

Artigo

Comparação entre a Hidrólise Química e Enzimática da Biomassa Lignocelulósica para a Produção de Bioetanol: uma Revisão

Costa, B. E. B.; da Cruz, R. S.; Rangel, F. C.; Meneghetti, S. M. P.*

Rev. Virtual Quim., 2021, 13 (1), 242-259. Data de publicação na Web: 16 de Dezembro de 2020

<http://rvq.sbg.org.br>

Comparison Between Chemical and Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass for Bioethanol Production: a Review

Abstract: The dependence on oil and other fossil resources raises global concerns and questions, as they are not considered sustainable from an economic and environmental point of view. The excess availability of residual agricultural material, the growing need for energy in the transport sector and the environmental benefit, due to the possible reduction of greenhouse gases, have boosted the development of liquid biofuels, including second generation bioethanol. Bioethanol is produced by hydrolysis of lignocellulosic materials, to obtain sugars that are later converted into alcohol by fermentation. This process involves the stages of pre-treatment of biomass, saccharification of cellulose, fermentation of hydrolyzate and distillation of alcohol. This work presents and discusses the different technological routes for cellulose hydrolysis, exposing the contrasts between enzymatic hydrolysis and acid hydrolysis, covering parameters such as reaction conditions, cost, yield and applicability. Showing that enzymatic hydrolysis, in general, is superior to homogeneous acid hydrolysis, however, heterogeneous acid hydrolysis presents itself as the most promising hydrolysis route to reduce the weak points found in the production process of this biofuel.

Keywords: Lignocellulosic bioethanol; enzymatic hydrolysis; acid hydrolysis.

Resumo

A dependência do petróleo e dos demais recursos fósseis gera preocupações e questionamentos globais, em função dos mesmos não serem considerados sustentáveis no ponto de vista econômico e ambiental. A grande disponibilidade de material residual agrícola, a crescente necessidade de energia no setor dos transportes e o benefício ambiental, em função da possível redução dos gases de efeito estufa, impulsionaram o desenvolvimento de biocombustíveis líquidos, entre eles o bioetanol de segunda geração. O bioetanol é produzido a partir da hidrólise de materiais lignocelulósicos, na qual são obtidos açúcares que, posteriormente, são convertidos em álcool por fermentação. Esse processo envolve as etapas de pré-tratamento da biomassa, a sacarificação da celulose, fermentação do hidrolisado e a destilação do álcool. Esse trabalho apresenta e discute as diferentes rotas tecnológicas para a hidrólise da celulose, expondo os contrastes entre a hidrólise enzimática e a realizada por via ácida, abrangendo parâmetros como, condições reacionais, custo, rendimento e aplicabilidade. Fica evidenciado que a hidrólise enzimática, de forma geral, é mais vantajosa que a hidrólise ácida homogênea. Porém, a hidrólise ácida heterogênea se apresenta como a mais promissora rota com perspectivas de reduzir os pontos fracos existentes no processo produtivo desse biocombustível.

Palavras-chave: Bioetanol lignocelulósico; hidrólise enzimática; hidrólise ácida.

* Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Avenida Lourival de Melo Mota s/nº, Cidade Universitária, CEP 57072-000, Maceió-AL, Brasil.

 simoni.plentz@gmail.com
DOI: [10.21577/1984-6835.20200140](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200140)

Comparação entre a Hidrólise Química e Enzimática da Biomassa Lignocelulósica para a Produção de Bioetanol: uma Revisão

Bruna Ezequielles Bernardes Costa,^a Rosenira Serpa da Cruz,^{a,b} Fernando Cesário Rangel,^{a,b} Simoni Margareti Plentz Meneghetti^{a*} 

^a Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCAR), Avenida Lourival de Melo Mota s nº, Cidade Universitária, CEP 57072-000, Maceió-AL, Brasil.

^b Universidade Estadual de Santa Cruz, Grupo Bioenergia e Meio Ambiente, Campus Soane Nazaré de Andrade, Rod. Jorge Amado, Km 16, CEP 45662-900, Salobrinho, Ilhéus - BA, Brasil.

*simoni.plentz@gmail.com

Recebido em 6 de Fevereiro de 2020. Aceito para publicação em 30 de Outubro de 2020.

1. Introdução

2. Bioetanol

3. Biomassa

3.1. Celulose

3.2. Hemiceluloses

3.3. Lignina

4. Obtenção do Bioetanol

4.1. Pré-tratamentos

4.2. Hidrólise da celulose

4.3. Processos para sacarificação e fermentação

5. Particularidades dos processos ácidos e enzimáticos de sacarificação

5.1. Condições reacionais

5.2. Catalisadores

5.3. Limitações e alternativas

6. Considerações Finais

1. Introdução

A crescente dependência por recursos fósseis, que estão presentes nos mais variados processos industriais, e que representam atualmente a maior parte da matéria-prima para geração de energia no mundo, levanta questionamentos a respeito do futuro do cenário energético. Isso porque o comportamento da economia é diretamente

afetado por qualquer mudança na qualidade, preço ou demanda desses recursos, que são fontes de energia não renováveis e apresentarão, em um futuro próximo, uma diminuição de sua capacidade produtiva.¹⁻⁵

No Brasil, em 2018, de acordo com o Balanço Energético Nacional, mais de 70% do consumo energético no setor de transportes foi associado a fontes não renováveis de energia⁶. A dependência fóssil não é só um fato isolado do

Brasil, mas sim uma preocupação global, e esse fator estimula a busca por fontes alternativas de energia e tem levado alguns países a optarem por biocombustíveis. Até o ano de 2018, cerca de 3,5% do consumo energético global desse setor resultava de biocombustíveis.⁷⁻⁹

Diante do contexto atual, desponta-se um interesse crescente para a biomassa como fonte de matéria-prima e energia, por apresentar um elevado potencial tecnológico de conversão, que possibilita a produção de uma variedade de substâncias que podem ser aplicadas em diversas áreas da indústria, em pequena e grande escala, como na produção de biocombustíveis líquidos, na gaseificação, entre outros.^{10,11} Projeções indicam que as contribuições relacionadas à biomassa terão gradual aumento, chegando a representar no fim do século XXI o equivalente a 10 – 20% de toda a energia consumida mundialmente.¹²

Quanto ao aproveitamento integral das biomassas, o Brasil encontra-se em posição privilegiada, devido a sua diversidade e pelo fato de possuir um dos maiores potenciais de matérias-primas renováveis do planeta; além de possuir condições favoráveis de produção da mesma, tais como intensa radiação solar e água em abundância.^{12, 13}

Na biomassa lignocelulósica, aproximadamente 75% das paredes celulares são tipicamente compostas por polissacarídeos, os quais representam uma fonte valiosa de açúcares, que são potenciais constituintes da cadeia de produção do bioetanol.^{12, 13}

Entre as variadas aplicações para a biomassa, existe um interesse crescente na produção de biocombustíveis líquidos, entre eles o bioetanol de primeira e segunda geração. Atualmente, o etanol é produzido principalmente a partir da cana-de-açúcar e milho. Entretanto, um grande esforço tem sido feito por parte da comunidade científica, para o desenvolvimento de processos voltados ao aproveitamento dos componentes lignocelulósicos da biomassa. O processo de produção de etanol lignocelulósico, também denominado de etanol de 2ª geração, consiste na hidrólise da biomassa, com geração de açúcares fermentescíveis (pentoses e hexoses).¹²⁻¹⁴

O etanol de cana-de-açúcar se destaca comercialmente, em relação aos demais oriundos de outras matérias-primas, pois possui balanço energético favorável, e um custo aproximadamente nulo de mitigação de carbono.^{12,15,16} O etanol

obtido a partir de matéria-prima lignocelulósica aparece como uma alternativa para a expansão da contribuição energética da biomassa, além de proporcionar diversos benefícios, como a redução da emissão dos gases responsáveis pelo efeito estufa; contribuição socioeconômica, pois aumenta a renda do produtor e desenvolve as regiões nas quais a disponibilidade de material é grande. Como resultado, o resíduo adquire valor agregado como matéria-prima para produção de bioetanol. Apesar disso, a maior parte do material lignocelulósico residual ainda é queimado nas usinas para produção de energia. Por fim, outra pequena parcela é usada para compor ração animal e uma parte excedente é descartada.¹⁷⁻²⁰

Para a produção de etanol lignocelulósico, existem quatro etapas fundamentais: pré-tratamento, hidrólise, fermentação e destilação. Dentre esses, a hidrólise (ou sacarificação) para obtenção de monossacarídeos tem se mostrado como principal gargalo para a consolidação da produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica. Consequentemente, o desenvolvimento de rotas de hidrólise mais econômicas e tecnicamente viáveis (em termos de rendimento glicosídico e fermentabilidade do hidrolisado) tem sido encorajado por diversos setores.²¹⁻²⁴

Atualmente, a comunidade científica está voltada a desenvolver novas tecnologias para o aperfeiçoamento das técnicas de hidrólise da celulose, que são comumente conduzidas por rota ácida ou enzimática.^{25,26} Assim, esse trabalho tem por objetivo, apresentar uma revisão sobre os processos de hidrólise da celulose, salientando as diferenças entre os mesmos e as limitações e alternativas encontradas e estudadas para cada rota.

