

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA E BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL**

CLARISSA FLEURY ROCHA

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA POLPA CELULÓSICA DE *Eucalyptus dunnii* para oportunidades de biorrefinaria

DISSERTAÇÃO

**CURITIBA
2015**

CLARISSA FLEURY ROCHA

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA POLPA CELULÓSICA DE *Eucalyptus dunnii* para oportunidades de biorrefinaria

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental, do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Área de concentração: Controle e Monitoramento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. José Domingos Fontana

Dr. Washington Luiz Esteves Magalhães - Embrapa

**CURITIBA
2015**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

R672h Rocha, Clarissa Fleury
2015 Hidrólise enzimática da polpa celulósica de *Eucalyptus dunnii* para oportunidades de biorrefinaria / Clarissa Fleury Rocha.-- 2015.

73 f.: il.; 30 cm

Texto em português, com resumo em inglês.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Curitiba, 2015.

Bibliografia: f. 67-73.

1. Hidrólise. 2. Enzimas. 3. *Eucalyptus dunnii*. 4. Polpação Alcalina por sulfato. 5. Álcool como combustível. 6. Papel - Indústria. 7. Lignocelulose - Biotecnologia. 8. Microscopia. 9. Tecnologia ambiental - Dissertações. I. Oliveira, Paulo Roberto de, orient. II. Fontana, José Domingos, coorient. III. Magalhães, Washington Luiz Esteves, coorient. IV. Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental. V. Título.

CDD 22 -- 363.7

TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação nº 52

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA POLPA CELULÓSICA NÃO BRANQUEADA DE

Eucalyptus dunnii

Por

CLARISSA FLEURY ROCHA

Dissertação apresentada às 14:00 horas do dia 31 de março de 2015, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS, na área de concentração Tecnologias e Processos Ambientais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Curitiba. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Paulo Roberto de Oliveira (Orientador)
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

Dr a. Patrícia Raquel Silva Zanoni
Embrapa - Florestas

Prof. Dr. Pedro Ramos Costa Neto
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

Prof. Dr. Washington Luiz Esteves Magalhães (Coorientador)
Embrapa - Florestas

Prof. Dr. José Domingos Fontana (Coorientador)
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

Visto da Coordenação:

Prof. Dr. Fernando Hermes Passig
Coordenador do PPGCTA

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa”

Dedico esta dissertação a minha família, minhas avós queridas, **Arice** e, *in memoriam*, **Julita**, meus pais, **Terezinha** e **Rubem**, e meus irmãos **Esther** e **Rubem**, com todo meu amor e dedicação.

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por estar sempre ao meu lado, em todos os momentos;

Ao orientador **Paulo Roberto de Oliveira** pela oportunidade concedida em realizar este estudo;

Aos coorientadores **Washington Magalhães** e **José Domingos Fontana** por colaborarem com o desenvolvimento do trabalho;

À **EMBRAPA** pela concessão das análises desenvolvidas, recursos disponibilizados e abertura para participação de sua equipe de estudo;

Ao grupo de estudo da **EMBRAPA** pelo conhecimento compartilhado e atenção às nossas necessidades e dúvidas: **Washington Magalhães, Patrícia Silva, Fabrício Hansel, Cristiane Helm, Edson Lima, Elaine Cristina Lengowski, Tamires Oliveira, Priscila Higuti, Naiara Fiori, Tielidy Lima e Dayanne Andrade;**

Agradecimento especial aos professores **Pedro Ramos Costa Neto** e **Josmaria Moraes** pela amizade e colaboração direta com o trabalho;

À **UFPR**, em especial ao **Programa de Pós-Graduação de Engenharia Florestal**, por disponibilizar o espaço físico e os materiais para a realização de parte do trabalho;

À **UTFPR**, em especial ao **Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia**, por disponibilizar o espaço físico e os materiais para a realização do trabalho.

“Se enxerguei mais longe foi porque eu estava sobre os ombros de gigantes”.
(Isaac Newton).

ROCHA, Clarissa Fleury. **Hidrólise enzimática da polpa celulósica de *Eucalyptus dunii* para oportunidades de biorrefinaria.** 2015. 73 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Departamento Acadêmico de Química e Biologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2015.

RESUMO

A produção de etanol em indústrias de polpação de celulose é uma proposta importante para o desenvolvimento econômico do país e que desafia pesquisadores a buscar tecnologias mais eficientes que viabilizem a transformação dessas indústrias em biorrefinarias. Há necessidade de serem estudadas e viabilizadas novas fontes e novos processos de obtenção de etanol, sendo que uma das alternativas é a utilização de materiais lignocelulósicos. O presente trabalho visa realizar a hidrólise enzimática de polpa Kraft não branqueada da indústria de papel e celulose com posterior uso do produto das hidrólises para a formação de papel. A hidrólise enzimática foi realizada com o *cocktail* de enzimas Cellic® CTec2 a 6% em incubadora sob a temperatura de 50 °C, pH 5,0-5,5 e 250 rpm. As amostras foram preparadas em triplicata utilizando a relação de 1,5 gramas de polpa celulósica para 10 mL de solução tampão previamente esterilizada. Na hidrólise foram testados diferentes tempos de 0,5 h, 1 h, 1,7 h, 3 h, 6 h, 16 h, 24 h, 48 h e 72 h de incubação. O produto sólido das hidrólises foi utilizado para a formação de papel e o líquido foi separado para a determinação dos açúcares por cromatografia de troca aniônica. Para os maiores tempos de hidrólise obteve-se uma maior conversão de polpa celulósica em glicose (34,6%) e xilose (47,2%), respectivamente. Tanto para o papel branqueado quanto para o não branqueado ocorreu uma redução na resistência à tração (43,2% e 51,3%, respectivamente), ao estouro (41,8% e 16,2%) e ao rasgo (82,4% e 82,3%, respectivamente) do papel comparada a polpa in natura quando a polpa utilizada passa por um tempo maior de hidrólise (6 h). Para a produção de papel, os tempos ideais foram os menores, até 3 horas. Para a fabricação do papel após hidrólise em tempos maiores, deve-se adicionar até 20% com polpa celulósica não hidrolisada. Com a utilização da microscopia óptica observou-se claramente que após 6 horas de hidrólise enzimática ocorre a degradação visível da fibra de celulose.

Palavras-chave: hidrólise enzimática; glicose; papel.

ROCHA, Clarissa Fleury. **Hidrólise enzimática da polpa celulósica de *Eucalyptus dunii* para oportunidades de biorrefinaria.** 2015. 73 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Departamento Acadêmico de Química e Biologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2015.

ABSTRACT

The production of ethanol from cellulose pulping industries is an important proposal for the country's economic development and that challenges researchers to seek more efficient technologies that enable the transformation of these industries in biorefineries. There needs to be studied and made possible new sources and new processes to obtain ethanol, and one of the alternatives is the use of lignocellulosic material. This study aims to carry out the enzymatic hydrolysis of Kraft unbleached pulp of the pulp and paper industry with subsequent use of the product of hydrolysis to form paper. The enzymatic hydrolysis was performed with the enzyme cocktail Cellic® CTec2 to 6% in an incubator under the temperature of 50 ° C, pH 5.0-5.5 and 250 rpm. Samples were prepared in triplicate using the ratio of 1.5 grams of pulp into 10 ml of sterile buffer solution beforehand. In the hydrolysis were tested different times of 0.5 h, 1 h, 1.7 h, 3 h, 6 h, 16 h, 24 h, 48 h and 72 h incubation. The solid product of hydrolysis was used for forming the paper and the liquid was separated for the determination of sugars by anion exchange chromatography. For larger hydrolysis times was obtained a higher conversion pulp into glucose (34.6%) and xylose (47.2%), respectively. Both for bleached paper and for the unbleached was a decrease in tensile strength (43.2% and 51.3%, respectively), the overflow (41.8% and 16.2%) and the groove (82, 4% and 82.3% respectively) compared to the paper pulp in nature when the pulp passes used by a higher hydrolysis time (6 h). For paper production, the ideal times were minor, up to 3 hours. For the manufacture of paper after hydrolysis times higher, one must add up to 20% unhydrolyzed cellulosic pulp. Using optical microscopy clearly be observed that after 6 hours of enzymatic hydrolysis occurs visible degradation of the cellulose fiber.

Palavras-chave: enzymatic hydrolysis; glucose; paper.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Esquema de uma biorrefinaria de papel e celulose.....	15
FIGURA 2. Esquema de ação sinérgica das celulasas.....	17
FIGURA 3. Celulose: polímero de unidade β -D-glicopiranoses ligadas por ligações glicosídicas β -1 \rightarrow 4. A unidade estrutural dimérica que se repete é a celobiose (n entre 4000 e 5000).....	20
FIGURA 4. Imagem de regiões cristalinas e regiões amorfas na estrutura da celulose.....	21
FIGURA 5. Imagem de reação intramolecular da glicose.....	22
FIGURA 6. Imagem de polímero de celulose com as ligações de hidrogênio intra e intercelulares.....	23
FIGURA 7. Imagem de ligações polioses (hemiceluloses) com celulosas (microfibrilas).....	24
FIGURA 8. Representação estrutural dos principais açúcares (monossacarídeos) constituintes das hemicelulosas das madeiras: (a) β -D-Glicose; (b) β -D-Manose; (c) β -D-Galactose; (d) β -D-Xilose; (e) β -L-Arabinose; (f) Ácido α -D-4-O-Metilglucurônico.....	25
FIGURA 9. Ilustração de unidades estruturais (monômeros) constituintes de lignina.....	25
FIGURA 10. Fluxograma das etapas realizadas para obtenção de açúcares fermentescíveis e papel.....	31
FIGURA 11. Imagem do equipamento de cromatografia de troca aniônica usado para a determinar os carboidratos.....	34
FIGURA 12. Foto do aparelho Soxhlet para o processo de extração.....	37
FIGURA 13. Fluxograma das etapas realizadas para a produção de papel.....	39
FIGURA 14. Foto de estação formadora de folhas tipo Rapid-Köethen.....	42
FIGURA 15. Foto de folhas confeccionadas não branqueada e branqueada.....	42
FIGURA 16. Esquema da retirada de corpos de prova nas folhas para a realização dos ensaios.....	43
FIGURA 17. Foto de conjunto de equipamentos para realização dos ensaios: a) equipamentos para teste de gramatura; b) pêndulo Elmendorf; c) dinamômetro; d) aparelho para resistência ao arrebentamento.....	45
FIGURA 18. Gráfico da concentração de glicose e xilose por tempo de hidrólise.....	50
FIGURA 19. Difratoograma de raios-x de fibras de celulose em relação ao tempo de hidrólise.....	51
FIGURA 20. Índice de Cristalinidade de pasta de celulose não branqueada vs tempo de hidrólise.....	

	53
FIGURA 21. Gráfico de correlação das conversões de polpa celulósica em glicose e xilose.....	54
FIGURA 22. Gráfico do índice de tração vs tempo de hidrólise.....	56
FIGURA 23. Gráfico do índice de rasgo vs tempo de hidrólise.....	57
FIGURA 24. Gráfico do índice de arrebatamento vs tempo de hidrólise do papel.....	58
Figura 25. Gráfico da viscosidade da pasta de celulose vs tempo de hidrólise.....	59
Figura 26. Gráfico do grau de Schopper Riegler vs tempo de hidrólise do papel.....	60
Figura 27. Imagens de transmissão de fibra de polpa celulósica <i>in natura</i>	61
Figura 28. Imagens de transmissão de fibra de polpa celulósica hidrolisada por 1 hora.....	62
Figura 29. Imagens de transmissão de fibra de polpa celulósica hidrolisada por 3 horas.....	62
Figura 30. Imagens de transmissão de fibra de polpa celulósica hidrolisada por 6 horas.....	63
Figura 31. Imagens de transmissão de fibra de polpa celulósica hidrolisada por 16 horas.....	63

TABELAS

Tabela 1. Sequência de branqueamento da polpa celulósica.....	40
Tabela 2. Parâmetros de controle utilizados na confecção das folhas de papel.	42
Tabela 3. Procedimentos utilizados na avaliação das características físicas e mecânicas do papel.....	44
Tabela 4. Composição de polpa celulósica não branqueada de <i>Eucalyptus dunnii</i>	48
Tabela 5. Composição de polpas kraft de <i>Eucalyptus urograndis</i>	48
Tabela 6. Esquema de composição de diferentes biomassas.....	49
Tabela 7. Concentração de açúcares com relação ao tempo de hidrólise da polpa celulósica.....	49
Tabela 8. Difratoograma de raios-x de fibras de celulose.....	52
Tabela 9. Resultados dos ensaios de tração, rasgo e arrebetamento para as polpas não branqueadas.....	55
Tabela 10. Resultados dos ensaios de tração, rasgo e arrebetamento para as polpas branqueadas.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

SHF	- Hidrólise e Fermentação Separadas
SSF	- Sacarificação e Fermentação Simultâneas
SSCF	- Sacarificação e Co-Fermentação Simultâneas
[Emim] [Ac]	- Acetato de 1- etil-3-metilimidazólio
Ca(OH)₂	- Hidróxido de cálcio
SO₂	- Dióxido de Enxofre
NaOH	- Hidróxido de sódio
H₂SO₄	- Ácido sulfúrico
mg	- Miligrama
mL	- Mililitro
°C	- Graus Celsius
V	- Volts
mM	- Milimolar
mg L⁻¹	- Miligrama por litro
KMnO₄	- Permanganato de potássio
C_{lignina}	- Concentração de lignina (g/L)
ABS₂₀₅	- Absorbância do hidrolisado contendo a lignina, em 205 nm
ε_{lignina}	- Absortividade para a lignina a 205 nm
DRX	- Difração de raios-x

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 CONTEXTUALIZAÇÃO TEÓRICA	12
3.1 PRODUÇÃO DE ETANOL LIGNOCELULÓSICO.....	12
3.2 VISÃO GERAL DA PRODUÇÃO DE ETANOL LIGNOCELULÓSICO	16
3.3 Espécies de Eucalyptus.....	19
3.4 ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS.....	20
3.4.1 Holocelulose	20
3.4.2 Celulose	20
3.4.3 Hemiceluloses	23
3.4.4 Lignina	25
3.4.5 Extrativos	26
3.4.6 Materiais Inorgânicos.....	26
3.5 PRODUÇÃO DE PAPEL E CELULOSE	26
4 METODOLOGIA	31
4.1 POLPA CELULÓSICA	32
4.2 CARACTERIZAÇÃO DA POLPA CELULÓSICA	32
4.2.1 Hidrólise Ácida Total	32
4.2.2 Determinação dos carboidratos por Cromatografia de Troca Aniônica.....	33
4.2.3 Determinação do número <i>kappa</i> da polpa	34
4.2.4 Teor de cinzas	35
4.2.5 Extrativos Totais.....	36
4.2.6 Lignina Solúvel	37
4.3 SACARIFICAÇÃO ENZIMÁTICA	38
4.4 PRODUÇÃO DE PAPEL	38
4.4.1 Branqueamento.....	40
4.4.2 Formação das folhas	41
4.4.2 Testes físicos e mecânicos	43
4.4.3 Determinação da viscosidade	45
4.4.4 Raio-X e Índice de cristalinidade.....	46
4.4.5 Microscopia Óptica.....	46
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	47
6 CONCLUSÕES	64
7 TRABALHOS FUTUROS	65
8. REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

As indústrias de etanol e papel são de grande importância no mercado. A produção mundial de papel cresceu 35% nos últimos 10 anos (MARCO, 2011). As previsões para a produção de álcool no mundo em 2015 chegam a 100 bilhões de litros (MARCO, 2011; GEHLEN, 2013). Esses dados indicam que é crescente a demanda desses produtos no mercado consumidor, e em consequência haverá necessidade de expandir as fontes de matéria-prima.

