36% menor na condição 3 que na 1.

Nas outras comparações, especialmente aquelas associadas a longos períodos de contato e altas temperaturas, evidencia-se aumento da concentração de FF e o aparecimento do HMF. Dessa forma, quando objetiva-se a utilização do HH em processos envolvendo micro-organismos, deve-se avaliar como os mesmos se comportarão na presença de um substrato contendo concentrações expressivas de furfurais, uma vez que a concentração de açúcares pode não ser determinante na eficiência do processo.

A Figura 10 apresenta os resultados de DQO e solubilização da biomassa lignocelulósica. Como esperado, percebe-se um comportamento similar nos dois resultados, uma vez que a medida que se tem uma maior solubilização do BM eleva-se a concentração de compostos quimicamente oxidáveis nos HH, elevando conseqüentemente a demanda química de oxigênio.

Figura 10. Comportamento da DQO do hidrolisado e solubilização da biomassa lignocelulósica



Ao avaliar a influência do tempo e temperatura na solubilização e concentração de DQO, percebe-se que em ambos os casos a medida que se aumenta a

temperatura com tempo constante ou o tempo com a temperatura constante, encontra-se maiores valores finais para DQO e solubilização. Tal fato indica que tempo e temperatura tem grande influência nesses parâmetros. Tais resultados eram esperados, visto os resultados encontrados para solubilização de açúcares, que apresentaram comportamentos semelhantes.

Como exemplo para variação do efeito do tempo, pode-se comparar os experimentos 5 e 6, ambos há temperatura de 180°C. O experimento 6 ($t=60\text{min}$) apresentou 53,25% maior DQO e 69,86 % maior solubilização quando comparado ao 5 ($t=15\text{min}$). Ao avaliar a influência da temperatura, percebe-se de forma mais expressiva a variação do resultado final quando comparado os experimentos 6 e 2, tempo de 60 minutos e variação de 120°C a 180°C.

Os ensaios de auto-hidrólise se mostraram eficientes na solubilização de açúcares, demonstrado serem eficientes na produção de um hidrolisado digerível anaerobicamente. Por outro lado, associados aos açúcares estão a geração dos ácidos e furanos, substâncias que apresentam potencial inibidor a micro-organismos. Diante disso, fica evidente a necessidade de otimização do processo de tratamento da biomassa visando uma maior concentração de açúcares e redução de compostos inibidores. Nesse trabalho o hidrolisado foi produzido objetivando a DA, que foi avaliado por meio dos ensaios de BMP que serão discutidos no tópico abaixo.

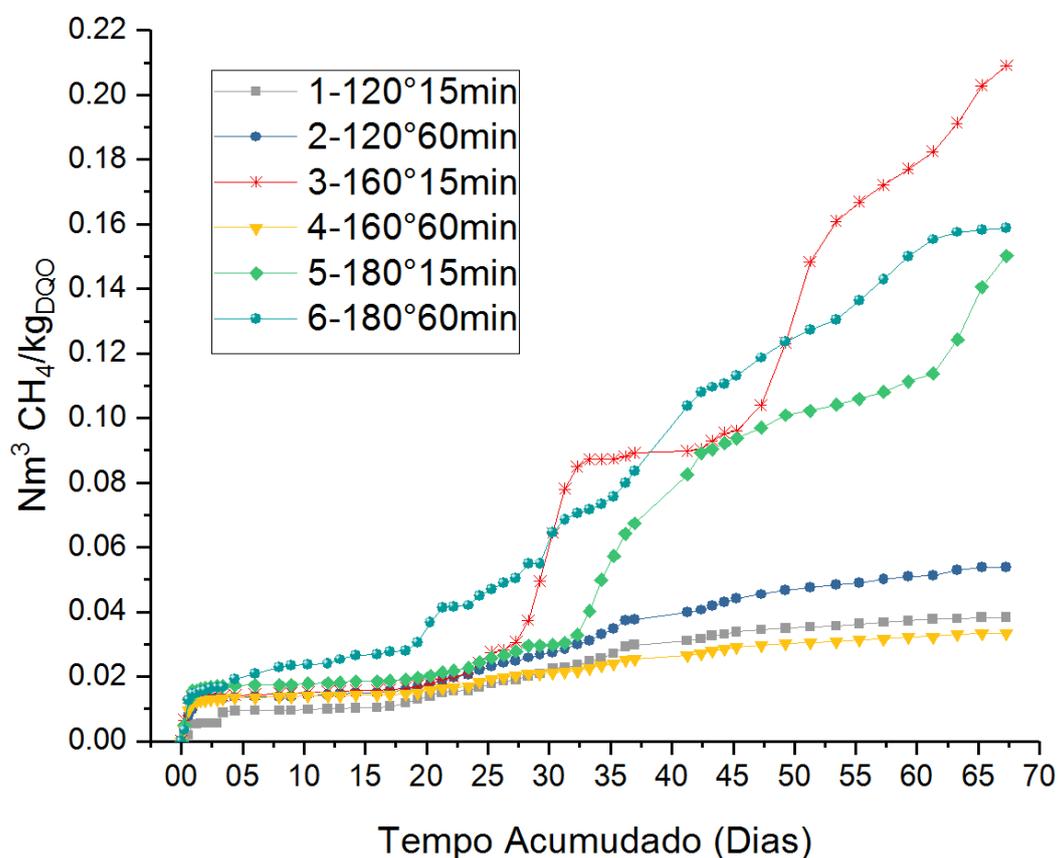
5.3. Avaliação do potencial de produção de metano a partir dos hidrolisados produzidos