2. Bioetanol

Atualmente, diversos países têm despertado interesse pela produção de bioetanol, entre os quais Brasil e Estados Unidos da América (EUA) respondem cerca de 90% de sua produção global.²⁷⁻²⁸ Enquanto no Brasil esse combustível é produzido a partir da cana-de-açúcar, nos EUA, o etanol é produzido principalmente a partir do milho. Por outro lado, China, Tailândia e Índia, continuam a investir progressivamente na biotecnologia agrícola e surgem como potenciais produtores de biocombustíveis.²⁹⁻³¹

Embora o bioetanol se apresente como uma alternativa promissora para substituir os derivados do petróleo. A sua produção à base de açúcar ou milho não é suficiente para atender a demanda atual de combustíveis fósseis. Além disso, o uso do milho para a produção de biocombustível tem causado preocupações éticas sobre o uso de alimentos como matéria-prima. Entretanto, essas problemáticas têm incentivado novas pesquisas para o uso potencial de matéria-prima alternativa e não comestível. Assim, nesse cenário que se destaca a biomassa lignocelulósica.^{11,25,29,31}

Materiais oriundos da biomassa lignocelulósica constituem uma alternativa renovável para a produção de bioetanol que apresenta, entre outras vantagens, a não competição com a produção de alimentos e ração animal, além de contribuir para a sustentabilidade ambiental.^{32,33}

Na Tabela 1 é apresentada uma lista das plantas industriais de produção de etanol de 2ª Geração em operação/construção no mundo.

No ano de 2013, uma iniciativa uniu o Brasil e a Europa em prol do etanol de segunda geração, via o projeto PROETHANOL2G, que tem foco na integração e desenvolvimento de tecnologias avançadas e eficazes para a produção de bioetanol, a partir das matérias-primas oriundas da biomassa residual dos dois representantes, os europeus com a palha de trigo e os brasileiros com o bagaço e palha da cana-de-açúcar.³⁴

Como já mencionado, o Brasil possui elevada disponibilidade de biomassa que pode ser aproveitada para produção de combustíveis de segunda geração. Nesse contexto, é possível tornar viável a agregação de valor à cadeia produtiva, contribuindo para a diversificação da matriz energética do País. Porém, uma das grandes dificuldades para produção em escala comercial de biocombustíveis de segunda geração ainda é a restrição tecnológica que eleva os custos de produção e podem inviabilizar economicamente as plantas industriais. Como resultado, existem poucas plantas de biocombustível de segunda geração produzindo em escala comercial no mundo, e o Brasil se destaca com duas plantas comerciais de etanol de segunda geração (E2G)^{35,36}. A primeira usina, da empresa GranBio, começou a operar desde setembro de 2014 e localiza-se no município de São Miguel dos Campos (Alagoas)³⁵ e a outra planta, pertencente à empresa Raízen, começou as operações em novembro de 2014, na cidade de Piracicaba (São Paulo).³⁶ Com capacidade de produção nominal de 60 e 42 milhões de litros por ano, respectivamente, ambas utilizam resíduos de cana-de-açúcar como matéria-prima.³⁵⁻³⁷ As unidades comerciais têm operado abaixo da capacidade nominal devido a alguns problemas técnicos, principalmente na etapa do pré-tratamento e avarias mecânicas.³⁵⁻³⁷

Tabela 1. Empresas que empregam tecnologias para a produção de etanol de 2ª geração em 2017 e características de processo¹²

Empresa	País de origem	Características de processo	Localização	Capacidade (m ³ /ano)
AE Biofuels	EUA	Hidrólise enzimática	Montana	567
Blue Fire Ethanol	EUA/Japão	Hidrólise com ácido concentrado	Califórnia/Izumi	12.110
Chempolis Ou	Finlândia	Hidrólise com ácido diluído	Oulu	-
Iogen	Canadá	Hidrólise enzimática	Ontario	4.000
KL Energy	EUA	Hidrólise enzimática	Wyoming	5.680
Lignol Energy	Canadá	-	Vancouver	2.500
Mascoma	EUA	-	New York	1.890
Poet	EUA	-	South Dakota	75
Sekab	Suécia	Hidrólise enzimática	-	-
STI	Finlândia	-	Lappeenranta	1.000
St. Petersburgo	Rússia	Hidrólise com ácido diluído	13 unidades no país	-
Sun Opra	Canadá	Hidrólise enzimática	China	-
University of Florida	EUA	Hidrólise enzimática	Florida	7.570
Verenium	EUA	Hidrólise enzimática	Lousiana/Japan	5.300/4.920

3. Biomassa

A biomassa constitui a fração biodegradável de produtos e resíduos animais ou vegetais provenientes da agricultura e de resíduos industriais e urbanos. Tem destaque os setores agrícola e florestal, os quais constituem importantes fontes de matéria-prima renovável, compreendendo também espécies vegetais que tem o seu cultivo atrelado especificamente à produção de bioenergia.

Com o desenvolvimento tecnológico, a biomassa pode representar uma alternativa na busca por novos recursos diante da queda da produção de petróleo e demais derivados fósseis.^{30,38,39} Os materiais lignocelulósicos são constituídos, principalmente, por celulose, hemiceluloses e lignina, com teores variáveis conforme mostrado na Tabela 2³⁷.

3.1. Celulose

A celulose é um polissacarídeo estável, que apresenta como unidade monomérica a celobiose, unidas por ligações glicosídicas (Figura 1), que não são facilmente acessíveis. Devido à organização não uniforme da celulose ao longo das cadeias, existem regiões cristalinas e não cristalinas (amorfas).^{38,39}

A estrutura da celulose permite a formação de ligações de hidrogênio, como representado na Figura 2; porém, tais ligações quando transversalmente estabelecidas restringem a entropia da mistura, de modo que a variação de energia livre de dissolução não seja alcançada. Como consequência, a solubilidade da celulose em água se torna termodinamicamente desfavorável. Assim, para a sua aplicação e transformação em insumos químicos, a celulose deve passar por processos de conversão e gera uma variedade de produtos.⁴¹

Tabela 2. Composição química de biomassas lignocelulósicas com potencial para produzir etanol de segunda geração

Biomassa lignocelulósica	% Celulose	% Hemiceluloses	% Lignina
Palha de cana	40-44	30-32	22-25
Bagaço de cana	32-48	19-24	23-32
Madeira dura	43-47	25-35	16-24
Madeira mole	40-44	25-29	25-31
Talo de milho	35	25	35
Espiga de milho	45	35	15
Algodão	95	2	0,3
Palha de trigo	30	50	15
Sisal	73,1	14,2	11
Palha de arroz	43,3	26,4	16,3
Forragem de milho	38-40	28	7-21
Fibra de coco	36-43	0,15-0,25	41-45
Fibra de bananeira	60-65	6-8	5-10
Palha de cevada	31-45	27-38	14-19

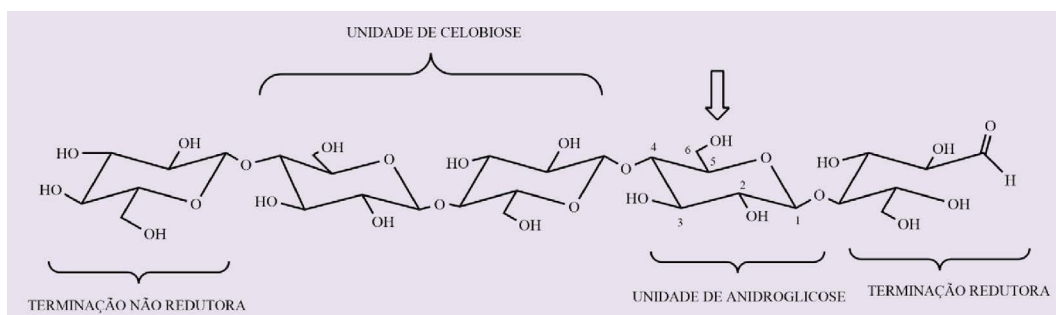


Figura 1. Representação de uma cadeia de celulose e unidade de celobiose⁴⁰

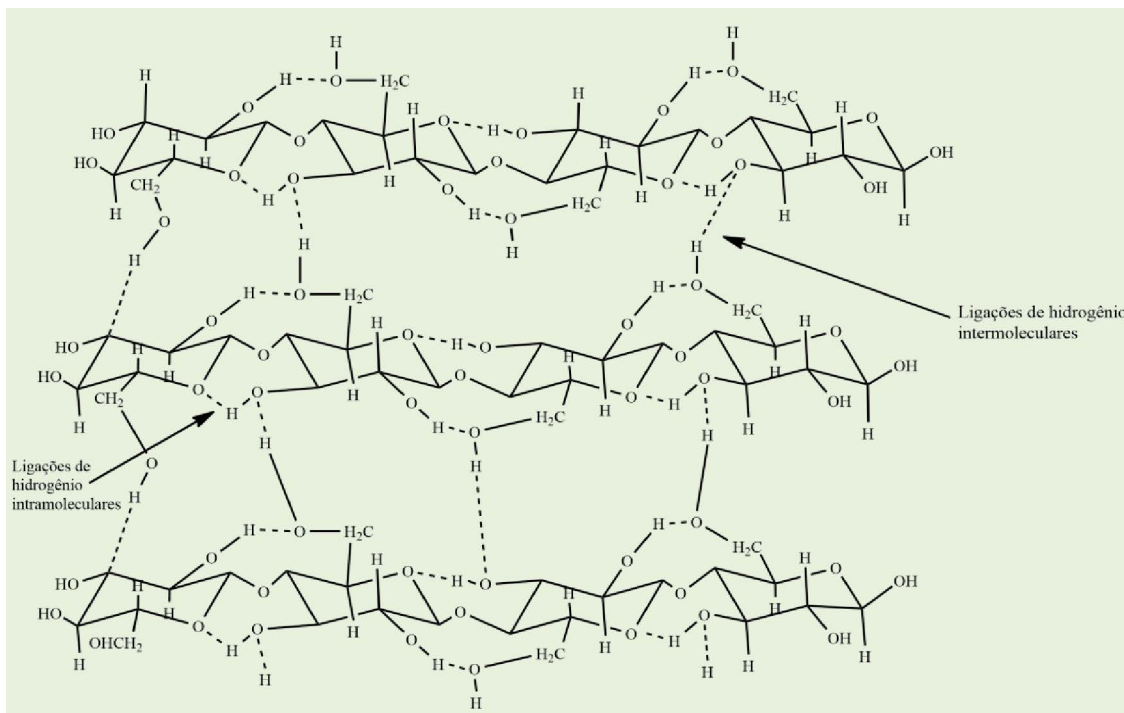


Figura 2. Representação das ligações inter e intramoleculares nas cadeias de celulose⁴²