Em relação ao etanol, existem pesquisas importantes para viabilizar novas fontes de obtenção, como por exemplo, o processo de produção de etanol de segunda geração. Neste caso o combustível é obtido a partir de materiais lignocelulósicos. A produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos tem o diferencial de poder aproveitar resíduos industriais como o bagaço de cana-de-açúcar, a palha de trigo e a serragem como matéria-prima para sua produção. No entanto, este processo apresenta alguns desafios principalmente quando se refere aos custos da liberação dos açúcares presentes nas estruturas da celulose e hemicelulose, o tempo de hidrólise e a posterior necessidade de concentração da solução adquirida (WANG et al., 2012; SILVA, 2010; BHAT, 2000).

Assim, é importante ressaltar a necessidade do avanço das tecnologias utilizadas para a produção de etanol de segunda geração para incentivar o uso desses resíduos lignocelulósicos. Além disso, a transformação dessa biomassa em etanol poderia aumentar a produção deste sem a necessidade de novas áreas de plantações de matéria-prima. Segundo HUANG e RAMASWAMY (2010), a biomassa proveniente de resíduos agrícolas (palha de milho, palha de arroz e palha de trigo) e florestais é muito abundante no mundo. Nos EUA, por exemplo, 1,3 bilhões de toneladas secas de biomassa podem estar disponíveis a cada ano com mudanças relativamente modestas no uso da terra e práticas agrícolas e florestais (HUANG e RAMASWAMY, 2010).

O conceito de biorrefinaria é análogo ao das atuais refinarias de petróleo, as quais produzem uma variedade de combustíveis e produtos químicos a partir do petróleo in natura (SILVA, 2010). As biorrefinarias industriais têm sido identificadas como as rotas mais promissoras para a criação de um novo segmento industrial com

base nas matérias-primas renováveis. A realidade nacional se encaixa perfeitamente neste conceito, graças a diversidade de recursos naturais aqui existentes e a vocação do país para estes desenvolvimentos (SANTOS, 2012).

A modificação das modernas fábricas de celulose em biorrefinarias apresenta uma excelente oportunidade para produzir, além de fibra de celulose, subprodutos que podem contribuir para os lucros com potencial mais baixo de emissões de gases de efeito estufa. Devido à infraestrutura atual, os custos incrementais para concretizar uma biorrefinaria comercial podem ser minimizadas (HUANG e RAMASWAMY, 2010).

FORNELL et al. (2013) estudou o reaproveitamento de uma fábrica de celulose kraft, em que a pasta de celulose é enviada para a linha de etanol, enquanto o licor é gaseificado e refinado a éter dimetílico. Os resultados indicaram que o processo pode ser viável economicamente e autossuficiente em termos energéticos.

Neste trabalho, será realizada a hidrólise enzimática da polpa celulósica não branqueada de *Eucalyptus dunnii*, pré-tratada pelo método kraft, em vários tempos visando avaliar a viabilidade de produção de etanol a partir da conversão de polpa celulósica em açúcares e a produção de papel pela avaliação das propriedades físicas do material sólido obtido.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a hidrólise enzimática da polpa celulósica kraft não branqueada de *Eucalyptus dunnii*, em vários tempos visando avaliar a viabilidade de produção de etanol a partir da conversão de polpa celulósica em açúcares e a produção de papel pela avaliação das propriedades físicas do material sólido obtido.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição da polpa celulósica não branqueada de *Eucalyptus dunnii*;
- Realizar a hidrólise enzimática da polpa celulósica em diferentes tempos;
- Produzir e caracterizar os papéis branqueados e não branqueados obtidos;
- Identificar e quantificar os monossacarídeos obtidos nos diferentes procedimentos de hidrólise;
- Avaliar a eficiência da hidrólise com relação à produção de bioetanol;
- Avaliar as características físicas dos diferentes papéis obtidos em comparação com o papel obtido a partir da polpa celulósica não hidrolisada.

3 CONTEXTUALIZAÇÃO TEÓRICA

3.1 PRODUÇÃO DE ETANOL LIGNOCELULÓSICO

A produção dos biocombustíveis tem apresentado uma notável expansão nos últimos anos principalmente pela demanda por fontes de energia de menor impacto ao meio ambiente. A produção mundial de biocombustíveis somou em 2008 cerca de 80 bilhões de litros (RODRIGUES, 2011).

Entre os biocombustíveis existentes, o etanol é um dos mais promissores por ter potencial para substituir a gasolina em meios de transporte (REYES et al., 2013). Além disso, a queima do etanol comparada a gasolina reduz as emissões de carbono em mais de 80% (MUSSATTO et al., 2010).

Os EUA são o maior produtor de etanol do mundo e cresceu de produção de 1,02 bilhões de litros em 1980 para cerca de 49 bilhões de litros em 2010 (MOCHIZUKI et al., 2015). Os incentivos governamentais são os principais impulsionadores da produção de etanol no mundo (MUSSATTO et al., 2010). No Brasil o setor sucroalcooleiro se consolidou devido ao histórico incentivo governamental à produção de etanol a partir de cana-de-açúcar, e mais recentemente a criação de carros *flex-fuel* impulsionou ainda mais este setor (ROCHA e GNOATTO, 2008).

Dentro desse contexto, a procura por novas fontes de biomassa para a produção de etanol é muito atrativa para expandir ainda mais a produção desse combustível (ROCHA e GNOATTO, 2008). Nesse sentido, o etanol de segunda geração desperta o interesse de grandes produtores mundiais, uma vez que este pode ser obtido a partir de qualquer material lignocelulósico como resíduos agroindustriais (bagaço de cana-de-açúcar e palha de trigo) e de indústrias de polpação (ROCHA e GNOATTO, 2008; SANTOS, 2011).

A produção comercial em grande escala do etanol de segunda geração ainda está na fase inicial principalmente porque encontrou dificuldades devido aos custos utilizando as tecnologias atuais para a conversão de materiais lignocelulósicos em açúcares fermentáveis. Entretanto, este cenário deve mudar com o desenvolvimento, aplicação e domínio de tecnologias mais eficientes de obtenção desses açúcares (EL-TAYEB et al., 2012).

A GranBio, empresa de biotecnologia industrial 100% brasileira, iniciou produção na primeira fábrica de etanol de segunda geração em escala comercial do Hemisfério Sul. A Bioflex 1, unidade construída em São Miguel dos Campos, Alagoas, tem capacidade inicial de produção de 82 milhões de litros de etanol por ano. O etanol da GranBio é o combustível produzido em escala comercial mais limpo do mundo em intensidade de carbono - 7,55 gCO₂/MJ, da Califórnia. O cálculo leva em conta as emissões de CO₂ desde a coleta da matéria-prima, passando pelos insumos e consumo de energia, até o transporte e distribuição em porto da Califórnia. Nenhum outro combustível produzido em larga escala é mais vantajoso para o meio ambiente e para reversão das mudanças climáticas que o da GranBio, primeira produtora de etanol de segunda geração a ter a pegada de carbono aprovada pelo órgão americano (GRANBIO, 2015).

Além disso, independentemente da rota tecnológica, é importante salientar o enorme peso que o custo da biomassa tem sobre o custo final do bioetanol. Em geral, estimativas realizadas para os países do hemisfério norte indicam que o custo da biomassa representa cerca de 40% do custo do bioetanol, e grande parte das reduções do custo do biocombustível para o futuro se baseia na redução do valor da biomassa. Evidentemente, isso cria grandes expectativas quando se considera algumas regiões do planeta, para as quais existem opções de biomassa com custos bem mais baixos, como por exemplo, a cana-de-açúcar no Brasil, ou de resíduos agroflorestais, como os da indústria de celulose (SILVA, 2010).

Ademais, o processo de conversão do material lignocelulósico abre possibilidades diretas em inúmeros setores, tais como, a álcoolquímica, em comparação à cadeia petroquímica, indústria alimentícia com a produção de novos adoçantes e açúcares, produtos químicos diversos como solventes, adesivos, emulsificantes, entre outros. De forma indireta, as inovações em etanol de segunda geração, através da sobreposição e da alta correlação com diversas áreas do conhecimento, desenvolvimento e de aplicações, permitirão um efeito de transbordamento científico para demais áreas de pesquisa (SOUZA, 2013).

Com isso, os avanços científicos e tecnológicos na obtenção de etanol de segunda geração irão auxiliar a consolidação de uma tecnologia importante para abastecer o mercado mundial de biocombustíveis. A Figura 1 mostra um esquema de uma biorrefinaria de papel e celulose.

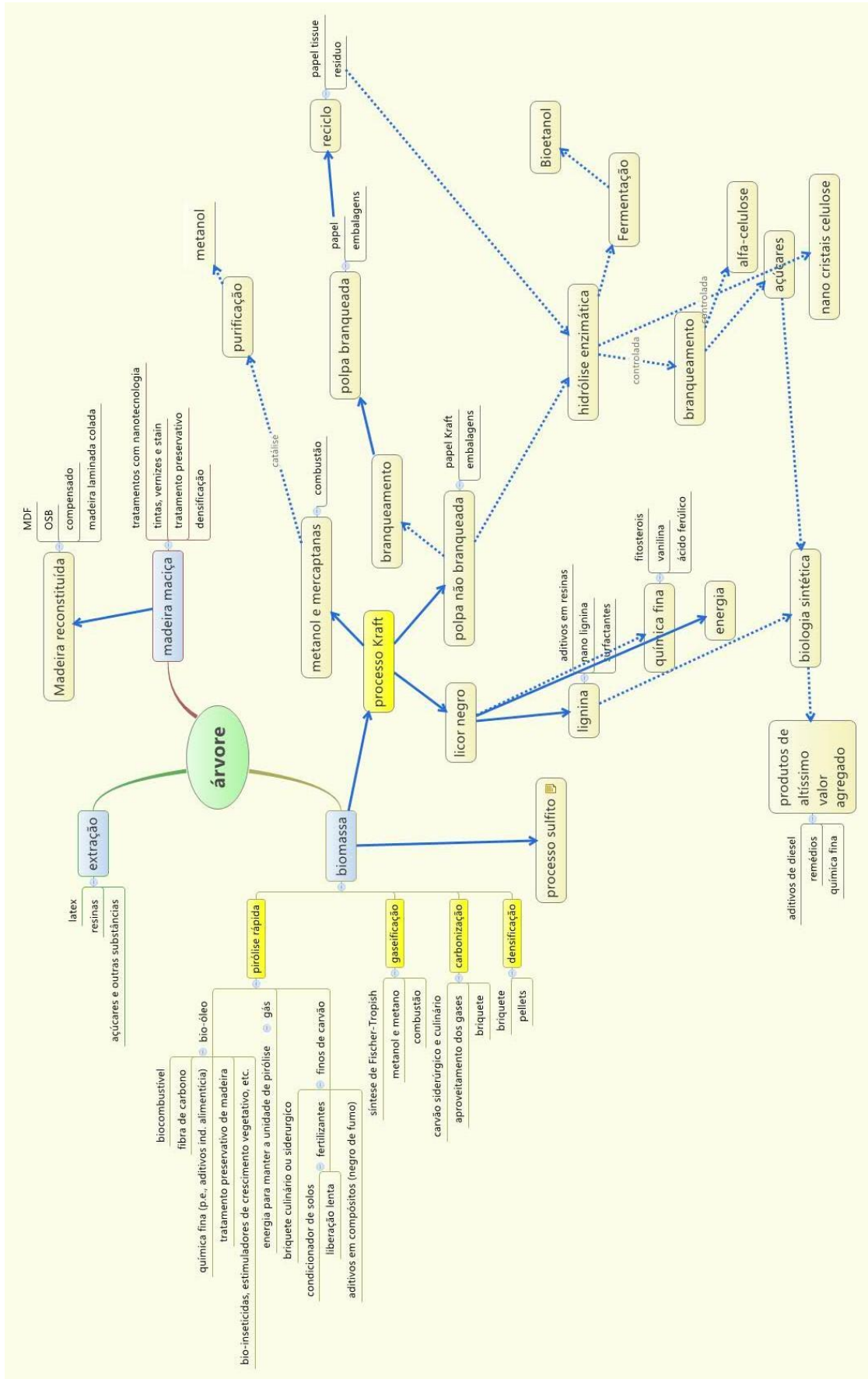


Figura 1. Esquema de uma biorrefinaria de papel e celulose.

3.2 VISÃO GERAL DA PRODUÇÃO DE ETANOL LIGNOCELULÓSICO

As matérias-primas lignocelulósicas são compostas principalmente por celulose (40 – 60%, em média), hemicelulose (20 - 40%) e lignina (10 – 25 %) (SILVA, 2010). A celulose e a hemicelulose presentes nos materiais lignocelulósicos estão intimamente associados à lignina na parede da célula da planta. O componente de lignina atua como uma barreira física e deve ser removido no pré-tratamento para tornar os hidratos de carbono disponíveis para outros processos de hidrólise (BELAL, 2013).

Diferentemente do caso das matérias-primas açucaradas, os açúcares não estão prontamente disponíveis para conversão a etanol. Estes precisam ser liberados através de um processo de hidrólise (SILVA, 2010). A produção de etanol a partir de matérias-primas lignocelulósicas envolve as etapas de pré-tratamento, hidrólise, fermentação e purificação.

O pré-tratamento é importante na remoção da lignina e da hemicelulose, para facilitar o posterior ataque enzimático na celulose. Em geral, existem três tipos de pré-tratamentos: *i*) físicos: moagem do material bruto; *ii*) químicos: utilização de ácidos diluídos (sulfúrico ou clorídrico) ou peróxido de hidrogênio em meio alcalino; e *iii*) físico-químicos: explosão a vapor, na qual a biomassa é tratada com alta pressão de vapor saturado, utilizando como catalisador o ácido sulfúrico, sulfatos, dióxido de carbono ou amônia e o tratamento biológico, tais como a enzima de conversão microbiana (BRAGATTO, 2010; SILVA, 2010; MONVARI et al., 2009; VIRKAJARVI et al., 2009; PEREZ et al., 2008 WYMAN et al., 2005; BELAL, 2013).

A hidrólise pode ocorrer com o auxílio de agentes químicos (como o ácido sulfúrico) ou enzimáticos. Normalmente, a escolha pela hidrólise enzimática ocorre pela alta especificidade, o que elimina a ocorrência de furfurais e derivados da lignina, que seriam produzidos na hidrólise ácida da celulose. Justamente pela especificidade das enzimas, a sacarificação pode ser destinada a celulose e/ou a hemicelulose de acordo com o objetivo da pesquisa (SILVA, 2010).

A hidrólise enzimática da celulose é realizada com celulasas, que são enzimas que hidrolisam a β -(1 \rightarrow 4) ligações em condições brandas de pressão, temperatura e pH (SANTOS, 2012). Para a sacarificação da celulose são necessárias três enzimas que atuam sinergeticamente em um sistema de enzimas compostos na hidrólise da

celulose: endoglucanase, celobiohidrolase (exoglucanases) e celobiase (β -glucosidases) (CAO e TAN, 2002). As endoglucanases são responsáveis pela catálise da hidrólise das cadeias de celulose produzindo polissacarídeos de menor comprimento. As exoglucanases catalisam especificamente as terminações não redutoras dessas cadeias mais curtas, originando a celobiose. Por fim, as β -glucosidases, catalisam a hidrólise da celobiose e de outros oligômeros gerando a glicose. A β -glucosidase não é de fato uma celulase, mas tem papel fundamental no processo de hidrólise (SILVA, 2010; OGEDA e PETRI, 2010; HAMELINCK, 2005). A Figura 2 ilustra a ação sinérgica entre as enzimas do complexo celulolítico.