Os ensaios de BMP (*Biochemical Methane Potential*) foram realizados com o objetivo de determinar o potencial de produção de metano e avaliar a biodegradabilidade dos hidrolisados gerados pelos seis diferentes pré-tratamentos realizados. A Figura 11 apresenta a produção acumulada de metano encontrada em cada experimento. A Tabela 5 apresenta a produção final acumulada de metano por DQO para cada HH.

Tabela 5. Produção acumulada de metano

Hidrolisado utilizado	Nm ³ CH ₄ /kg DQO
1	0,039
2	0,056
3	0,218
4	0,034
5	0,150
6	0,162

Figura 11. Produção acumulada de metano encontradas no teste BMP.



A partir da Figura 11 percebe-se que o experimento que utilizou o hidrolisado 3 (T=160°C, t=15min) apresentou a maior produção acumulada de metano, 0,218 Nm³CH₄/kgDQO. Tal ensaio empregou temperatura e tempo intermediários. Apesar dos teores de açúcares e solubilização de DQO não terem sido as maiores, condições de severidade intermediárias como esta são capazes de gerarem oligômeros,

substâncias que não são detectadas pela metodologia utilizada para caracterização da biomassa. Nestas condições, aliado a baixa concentração de produtos inibidores, o que favorece para biodegradabilidade, está o fato desses oligômeros serem hidrolisados por micro-organismos hidrolíticos à açúcares e posteriormente convertidos a CH₄.

A segunda e terceira produções expressivas foram apresentadas pelos BMPs inoculados com os hidrolisados 6 (T=180°C, t=60min) e 5 (T=180°C, t=15min), com produção de 0,162 e 0,150 Nm³CH₄/kg_{DQO}, respectivamente.

Evidencia-se que nos experimentos 3 e 5 as produções de metano começaram após um período de adaptação (fase lag) maior quando comparado ao 6. As maiores fazes lags podem indicar uma maior presença de macromoléculas solúveis no hidrolisado, à medida que o tempo de contato dos micro-organismos com hidrolisado aumenta, os oligômeros são convertidos a açúcares, que são posteriormente convertidos em biogás. Percebe-se o início de uma produção expressiva a partir dos dias 27 e 32 para os experimentos 3 e 5 respectivamente. Enquanto o hidrolisado 6 ocorreu no dia 18.

Como discutido anteriormente, o hidrolisado 6 apresenta as maiores concentrações iniciais de açúcares C5 e C6, além de elevadas concentrações dos ácidos acético e fórmico, que são subprodutos da DA utilizados na produção de metano, dessa forma justificando seu rápido início de produção. A estabilização da produção no dia 61 pode ser justificada pelo consumo dos açúcares e celobiose, além das elevadas concentrações de compostos inibidores, como HMF e o FF, a queda da quantidade de açúcares ao longo da digestão anaeróbia, associada com a maior quantidade de compostos inibidores faz com que a DA seja interrompida. Tal fato poderá ser confirmado após análise do meio ao fim do experimento de BMP.

O experimento 5 apresentou a terceira maior produção de metano e encontra-se em crescente produção. Seu hidrolisado apresenta cerca de 30% mais açúcares monoméricos e 4,5% a menos de celobiose quando comparado ao hidrolisado 3. Por outro lado, a concentração de furanos é 2,2 vezes a concentração encontrada para o hidrolisado 3, o que pode justificar a menor biodegradabilidade do hidrolisado 5. Tais características dos hidrolisados podem ser utilizadas para justificar a diferença de produção de metano em relação ao experimento 3. Os patamares observados na

Figura 11 para os experimentos 3 e 5, como dito acima, podem ser justificados por períodos de adaptação e produção de enzimas utilizadas na hidrólise da celobiose e outros compostos de grande tamanho molecular, passíveis de serem metabolizados e convertidos à metano.

