



**Universidade Federal do Tocantins
Campus Universitário de Palmas
Programa de Pós-graduação em Agroenergia**

RAIANA BATISTA DA LUZ

**REUTILIZAÇÃO DE LÍQUIDOS IÔNICOS NO PRÉ TRATAMENTO DE BIOMASSA
Pennisetum purpureum (CAPIM ELEFANTE)**

Dissertação de Mestrado

**Palmas
2018**

RAIANA BATISTA DA LUZ

**REUTILIZAÇÃO DE LÍQUIDOS IÔNICOS NO PRÉ TRATAMENTO DE BIOMASSA
Pennisetum purpureum (CAPIM ELEFANTE)**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Agroenergia, da Universidade Federal do Tocantins, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Agroenergia.

Orientador: Emerson Adriano Guarda

**Palmas
2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

L979r LUZ, RAIANA BATISTA DA.
REUTILIZAÇÃO DE LÍQUIDOS IÔNICOS NO PRÉ TRATAMENTO DA
BIOMASSA *Pennisetum purpureum* (CAPIM ELEFANTE). / RAIANA
BATISTA DA LUZ. – Palmas, TO, 2018.

97 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins
– Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em
Agroenergia, 2018.

Orientador: Emerson Adriano Guarda

1. Biomassa; . 2. Líquido iônico; . 3. Hidrólise; . 4. Reciclagem; . I. Título

CDD 333.7

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer
forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte.
A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184
do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

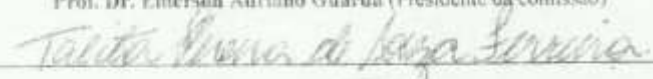
RAIANA BATISTA DA LUZ

REUTILIZAÇÃO DE LÍQUIDOS IÔNICOS NO PRÉ TRATAMENTO DA BIOMASSA
Pennisetum purpureum (CAPIM ELEFANTE)

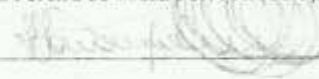
COMISSÃO EXAMINADORA:



Prof. Dr. Emerson Adriano Guarda (Presidente da comissão)



Prof. Dr. Talita Pereira de Souza Ferreira (UET) (Examinadora Externa)



Prof. Dr. Flávia Lucila Tonani de Siqueira (Examinadora Interna).

Palmas
2018

DEDICO

*A DEUS, amigo presente em todos os momentos, pela força e coragem de continuar
nos momentos mais difíceis.*

OFEREÇO

*Aos meus pais, Sandra Mara e Rael, pelo apoio e incentivo a nunca desistir;
A minha avó Araci, exemplo de mulher guerreira, pelo seu carinho e dedicação.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me proporcionar saúde, sabedoria, fé e força para vencer todos os obstáculos.

À Universidade Federal do Tocantins e ao Programa de Mestrado em Agroenergia, pela oportunidade de realizar um sonho.

Ao meu orientador prof. Emerson Adriano Guarda pelos ensinamentos, paciência e colaboração no desenvolvimento do trabalho.

À banca examinadora, prof. Flávia Lucila e Talita Pereira, que aceitaram o convite para a avaliação do trabalho.

À mãe, Sandra Mara, um exemplo de pessoa guerreira, pelo seu incentivo a nunca desistir, pela paciência, pela educação que me proporcionou e pelo amor. Ao pai, Rael Lemes, pelo apoio e pela paciência.

Ao companheiro Arthur Vinicius, pelo incentivo, apoio, carinho, amor e principalmente pela paciência de todos os dias.

Aos meus irmãos Rael e Ravel, pelo carinho e por acreditarem em mim.

Aos meu queridos amigos e parceiros do mestrado, Dawyson e Lara, pelos momentos de alegria, descontração, convívio e acima de tudo pela amizade e companheirismo.

A Larissa, Álvaro, Dener e Ana Mara pela ajuda nas atividades do laboratório e no desenvolvimento do trabalho.

A equipe do Lapeq: Mayana, Prof Patricia, Larissa, Fabricio e Álvaro pela amizade, convívio e pelos momentos de descontração e alegria.

As minhas queridas amigas Débora, Ryhara, Rayssa, Amanda, Cecilia e Isabella que são exemplos de amizade e mesmo com a distância são grandes incentivadoras.

A minha avó Araci, pelo amor, carinho, dedicação e acima de tudo, pelo exemplo de força e garra.

A companheira Thâmilla Batista, que me acolheu e ajudou no começo desta trajetória, e que apesar das diferenças sempre esteve presente nos bons momentos e nos ruins, com um bom conselho de amiga.

A todos, que de alguma forma me ajudaram a chegar até aqui, minha eterna gratidão!

RESUMO

O aumento da demanda por fontes energéticas tem despertado o interesse, em investir no uso e na produção de fonte renováveis. O etanol, é um grande exemplo, pois além de representar uma fonte alternativa de energia, diminui a emissão de gases poluentes e é uma fonte renovável, podendo ser produzida a partir da cana-de-açúcar, soja, mamona, milho, dentre outros. Neste contexto surge o etanol lignocelulósico, produzido a partir de celulose presente na biomassa lignocelulósica. Entretanto, um dos principais gargalos que envolvem a produção de etanol lignocelulósico é a desconstrução da parede celular, liberando os polissacarídeos como fonte de açúcares fermentescíveis, de forma eficiente e economicamente viável, em um processo de pré-tratamento. Dentre os diversos tipos de pré-tratamento destaca-se o com líquido iônicos (LIs), apresentando-se como uma promissora alternativa para a desconstrução da parede vegetal, melhorando a acessibilidade da celulose e melhorando o rendimento em açúcares fermentescíveis. Neste trabalho foram avaliados cinco líquidos iônicos: brometo de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺] [Br⁻]); acetato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺] [Ac⁻]), cloreto de metil-imidazol ([HMIM⁺] [Cl⁻]); Hidrogenossulfato de 1-butyl-3-metil-imidazol [BMIM⁺] [HSO₄⁻] e Tetrafluorborato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺] [BF₄⁻]); em dois ciclos de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica *Pennisetum purpureum* (capim elefante). Verificou-se que a biomassa capim-elefante pré-tratada por LIs permaneceu altamente digerível, apresentando bons rendimentos de hidrólise enzimática (44-72%) após o segundo ciclo de utilização do LI. Isto reduz gastos em uma etapa considerada dispendiosa na produção de glicose a partir de biomassa, demonstrando que sua aplicação em escala industrial é extremamente atrativa do ponto de vista econômico.

Palavras-chaves: Biomassa; Líquido iônico; Hidrólise; Reciclagem.

ABSTRACT

The increased demand for energy sources has attracted interest in investing in the use and production of renewable sources. Ethanol is a great example, as it represents an alternative source of energy, reduces the emission of polluting gases and is a renewable source, and can be produced from sugarcane, soybeans, castor beans, corn, among others. In this context, lignocellulosic ethanol appears, produced from cellulose present in the lignocellulosic biomass. One of the main factors that involves the production of lignocellulosic ethanol is a deconstruction of the cell wall, liberating the polysaccharides as a source of fermented sugars, in an efficient and economically viable way, in a pretreatment process. Among the different types of previous treatment, with the solution for the deconstruction of the vegetal wall, improving the accessibility of the cellulose and improving the yield in fermentable sugars. In this case, 1-n-butyl-3-methyl-imidazole bromide ([BMIM +] [Br]); 1-n-butyl-3-methyl-imidazole acetate ([BMIM +] [Ac-]), methyl imidazole chloride ([HMIM +] [Cl-]); 1-Butyl-3-methyl-imidazole hydrogen sulfate [BMIM +] [HSO₄-] and 1-n-butyl-3-methyl-imidazole Tetrafluorborate ([BMIM +] [BF₄-]); In two cycles of pre-treatment of the lignocellulosic biomass *Pennisetum purpureum* (elephantgrass). It was verified that the elephantgrass biomass pretreated by LIs remained highly digestible, presenting good enzymatic hydrolysis yields (44-72%) after the second cycle of LI use. This reduces expenditures in one step towards biomass production, demonstrating its application on an industrial scale and extremely attractive from the economic point of view.

Keywords: Biomass; Ionic liquid; Hydrolysis; Recycling.

LISTA DE FIGURA

| | |
|---|--------------------------------------|
| Figura 1. Perspectivas de crescimento da demanda mundial de energia primária (WEO 2013) | 26 |
| Figura 2. (a) estrutura da celulose, (b) estrutura da lignina (SUN et al., 2009), e (c) estrutura da Glucomanana (hemicelulose) (FENGEL et al., 1984) Erro! Indicador não definido. | |
| Figura 3. Representação esquemática da produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica (SANTOS,2012). | 31 |
| Figura 4. Gráfico da produção de biocombustíveis por países em 2014 (Boletim Mensal dos Combustíveis Renováveis, Ed. Nº 89). | 33 |
| Figura 5. Gráfico da Produção de etanol Carburante (MAPA e ANP, 2017) | 33 |
| Figura 6. Gráfico do Consumo de etanol Carburante (MAPA e ANP; 2017) | 34 |
| Figura 7. Classificação e subclassificação de pré-tratamentos (Adaptado de BUNDHOO; MOHEE e HASSAN; 2015) | 36 |
| Figura 8. Composição dos Lis. (Fonte: Adaptado de LIU et al. 2012). Erro! Indicador não definido. | |
| Figura 9. Possíveis aplicações de líquidos iônicos (BRANCO, 2015). | 38 |
| Figura 10. Síntese do ([BMIM] [Br]) | Erro! Indicador não definido. |
| Figura 11. Síntese do ([BMIM] [H3CCOO]) | 43 |
| Figura 12. Síntese do Bmim HSO4..... | 43 |
| Figura 13. Síntese dos Líquidos Iônicos | 49 |
| Figura 14. Espectro do infravermelho de tetrafluorborato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM ⁺] [BF ₄ ⁻]) | 48 |
| Figura 15. Espectro do infravermelho de tetrafluorborato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM ⁺] [BF ₄ ⁻]) recuperado..... | 49 |
| Figura 16. Pré-tratamento com LI; Aspectos físicos da biomassa após o pré-tratamento com Lis..... | 52 |
| Figura 17. Inibidores furfural e HMF presentes na amostra de capim elefante hidrolisada..... | 57 |
| Figura 18. Espectro do infravermelho do brometo de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br])..... | 78 |
| Figura 19. Espectro do infravermelho do acetato de 1-n-butil-3-metil-imidazol | |

| | |
|--|----|
| ([BMIM] [H3CCOO]) | 78 |
| Figura 20. Espectro do infravermelho do cloreto de n-metil-imidazol [HMIm][Cl] | 79 |
| Figura 21. Espectro do infravermelho do hidrogenossulfato de 1-butil-3-metil-imidazol [Bmim HSO4] | 79 |
| Figura 22. Curva padrão da Glicose | 79 |
| Figura 23. Padrão dos açúcares por Cromatografia Líquida | 80 |
| Figura 24. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com brometo de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]) [1] | 80 |
| Figura 25. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com brometo de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]) [2] | 81 |
| Figura 26. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com brometo de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]) [3] | 81 |
| Figura 27. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com acetato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H3CCOO]) [1] | 82 |
| Figura 28. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com acetato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H3CCOO]) [2] | 82 |
| Figura 29. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com acetato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H3CCOO]) [3] | 83 |
| Figura 30. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com cloreto de n-metil-imidazol [HMIm][Cl] [1] | 83 |
| Figura 31. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com cloreto de n-metil-imidazol [HMIm][Cl] [2] | 84 |
| Figura 32. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com cloreto de n-metil-imidazol [HMIm][Cl] [3] | 84 |
| Figura 33. Cromatograma do capim elefante pré-tratada com hidrogenossulfato de 1-butil-3-metil-imidazol [Bmim HSO4] [1] | 85 |
| Figura 34. Cromatograma do capim elefante pré-tratada com hidrogenossulfato de 1-butil-3-metil-imidazol [Bmim HSO4] [2] | 85 |
| Figura 35. Cromatograma do capim elefante pré-tratada com hidrogenossulfato de 1-butil-3-metil-imidazol [Bmim HSO4] [3] | 86 |
| Figura 36. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM+] [BF4])[1] | 86 |
| Figura 37. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM+] [BF4])[2] | 87 |

| | |
|--|----|
| Figura 38. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com 1-n-butil-3-metilimidazol ([BMIM+][BF ₄]) [3]..... | 87 |
| Figura 39. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com brometo de 1-n-butil-3-metilimidazol ([BMIM][Br]) reutilizado [1]..... | 88 |
| Figura 40. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com brometo de 1-n-butil-3-metilimidazol ([BMIM][Br]) reutilizado [2]..... | 88 |
| Figura 41. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com brometo de 1-n-butil-3-metilimidazol ([BMIM][Br]) reutilizado [3]..... | 89 |
| Figura 42. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com acetato de 1-n-butil-3-metilimidazol ([BMIM][H ₃ CCOO]) reutilizado [1]..... | 89 |
| Figura 43. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com acetato de 1-n-butil-3-metilimidazol ([BMIM][H ₃ CCOO]) reutilizado [2]..... | 90 |
| Figura 44. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com cloreto de n-metilimidazol [HMIm][Cl] reutilizado[1]..... | 90 |
| Figura 45. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com cloreto de n-metilimidazol [HMIm][Cl] reutilizado[2]..... | 91 |
| Figura 46. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com cloreto de n-metilimidazol [HMIm][Cl] reutilizado [3]..... | 91 |
| Figura 47. Cromatograma do capim elefante pré-tratada com hidrogenossulfato de 1-butil-3-metilimidazol [Bmim HSO ₄] reutilizado[1]..... | 92 |
| Figura 48. Cromatograma do capim elefante pré-tratada com hidrogenossulfato de 1-butil-3-metilimidazol [Bmim HSO ₄] reutilizado[2]..... | 92 |
| Figura 49. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com 1-n-butil-3-metilimidazol ([BMIM+][BF ₄]) reutilizado [1]..... | 93 |
| Figura 50. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com 1-n-butil-3-metilimidazol ([BMIM+][BF ₄]) reutilizado [2]..... | 93 |
| Figura 51. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com 1-n-butil-3-metilimidazol ([BMIM+][BF ₄]) reutilizado [3]..... | 94 |
| Figura 52. Curva padrão do furfural..... | 94 |
| Figura 53. Padrão do furfural por cromatografia líquida..... | 95 |
| Figura 54. Padrão do HMF por cromatografia líquida..... | 95 |
| Figura 55. Espectro do infravermelho do acetato de 1-n-butil-3-metilimidazol ([BMIM][H ₃ CCOO]) recuperado..... | 95 |
| Figura 56. Espectro do Infravermelho do brometo de 1-n-butil-3-metilimidazol | |

| | |
|--|----|
| ([BMIM] [Br]) recuperado | 96 |
| Figura 57. Espectro do infravermelho do com cloreto de n-metil-imidazol [HMIm][Cl] recuperado | 97 |
| Figura 58. Espectro do infravermelho do hidrogenossulfato de 1-butil-3-metil-imidazol [Bmim HSO ₄] recuperado | 97 |

LISTA DE FLUXOGRAMA

| | |
|---|----|
| Fluxograma 1. Determinação de teor de celulose | 45 |
| Fluxograma 2. Pré-tratamento e hidrolise das amostras..... | 48 |

LISTA DE TABELA

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Matriz de consumo final de energia, por setor (% e tep) | 24 |
| Tabela 2. Matriz energética de transportes (% e tep) | 25 |
| Tabela 3. Dados do setor de biocombustíveis nos anos de 2011 e 2012 no Brasil .. | 26 |
| Tabela 4. Dados do setor de biocombustíveis nos anos de 2013 e 2014 no Brasil .. | 27 |
| Tabela 5. Dados do setor de biocombustíveis nos anos de 2014 e 2015 no Brasil .. | 27 |
| Tabela 6. Teor de celulose da biomassa in natura | 52 |
| Tabela 7. Teor de celulose após pré-tratamento com LIs | 51 |
| Tabela 8. Concentrações de glicose obtidas após 72 horas de hidrolise enzimática do capim-elefante pré-tratadas com Lis. | 53 |
| Tabela 9. Rendimento de hidrolise obtido após 72 horas de hidrolise enzimática utilizando capim-elefante pré-tratado com LIs..... | 54 |
| Tabela 10. Concentração de inibidores após 72 horas de hidrolise do capim elefante pré-tratado com LIs | 57 |
| Tabela 11. Rendimento do HMF após 72 horas de hidrolise do capim elefante pré-tratado com LIs..... | 57 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|---|----|
| Gráfico 1. Concentração de celulose da biomassa capim elefante in natura e após os pré-tratamentos | 52 |
| Gráfico 2. Concentrações de Glicose obtidas após 72 horas de hidrólise enzimática utilizando capim-elefante pré-tratado com LIs..... | 53 |
| Gráfico 3. Rendimento de hidrólise hidrólise obtido após 72 horas de hidrólise enzimática utilizando capim-elefante pré-tratado com LIs..... | 54 |
| Gráfico 4. Rendimento de HMF..... | 58 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---|--|
| [BMIM⁺] [Br⁻] | Brometo de 1- <i>n</i> -butil-3-metil-imidazol |
| [BMIM⁺] [Ac⁻] | Acetato de 1- <i>n</i> -butil-3-metil-imidazol |
| [HMIM⁺] [Cl⁻] | Cloreto de metil-imidazol |
| [BMIM⁺] [BF₄⁻] | Tetraflourborato de 1- <i>n</i> -butil-3-metil-imidazol |
| [BMIM⁺] [HSO₄⁻] | Hidrogenossulfato de 1- <i>n</i> -butil-3-metil-imidazol |
| C – H | Ligação simples entre carbono e hidrogênio |
| C = C | Ligação dupla entre carbono e carbono |
| C – N | Ligação simples entre carbono e nitrogênio |
| C = N | Ligação dupla entre carbono e nitrogênio |
| CH₂ | Metileno |
| CH₃ | Metil |
| Lis | Líquidos iônicos |
| LI | Líquido iônico |
| FTIR | Infra vermelho com transformada de Fourie |
| MAPA | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |
| UFT | Universidade Federal do Tocantins |
| TEP | Toneladas equivalentes de petróleo |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 20 |
| 2 | OBJETIVOS | 22 |
| 2.1 | Objetivo Geral | 22 |
| 2.2 | Objetivos Específicos..... | 22 |
| 3 | REVISÃO DA LITERATURA | 23 |
| 3.1 | Crise Energética | 24 |
| 3.2 | Biocombustíveis..... | 25 |
| 3.3 | Biomassa Lignocelulósica..... | 28 |
| 3.3.1 | Capim Elefante..... | 32 |
| 3.4 | Bioetanol..... | 32 |
| 3.5 | Pré-tratamento | 34 |
| 3.5.1 | Pré-Tratamento com Líquido Iônico | 36 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 42 |
| 4.1 | Síntese dos líquidos iônicos..... | 42 |
| 4.1.1 | Brometo de 1- <i>n</i> -butil-3-metil-imidazol ([BMIM ⁺] [Br ⁻]) | 42 |
| 4.1.2 | Acetato de 1- <i>n</i> -butil-3-metil-imidazol ([BMIM ⁺] [Ac ⁻]) | 42 |
| 4.1.3 | Cloreto de metil-imidazol [HMIM ⁺] [Cl ⁻]..... | 43 |
| 4.1.4 | Síntese do Hidrogenossulfato de 1- <i>n</i> -butil-3-metil-imidazol [BMIM ⁺] [HSO ₄ ⁻]..... | 43 |
| 4.1.5 | Síntese do Tetraflourborato de 1- <i>n</i> -butil-3-metil-imidazol ([BMIM ⁺] [BF ₄ ⁻]) | 43 |
| 4.2 | Preparação da biomassa | 44 |
| 4.3 | Teor de celulose | 44 |
| 4.4 | Pré-tratamento das amostras..... | 46 |
| 4.5 | Hidrólise enzimática da celulose obtida | 46 |

| | | |
|-----|---|----|
| 4.6 | Quantificação dos açúcares fermentescíveis..... | 47 |
| 4.7 | Determinação da concentração de inibidores..... | 47 |
| 4.8 | Reutilização dos LIs..... | 47 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÕES | 49 |
| 5.1 | Síntese dos Líquidos iônicos | 49 |
| 5.2 | Reutilização dos Líquidos iônicos | 51 |
| 5.3 | Teor de celulose | 52 |
| 5.4 | Hidrolise enzimática da celulose obtida | 54 |
| 6 | CONCLUSÃO..... | 63 |
| 7 | SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS..... | 64 |
| 8 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 65 |
| | APÊNDICE | 78 |

1 INTRODUÇÃO

A instabilidade do petróleo, juntamente com a crescente preocupação da sociedade em relação a emissão de gases do efeito estufa e a preservação ambiental, impulsionaram pesquisas para uma maior produção e maior consumo de combustíveis que sejam renováveis e sustentáveis (PACHECO, 2011; SANTOS, 2012). A utilização do etanol teve um crescimento considerável nos últimos anos, devido ao seu baixo custo quando comparado com a gasolina, principalmente depois do desenvolvimento de carros movidos a álcool e a gasolina (MAPA, 2007). O Brasil possui vantagem na produção de etanol em relação aos outros países, pois apresenta melhores tecnologias, disponibilidade de recursos naturais, clima e solo para o cultivo de matéria-prima (GOÉS, 2008).

É importante salientar que atualmente o etanol é produzido a partir de matérias-primas que contenham açúcar e amido, como cana-de-açúcar e milho. Por outro lado, existe um grande esforço da comunidade científica para o desenvolvimento de novos processos economicamente viáveis para o aproveitamento da biomassa lignocelulósica para a produção de etanol lignocelulósico (etanol de segunda geração), como dos resíduos agrícolas, resíduos florestais, bem como o capim elefante (SANTOS, 2012).

Dentre as etapas envolvidas na fabricação do etanol lignocelulósico, tem-se o pré-tratamento, que provoca uma desconstrução na estrutura química de ligações naturais da biomassa lignocelulósica (SOKHANSANJ, 2005). Para obtenção em larga escala do etanol lignocelulósico, entretanto, alguns entraves são observados no pré-tratamento da matéria prima. Este requer a utilização de tecnologias complexas, com rotas físicas, químicas ou biológicas para separação dos açúcares e remoção da lignina, onerando o processo produtivo (MENDES-CARVALHO, 2014). Visto que esta etapa é essencial para a eficácia de rotas tecnológicas, a fim de torna-las viáveis economicamente, buscam-se alternativas que tornem este processo rentável e viável.

Dentre os diversos tipos de pré-tratamento destaca-se o com líquido iônicos (LIs), por possuir a capacidade de desconstrução da parede vegetal melhorando a acessibilidade da celulose (FUKAYA, 2008). Desta forma, espera-se que a utilização de líquidos iônicos resulte em processos menos danosos, melhore o rendimento da hidrólise e recuperação de açúcares, além de possibilitar o reaproveitamento do

mesmo, resultando em uma maior economia ao processo (LI et al., 2008).

Neste sentido, a busca por processos tecnológicos mais viáveis justifica o presente trabalho, voltado para aplicação de novos conceitos no pré- tratamento para obtenção de etanol lignocelulósico, como também buscar solucionar a problemática em torno da aplicação direta de líquidos iônico (LIs), bem como seu reaproveitamento.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Verificar a eficiência da reutilização de líquidos iônicos no pré-tratamento da biomassa lignocelulósica, a partir do rendimento da hidrólise.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar diferentes LI, com potencial de desconstrução da celulose;
- Quantificar a celulose antes e após o pré-tratamento a fim de avaliar sua eficiência;
- Recuperar o Lis após o pré-tratamento
- Determinar o percentual de hidrólise da biomassa submetidas aos diferentes líquidos iônicos;
- Determinar a eficiência da reutilização dos Lis após um segundo ciclo de pré tratamento.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Segundo Szczodrak e Fiedurek (1996), o aumento da população acarreta problemas, como aumento da demanda de energia, o maior consumo de alimentos e o aumento significativo na emissão de poluição. Na contramão disto tudo, a ciência vem tentando solucionar essa problemática, levando os países a buscarem a independência energética de modo menos poluente possível, como o aproveitamento da energia proveniente de biomassa.

Para Gnansounou, Bedniaguine e Dauriat (2005) quando se compara o custo do bioetanol com o da gasolina fóssil, nota-se que o do bioetanol é maior, e ações governamentais de implantação de incentivos especiais se fazem necessárias, como incentivos na tributação.

Já De Fraiture, Giordano e Liao (2008) afirmam que o desenvolvimento e a promoção dos biocombustíveis são geridos pelo setor agrícola, quando o correto seria ser gerido pelo setor energético. Desta maneira, necessita-se de subsídios e programas governamentais, ações essas que representariam perdas nos lucros para o governo, porém se os altos preços do petróleo se sustentarem, e paralelamente termos uma maior eficácia tecnológica, os biocombustíveis serão uma alternativa de baixo custo em pouco tempo.

Dentre as biomassas disponíveis para a produção de energia, destaque-se a lignocelulósica, por ser resíduo, ter grande disponibilidade e seu viés econômico é favorável, ou seja, possui baixo custo (PANDEY; SOCCOL, 2000). A utilização da mesma vem se mostrando como uma boa alternativa na produção do etanol, combustível menos poluente quando comparado à gasolina (MACHADO, 2009).

Compostos lignocelulósicos podem ser classificados em quatro grupos com base no tipo de recurso:

- ✓ Resíduos florestais;
- ✓ Resíduos sólidos urbanos;
- ✓ Resíduos de papel;
- ✓ Resíduos de culturas.

Resíduos desses tipos estão sendo investigados, como a palha de arroz (YAO et al., 2007), palha de milho (WANG et al., 2009), o bagaço de palma (CARVALHO

et al 2007), capim elefante (SANTOS, 2012), entre outros.

3.1 Crise Energética

A produção de energia é tida como um diferencial na trajetória evolutiva da humanidade, atuando diretamente no desenvolvimento social e econômico da sociedade, que com o passar do tempo diversificou suas fontes de obtenção da mesma (KATWAL e SONI, 2003). A energia de origem fóssil (petróleo, carvão mineral e gás natural) é a mais utilizada mundialmente, sendo que uma parcela significativa desse consumo está relacionada ao setor de transporte (LINDFELDT e WESTERMARK, 2009), como pode ser observado na Tabela 1.

| Setor | Brasil | | OCDE | | Outros(*) | | Mundo | |
|----------------------------|------------|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|
| | 1973 | 2016 | 1973 | 2016 | 1973 | 2016 | 1973 | 2016 |
| Indústria | 29,8 | 33,0 | 31,1 | 20,5 | 33,1 | 33,1 | 30,6 | 27,1 |
| Transporte | 25,0 | 32,4 | 22,6 | 30,8 | 10,8 | 17,1 | 21,5 | 25,6 |
| Setor Energético | 3,3 | 10,3 | 8,5 | 8,4 | 5,8 | 8,2 | 7,2 | 8,0 |
| Outros Setores | 38,7 | 18,6 | 30,6 | 31,7 | 46,6 | 33,5 | 35,0 | 32,2 |
| Uso Não-Energético | 3,1 | 5,8 | 7,2 | 8,6 | 3,8 | 8,1 | 5,7 | 7,9 |
| Total (%) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Total – milhões tep | 76 | 255 | 3.076 | 3.933 | 1.691 | 5.897 | 5.027 | 10.464 |
| % do total | 1,5 | 2,4 | 61,2 | 37,6 | 33,6 | 56,3 | | |

Tabela 1. Matriz de consumo final de energia, por setor (% e tep)

*Exceto Brasil e países da OCDE

Fonte: MME; 2017

Observa-se que nas últimas décadas, principalmente após a crise do petróleo em meados de 1973, que diversos países e segmentos tem-se empenhado em possibilitar o uso de biomassas como alternativa que substituam os combustíveis de origem fóssil, em virtude da possibilidade de esgotamento do mesmo. Além disso, os combustíveis de origem fóssil emitem grandes quantidades de poluentes, como dióxido de carbono e enxofre (gases do efeito estufa). A utilização de biomassas para produção de etanol poderá possibilitar uma segurança energética, uma vez que

uma matriz energética mais diversificada amplia o horizonte de possibilidades de saída de crises deste setor. O Brasil é um dos países com maior presença de bioenergia líquida na matriz de transportes, com a participação de etanol e biodiesel de 19,9%. Nos países da OCDE, a bioenergia participava com apenas 3,9% em 2016, percentual muito influenciado pelo consumo de etanol dos Estados Unidos e nos demais países, a participação é pouco expressiva. Nesse sentido tem crescido o uso de energias renováveis, e dentre estas, encontram-se os biocombustíveis, como pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2. Matriz energética de transportes (% e tep)

| Setor | Brasil | | OCDE | | Outros(*) | | Mundo | |
|----------------------------|------------|------------|-------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| | 1973 | 2016 | 1973 | 2016 | 1973 | 2016 | 1973 | 2016 |
| Derivados de petróleo | 98,7 | 78,0 | 95,7 | 93,1 | 83,2 | 90,2 | 94,4 | 92,5 |
| Gás natural | 0,0 | 1,9 | 2,4 | 2,2 | 0,4 | 7,0 | 1,6 | 3,7 |
| Carvão Mineral | 0,01 | 0,0 | 1,1 | 0,01 | 13,5 | 0,3 | 3,0 | 0,1 |
| Eletricidade | 0,3 | 0,2 | 0,8 | 0,7 | 2,8 | 1,7 | 0,9 | 1,0 |
| Bioenergia | 0,9 | 19,9 | 0,0 | 3,9 | 0,08 | 0,7 | 0,06 | 2,7 |
| Total (%) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Total – milhões tep | 19 | 83 | 695 | 1.213 | 183 | 1.008 | 1.081 | 2.683 |
| % do mundo | 1,8 | 3,1 | 64,3 | 45,2 | 16,9 | 37,6 | | |

*Exceto Brasil e países da OCDE

Fonte: MME; 2017

3.2 Biocombustíveis

Escobar et al (2009) afirma que de toda a energia primária consumida no mundo, 80% é proveniente de combustíveis fósseis, como pode ser visto na Figura 1, sendo que desse percentual 58% é consumida exclusivamente pelo setor de transportes, que contribui substancialmente para as emissões de gases do efeito estufa (GEE).