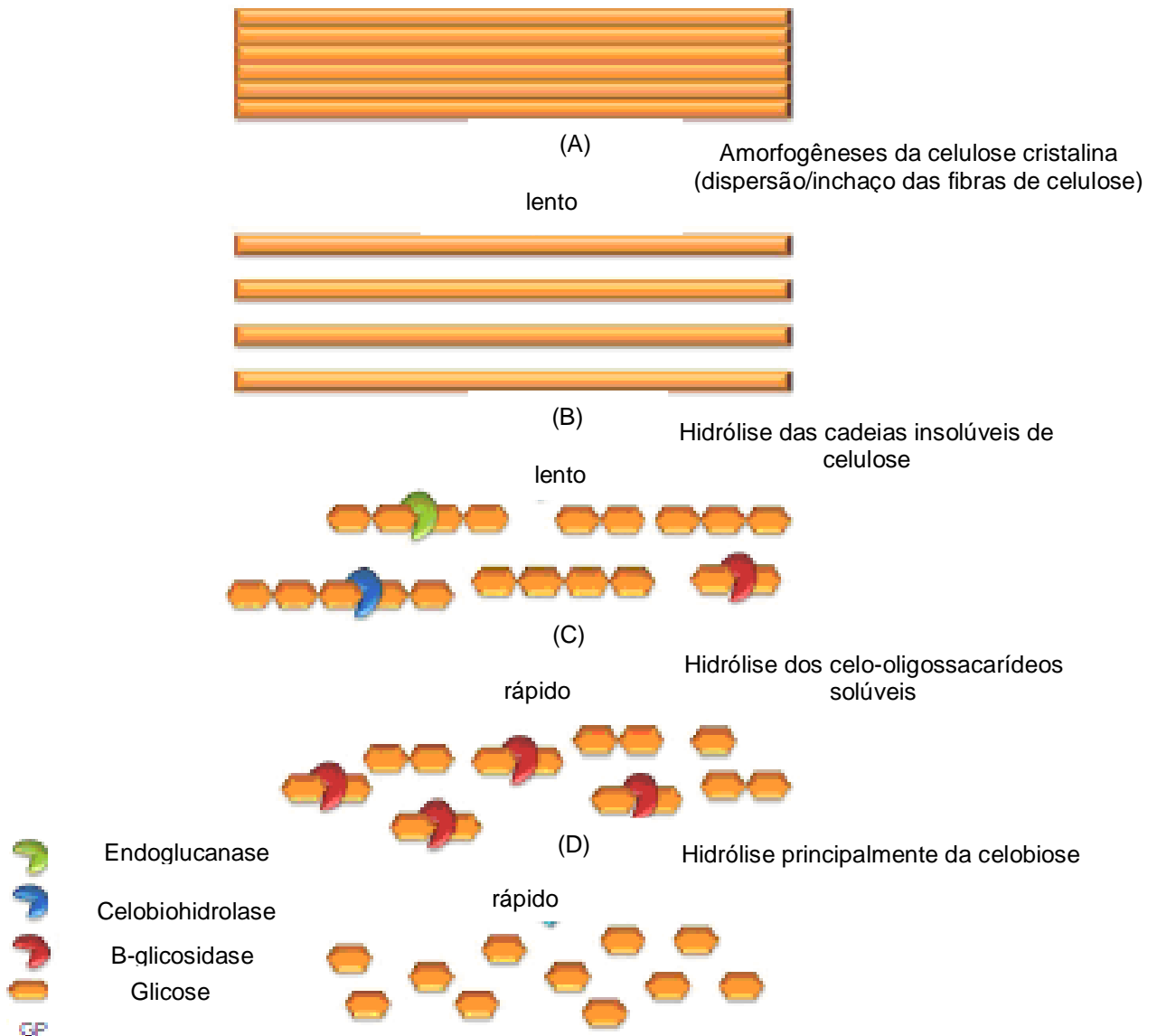


Figura 2. Esquema de ação sinérgica das celulases (FLORENCIO, 2011).

Na degradação da hemicelulose são utilizadas nove enzimas hemicelulases diferentes que resultam na obtenção de L-arabinose, D-xilose, L-fucose, D-galactose, ácido D-glucurônico, resíduos acetil e os ácidos p-cumárico e ferúlico (GOUVÊA, 2013).

Na fase de fermentação, os açúcares liberados nas etapas posteriores passam pela ação de um micro-organismo para a produção do etanol. Esta técnica é a mesma que já vem sendo empregada para a conversão dos açúcares da cana-de-açúcar em etanol. A diferença está no tipo de açúcares liberados. No caso da cana-de-açúcar, os monossacarídeos a serem fermentados são basicamente hexoses. Já no caso das matérias-primas lignocelulósicas, o hidrolisado contém também outros tipos de açúcares devido a sua estrutura. Enquanto a hidrólise da celulose fornece apenas hexoses (glicose), a da hemicelulose fornece não somente hexoses (glicose, manose e galactose), mas também pentoses (xilose e arabinose) (SILVA, 2010; MONVARI et al., 2009; VIRKAJARVI et al., 2009; PEREZ et al., 2008 WYMAN et al., 2005).

Com relação às configurações do processo de obtenção de etanol, existem a Hidrólise e Fermentação Separadas (“Separate Hydrolysis and Fermentation” - SHF), na qual a hidrólise da celulose e a subsequente fermentação da glicose são realizadas em reatores diferentes; a Sacarificação e Fermentação Simultâneas (“Simultaneous Saccharification and Fermentation” - SSF), na qual há a integração da hidrólise da celulose e da fermentação em um único reator; a Sacarificação e Co-fermentação Simultâneas (“Simultaneous Saccharification and Co-fermentation” - SSCF), em que a fermentação das pentoses é feita conjuntamente com os outros dois processos (fermentação das hexoses e hidrólise da celulose); e finalmente a Bioprocesso Consolidado (“Consolidated Bioprocessing”), que integraria todas as etapas de caráter biológico do processo, inclusive a produção das enzimas, em um único reator e preferencialmente por somente uma comunidade de micro-organismos (SILVA, 2010; OGEDA e PETRI, 2010; BALLESTEROS et al., 2002).

Entre as técnicas citadas, as SHF e SSF são as mais utilizadas. Após a etapa de fermentação, o etanol segue para a etapa de purificação que normalmente é realizada por destilação.

3.3 Espécies de *Eucalyptus*.

As espécies de *Eucalyptus* são amplamente cultivadas em quase todas as partes do mundo, estando adaptadas às mais diferentes condições de clima e solo. O gênero *Eucalyptus* é nativo da Austrália e regiões próximas, como Timor, Indonésia, Papua Nova Guiné, Molucas, Irian Jaya e sul das Filipinas. O *Eucalyptus* possui muitas espécies, subespécies, e alguns híbridos naturais, sendo também notórias as variedades fenotípicas intraespecíficas decorrentes de condições ambientais ou da hibridação (SANTOS, 2012).

Investimentos de empresas nacionais do segmento de Papel e Celulose aumentaram a área plantada de eucalipto, sendo que as maiores expansões ocorreram nos estados do Tocantins (37,8%), Mato Grosso do Sul (25,7%), Paraná (16,6%) e Maranhão (9,5%). Grande parte da produção potencial do eucalipto está concentrada na Região Sudeste (59,3%), em função do significativo número de empresas de celulose e papel e siderurgia a carvão vegetal existentes nessa região. No Paraná, a área ocupada por plantios de *Eucalyptus* é de 188.153 ha, correspondente a 3,9% do total de plantios desta espécie no Brasil (BORA, 2013).

Eucalyptus dunnii se apresenta como alternativa potencial para o empreendedor florestal em regiões frias com incidências de geadas, como a região sul do Brasil. A madeira é indicada para lenha, carvão, celulose, moirões, postes e madeira serrada. A sua densidade básica, aos oito anos de idade, foi estimada em $0,48 \text{ g cm}^{-3}$. A análise da composição química mostrou 7,96% de extrativos totais, 7,07% de holocelulose e 21,34% de lignina, proporcionando assim, melhor deslignificação de sua madeira, o que torna o processo de fabricação de celulose mais eficiente e econômico (NAVROSKI, 2011).

No Brasil os plantios comerciais com *E. dunnii* são limitados pela baixa produção de sementes. Como a importação de sementes em grande escala é difícil, os plantios ficam condicionados à disponibilidade de sementes ou de mudas obtidas através da propagação vegetativa. Neste aspecto, analisando diferentes populações de *E. dunnii* no Brasil observou que as maiores percentagens de florescimento ocorreram em latitudes próximas da área de ocorrência natural desta espécie. Constatou-se também que há necessidades de uma temperatura mínima para a iniciação do florescimento dessa espécie (SOUZA, 2006).

3.4 ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

3.4.1 Holocelulose

O termo holocelulose corresponde ao conteúdo total de polissacarídeos da madeira representada pela fração de celulose e hemiceluloses, podendo atingir até 80% de toda porção da madeira (ANDRADE, 2010).

3.4.2 Celulose

A celulose é o principal constituinte químico da madeira (Figura 3), constituindo de 40 a 45% da matéria seca da maioria das madeiras (PEREIRA et al., 2013). Trata-se de um polímero linear, possuindo porções amorfas e cristalinas, formado exclusivamente por moléculas de anidro-glicose unidas por ligações β -(1,4)-glicosídicas (AGUIAR e FERRAZ, 2011). Duas unidades adjacentes formam uma ligação glicosídica através da eliminação de uma molécula de água, que envolve os grupos hidroxílicos dos carbonos 1 e 4. Esta estrutura dissacarídica recebe o nome de celobiose. A celobiose é definida como unidade conformacional mínima da celulose, enquanto a glicose representa tão somente a unidade fundamental das cadeias do homopolímero (ODEGA; PETRI, 2010; ROSA; GARCIA, 2009; PITARELO, 2007).

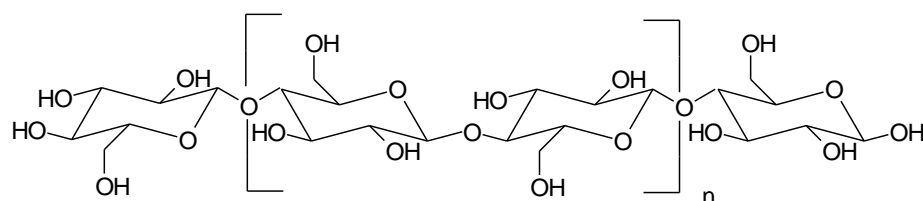


Figura 3. Celulose: polímero de unidades β -D-glicopiranoze ligadas por ligações glicosídicas β -1 \rightarrow 4. A unidade estrutural dimérica que se repete é a celobiose (n entre 4000 e 5000).
Fonte: (Graça, 2006).

As moléculas de celulose (Figura 4) tendem a formar ligações de hidrogênio intramoleculares (entre unidades de glicose da mesma molécula) e intermoleculares (entre unidades de glicose de moléculas adjacentes). O primeiro tipo de interação é responsável por uma certa rigidez da célula unitária e o segundo pela formação da fibra vegetal, ou seja, as moléculas de celulose se alinham, formando as microfibrilas que possuem regiões ordenadas (cristalinas) alternadas com regiões menos ordenadas (amorfas), as quais formam as fibrilas, que por sua vez, se ordenam para formar as sucessivas paredes celulares da fibra de celulose (FERNANDES, 2005).

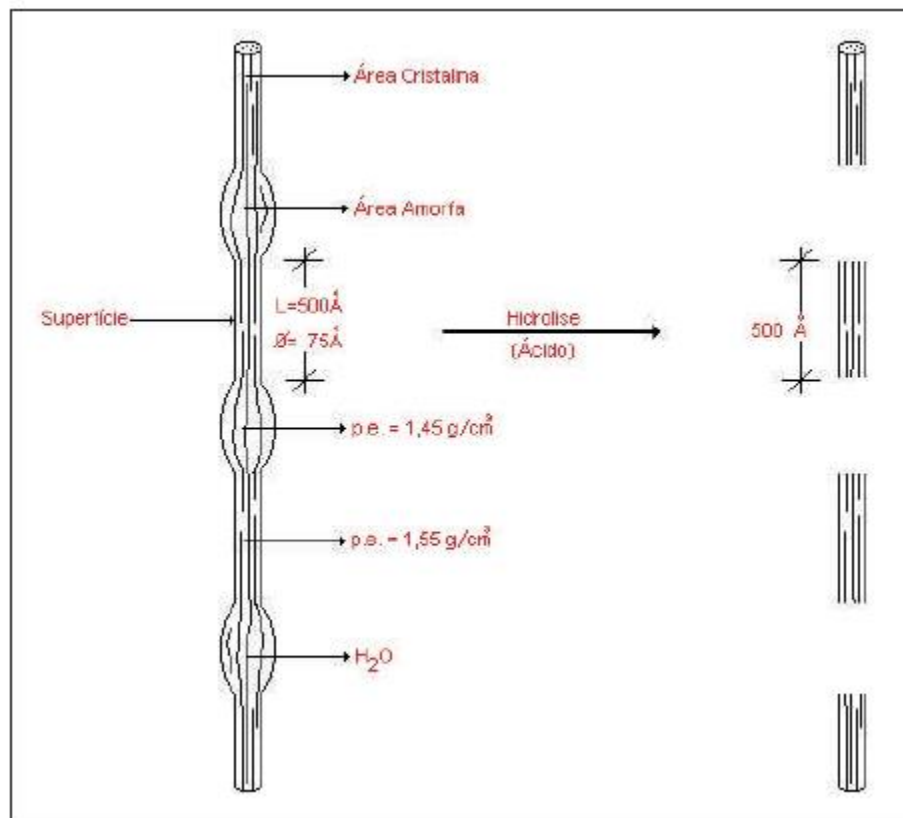


Figura 4. Imagem de regiões cristalinas e regiões amorfas na estrutura da celulose. Fonte: (JARDINE et al., 2009).

A liberdade rotacional da cadeia linear da D-glicose permite que o carbono 1 seja atacado pela hidroxila do carbono 5 (Figura 5), em reação intramolecular que resulta na formação de um hemiacetal. Após a reação de fechamento do anel, as hidroxilas do carbono anomérico (quiral) podem assumir duas possíveis orientações, axial ou equatorial, onde resultam os anômeros α e β . Em solução aquosa, as

formas α e β se interconvertem por abertura e fechamento do anel (mutarrotação) até o momento em que se estabelece um equilíbrio, onde a β -D-glicopiranosose corresponde 62%, a α -D-glicopiranosose a 38% e a forma aberta, a menos de 0,5% (PITARELO, 2007).

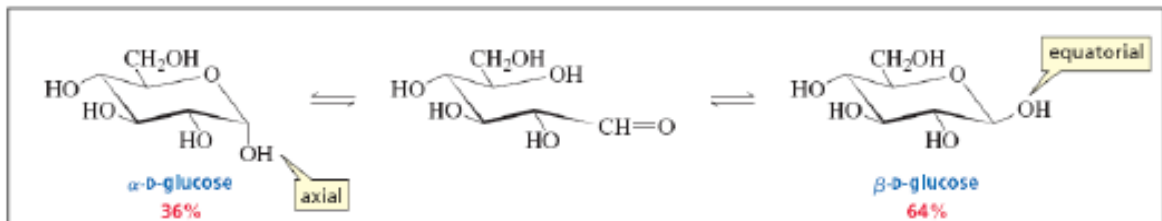


Figura 5. Imagem de reação intramolecular da glicose. Fonte: (CAREY, 2011).

O grau de polimerização da celulose nas madeiras é de ordem de 7000 a 10000, ou seja, o polímero é constituído por um número muito elevado de unidades de β -D-glicopiranosose ligadas entre si por ligações glicosídicas. O comprimento físico destes polímeros de celulose na madeira é da ordem de 5 μm . A linearidade do polímero permite que a celulose se organize tridimensionalmente de forma ordenada num arranjo cristalino. O grande número de ligações intermoleculares, relativamente fortes (ligações de hidrogênio), que se estabelecem entre os polímeros vizinhos dentro da estrutura cristalina, torna estes "cristalitos" de celulose muito resistentes mecanicamente e difíceis de atacar quimicamente (Figura 6). Na madeira, calcula-se que cerca de 50-90% da celulose esteja na forma cristalina, organizada em feixes que constituem as microfibrilas (GRAÇA, 2006).