Devido a uma alta concentração inicial de açúcares C5 e C6 presente no hidrolisado 4, esperava-se que o BMP apresentasse bons resultados de produção de metano. A ineficiência do experimento pode ser justificada pela elevada concentração de furanos e ácidos no início do experimento, levando a uma maior toxicidade do meio. Assim, como o experimento 4, os experimentos 1 e 2 não apresentaram produção expressiva de metano, porém com produção maior que o com o hidrolisado 4.

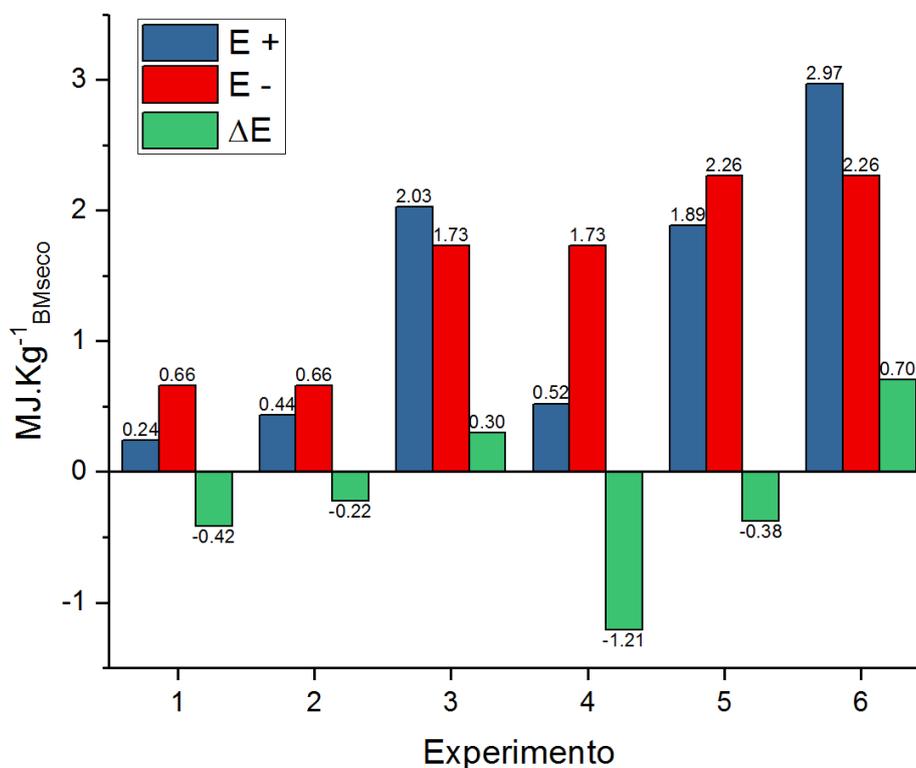
Acredita-se que ao fim do processo com a avaliação da DQO consumida deverá ser encontrado melhores resultados de produção de metano, uma vez que nem toda DQO alimentada é metabolizada pelos micro-organismos. Dessa forma o resultado será expresso em $\text{Nm}^3\text{CH}_4/\text{kgDQOconsumida}$.

5.4. Balanço energético

Uma outra forma de avaliar a viabilidade do processo é pela eficiência energética. A Figura 12 apresenta os resultados dos cálculos de balanço energético a partir dos resultados de BMP encontrados.

Dos seis testes realizados apenas os experimentos 3 e 6 apresentam balanço energético positivo, produzindo 0,30 e 0,70 $\text{MJ.Kg}^{-1}\text{BM}_{\text{seco}}$ respectivamente de energia excedente. Esses valores são inferiores ao encontrados por Baêta et al. (2016) ($3,15\text{MJ.Kg}^{-1}$ de bagaço de cana seco). Deve-se ressaltar que o autor avaliou a digestão em duplo estágio de um hidrolisado produzidos em condições otimizados ($T=182,9^\circ\text{C}$, $t=40,7\text{min}$, $SLR=0,253$ gBagaço de cana por mL de água).