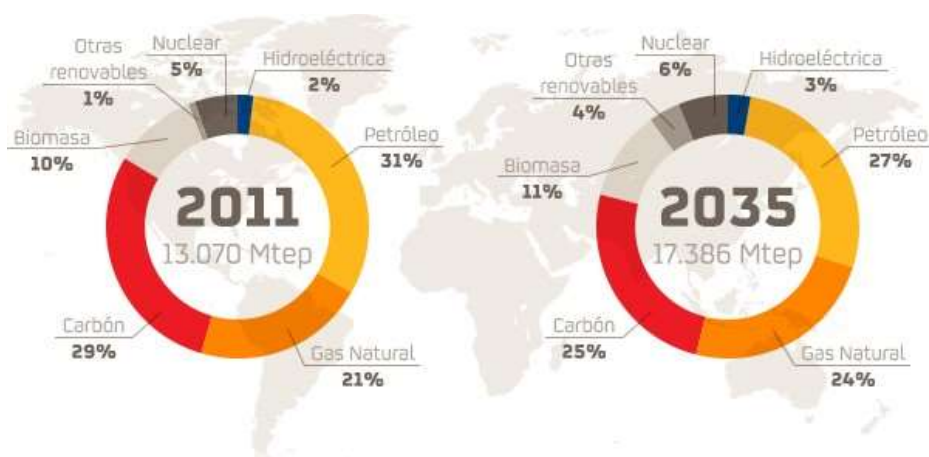


Figura 1. Perspectivas de crescimento da demanda mundial de energia primária (WEO 2013)

A busca pela redução de emissões de gases de efeito estufa vem aumentando, e com o passar do tempo busca-se cada vez mais por alternativas ambientalmente e economicamente viáveis a essa realidade (MABEE; GREGG E SADDLER; 2005). Essa busca aliada ao esgotamento contínuo dos combustíveis de origens fósseis e aumento do consumo mundial de energia (Tabela 1), culminam em uma fonte de energia que seja, renovável, sustentável, eficiente, com baixas emissões de gases nocivos e de baixo custo (SINGH et al; 2010). Frente a toda essa problemática, os biocombustíveis vem sendo explorados a fim de substituir os combustíveis fósseis (GOMEZ; CLARE e MCQUEEN-MASON; 2008 e DELFORT et. al 2008), aumentando cada vez mais a produção, como pode ser observado nas tabelas 3, 4 e 5.

Tabela 3. Dados do setor de biocombustíveis nos anos de 2011 e 2012 no Brasil

| Números do setor de biocombustíveis (2011 e 2012) | Etanol | | Biodiesel | |
|---|--------|------|-----------|------|
| | 2011 | 2012 | 2011 | 2012 |
| Produção (safras 2011/12 e 2012/13 – milhões de m ³) | 22,8 | 23,5 | n.a. | n.a. |
| Produção (ano civil – milhões de m ³) | 22,9 | 23,5 | 2,7 | 2,7 |
| Consumo combustível (milhões de m ³) | 20,6 | 19,0 | 2,7 | 2,7 |
| Exportações (milhões de m ³) | 1,96 | 3,1 | - | - |
| Importações (milhões de m ³) | 1,15 | 0,5 | - | - |
| Capacidade de produção instalada nominal (milhões de m ³) | n.d. | n.d. | 6,0 | 6,9 |

Fonte: Adaptado do Boletim Mensal dos Combustíveis Renováveis, Ed. Nº 72

Tabela 4. Dados do setor de biocombustíveis nos anos de 2013 e 2014 no Brasil

| Números do setor de biocombustíveis (2013 e 2014) | Etanol | | Biodiesel | |
|---|--------|-------|-----------|------|
| | 2013 | 2014 | 2013 | 2014 |
| Produção (safras 2013/14 e 2014/15 – milhões de m ³) | 27,7 | 28,65 | n.a. | n.a. |
| Produção (ano civil – milhões de m ³) | 27,8 | 27,9 | 2,9 | 3,4 |
| Consumo combustível (milhões de m ³) | 23,9 | 24,4 | 2,9 | 3,4 |
| Exportações (milhões de m ³) | 2,9 | 1,39 | 0,04 | 0,04 |
| Importações (milhões de m ³) | 0,13 | 0,44 | - | - |
| Capacidade de produção instalada nominal (milhões de m ³) | n.d. | n.d. | 7,5 | 7,5 |

Fonte: Adaptado do Boletim Mensal dos Combustíveis Renováveis, Ed. Nº 89

Tabela 5. Dados do setor de biocombustíveis nos anos de 2014 e 2015 no Brasil

| Números do setor de biocombustíveis (2014 e 2015) | Etanol | | Biodiesel | |
|---|--------|------|-----------|------|
| | 2014 | 2015 | 2014 | 2015 |
| Produção (safras 2014/15 e 2015/16 – milhões de m ³) | 28,2 | 30,4 | n.a. | n.a. |
| Produção (ano civil – milhões de m ³) | 27,9 | 29,9 | 3,4 | 3,9 |
| Consumo combustível (milhões de m ³) | 24,4 | 28,9 | 3,4 | 3,9 |
| Exportações (milhões de m ³) | 1,3 | 1,7 | 0,04 | 0,01 |
| Importações (milhões de m ³) | 0,4 | 0,5 | - | - |
| Capacidade de produção instalada nominal (milhões de m ³) | n.d. | n.d. | 7,5 | 7,3 |

Fonte: Adaptado do Boletim Mensal dos Combustíveis Renováveis, Ed. Nº 106

Os pesquisadores sabem que os combustíveis de primeira geração trazem vantagens em relação à emissão dos gases de efeito estufa quando comparados aos fósseis, porém, são de certa forma céticos com esses biocombustíveis, pois preocupam-se com os impactos ambientais, competição alimentar e saldo de carbono (LAURSEN, 2006).

Entretanto, os biocombustíveis de segunda geração podem acabar com esse ceticismo, já que se utilizam de biomassa lignocelulósica, naturalmente abundante

(SIMPSON-HOLLEY M, HIGSON A, EVANS G, 2007). A produção desse tipo de biocombustível, porém, ainda não se tornou comercial, apesar de projetos pilotos já estarem sendo desenvolvidos, pois para produção em larga escala tem-se que superar alguns gargalos técnicos, como o pré-tratamento, logística de distribuição, interação entre governo-empresas-universidades (EISBERG, 2006).

Os biocombustíveis de segunda geração ou avançados são produzidos por biomassa lignocelulósica e essa matéria-prima vegetal tem em sua estrutura polissacarídeos. Por sua vez, possuem grandes quantidades de açúcares (PAULY; KEEGSTRA, 2008), que por meio da hidrólise e fermentação resultam em bioetanol.

3.3 Biomassa Lignocelulósica

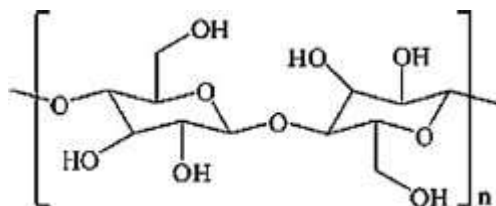
O etanol combustível já é produzido em larga escala, porém busca o ensejo de utilização de matéria-prima de maior disponibilidade e menor custo, já que a mesma representa em torno de 40% a 70% do custo total da produção (QUINTERO et al., 2008).

Desta busca surge a biomassa lignocelulósica, que atende aos requisitos mínimos (grande disponibilidade e baixo custo) para ser atraente à produção de bioetanol (CHENG et al., 2008). De acordo com Guedes (2010), a biomassa lignocelulósica pode ser encontrada em resíduos agrícolas, agroindustriais e florestais, além de materiais desperdiçados como o bagaço e a palha de cana, o sabugo e a palha de milho, as palhas de trigo e arroz, os restos de madeira processada e entre outros.

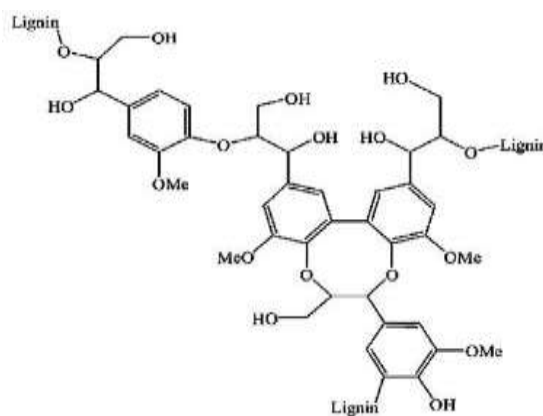
A composição química da biomassa lignocelulósica, geralmente contém 35-50% de celulose, seguido de 20-35% de hemicelulose, 10-25% de lignina e uma pequena quantidade de cinzas e extrativos. Vale ressaltar que esta composição química varia em função do tipo de biomassa (SANTOS,2012).

De acordo com Brandt et al., (2010) esses materiais têm estruturas complexas e composições onde predominam três componentes principais: celulose, hemicelulose e lignina, como pode ser observado na Figura 2.

(a)



(b)



(c)

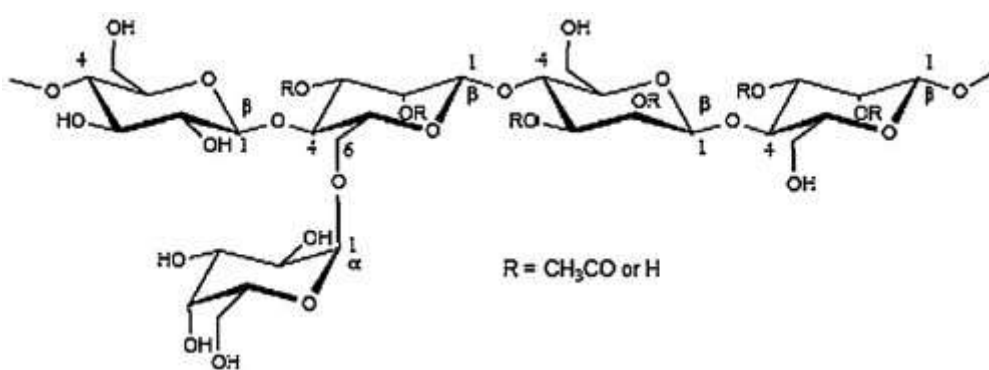


Figura 2. (a) estrutura da celulose, (b) estrutura da lignina (SUN et al., 2009), e (c) estrutura da Glucomanana (hemicelulose) (FENGEL et al., 1984)

- I. Celulose é um polímero linear de celobiose, é rígido e difícil de clivar (de polimerizar), na hidrólise é quebrada em moléculas de açúcar livre obtendo a glucose (seis átomos de carbono).
- II. A hemicelulose é constituída por cadeias curtas altamente ramificadas de vários açúcares, principalmente xilose (cinco átomos de carbono), arabinose (cinco átomos de carbono), galactose, glucose e manose (seis átomos de carbonos). Ele também contém pequenas quantidades de não-açúcares, tais como grupos acetila (LYND, 1996). A hemicelulose, por causa da sua natureza amorfa ramificada, pode ser facilmente hidrolisada.
- III. A lignina é um grande complexo polimérico de grupos fenilpropano e metoxi e está presente em toda a biomassa lignocelulósica. Consequentemente todo processo de produção de etanol terá lignina como um resíduo.

A biomassa lignocelulósica pode ser convertida em etanol, por hidrólise da celulose seguida de fermentação, além de processos químicos (US DOE; 2003). Essa produção é feita em dois processos: primeiro a hidrólise da celulose e hemicelulose em carboidratos, sendo que esta hidrólise pode ser feita por hidrólise ácida ou enzimática e segundo a fermentação por leveduras para a produção do etanol de segunda geração. O processo de fermentação e hidrólise do composto lignocelulósico é mais complexo do que simplesmente a fermentação do açúcar. Na hidrólise a parte celulósica da biomassa é convertida em açúcares, e a fermentação converte esses açúcares em etanol (Figura 3) (RABELO, 2010; SANTOS, 2012).

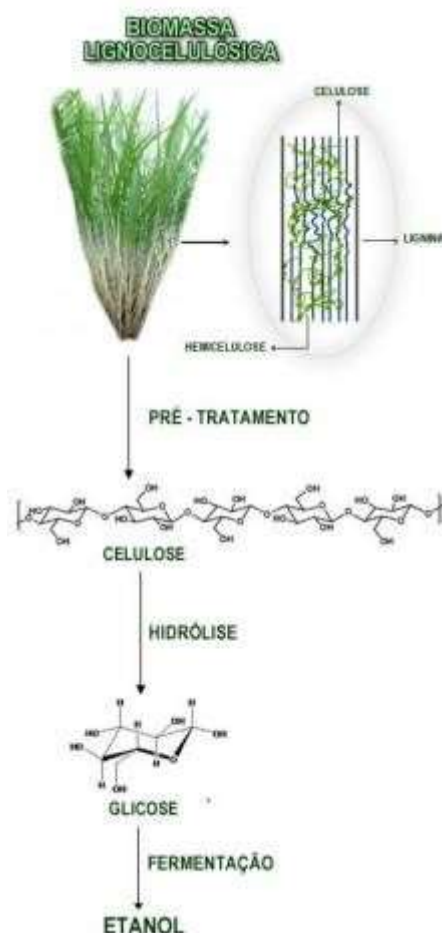


Figura 3. Representação esquemática da produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica (SANTOS,2012).

Ramakrishnan (2010) afirma que a produção de açúcar fermentável de biomassa lignocelulósica envolve vários processos:

- I. Redução de tamanho;
- II. Pré-tratamento químico para a remoção de lignina;
- III. Recuperação de resíduos celulósicos;
- IV. Hidrólise da celulose.

Diversas biomassas lignocelulósicas são estudadas como potenciais matérias-primas para produção de etanol de segunda geração, como: bagaço e palha de cana, palha e sabugo de milho, capim elefante, palha de trigo, palha e casca de arroz, palha de algodão, serragem de madeira (CASTRO; 2006) dentre outras.

3.3.1 Capim Elefante

O capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) é uma *paniceae* forrageira tropical triploide de origem africana. Trata-se de uma cultura semelhante a cana-de-açúcar (VICENTE, 2007), que apresenta alta capacidade de produção e acúmulo de matéria seca de qualidade (URQUIAGA et al., 2006), que associado aos elevados teores de celulose (28,2%) e lignina (11,9%) (MORAIS et al., 2009) se mostra como potencial para a produção de energia (SAMSON et al., 2005).

O capim-elefante apresenta alta produção de biomassa (40 t - 45 t de massa seca anuais) e excelente capacidade adaptativa a diferentes condições edafoclimáticas e sistemas de manejo cultural (MARAFON et al., 2014), grande produtividade em menor extensão de área para produção, menor ciclo produtivo, melhor fluxo de caixa, possibilidade de mecanização total, energia renovável e maior assimilação de carbono (MENEGOL, 2012), entretanto é sensível ao frio e ao fogo, e não possui capacidade de tolerar solos úmidos (BORGES et al., 2016).

Segundo Fontoura et al. (2014), o capim-elefante é uma gramínea perene, que não necessita de replantio após cada colheita e atinge 9-16 metros de altura com 2 cm de diâmetro dentro de 180 dias. Seu uso está associado com a pastagem, especialmente na alimentação de gado leiteiro, além disso, o Brasil apresenta cerca de 30 milhões de hectares com pastagens degradadas e com baixa produtividade para a alimentação animal que poderiam ser utilizados na produção de capim-elefante para a obtenção de biocombustíveis.

3.4 Bioetanol

Desde o século XIX o etanol é produzido através de matérias lignocelulósicas, porém, somente nas últimas duas décadas essa alternativa se voltou para o mercado de combustível. As áreas relevantes de plantio e de colheita de cana-de-açúcar para a produção de etanol foram muito expandidas nas últimas três décadas, especialmente nos últimos anos, mostrando que etanol pode ser produzido em praticamente todas as regiões do mundo, como pode ser visto nos dados no Boletim Mensal dos Combustíveis Renováveis, representado pela Figura 4.

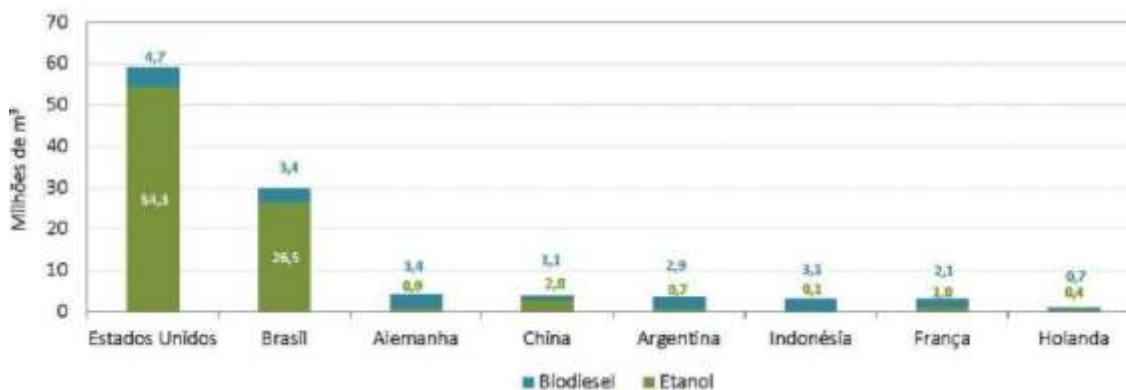


Figura 4. Gráfico da produção de biocombustíveis por países em 2014 (Boletim Mensal dos Combustíveis Renováveis, Ed. Nº 89).

Dentre os biocombustíveis, o etanol já é produzido em larga escala (Figura 5) e é facilmente aplicável em veículos com motores de combustão interna. Sua adição aumenta o poder de octanagem (medida de resistência do combustível à pressão sofrida na câmara de combustão do motor) e reduz a emissão de monóxido de carbono (CO) dentre outros (LYND, 1996).

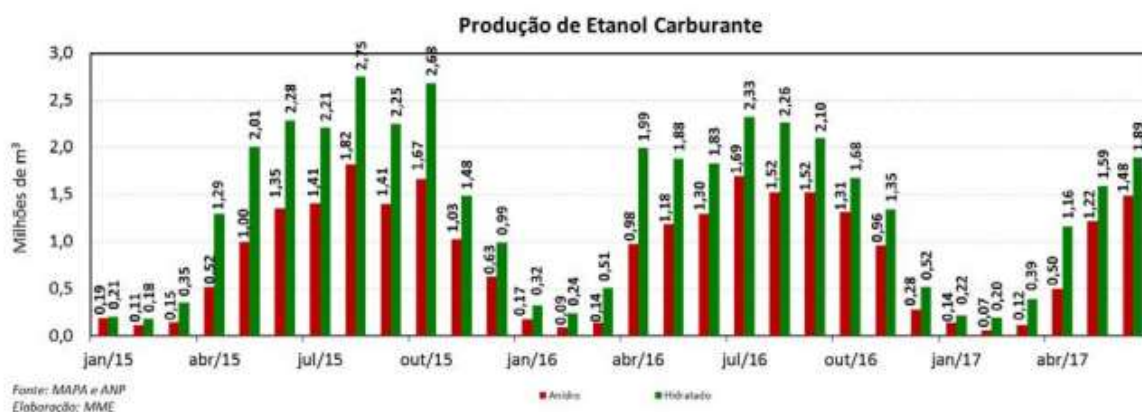


Figura 5. Gráfico da Produção de etanol Carburante (MAPA e ANP, 2017)

Além de ser produzido em larga escala, o etanol já possui seu consumo consolidado, como mostra a Figura 6.

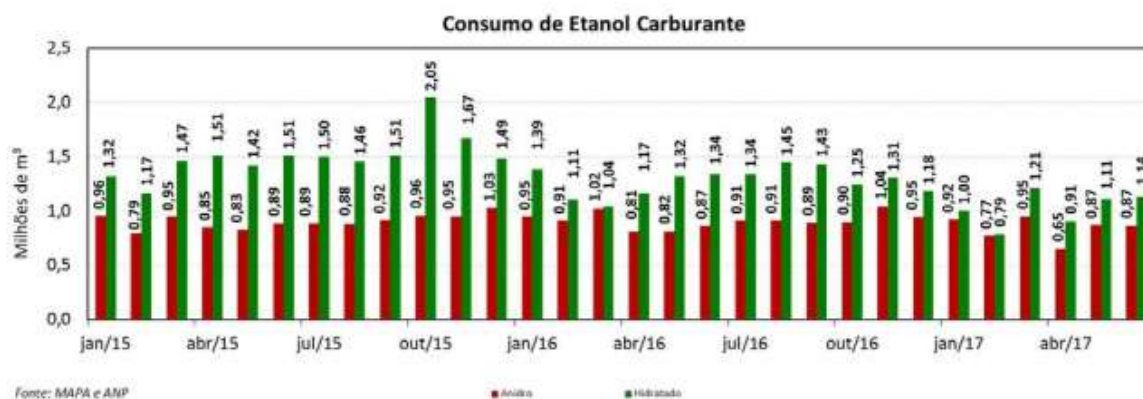


Figura 6. Gráfico do Consumo de etanol Carburante (MAPA e ANP; 2017)

Uso de biocombustíveis representa uma das formas mais efetivas de reduzir as emissões líquidas de gases de efeito estufa associadas ao consumo energético no setor de transporte, fazendo com que este tipo de indústria venha se estruturando e se tornando em um grande potencial novo no mercado (MACEDO, 2005).

O grande gargalo para a produção de etanol lignocelulósico é “chegar” aos açúcares fermentescíveis, pois esta etapa envolve hidrólise das fibras de celulose e hemicelulose, e paralelamente a quebra da lignina (material que circunda a fibra), tornando o procedimento mais caro quando se compara ao modo tradicional. Essa conversão em açúcares fermentescíveis só ocorre mediante processos térmicos, químicos ou enzimáticos (LASER et al., 2002). Esses conjuntos de técnicas são denominados de pré-tratamento.

3.5 Pré-tratamento

É necessário submeter a biomassa a um pré-tratamento, para facilitar a hidrólise da biomassa. Assim, ao final facilita-se a conversão em açúcares fermentáveis, consequentemente possibilitando o objetivo principal, que é a produção de bioetanol. Portanto, pode-se dizer que para aumentar o rendimento de hidrólise, um passo de pré-tratamento é necessário, para que “amoleça” a biomassa e rompa as estruturas celulares. Ainda, segundo Laser et al (2002) essa é a etapa mais onerosa do processo devido sua complexidade.

Dentre os tipos de pré-tratamento disponíveis, tem-se o químico, físico, biológico e o combinado, porém, o químico tem mostrado melhor resposta (RABELO; MACIEL FILHO; COSTA, 2009).

A Figura 7, traz de modo geral, as rotas químicas que abrangem o pré-

tratamento com líquidos iônicos, ácidos, bases (CUI et al., 2009; CUI e SHEN, 2012; PATTRA et al, 2008), e ozonólise (WU et al., 2013a, 2013b); ao passo que as rotas físicas utilizam-se de pré-tratamento mecânico, térmico (WANG et al, 2003a, 2003b), micro-ondas (ABDELHALIM et al, 2012) e irradiação de ultrassom (LEANO et al., 2012). Já as rotas biológicas incluem o uso de enzimas e fungos (CUI et al., 2010). Nesse sentido diversos estudos têm utilizado de combinações de rotas, visando o aumento do rendimento, sendo que as combinações que surtiram maiores efeitos foram as rotas químicas juntamente com as físicas (WONG et al., 2014).

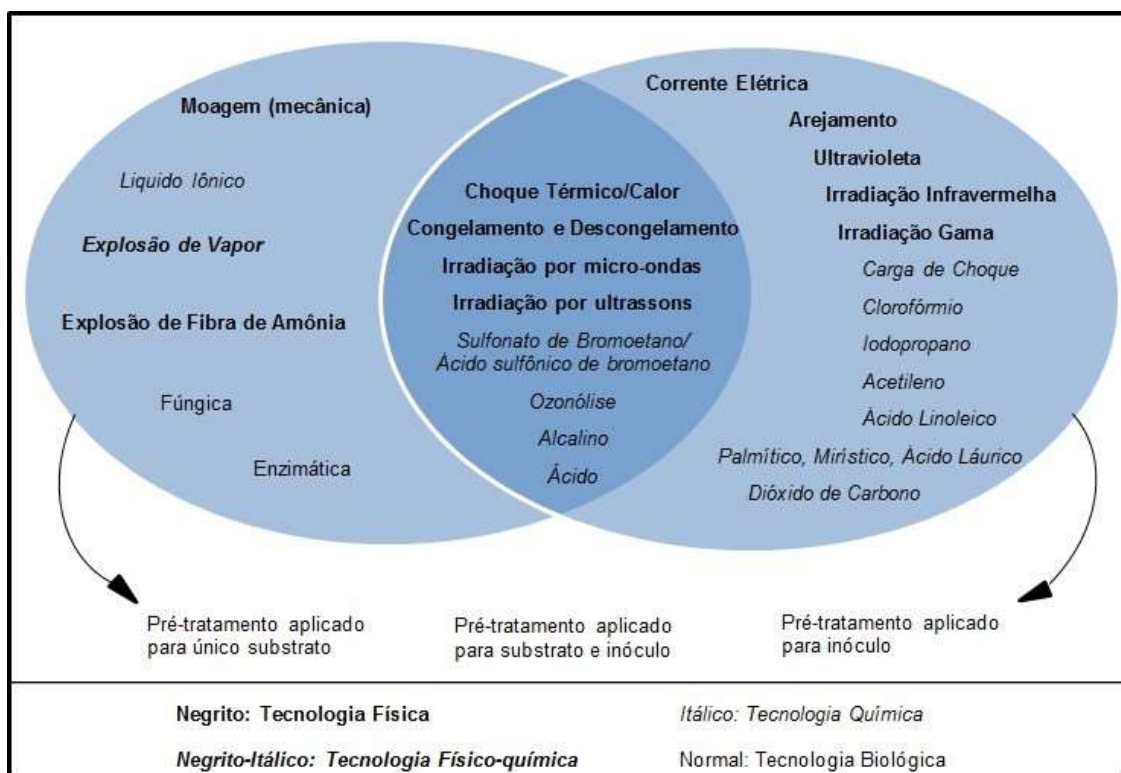


Figura 7. Classificação e subclassificação de pré-tratamentos (Adaptado de BUNDHOO; MOHEE e HASSAN; 2015)

Comparações entre rotas de pré-tratamento não são cabíveis, já que existem diversos fatores e condições que podem alterar a relação resposta/rendimento das rotas. Deste modo cada substrato/biomassa tem uma resposta a determinadas condições a elas imposta nessa etapa (SINGH E WAHID, 2015).

Entre as várias possibilidades de pré-tratamento encontra-se a com líquido iônico, que se tem mostrado bastante promissora devido a suas características e que mais recentemente vem sendo estudada como uma alternativa ambientalmente correta (BOSE et al., 2010). Segundo Fukaya (2008) o pré-tratamento que envolve a utilização de líquidos iônicos é promissor, pois eles são solventes voláteis e capazes de desconstruir a fibra, permitindo uma maior acessibilidade a celulose.