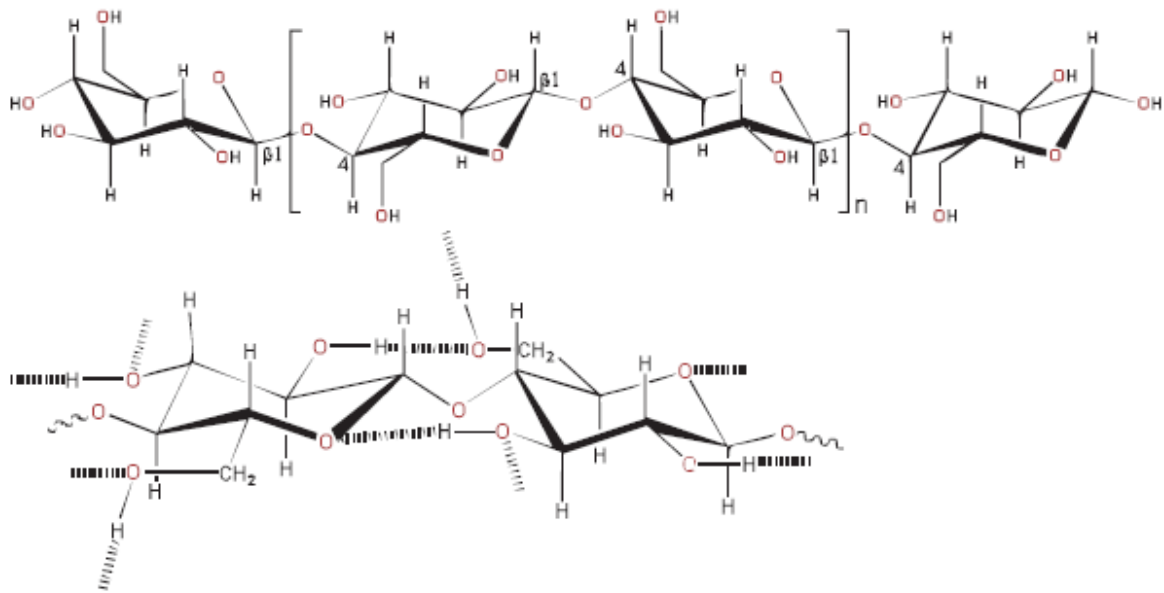


Figura 6. Imagem de polímero de celulose com as ligações de hidrogênio intra e intercelulares.
Fonte: (JARDINE et al., 2009).

3.4.3 Hemiceluloses

As hemiceluloses representam, em média, 20 a 30% da massa seca da madeira (PEREIRA et al., 2013). As hemiceluloses são heteropolissacarídeos com cadeias menores que as da celulose, porém com muitas ramificações (cadeias laterais). As cadeias hemicelulósicas contêm pelo menos dois tipos de monossacarídeos em sua estrutura primária, que podem corresponder a diferentes tipos de hexoses (glicose, manose e galactose), pentoses (xilose e arabinose) e, em alguns casos, ácidos urônicos (Figura 7). As hemiceluloses estão associadas às microfibrilas de celulose por ligações de hidrogênio, e promovem a união das microfibrilas de celulose adjacentes (BRAGATTO, 2010; PERISSOTTO, 2005).

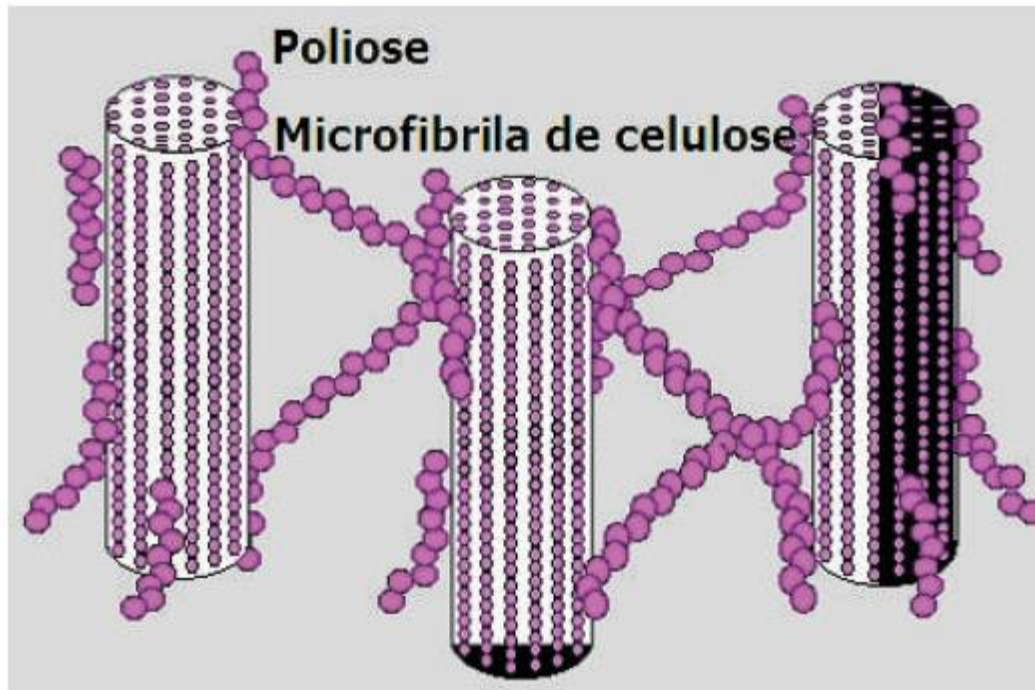


Figura 7. Imagem de ligações polioses (hemiceluloses) com celuloses (microfibrilas).
 Fonte: (JARDINE et al., 2009).

Hemiceluloses isoladas da madeira correspondem a misturas complexas de polissacarídeos unidos por diferentes tipos de ligações, formando estruturas ramificadas e amorfas. O número de monômeros de açúcares ligados nas hemiceluloses, ou grau de polimerização, é baixo em comparação à celulose, com DP's de 50 a 200. Os polissacarídeos mais importantes são as glucuronoxilanas, as galactoglucomananas, as arabinoglucuronoxilanas, as glicomananas e as arabinogalactanas (Figura 8). Assim, deve-se ressaltar que o termo hemicelulose não designa um composto químico definido, mas uma classe de componentes poliméricos presentes em vegetais fibrosos, possuindo cada componente, propriedades específicas e peculiares (ODEGA; PETRI, 2010; DIAS et al., 2009; ROSA; GARCIA, 2009; GRAÇA, 2006; PERISSOTTO, 2005; REYS et al., 2013).

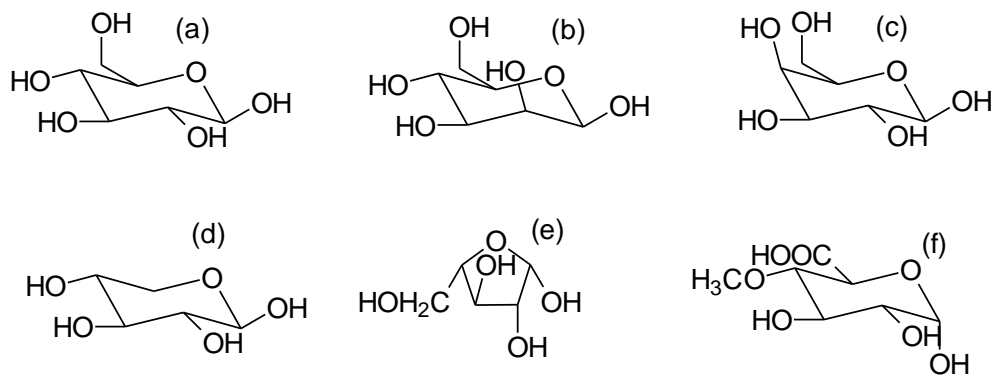


Figura 8. Representação estrutural dos principais açúcares (monossacarídeos) constituintes das hemiceluloses das madeiras: (a) β -D-Glicose; (b) β -D-Manose; (c) β -D-Galactose; (d) β -D-Xilose; (e) β -L-Arabinose; (f) Ácido α -D-4-O-Metilglucurônico.
Fonte: (GRAÇA, 2006).

3.4.4 Lignina

As ligninas são macromoléculas tridimensionais, amorfas e ramificadas e apresentam o fenilpropano como unidade básica, unidos por ligações aleatórias do tipo éter (C-O-C) e carbono-carbono (C-C) (PEREIRA et al., 2013, pg. 568). A lignina (Figura 9) é constituída basicamente a partir de três monómeros: hidroxifenilo (sem metoxilas), guaiacilo (uma metoxila), e siringilo (duas metoxilas), seus nomes podem ser abreviados pelas letras H, G, S, respectivamente (ZANUNCIO e COLODETTE, 2011).

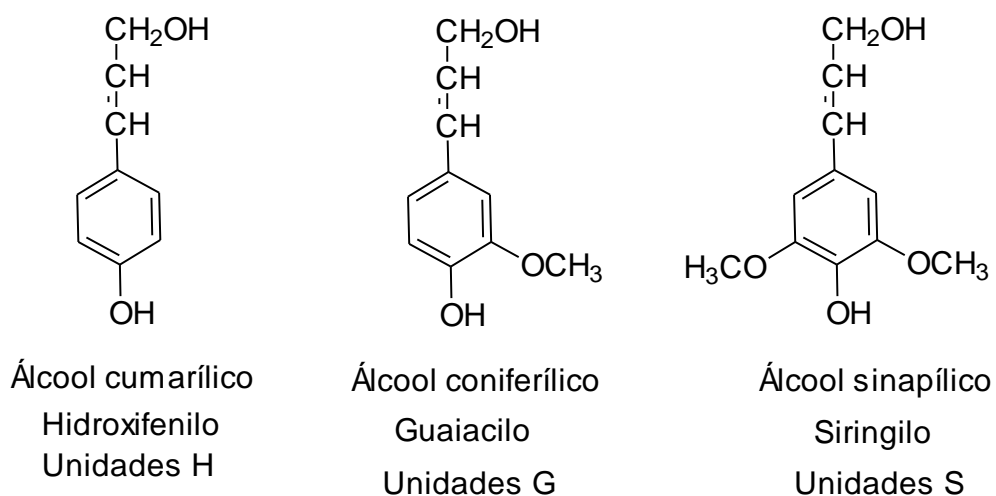


Figura 9. Ilustração de unidades estruturais (monómeros) constituintes da lignina.
Fonte: (GRAÇA, 2006).

Uma das funções desse polímero é manter as células unidas entre si, assim proporcionam rigidez tridimensional ao conjunto da estrutura celular da madeira (BON, 2008; FINGUERUT, 2006; GRAÇA, 2006).

3.4.5 Extrativos

Os extrativos representam uma pequena parte da massa seca da madeira, com valores próximos ou inferiores a 5%. Esses compostos possuem baixa massa molecular e são solúveis em solventes orgânicos e água (GRAÇA, 2006).

Os seguintes compostos podem estar presentes nos extrativos: terpenos, lignanas, estilbenos, flavonoides, outros aromáticos, gorduras, ceras, ácidos graxos, álcoois, esteroides e hidrocarbonetos de elevada massa molar (PITARELO, 2007).

3.4.6 Materiais Inorgânicos

Os componentes inorgânicos da madeira correspondem entre 0,1% a 5% em relação a massa da madeira e são constituídos, principalmente, de carbonatos, fosfatos, silicatos e sulfatos, de potássio, cálcio e magnésio (ANDRADE, 2010).

3.5 PRODUÇÃO DE PAPEL E CELULOSE

O setor de celulose e papel acumulou, nos últimos dez anos, US\$ 12 bilhões em investimentos. As empresas nacionais do segmento de celulose são competitivas devido à alta produtividade dos reflorestamentos, o que faz com que o segmento brasileiro de celulose tenha todas as condições para continuar o crescimento acelerado e absorver cada vez mais uma parcela do mercado (ANGELO, 2012).

No Brasil, hoje existem 220 empresas que atuam no setor de celulose e papel, distribuídas em 540 municípios, que geram cerca de 128 mil empregos diretos e 640 mil empregos indiretos. O Brasil responde por 3,0% da produção de celulose e

papel global, que é exportado principalmente para a América Latina (59,0 %), Europa (15,0%), América do Norte (10,0%), Ásia e Oceania (7,0%), África (5,0%) e China (4,0%) (SILVA et al., 2015).

O grande destaque do Brasil, na produção de pastas de madeira, está na produção de celulose de fibra curta de eucalipto, em que o país é o maior produtor mundial. Nessa categoria predomina a celulose branqueada com produção de 10,61 milhões de toneladas em 2008 (MONTEBELLO e BACHA, 2013).

A matéria-prima básica para a produção de papel é a celulose virgem proveniente da madeira, ou de papel reciclado, que pode ser dividida em dois grupos: a de fibra longa (obtida de espécies como o pinus e a araucária), indicada para papéis de embalagem; e a de fibra curta (derivada de eucalipto, acácia, entre outros), utilizada principalmente na fabricação de papéis para imprimir e escrever e para fins sanitários (GALLON et al., 2008).

No processo de produção do papel a madeira é, geralmente, entregue a indústria no pátio em forma de toras. Caso não tenham sido descascadas nas florestas, as toras são enviadas a descascadores mecânicos. A presença da casca prejudica a qualidade da polpa celulósica a ser produzida e, portanto, esta é removida para que se obtenha uma maior eficiência do processo e uma melhoria das propriedades da polpa de celulose. Após o descascamento, as toras são geralmente lavadas para remover as impurezas presentes na superfície (MIELI, 2007).

Em seguida as toras são direcionadas aos picadores de alta potência, e transformadas em cavacos, os quais passam por peneiras, enquanto a casca é usada como biomassa para produzir energia térmica. Os cavacos são então encaminhados para os digestores, onde ocorre o cozimento da madeira, misturada com produtos químicos, normalmente hidróxido de sódio e sulfeto de sódio, e vapor aquecido a 170°C para dissolver a lignina e separar as fibras de madeira. Os produtos deste processo são a polpa celulósica e o licor residual, por ser escuro, é denominado licor negro (MIELI, 2007).

Este processo de obtenção de celulose é conhecido como Kraft, é o mais utilizado e se destaca principalmente por utilizar diversas matérias-primas (como coníferas e folhosas), ter capacidade de apresentar excelentes características da polpa obtida em termos de resistência e a possibilidade de recuperação do licor negro residual (ANDRADE, 2010).

A próxima etapa do processo consiste na triagem e na lavagem, que envolve a passagem da pasta cozida diluída através de um depurador para eliminar os aglomerados de fibras e impurezas. As fibras brutas são então separadas da lixívia negra e lavadas para remover os produtos químicos residuais (SILVA et al., 2015).

A celulose de eucalipto obtida após o cozimento e lavagem, apresenta ainda, um pequeno teor de lignina residual que, mesmo em baixas concentrações (cerca de 2,5%), é suficiente para causar uma coloração marrom à polpa de celulose. Para a eliminação dessa lignina residual, a polpa é enviada ao setor de branqueamento, onde os grupos cromóforos que causam a coloração marrom são eliminados, obtendo-se uma celulose branca de alta alvura (MIELI, 2007).

O licor residual, contendo parte da madeira que foi degradada durante o cozimento (cerca de 50%) é enviado para o setor de recuperação, onde é queimado para a produção de energia e recuperação dos reagentes do processo (MIELI, 2007).

A polpa de celulose destinada a produção de papéis brancos passa ainda pelo processo de branqueamento com o uso de reagentes químicos (como ozônio, peróxido de hidrogênio, dióxido de cloro, oxigênio, soda cáustica contendo cloro e perácidos) para a completa remoção da lignina. O branqueamento influencia diretamente na resistência da fibra e na geração de finos (COMELATO et al., 2013). O processo de branqueamento da celulose é executado em etapas sequenciais, realizado através da aplicação de produto químico, fornecendo tempo de retenção para a reação e posterior lavagem a cada estágio, removendo, assim, impurezas (LACERDA, 2011).

Antes da polpa celulósica ser encaminhada à máquina de papel esta passa pelo processo de refino. Este processo submete as fibras à ação mecânica, tendo como consequência penetração de água na parede celular e ruptura de algumas ligações de hidrogênio entre fibras e fibrilação da parede primária. O refino contribui com o aumento da flexibilidade das fibras e melhora do entrelaçamento, porém provoca aumento do número de cortes nas fibras (SEKULA, 2011).