Figura 12. Balanço energético dos experimentos. $E+$ é a energia gerada pela combustão do biogás, $E-$ é a energia gasta no pré-tratamento e ΔE é o ganho líquido de energia



A produção estimada de metano em processos anaeróbicos é de aproximadamente $0,350 \text{ Nm}^3\text{CH}_4/\text{kgDQO}$ (METCALF & EDDY INC, 2003). Dessa forma, para os experimentos com balanço energético positivo, 3 e 6, encontramos 60,5 e 45,0% de conversão da DQO em CH_4 . Para o experimento 3 o valor encontra-se numa faixa aceitável e comumente encontrado em processos anaeróbios, fato que não ocorreu nos outros experimentos.

O melhor resultado no balanço energético encontrado para o experimento 6 pode ser justificado pela maior solubilização e conseqüente maior DQO encontrada no experimento, dessa forma influenciando diretamente no cálculo do balanço energético e conseqüentemente tornando-a melhor que o experimento 3. As reduzidas produções de metano encontradas principalmente nos experimentos 1, 2 e 4 evidenciam uma baixa biodegradabilidade dos substratos e conseqüentemente baixo rendimento energético.

Como dito acima, acredita-se que melhores resultados poderão ser encontrados quando avaliada a DQO consumida para geração do metano, e melhores explicações para a baixa produção quando avaliada as condições do meio em que os micro-organismos se encontram.

6. Conclusão

O resultados da caracterização apresentaram valores diferentes da literatura. Acredita-se que a presença de açúcares não fermentecíveis presentes na biomassa tenham interferido na concentração de celulose da biomassa e, conseqüentemente, no balanço de massa dos componentes.

A auto-hidrólise se mostrou eficiente como técnica de pré-tratamento do bagaço de malte. Possibilitou a solubilização da hemicelulose e celulose, gerando hidrolisados ricos de açúcares C5, C6 e celobiose passíveis de fermentação anaeróbia. Por outro lado, a fração sólida apresentou, na maioria dos experimentos, a lignina como principal componente, fato não desejado, uma vez que supunha-se a produção de etanol 2G a partir da hidrólise enzimática e posterior fermentação da fase sólida.

Os ensaios BMP (Biochemical Methane Potential) feitos em batelada com os hidrolisados produzidos nas 6 diferentes condições de auto hidrólise do BM mostraram que as maiores concentrações de açúcares e DQO não resultaram nas maiores produções de metano. Tais resultados indicam que os pré-tratamentos contribuem para produção de compostos tóxicos e de difícil degradação, como furanos e aromáticos, que são produtos da degradação de açúcares e da lignina, respectivamente.

Ao avaliar o balanço energético a partir da energia gasta no processo de pré-tratamento e da energia gerada estimada a partir dos resultados de produção de biogás, evidencia-se que apenas duas condições são energeticamente viáveis. Tais resultados demonstram a necessidade de otimização do processo de pré-tratamento objetivando uma maior produção de biogás.

7. Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA - ANEEL. **Atlas de energia elétrica do Brasil**. Agência Nacional de Energia Elétrica (Brasil). [S.l.], p. 236. 2008.

ALFENORE, S.; JOUVE, C. M. Current status and future prospects of conversion of lignocellulosic resources to biofuels using yeasts and bacteria. **Process Biochemistry**, 2016. 1747-1756.

ALIYU, S.; BALA, M. Brewer's spent grain: A review of its potentials and applications. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, p. 324-331, Janeiro 2011. Disponível em: <http://www.academicjournals.org/article/article1380725235_Aliyu%20and%20%20Bala.pdf>.

APPELS, L.; BAEYENS, J.; DEWIL, J. D. R. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 34, p. 755-781, Janeiro 2018.

BAÊTA, B. E. L. Aproveitamento energético a partir da digestão anaeróbia de hidrolisado hemicelulósico gerado pelo pré-tratamento por auto-hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar considerando o contexto da biorrefinaria. **Tese de doutorado-PROAMB/UFOP**, p. 156, 2016.

BAÊTA, B. E. L. et al. Evaluation of hydrogen and methane production from sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysates by two-stage anaerobic digestion process. **Bioresource Technology**, v. 218, p. 36–446, Junho 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.113>>.

BAÊTA, B. E. L. et al. Optimization of sugarcane bagasse autohydrolysis for methane production from hemicellulose hydrolyzates in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 137–146, Outubro 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.003>>.

BAÊTA, B. E. L. et al. Steam explosion pretreatment improved the biomethanization of coffee husks. **Bioresource Technology**, v. 245, p. 66–72, Agosto 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.110>>.

BARAKAT, A. et al. Effect of lignin-derived and furan compounds found in lignocellulosic hydrolysates on biomethane production. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 90-99, Janeiro 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.10.060>>.