3.5.1 Pré-Tratamento com Líquido Iônico

O pré-tratamento tem como objetivo diminuir a cristalinidade da celulose, aumentar a área de superfície da biomassa, remover a hemicelulose e “quebrar” a lignina. O tratamento prévio faz com que a celulose fique mais acessível para as enzimas de modo que a conversão de polímeros de carboidratos em açúcares

fermentáveis possa ser realizada mais rapidamente e com maior rendimento. A recalcitrância da estrutura lignocelulósica é um dos principais empecilhos para a produção viavelmente econômica de bioetanol. A abordagem técnica para superar esse aspecto foi o pré-tratamento das matérias-primas de biomassa para remover as barreiras e tornar mais acessível a celulose as enzimas hidrolíticas para a conversão em glucose (ZHU et al, 2008)

Em termos gerais, os LIs são compostos constituídos por íons que em temperatura ambiente ou próxima, possuem estado de agregação líquido. Erroneamente, quando descobertos, foram definidos como sais fundidos, porém esse tipo de composto possui alto ponto de fusão e viscosidade, aliada a um aspecto corrosivo; diferenciando dos LIs que são líquidos a temperatura ambiente (GUARDA, 2009). Em linhas gerais os LIs são sais fundidos ecológicos, e que representam uma nova classe de solventes que têm polaridades altas e um ponto de fusão baixo (LEE, 2011).

De modo geral, no que se refere à definição de LIs, os artigos diferem-se entre si, porém o consenso está em torno de que são compostos por íons e o estado de agregação, é líquido a temperaturas ambientes ou próximas. E se tratando de íons, que se refere a cátions e ânions Liu et al (2011), definiu os LIs como substâncias compostas de cátions orgânicos e ânions orgânicos ou inorgânicos, como exemplificado na Figura 8.

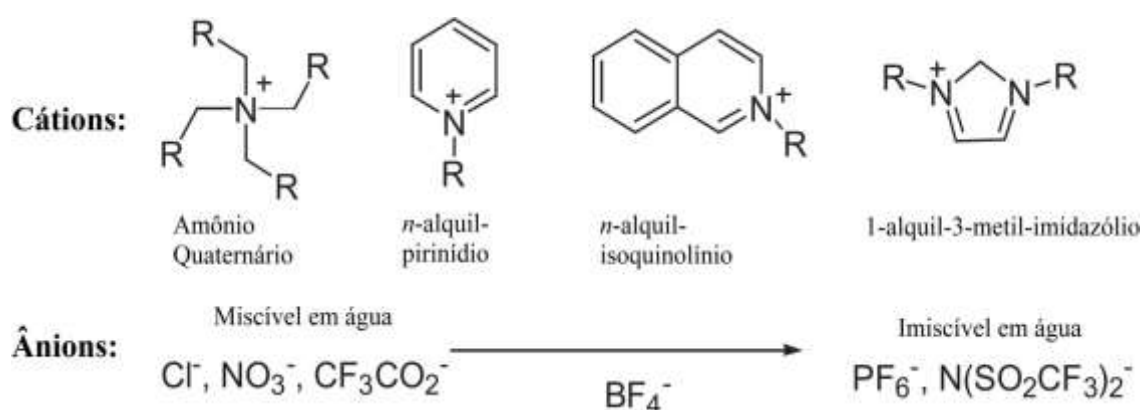


Figura 8. Composição dos LIs. (Fonte: Adaptado de LIU et al. 2012).

Estes compostos vêm sendo aplicados no pré-tratamento de biomassa lignocelulósica como solventes promissores (FU et al., 2010), e de acordo com Nguyen et al., (2010) proporcionam várias características atraentes em comparação com os métodos convencionais. Os mesmo têm sido utilizados não apenas como solvente para a celulose e de material lignocelulósico, mas também como meio para a realização *in situ* de derivatização de celulose (HEINZE et al., 2005; STEGMANN et al., 2008). Algumas áreas onde os LIs tem tido uma aplicação relevante são demonstradas na figura 9.



Figura 9. Possíveis aplicações de líquidos iônicos (BRANCO, 2015).

Para facilitar o acesso a celulose, os líquidos iônicos são considerados solventes verdes, muitas vezes exibindo baixa pressão de vapor e com eficiente poder de desconstrução (ROGERS E SEDDON, 2003). Suas principais características são:

- ✓ Não são inflamáveis;
- ✓ Estabilidade térmica;
- ✓ Estabilidade química;
- ✓ Baixa pressão de vapor;
- ✓ Dissolve diversos compostos orgânicos e inorgânicos;
- ✓ Síntese simples e viável;

- ✓ Possibilidade de reutilização.

Existe, porém, vários parâmetros que afetam o processo de pré- tratamento da biomassa com líquidos iônicos, como por exemplo: as propriedades físico-químicas do líquido iônico, o tempo e a temperatura de reação, proporção de biomassa e de líquido iônico, o tipo de biomassa e o conteúdo de água da amostra, destacando-se as propriedades físico-químicas do líquido iônico (ZAKRZEWSKA et al., 2010). Maki-Arvela et al. (2010) mencionou que várias propriedades do líquido iônico têm efeitos significativos sobre o pré-tratamento do material lignocelulósico.

Deve-se considerar, ainda, que o líquido iônico têm propriedades ajustáveis de acordo com a seleção de ânion e cátion, conseqüentemente, pode obter LIs muito eficazes como solvente para biomassa lignocelulósica e seus constituintes, porém vários requisitos têm de ser considerados, para serem utilizados na dissolução da celulose. Como: o LI deve possuir um baixo ponto de fusão, não deve provocar a decomposição de celulose; deve ser estável e armazenável, sua recuperação deverá ser fácil, deverá ser não tóxico e ser relativamente barato, bem como ser um bom solvente para a celulose (HERMANUTZ et al., 2008). Indo além, o LI escolhido deve tolerar quantidades relativamente elevadas de água, uma vez que a secagem extensa dos biomateriais antes da dissolução não é economicamente viável.

Em torno de 40 LIs tem sido avaliados na dissolução de celulose, os mesmos podem conter diversos cátions, sendo que os baseados em imidazol, piridina e em trietilamônio foram identificados como cátions muito promissores no processo de dissolução da celulose (D'ANDOLA et al., 2008).

Fukaya et al., (2008) afirma que líquidos iônicos que possuem baixas viscosidades como o acetato, facilitam a dissolução de celulose a temperaturas inferiores. De modo que já existem várias patentes que relatam o uso de líquidos iônicos para a dissolução da celulose e madeira (D'ANDOLA et al., 2008; MYLLYMÄKI e AKSELA, 2008; ARGYROPOULOS, 2008).

Por fim, o LI adequado para o pré-tratamento da biomassa deverá ter a capacidade de desconstruir a biomassa a baixas temperaturas, possuindo baixa viscosidade, com estabilidade química e nenhuma decomposição da biomassa, além de baixo custo e de ser facilmente processado, sendo não tóxico para enzima e para a fermentação microbiana, todas essas características aliadas a facilidade de regeneração e reciclagem do mesmo (HOLM e LASSI, 2011; MAKI- ARVELA et al., 2010).

3.5.1.1 Reciclagem de Líquido Iônico

Embora os líquidos iônicos se apresentem como solventes eficazes e promissores para o pré-tratamento de biomassa lignocelulósica, o seu alto custo limita comercialização desta tecnologia para seu uso no pré-tratamento de biomassa (KLEIN-MARCUSCHAMER et al., 2011). Felizmente, os líquidos iônicos podem ser facilmente recuperados e reutilizados, resultando em uma queda significativa no custo de produção (LOPES et al., 2013; NINOMIYA et al., 2015; SHILL et al., 2011).

Segundo Li et al. (2008) a dissolução de biomassa lignocelulósica em LIs é relativamente fácil e os mesmos são reciclados com sucesso. A recuperação do LI é de suma importância uma vez que após a regeneração da celulose com água ou mistura de água/acetona, o solvente adicionado ao líquido iônico deve ser evaporado antes da sua reutilização no próximo ciclo de extração (SUN et al., 2009).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Química Ambiental e de Biocombustíveis (LAPEQ) da Universidade Federal do Tocantins. Foram utilizados capim elefante como biomassa lignocelulósica e cinco diferentes tipos de LIs: Brometo de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺] [Br⁻]); Acetato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺] [Ac⁻]); Cloreto de metil-imidazol ([HMIM⁺][Cl⁻]); Hidrogenossulfato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺][HSO₄⁻]) e Tetraflourborato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺] [BF₄⁻]).

4.1 Síntese dos líquidos iônicos

4.1.1 Brometo de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺] [Br⁻])

A síntese do brometo de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺] [Br⁻]), foi realizada com a mistura de *n*-bromo-butano e 1-metil-imidazol adicionados na razão molar de 1,1: 1 em um balão de fundo chato sob agitação por 48h em temperatura ambiente. Após o tempo de reação será obtido o LI na sua forma pura, conforme representada pela Figura.

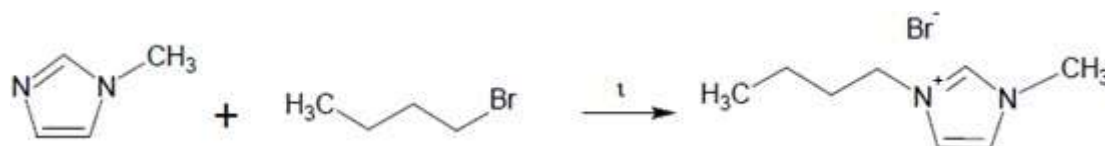


Figura 10. Síntese do ([BMIM⁺] [Br⁻])

4.1.2 Acetato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺] [Ac⁻])

O ([BMIM⁺] [Br⁻]) obtido na etapa anterior foi misturado com hidróxido de potássio sólido (KOH) com quantidades equimolares de cloroformio, e a reação foi agitada à temperatura ambiente durante 10 horas. O KBr precipitado foi separado por filtração, e o filtrado foi evaporado para deixar o produto bruto ([BMIM] [OH]), que foi lavada com éter e seca a 90° C durante 10 horas para preparar o líquido iônico.

A solução de ([BMIM] [OH]) foi então neutralizada com ácido acético. Após a remoção da água por evaporação, o líquido foi completamente lavado com éter dietílico para obtenção de um líquido iônico viscoso.

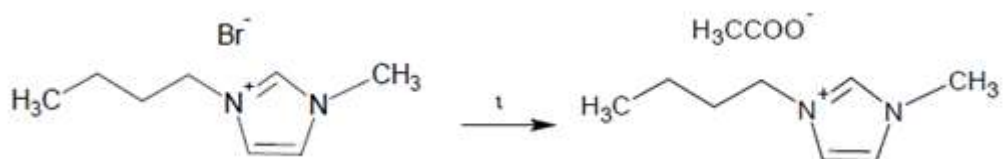


Figura 11. Síntese do ([BMIM⁺] [Ac⁻])

4.1.3 Cloreto de metil-imidazol [HMIM⁺] [Cl⁻]

O cloreto de metil-imidazol [HMIM⁺] [Cl⁻], foi preparado por adição de uma quantidade equimolar do ácido clorídrico gota a gota ao metil imidazol. A mistura foi agitada durante 4 a 5 h a 60 ° C para assegurar que todo o metil imidazol reaja. Em seguida, removeu-se a água a pressão reduzida para se obter um líquido viscoso incolor ou um sólido.

4.1.4 Síntese do Hidrogenossulfato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol [BMIM⁺] [HSO₄⁻]

A síntese de hidrogenossulfato de 1-butil-3-metil-imidazólio ([BMIM⁺] [HSO₄⁻]) foi realizado conforme o trabalho de Cortés et al. (2010). Uma amostra de brometo de 1-butil-3-metil-imidazólio (30 g) em água destilada (30 mL) foi dissolvida. A solução foi adicionada em ácido sulfúrico (H₂SO₄) e a solução resultante foi aquecida a 100 °C durante 4 h. A solução foi evaporada por destilação a 90-120° C durante 8 horas para remover a água, deixando um líquido viscoso.



Figura 12. Síntese do [BMIM⁺] [HSO₄⁻]

4.1.5 Síntese do Tetraflourborato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺] [BF₄⁻])

A síntese do ([BMIM⁺] [BF₄⁻]) foi realizada com a mistura de brometo de 1-*n*-

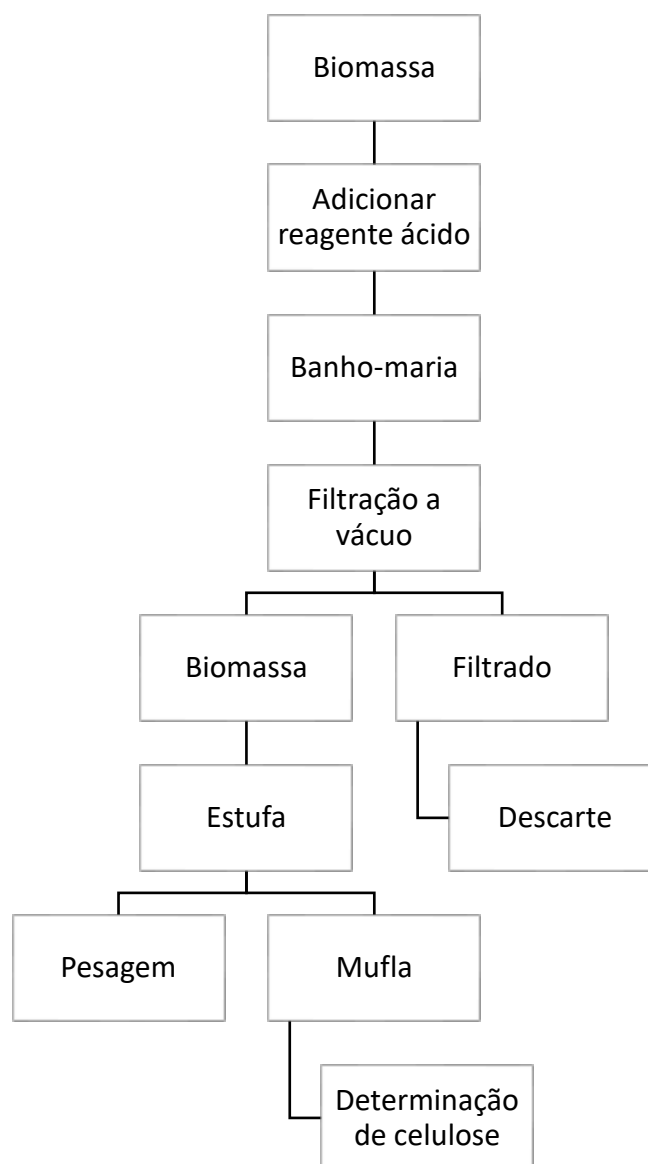
butil-3-metil-imidazol com tetrafluoroborato de sódio na razão molar de 1:1 na presença de clorofórmio como solvente. A reação foi conduzida por 24h a 40°C sobre agitação magnética (DUPONT et al., 2002). Após o término da reação o produto foi lavado com éter etílico por três vezes, sendo seco sob vácuo.

4.2 Preparação da biomassa

A biomassa capim-elefante foi moída e peneirada afim de se obter partículas uniformes. Logo após foi submetida a estufa a 120°C durante 48 horas, para a remoção da umidade.

4.3 Teor de celulose

Para a quantificação de celulose, utilizou-se em torno de 0,5 gramas de biomassa seca que foi colocada em tubo de ensaio, sobre a qual será adicionado 3 ml de um reagente ácido (composto por 72,73% de ácido acético glacial; 18,18% de água destilada e 9,09% de ácido nítrico). Logo após a adição do reagente ácido, os tubos são levados ao banho-maria por 30 minutos. Após o transcorrer desse tempo será adicionado álcool etílico e deixará esfriar a temperatura ambiente. Após o resfriamento filtra-se a vácuo, sendo lavado por etanol, tolueno quentes e finalmente com éter sulfúrico. Após a filtração o papel de filtro com a amostra será colocado em um cadinho (previamente calcinado) e será levado a estufa a 105°C por 4 horas. Passado o tempo, o sistema (cadinho; papel de filtro e amostra) será pesado e em seguida será colocado em mufla a 550°C por 15 minutos (Adaptado de PINTO et al 2013).



Fluxograma 1. Determinação de teor de celulose

Após todo o procedimento descrito acima, será utilizada a equação abaixo a fim de determinar os teores de celulose presente na biomassa que será utilizada.

Equação:

$$Celulose (\%) = \frac{[(Mi - P - Mf)] \times 100}{mA}$$

Onde:

Mi = massa do cadinho + papel + amostra;

P = massa do papel de filtro (papel quantitativo);

Mf = massa do cadinho+ cinzas;

mA = massa da amostra.

4.4 Pré-tratamento das amostras

O pré-tratamento das amostras consistiu-se na mistura de 0,1g de biomassa previamente preparada e 3 mL de LI. A seguir foi levada a mistura para a estufa a 100°C por 2 horas. Ao final do tempo foi filtrado a vácuo, lavando o sólido com água destilada. O resíduo (água e líquido iônico) foi submetido ao processo de destilação para a recuperação do LI e na biomassa recuperada procedeu-se a hidrólise enzimática.

4.5 Hidrólise enzimática da celulose obtida

Realizou-se a hidrólise do capim elefante previamente pré-tratado em solução tampão citrato de sódio na incubadora, sob as condições de 150 rpm, a 50° C e pH 5,0. Após a hidrólise as amostras foram colocadas em banho-maria a 100 °C para inativar as enzimas e conservadas em freezer. Os rendimentos de hidrólise foram calculados em relação à quantidade de celulose presentes nas biomassas, para isso considerou-se o total de celulose na amostra e sua massa inicial, os valores máximos obtidos da concentração de glicose e o fator de conversão de glicose em celulose, tal como Silva (2013); Lu et al., (2013); Oliveira (2010). Os cálculos de rendimento de hidrólise de cada amostra foram feitos através da seguinte equação:

$$RH(\%) = \frac{[Gli]}{[Cel]} 0,9 \times 100$$

Sendo:

RH (%): rendimento da hidrólise;

[Gli.]: concentração de glicose da biomassa (g/L);

[Cel.]: concentração de celulose da biomassa (g/L);

0,9: fator de conversão da celulose.

4.6 Quantificação dos açúcares fermentescíveis

Logo após a hidrólise enzimática, foi realizado a quantificação dos açúcares redutores do filtrado, através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), adaptadas do método de BALL et al., (2011), utilizando o equipamento marca Agilent, Modelo: 1260 infinity II e uma coluna Agilent Hi-Plex Ca, 7.7 x 300 mm, 8 µm (PL1170-6810), temperatura de 85 °C, água deionizada como fase móvel em um fluxo de 0,6 mL/minuto, com volume de injeção de 20µL em um detector de índice de refração com corridas de 20 minutos. Antes de serem injetadas no cromatógrafo, as amostras foram centrifugadas a 14000 rpm e filtradas. As concentrações foram calculadas a partir de curvas de calibração obtidas com soluções padrão.

4.7 Determinação da concentração de inibidores

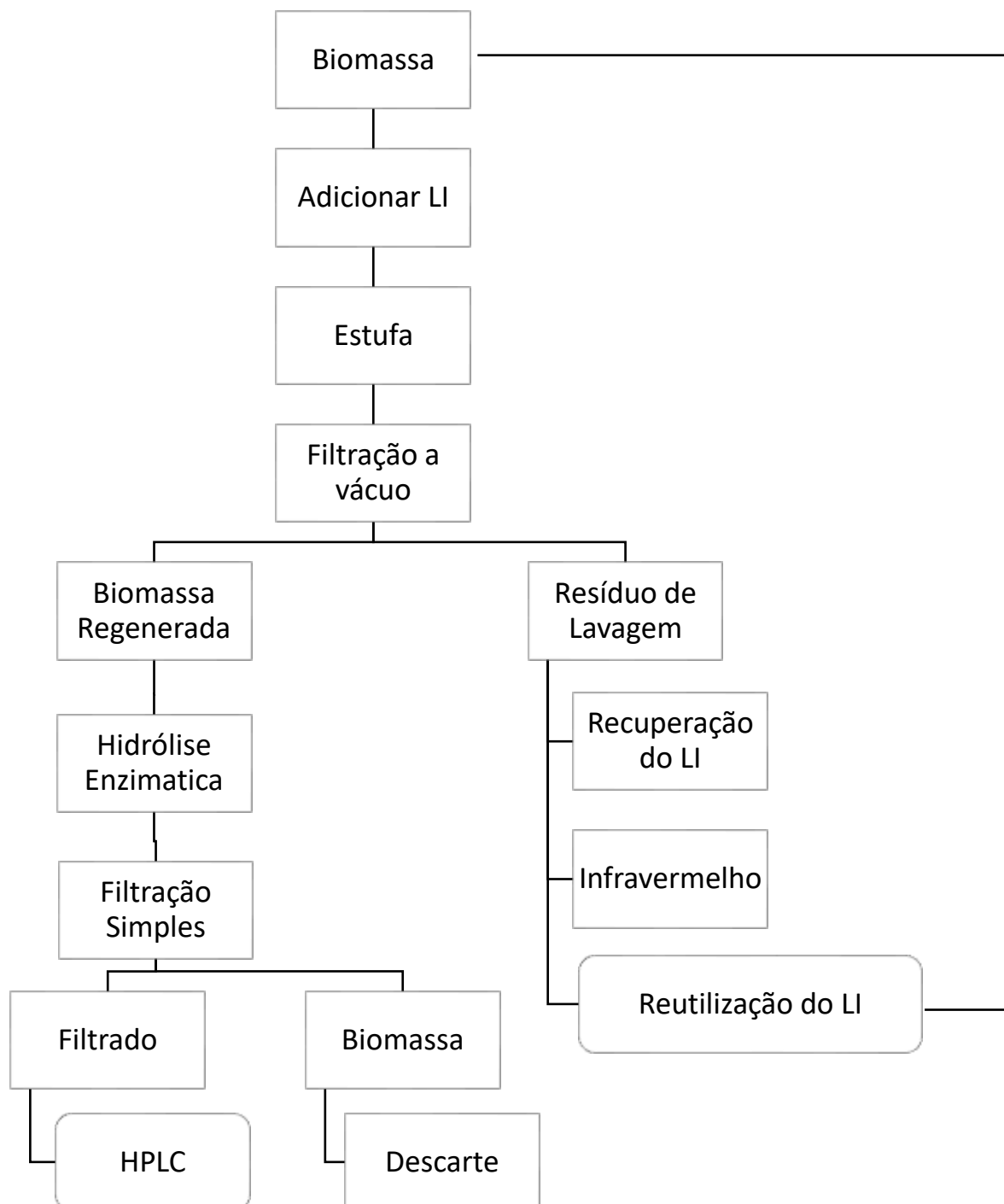
O procedimento de determinação do teor dos inibidores furfural e 5-hidroximetilfurfural (HMF), foi realizado utilizando-se a técnica de cromatografia líquida de alta performance –CLAE. Utilizou-se o equipamento marca Agilent, Modelo: 1260 infinity II e um detector ultravioleta (G7117C 1260 DAD HS) com dois comprimentos de ondas ($\lambda=276$ e 320 nm), fluxo de 1,0 mL/min; a eluição foi isocrática com uma solução de acetonitrila/água (1:8 com 1% de ácido acético) e coluna Zorbax Eclipse Plus C18 (4,6 x 250 mm). Para a determinação da concentração de HMF e Furfural presente nas amostras, utilizou-se a curva de calibração dos padrões destas substâncias.

4.8 Reutilização dos LIs

Após a utilização dos líquidos iônicos nas reações de pré-tratamento, estes foram recuperados por evaporação do solvente (água) sob vácuo por 48h. A recuperação dos LIs foi confirmada por espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) em espectrômetro Agilent Cary 630 FTIR.

Posteriormente a recuperação dos LIs, estes serão reutilizados em novo

processo de pré-tratamento. A eficiência do líquido iônico reutilizado será acompanhada de acordo com o percentual de açúcar produzido na hidrólise.



Fluxograma 2. Pré-tratamento e hidrólise das amostras.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Síntese dos Líquidos iônicos

Após a síntese dos LIs (Figura 13), submeteu-se os mesmos a análise por FTIR (Apêndice), afim de se verificar o êxito do procedimento. Esta técnica possibilita a caracterização dos principais grupos funcionais das moléculas e sua disposição estrutural. Os grupos funcionais e estruturas são identificados por meio dos picos de transmitância obtidos pela energia das ligações que é absorvida na região do infravermelho.



Figura 13. Síntese dos Líquidos Iônicos

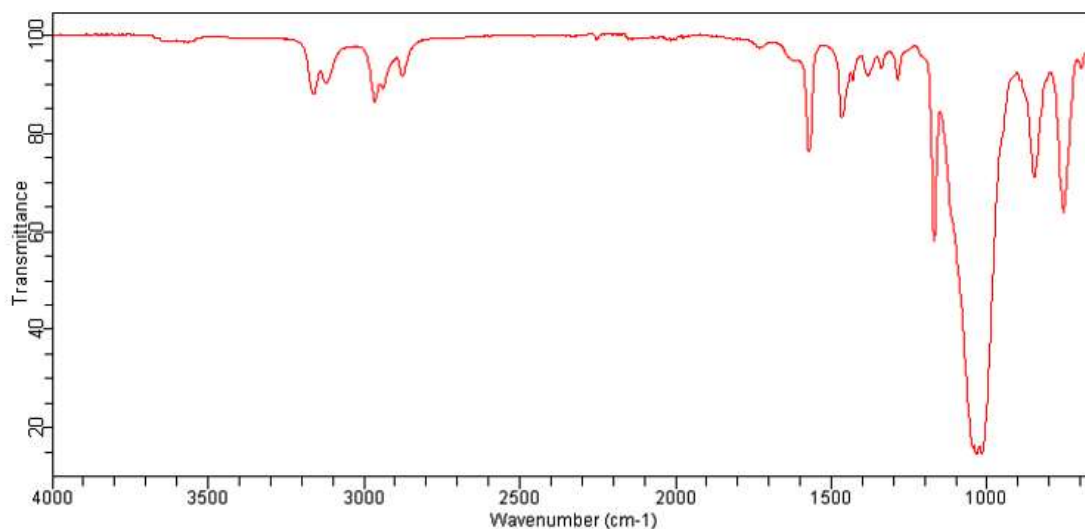


Figura 14. Espectro do infravermelho de tetraflourborato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺] [BF₄⁻])

A figura representa o espectro do infravermelho do tetraflourborato de 1-*n*-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺] [BF₄⁻]) que é semelhante do descrito por Oliveira (2013) onde os picos a 3160 cm⁻¹ referem-se a ligação C-H de aromáticos; 2964cm⁻¹ e 2887 cm⁻¹ correspondem a ligação C-H dos alifáticos. Os picos 1571cm⁻¹ e 1465cm⁻¹ referem-se a deformação axial da ligação C=C, o pico 1378 cm⁻¹ refere-se a ligação C-N de aromáticos e o pico 1169cm⁻¹ C-N de alifáticos, os picos em 847cm⁻¹ e 753cm⁻¹ ao CH fora do plano do grupo RCH=CR₂ e o pico em 1033cm⁻¹ corresponde a ligação BF.

Para a síntese do Hidrogenossulfato de 1-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺] [HSO₄⁻]) (Apêndice) a presença de água no líquido iônico sintetizado neste trabalho é observada a partir do pico em 3374 cm⁻¹; o pico de forte intensidade em 1458 cm⁻¹ ocorre pela presença das vibrações simétricas de CH₃- e CH₂- da cadeia alquila na ramificação do anel de imidazol advinda da quaternização para obtenção do ([BMIM⁺] [HSO₄⁻]).

O restante dos espectros do infravermelho dos líquidos iônicos (Apêndice) possui certa semelhança, em que as bandas compreendidas entre 3146 e 2870 cm⁻¹, corresponde aos picos característicos do anel imidazólico, como ligação C-H em aromáticos. Nesta mesma região encontram-se também picos correspondentes aos estiramentos C-H, dos grupos CH₂ entre 2960 e 2957 cm⁻¹ e dos grupos CH₃ entre 2875 e 2870 cm⁻¹ da cadeia lateral do cátion imidazólico. Observou-se também que

os estiramentos do anel imidazólico, C = C entre 1464 e 1458 cm^{-1} e estiramentos C = N entre 1560 e 1570 cm^{-1} , além de deformações C – H e N - H compreendida entre 1300 – 1380 cm^{-1} e talvez o pico mais característico que é o que corresponde a vibração do anel imidazólico entre 1162 - 1166 cm^{-1} (SILVERSTEIN e WEBSTER; 2000); a presença de água neste trabalho também é observada a partir do pico em 3409 cm^{-1} para [BMIM⁺] [Br⁻],[BMIM⁺] [Ac⁻] e [HMIM⁺] [Cl⁻].

5.2 Reutilização dos líquidos iônicos

A desconstrução de lignocelulose com líquidos iônicos só será bem-sucedida se o líquido iônico puder ser reciclado, devido ao alto custo do solvente. A recuperação foi realizada através de lavagem com água e a reutilização de LIs para o pré-tratamento foi feita somente com líquido iônico reciclado. Para confirmar a viabilidade dos LIs, os mesmos foram submetidos novamente a análise do FTIR, após recuperação, para constatar que suas características originais permaneceram.