Depois de passar através do refino, purificação, processos de prensagem e de secagem, a folha de papel então é formada. Por fim, o revestimento de papel e operações de acabamento são realizados e o produto é embalado (SILVA et al., 2015).

A polpa chega à máquina de papel com mais de 97% de água onde é distribuída homogeneamente por toda a largura da caixa de entrada. A mistura é lançada sob forma de um jato fino sobre a tela formadora, que, combinada com um sistema de vácuo, extrai a maior parte da água de polpa, formando assim a folha de papel. Em seguida, a folha é prensada entre rolos para remover mais água e depois seguir para a etapa de secagem quando entra em contato com cilindros aquecidos com vapor, extraíndo água através da evaporação. No final da secagem, a folha passa por uma espécie de prensa alisadora, que tem a função de homogeneizar a espessura e deixar a superfície mais lisa. A umidade final do papel depende da especificação dada por cada indústria, normalmente ficando em torno de 7% de água. No final dessa etapa, o papel é enrolado em enormes bobinas, que são rebobinadas e segmentadas em rolos menores, seguindo para a seção de acabamento ou de conversão (LACERDA, 2011).

A realização dos ensaios das propriedades dos produtos fabricados é uma característica comum de todas as operações industriais; os objetivos principais dos ensaios nos papéis são: controle do processo, controle da qualidade, programação do processo e controle econômico (FRINHANI e DALTOÉ, 2012).

Uma folha de papel ou cartão destinado a conversão de embalagens deve apresentar propriedades mínimas para exercer de forma segura sua função de recipiente armazenador e assim suportar as mais diversas requisições impostas sobre a rede formada pelos elementos fibrosos que os compõem (ANDRADE, 2010).

As variáveis que mais influenciam a qualidade do papel produzido são o comprimento das fibras, a espessura da parede celular, os danos físicos durante o processo de refino, os danos químicos durante o processo de polpação e a deslignificação (SAMISTRARO et al., 2009).

A avaliação da qualidade do papel é realizada mediante a determinação de parâmetros como suas propriedades físicas (gramatura, espessura, umidade, densidade, permeância), de resistência (tração, arrebentamento, rasgo, rigidez, resistência à compressão do anel), resistência à compressão das ondas do papel e ópticas (alvura e cor), entre outras (FRINHANI e DALTOÉ, 2012).

As propriedades que dependem da ligação entre fibras (tração, rasgo e arrebentamento) são melhoradas quanto maior é o entrelaçamento entre as fibras, o contato fibra-fibra e a colapsabilidade das fibras e dos lumes, esta última está

associada com a compactação folha úmida que coloca as paredes celulares mais próximas umas das outras (SAMISTRARO et al., 2009).

4 METODOLOGIA

A polpa celulósica foi caracterizada quimicamente, e em seguida foi submetida a hidrólise enzimática parcial em diferentes tempos: 1 h, 1,5 h, 3 h, 6 h, 16 h, 24 h, 48 h e 72 h. Após, o produto do processo foi filtrado em filtro de *büchner*, sendo o sólido aproveitado para a produção de papel e o líquido extraído encaminhado para a quantificação de açúcares disponíveis (as etapas do trabalho estão apresentadas na Figura 10).

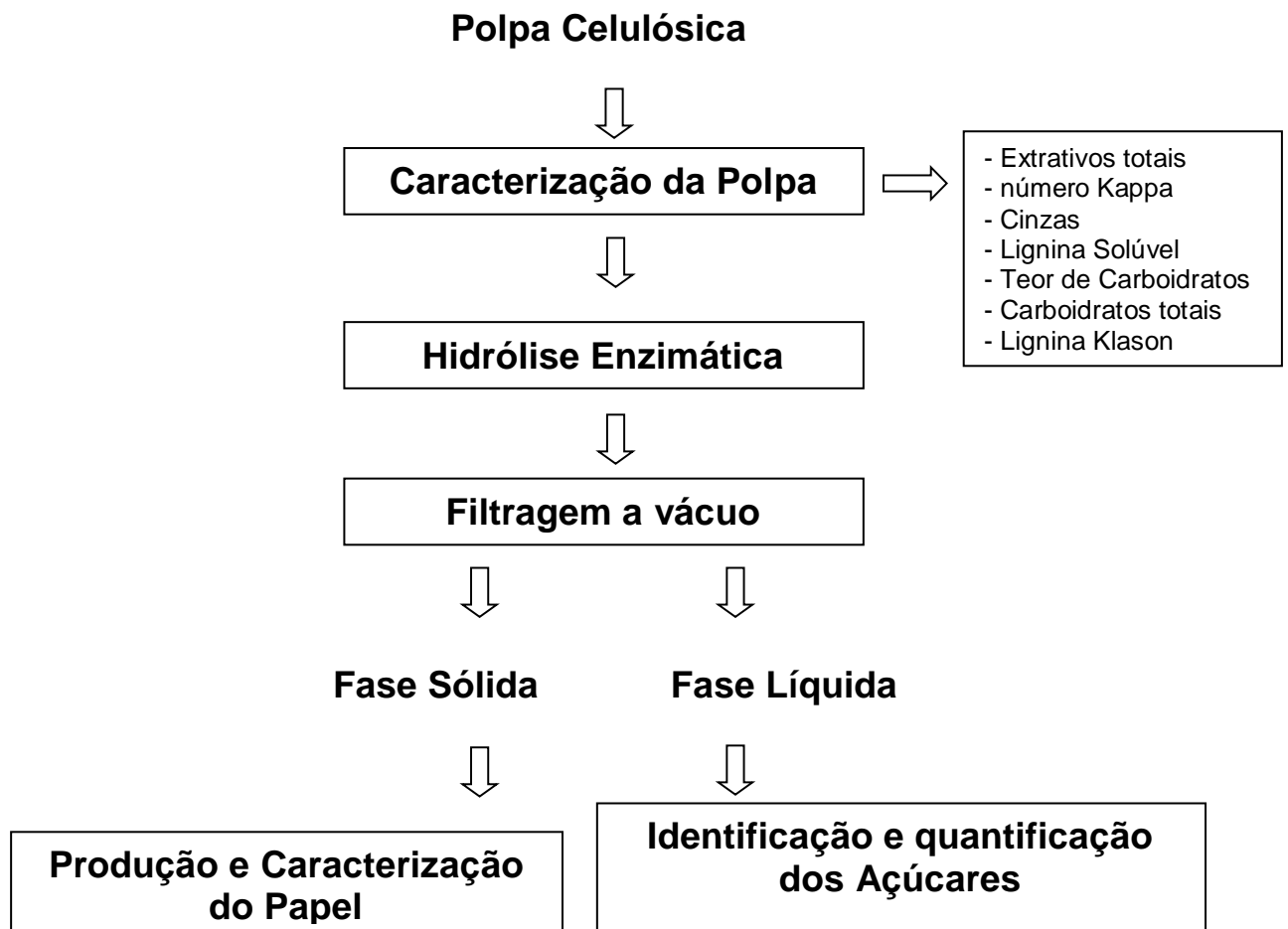


Figura 10. Fluxograma das etapas realizadas para obtenção de açúcares fermentescíveis e do papel.

4.1 POLPA CELULÓSICA

A polpa celulósica não branqueada de *Eucalyptus dunnii* foi cedida pela empresa *Rigesa Celulose Papel e Embalagem Ltda* de Três Barras (SC). As amostras de polpa celulósica foram subdivididas em três amostras homogeneizadas e utilizadas em todas as análises posteriores.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DA POLPA CELULÓSICA

Na caracterização da polpa celulósica foi realizada a hidrólise ácida total para a quantificação do teor insolúvel de lignina Klason, seguida de cromatografia de troca aniônica do hidrolisado para a quantificação dos açúcares. Também foram realizadas as análises de número *kappa*, cinzas, extrativos totais e lignina solúvel. Estas análises foram realizadas em duplicata no Laboratório de Tecnologia da Madeira da Embrapa Florestas (Colombo/PR). Apenas as análises de teor de cinzas e lignina insolúvel (Klason) foram realizadas em triplicata.

4.2.1 Hidrólise Ácida Total

O procedimento de hidrólise ácida total foi realizado com 30 mg de amostra seca em tubo de vidro com tampa de rosca. Logo após a pesagem, foi adicionada cuidadosamente pelas bordas 1 mL de solução 12 M de H₂SO₄ 72%. A mistura foi deixada por 1 h a 30 °C no bloco de aquecimento DryBlock marca MA400. Após 1 h, adicionaram-se 11 mL de água destilada e colocou-se o tubo no vortex por ± 10 s. Então, deixou-se por mais 1 h a 120 °C no bloco de aquecimento. De trinta em trinta minutos o material foi colocado no vortex por ± 10 s. Após o resfriamento a temperatura ambiente passou-se novamente o tubo no vortex por ± 10 s. O material

foi filtrado em membrana de 45 μm e foi feita uma diluição para 100 mL anteriormente a análise de cromatografia de troca aniônica (KLOCK et al., 2005).

4.2.2 Determinação dos carboidratos por Cromatografia de Troca Aniônica

A determinação dos carboidratos foi realizada por cromatografia de troca aniônica de alta resolução com detecção por pulso amperométrico (HPAEC/PAD) (Figura 11). A HPAEC/PAD foi conduzida no cromatógrafo Dionex ICS-5000 (Sunnyvale, EUA), constituído por amostrador automático AS, bomba de gradiente e um detector eletroquímico. A coluna analítica utilizada foi Dionex Carbopac PA-20 (3 mm x 150 mm) com a coluna guarda PA-20 (3 mm x 30 mm). Os eluentes foram água ultra pura e NaOH 300 mM. As porcentagens de ambos os eluentes foram calculadas para obter a concentração desejada de 1,5 mM entre 0 a 20 min, 210 mM entre 20 e 33 min e novamente 1,5 mM até 60 min. A coluna foi mantida à temperatura constante de 25 °C durante a análise. A detecção por pulso amperométrico foi realizada com um eletrodo de ouro e um eletrodo de referência Ag/AgCl, com uma taxa de coleta de dados de 2 Hz. O potencial foi definido para 0,10 V durante 410 ms (integração entre 0,2 e 0,4 s), -2,0 V durante 10 ms, 0,6 V durante 10 ms e -0,10 V durante 70 ms. Em paralelo a análise da amostra preparada anteriormente com a hidrólise ácida foram também preparadas soluções padrão para cada carboidrato analisado. Os carboidratos foram quantificados utilizando-se curvas de calibração de cinco pontos entre as seguintes concentrações para cada composto: arabinose (0,4 a 10 mg L⁻¹), galactose (0,4 a 10 mg L⁻¹), glicose (7,5 a 195 mg L⁻¹), xilose (5,0 a 128 mg L⁻¹), manose (0,4 a 10 mg L⁻¹). Para facilitar a determinação, o pH foi ajustado para 12,5 com um Sistema de pós-coluna utilizando um fluxo de 300 mM de NaOH (DAVIS, 1998).



Figura 11. Imagem do equipamento de cromatografia de troca aniônica usado para a determinar os carboidratos.

4.2.3 Determinação do número kappa da polpa

A determinação do número Kappa foi realizada conforme o método T236–om99 (TAPPI, 1999). O procedimento de determinação do número Kappa corresponde ao processo de oxidação da lignina residual contida na polpa celulósica após reação de iodeto de potássio (KI) e permanganato de potássio (KMnO_4) em solução acidificada por ácido sulfúrico (H_2SO_4).

Aproximadamente 300 mg de polpa celulósica foram desfibrados em 330 mL de água destilada e transferidos para um béquer de 1 L. O aparelho desfibrador foi lavado com cerca de 70 mL de água destilada para remover o restante da polpa desfibrada do desfibrador. A mistura formada foi homogeneizada com o auxílio de um agitador magnético. Separadamente, em um béquer de 250 mL foram misturados 50 mL de solução de KMnO_4 0,1 M e 50 mL de solução de H_2SO_4 2 M.

Esta mistura foi adicionada rapidamente à suspensão homogeneizada das fibras descrita anteriormente e o cronômetro foi acionado.

Após 5 minutos, a temperatura da mistura foi determinada e ao final de 10 min, foram adicionados 10 mL de uma solução de KI 1 M. O iodo liberado foi imediatamente titulado com uma solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,05 M até o aparecimento de uma coloração amarelada, quando foi adicionado 1 mL de indicador de amido. A titulação prosseguiu até o descoloramento total da solução. O ensaio foi acompanhado por uma prova em branco.

O número kappa foi determinado pelas equações (TAPPI, 1999).

$$P = \frac{(b - a) \cdot N}{0,1} \quad (\text{equação 1})$$

$$f = 0,0084 \cdot P + 0,895 \quad (\text{equação 2})$$

$$N^\circ k = \frac{P \cdot f [1 + 0,013 \cdot (25 - T)]}{W} \quad (\text{equação 3})$$

onde:

P = volume de KMnO_4 que reagiu (mL);

a = volume de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ consumido pela amostra (mL);

b = volume de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ consumido pelo branco (mL);

f = fator de correção determinado para cada P;

N = normalidade da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$;

T = temperatura de análise ($^\circ\text{C}$);

W = massa da polpa seca (g);

$N^\circ k$ = número kappa.

4.2.4 Teor de cinzas

Cadinhos com tampas resistentes a altas temperaturas foram colocados em uma mufla e aquecidos a 525 ± 25 $^\circ\text{C}$ por 1 h. Após esse período, os cadinhos foram esfriados em dessecador e pesados com precisão de 0,1 mg. Posteriormente, as amostras da polpa celulósica absolutamente seca (cerca de 5 g) foram colocadas

nos cadinhos e levadas à mufla, aquecendo-se as mesmas à temperatura de 525 °C durante 2 h para a incineração. Verificada a ausência total de partículas de carvão nas cinzas, os cadinhos foram esfriados em dessecador até a temperatura ambiente e pesados com precisão de 0,1 mg. Os teores de cinzas foram expressos em relação à massa seca do material de origem (ABNT NBR 13999, 2003).

4.2.5 Extrativos Totais

Na análise de extrativos totais, 5 gramas de polpa celulósica foram submetidas ao processo de extração em aparelho Soxhlet (Figura 12) em balão previamente tarado, com a seguinte sequência de solventes: etanol:tolueno (1:2, v/v) e diclometano (DCM), cerca de 24 horas com cada solvente conforme a norma ABNT NBR 14853 (2002). Após a extração, o solvente foi evaporado. Por diferenças de massas, pode-se obter o percentual de cada extrato em relação à massa do material originalmente empregado no ensaio (ABNT NBR 14853, 2002).



Figura 12. Foto do aparelho Soxhlet para o processo de extração.

4.2.6 Lignina Solúvel

Após o processo de extração, 0,3 g do material livre de extrativos foi colocado em um tubo de ensaio. Em seguida foram adicionados 3 mL H₂SO₄ 72%, agitando esporadicamente com bastão de vidro, durante 1 h. Posteriormente, interrompeu-se a reação com 79 mL de H₂O destilada, transferindo para um erlenmeyer de 250 mL. Após 1 h, a amostra foi filtrada em filtro de papel.

O filtrado foi transferido quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL e avolumado com água destilada. A concentração da lignina solúvel no filtrado foi determinada em um espectrômetro UV-VIS no comprimento de onda de 205 nm de absorvância (CANETTIERI, 2004).

A concentração da lignina foi calculada:

$$C_{\text{lignina}} = \text{ABS}_{205} / \epsilon_{\text{lignina}}$$

(equação 4)

Sendo que C_{lignina} = concentração de lignina (g.L^{-1}), ABS_{205} = Absorbância do hidrolisado contendo a lignina, em 205 nm e $\epsilon_{\text{lignina}}$ = absortividade para a lignina a 205 nm.