BHOWMICK, G. D.; SARMAH, A. K.; SEN, R. Lignocellulosic biorefinery as a model for sustainable development of biofuels and value added products. **Bioresource Technology**, p. 11, Setembro 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.163>>.

BLEDZKI, A. K.; MAMUN, A. A.; VOLK, J. Barley husk and coconut shell reinforced polypropylene composites: The effect of fibre physical, chemical and surface properties. **Composites Science and Technology**, v. 70, n. 5, p. 840-846, Maio 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2010.01.022>>.

BNDES. **O setor de bebidas no Brasil**. BNDES. [S.l.], p. 93-130. 2015.

BRITO, R. A. D.; ROBERTO, I. C. Utilização do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de malte para obtenção de bioetanol.

CAPOLUPO, L.; FARACO, V. Green methods of lignocellulose pretreatment for biorefinery development. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 9451–9467, Outubro 2016.

CARVALHEIRO, F. et al. Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain. **Bioresource Technology**, v. 91, p. 93-100, Janeiro 2004. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00148-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00148-2)>.

CERVBRASIL. **Anuario da Associação Brasileira da Indústria Cervejeira-2016**. Associação Brasileira da Indústria Cervejeira. Brasil, p. 64. 2016.

CETESB. **Cervejas e refrigerantes-Série P + L**. CETESB. [S.l.], p. 58. 2005.

CHANDRA, R.; TAKEUCHI, H.; HASEGAWA, T. Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 1462-1476, Janeiro 2012.

CHATURVEDI, V.; VERMA, P. An overview of key pretreatment processes employed for bioconversion of lignocellulosic biomass into biofuels and value added products. **3 Biotech**, v. 3, p. 415-431, Setembro 2013.

CHERNICHARO, C. A. D. L. **Reatores Anaeróbio - Princípios do tratamento de águas residuárias-Vol.5**. 2ª Edição. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 1997.

CHOUDRI, B. S.; BAAWAIN, M. Bioenergy from Biofuel Residues and Wastes. **Water Environment Research**, v. 87, p. 1414-1444, 2015. ISSN 10.

CORDEIRO, L. G.; EL-AOUAR, Â. A.; GUSMÃO, R. P. CARACTERIZAÇÃO DO BAGAÇO DE MALTE ORIUNDO DE CERVEJARIAS. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 2012.

COSTA, A. G. et al. Geração de metano a partir de resíduos lignocelulósicos oriundos da produção do biocombustível: revisão. **Revista DAE**, v. 194, p. 36-51, Janeiro 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4322/dae.2014.003>>.

CRUZ, J. M. et al. Integral utilisation of barley husk for the production of food additives. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 1000–1008, February 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2796>>.

DEHNAVI, G. Z. et al. Fractionation of the main components of barley spent grains from a microbrewery. **Cellulose Chemistry and Technology**, v. 45, p. 339-345, Dezembro 2011. Disponível em: <[http://www.cellulosechemtechnol.ro/pdf/CCT45,5-6\(2011\)/p.339-345.pdf](http://www.cellulosechemtechnol.ro/pdf/CCT45,5-6(2011)/p.339-345.pdf)>.

ENVIRONMENT CANADA. **TECHNICAL POLLUTION PREVENTION GUIDE FOR BREWERY AND WINE OPERATIONS IN THE LOWER FRASER BASIN**. Environment Canada; Environmental Protection; Fraser Pollution Abatement; North Vancouver, B.C. [S.I.]. 1997.

FORTUNATI, E. et al. Revalorization of barley straw and husk as precursors for cellulose nanocrystals extraction and their effect on PVA CH nanocomposites. **Industrial Crops and Products**, v. 92, p. 201–217, Julho 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.047>>.

GALBE, M.; ZACCHI, G. Pretreatment of Lignocellulosic Materials for Efficient Bioethanol Production. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, v. 108, p. 41-65, Julho 2007.

GARCÍA, A.; ALRIOLS, M. G.; LABIDI, J. Evaluation of different lignocellulosic raw materials as potential alternative feedstocks in biorefinery processes. **Industrial Crops and Products**, v. 53, p. 102-110, Dezembro 2014.

GARCIA, D. **Estudo da produção de etanol pela levedura *Pichia stipitis*, a partir do hidrolisado hemcelulósico de bagaço de malte**. [S.l.]. 2012.

GARROTE, G.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJO, J. C. Hydrothermal processing of lignocellulosic materials. **Holz als Roh- und Werkstoff**, v. 57, p. 191-202, 1999.