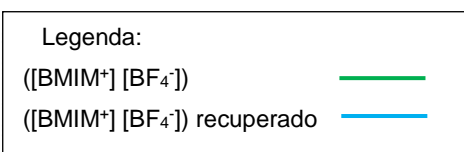
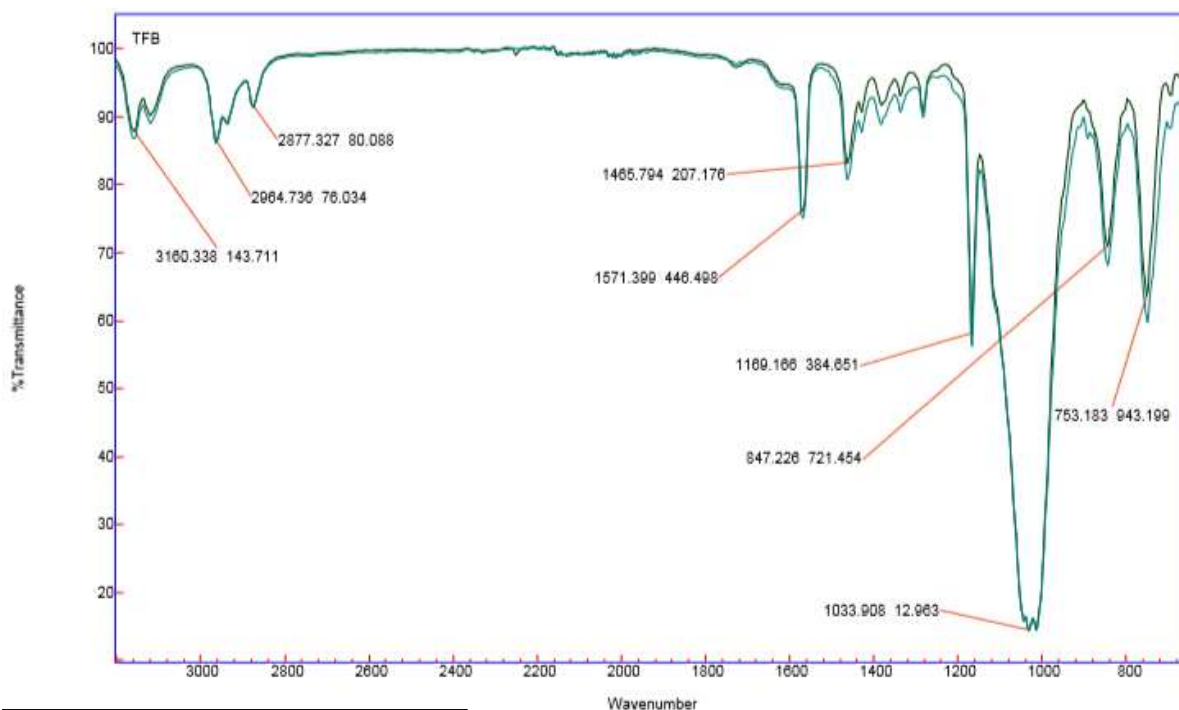


Figura 15. Espectro do infravermelho de tetrafluorborato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM⁺] [BF₄⁻]) recuperado.

Observando-se a figura 15, constatamos que os picos característicos dos líquidos iônicos após sua utilização não se alteraram, comprovando a sua manutenção estrutural. Os líquidos iônicos utilizados neste trabalho mostraram bons resultados no processo de reutilização no pré-tratamento, sendo o [BMIM⁺] [Ac⁻] o que obteve maior percentual de hidrólise, e o [BMIM⁺] [HSO₄⁻], apesar de ter um aumento de rendimento de hidrólise na reutilização, foi o que apresentou piores resultados.

Alguns trabalhos também relataram o reuso de LIs por até 10 ciclos sem que houvesse perda significativa da eficiência de pré-tratamento (LEE et al., 2009a; WU et al., 2011; ZHANG et al., 2012a). Wang et al. (2011) reutilizou [AMIM⁺] [Cl⁻] uma vez após um tratamento de biomassa pinheiro e não detectou qualquer redução no desempenho. An et. al (2015) constatou que a capacidade de deslignificação do LI utilizando [Ch] [Arg] não diminuiu significativamente ao longo da reutilização de 8 ciclos, indicando a boa reutilização do líquido iônico. Um estudo realizado por Lopes et al (2013) sobre recuperação e reutilização de líquidos iônicos confirmaram que o LI pode ser reutilizada sem perdas na eficiência de pré-tratamento de biomassa.

5.3 Teor de celulose

O teor de celulose presente nas biomassas lignocelulósicas é um dos fatores determinantes para a utilização das mesmas na produção de biocombustível. A fim de se verificar a viabilidade da biomassa capim-elefante foi avaliado o teor de celulose da biomassa *in natura* (tabela 6) e após o primeiro ciclo de pré-tratamento com diferentes líquidos iônicos (tabela 7).

Tabela 6. Teor de celulose da biomassa *in natura*

| Biomassa <i>in natura</i> | Teor de celulose (%) |
|---|-----------------------------|
| Capim elefante (<i>Pennisetum purpureum</i>) | 61,77 ± 0,38 |

O teor de celulose obtido na amostra se mostra superior dos encontrados na

literatura para a mesma espécie de biomassa. Tura (2014) encontrou o percentual de 35,97%, Vanelli (2014) encontrou 48,5 %, já Siqueira (2016) encontrou cerca de 59,3%, mostrando que o percentual obtido neste trabalho torna o capim elefante promissor, uma vez que o teor de celulose obtido se mostra superior à de outras biomassas. Esta diferença de resultados pode ser atribuída a diferença de amostragem, os níveis de adubação, bem como a idade do material lignocelulósico.

Realizou-se o pré-tratamento da biomassa capim-elefante com os 5 diferentes líquidos iônicos ([BMIM⁺] [Br⁻], [BMIM⁺] [Ac⁻], [HMIM⁺][Cl⁻], [BMIM⁺] [HSO₄⁻] e [BMIM⁺] [BF₄⁻]) e após, os mesmos LIs, recuperados, foram utilizados em um novo ciclo de pré-tratamento. Após o primeiro ciclo de pré-tratamento foi determinado o teor de celulose, e posteriormente o rendimento de hidrólise da celulose nos dois ciclos.



Figura 16. Pré-tratamento com LI; Aspectos físicos da biomassa após o pré-tratamento com Lis.

Os resultados do teor de celulose da biomassa após o primeiro ciclo de pré-tratamento estão demonstrados na tabela 7 e no gráfico 1.

Tabela 7. Teor de celulose após pré-tratamento com Lis

| Pré-tratamento | Teor de celulose após o pré-tratamento (%) |
|--|--|
| [BMIM ⁺] [Br ⁻] | 70,69 % |
| [BMIM ⁺] [Ac ⁻] | 64,87 % |
| [HMIM ⁺] | 60,77 % |

| | |
|----------------------------------|---------|
| [Cl ⁻] | |
| [BMIM ⁺] | 76,28 % |
| [HSO ₄ ⁻] | |
| [BMIM ⁺] | 75,67 % |
| [BF ₄ ⁻] | |

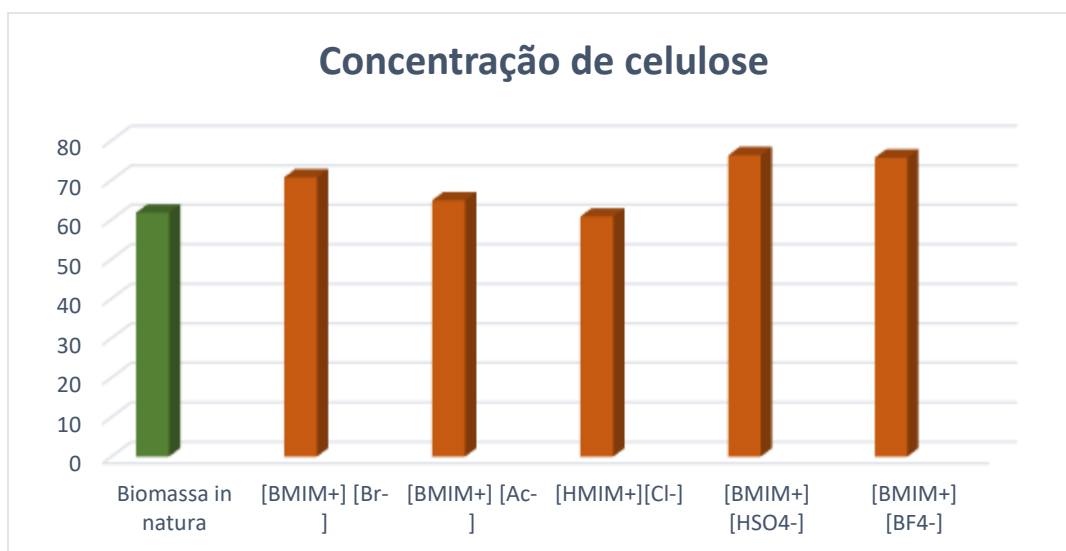


Gráfico 1. Concentração de celulose da biomassa capim elefante in natura e após os pré-tratamentos

Analisando-se cada pré-tratamento com Lis separadamente pode-se observar que após o pré-tratamento com o cloreto de metil-imidazol [HMIM⁺] [Cl⁻] foi observado o menor teor de celulose. Isto não é observado para os demais pré-tratamentos, que apresentaram aumento no teor de celulose. Dois fatores podem ter levado a um menor teor de celulose após o pré tratamento com o LI cloreto de metil-imidazol [HMIM⁺] [Cl⁻]: a incapacidade do LI promover a deslignificação ou a solubilização da celulose no LI, provocando sua perda no momento da lavagem com água. O restante dos líquidos iônicos se mostraram eficazes no pré-tratamento, pois possibilitaram um aumento no teor de celulose da biomassa capim elefante.

5.4 Hidrólise enzimática da celulose obtida

Os valores da concentração de glicose obtidos após a hidrólise enzimática da celulose e os resultados de todas as combinações de biomassa e Lis, são apresentados na Tabela 8 e no Gráfico 2.

Tabela 8. Concentrações de glicose obtidas após 72 horas de hidrólise enzimática do capim-elefante, pré-tratadas com Lis.

| PRÉ- TRATAMENTO | Glicose (g/L) | |
|--|---------------|----------------|
| | 1° Ciclo | 2° Ciclo |
| [BMIM ⁺] [Br ⁻] | 7, 20±1,03 | 8, 84±2,16 |
| [BMIM ⁺] [Ac ⁻] | 4, 55±0,48 | 14,83± 3,37 |
| [HMIM ⁺] [Cl ⁻] | 7, 22±1,93 | 15,40± 7,69 |
| [BMIM ⁺] [HSO ₄ ⁻] | 1, 27±0,38 | 10,32± 2,39 |
| [BMIM ⁺] [BF ₄ ⁻] | 3, 30±0,24 | 15,13± 1,25 |

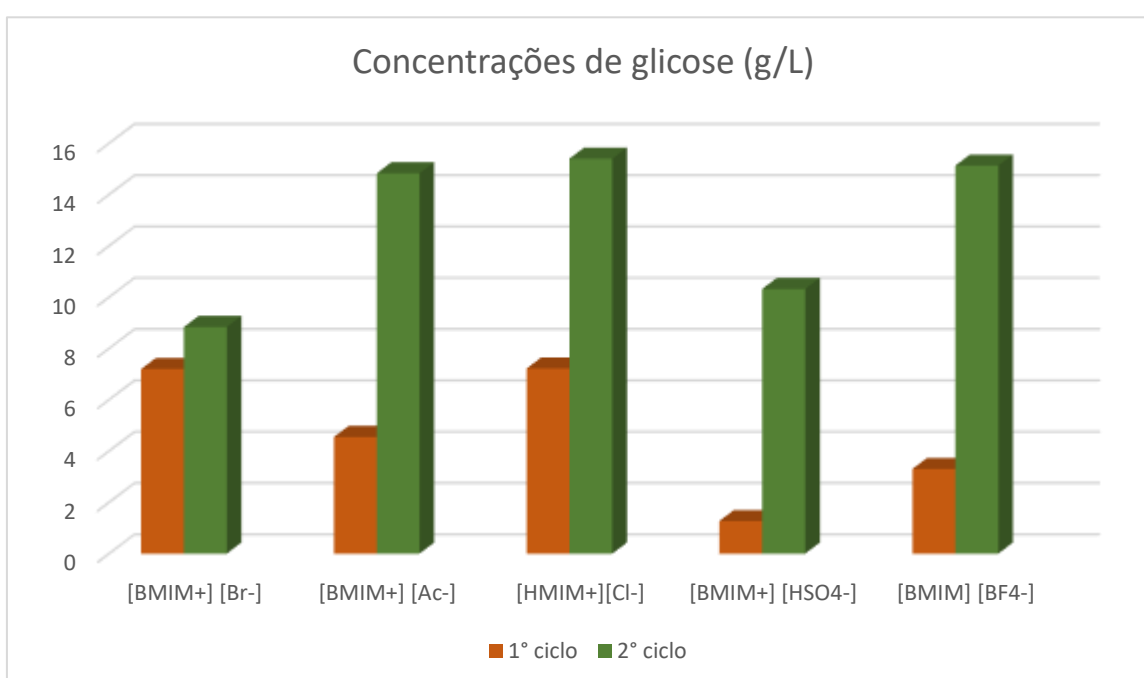


Gráfico 2. Concentrações de Glicose obtidas após 72 horas de hidrólise enzimática utilizando capim-

elefante pré-tratado com Lis

Apesar de se verificar que houve aumento do teor de glicose em todos os Lis após o segundo pré-tratamento, este valor pode ser melhor discutido em termos de percentual de hidrólise, considerando-se a quantidade inicial de biomassa utilizada no pré-tratamento. O rendimento da hidrólise é apresentado na Tabela 9 e no Gráfico 3.

Tabela 9. Rendimento de hidrólise obtido após 72 horas de hidrólise enzimática, utilizando capim-
elefante pré-tratado com Lis

| PRÉ-TRATAMENTO | Rendimento (%) | |
|---|--------------------|--------------------|
| | 1° Ciclo | 2° Ciclo |
| [BMIM ⁺] [Br ⁻] | 47,19±8 ,23 abA | 51,86±4, 46 abA |
| [BMIM ⁺] [Ac ⁻] | 25,24±4 ,28 bcB | 72,19±9 ,19 aA |
| [HMIM ⁺] [Cl ⁻] | 60,49±1 7,93 Aa | 45,09±8 ,46 bA |
| [BMIM ⁺] [HSO ₄ ⁻] | 11,36±3 ,68 Cb | 44,36±9 ,31 bA |
| [BMIM ⁺] [BF ₄ ⁻] | 15,95±1 ,05 cB | 64,41±6 ,62 abA |
| CV (%) | | 22,91 |

Médias seguidas de mesma letra minúsculas na coluna e maiúsculas na linha não se diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

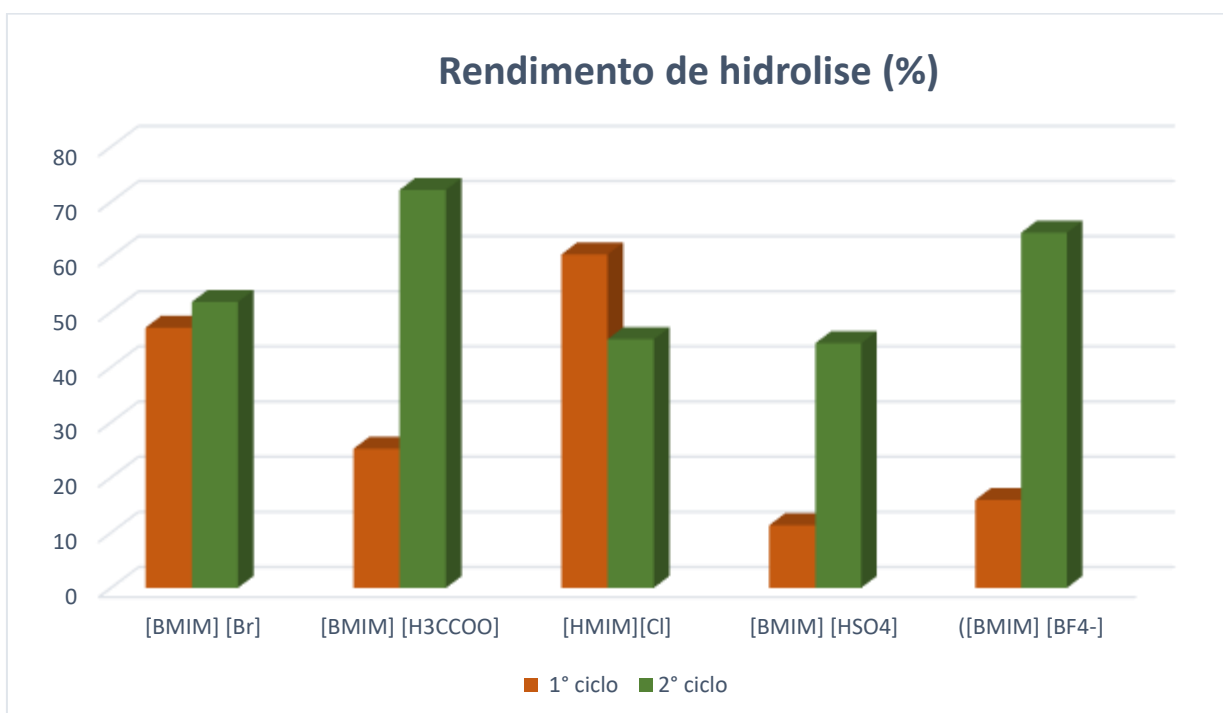


Gráfico 3. Rendimento de hidrólise obtido após 72 horas de hidrólise enzimática utilizando capim-elefante pré-tratado com LIs

Analisando os resultados obtidos no gráfico, observa-se que a maioria dos rendimentos de hidrólise da biomassa pré tratada com LIs reutilizados, tiveram um aumento em relação ao primeiro ciclo de hidrólise, com exceção do LI cloreto de metil-imidazol [HMIM⁺] [Cl⁻], que obteve menor rendimento no segundo ciclo. Isto se deve, provavelmente, a uma perda de celulose após o segundo pré-tratamento, ou a um aumento de inibidores.

Para os demais pré-tratamentos, o segundo ciclo sempre apresentou maior rendimento de hidrólise. Isto pode ser devido ao fato de que, no primeiro ciclo de pré-tratamento, alguns traços de LIs tenham permanecido, não sendo eliminados no processo de lavagem. Ao permanecerem na biomassa, os Lis, afetam negativamente a hidrólise enzimática ou impedem que ela ocorra. Como os LIs são sais e a maioria das enzimas desnaturam em ambientes com alta concentração de sais (ZHAO et al., 2009b; ENGEL et al., 2010) algumas enzimas podem ter se desnaturado durante o processo. Isso diminui na reutilização dos LIs, uma vez que no processo de reciclagem, uma fração de água permanece nos LIs, facilitando sua remoção no processo de lavagem. Além disso é comprovado que soluções aquosas de LIs não interferem negativamente no rendimento da hidrólise, além de possibilitar

um aumento de biomassa e diminuir a viscosidade do LI. Resultados semelhantes são relatados no trabalho de Fu et. al (2011) que utilizou [EMIM⁺] [Ac⁻] e concluiu que o maior rendimento de açúcar fermentável foi obtido em solução de Lis aquosas, em comparação com LI puro.

Muitos trabalhos relatam pré tratamento de biomassa lignocelulósica com Lis, mas raros com a biomassa capim elefante. Assim, um comparativo deste trabalho com os demais, em termos de rendimento de hidrólise, fica prejudicado. Além disto, cada LI e cada metodologia de pré-tratamento levam a resultados diferentes. Porém, para efeito de comparação com os dados, alguns trabalhos são citados.

Ho ha et al (2010) utilizou os Lis [BMIM⁺] [Cl⁻] e [EMIM⁺] [Ac⁻] no pré-tratamento de algodão e obteve uma concentração de glicose de 14,7 e 13,4 mg/mL, respectivamente, após 24 h de hidrólise. Estes valores se assemelham com os obtidos neste trabalho para [HMIM⁺] [Cl⁻] de 15,40 mg/mL e para o [BMIM⁺] [Ac⁻] de 14,83 mg/mL, entretanto após 72 horas de hidrólise. Hou et al (2017) relatou o pré tratamento de "*maple wood flour*" uma espécie de madeira, com [BMIM⁺] [Ac⁻] e constatou o rendimento de glicose de 65%, já Santos (2015) relata o rendimento médio de hidrólise de biomassa lignocelulósica frente ao [BMIM⁺] [Ac⁻] de 28,11%. Este valor está próximo ao obtido neste trabalho, 25,24%, comprovando que para diferentes biomassas, este líquido iônico não mostrou ser eficaz para o primeiro ciclo, entretanto após recuperação dos Lis, em um novo pré-tratamento com nova biomassa, o [BMIM⁺] [Ac⁻] foi o LI que obteve melhores rendimentos, 72,19%, demonstrando ser mais viável na reutilização.

Apesar do [BMIM⁺] [Br⁻] não apresentar resultados significativos na reutilização, este líquido iônico apresentou um percentual significativo de hidrólise no primeiro ciclo: 47,19%. Este resultado é comprovado em outros trabalhos que demonstram que o maior rendimento de hidrólise em um único ciclo foi obtido utilizando [BMIM⁺] [Br⁻], com 41,9% de rendimento médio da hidrólise (SANTOS, 2015).

Zhang et al (2012) encontrou um rendimento de hidrólise de 90,5% utilizando biomassa lignocelulósica pré-tratada com [BMIM⁺] [Cl⁻] em soluções ácidas, este valor se mostra superior ao obtido neste trabalho com o mesmo LI: 60,50%. A diferença pode ser justificada pelo adicional de ácido no pré-tratamento no trabalho de Zhang et al (2012) que pode ter colaborado para um maior rendimento. Apesar de

não ter sido utilizado soluções ácidas no pré-tratamento, o [HMIM⁺] [Cl⁻] é o LI que apresentou maior rendimento de hidrólise no 1º ciclo.

Para o [BMIM⁺] [HSO₄⁻], seu rendimento no 1º ciclo foi de 11,36%, valor próximo ao encontrado por Santos (2015) de 9,2% utilizando serragem de madeira. Além disso, este líquido iônico foi o que apresentou menor rendimento de hidrólise no segundo ciclo, demonstrando não ser eficaz no pré-tratamento de biomassa capim-elefante.

Diante das variações no resultado da hidrólise em diferentes ciclos, foi analisada a presença de inibidores furfural e hidróximetilfurfural (HMF) no hidrolisado (Figura 17).

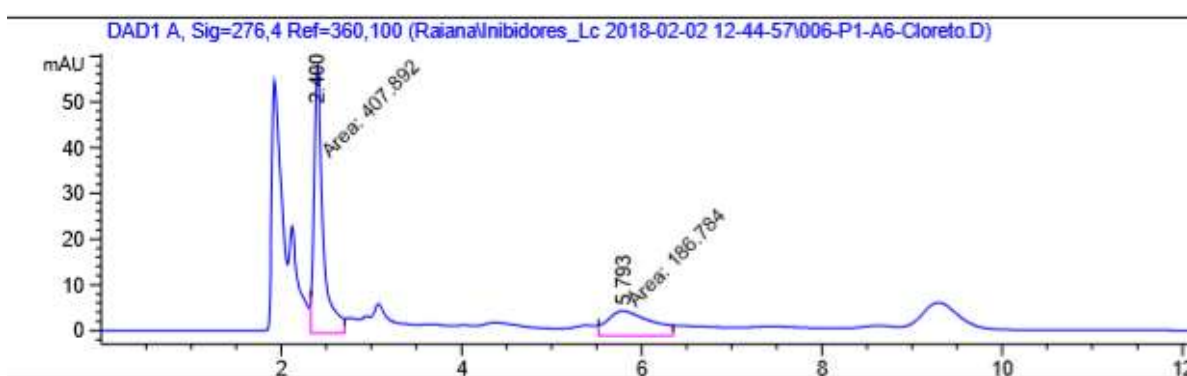


Figura 17. Inibidores furfural e HMF presentes na amostra de capim elefante hidrolisada

Os valores de concentração dos inibidores foram calculados tomando como base a curva padrão (Apêndice).

Tabela 10. Concentração de inibidores após 72 horas de hidrólise do capim elefante pré-tratado com LIs

| PRÉ- TRATAMENTO | INIBIDORES (g/L) | | | |
|---|------------------|--------|----------|--------|
| | 1º Ciclo | | 2º Ciclo | |
| | F | H | F | H |
| | urfural | MF | urfural | MF |
| [BMIM ⁺] [Br ⁻] | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | ,00480 | ,14886 | ,00202 | ,14753 |
| [BMIM ⁺] [Ac ⁻] | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | ,00194 | ,17459 | ,00268 | ,24781 |

| | | | | |
|---|--------|--------|--------|--------|
| [HMIM⁺] [Cl⁻] | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | ,00147 | ,09506 | ,03246 | ,85404 |
| [BMIM⁺] [HSO₄⁻] | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | ,00231 | ,05657 | ,00160 | ,01038 |
| [BMIM⁺] [BF₄⁻] | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | ,00070 | ,23878 | ,00614 | ,29883 |

Como os valores de furfural foram extremamente baixos, foi analisado apenas o rendimento (%) de HMF através da seguinte fórmula obtida de Zhang et al (2012), resultando na Tabela 11 e no Gráfico 4.

$$\text{HMF}(\%) = \frac{\text{Concentração de HMF} \times 1,286 \times 100}{\text{Concentração de Biomassa}}$$

Tabela 11. Rendimento do HMF após 72 horas de hidrólise do capim elefante pré-tratado com Lis

| Pré-tratamento | HMF (%) | |
|---|-----------------|-----------------|
| | 1º Ciclo | 2º Ciclo |
| [BMIM⁺] [Br⁻] | 2,03 | 1,46 |
| [BMIM⁺] [Ac⁻] | 1,63 | 2,44 |
| [HMIM⁺] [Cl⁻] | 1,80 | 7,78 |
| [BMIM⁺] [HSO₄⁻] | 0,87 | 0,08 |
| [BMIM⁺] [BF₄⁻] | 2,12 | 2,32 |

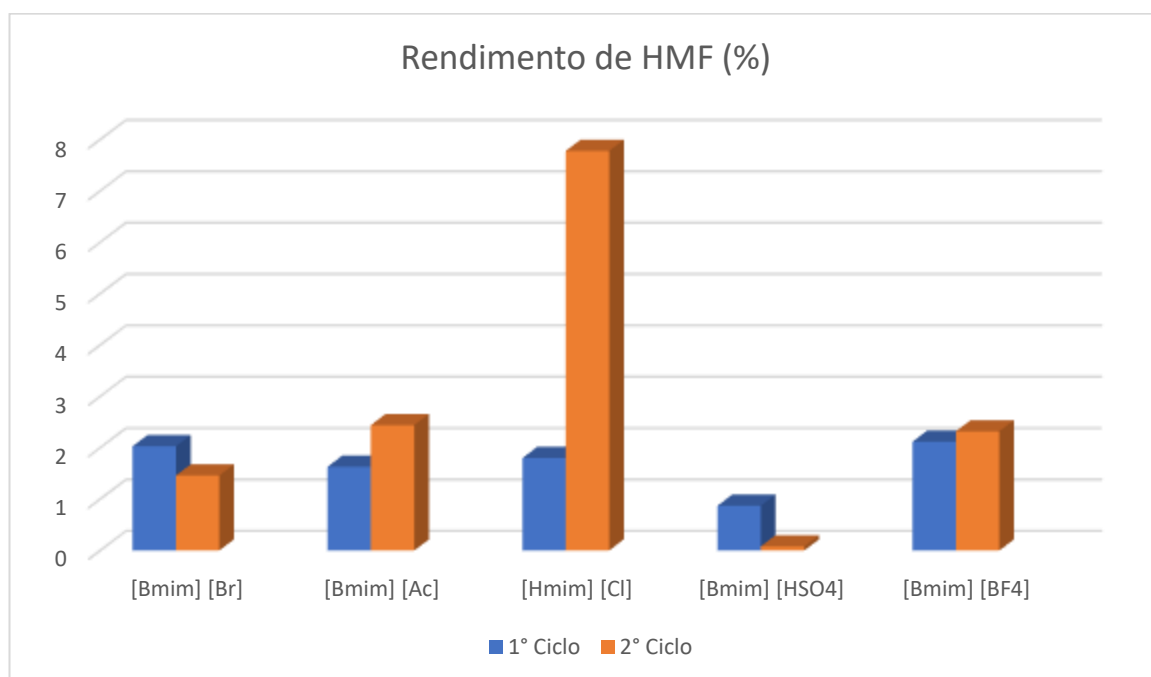


Gráfico 4. Rendimento de HMF

Pode-se observar que a quantidade do inibidor diminuiu do 1º ciclo para o 2º ciclo nos LIs [BMIM⁺] [Br] e [BMIM⁺] [HSO₄], e isso pode ter refletido no aumento do rendimento de hidrólise (Gráfico 3). Para o LI [HMIM⁺] [Cl] esta relação também pode ser feita, porém com a diminuição do rendimento de hidrólise no segundo ciclo e o aumento do percentual de inibidor. Este fato, porém, não se repete para os LIs [BMIM⁺] [Ac] e [BMIM⁺] [BF₄], pois o aumento de quantidade de HMF de um ciclo para outro, não impediu o aumento de glicose em ambos os ciclos. Isto apenas confirma que a quantidade de inibidores é apenas um dos fatores que alteram o rendimento da hidrólise enzimática.