3.2. Hemiceluloses

As hemiceluloses apresentam, além da glicose, uma variedade de outras unidades de açúcares com diferentes reatividades, como as pentoses (xilose, ramnose e arabinose), hexoses (glicose, manose e galactose), desoxihexoses e os ácidos urônicos (Figura 3).⁴³

Uma cadeia de hemicelulose típica é ramificada e mais curta do que a celulose, o que inibe a formação de zonas cristalinas altamente ordenadas (Figura 4). Assim, a hidrólise da hemicelulose ocorre mais facilmente que no caso da celulose.^{5,33}

As hemiceluloses, principalmente as unidades de pentose, quando hidrolisadas em açúcares podem gerar etanol pelo processo de fermentação.^{44,45}

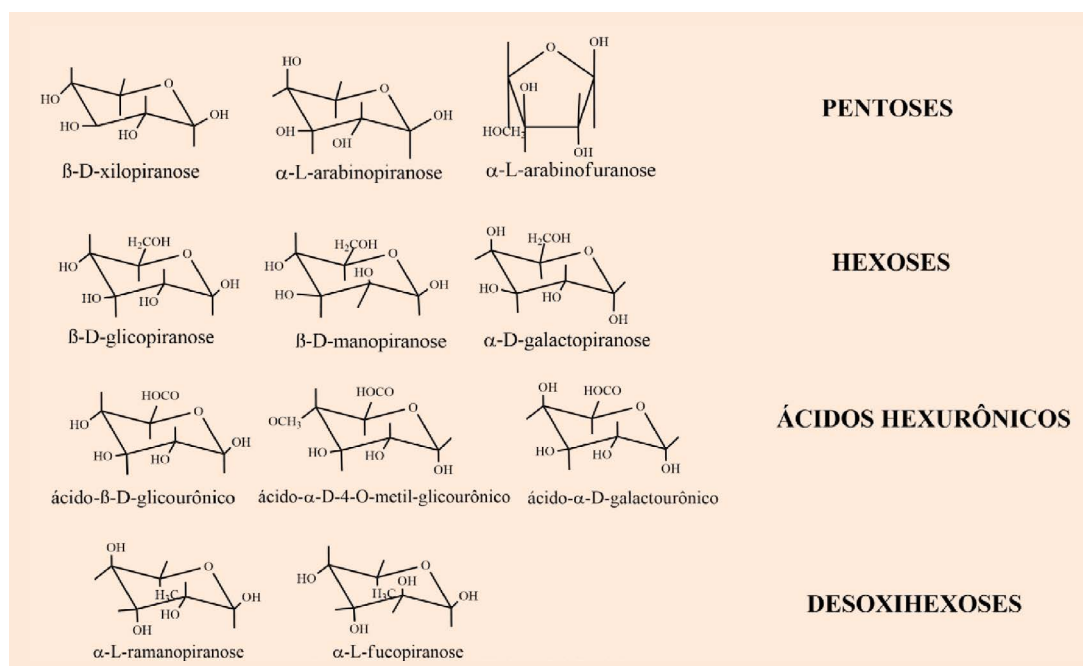


Figura 3. Unidades de açúcares que compõem as hemiceluloses³³

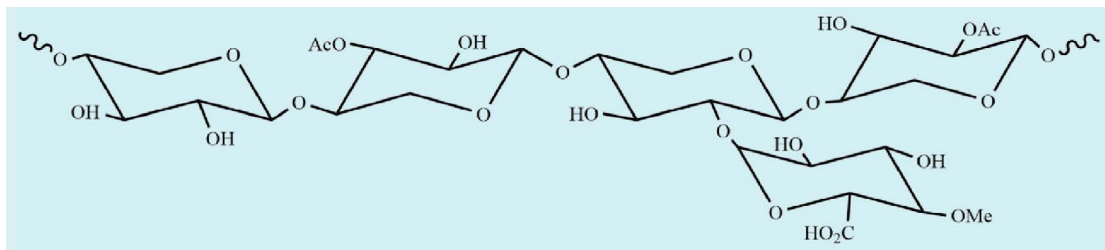


Figura 4. Representação de uma cadeia de hemicelulose³³

Além disso, se forem pré-tratadas por explosão a vapor, obtém-se furfural como produto principal, que forma resinas com fenol ou ureia ou forma ácido maleico (ao ser hidrolisado). Pode-se ainda produzir, por hidrogenação catalítica, xilitol a partir de xilose e manitol.⁴⁶

3.3. Lignina

A lignina é responsável por fortalecer as paredes das células vegetais e é hidrofóbica, amorfa e de alto peso molecular. As unidades de lignina estão unidas por grande número de ligações, das quais a ligação éter é predominante (Figura 5). A lignina atua como um “cimento” entre as fibras vegetais e como um agente de enrijecimento no interior das mesmas. Essa força de adesão encontrada entre as fibras de celulose e a lignina é potencializada pela existência de ligações covalentes entre as cadeias de lignina e os constituintes da celulose e das hemiceluloses.^{36,37,47}

As ligninas, por apresentarem caráter hidrofóbico, podem ser convertidas por meio

de uma reação de hidrogenólise, em óleos com características semelhantes ao petróleo. Também por processos pirolíticos, pode-se obter fenol e ácido acético como produtos majoritários, nos quais todos são aplicados em larga escala na indústria química. Ao passar por processos oxidativos a lignina produz fenol, vanilina e lignina oxidada como principais produtos. Ligninas podem sofrer gaseificação com oxigênio, fornecendo gás de síntese, que é essencial na produção de metanol e, ainda, serem empregadas na produção de resinas fenol-formaldeído.⁴⁶

4. Obtenção do Bioetanol

4.1. Pré-tratamentos

O pré-tratamento é baseado na decomposição da lignina que protege a celulose. Logo, visa destruir o arranjo da estrutura cristalina do

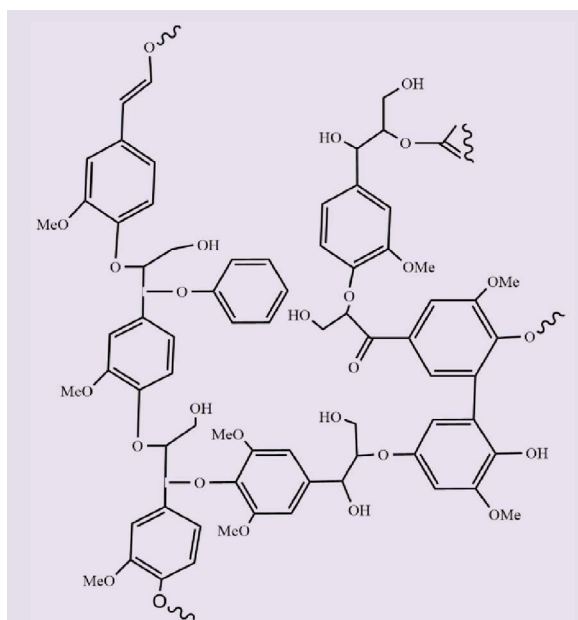


Figura 5. Representação da lignina³⁶

material aumentando a sua área superficial e tornando os fragmentos de celulose mais suscetíveis aos sítios ativos do material utilizado para sacarificação.^{39,48} Para ser efetivo é esperado que (i) resulte em uma elevada recuperação de todos os carboidratos; (ii) requisite baixa demanda energética; (iii) evite a formação de

subprodutos e (iv) exija baixo investimento e custo operacional.^{32,47}

Os principais métodos de pré-tratamento são os físicos, químicos, físico-químicos e biológicos. Na Tabela 3 são apresentados, de forma simplificada, alguns dos métodos de pré-tratamento mais utilizados e suas vantagens e desvantagens.^{32,39,47}

Tabela 3. Principais métodos para o pré-tratamento de materiais lignocelulósicos

Método	Vantagens	Desvantagens
Químicos		
Ácido concentrado	<ul style="list-style-type: none"> Alto rendimento de glicose Pouca formação de inibidores Realizado à temperatura ambiente 	<ul style="list-style-type: none"> Alto custo do ácido ou na recuperação do ácido utilizado Equipamento caro devido a problemas de corrosão
Ácido diluído	<ul style="list-style-type: none"> Menos problemas com corrosão quando comparado ao ácido concentrado Método de duas etapas: bom rendimento de glicose e de açúcares de hemiceluloses 	<ul style="list-style-type: none"> Formação de produtos de degradação Necessidade de reatores mais sofisticados para obtenção de altos rendimentos Concentração baixa de açúcar no fluxo de saída
Físicos		
Micro-ondas	<ul style="list-style-type: none"> Tempo curto de processo Alta seletividade e uniformidade Menor consumo de energia 	<ul style="list-style-type: none"> Ainda não é suficiente para aumentar a taxa de conversão de açúcar
Moagem seca ou úmida	<ul style="list-style-type: none"> Diminui o tamanho da partícula, aumentando a área superficial Em alguns casos, reduz os graus de polimerização e a cristalinidade 	<ul style="list-style-type: none"> Não é suficiente para aumentar a taxa de conversão de açúcar Não remove lignina
Processo Organosolv	<ul style="list-style-type: none"> Solubiliza ligninas e hemiceluloses (dependendo do solvente utilizado) Aumento da digestibilidade da biomassa celulósica 	<ul style="list-style-type: none"> Alto custo dos solventes orgânicos, bem como na sua recuperação Alto custo na recuperação de subprodutos
Fracionamento por Ácido fosfórico	<ul style="list-style-type: none"> Resulta em fibras de celulose amorfas Opera a baixa temperatura e pressão 	<ul style="list-style-type: none"> Alto custo na recuperação e purificação do ácido fosfórico, acetona e ácido acético
Líquidos Iônicos	<ul style="list-style-type: none"> Reuso do líquido iônico após o processo Substrato final com digestibilidade >90% 	<ul style="list-style-type: none"> O líquido iônico deve ser completamente retirado antes da hidrólise, pois interfere na atividade hidrolítica das enzimas Alto custo dos líquidos iônicos
Físico-Químicos		
Explosão a vapor (com/sem adição de ácido como catalisador)	<ul style="list-style-type: none"> Ótimo para madeira macia (na presença de um catalisador ácido) Altos rendimentos de glicose e açúcares de hemiceluloses 	<ul style="list-style-type: none"> Formação de produtos de degradação Uma etapa adicional é necessária para a remoção da lignina
Expansão da fibra com amônia (AFEX)	<ul style="list-style-type: none"> Pouco gasto de energia: pré-tratamento realizado a temperaturas de 60-140 °C Baixa formação de inibidores 	<ul style="list-style-type: none"> Alto custo: grande quantidade de amônia necessária, recuperação da amônia A fração da hemicelulose precisa ser hidrolisada por enzimas
Oxidação úmida alcalina	<ul style="list-style-type: none"> Formação mínima de inibidores e remoção eficiente de lignina Processo exotérmico: pouca energia necessária no processo 	<ul style="list-style-type: none"> Custo de oxigênio e catalisador alcalino (Na₂CO₃)
Biológicos		
Uso de fungos ou bactérias	<ul style="list-style-type: none"> Remove quantidade considerável de lignina Pré-tratamento brando (ótimo para materiais com alto conteúdo de carboidratos) 	<ul style="list-style-type: none"> Maior tempo de residência Bactérias/fungos consomem um pouco do carboidrato disponível – menor rendimento de açúcar