GERMEC, M. et al. Microwave-assisted dilute acid pretreatment of different agricultural bioresources for fermentable sugar production. **Cellulose**, v. 24, p. 4337–4353, Julho 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10570-017-1408-5>>.

GONZALES, R. R. et al. Optimization of substrate concentration of dilute acid hydrolyzate of lignocellulosic biomass in batch hydrogen production. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 113, p. 22-27, Abril 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.04.016>>.

GULLÓN, P. et al. Potential of hydrothermal treatments in lignocellulose biorefineries. **Biofuels, Bioproducts & Biorefinery**, v. 6, p. 219-2132, Dzembro 2012.

GUPTA, A.; VERMA, J. P. Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 41, p. 550–567, Janeiro 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.08.032>>.

GUSMÃO, K. A. G. et al. Application of succinylated sugarcane bagasse as adsorbent to remove methylene blue and gentian violet from aqueous solutions – Kinetic and equilibrium studies. **Dyes and Pigments**, v. 92, p. 967-974. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2011.09.005>>.

HAN, M. et al. High efficiency bioethanol production from barley straw using a continuous pretreatment reactor. **Process Biochemistry**, v. 48, p. 488-495, Março 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2013.01.007>>.

HARMSSEN, P. F. H. et al. **Literature Review of Physical and Chemical Pretreatment Processes for Lignocellulosic Biomass**. BioSynergy project (2007-2010). [S.I.]. 2010.

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 10-18, Janeiro 2009. Disponivel em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.027>>.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY. **World Energy Balances: Overview**. [S.I.]. 2017.

JANGI, A. N. et al. Comparison of mechanical and thermal properties between two varieties of barley (*Hordeum vulgare* L.) grains. **Australian Journal of Agricultural Engineering**, v. 2, p. 132-139, 2011. Disponivel em: <http://www.sciencej.com/tavakoli_2_5_2011_132_139.pdf>.

JÖNSSON, L. J.; MARTÍN, C. Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 103-112, 2016. Disponivel em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.009>>.

JØRGENSEN, H.; KRISTENSEN, J. B.; FELBY, C. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities. **Biofuels, Bioproducts & Biorefining**, v. 1, p. 119-134, Junho 2007. Disponivel em: <<http://dx.doi.org/10.1002/bbb.4>>.

JUNG, K.-W. et al. Two-stage UASB reactor converting coffee drink manufacturing wastewater to hydrogen and methane. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, p. 7473–7481, Maio 2012. ISSN 9. Disponivel em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.01.150>>.

KANAUCHI, O.; MITSUYAMA, K.; ARAKI, Y. Development of a Functional Germinated Barley Foodstuff from Brewer's Spent Grain for the Treatment of Ulcerative Colitis. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 59, p. 59-62, 2001.

KHAN, I. U. et al. Biogas as a renewable energy fuel – A review of biogas upgrading, utilisation and storage. **Energy Conversion and Management**, v. 150, p.

277-294, Agosto 2017. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2017.08.035>>.

KIM, T. H.; TAYLOR, F.; HICKS, K. B. Bioethanol production from barley hull using SAA (soaking in aqueous ammonia) pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5694-5702, Janeiro 2008. Disponível em:
<<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.10.055>>.

KUMAR, P. et al. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 48, p. 3713-3729, Março 2009. Disponível em:
<<http://www.pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ie801542g>>.

LI, Y.; PARK, S. Y.; ZHU, J. Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, p. 821-826, Julho 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.07.042>>.

MARABEZI, K. **Estudo sistemático das reações envolvidas na determinação dos teores de lignina e holoceluloses em amostras de bagaço e palha de cana de açúcar**. [S.l.]. 2009.

MENESES, N. G. T. et al. Influence of extraction solvents on the recovery of antioxidant phenolic compounds from brewer's spent grains. **Separation and Purification Technology**, v. 108, p. 152-158, Abril 2013. Disponível em:
<<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.02.015>>.

METCALF & EDDY INC. **Wastewater Engineering: Treatment and Reuse**. 4^a. ed. [S.l.]: [s.n.], 2003.

MONLAU, F. et al. Lignocellulosic Materials Into Biohydrogen and Biomethane: Impact of Structural Features and Pretreatment. **Environmental Science and Technology**, v. 43, p. 260–322, Fevereiro 2013. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1080/10643389.2011.604258>>.

MUPONDWA, E. et al. Status of Canada's lignocellulosic ethanol: Part I: Pretreatment technologies. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 72, p. 178-190, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.01.039>>.