4.3 SACARIFICAÇÃO ENZIMÁTICA

A hidrólise enzimática foi realizada com a enzima comercial Cellic® CTec2 a 6% (6 g enzima/100 g celulose) e solução tampão citrato de sódio em shaker sob as condições de 250 rpm, a 50°C e pH 5-5,5 no Laboratório de Tecnologia da Madeira da Embrapa. Os parâmetros de temperatura, pH e agitação foram baseados em dados retirados da NOVOZYMES (2010). A enzima Cellic® Ctec2 é um *cocktail* em solução que contém celulases agressivas, alto nível de β -glucosidades e hemicelulase, permite altos rendimentos de hidrólise e é eficaz para altas concentrações de sólidos (NOVOZYMES, 2010). As hidrólises foram feitas em triplicata utilizando a relação de 1,5 gramas de polpa celulósica seca para 10 mL de solução tampão de citrato de sódio previamente esterilizadas. Os valores de polpa utilizados foram calculados de acordo com o teor de umidade das amostras de polpa para 266 mL de solução tampão. Durante a hidrólise foram testados diferentes tempos de 0,5h, 1h, 1h40min, 3h, 6h, 16h, 24h, 48h e 72h. Após as amostras serem incubadas, foram colocadas em banho-maria a 100 °C para inativar as enzimas. O produto do processo foi filtrado em filtro de *büchner* a vácuo, sendo que a parte sólida foi utilizada para a produção do papel em formadora de folhas e o líquido foi separado para a determinação dos açúcares (glicose, xilose, galactose, arabinose e manose) em cromatografia de troca aniônica.

4.4 PRODUÇÃO DE PAPEL

O sólido do produto da hidrólise enzimática foi dividido em duas partes, sendo que apenas uma das partes passou pelo branqueamento (Figura 13). Foram formadas folhas de papel com ambas as partes. Foram confeccionadas folhas não branqueadas utilizando polpa sem hidrólise e polpas obtidas a partir de hidrólises de

0,5 h, 1 h, 1,5 h, 3 h e 6 h. Também foram produzidas folhas de papel utilizando polpa após hidrólise nos tempos de 3 h e 6 h adicionadas em concentrações de 10 e 20% a polpa celulósica sem ser hidrolisada. Esta parte do trabalho foi realizada no Laboratório de Polpa e Papel do Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal da Universidade Federal do Paraná.

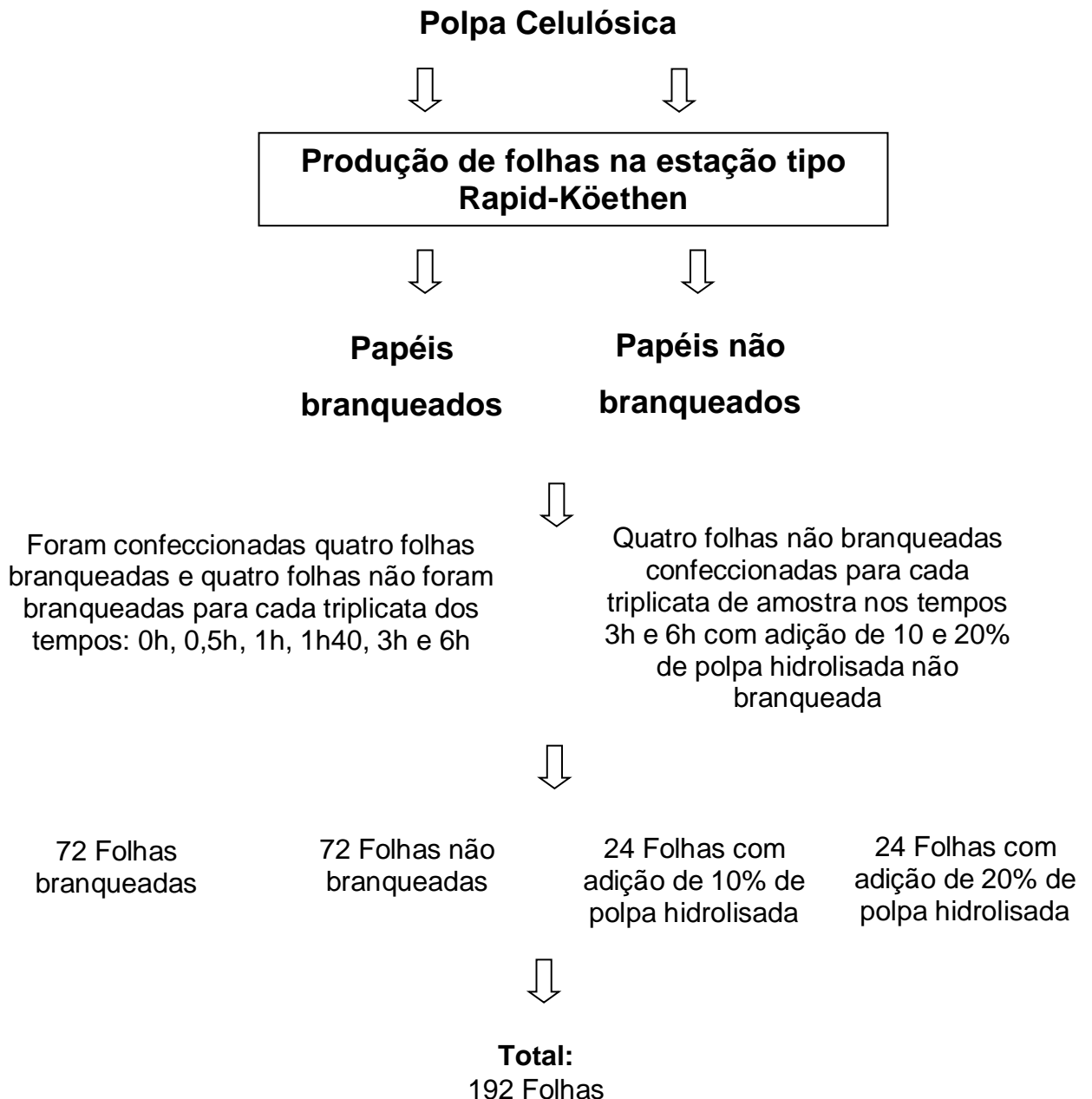


Figura 13. Fluxograma das etapas realizadas para a produção de papel.

4.4.1 Branqueamento

O branqueamento da polpa celulósica foi efetuado em 4 etapas, sendo a primeira e a terceira com dióxido de cloro, a segunda com extração alcalina com peróxido de hidrogênio e a última etapa com peróxido de hidrogênio. Informações referentes as proporções das soluções, temperatura e tempo estão apresentados na Tabela 1. A polpa celulósica (cerca de 100 gramas) foi colocada em um saco plástico transparente e as soluções adicionadas a este. As lavagens foram intercaladas e o resíduo sólido foi separado das soluções utilizando peneiras com telas de 150 mesh. Entre o tratamento com uma e outra solução, o resíduo presente nas peneiras foi lavado com água corrente.

Tabela 1: Sequência de branqueamento da polpa celulósica.

Condições	1ª etapa	2ª etapa	3ª etapa	4ª etapa
	Dióxido de cloro (20 g/L)	Extração alcalina com H ₂ O ₂	Dióxido de cloro	Peróxido de hidrogênio
ClO ₂	2% = 100 mL	-	0,2%= 10 mL	-
Temperatura (°C)	90	70	90	90
Tempo (min.)	60	60	60	60
Consistência (%)	10	10	10	10
NaOH (%)	-	1	-	0,6
H ₂ O ₂ (%)	-	0,5	-	0,2
MgSO ₄ (%)	-	-	-	0,3
Tampão (%)	100	-	10	-

FONTE: POTULSKI, 2012.

4.4.2 Schopper Riegler

O processo de refinação foi conduzido visando conhecer o comportamento do material. A determinação da resistência à drenagem da polpa celulósica foi realizada em aparelho Schopper-Riegler seguindo as recomendações da norma ISO 5267/1.

Os testes foram realizados através do equipamento Schopper-Riegler (°SR), que tem como função determinar o escoamento de uma solução de fibras

com volume e consistência conhecidas, através de uma tela metálica e posterior deposição da polpa sobre esta, conforme quadro abaixo. As leituras determinam a quantidade de deságüe, quanto maior °SR, menor a drenagem da solução.

Este efeito é explicado pela ação de refinação, ocorre a desfibrilação da fibra de celulose, conseqüentemente rompendo-se as ligações da celulose, liberando assim grupos hidroxila que se ligaram com moléculas de água, ocorrendo o inchamento das fibras e maior retenção de água.

4.4.2 Formação das folhas

A formação da folha de papel ocorreu com 5 gramas de material hidrolisado de forma que as fibras foram separadas em solução aquosa e a água escoada através da tela, e então as fibras ficaram retidas. Após isso, a folha recém-formada foi transferida para a secagem.

Na fabricação deste papel, as etapas básicas foram as seguintes: a formação (aplicação da polpa celulósica sobre uma tela), drenagem (remoção inicial da água através de escoamento por gravidade ou por diferença de pressão), consolidação (compactação do colchão de polpa celulósica) e secagem (remoção da água através de fenômenos de transporte de energia por contato com superfícies aquecidas) (ANDRADE, 2010).

As folhas de papel foram produzidas em uma estação formadora tipo Rapid-Köethen (Figura 14) a partir do sólido da hidrólise enzimática seguindo as recomendações da norma ISO 5269/2 e T205 om-02 (Tabela 2). Foram formadas quatro folhas para cada tratamento (Figura 15).



Figura 14. Foto de estação formadora de folhas tipo Rapid-Köethen.

Tabela 2: Parâmetros de controle utilizados na confecção das folhas de papel.

Parâmetro de Controle	Condição
Gramatura Objetiva	60 g/m ² ± 2 g/m ²
Temperatura de Secagem	90 °C ± 2°C
Pressão Aplicada	80 KPa
Umidade Final	8%

FONTE: POTULSKI, 2012.



Figura 15. Folhas confeccionadas não branqueada e branqueada.

As folhas de papel confeccionadas foram deixadas para a secagem por 48 horas em ambiente climatizado com temperatura de 23 ± 2 °C e umidade relativa do ar de 50 ± 2 % de acordo com a norma T402-om94 (TAPPI). Após atingirem o

equilíbrio com o ambiente, as folhas foram destinadas a confecção dos corpos de prova (Figura 16) para a realização de testes físicos e mecânicos.

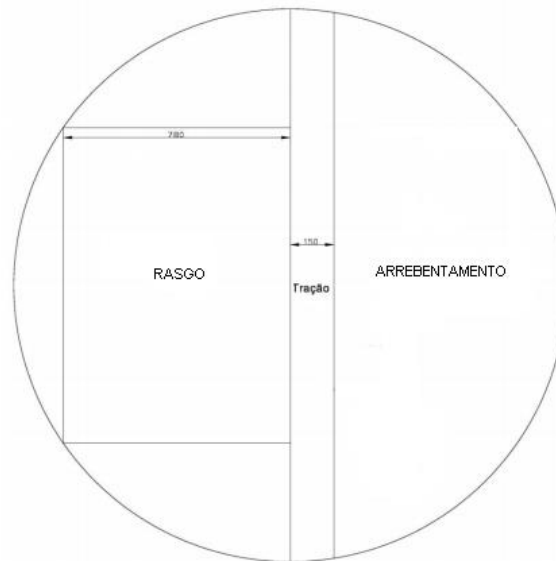


Figura 16. Esquema da retirada de corpos de prova nas folhas para a realização dos ensaios.

4.4.2 Testes físicos e mecânicos

Os ensaios realizados e as normas encontram-se listados na Tabela 3. A resistência à tração foi determinada através de um dinamômetro e foi expressa em kN.m^{-1} . Seu índice foi calculado pela relação entre a resistência à tração e a gramatura, e foi expresso em N.m/g . A resistência ao arrebentamento foi expressa em kPa e seu índice foi calculado através da relação entre a resistência ao arrebentamento e a gramatura, sendo expresso em $\text{kPa.m}^2/\text{g}$ (POTULSKI, 2012).

A resistência ao rasgo foi determinada através do equipamento Pêndulo de Elmendorf e foi expressa em mN . Seu índice foi calculado pela razão entre a resistência ao rasgo e a gramatura, sendo expresso em $\text{mN.m}^2/\text{g}$. A umidade representa a quantidade de água contida na folha de papel e foi determinada pelo método gravimétrico através da pesagem em balança analítica, em ambiente controlado com temperatura ($23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e umidade relativa do ar ($50 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e secagem em estufa a $103 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ (POTULSKI, 2012).

A determinação da gramatura foi realizada através de pesagem em balança analítica e determinação da área dos corpos de prova em ambiente controlado. A gramatura é determinada em g/m^2 (POTULSKI, 2012).

A espessura foi determinada através do equipamento REGIMED em μm , em ambiente controlado.

Tabela 3: Procedimentos utilizados na avaliação das características físicas e mecânicas do papel.

	Procedimento	Norma
Propriedades Físicas	Umidade	T412-om02
	Gramatura	T410-om02
	Espessura	T411-om97
Propriedades de Resistência Mecânica	Resistência à Tração	T404-om92
	Resistência ao Arrebentamento (Estouro)	T403-om02
	Resistência ao Rasgo	T414-om98

FONTE: POTULSKI, 2012.

A Figura 17 mostra o conjunto de equipamentos para realização de ensaios físicos e mecânicos.

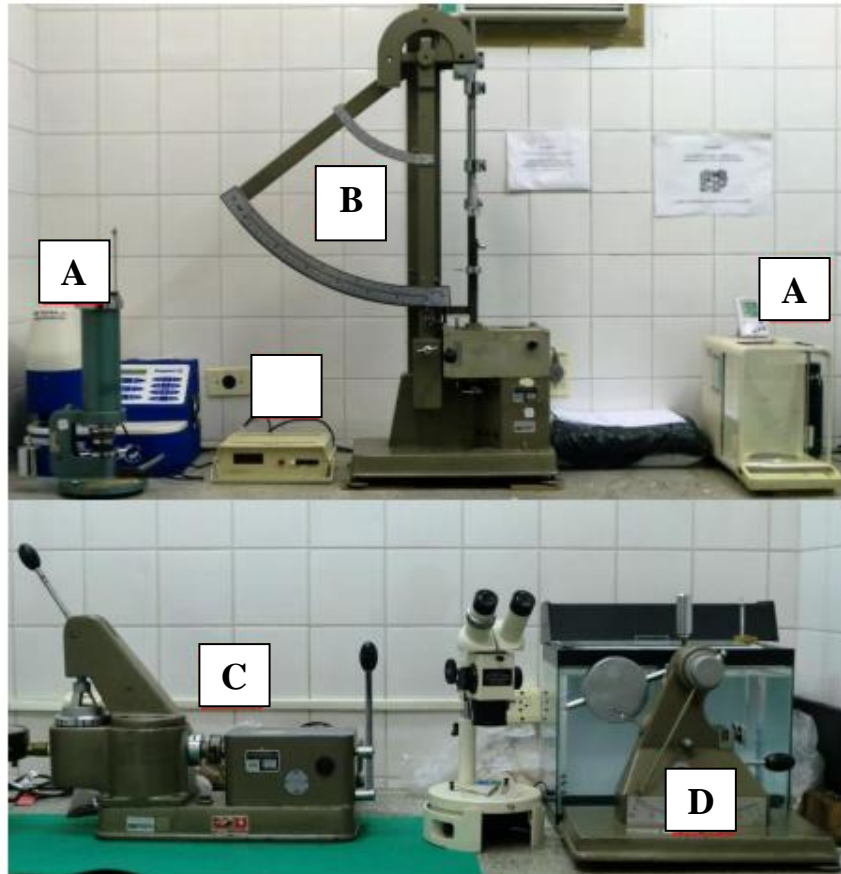


Figura 17. Equipamentos para realização dos ensaios: a) equipamentos para teste de gramatura; b) pêndulo Elmendorf; c) dinamômetro; d) aparelho para resistência ao arrebentamento. FONTE: POTULSKI, 2012.