Devido à heterogeneidade das matérias-primas lignocelulósicas, a escolha do processo de pré-tratamento dependerá da natureza do material a ser tratado e da aplicação a qual será submetido o hidrolisado.^{41,49,50} A escolha das condições utilizadas na etapa de pré-tratamento interfere diretamente no rendimento de recuperação da celulose, hemicelulose e lignina, bem como na eficiência da sacarificação da celulose e de fermentação dos açúcares.

Quando as reações são conduzidas sob condições drásticas, como altas temperaturas e prolongado tempo de reação, elevados níveis de decomposição dos carboidratos e de condensação da lignina são obtidos, diminuindo o rendimento de recuperação desses componentes e gerando produtos de degradação, que atuam como inibidores em etapas posteriores a hidrólise.^{41,49,50} O desenvolvimento de pré-tratamentos eficientes tem se mostrado como prioridade para que a obtenção de etanol 2G se torne viável e competitiva, visto que tal etapa se apresenta como um dos grandes gargalos de sua produção, representando aproximadamente 40% dos custos.^{41,49,50}

4.2. Hidrólise da celulose

Para realizar o processo de hidrólise são necessárias tecnologias complexas e multifásicas, com a utilização de rotas ácidas ou enzimáticas para a separação dos açúcares. Durante esta etapa, a celulose e hemicelulose são hidrolisadas em monômeros livres (açúcares), que estão prontamente disponíveis para serem convertidos em bioetanol por fermentação.^{30,38,51,52,53}

Conforme mencionado, as hemiceluloses apresentam maior facilidade de serem hidrolisadas comparativamente à celulose. Todavia, a fermentação dos açúcares compostos por cinco carbonos, as pentoses, ainda não tem se mostrado viável economicamente como os processos que envolvem a celobiose.^{44,45}

O desenvolvimento de pré tratamentos eficientes é uma das prioridades para que a produção de etanol 2G se torne um processo viável e competitivo.⁴⁴⁻⁴⁶

4.2.1. Hidrólise ácida

A hidrólise ácida, na qual pode ser aplicado com ácido diluído ou concentrado, é uma antiga

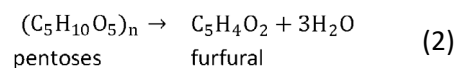
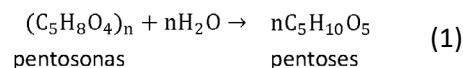
tecnologia para a conversão de biomassa celulósica para bioetanol. Esse processo é realizado sob alta temperatura e pressão, e tem um tempo de reação no intervalo de alguns segundos ou minutos, o que facilita o processamento contínuo.

Mais recentemente, a hidrólise catalisada por sólidos ácidos tem se mostrado promissora, com destaque para o uso de heteropoliácidos, zeólitas, materiais mesoporosos, como HZSM-5, Hb, HUSY(20), HUSY (30), SiO₂, γ-Al₂O₃, SiO₂-Al₂O₃, sulfonados ou modificado com óxido ácido derivados de tungstênio ou zircônio.^{17,54,55} Porém, os sólidos ácidos podem sofrer inativação, o que impede seu reuso com elevadas taxas de conversão.

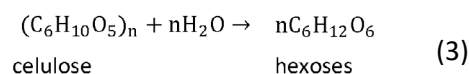
Os ácidos podem reagir com a celulose, ocasionando a dilatação e a ruptura da ligação glicosídica. Em condições brandas, como à pressão atmosférica e baixa temperatura, a celulose dilata quando a concentração de ácido sulfúrico é superior a 50%. Estudos referentes ao efeito da concentração do ácido na reação de hidrólise^{43,56,57,58} mostraram que à medida que a concentração é elevada (ou seja, superior a 62% de ácido sulfúrico ou 39% de ácido clorídrico), ocorrem alterações na estrutura da celulose promovendo um estado solúvel.⁵⁶⁻⁵⁸

A hidrólise ácida ocorre em duas etapas para se beneficiar das diferenças entre as hemiceluloses e a celulose. A primeira etapa é realizada em temperaturas baixas para maximizar o rendimento da hidrólise das hemiceluloses. Na segunda etapa, a temperatura é elevada para otimizar a hidrólise da celulose.^{43,56,57} As etapas podem ser descritas conforme as equações de 1 a 3.

1ª etapa de hidrólise ácida



2ª etapa de hidrólise ácida



A hidrólise da celulose, catalisada por ácido, é uma reação complexa envolvendo fatores físicos e químicos, seguindo o mecanismo de clivagem das ligações glicosídicas β-1,4. Durante a

hidrólise ácida, a xilose é rapidamente degradada a furfural e outros co-produtos de condensação. Por outro lado, a glicose pode se degradar em hidroximetilfurfural e outros coprodutos, os quais são inibitórios à ação dos microrganismos.^{49,59}

É importante salientar que a hidrólise ácida apresenta algumas desvantagens, tais como o uso de ligas caras na construção de reatores, tubulações, conexões e trocadores de calor, devido à natureza corrosiva do meio. Além disso, problemas de recuperação/separação do produto final da hidrólise exigem alta demanda energética para operação. Por esses motivos, o uso de catalisadores sólidos ácidos vem ganhando destaque, pois proporciona a sua fácil separação do produto final, com a perspectiva de recuperação e reutilização do catalisador.^{20,33,60,61}

4.2.2. Hidrólise enzimática

A celulase é a enzima empregada na hidrólise enzimática da celulose e o processo catalítico envolve basicamente a adsorção das celulasas na superfície do substrato, com posterior quebra das ligações. Um fator importante na determinação da taxa de hidrólise é a acessibilidade da enzima aos sítios de adsorção sobre a estrutura cristalina da celulose.^{62,63} Nesse caso, o processo de pré-tratamento torna-se fundamental, pois o mesmo promove aumento da área superficial, facilitando para a adsorção da enzima.⁶⁴

A célula é uma mistura de endoglucanases, exoglucanases e β -glucosidases que catalisam a reação de degradação da celulose em oligômeros via os seguintes passos: (i) as endoglucanases atacam as cadeias da celulose para produzir polissacarídeos de menor tamanho (processo de clivagem); (ii) as exoglucanases atacam as terminações não-redutoras dessas cadeias mais curtas e removem a celobiose e (iii) as β -glucosidases hidrolisam a celobiose e outro oligômeros à glicose.⁵³

Os processos catalisados com enzimas são conhecidos por serem altamente seletivos à glicose em condições reacionais suaves, e as mesmas levam de um a dois dias para quebrar as diversas moléculas de glicose que formam a celulose. Assim, sua utilização é bastante dispendiosa, além da enzima ser sensível a alguns fatores como o pH, a temperatura e a presença de inibidores.^{39,47,65}

Nesse complexo enzimático, também se encontram as enzimas acessórias, tais como a xilanase que limpam a fibra e permitem que a enzima celulase atue diretamente na celulose,

tornando o processo mais eficiente. As moléculas de glicose, obtidas pela hidrólise da celulose, são fermentadas junto com o caldo ou melaço de cana pelas leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, por meio do processo de fermentação alcoólica convencional.

4.3. Processos para sacarificação e fermentação

Conforme mencionado anteriormente, após o pré-tratamento ocorre a sacarificação e a fermentação, que são etapas realizadas separadamente ou simultaneamente. Em caso de aplicação da hidrólise enzimática, diferentes níveis de integração de processos são possíveis, como a sacarificação e fermentação sequenciais (SHF), sacarificação simultânea e co-fermentação (SSCF) ou sacarificação e fermentação simultâneas (SSF).

Quando é realizado o processo de SHF, a hidrólise enzimática e a fermentação são executadas em dois reatores diferentes. Nesse processo, cada passo pode ser realizado em condições ótimas de pH e temperatura. Porém, o acúmulo de glicose e celobiose na etapa de hidrólise, inibe a atividade das celulasas.⁶⁶ Em um processo de SSF, a sacarificação e a fermentação são executadas no mesmo reator, e a glicose produzida pela ação das enzimas celulasas é convertida diretamente em etanol por fermentação. Nesse caso, a conversão contínua de glicose em álcool minimiza a inibição da atividade da enzima pelos produtos de hidrólise.^{66,67}

Comparativamente, a SSF apresenta produtividade total bastante superior a SHF, pois reduz a complexidade do processo a uma etapa em reator único. Além disso, apresenta mais altas velocidades de agitação, rendimentos e concentrações de produto, assim como minimiza a inibição da enzima pela remoção de açúcares do processo.^{67,68} A SSCF é bastante semelhante à SSF, e possui as mesmas vantagens de processamento, porém a primeira abre a possibilidade de fermentação de pentoses e hexoses.