MUSSATTO, S. I. Brewer's spent grain: a valuable feedstock for industrial applications. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, p. 1264–1275, Janeiro 2014. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1002/jsfa.6486>>.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 81, p. 268-274, Outubro 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/jctb.1374>>.

OH, Y. H. et al. Recent advances in development of biomass pretreatment technologies used in biorefinery for the production of bio-based fuels, chemicals and polymers. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 32, p. 1945–1959, Outubro 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11814-015-0191-y>>.

PANAGIOTOPOULOS, I. A. et al. Effect of pretreatment severity on the conversion of barley straw to fermentable substrates and the release of inhibitory compounds. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 11204-11211, Dezembro 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.09.090>>.

PANAGIOTOPOULOS, I. A. et al. Technical suitability mapping of feedstocks for biological hydrogen production. **Journal of Cleaner Production**, v. 102, p. 521-528, Setembro 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.04.055>>.

PASSOS, F. et al. Anaerobic co-digestion of coffee husks and microalgal biomass after thermal hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 253, p. 49–54, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.071>>.

PAUDEL, S. R. et al. Pretreatment of agricultural biomass for anaerobic digestion: Current state and challenges. **Bioresource Technology**, v. 245, p. 1194–1205, Setembro 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.182>>.

POPP, J. et al. The effect of bioenergy expansion: Food, energy, and environment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 32, p. 559–578, Abril 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.01.056>>.

PORTAL BRASIL. Portal Brasil, 2017. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2017/08/brasil-e-o-terceiro-no-ranking-de-producao-mundial-de-cerveja>>. Acesso em: Agosto 2017.

PROTÁSIO, T. D. P. et al. Brazilian Lignocellulosic Wastes for Bioenergy Production: Characterization and Comparison with Fossil Fuels. **BioResources**, v. 8, n. 1, p. 1166-1185, 2013. Disponível em: <http://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/BioRes_08_1_1166_Protasio_Brazilian_Lignocellulosic_Wastes>.

RABEMANOLONTSOA, H.; SAKA, S. Various pretreatments of lignocellulosics. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 83-91, Agosto 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.029>>.

RAJENDRAN, K. et al. Updates on the pretreatment of lignocellulosic feedstocks for bioenergy production—a review. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-13, Junho 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13399-017-0269-3>>.

RAJENDRAN, K. et al. Updates on the pretreatment of lignocellulosic feedstocks for bioenergy production—a review. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-13, Junho 2017.

RAMBO, M. K. D.; SCHMIDT, F. L.; FERREIRA, M. M. C. Analysis of the lignocellulosic components of biomass residues for biorefinery opportunities. **Talanta**, v. 144, p. 696-703, Junho 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.06.045>>.

REDDY, N.; YANG, Y. Biofibers from agricultural byproducts for industrial applications. **Trends in Biotechnology**, v. 23, p. 22-27, Janeiro 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2004.11.002>>.

RIBEIRO, F. R. Produção de biogás a partir de hidrolisados gerados no pré-tratamento por auto-hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar. **Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Ouro Preto**, p. 101, 2016.

RIBEIRO, F. R. et al. Anaerobic digestion of hemicellulose hydrolysate produced after hydrothermal pretreatment of sugarcane bagasse in UASB reactor. **Science of the Total Environment**, v. 584-585, p. 1008-1113, Fevereiro 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.170>>.

ROBERTSON, J. A. et al. Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 890–896, Janeiro 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.019>>.

ROOS, A. A. et al. Extraction of water-soluble hemicelluloses from barley husks. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 763-769, Agosto 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.07.022>>.

RUIZ, H. A. et al. Hydrothermal processing, as an alternative for upgrading agriculture residues and marine biomass according to the biorefinery concept: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 21, p. 35-51, Novembro 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2012.11.069>>.

SÁNCHEZ, C. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 185-194, Abril 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.11.001>>.

SANTIAGO, B. L. S. **Avaliação do tratamento alcalino do bagaço de malte e seu efeito sobre a bioconversão das frações açucaradas em etanol**. [S.l.]. 2013.

SAWATDEENARUNAT, C. et al. Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Challenges and opportunities. **Bioresource Technology**, v. 178, p. 178-186, Setembro 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.103>>.

SHEIKH, M. M. I. et al. A synergistic effect of pretreatment on cell wall structural changes in barley straw (*Hordeum vulgare* L.) for efficient bioethanol production. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, p. 843-850, Dezembro 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.7004>>.