A presença da menor quantidade desses inibidores, leva a um menor gasto energético para essa remoção, tais inibidores se mostram tóxicos aos microrganismos responsáveis pela fermentação em qualquer concentração. A influência destes componentes sobre a fermentação é representativa e o ideal seria sua completa remoção (RASMUSSEN et al., 2014). Vale ressaltar que os inibidores HMF e furfural não são os únicos parâmetros que podem ter inibido o processo, a desnaturação da enzima, como já relatado anteriormente, pode ter sido um fator determinante no rendimento do processo.

Segundo Silva (2013) existe a necessidade de estudar combinações de LIs com enzimas, e também combinar estratégias de pré-tratamento com LIs, afim de

reduzir o tempo de incubação. Yoon e colaboradores (2012) encontraram um rendimento de 69,7% após hidrólise do bagaço de cana pré-tratado com [EMIM⁺][Ac⁻] por 15 minutos de incubação a 145°C. Rendimentos de hidrólise de 87% do bagaço foram alcançados com 30 minutos a 120°C de incubação utilizando [EMIM⁺][Ac⁻] (SILVA, 2013). Kimon e colaboradores (2011) reportou rendimento de 62% de conversão da celulose após pré-tratamento do bagaço a 140 °C por 90 minutos utilizando [BMIM⁺][Cl⁻], enquanto o pré-tratamento por 120 min utilizando o mesmo LI resultou em 29,5% de conversão da celulose (ZHANG et al, 2012). A grande variação dos parâmetros encontrados na literatura comprova a necessidade de otimizar o processo de pré-tratamento para cada LI e avaliar o comportamento das enzimas frente a esta tecnologia, uma vez que, mesmo utilizados apenas no pré-tratamento, resíduos de Lis podem afetar significativamente o processo posterior de hidrólise enzimática.

Como os diferentes LIs apresentam propriedades físico-químicas que variam dependendo da natureza dos cátions ou ânions, os efeitos observados nas diversas enzimas dependem muito da combinação entre o LI estudado e a enzima alvo, podendo resultar em efeitos positivos ou negativos (SILVA, 2013). Vancov et al (2012) relatou que para a escolha de LI deve ser levada em consideração o poder solubilizante e compatibilidade enzimática. Por isso a necessidade de se estudar diversas combinações de LIs afim de buscar as melhores condições de pré-tratamento e menor efeito na etapa de hidrólise enzimática, para otimizar o processo e evitar perdas.

A busca por processos biotecnológicos mais atraentes, em que LIs que tenham alta habilidade de transformar biomassa sem afetar a enzima ainda é um desafio (SILVA, 2013). Apesar das atuais limitações, a capacidade de reciclagem dos LIs, sua inércia química e as condições brandas de reação o tornam um grande atrativo para os processos de pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas, apresentando um grande potencial para o desenvolvimento de uma biorrefinaria baseada não somente na produção em larga escala, mas também de produtos de alto valor agregado.

6 CONCLUSÃO

O pré-tratamento proposto se mostrou eficiente, disponibilizando altos teores glicose, para a hidrólise, em todos os LIs.

O LI [HMIM⁺] [Cl⁻] demonstrou melhor rendimento de hidrólise em um primeiro ciclo enquanto o LI [BMIM⁺] [Ac⁻], quando reciclado alcançou o rendimento de 72% de hidrólise.

A ação de inibidores e do LI sobre a enzima podem levar a uma diminuição do rendimento de hidrólise.

O estudo de diferentes Lis no pré-tratamento de diferentes biomassas é essencial para se atingir os melhores rendimentos de hidrólise.

O pré-tratamento de biomassa lignocelulósica utilizando LIs é uma área em desenvolvimento, mas que apresenta grande potencial devido as características destes tipos de material, portanto a aplicação dessa metodologia em escala industrial é extremamente atrativa do ponto de vista econômico, pois a reutilização do LI reduz o custo da etapa de pré-tratamento.

7 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

A reutilização de líquido iônico na etapa de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica para uma melhor hidrólise é positiva. Entretanto para trabalhos futuros existem sugestões que podem aperfeiçoar a rota tecnológica utilizada neste trabalho, tais como a otimização de parâmetros no pré-tratamento com LIs, como tempo de incubação e temperatura e a otimização de parâmetro tempo no processo de hidrólise, afim de descobrir as particularidades dos diferentes LIs. Desta forma podemos obter melhores rendimentos em produção de etanol em menores intervalos de tempo e processos menos onerosos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELHALIM, B. E. A.; BRUNSTERMANN, R.; IBRAHIM, M. H. A.; WIDMANN, R. Biohydrogen Production from *Scenedesmus* sp. Using Dark Fermentation. Cairo University, 2012.

ARGYROPOULOS, D.S. Use of lignocellulosics solvated in ionic liquids for production of biofuels. WO pat 2008/098032, 2008.

AN, Y.; ZONG, M.; WU, Z.LI, N. Pretreatment of lignocellulosic biomass with renewable cholinium ionic liquids: biomass fractionation, enzymatic digestion and ionic liquid reuse. **Bioresource Technology**, v. 192 , p. 165-171, 2015.

BRANCO, L.C. Líquidos iônicos: aplicações e perspectivas futuras. **Quimica**, v. 139, 2015.

BRANDT, A.; HALLETT, J. P.; LEAK, D. J.; MURPHY, R. J.; WELTON, T. The effect of the ionic liquid anion in the pretreatment of pine wood chips. **Green Chem.** 12 (4), 672–679, 2010.

BOLETIM MENSAL DOS COMBUSTIVEIS RENOVAVEIS, ed°94. Disponível em:<http://www.mme.gov.br/documents/1138769/1732805/06-01-2016+-Boletim+DCR+n%C2%BA+94+-+novembro+de+2015.pdf/0b7243ac-0043-4f08-8d2c-45a1ba97fb6f>. Acesso em 20/10/2017.

BORGES, L.S.; AQUINO, F.C.; EVANGELISTA, A.F. Potencial do capim- elefante para geração de bioenergia. **Nutri-time**. V.13, n.1, 2016.

BOSE, S.; ARMSTRONG, D. W.; PETRICH, J. W. Enzyme-catalyzed hydrolysis of cellulose in ionic liquids: A Green approach toward the production of biofuels. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 24, p. 8221-27, 2010.

CARVALHO, H. M. Impactos econômicos, sociais e ambientais devido à expansão da oferta do etanol no Brasil. **Land Research Action Network**. Curitiba, 2007.

CASTRO, A. M. Produção e propriedades de celulases de fungos filamentosos

obtida a partir da celulignina de bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Brasil, 2006.

CHENG, K. K.; CAI, B. Y.; ZHANG, J. A.; LING, H. Z.; ZHOU, Y. J.; GE, J. P.; XU, J. M. Sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for ethanol production by acid recovery process. **Biochem. Eng. J.** 38, 105–109, 2008.

COSTA, CORTÉS, E.; DONDERO, A.; AROS, H.; CARLESÍ, C. Síntesis del Líquido Iónico $\text{bmin}^+ \text{HSO}_4^-$ mediante una sola Etapa, para Aplicaciones en Hidrometalurgia. **Información Tecnológica**, v. 21, n. 3, p. 67-76, 2010

CUI, M.; SHEN, J. Effects of acid and alkaline pretreatments on the biohydrogen production from grass by anaerobic dark fermentation. **Int. J. Hydrog. Energy**, v. 37, p.1120-1124, 2012.

CUI, M.; YUAN, Z.; ZHI, X.; WEI, L.; SHEN, J. Biohydrogen production from poplar leaves pretreated by different methods using anaerobic mixed bacteria. **Int. J. Hydrog. Energy**, v. 35 (9), p. 4041-4047, 2010.

CUI, M.; YUAN, Z.; ZHI, X.; SHEN, J. Optimization of biohydrogen production from beer lees using anaerobic mixed bacteria. **Int. J. Hydrog. Energy**, v. 34, p. 7971 - 7978, 2009.

D'ANDOLA, G.; et al. Ionic liquids for solubilizing polymers. WO 2008/043837, 2008.

De FRAITURE, C.; GIORDANO, M.; LIAO, Y.; Biofuels and implications for agricultural water use: blue impacts of green energy. **Water Policy**, v. 10, 67–81, 2008.

DELFORT, B.; DURAND, I.; HILLION, G.; JAECKERVOIROL, A.; MONTAGNE, X. Glycerin for new biodiesel formulation. **Oil Gas Sci Technol e Rev** ; v. 63(4): 395 e 404, 2008.

DUPONT, J.; CONSORTI, C. S.; SUAREZ, P. A. Z.; SOUZA, R. F.; Organic Synthesis, 79, 236, 2002.

EISBERG, N. Harvesting energy. **Chem Ind**;17:24–5, 2006.

ENGEL, P.; MLADENOV, R.; WULFHORST, H.; JÄGER, G.; SPIESS, A. C. Point by point analysis: how ionic liquid affects the enzymatic hydrolysis of native and modified cellulose. **Green Chemistry**, v. 12, p. 1959-1966, 2010.

ESCOBAR, J. C.; LORA, E. S.; VENTURINI, O. J.; YANEZ, E. E.; CASTILLO, E. F.; ALMAZAN, O.; Biofuels: environment, technology and food security. **Renew. Sustain Energy Rev** 13:1275 e 87, 2009.

FENGEL, D. e WEGENER, G. Wood, Chemistry, Ultrastructure, Reactions. Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1984.

FONTOURA, C.F.; BRANDÃO, L.E.; GOMES, L. L. Elephant grass biorefineries: towards a cleaner Brazilian energy matrix? **Journal of Cleaner Production** 96:85-93, 2015.

FU, D.; MAZZA, G.; TAMAKI, Y. Lignin extraction from straw by ionic liquids and enzymatic hydrolysis of the cellulosic residues. **J. Agric. Food. Chem.** 58 (5), 2915–2922, 2010.

FUKAYA, Y.; HAYASHI, K.; WADA, M.; OHNO, H. Cellulose dissolution with polar ionic liquids under mild conditions: required factors for anions. **Green Chem**, 10, 44–46, 2008.

FU, D.; MAZZA, G. Aqueous ionic liquid pretreatment of straw. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 7008-7011, 2011.

GNANSOUNOU, E.; BEDNIAGUINE, D.; DAURIAT, A. Promoting bioethanol production through clean development mechanism: findings and lessons learnt from asiatic project. In: Proceedings of the 7th IAEE European energy conference, Bergen, Norway, August 28–30; 2005.

GOÉS, T. A energia que vem da cana-de-açúcar. Agência CNPTIA EMBRAPA, 2008.

GOMEZ, L. D.; CLARE, G. S.; MCQUEEN-MASON, J. Sustainable liquid

biofuels from biomass: the writing's on the walls. **New Phytol** ;178:473–85, 2008.

GUARDA, E.A. Utilização de líquidos iônicos na síntese de enonas e de enamionas. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Maria, 2009.

GUEDES, C. L. B. et al. Avaliação de biocombustível derivado do bio-óleo obtido por pirólise rápida de biomassa lignocelulósica como aditivo para gasolina. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 781-786, 2010.

HEINZE, T.; SCHWIKAL, K.; BARTHEL, S. Ionic liquids as reaction medium in cellulose functionalization. *Macromol. Biosci.* v. 5, 520–525, 2005.

HERMANUTZ, F. G.; UERDINGEN, E.; MEISTER, F.; KOSAN, B. New Developments In : Dissolving and Processing of Cellulose in Ionic Liquids, Vol. 262, p.6, 2008.

HO HA, S.; MAI, N.L.; AN, G.; KOO, Y. Microwave-assisted pretreatment of cellulose in ionic liquid for accelerated enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 1214-1219, 2011.

HOLM, J.; LASSI, U. Ionic liquids in the pretreatment of lignocellulosic biomass. In: Kokorin, A. (Ed.), *Ionic Liquids: Applications and Perspectives*. **InTech**, pp. 547–560, 2011.

HOU, Q.; MEITING, J.; LI, W.; LIU, L.; CHEN, Y.; YANG, Q. Pretreatment of Lignocellulosic Biomass with Ionic Liquids and Ionic Liquid-Based Solvent Systems. **Molecules**, 22, 290, 2017.

KATWAL, R. P. S. e SONI, P. L. Biofuels: an opportunity for socioeconomic development and cleaner environment. **Indian For.** v. 129, 939-949, 2003.

KIMON, K. S.; ALAN, E. L.; SINCLAIR, D. W. O. Enhanced saccharification kinetics of sugarcane bagasse pretreated in 1-butyl-3-methylimidazolium chloride at high temperature and without complete dissolution. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 9325-9329, 2011.

KLEIN-MARCUSCHAMER, D., SIMMONS, B.A., BLANCH, H.W. Techno-economic analysis of a lignocellulosic ethanol biorefinery with ionic liquid pre-treatment. **Biofuels Bioproducts & Biorefining**, v. 5, 562-569, 2011.

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

LAURSEN, W.; Students take a green initiative. **Chem Eng**;32–4, 2006.

LEANO, E. P.; ANCENO, A. J.; BABEL, S. Ultrasonic pretreatment of palm oil mill effluent: Impact on biohydrogen production, bioelectricity generation, and underlying microbial communities. **Int. J. Hydrog. Energy** v. 37, 12241 e 12249, 2012.

LEE, J. M. Solvent properties of piperidinium ionic liquids. **Chem. Eng. J.** v. 172 (2–3), 1066–1071, 2011.

LEE, S. H.; DOHERTY, T. V.; LINHARDT, R. J.; DORDICK, J. S. Ionic liquid-mediated selective extraction of lignin from wood leading to enhanced enzymatic cellulose hydrolysis. **Biotechnology and BioEngineering**, v. 102, p. 1368-1376, 2009a.

LI, C.; WANG, Q.; ZHAO, Z. K. Acid in ionic liquid: an efficient system for hydrolysis of lignocellulose. **Green Chem.** v. 10, 177–182, 2008.

LINDFELDT, E. G. e WESTERMARK, M. O. Biofuel production with CCS as a strategy for creating a CO₂-neutral road transport sector. **Energ. Procedia** v. 1, p. 4111-4118, 2009.

LIU, G. et al. Enthalpy-entropy compensation of ionic liquid-type Gemini imidazolium surfactants in aqueous solutions: A free energy perturbation study. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 358, n. 2, p. 521-526, 2011.

LOPES, A.M.C.; JOAO, K.G., RUBIK, D.F., BOGEL-LUKASIK, E., DUARTE, L.C., ANDREAUS, J.,BOGEL-LUKASIK, R. Pre-treatment of lignocellulosic biomass using ionic liquids: Wheat straw fractionation. **Bioresour. Technol**, v. 142, p.198-208, 2013.

LYND, L. Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass: technology, economics, the environment, and policy. **Annual review of Energy and the Environment** v. 21: 403-465, 1996.

MABEE, W. E.; GREGG, D. J.; SADDLER, J. N. Assessing the emerging biorefinery sector in Canada. **Appl Biochem Biotechnol**;121–124:765– 78, 2005.

MACEDO, I. de C.; CORTEZ, L.A.B. O processamento industrial da cana-de- açúcar no Brasil. In: ROSILLO-CALLE, F.; BAJAY, S.V.; ROTHMAN, H. Uso da biomassa para produção de energia na indústria brasileira. Campinas, UNICAMP, p.250- 262, 2005.

MACEDO, I. A Energia da Cana-de-Açúcar (Sugarcane's energy: twelve studies on Brazilian sugarcane agribusiness and its sustainability). UNICA (São Paulo Sugarcane Agroindustry Union). São Paulo, 2005.

MACHADO, D. S.; Seleção de fungos capazes de hidrolisar bagaço de cana de açúcar. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2009.

MAKI-ARVELA, P.; ANUGWOM, I.; VIRTANEN, P.; SJOHOLM, R.; MIKKOLA, J. P. Dissolution of lignocellulosic materials and its constituents using ionic liquids- a review. **Ind. Crops Prod.** v. 32 (3), p. 175–201, 2010.

MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento da Cana-de-açúcar e agroenergia. **Açúcar e álcool no Brasil.** p. 02, 03, 13, 17, 2007.

MARAFON, A. C.; SANTIAGO, A. D.; CAMÂRA, T. M. M.; RANGEL, J. H. A.; AMARAL, A. F. C. LEDO, F. J. S.; BIERHALS, A. N.; PAIVA, H. L. Potencial produtivo e qualidade da biomassa de capim-elefante para fins energéticos. Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2014.

MENEGOL, D. Produção de celulasas e xilanases por *penicillium echinulatum* para hidrólise enzimática de capim-elefante (*pennisetum purpureum*, schum.) 2012. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2012.

MENDES-CARVALHO, F.M. Caracterização ultraestrutural e hidrólise enzimática de cana-de-açúcar e bagaço pré-tratados quimio-mecanicamente. Tese (Doutorado em ciências)- Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.

MORAIS, R. F.; SOUZA, B. J.; LEITE, J. M.; SOARES, L. H. B.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S. Elephant grass genotypes for bioenergy production by direct biomass combustion. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, p. 133-140, 2009.

MYLLYMÄKI, V.; AKSELA, R. Dissolution method. US patent 2008/0023162 A1, 2008.

NINOMIYA, K., INOUE, K., AOMORI, Y., OHNISHI, A., OGINO, C., SHIMIZU, N., TAKAHASHI, K. Characterization of fractionated biomass component and recovered ionic liquid during repeated process of cholinium ionic liquid-assisted pretreatment and fractionation. *Chem. Eng. J.* v. 259, 323-329, 2015.

NGUYEN, T. A. D.; KIM, K. R.; NGUYEN, M. T.; KIM, M. S.; KIM, D.; SIM, S. J. Enhancement of fermentative hydrogen production from green algal biomass of *Thermotoga neapolitana* by various pretreatment methods. **Int. J. Hydrog. Energy** v. 35, 13035 e 13040, 2010.

OLIVEIRA, A.A.S. Síntese e caracterização do líquido iônico do tetraflourborato de 1-metil-3-(2,6(S)dimetiloct-2-eno)-imidazol como eletrólito para produção de nitrogênio via eletrólise da água. Dissertação mestrado, 2013.

PACHECO, T.F. Produção de Etanol: Primeira ou Segunda Geração?. Circular Técnica. Embrapa: Brasília, 2011.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V. T. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I Sugarcane bagasse. **Bioresour. Technol.** v. 74 , 69 – 80, 2000.

PATTRA, S.; SANGYOKA,S.; BOONMEE, M.; REUNGSANG, A. Biohydrogen production from the fermentation of sugarcane bagasse hydrolysate by

- Clostridium butyricum*. **Int. J. Hydrog. Energy** v. 33, p. 5256-5265, 2008.
- PAULY, M.; KEEGSTRA, K. Cell-wall carbohydrates and their modification as a resource for biofuels. **Plant J**; 54:559–68, 2008.
- PINTO, B.; CALLONI, G.; SILVA, S.A. Obtenção de acetato de celulose a partir de casca de arroz. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 14, n. 21, p. 01-112, jan./jun. 2013.
- QUINTERO, J. A.; MONTOYA, M. I.; SÁNCHEZ, O. J.; GIRALDO, O. H.; CARDONA, C. A. Fuel ethanol production from sugarcane and corn: comparative analysis for a Colombian case. **Energy** v. 33, 385–399, 2008.
- RABELO, S. C.; MACIEL FILHO, R.; COSTA, A. C. A comparison between lime and alkaline hydrogen peroxide pretreatments of sugarcane bagasse for ethanol production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 144, p. 87-100, 2009.
- RAMAKRISHNAN, S.; COLLIER, J.; OYETUNJI, R.; STUTTS, B.; BURNETT, R. Enzymatic hydrolysis of cellulose dissolved in N-methyl morpholine oxide/water solutions. **Bioresour Technol**;101:4965–70, 2010.
- ROGERS, R. D. e SEDDON, K. Ionic liquids—solvents for future. **Science** v. 302 (31), 792–793, 2003.
- SAMSON, R.; MANI, S.; BODDEY, R. et al. The potential of c4 perennial grasses for developing a global. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.24, p.1-35, 2005.
- SANTOS, A.F.; QUEIRÓZ, J.H.; 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**. V.35, n.5,1004-1010, 2012.
- SANTOS, G.A.A. Utilização de líquidos iônicos no pré tratamento de biomassas lignocelulósicas para obtenção de etanol de segunda geração. Dissertação de Mestrado, 2015.
- SIMPSON-HOLLEY, M.; HIGSON, A.; EVANS, G. Bring on the biorefinery. **Chem**

Eng;46–9, 2007.

SILVA, A. Pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com líquidos iônicos: efeito na desestruturação da parede celular e na eficiência da hidrólise enzimática. Tese (doutorado) – UFRJ, 2013.

SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F. X. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. **LTC Livros Técnicos e Científicos**, 6ª. ed. Rio de Janeiro, 2000.

SINGH, A.; SMYTH, B. M.; MURPHY, J. D. A biofuel strategy for Ireland with an emphasis on production of biomethane and minimization of land-take. *Renew Sustain Energy Rev*;14(1):277e88, 2010.

SINGH, L.; WAHID, Z. A. Methods for enhancing bio-hydrogen production from biological process: a review. **J. Ind. Eng. Chem.** v. 21, p.70 e 80, 2015.

SIQUEIRA, L.N.; GUARDA, E.A.; GUARDA, P.M.; SILVA, R.B.R.; BARBOSA, R.S. Rendimento de hidrólise e produção de etanol lignocelulósico a partir de biomassa de capim elefante. **J. Bioen. Food Sci.**, v.3, n.4, p.191-196, 2016

SOKHANSANJ, S.; MANI, S.; BI, X.; ZAINI, P.; TABIL, L. G.; Binderless pelletization of biomass. ASAE annual International Meeting, Tampa Convention Centre, Tampa, Florida; July 17-20, Paper Number 056061, 2950 Niles Road, St. Joseph, MI 49085-9659 USA, 2005.

SHILL, K., PADMANABHAN, S., XIN, Q., PRAUSNITZ, J.M., CLARK, D.S., BLANCH, H.W. Ionic liquid pretreatment of cellulosic biomass: Enzymatic hydrolysis and ionic liquid recycle. *Biotechnol. Bioeng.* v. 108, 511-520, 2011.

STEGMANN, V.; MASSONNE, K.; MAASE, M.; UERDINGEN, E.; LUTZ, M.; HERMANUTZ, F.; GAEHR, F.; 2008. Solvent system based on molten ionic liquids, its production and use for producing regenerated carbohydrates. US 2008/0269477 A1, 2008.

SZCZODRAK, J.; FIEDUREK, J. Technology for conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. **Biomass and Bioenergy**, v. 10, p. 367- 375, 1996.

SUN, N.; RAHMAN, M.; QIN, Y.; MAXIM, M. L.; RODRIGUEZ, H.; ROGERS, R. D. Complete dissolution and partial delignification of wood in the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate. *Green Chem.* 11, 646–655, 2009.

TURA, A. Fermentação de açúcares liberados de biomassas lignocelulósicas pré-tratadas com líquidos iônicos para a produção de etanol. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Caxias do Sul, 2014

URQUIAGA, S.; ALVES, B.J.R.; BODDEY, R.M. Capim-elefante: uma fonte alternativa promissora para a produção de energia. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2006_2/Capimelefante/. Acessado em 22 de janeiro de 2018.

US DOE. Advanced bioethanol technology website: <http://www.ott.doe.gov/biofuels/http://www.ott.doe.gov/biofuels/>. US Department of Energy, Office of Energy Efficiency and Renewable Energy, Office of Transportation Technologies. Washington DC USA, 2003.

VANCOV, T.; ALSTON, A.; BROWN, MCINTOSH, S. Use of ionic liquids in the conversion of lignocellulosic material to biofuels. **Renewable energy**, v.45, p. 1-6, 2012.

VANELLI, B. A. Aplicação de líquido iônico e etanol em CO₂ supercrítico para o pré-tratamento e hidrólise enzimática de materiais. Dissertação (mestrado), 2014.

VICENTE, N. G. MAZZARELLA. Jornada Madeira Energética- Capim Elefante como fonte de energia no Brasil: Realidade Atual e Expectativas. **IPT-BNDS** - Rio de Janeiro, 2007.

WANG, X.; LI, H.; CAO, Y.; TANG, Q. Cellulose extraction from wood chip in an ionic liquid 1-allyl-3-methylimidazolium chloride (AmimCl). **Bioresour. Technol.**, 102, 7959, 2011.

WANG, L.; HANNA, M. A.; WELLER, C. L.; JONES, D. D. Technical and economical analyses of combined heat and power generation from distillers grains and corn stover in ethanol plants. **Energy Convers Manage**; 50 :1704–13, 2009.

WANG, C. C.; CHANG, C. W.; CHU, C. P.; LEE, D. J.; CHANG, B. V. Sequential production of hydrogen and methane from wastewater sludge using anaerobic fermentation. **J. Chin. Inst. Chem. Eng.** V. 34 (6), 683 e 687, 2003a.

WANG, C. C.; CHANG, C. W.; CHU, C. P.; LEE, D. J.; CHANG, B. V.; LIAO, C. S. Producing hydrogen form wastewater sludge by *Clostridium bifermentans*. **J. Biotechnol.** V. 102, 83 e 92, 2003b.

WEO, 2013 World energy outlook 2013. Disponível em: <https://www.iea.org/publications/freepublications/publication/WEO2013.pdf> . Acesso em 10/07/2016.

WONG, Y. M.; WU, T. Y.; JUAN, J. C. A review of sustainable hydrogen production using seed sludge via dark fermentation. *Renew. Sustain. Energy Rev.* V. 34, 471 e 482, 2014.

WU, J.; EIN-MOZAFFARI, F.; UPRETI, S. Effect of ozone pretreatment on hydrogen production from barley straw. **Int. J. Hydrog. Energy** v. 144, 344 e 349, 2013a.

WU, J.; UPRETI, S.; EIN-MOZAFFARI, F. Ozone pretreatment of wheat straw for enhanced biohydrogen production. **Int. J. Hydrog. Energy** v. 38, 10270 e 10276, 2013b.

WU, H.; MORA-PALE, M.; MIAO, J.; DOHERTY, T. V.; LINHARDT, R. J.; DORDICK, J. S. Facile pretreatment of lignocellulosic biomass at high loadings in room temperature ionic liquids. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 108, p. 2865–2875, 2011.

YAO, R.; QI, B.; DENG, S.; LIU, N.; PENG, S.; CUI, Q. Use of surfactants in enzymatic hydrolysis of rice straw and lactic acid production from rice straw by simultaneous saccharification and fermentation. **BioResources** ;2:389 – 98, 2007.

YOON, L. W.; ANG, T. N.; NGOH, G. C.; CHUA, A. S. M. Regression analysis on ionic liquid pretreatment of sugarcane bagasse and assessment of structural changes. **Biomass and Bioenergy**, v. 36, p. 160-169, 2012.

ZAKRZEWSKA, M. E.; BOGEL-ŁUKASIK, E.; BOGEL-ŁUKASIK, R. Solubility of carbohydrates in ionic liquids. **Energy Fuels** v. 24 (2), p.737–745,2010.

ZHANG, Z.; O'HARA, I.M.; DOHERTY, W.O. Pretreatment of sugarcane bagasse by acid catalyzed process in aqueous liquid liquid solutions. **Bioresource Technology**, v. 120 , p. 149-156,2012.

ZHAO, H.; JONES, C. L.; BAKER, G. A.; XIA, S.; OLUBAJO, O.; PERSON, V. N. Regenerating cellulose from ionic liquids for an accelerated enzymatic hydrolysis. **Journal of Biotechnology**, v. 139, p. 47-54, 2009b.

ZHU LY, ZONG MH, WU H. Efficient lipid production with *T. fermentas* and its use for biodiesel preparation. **Bioresour Technol** ;99:7881, 2008.