5. Particularidades dos processos ácidos e enzimáticos de sacarificação

5.1. Condições reacionais

As condições reacionais de hidrólise e degradação da celulose são extremamente

importantes para a seletividade da reação à formação de glicose, pois as mesmas devem conduzir à ocorrência eficiente de uma série de processos. Esses consistem, basicamente, na modificação estrutural da celulose (mudança de fase cristalina para amorfa, pelo rompimento das ligações de hidrogênio) e solubilização de parte da celulose amorfa formada, viabilizando o acesso aos sítios reativos da molécula.⁶⁹ É importante destacar que tais condições devem também favorecer a atuação do catalisador, seja químico ou enzimático.

Na Tabela 4, encontram-se exemplos de condições reacionais, assim como a conversão em glicose, em presença de catalisadores químicos e enzimáticos.

O uso de ácidos diluídos (por exemplo, ácido sulfúrico 1,0%) exige condições severas, com emprego de temperaturas mais altas, que provocam a degradação da glicose a subprodutos como 5-hidroximetilfurfural. Por outro lado, o uso de ácidos concentrados (por exemplo, ácido sulfúrico 75%) requer temperaturas mais moderadas para alcançar altas produtividades semelhantes às observadas ao se empregar celulases.⁷⁰ Porém, o meio reacional torna-se, nesse último caso, altamente corrosivo, o que causa um efeito deletério aos equipamentos, aumentando o custo de produção. Por isso, apesar de apresentarem vantagens reacionais em alguns aspectos, não são tecnologias prósperas e estão sujeitas à substituição pelo uso de catalisadores sólidos ácidos.^{69,70}

Os catalisadores ácidos heterogêneos são empregados em condições reacionais mais brandas, em temperatura que permita a solubilidade da celulose, facilitando a atividade do catalisador.^{58,64} De forma comparativa, as enzimas apresentam algumas vantagens, pois catalisam reações químicas específicas sem serem consumidas, não permitindo a formação de coprodutos. As mesmas atuam em condições

muito suaves de temperatura e pH, apresentando valores ótimos nos quais a atividade é maximizada. No entanto, o alto custo desse insumo é um fator limitante ao seu emprego.⁵⁸⁻⁶¹

5.2. Catalisadores

Nos processos que empregam a hidrólise ácida diluída ou concentrada, o catalisador mais utilizado é o ácido sulfúrico, que atua como um ácido homogêneo de Bronsted. Essa rota de sacarificação da celulose conduz a altas conversões, porém é susceptível à formação de produtos de degradação e aos demais inconvenientes mencionados anteriormente.^{3,7,8,10,21}

Na Figura 6 está apresentada uma proposta de mecanismo de ação dos catalisadores ácidos na hidrólise da celulose. A clivagem da ligação C-O-C da celulose pode seguir os caminhos de protonação, em que o próton ataca o oxigênio glicosídico encontrado entre as duas unidades de glicose (A-1) ou no oxigênio do ciclo(A-2).^{10,21,71} Na sequência, ocorre a rápida formação de um intermediário entre o oxigênio e o próton, seguido pela quebra lenta de ligações glicosídicas e pela adição de uma molécula de água.⁷¹

Os catalisadores sólidos ácidos combinam vantagens intrínsecas do seu caráter heterogêneo e solucionam muitos problemas apresentados pelo uso de catalisadores homogêneos.^{70-72, 74,76}

Um catalisador heterogêneo ácido, definido como um sólido que pode doar prótons ou receber elétrons (acidez de Bronsted e de Lewis, respectivamente) promove a despolimerização da celulose e permite a redução da formação de oligômeros e polímeros solúveis.⁷² Os possíveis mecanismos para a ação dos catalisadores heterogêneos na sacarificação da celulose ainda não estão completamente definidos. Porém Chambon *et al.*⁷² propuseram que na presença de um sólido ácido de Lewis, a hidrólise pode prosseguir de forma significativa por duas vias,

Tabela 4. Exemplos de condições reacionais empregadas em processos para hidrólise e degradação da celulose

	T (°C)	Tempo	% Glicose	Referência
Ácido diluído (H ₂ SO ₄)	245	3 min	50 – 70	(Moe <i>et al.</i> , 2012) ⁴⁸
Ácido concentrado (H ₂ SO ₄)	70	2 – 6h	90	(Moe <i>et al.</i> , 2012) ⁴⁸
Sólido ácido	150	24h	75	(Guo <i>et al.</i> , 2012) ⁵⁵
Enzima	80	24h	75 – 95	(Jeya <i>et al.</i> , 2012) ⁶⁵

tanto pela clivagem das ligações C - O e C - C intra ciclo, quanto pela protólise das ligações glicosídicas (Figura 7). O mecanismo sugerido se baseia na coordenação das hidroxilas solúveis dos oligossacarídeos aos sítios ácidos, o que favorece a protólise do oxigênio das ligações glicosídicas.

Chambon *et al.*⁷² também demonstraram, em condições reacionais semelhantes, que a presença de sítios ácidos de Bronsted não contribuiu significativamente na etapa de despolimerização. Contudo, diversos catalisadores heterogêneos, tais como sólidos ácidos suportados, heteropoliácidos, zeólitas e materiais mesoporosos, que apresentam sítios ácidos de Lewis e de Bronsted, foram avaliados na conversão da celulose e exibiram resultados promissores.^{53,55,72,73}

As enzimas, por apresentarem excelentes propriedades de especificidade e seletividade química, posicional e estérica, são candidatas naturais ao emprego como catalisadores em diversas reações. A celulose é tipicamente hidrolisada por uma enzima chamada celulase, que é produzida por diversos microrganismos, tais como bactérias e fungos.⁷⁴⁻⁷⁶

As celulases são classificadas, de acordo com seu local de atuação no substrato celulósico, em três grandes grupos: endoglucanases (EnG), que clivam ligações internas da fibra celulósica; exoglucanases (ExG), que atuam na região externa da celulose e

β -glicosidases (BG), que hidrolisam oligossacarídeos solúveis em glicose. O grupo das exoglucanases (ExG) é constituído por celobio-hidrolase (CBH) e glucano-hidrolase (GH). A CBH ainda pode ser dividida em dois tipos: enzima do tipo I (CBH I), que hidrolisa terminais redutores (R), enquanto que a do tipo II (CBH II) hidrolisa terminais não redutores (NR). Essas enzimas geralmente sofrem inibição pelo seu produto de hidrólise, a celobiose, uma fração da celulose, que é um dissacarídeo composto por duas moléculas de glicose.^{77,78}

As enzimas que compõe o complexo da celulase não hidrolisam a celulose eficientemente de maneira individual, sendo necessária uma ação complementar e sinérgica, ou seja, uma ação em conjunto para que o rendimento das celulases quando atuam simultaneamente, seja maior do que a soma dos rendimentos individuais. São conhecidas pelo menos três formas de sinergia:^{79,80}

- Sinergia endo-exo: as endoglucanases atuam nas regiões amorfas, liberando terminais redutores e não redutores, nos quais atuarão as CBHs do tipo I e do tipo II, respectivamente.
- Sinergia exo-exo: as CBHs I e CBHs II que atuam simultaneamente nos terminais redutores e não redutores liberados pelas endoglucanases.