SHEIKH, M. M. I. et al. A synergistic effect of pretreatment on cell wall structural changes in barley straw (*Hordeum vulgare* L.) for efficient bioethanol production. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, p. 843-850, December 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.7004>>.

SHRESTHA, S. et al. Biological strategies for enhanced hydrolysis of lignocellulosic biomass during anaerobic digestion: Current status and future

perspectives. **Bioresource Technology**, v. 245, p. 1245-1257, Agosto 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.089>>.

SILVA, J. P. et al. Adsorption of acid orange 7 dye in aqueous solutions by spent brewery grains. **Separation and Purification Technology**, v. 40, p. 309-315, Dezembro 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2004.03.010>>.

SILVA, M. F. D. O. E.; COSTA, L. M. D. **A indústria de defensivos agrícolas**. Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social-BNDES. [S.l.], p. 233-276. 2010.

SINDHU, R.; BINOD, P.; PANDEY, A. Biological pretreatment of lignocellulosic biomass – An overview. **Bioresource Technology**, Agosto 2016. 76-82. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.030>>.

STREFFER, F. Lignocellulose to Biogas and other Products. **JSM Biotechnology & Biomedical Engineering**, 2014.

STREFFER, F. Lignocellulose to Biogas and other Products. **JSM Biotechnology & Bioengineering**, v. 2, p. 8, Maio 2014.

TAHERZADEH, M. ; KARIMI, K. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, 2008. 1621-1651. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.3390%2Fijms9091621>>.

TAHERZADEH, M. ; KARIMI, K. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, 2008. 1621-1651.

TAHERZADEH, M. J.; KARIMI, K. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, 2008. 1621-1651. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.3390%2Fijms9091621>>.

TAHERZADEH, M. J.; KARIMI, K. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, 2008. 1621-1651.

TARGONSKY, Z. Autohydrolysis Extraction Process as a Pretreatment of Lignocelluloses for their Enzymatic Hydrolysis. **Acta Biotechnology**, 1985. 353-361.

VARGAS, F. et al. Agricultural residue valorization using a hydrothermal process for second generation bioethanol and oligosaccharides production. **Bioresource Technology**, v. 191, p. 263–270, Maio 2015. Disponivel em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.035>>.

VARGAS, F. et al. Biorefinery Scheme for Residual Biomass Using Autohydrolysis and Organosolv Stages for Oligomers and Bioethanol Production. **Energy Fuels**, v. 30, p. 8236–8245, Outubro 2016. Disponivel em: <<http://www.pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.energyfuels.6b00277>>.

VASCO-CORREA, J. et al. Anaerobic digestion for bioenergy production: Global status, environmental and techno-economic implications, and government policies. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 1015-1026, Janeiro 2018. Disponivel em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.004>>.

VELUCHAMY, C.; KALAMDHAD, A. S. Influence of pretreatment techniques on anaerobic digestion of pulp and paper mill sludge: A review. **Bioresource Technology**, v. 245, p. 1206-1219, 2017. Disponivel em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.179>>.

WATERS, D. M. et al. Fibre, protein and mineral fortification of wheat bread through milled and fermented brewer's spent grain enrichment. **European Food Research and Technology**, v. 235, p. 767–778, 2012. Disponivel em: <<https://doi.org/10.1007/s00217-012-1805-9>>.

XIROS, C. et al. Hydrolysis and fermentation of brewer's spent grain by *Neurospora crassa*. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5427–5435, 2008. Disponivel em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.010>>.

YU, Q. et al. Liquid hot water pretreatment of sugarcane bagasse and its comparison with chemical pretreatment methods for the sugar recovery and structural changes. **Bioresource Technology**, 2013. 592-598. Disponivel em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.099>>.

YUE, D.; YOU, F.; SNYDER, S. W. Biomass-to-bioenergy and biofuel supply chain optimization: Overview, key issues and challenges. **Computers and Chemical Engineering**, p. 21, Novembro 2014. Disponivel em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.compchemeng.2013.11.016>>.

ZABED, H. et al. Bioethanol production from renewable sources: Current perspectives and technological progress. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, p. 27, 2016. Disponivel em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.076>>.

ZHENG, Y. et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in Energy and Combustion Science**, 2014. 1-19. Disponivel em: <<https://doi.org/10.1016/j.pecs.2014.01.001>>.

ZHENG, Y. et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. **Progress in Energy and Combustion Science**, 2014. 1-19.

ZHUANG, X. et al. Liquid hot water pretreatment of lignocellulosic biomass for bioethanol production accompanying with high valuable products. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 68-75, Janeiro 2016. Disponivel em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.051>>.