APÊNDICE

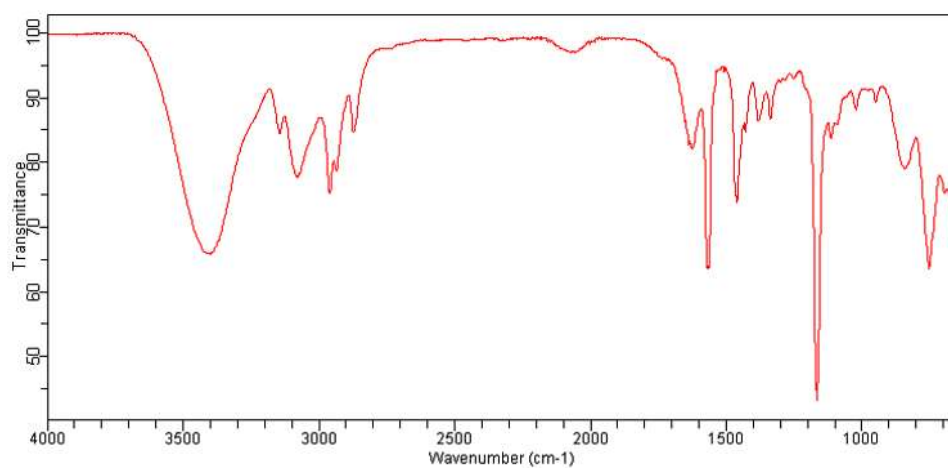


Figura 15. Espectro do infravermelho do brometo de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br])

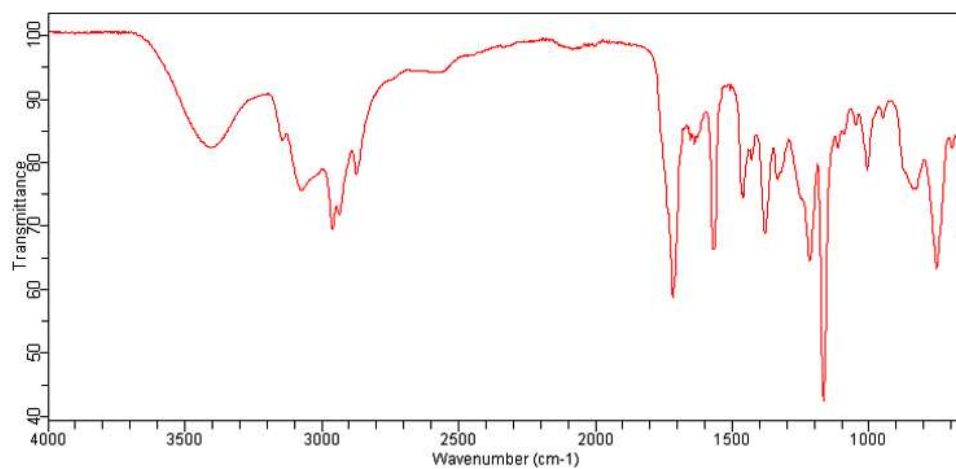


Figura 16. Espectro do infravermelho do acetato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H3CCOO])

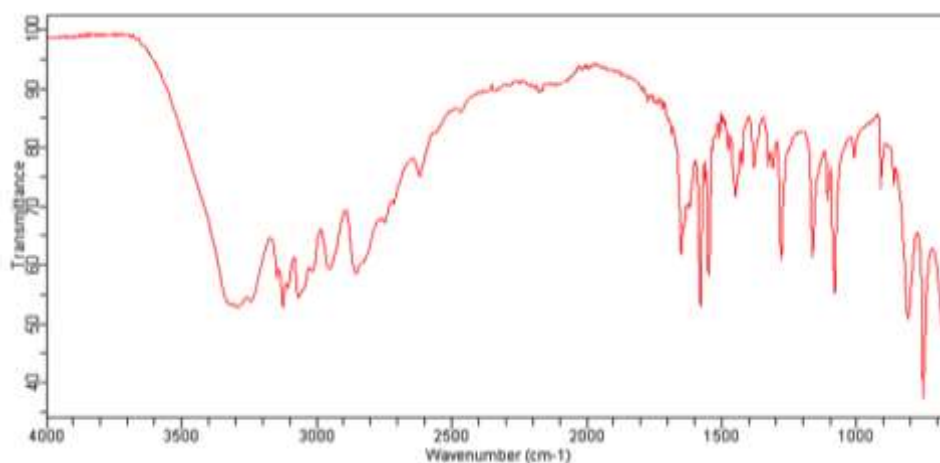


Figura 17. Espectro do infravermelho do cloreto de n-metil-imidazol [HMIm][Cl]

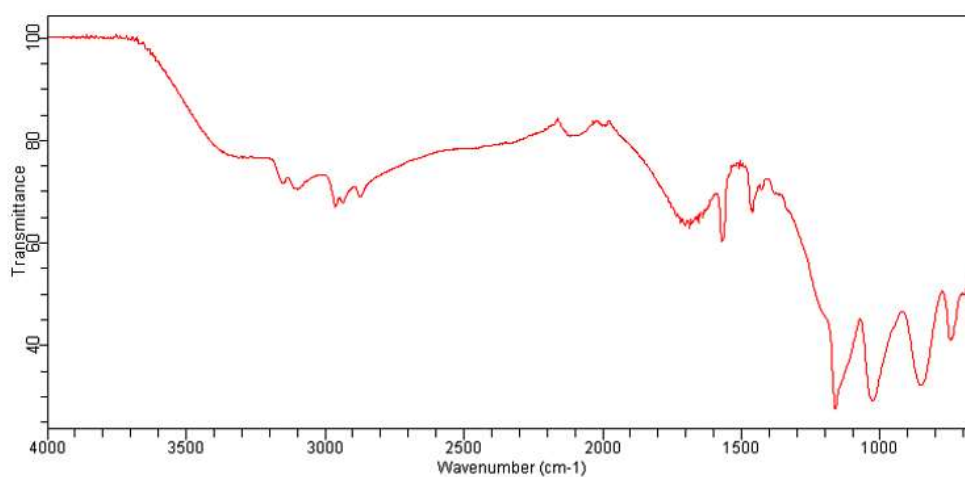


Figura 18. Espectro do infravermelho do hidrogenossulfato de 1-butil-3-metil-imidazol [Bmim HSO₄]

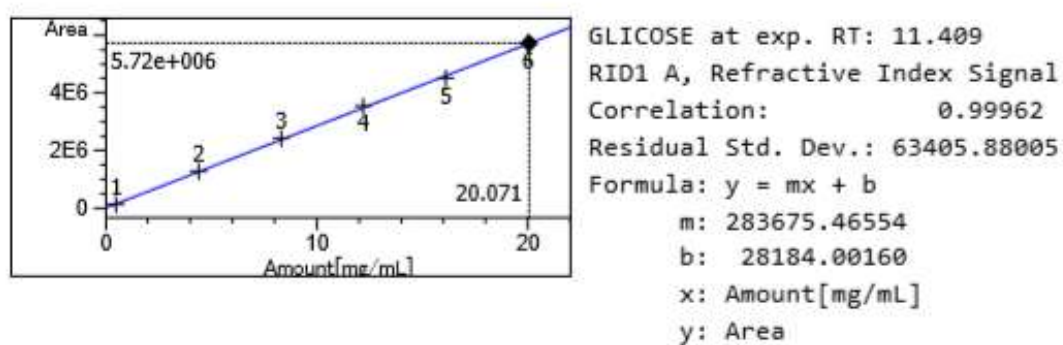


Figura 19. Curva padrão da Glicose

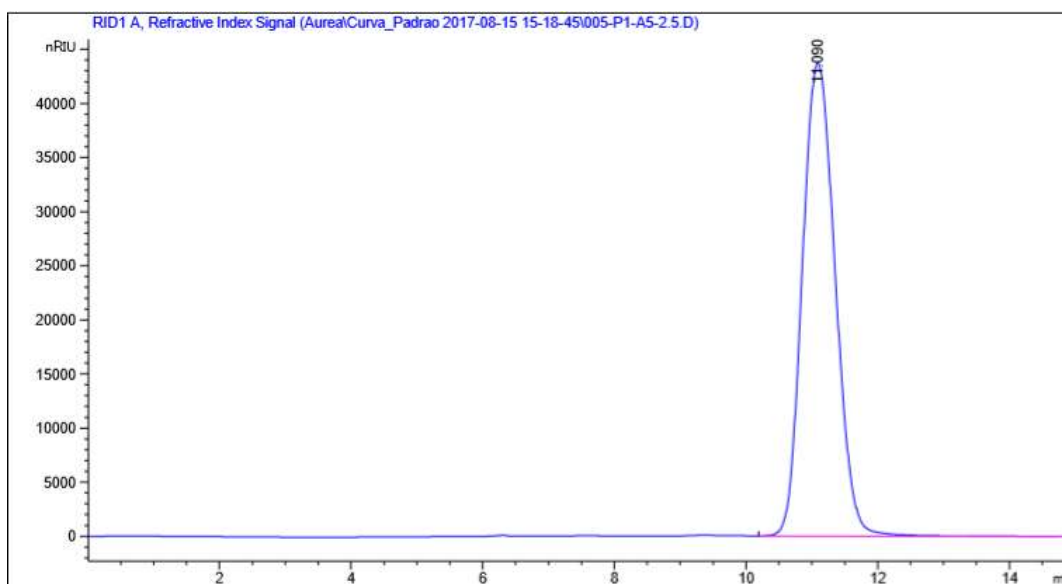


Figura 20. Padrão dos açúcares por Cromatografia Líquida

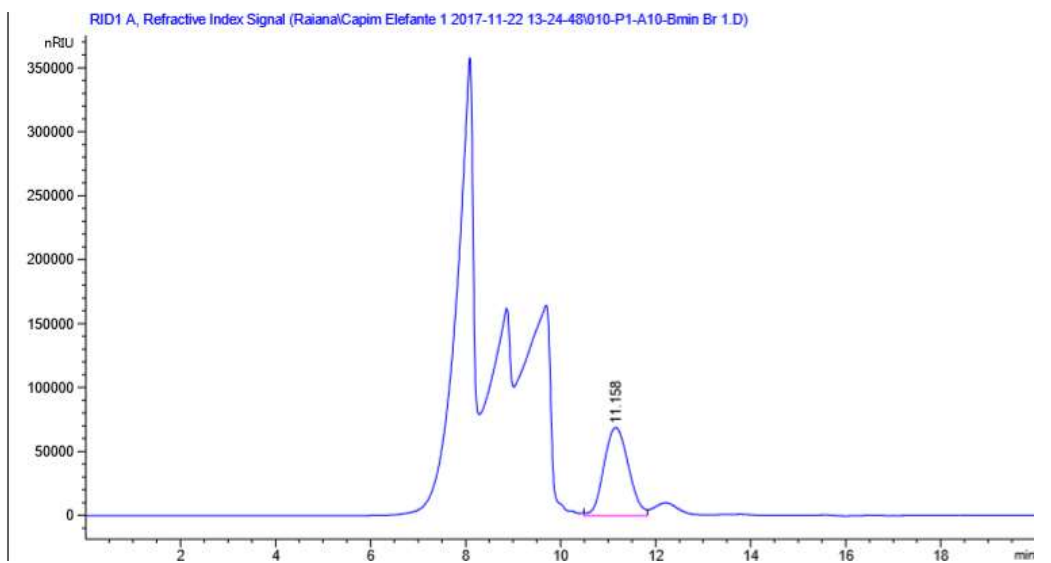


Figura 21. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com brometo de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]) [1]

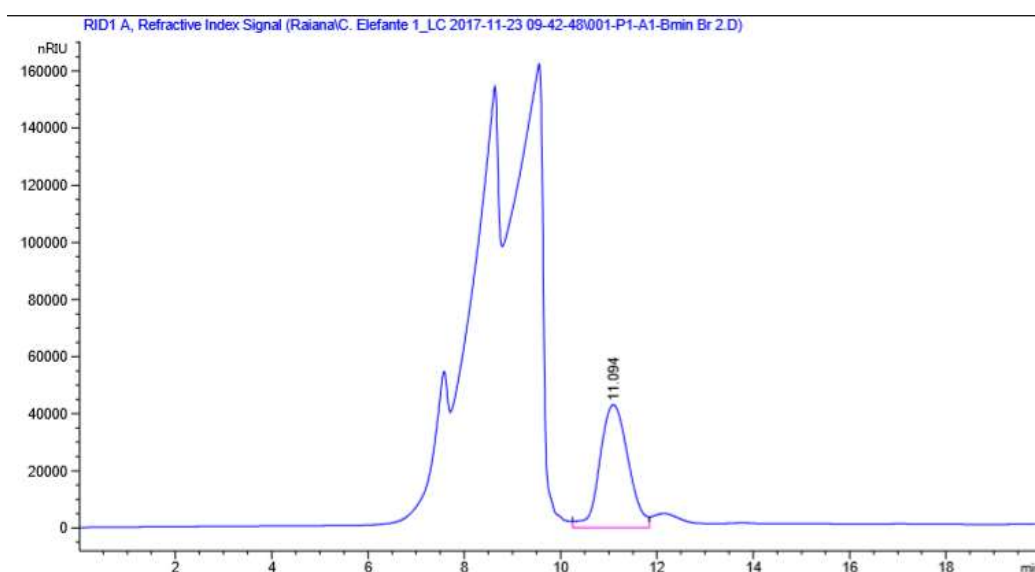


Figura 22. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com brometo de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]) [2]

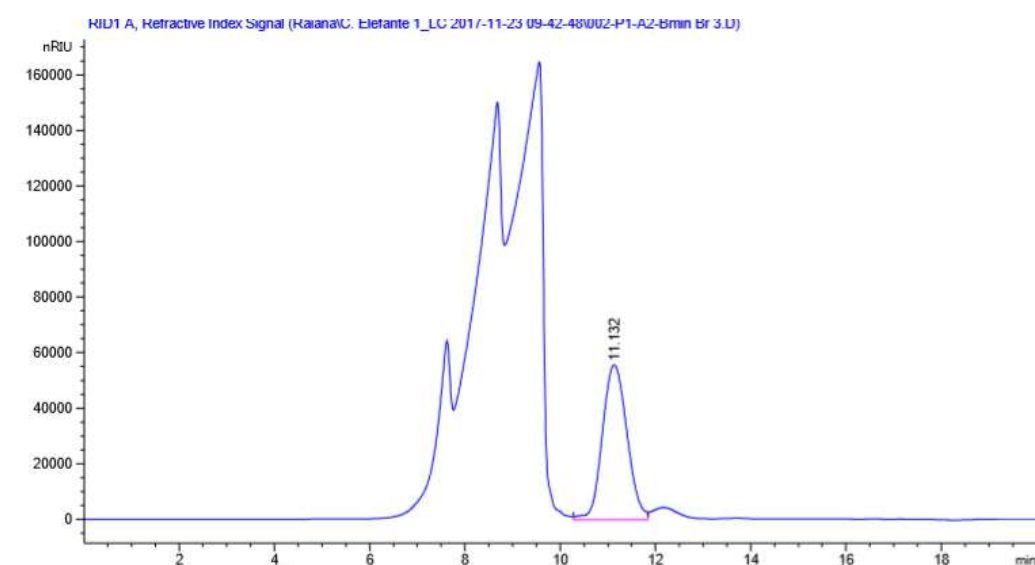


Figura 23. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com brometo de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]) [3]

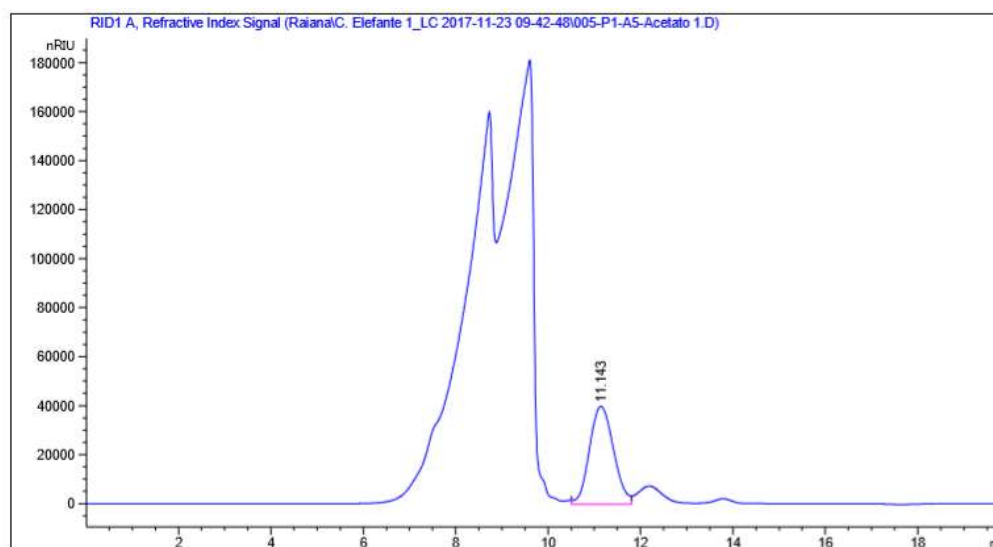


Figura 24. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com acetato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H3CCOO]) [1]

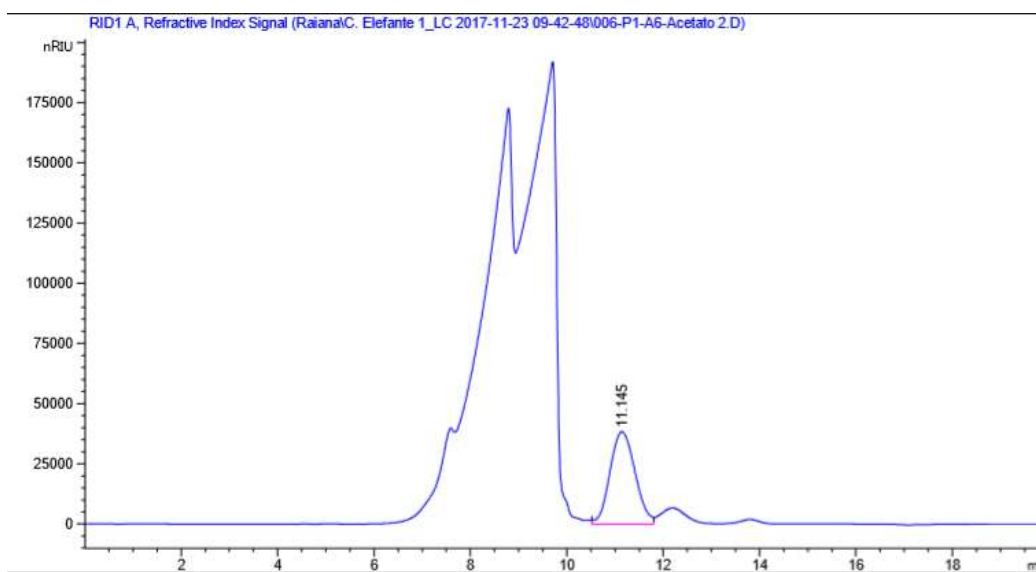


Figura 25. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com acetato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H3CCOO]) [2]

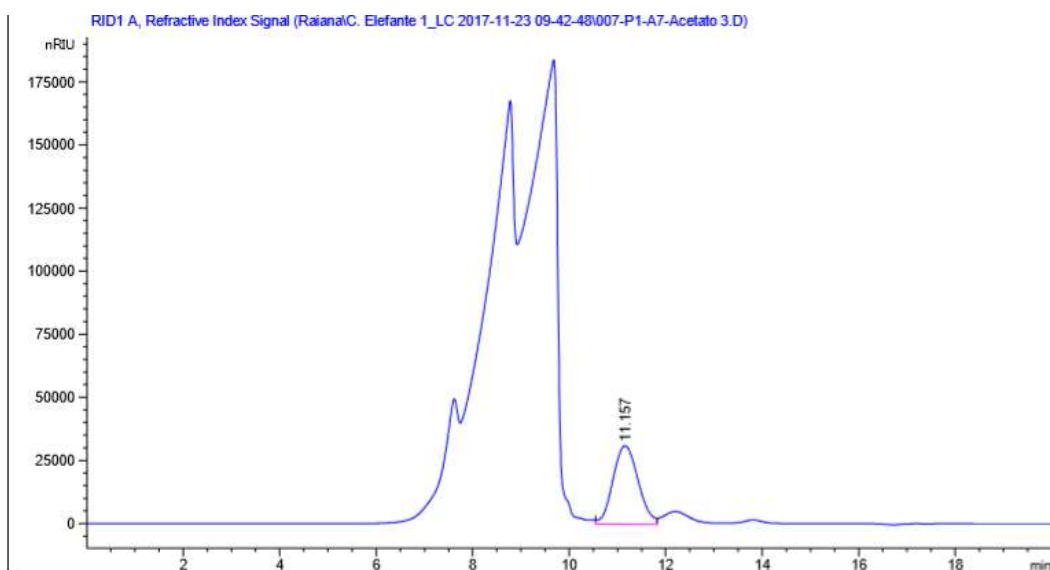


Figura 26. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com acetato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H3CCOO]) [3]

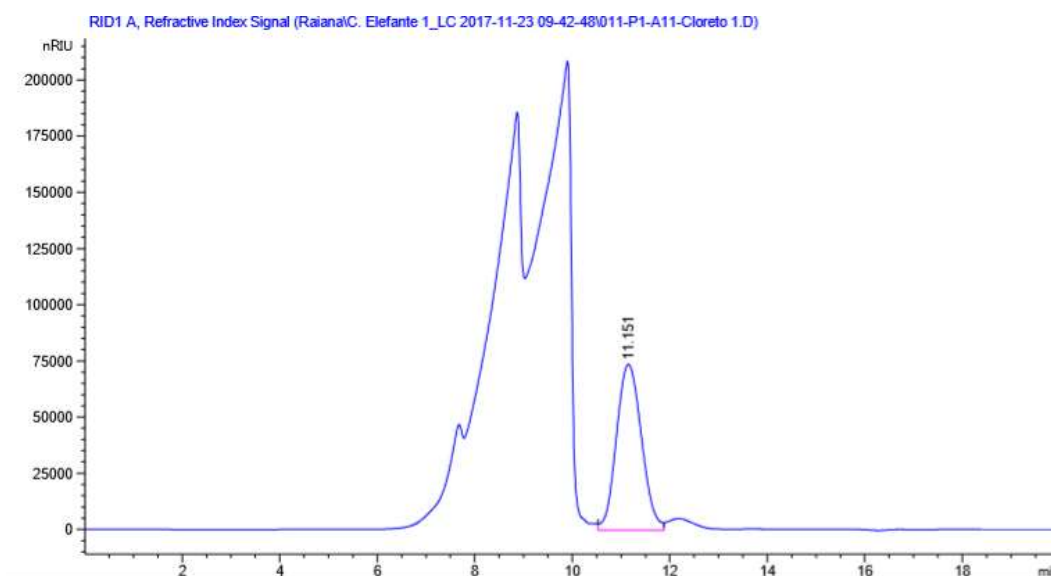


Figura 27. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com cloreto de n-metil-imidazol [HMIm][Cl] [1]

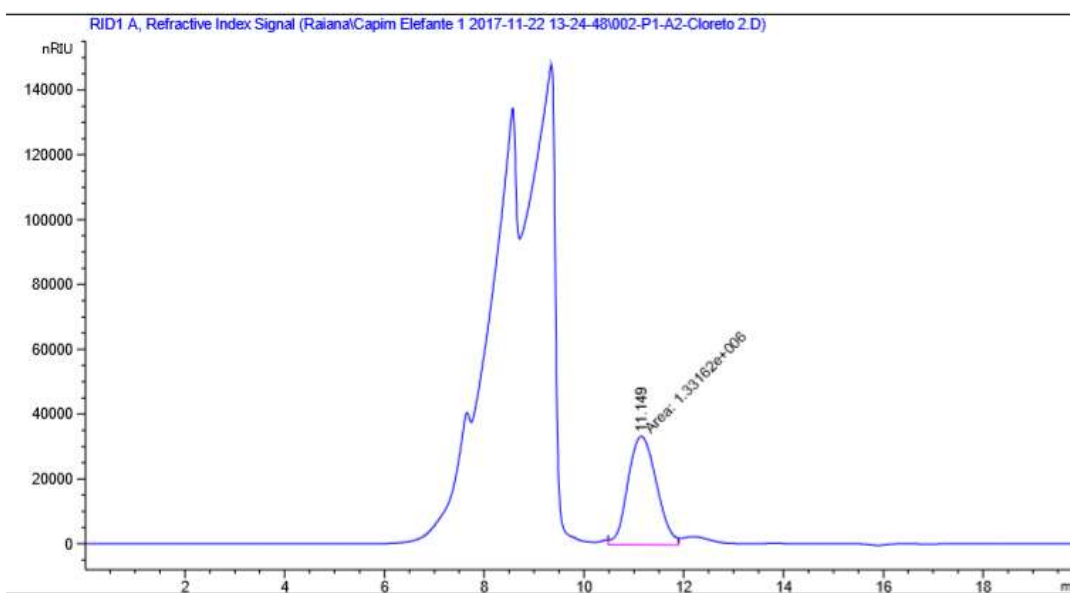


Figura 28. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com cloreto de n-metil- imidazol [HMIm][Cl] [2]

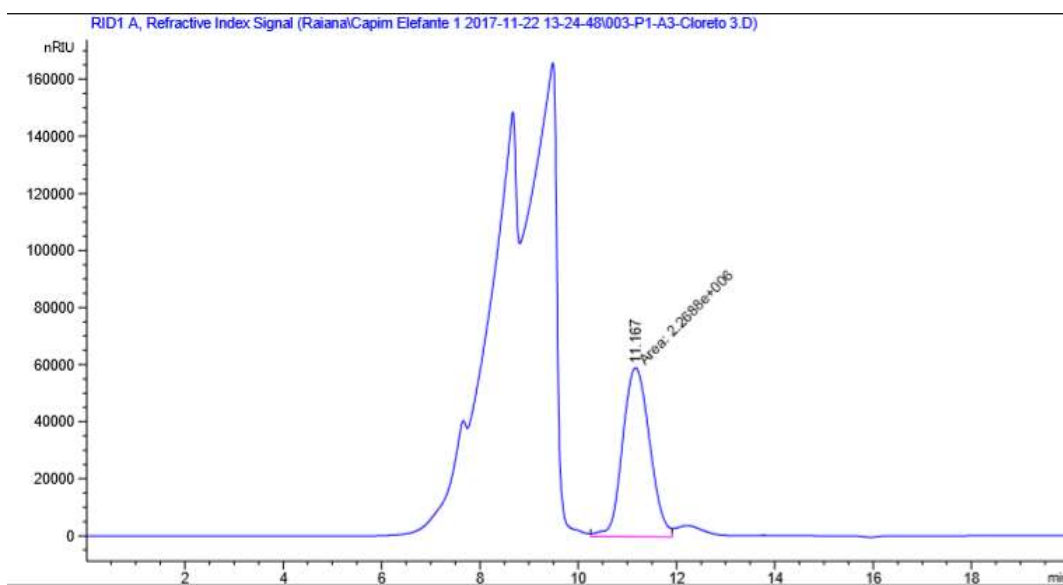


Figura 29. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com cloreto de n-metil- imidazol [HMIm][Cl] [3]

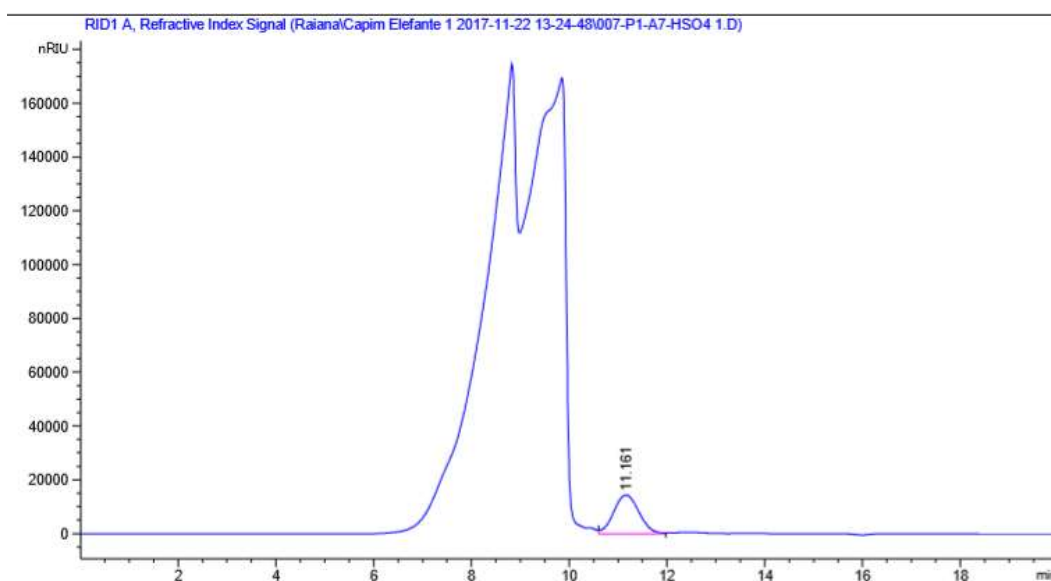


Figura 30. Cromatograma do capim elefante pré-tratada com hidrogenossulfato de 1-butil-3-metilimidazol [Bmim HSO₄] [1]