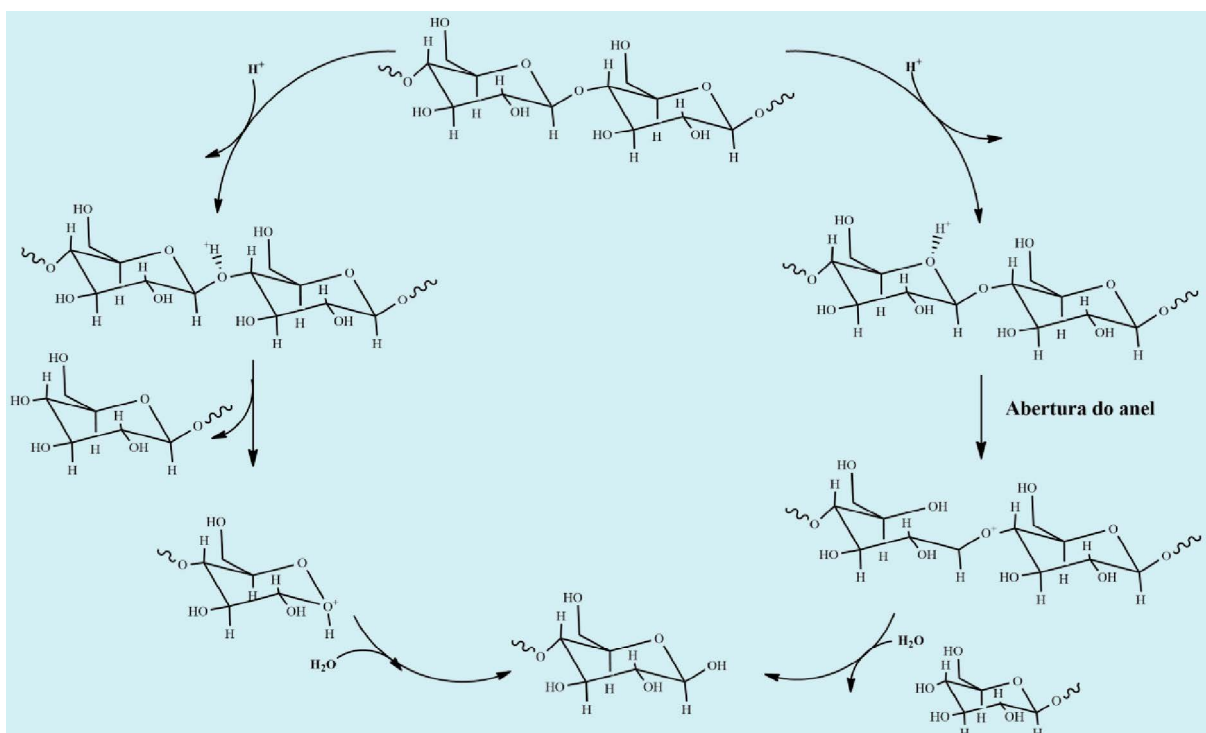


Figura 6. Mecanismo proposto para a da hidrólise ácida da celulose⁷¹

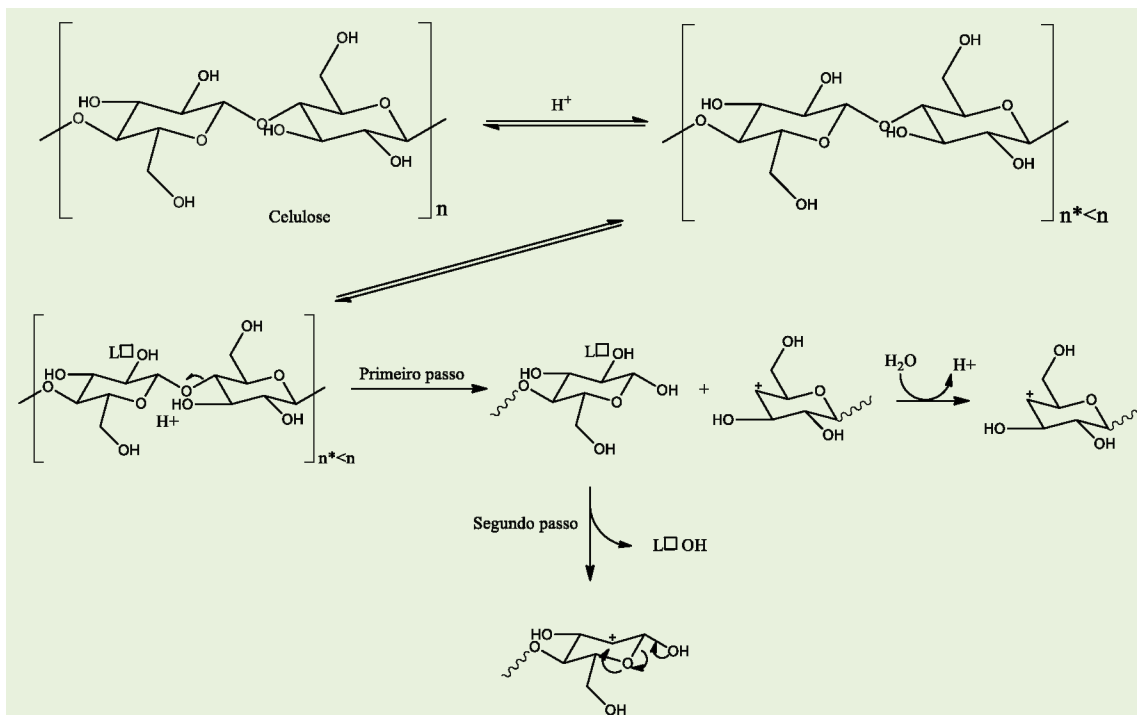


Figura 7. Mecanismo de ação de um sólido ácido na hidrólise da celulose⁷²

- Sinergia exo-BG e endo-BG: as exoglucanases e endoglucanases liberam celobiose e oligossacarídeos, respectivamente, que são substratos da β -glucosidase.^{79,80}

Embora esses biocatalisadores apresentem alta atividade catalítica e seletividade específica, os processos hidrolíticos enzimáticos ainda não são viáveis do ponto de vista econômico.⁷⁹⁻⁸² Assim, é necessário traçar e entender as limitações apresentadas por cada processo.

5.3. Limitações e alternativas

Devido à grande contribuição aos custos do processo, a etapa de sacarificação precisa ser avaliada quanto ao custo global, rendimento glicosídico e a fermentabilidade do hidrolisado (Tabela 5).

A dificuldade em reduzir etapas do processo, por não viabilizar a sacarificação e fermentação simultânea, o uso de elevadas temperaturas

Tabela 5. Avaliação dos processos de sacarificação da celulose

	Custo	Rendimento Glicosídico	Fermentabilidade do hidrolisado
Ácido diluído ou concentrado	O processo se torna economicamente dispendioso devido à corrosão nos equipamentos causada pelo catalisador. ^{1,3,17,19,20,22}	Possui rendimento moderado alcançando maiores valores com ácidos concentrados; porém, as condições reacionais requeridas favorecem a formação de produtos de degradação. ^{1,3,17,19,20,22}	A presença do ácido e dos produtos de degradação inibe a atuação dos micro-organismos responsáveis pela fermentação. ^{1,3,17,19,20,22}
Sólido Ácido	Não possui os inconvenientes atrelados a corrosão e o caráter heterogêneo do catalisador possibilita a reutilização, o que reduz os custos de operação. ^{3,5,16,40,45,54}	Atinge rendimentos satisfatórios, com possibilidade de otimização; todavia, a elevada temperatura requerida no processo favorece a formação de produtos inibitórios da fermentação. ^{3,5,16,40,45,54}	Os produtos de degradação formados na hidrólise inibem os micro-organismos responsáveis pela fermentação. ^{3,5,16,40,45,54}
Enzimático	Elevado custo das enzimas celulases. ^{16,17,56,57,74,76,77}	Rendimentos elevados e considerável seletividade a produção de glicose. ^{16,17,56,57,74,76,77}	Possibilita o processo de sacarificação e fermentação simultâneos. ^{56,57,74,76,77}

reacionais e a própria natureza recalcitrante de celulose microcristalina, aumentaram a complexidade da reação de hidrólise ácida heterogênea. Esses fatores estimularam o desenvolvimento de processos alternativos mais interessantes incluindo funcionalização de materiais, uso de líquidos iônicos para dissolução de celulose e despolimerização, emprego de sistemas de reatores bifásicos, catalisadores de metais suportados em heteropoliácidos.⁶⁹⁻⁷¹

Apesar de suas altíssimas seletividades, os catalisadores enzimáticos possuem inconvenientes, tais como a recalcitrância da celulose e o alto custo associado às enzimas celulases, o que pode inviabilizar a rota de produção do etanol lignocelulósico. Além disso, o pré-tratamento escolhido para a matéria-prima pode dificultar a ação das enzimas nas etapas posteriores.^{80,82} Como resultado, melhoramentos focados no processo de hidrólise enzimática têm sido propostos. Entre eles, investigar as relações entre a estrutura e a função de enzimas, aspectos relacionados a bioprocessos, metagenômica aplicada a biocombustíveis, produção de proteínas, transdução de sinal em fungos filamentosos e evolução molecular de enzimas.⁸⁰⁻⁸²

Além desses obstáculos, alguns sistemas enzimáticos não estão sendo comercializados devido à dificuldade de separação do catalisador do meio reacional. Essa limitação impulsiona novas estratégias, como a de imobilização desses catalisadores enzimáticos em suportes heterogêneos, agregando assim os benefícios oriundos dos catalisadores heterogêneos, como a facilidade de remoção e a reutilização. Outra opção importante é a modificação genética dos micro-organismos.^{81,82}

6. Considerações Finais

O desenvolvimento de um combustível alternativo que seja eficiente considerando critérios técnicos, econômicos e sociais é o foco de pesquisas em todo o mundo. O bioetanol lignocelulósico se apresenta como a opção mais passível de aceitação devido à abundância de matéria-prima, baixo custo de produção e alto valor de produto. No entanto, os métodos atuais de produção requerem melhorias, que dependem diretamente do desenvolvimento de pesquisas tecnológicas como as apresentadas neste trabalho.

A hidrólise enzimática, de forma geral, se mostra superior à hidrólise ácida homogênea na maioria dos aspectos. Porém, em virtude das diversas vantagens apresentadas pelo uso de catalisadores ácidos heterogêneos, pesquisas têm sido incentivadas na academia e em empresas do setor sucroenergético. Essas visam desenvolver um catalisador adequado para reduzir as dificuldades envolvidas no processo produtivo de etanol de segunda geração. Diante disso, pode-se dizer que a concretização do etanol de segunda geração como fonte de energia tem como ponto de apoio tais investigações, as quais representam a oportunidade de torná-lo tão competitivo quanto o etanol de primeira geração.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES, a FAPESP, a FAPESB, ao CNPq, a FINEP e ao INCT Catálise pelo apoio à pesquisa.