4.4.3 Determinação da viscosidade

A viscosidade da polpa celulósica permite avaliar o grau médio de polimerização das cadeias de celulosas e detectar a degradação da celulose resultante dos processos de polpação, deslignificação e desfibrilação mecânica. A viscosidade foi determinada em solução cuproetilenodiamina (CED) por meio de um viscosímetro capilar em banho termostatizado de acordo com a Norma T 230 om-94. Esta análise foi realizada no Laboratório de Polpa e Papel do Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal da Universidade Federal do Paraná. Previamente foi verificada se a polpa continha rejeitos, após isso foi avaliado o resultado da análise do número kappa (acima de 30). Baseado no resultado desta análise, fez-se necessário realizar o processo de deslignificação e posterior determinação da umidade. Duas amostras de 0,125 gramas de polpa seca, 12,5 ml de água destilada e 12,5 ml de solução de

cuproetilenodiamina de $1,0 \pm 0,02$ M foram colocadas em tubo de ensaio sob agitação. Posteriormente, os capilares foram colocados em banho a 25 °C. Determinou-se o tempo de passagem da solução pelo capilar.

4.4.4 Difração de Raio-X e Índice de cristalinidade

A determinação da cristalinidade da celulose e de seus derivados produzidos foi realizada no “Laboratório de Óptica de Raio-X e Instrumentação” da Engenharia Florestal da Universidade Federal do Paraná. O equipamento utilizado foi o difratômetro de Raios-X XRD-7000 da SHIMADZU. A configuração adotada para a análise foi o monocromador com fendas (1, 1, 0,3), operado a 40 kV com corrente de 20 mA. A velocidade adotada foi de 1°/min usando uma radiação de Cu-K α com comprimento de onda de 0,15418 nm.

O índice de cristalinidade foi obtido pelo método de SEGAL et al. (1959). Utilizou-se um software gráfico onde os dados tiveram um tratamento de alisamento por transformada de Fourier com 15% de corte nos pontos para obtenção das intensidades dos picos cristalinos e amorfos.

4.4.5 Microscopia Óptica

Esta análise foi realizada em Microscópio Leica DM 4000B, com câmera Leica DFC 300 FX, no laboratório de Pós-Graduação de Engenharia Florestal da Universidade Federal do Paraná. As análises foram feitas com uma amostra em lâminas para microscopia dos tempos: 30 minutos, 3h, 6h, 16h, 24h, 48h e 72h.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA POLPA CELULÓSICA

Analisando a Tabela 4 pode-se observar que a polpa celulósica não branqueada de *Eucalyptus dunnii* contém 73% de glicose disponível para a fermentação e geração de bioetanol. A xilose apresentou aproximadamente 15% em relação à massa seca de polpa. Em comparação a diferentes biomassas apresentadas por CANETTIERI (2004) o teor de lignina Klason e solúvel foram parecidos com os valores, sendo alto o valor do número kappa, provavelmente devido ao fato de a polpa não ser branqueada.

ROSA (2003) cita que um menor teor de lignina na madeira, conseqüentemente, proporciona uma menor quantidade de lignina para ser removida no processo de deslignificação, o que pode favorecer a obtenção de um menor número Kappa. O número kappa está relacionado com o teor de lignina residual na polpa produzida, ou seja, quanto maior o kappa, maior a quantidade de lignina residual na polpa e mais difícil e caro será o seu branqueamento (GOMES, 2007).

Geralmente mais de 50% de todo o material lignocelulósico é constituído de celulose, que é formada exclusivamente por moléculas de glicose. As hemiceluloses do eucalipto são basicamente constituídas de xilanas. Assim, eram esperados altos valores de glicose e xilose para a polpa de eucalipto (PERÍGOLO, 2014).

Os valores da glicose e xilose encontrados na polpa não branqueada de *Eucalyptus dunnii* foram altos mostrando que o processo kraft funciona bem como um pré-tratamento. SILVA (2013) utilizou o pré-tratamento de moinho de bolas e líquido iônico [Emim] [Ac] em bagaço de cana-de-açúcar e obteve 41,9 e 50,9% de celulose, respectivamente. No trabalho de SANTOS (2011) foi utilizado o processo kraft em madeira de *Eucalyptus urograndis* e obteve a polpa marrom com teor de lignina solúvel 0,75%, lignina insolúvel 1,38%, holocelulose 98,90% e hemiceluloses 0,41%.

Tabela 4: Composição de polpa celulósica não branqueada de *Eucalyptus dunnii*.

	Porcentagem
Número Kappa (%)	49,4±0
Lignina Klason (%)	11,06±0,72
Lignina Solúvel (%)	1,40±0,15
Total extrativos (%)	0,38±0,01
Cinzas (%)	2,66±0,08
Glicose (%)	73,39±0
Xilose (%)	14,28±0
Galactose (%)	0,51±0
Arabinose (%)	0,20±0
Manose (%)	0,09±0

Essa composição é semelhante à obtida em outros trabalhos utilizando diferentes biomassas (ver Tabela 5 e 6). No trabalho de PERÍGOLO (2014) o valor de glicose encontrado para polpas kraft de *Eucalyptus urograndis* variam entre 58% e 81,94%, portanto compatível com a encontrada com a polpa não branqueada de *Eucalyptus dunnii*.

As médias de extrativos em diclorometano encontradas nas duas espécies estudadas por ARAUJO (2004) se diferiram muito pouco da encontrada neste trabalho (0,38%), sendo 0,21% para *Eucalyptus saligna* e 0,20% para *Mimosa scabrella*.

Tabela 5: Composição de polpas kraft de *Eucalyptus urograndis*.

Composição (%)	Polpa	Polpa	Polpa	Polpa	Polpa	Polpa	Polpa
	kraft 1	kraft 2	kraft 3	kraft 4	kraft 5	kraft 7	kraft 8
Glicose	61,77	58,57	81,74	79,78	65,39	59,41	79,37
Xilose	20,87	19,96	13,79	15,64	21,12	20,92	15,90
Galactose	1,60	2,95	0,54	0,49	1,27	1,71	0,49
Arabinose	0,69	1,83	0,08	0,09	0,43	1,02	0,09
Manose	8,01	8,57	1,68	1,81	6,23	9,40	1,81

FONTE: PERÍGOLO, 2014.

Tabela 6: Esquema de composição de diferentes biomassas.

Composição	%						
	Resíduo <i>E. grandis</i>	Cavaco <i>E. grandis</i>	Cavaco <i>E. grandis</i>	Palha de trigo	Palha de sorgo	Casca de amêndoa	Bagaço de cana
Celulose	40,2	43,4	44,0	46,4	35,1	28,0	47,1
Hemicelulose	15,7	10,6	12,4	31,0	24,0	30,2	26,9
Lignina Insolúvel	23,4±1,2	-	24,8±0,2	-	-	-	20,6±0,4
Lignina Solúvel	3,5±0,2	-	0,8±0,5	-	-	-	1,6±0,1
Cinzas	1,4±0,1	0,5	-	7,2	-	0,6	1,0±0,1

FONTE: CANETTIERI, 2004.

5.2 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

O efeito do tempo na hidrólise enzimática foi avaliado na faixa de 0,5-72 h. O rendimento em função do tempo de hidrólise enzimática está representado na Tabela 6 e Figura 18. Para maior tempo de hidrólise obteve-se uma maior conversão dos açúcares glicose (34,6%) e xilose (47,2%). A conversão da polpa celulósica em glicose e xilose foi pequena (Tabela 6), provavelmente devido ao elevado teor de sólidos durante a hidrólise enzimática, mesmo após 72 h de tempo de residência, resultando em concentrações de 29,2 e 7,8 g.L⁻¹, respectivamente.

Tabela 7. Concentração de açúcares com relação ao tempo de hidrólise da polpa celulósica.

Tempo de Hidrólise (h)	Conversão em Glicose (%)	Concentração de Glicose (g.L ⁻¹)	Desvio Padrão (g.L ⁻¹)	Conversão em Xilose (%)	Concentração de Xilose (g.L ⁻¹)	Desvio Padrão (g.L ⁻¹)
0,5	5,7	5,99	0,52	19,7	4,14	0,04
1,0	7,2	7,91	0,20	22,7	5,10	0,07
1,7	11,3	7,61	0,11	27,2	4,63	0,06
3	8,7	10,41	1,66	25,2	5,64	0,28
6	14,4	15,90	1,54	34,4	7,50	0,68
16	21,3	16,07	10,38	41,1	7,03	3,63
24	21,7	15,15	8,98	38,7	6,06	3,17
48	29,5	24,72	13,79	45,5	7,68	3,40
72	34,6	29,17	14,78	47,2	7,71	3,46

Na Figura 18 pode-se observar um aumento da concentração dos açúcares, glicose e xilose, por tempo de hidrólise.

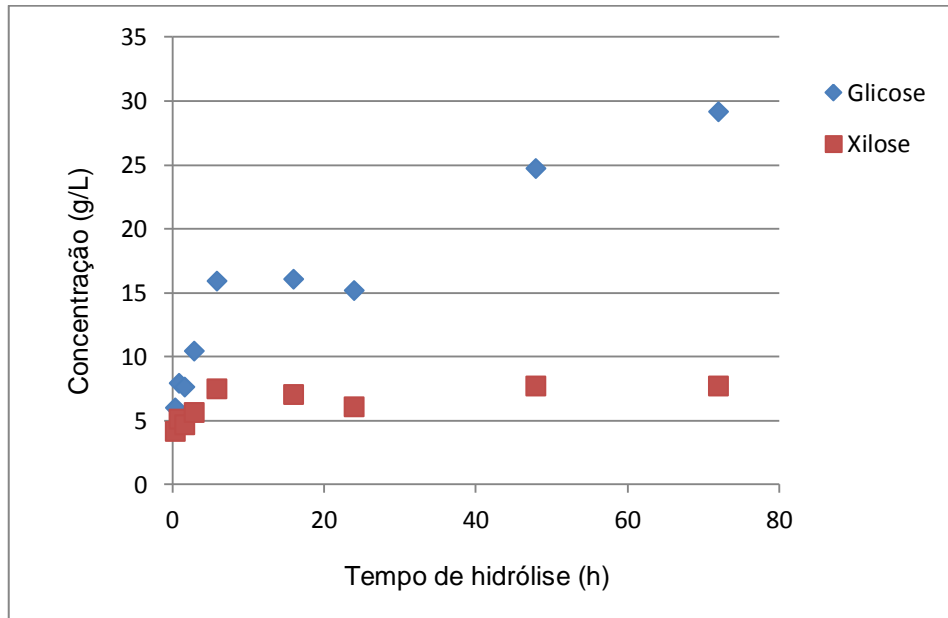


Figura 18. Gráfico da concentração de glicose e xilose por tempo de hidrólise.

A hidrólise enzimática apresentou baixo rendimento de extração de açúcares, vários fatores podem ter contribuído para isso, tais como a eficácia do processo kraft para a redução da recalcitrância da celulose microcristalina, o elevado teor de sólidos na solução preparada neste trabalho, a má homogeneização da solução com *cocktail* enzimático, a dosagem das enzimas, além de outras condições de hidrólise.

As fibras de celulose possuem regiões ordenadas (cristalinas) alternadas com regiões menos ordenadas (amorfas). As regiões amorfas são mais suscetíveis à hidrólise devido a sua maior área superficial e facilidade de penetração das moléculas de água e de enzimas no interior das fibras (JARDINE et al., 2009). As enzimas endoglucanases atuam nas regiões de baixa cristalinidade da fibra de celulose, sendo as exoglucanases mais eficazes para a degradação das regiões cristalinas (CAO e TAN, 2002; WYMAN et al., 2005).

Segundo CAO e TAN (2002) a hidrólise enzimática afeta diretamente o grau de cristalinidade e a polimerização da celulose e pode ter impacto sobre a qualidade do papel produzido. Após 15 h de processo de sacarificação foram notados

aumentos no índice de cristalinidade e no tamanho de cristalito aparente de celulose (CAO e TAN, 2002).

Os perfis de DRX do material obtido após a hidrólise enzimática com Cellic® Ctec2, mostrados na Figura 19, indicam a presença de material cristalino, sugerindo que as técnicas de pré-tratamento e o *cocktail* de enzimas não destruíram completamente a estrutura cristalina da celulose.

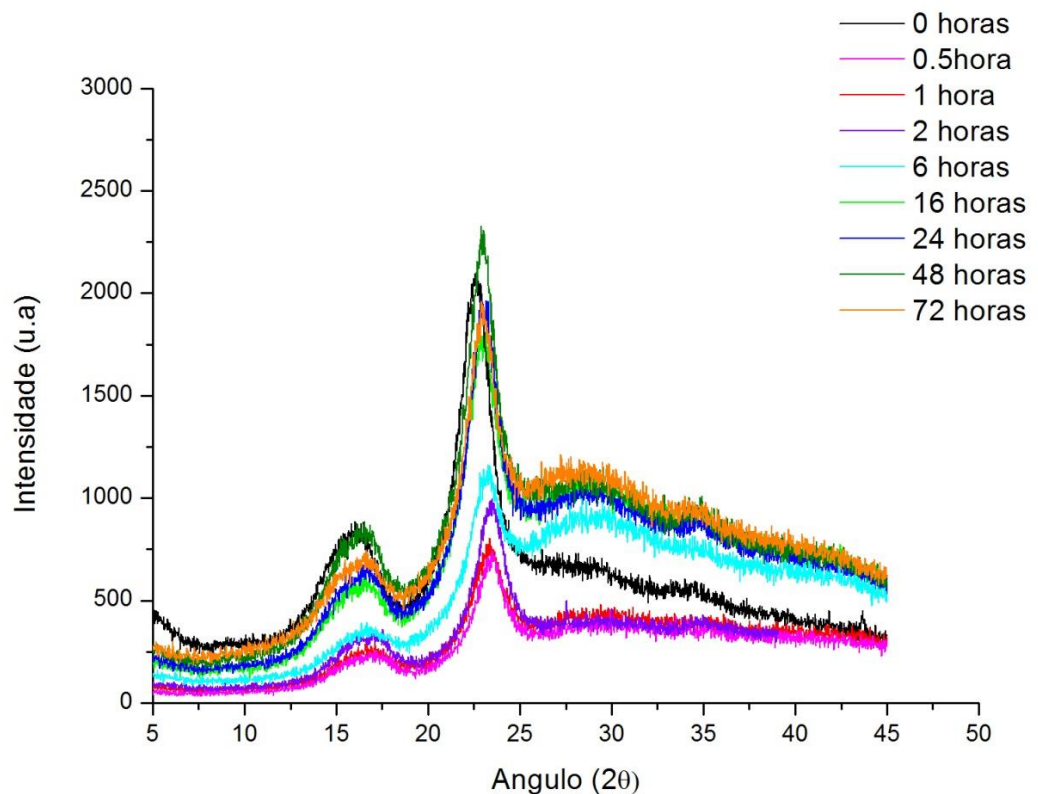


Figura 19. Difratograma de raios-x de fibras de celulose em relação ao tempo de hidrólise.

Nos gráficos de difração de raios-x da celulose vegetal para a intensidade do vale mínimo, isto é, a fração amorfa é de $18^\circ \leq 2\theta \leq 19^\circ$ para celulose tipo I e $13^\circ \leq 2\theta \leq 15^\circ$ para celulose tipo II. Para a intensidade do pico máximo o qual corresponde a fração cristalina, esta fração está entre $22^\circ \leq 2\theta \leq 23^\circ$ para celulose I e $18^\circ \leq 2\theta \leq 22^\circ$ para celulose II (PEREIRA et al., 2012). A polpa celulósica apresentou um difratograma típico de celulose I, com picos na região amorfa ($18^\circ \leq 2\theta \leq 19^\circ$) e picos na região cristalina ($22^\circ \leq 2\theta \leq 23^\circ$).

O índice de cristalinidade obteve pequena variação entre as polpas em diferentes tempos de hidrólise em relação à polpa sem tratamento que apresentou uma cristalinidade de 78,2% (Tabela 8).

Tabela 8. Difratoograma de raios-x de fibras de celulose.

Amostras	IC (%)
0 h	78,2
0,5 h	81,6
1 h	78,2
1,5 h	80,5
3 h	74,8
6 h	75,3
16 h	76,8
24 h	77,6
48 h	76,5
72 h	73,8

O índice de cristalinidade para as hidrólises ficou entre 73,8% e 81,6%, sendo o menor obtido pela polpa hidrolisada a 72 h e o maior pela polpa hidrolisada a 0,5h. A cristalinidade da celulose no início aumenta com a hidrólise da celulose nos tempos de 0,5 h e 1,5 h. Com 3 horas de hidrólise a cristalinidade tem uma queda, e volta a aumentar atingindo um máximo local (~ 78% de cristalinidade) em torno de 24 h de hidrólise.