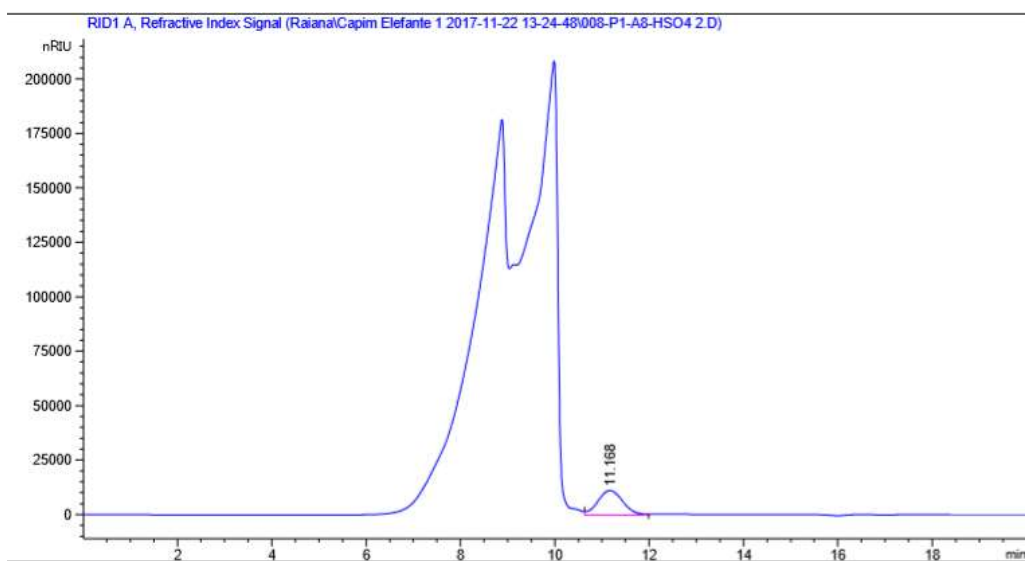


Figura 31. Cromatograma do capim elefante pré-tratada com hidrogenossulfato de 1-butil-3-metilimidazol [Bmim HSO₄] [2]

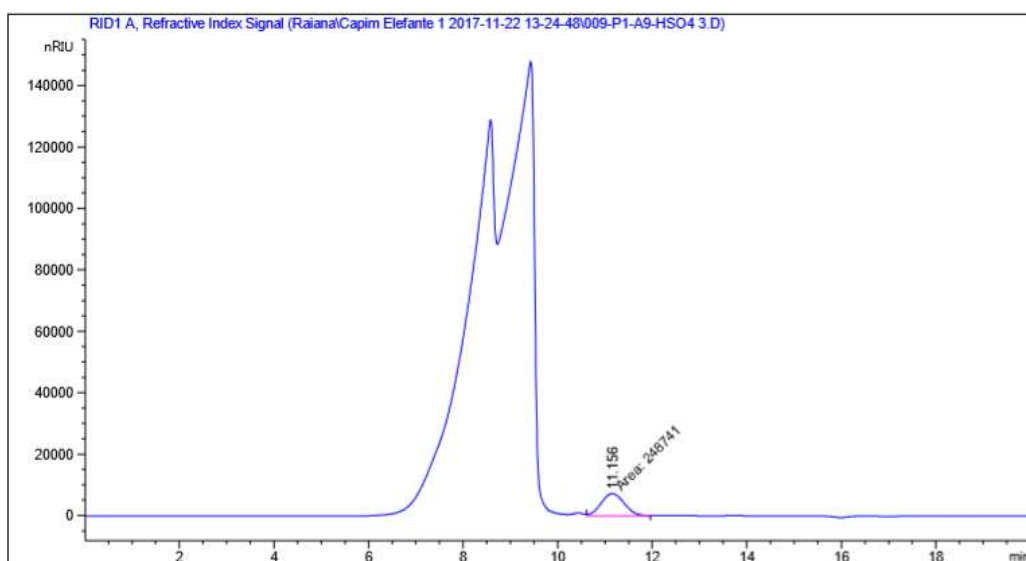


Figura 32. Cromatograma do capim elefante pré-tratada com hidrogenossulfato de 1-butil-3-metilimidazol [Bmim HSO₄] [3]

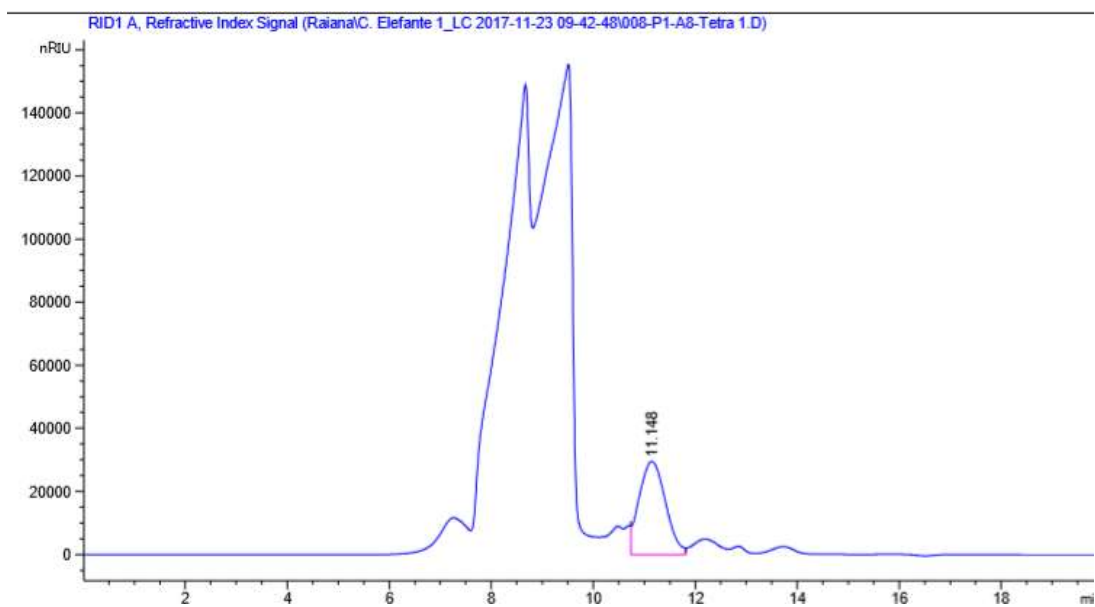


Figura 33. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com 1-n-butil-3-metilimidazol ([BMIM+][BF₄])[1]

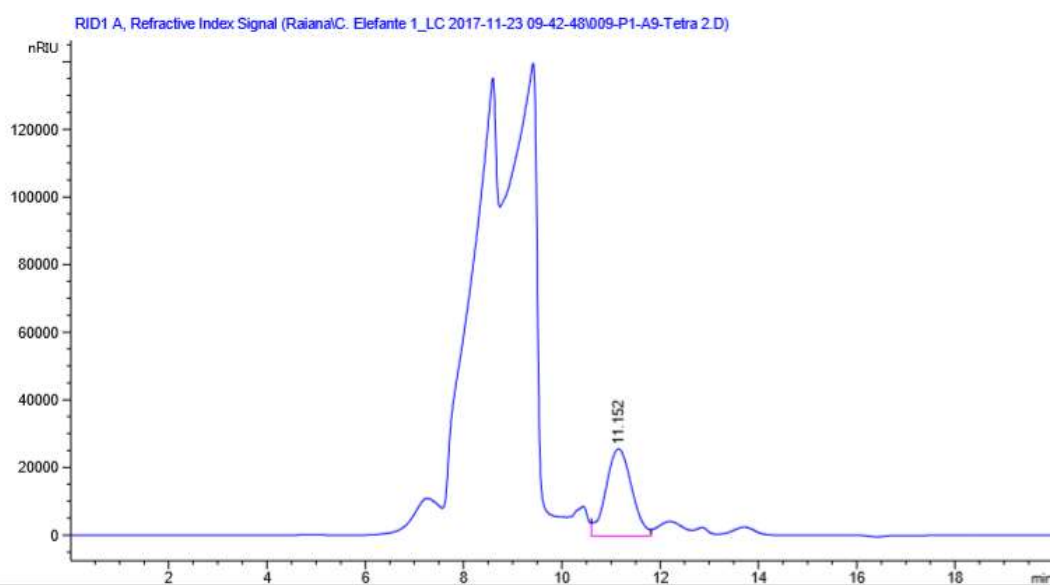


Figura 34. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM+][BF₄])[2]

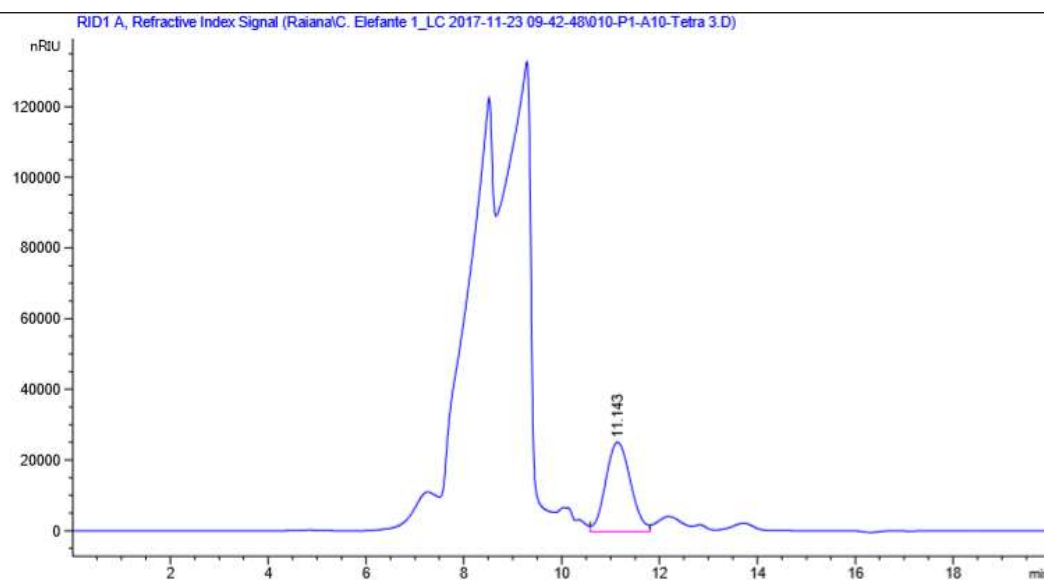


Figura 35. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM+][BF₄]) [3]

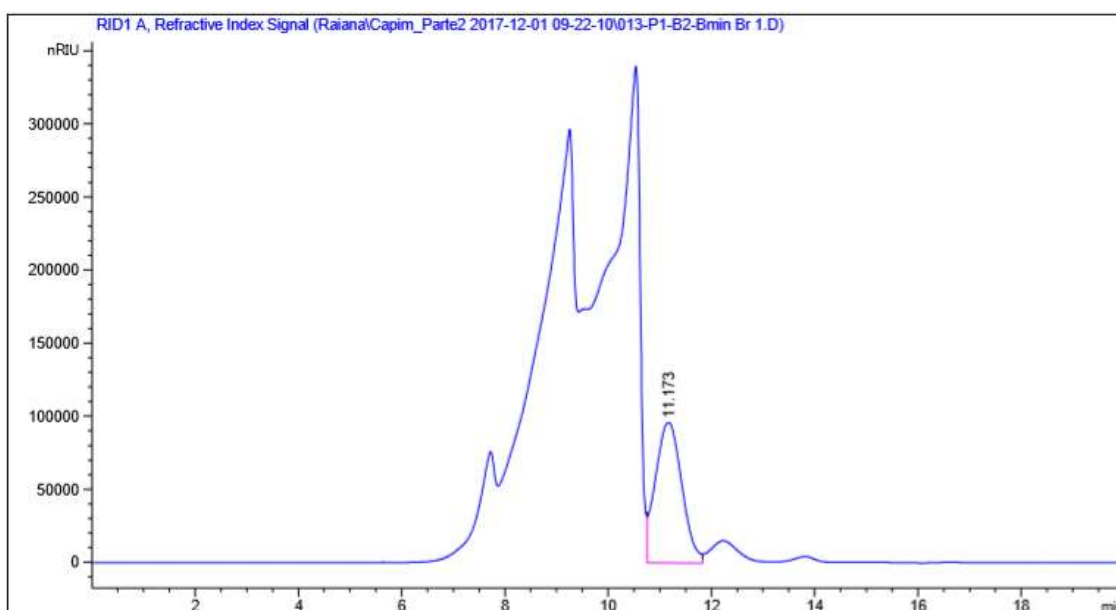


Figura 36. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com brometo de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]) reutilizado [1]

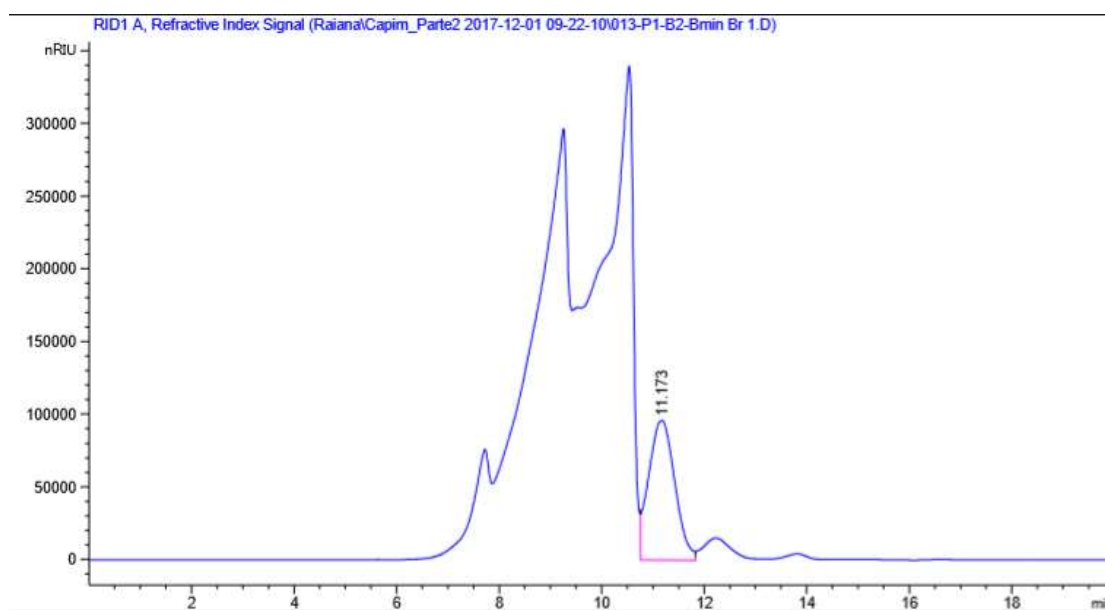


Figura 37. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com brometo de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]) reutilizado [2]

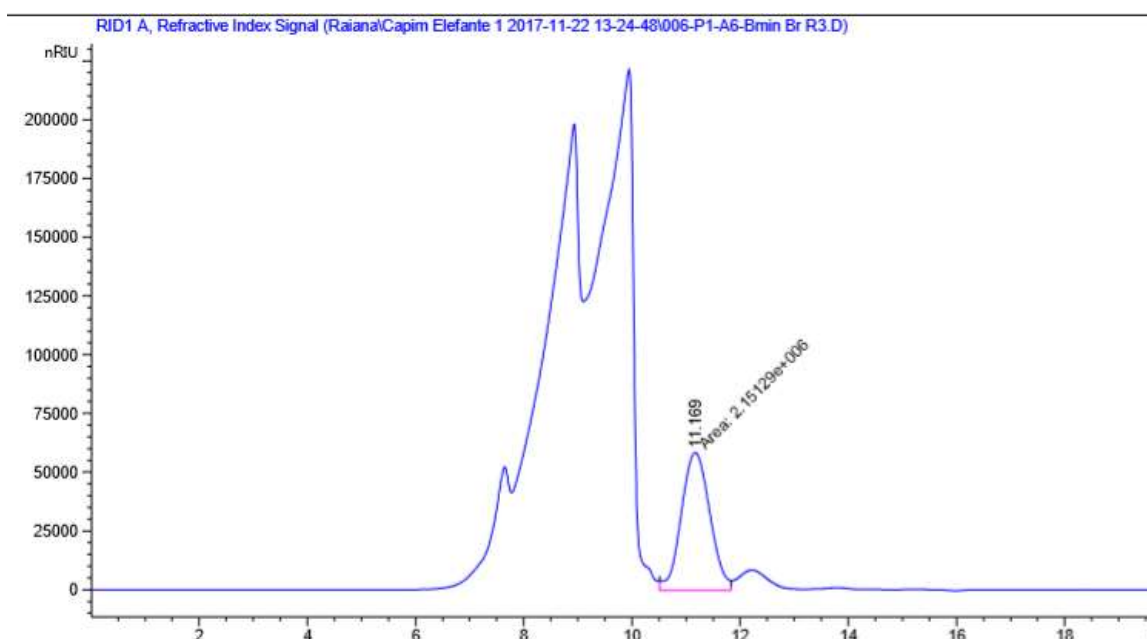


Figura 38. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com brometo de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]) reutilizado [3]

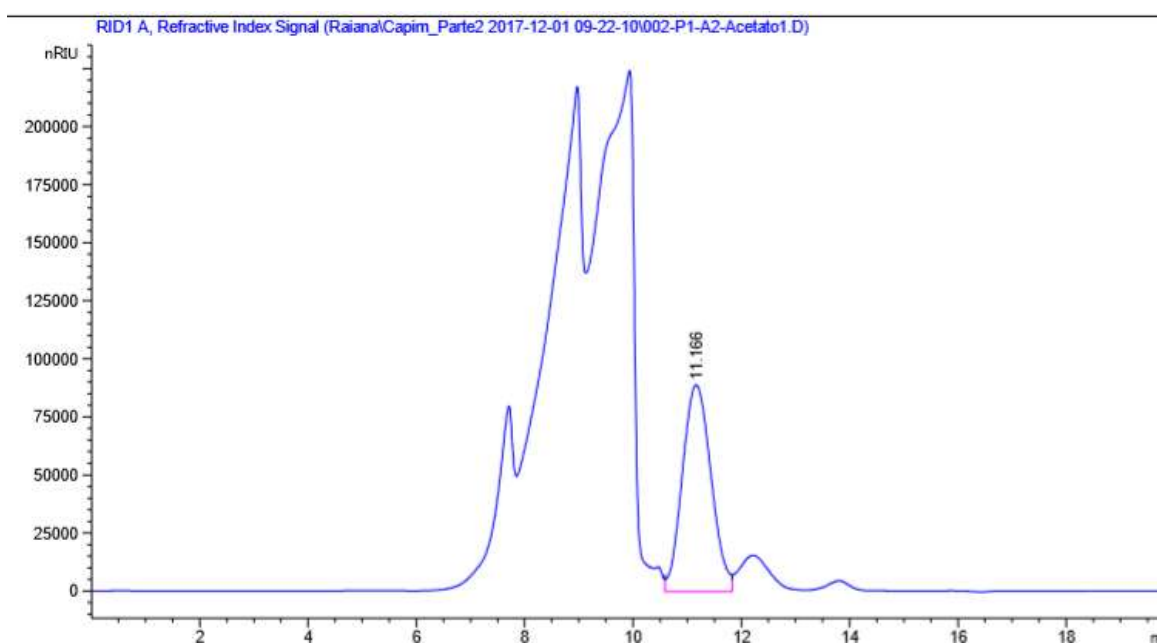


Figura 39. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com acetato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H3CCOO]) reutilizado [1]

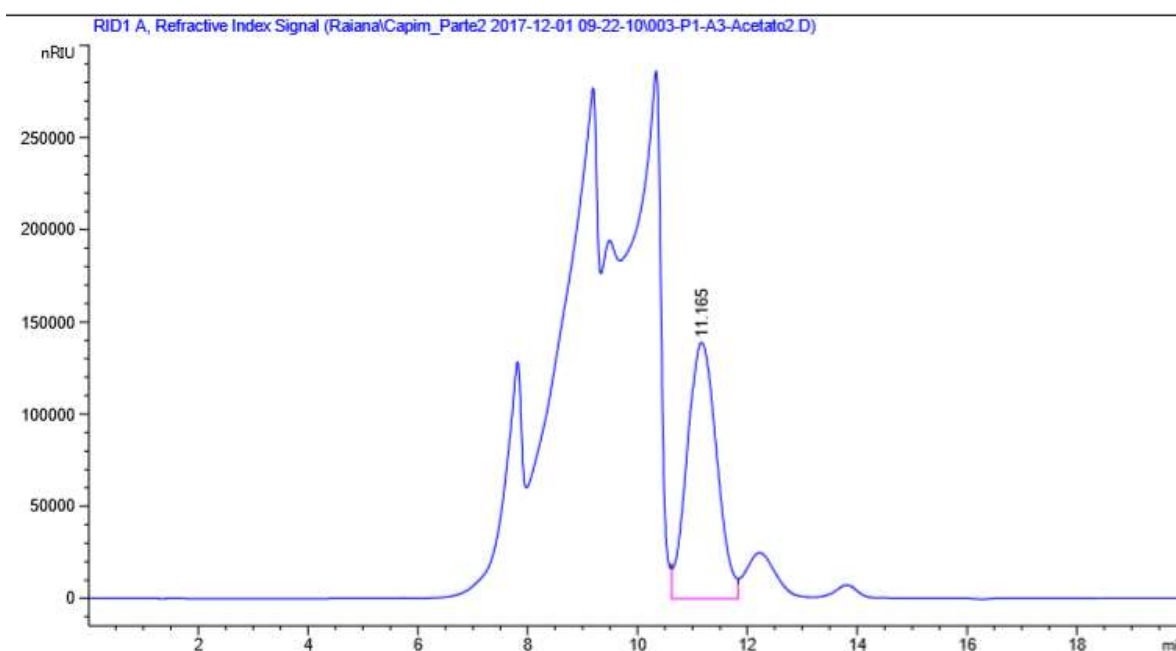


Figura 40. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com acetato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H₃CCOO]) reutilizado [2]

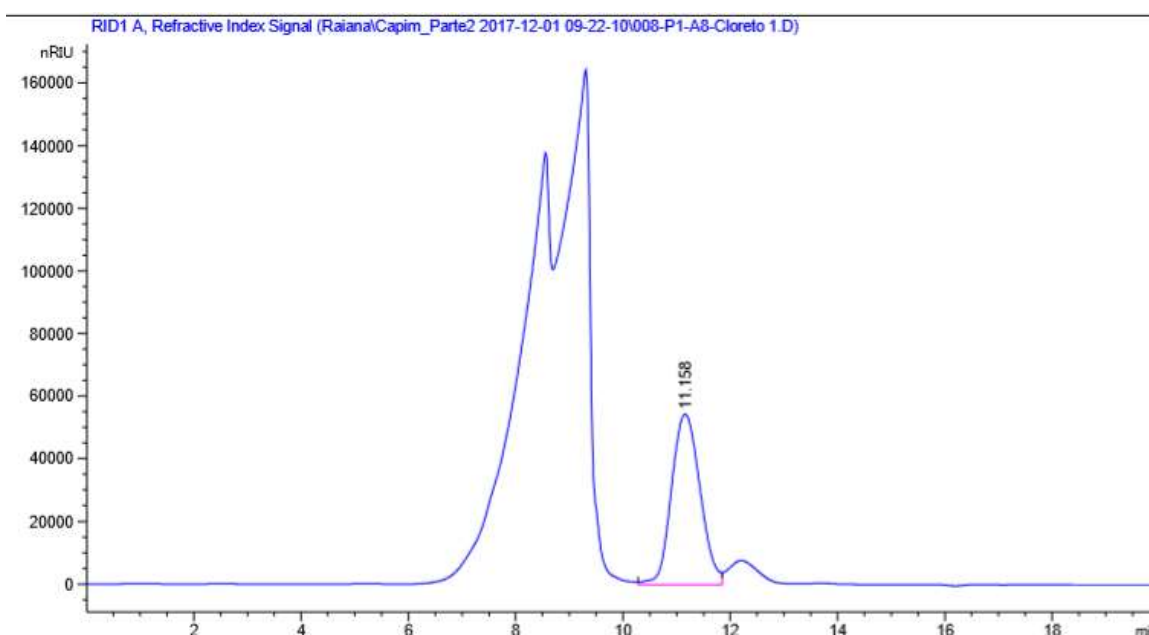


Figura 41. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com cloreto de n-metil-imidazol [HMIm][Cl] reutilizado[1]

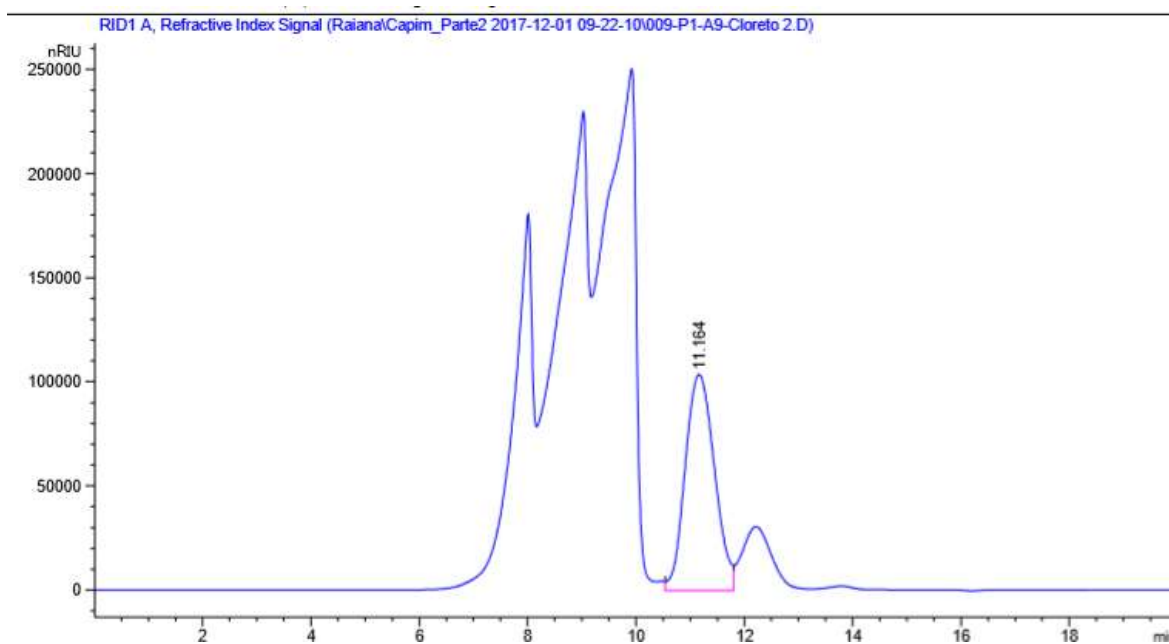


Figura 42. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com cloreto de n-metil-imidazol [HMIm][Cl] reutilizado[2]

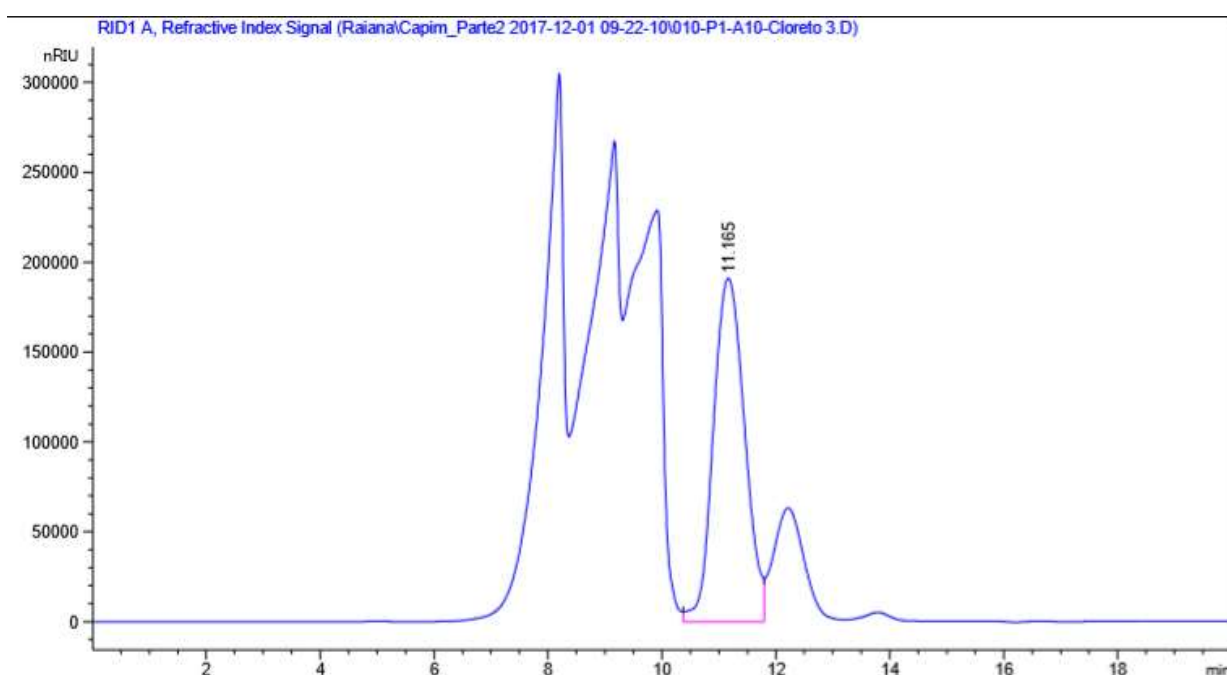


Figura 43. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com cloreto de n-metil-imidazol [HMIm][Cl] reutilizado [3]