Referências Bibliográficas

- ¹ Zhao, Y.; Damgaard, A.; Christensen, T. H. Bioethanol from corn stover – a review and technical assessment of alternative biotechnologies. *Progress in Energy and Combustion Science* **2018**, *67*, 275. [CrossRef]
- ² Pereira, F. C.; Lima, F. J. S.; Da Silva, A. O. Uma breve revisão sobre alguns aspectos do álcool combustível veicular e a análise quantitativa de espécies químicas presentes nesta matriz energética. *Revista Virtual de Química* **2016**, *8*, 1702. [CrossRef]
- ³ Sun, D.; Yang, Q.; Wang, Y.; Gao, H.; He, M.; Lin, X.; Lu, J.; Wang, Y.; Kang, H.; Alam, A.; Tu, Y.; Xia, T.; Peng, L. Distinct mechanisms of enzymatic saccharification and bioethanol conversion enhancement by three surfactants under steam explosion and mild chemical pretreatments in bioenergy *Miscanthus*. *Industrial Crops and Products*. **2020**, *153*, 112559. [CrossRef]
- ⁴ Seifollahi, M.; Amiri, H. Enhanced production of cellulosic butanol by simultaneous co-saccharification and fermentation of water-soluble cellulose oligomers obtained by chemical hydrolysis. *Fuel* **2020**, *263*, 116759. [CrossRef]
- ⁵ Ogunyewo, O. A.; Randhawa, A.; Joshi, M.; Jain, K. K.; Wadekar, P.; Odaneth, A. A.; Lali, A. M.; Yazdani, S. S. Engineered *Penicillium funiculosum* produces potent lignocellulolytic enzymes for saccharification of various pretreated biomasses. *Process Biochemistry* **2020**, *92*, 49. [CrossRef]

- ⁶ Balanço Energético Nacional, Ministério de Minas e Energia: Brasília, 2019.
- ⁷ Kumari, D.; Singh, R. Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2018**, *90*, 877. [[CrossRef](#)]
- ⁸ Akram, F.; Haq, I. ul; Imran, W.; Mukhtar, H. Insight perspectives of thermostable endoglucanases for bioethanol production: A review. *Renewable Energy* **2018**, *122*, 225. [[CrossRef](#)]
- ⁹ Caspeta, L.; Caro-Bermúdez, M. A.; Ponce-Noyola, T.; Martínez, A. Enzymatic hydrolysis at high-solids loadings for the conversion of agave bagasse to fuel ethanol. *Applied Energy* **2014**, *113*, 277. [[CrossRef](#)]
- ¹⁰ Bader, A. N.; Rizza, L. S.; Consolo, V. F.; Curatti, L. Efficient saccharification of microalgal biomass by *Trichoderma harzianum* enzymes for the production of ethanol. *Algal Research* **2020**, *48*, 101926. [[CrossRef](#)]
- ¹¹ Adekunle, A.; Orsat, V.; Raghavan, V. Lignocellulosic bioethanol: A review and design conceptualization study of production from cassava peels. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. **2016**, *64*, 518. [[CrossRef](#)]
- ¹² Centro de Gestão e Estudos Estratégicos; *Química verde no Brasil: 2010-2030*, Brasília, 2017.
- ¹³ Lacerda, T. M.; de Paula, M. P.; Zambon, M. D.; Frollini, E. Saccharification of Brazilian sisal pulp: Evaluating the impact of mercerization on non-hydrolyzed pulp and hydrolysis products. *Cellulose* **2012**, *19*, 351. [[CrossRef](#)]
- ¹⁴ Kayalvili, U. Genome engineering for breaking barriers in lignocellulosic bioethanol production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2017**, *74*, 1080. [[CrossRef](#)]
- ¹⁵ Alam, A.; Wang, Y.; Liu, F.; Kang, H.; Tang, S. wen; Wang, Y.; Cai, Q.; Wang, H.; Peng, H.; Li, Q.; Zeng, Y.; Tu, Y.; Xia, T.; Peng, L. Modeling of optimal green liquor pretreatment for enhanced biomass saccharification and delignification by distinct alteration of wall polymer features and biomass porosity in *Miscanthus*. *Renewable Energy* **2020**, *159*, 1128. [[CrossRef](#)]
- ¹⁶ Chen, H.; Fu, X. Industrial technologies for bioethanol production from lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2016**, *57*, 468. [[CrossRef](#)]
- ¹⁷ Balat, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. *Energy Conversion and Management* **2011**, *52*, 858. [[CrossRef](#)]
- ¹⁸ Mohd Azhar, S. H.; Abdulla, R.; Jambo, S. A.; Marbawi, H.; Gansau, J. A.; Mohd Faik, A. A.; Rodrigues, K. F. Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. *Biochemistry and Biophysics Reports* **2017**, *10*, 52. [[CrossRef](#)]
- ¹⁹ Tong, D. S.; Xia, X.; Luo, X. P.; Wu, L. M.; Lin, C. X.; Yu, W. H.; Zhou, C. H.; Zhong, Z. K. Catalytic hydrolysis of cellulose to reducing sugar over acid-activated montmorillonite catalysts. *Applied Clay Science* **2013**, *74*, 147. [[CrossRef](#)]
- ²⁰ Chundawat, S. P. S.; Beckham, G. T.; Himmel, M. E.; Dale, B. E. Deconstruction of lignocellulosic biomass to fuels and chemicals. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering* **2011**, *2*, 121. [[CrossRef](#)]
- ²¹ Orozco, A. M.; Al-Muhtaseb, A. H.; Albadarin, A. B.; Rooney, D.; Walker, G. M.; Ahmad, M. N. M. Acid-catalyzed hydrolysis of cellulose and cellulosic waste using a microwave reactor system. *RSC Advance*. **2011**, *1*, 839. [[CrossRef](#)]
- ²² Orozco, A. M.; Al-Muhtaseb, A. H.; Rooney, D.; Walker, G. M.; Ahmad, M. N. M. Hydrolysis characteristics and kinetics of waste hay biomass as a potential energy crop for fermentable sugars production using autoclave parr reactor system. *Industrial Crops and Products* **2013**, *44*, 1. [[CrossRef](#)]
- ²³ Aditya, H. B.; Mahlia, T. M. I.; Chong, W. T.; Nur, H.; Sebayang, A. H. Second generation bioethanol production: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2016**, *66*, 631. [[CrossRef](#)]
- ²⁴ Rodrigues, J. S.; Carmo, K. P.; Freitas, R. R. M.; Silva, J. O.; Lima, V.; Botaro, V. R. Isolation and characterization of acetosolv lignin present in sugarcane bagasse. *Revista Virtual de Química* **2020**, *12*, 867. [[CrossRef](#)]
- ²⁵ Nagarajan, S.; Skillen, N. C.; Irvine, J. T. S.; Lawton, L. A.; Robertson, P. K. J. Cellulose II as bioethanol feedstock and its advantages over native cellulose. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2017**, *77*, 182. [[CrossRef](#)]
- ²⁶ Baños, R.; Manzano-Agugliaro, F.; Montoya, F. G.; Gil, C.; Alcayde, A.; Gómez, J. Optimization methods applied to renewable and sustainable energy: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2011**, *15*, 1753. [[CrossRef](#)]
- ²⁷ Martín, M.; Grossmann, I. E. Energy optimization of bioethanol production via hydrolysis of switchgrass. *AIChE Journal* **2012**, *58*, 1538. [[CrossRef](#)]
- ²⁸ Clark, J. H.; Luque, R.; Matharu, A. S. Green chemistry, biofuels, and biorefinery. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering* **2012**, *3*, 183. [[CrossRef](#)]
- ²⁹ Brunschwig, C.; Moussavou, W.; Blin, J. Use of bioethanol for biodiesel production. *Progress in Energy and Combustion Science* **2012**, *38*, 283. [[CrossRef](#)]

- ³⁰ Limayem, A.; Ricke, S. C. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. *Progress in Energy and Combustion Science* **2012**, *38*, 449. [CrossRef]
- ³¹ Sheikh, M. M. I.; Kim, C. H.; Lee, J. Y.; Kim, S. H.; Kim, G. C.; Le, J. Y.; Shim, S. W.; Kim, J. W. Production of bioethanol from waste money bills-A new cellulosic material for biofuels. *Food and Bioproducts Processing* **2013**, *91*, 60. [CrossRef]
- ³² Haghighi Mood, S.; Hossein Golfeshan, A.; Tabatabaei, M.; Salehi Jouzani, G.; Najafi, G. H.; Gholami, M.; Ardjmand, M. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2013**, *27*, 77. [CrossRef]
- ³³ Van de Vyver, S.; Peng, L.; Geboers, J.; Schepers, H.; de Clippel, F.; Gommers, C. J.; Goderis, B.; Jacobs, P. A.; Sels, B. F. Sulfonated silica/carbon nanocomposites as novel catalysts for hydrolysis of cellulose to glucose. *Green Chemistry* **2010**, *12*, 1560. [CrossRef]
- ³⁴ PROETHANOL2G. Disponível em: <<http://www.proethanol2g.org/>>. Acesso em: 15 maio 2020.
- ³⁵ GRANBIO. Disponível em: <http://www.granbio.com.br/conteudos/producao-de-etanol-2g//>. Acesso em: 15 maio 2020.
- ³⁶ RAÍZEN. Disponível em: <https://www.raizen.com.br/relatorioanual/1819/pt/>. Acesso em: 15 maio 2020.
- ³⁷ NOVACANA. Disponível em: <https://www.novacana.com/n/etanol/2-geracao-celulose/>. Acesso em: 15 maio 2020.
- ³⁸ Santos, F. A.; Queiróz, J. H. de; Colodette, J. L.; Fernandes, S. A.; Guimarães, V. M.; Rezende, S. T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. *Química Nova* **2012**, *35*, 1004. [CrossRef]
- ³⁹ Sarkar, N.; Ghosh, S. K.; Bannerjee, S.; Aikat, K. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy* **2012**, *37*, 19. [CrossRef]
- ⁴⁰ Astruc, D.; Lu, F.; Aranzaes, J. R. Nanoparticles as Recyclable Catalysts: The Frontier between Homogeneous and Heterogeneous Catalysis. *Angewandte Chemie International Edition*. **2005**, *44*, 7852. [CrossRef]
- ⁴¹ Sullivan, A. L.; Ball, R. Thermal decomposition and combustion chemistry of cellulosic biomass. *Atmospheric Environment* **2012**, *47*, 133. [CrossRef]
- ⁴² Ogeda, T. L.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, 2011. [Link]
- ⁴³ Kumar, S.; Gupta, R. B. Hydrolysis of microcrystalline cellulose in subcritical and supercritical water in a continuous flow reactor. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2008**, *47*, 9321. [CrossRef]
- ⁴⁴ Kuhad, R. C.; Gupta, R.; Khasa, Y. P.; Singh, A.; Zhang, Y. H. P. Bioethanol production from pentose sugars: Current status and future prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2011**, *15*, 4950. [CrossRef]
- ⁴⁵ Zhou, L.; Shi, M.; Cai, Q.; Wu, L.; Hu, X.; Yang, X.; Chen, C.; Xu, J. Hydrolysis of hemicellulose catalyzed by hierarchical H-USY zeolites – The role of acidity and pore structure. *Microporous Mesoporous Materials* **2013**, *169*, 54. [CrossRef]
- ⁴⁶ Schuchardt, U.; Ribeiro, M. L. A indústria petroquímica no próximo século: como substituir o petróleo como matéria-prima? *Química Nova* **2001**, *24*, 247. [CrossRef]
- ⁴⁷ Ogeda, T. L.; Petri, D. F. S. Biomass enzymatic hydrolysis. *Química Nova* **2010**, *33*, 1549. [CrossRef]
- ⁴⁸ Moe, S. T.; Janga, K. K.; Hertzberg, T.; Hägg, M. B.; Øyaas, K.; Dyrset, N. Saccharification of lignocellulosic biomass for biofuel and biorefinery applications A renaissance for the concentrated acid hydrolysis? *Energy Procedia* **2012**, *20*, 50. [CrossRef]
- ⁴⁹ Rataboul, F.; Essayem, N. Cellulose reactivity in supercritical methanol in the presence of solid acid catalysts: Direct synthesis of methyl-levulinate. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2011**, *50*, 799. [CrossRef]
- ⁵⁰ Velmurugan, R.; Muthukumar, K. Utilization of sugarcane bagasse for bioethanol production: Sono-assisted acid hydrolysis approach. *Bioresource Technology* **2011**, *102*, 7119. [CrossRef]
- ⁵¹ Cantero, D. A.; Dolores Bermejo, M.; José Cocero, M. High glucose selectivity in pressurized water hydrolysis of cellulose using ultra-fast reactors. *Bioresource Technology* **2013**, *135*, 697. [CrossRef]
- ⁵² Palkovits, R.; Tajvidi, K.; Ruppert, A. M.; Procelewska, J. Heteropoly acids as efficient acid catalysts in the one-step conversion of cellulose to sugar alcohols. *Chemical Communications* **2011**, *47*, 576. [CrossRef]
- ⁵³ Zhang, F.; Fang, Z. Hydrolysis of cellulose to glucose at the low temperature of 423 K with CaFe₂O₄-based solid catalyst. *Bioresource Technology* **2012**, *124*, 440. [CrossRef]
- ⁵⁴ Amarasekara, A. S.; Wiredu, B. Aryl sulfonic acid catalyzed hydrolysis of cellulose in water. *Applied Catalysis A: General* **2012**, *417–418*, 259. [CrossRef]
- ⁵⁵ Guo, F.; Fang, Z.; Xu, C. C.; Smith, R. L. Solid acid mediated hydrolysis of biomass for producing biofuels. *Progress in Energy and Combustion Science* **2012**, *38*, 672. [CrossRef]

- ⁵⁶ Bian, J.; Peng, F.; Peng, X. P.; Xiao, X.; Peng, P.; Xu, F.; Sun, R. C. Effect of [Emim]Ac pretreatment on the structure and enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse cellulose. *Carbohydrate Polymers* **2014**, *100*, 211. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁷ Heinonen, J.; Tamminen, A.; Uusitalo, J.; Sainio, T. Ethanol production from wood via concentrated acid hydrolysis, chromatographic separation, and fermentation. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* **2012**, *87*, 689. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁸ Onda, A.; Ochi, T.; Yanagisawa, K. Selective hydrolysis of cellulose into glucose over solid acid catalysts. *Green Chemistry* **2008**, *10*, 1033. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁹ Girisuta, B.; Dussan, K.; Haverty, D.; Leahy, J. J.; Hayes, M. H. B. A kinetic study of acid catalysed hydrolysis of sugar cane bagasse to levulinic acid. *Chemical Engineering Journal* **2013**, *217*, 61. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁰ Lanzafame, P.; Temi, D. M.; Perathoner, S.; Spadaro, A. N.; Centi, G. Direct conversion of cellulose to glucose and valuable intermediates in mild reaction conditions over solid acid catalysts. *Catalysis Today* **2012**, *179*, 178. [[CrossRef](#)]
- ⁶¹ Suganuma, S.; Nakajima, K.; Kitano, M.; Yamaguchi, D.; Kato, H.; Hayashi, S.; Hara, M. Hydrolysis of cellulose by amorphous carbon bearing SO₃H, COOH, and OH groups. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 12787. [[CrossRef](#)]
- ⁶² Viikari, L.; Vehmaanperä, J.; Koivula, A. Lignocellulosic ethanol: From science to industry. *Biomass and Bioenergy* **2012**, *46*, 13. [[CrossRef](#)]
- ⁶³ Modenbach, A. A.; Nokes, S. E. Enzymatic hydrolysis of biomass at high-solids loadings - A review. *Biomass and Bioenergy* **2013**, *56*, 526. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁴ Cabiac, A.; Guillon, E.; Chambon, F.; Pinel, C.; Rataboul, F.; Essayem, N. Cellulose reactivity and glycosidic bond cleavage in aqueous phase by catalytic and non catalytic transformations. *Applied Catalysis A: General* **2011**, *402*, 1. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁵ Jeya, M.; Kalyani, D.; Dhiman, S. S.; Kim, H.; Woo, S.; Kim, D.; Lee, J. K. Saccharification of woody biomass using glycoside hydrolases from *Stereum hirsutum*. *Bioresource Technology* **2012**, *117*, 310. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁶ Castro A. M. de; *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2009. [[Link](#)]
- ⁶⁷ Ojeda, K.; Sánchez, E.; El-Halwagi, M.; Kafarov, V. Exergy analysis and process integration of bioethanol production from acid pre-treated biomass: Comparison of SHF, SSF and SSCF pathways. *Chemical Engineering Journal* **2011**, *176–177*, 195. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁸ Morales-Rodriguez, R.; Meyer, A. S.; Gernaey, K. V.; Sin, G. Dynamic model-based evaluation of process configurations for integrated operation of hydrolysis and co-fermentation for bioethanol production from lignocellulose. *Bioresource Technology* **2011**, *102*, 1174. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁹ Santos, J. B.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Alagoas, 2010. [[Link](#)]
- ⁷⁰ Cai, H.; Li, C.; Wang, A.; Xu, G.; Zhang, T. Zeolite-promoted hydrolysis of cellulose in ionic liquid, insight into the mutual behavior of zeolite, cellulose and ionic liquid. *Applied Catalysis B: Environmental* **2012**, *123–124*, 333. [[CrossRef](#)]
- ⁷¹ Huber, G. W.; Iborra, S.; Corma, A. Synthesis of transportation fuels from biomass: Chemistry, catalysts, and engineering. *Chemical Reviews* **2006**, *106*, 4044. [[CrossRef](#)]
- ⁷² Chambon, F.; Rataboul, F.; Pinel, C.; Cabiac, A.; Guillon, E.; Essayem, N. Cellulose hydrothermal conversion promoted by heterogeneous Brønsted and Lewis acids: Remarkable efficiency of solid Lewis acids to produce lactic acid. *Applied Catalysis B: Environmental* **2011**, *105*, 171. [[CrossRef](#)]
- ⁷³ Zhou, C. H.; Xia, X.; Lin, C. X.; Tong, D. S.; Beltramini, J. Catalytic conversion of lignocellulosic biomass to fine chemicals and fuels. *Chemical Society Reviews* **2011**, *40*, 5588. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁴ Zhang, M.; Su, R.; Qi, W.; Du, R.; He, Z. Enzymatic hydrolysis of cellulose with different crystallinities studied by means of sec-malls. *Chinese Journal of Chemical Engineering* **2011**, *19*, 773. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁵ Taneda, D.; Ueno, Y.; Ikeo, M.; Okino, S. Characteristics of enzyme hydrolysis of cellulose under static condition. *Bioresource Technology* **2012**, *121*, 154. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁶ Trivedi, N.; Gupta, V.; Reddy, C. R. K.; Jha, B. Enzymatic hydrolysis and production of bioethanol from common macrophytic green alga *Ulva fasciata* Delile. *Bioresource Technology* **2013**, *150*, 106. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁷ Coughlan, M. P. Enzymic hydrolysis of cellulose: An overview. *Bioresource Technology* **1992**, *39*, 107. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁸ Maeda, R. N.; Barcelos, C. A.; Anna, L. M. M. S.; Pereira, N. Cellulase production by *Penicillium funiculosum* and its application in the hydrolysis of sugar cane bagasse for second generation ethanol production by fed batch operation. *Journal of Biotechnology* **2013**, *163*, 38. [[CrossRef](#)]

⁷⁹ Giordano, P. C.; Beccaria, A. J.; Goicoechea, H. C. Significant factors selection in the chemical and enzymatic hydrolysis of lignocellulosic residues by a genetic algorithm analysis and comparison with the standard Plackett-Burman methodology. *Bioresource Technology* **2011**, *102*, 10602. [[CrossRef](#)]

⁸⁰ Van Dyk, J. S.; Pletschke, B. I. A review of lignocellulose bioconversion using enzymatic hydrolysis and synergistic cooperation between enzymes-Factors affecting enzymes, conversion and synergy. *Biotechnology Advances* **2012**, *30*, 1458. [[CrossRef](#)]

⁸¹ Hon, S.; Holwerda, E. K.; Worthen, R. S.; Maloney, M. I.; Tian, L.; Cui, J.; Lin, P. P.; Lynd, L. R.; Olson, D. G. Expressing the Thermoanaerobacterium saccharolyticum pforA in engineered Clostridium thermocellum improves ethanol production. *Biotechnology for Biofuels* **2018**, *11*, 1. [[CrossRef](#)]

⁸² Song, X.; Li, Y.; Wu, Y.; Cai, M.; Liu, Q.; Gao, K.; Zhang, X.; Bai, Y.; Xu, H.; Qiao, M. Metabolic engineering strategies for improvement of ethanol production in cellulolytic *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Research* **2018**, *18*, 1. [[CrossRef](#)]