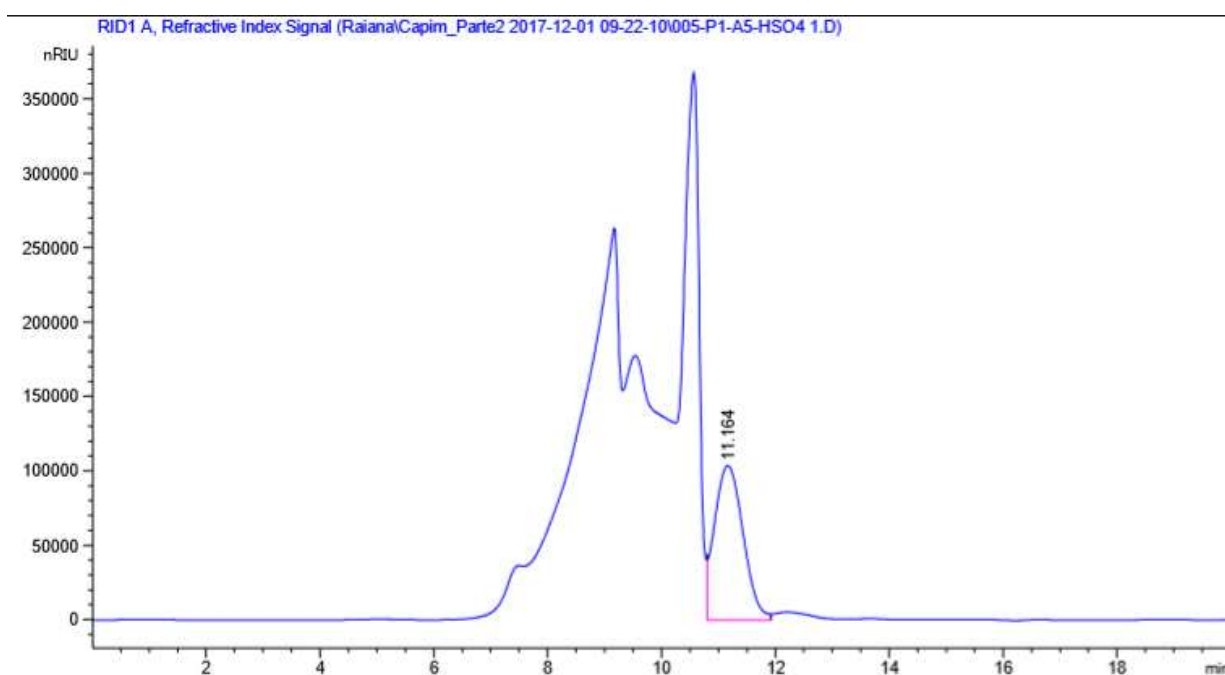


Figura 44. Cromatograma do capim elefante pré-tratada com hidrogenossulfato de 1-butil-3-metilimidazol [Bmim HSO₄] reutilizado[1]

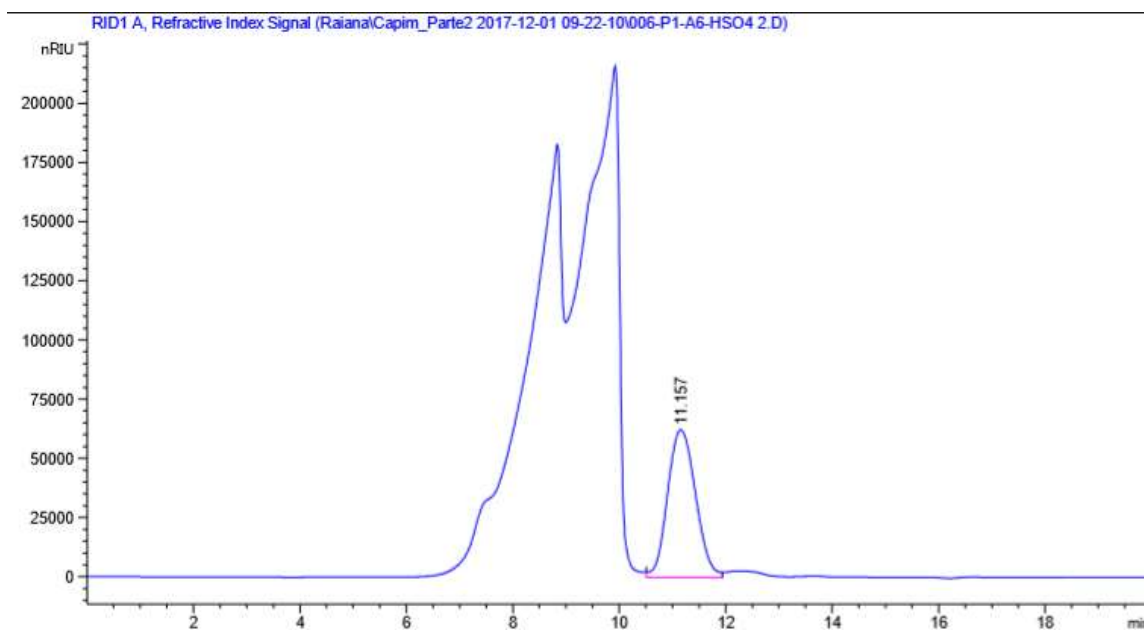


Figura 45. Cromatograma do capim elefante pré-tratada com hidrogenossulfato de 1-butil-3-metilimidazol [Bmim HSO₄] reutilizado[2]

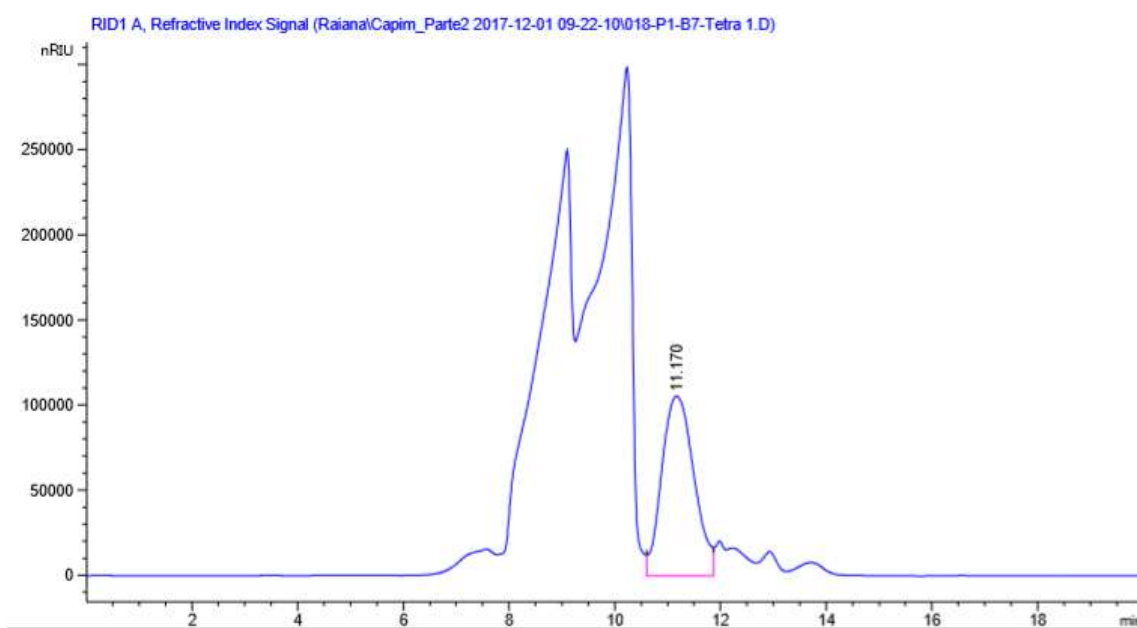


Figura 46. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM+][BF₄]) reutilizado [1]

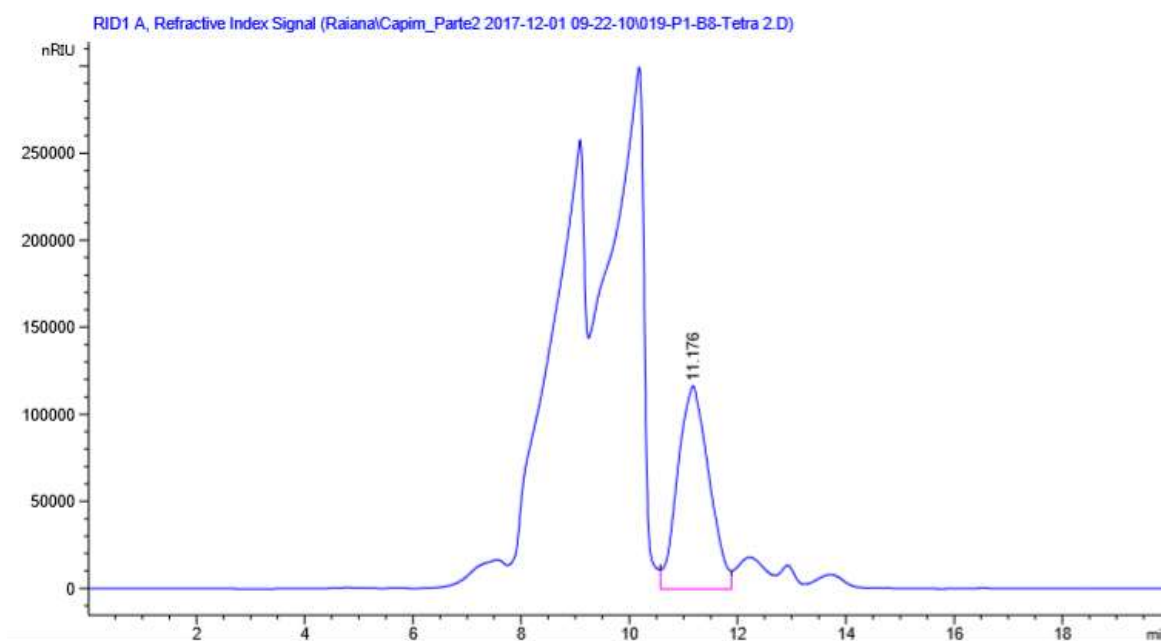


Figura 47. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM+][BF₄]) reutilizado [2]

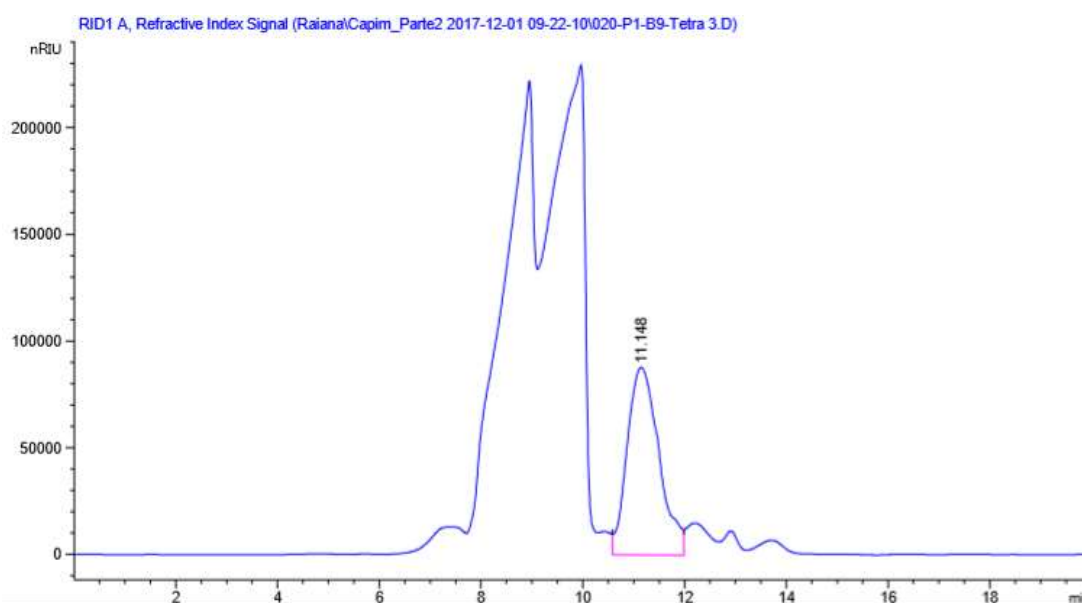


Figura 48. Cromatograma do capim elefante pré-tratado com 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM+][BF4]) reutilizado [3]

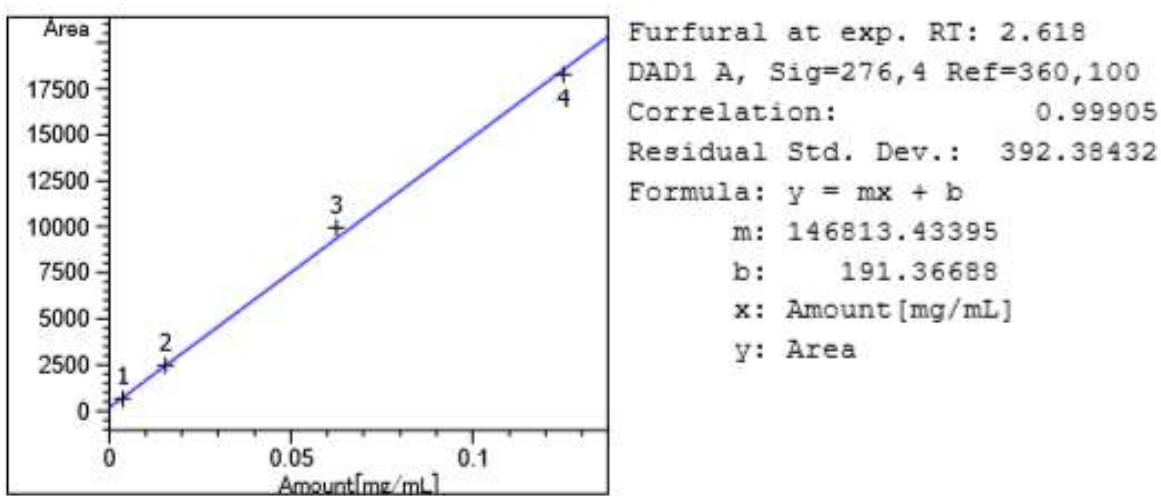


Figura 49. Curva padrão do furfural

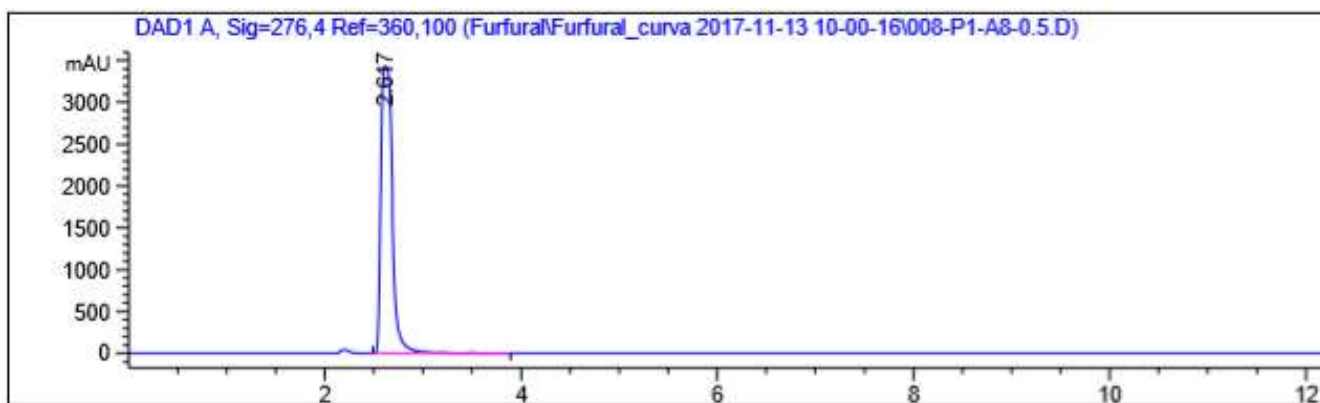


Figura 50. Padrão do furfural por cromatografia liquida

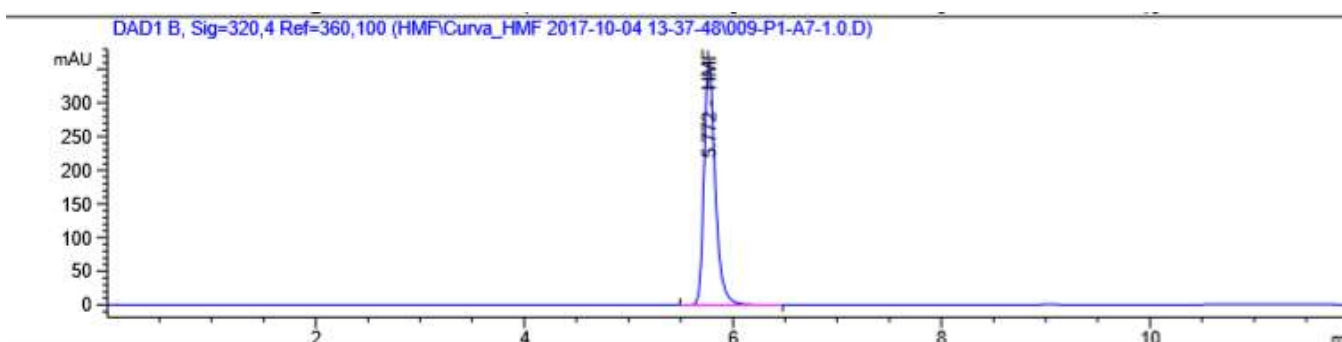


Figura 51. Padrão do HMF por cromatografia liquida

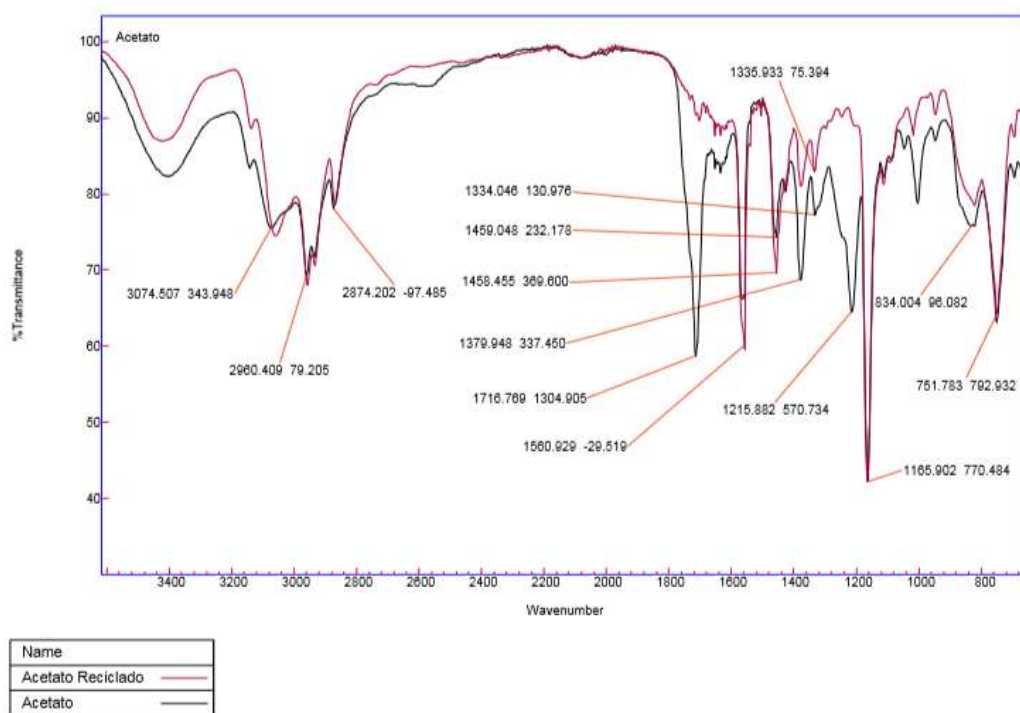


Figura 52. Espectro do infravermelho do acetato de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [H₃CCOO])

recuperado

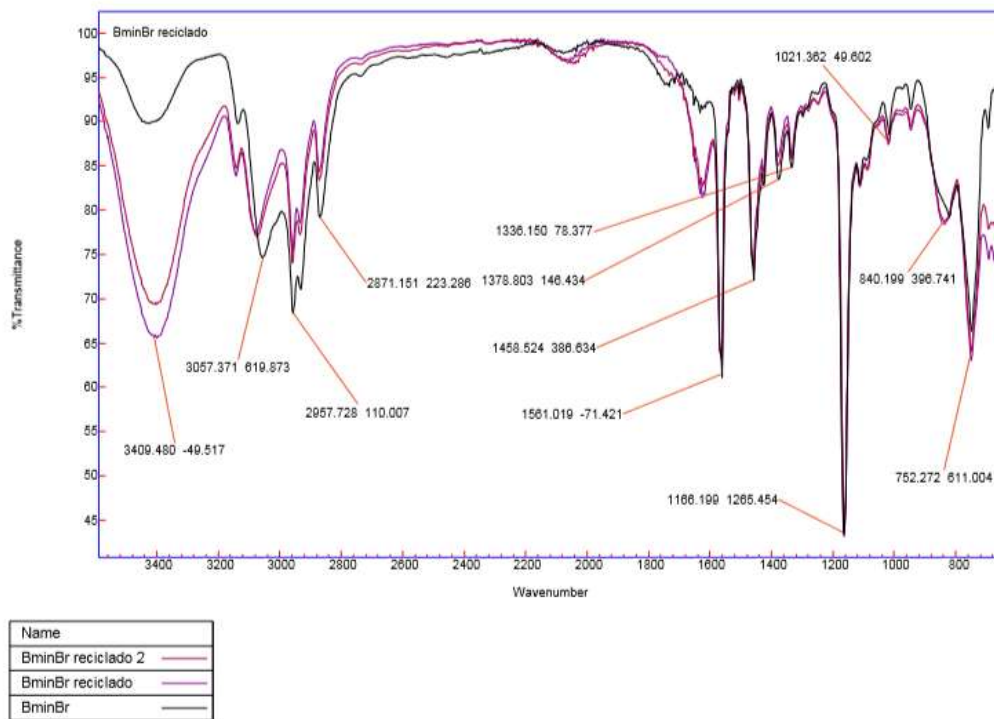


Figura 53. Espectro do Infravermelho do brometo de 1-n-butil-3-metil-imidazol ([BMIM] [Br]) recuperado

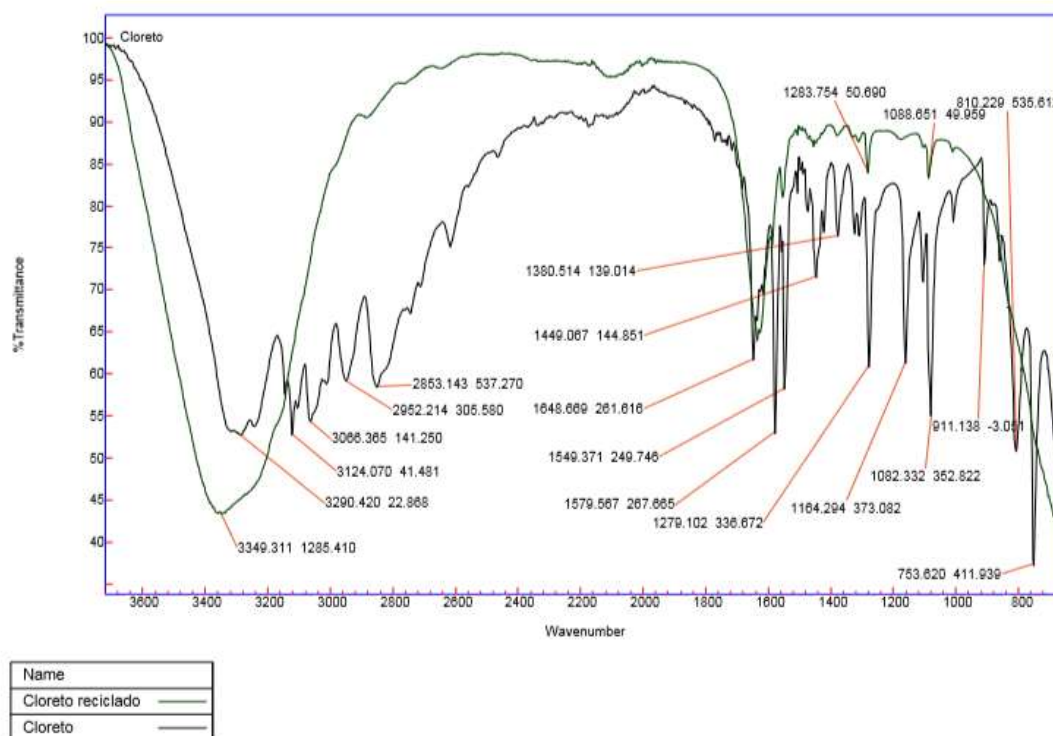


Figura 54. Espectro do infravermelho do com cloreto de n-metil-imidazol [HMIm][Cl] recuperado

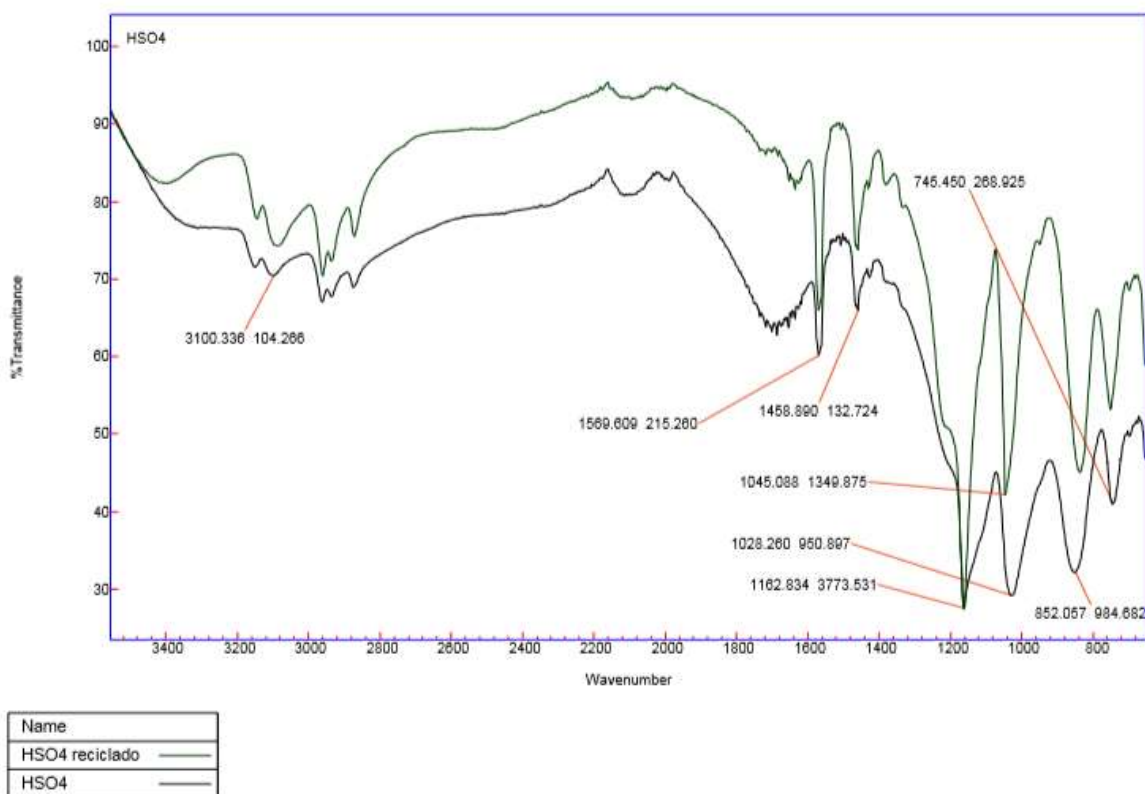


Figura 55. Espectro do infravermelho do hidrogenossulfato de 1-butil-3-metil-imidazol [Bmim HSO4] recuperado