O índice de cristalinidade verificado na pasta de celulose não branqueada demonstrou tendência geral de queda conforme o tempo de hidrólise (Figura 20), o que indica que apesar de a hidrólise não ser efetiva para a degradação da celulose, conseguiu reduzi-la. Assim pode-se observar que o índice de cristalinidade foi maior nos menores tempos de hidrólise indicando que há uma maior quantidade de polímeros, conforme ocorre a hidrólise a quantidade de polímeros diminui e a cristalinidade também.

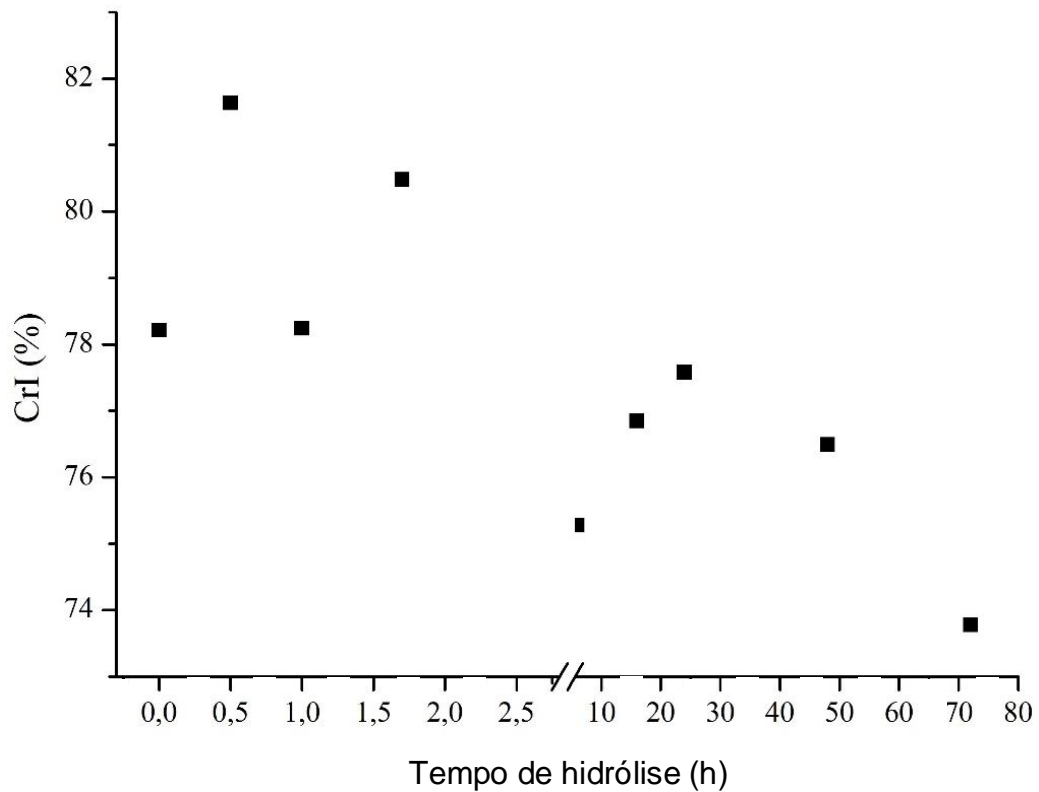


Figura 20. Índice de Cristalinidade de pasta de celulose não branqueada vs tempo de hidrólise.

O elevado teor de sólidos pode ter comprometido a homogeneidade da hidrólise, uma vez que durante a adição da solução da enzima na polpa de celulose pode ter ocorrido uma absorção pontual. Por isso, a solução tampão com o *cocktail* de enzimas pode não ter sido distribuída uniformemente por toda a polpa, mesmo com a agitação posterior de 250 rpm.

Na hidrólise enzimática, a conversão da glicose é altamente correlacionada com a conversão de xilose (Figura 21). Isso porque a hidrólise de hemicelulose ocorre concomitantemente com a hidrólise da celulose para este cocktail de enzimas específicas, pois contém celulasas e hemicelulasas. Em consequência, não é possível aumentar a conversão de xilose mantendo a celulose intacta.

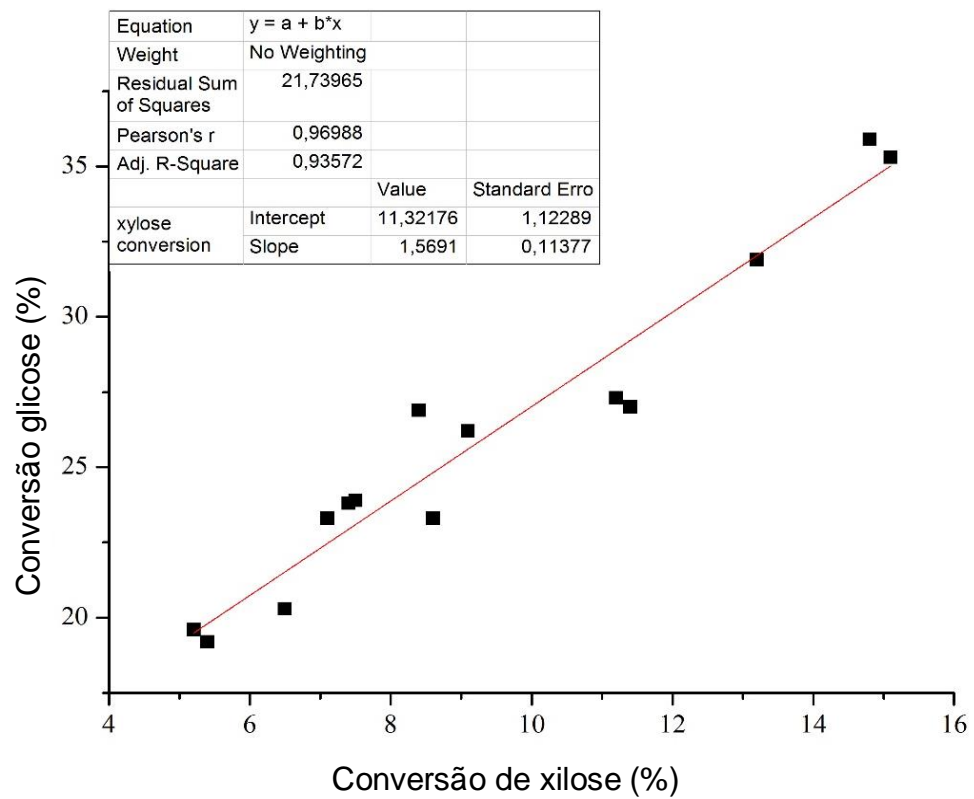


Figura 21. Gráfico de correlação das conversões de polpa celulósica em glicose e xilose.

5.3 PROPRIEDADES DOS PAPÉIS PRODUZIDOS

Em geral, após 3 h de hidrólise enzimática ocorre a diminuição da resistência mecânica (Tabelas 8 e 9).

Tabela 9. Resultados dos ensaios de tração, rasgo e arrebatamento para as polpas não branqueadas.

Tempo (h)	Índice de tração		Índice de rasgo		Índice de arrebatamento	
	(N.m/g)		(mN.m ² /g)		(kPa.m ² /g)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
0	23,59	3,30	5,61	0,68	1,80	0,10
0,5	13,03	4,37	2,32	0,52	1,33	0,08
1	17,40	2,24	2,38	0,31	1,23	0,08
1,5	17,96	2,73	2,44	1,61	1,34	0,10
3	16,41	2,95	1,69	0,70	0,45	0,07
6	12,09	1,08	0,60	0,18	0,29	0,10

Tabela 10. Resultados dos ensaios de tração, rasgo e arrebatamento para as polpas branqueadas.

Tempo (h)	Índice de tração		Índice de rasgo		Índice de arrebatamento	
	(N.m/g)		(mN.m ² /g)		(kPa.m ² /g)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
0	25,17	0,60	5,41	0,03	1,79	0,04
0,5	17,41	1,96	2,21	0,01	1,27	0,04
1	16,30	1,31	3,20	0,03	1,25	0,03
1,5	19,28	1,19	3,66	0,04	1,36	0,03
3	12,86	1,34	2,02	0,02	1,00	0,03
6	10,88	1,72	0,36	0,15	0,75	0,50

Foram feitas as análises das propriedades mecânicas das amostras de papel obtidas do processo de hidrólise inferior a 6 horas. Verificou-se que os tempos mais adequados de hidrólise com o objetivo de produção de papel seriam até 3 horas para o caso de uso direto após hidrólise. Tempos até 6 h podem ser usados adicionados em até 20% com polpa celulósica não hidrolisada.

No entanto, com a adição de 10 ou 20% de celulose hidrolisada em polpa não branqueada ocorreu um acréscimo na resistência à tração com relação ao papel produzido a partir de polpa não branqueada (Figura 22).

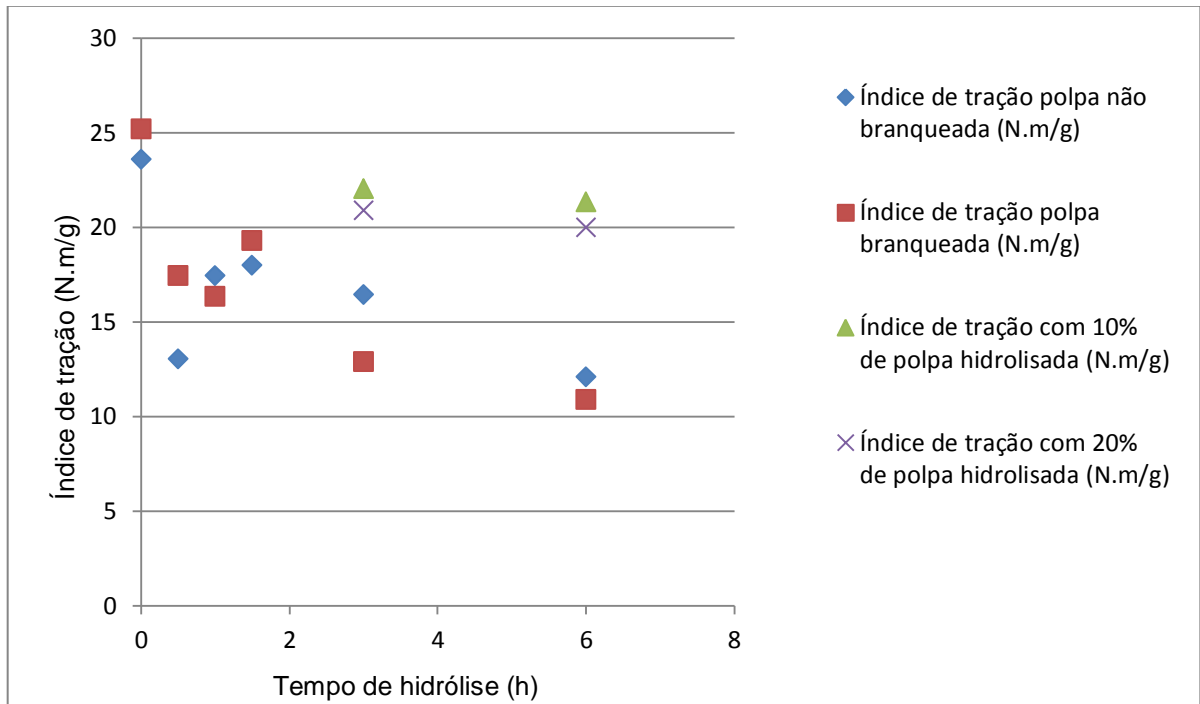


Figura 22. Gráfico do índice de tração vs tempo de hidrólise.

A resistência à tração é a força de tensão necessária para arrebentar o papel. A resistência individual das fibras, comprimento médio, formação e estrutura do papel afetam esse teste. A resistência à tração pode ser expressa pelo comprimento de auto-ruptura, que é o comprimento necessário para uma fita de papel romper-se devido ao seu próprio peso quando suspensa por uma de suas extremidades (MENEGAZZO, 2012).

Os resultados mostraram que há queda na resistência do papel com o aumento do tempo de hidrólise provavelmente devido a degradação das fibras de celulose. Tanto para o papel branqueado quanto para o não branqueado há uma redução na resistência à tração (43,2% e 51,3%, respectivamente) do papel comparada a polpa in natura quando a polpa utilizada passa por um tempo maior de hidrólise (6 h).

A resistência ao rasgo, mesmo após a adição de 10 ou 20% de polpa hidrolisada, não atingem o mesmo valor para a polpa não tratada (Figura 23); no entanto, o valor é maior do que a resistência de celulose hidrolisada (82,4% e 82,3% para papel branqueado e não branqueado, respectivamente) para o tempo de 6 horas.

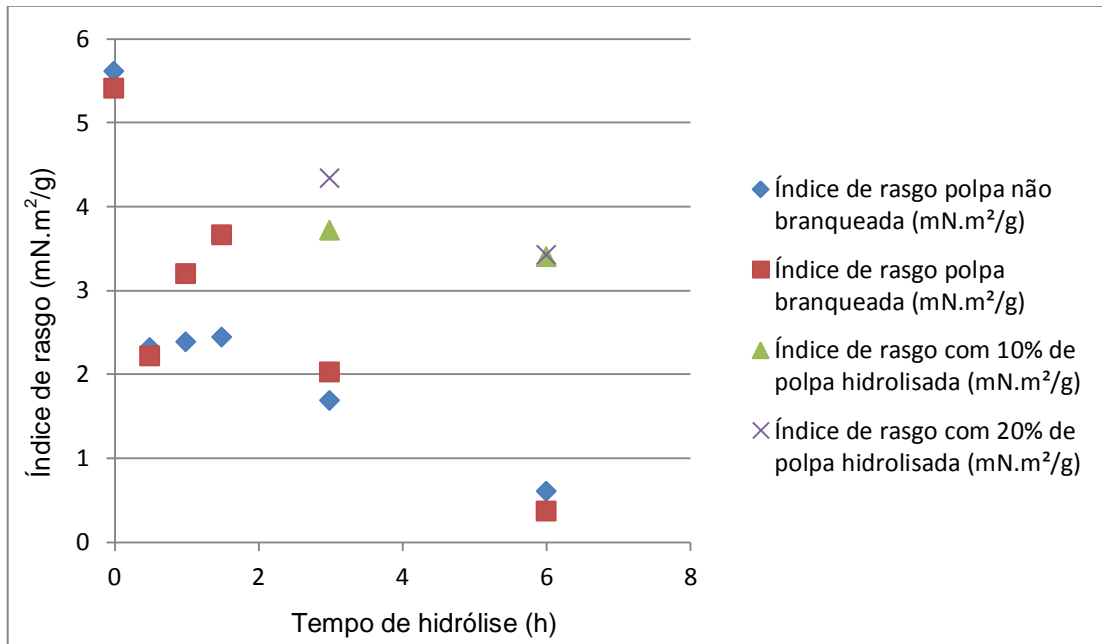


Figura 23. Gráfico do índice de rasgo vs tempo de hidrólise.

A resistência ao rasgo é a medida do trabalho total necessário para o rasgamento completo do papel, a uma distância fixada depois de o rasgo ter sido iniciado. Entre os fatores que afetam essa propriedade estão o comprimento das fibras e a ligação entre elas (MENEGAZZO, 2012).

Após 3 h a resistência diminuiu drasticamente para as amostras sem a adição de celulose hidrolisada (Figura 24).

O índice de arrebatamento é influenciado principalmente pelo número de ligações interfibras e pela força destas ligações, portanto com o aumento do grau de refino, ocorre colapsamento das fibras resultando em maior compactação e maior área de contato entre elas, favorecendo o número e a força das ligações. Conseqüentemente, ocorre o aumento da resistência ao arrebatamento ou estouro.

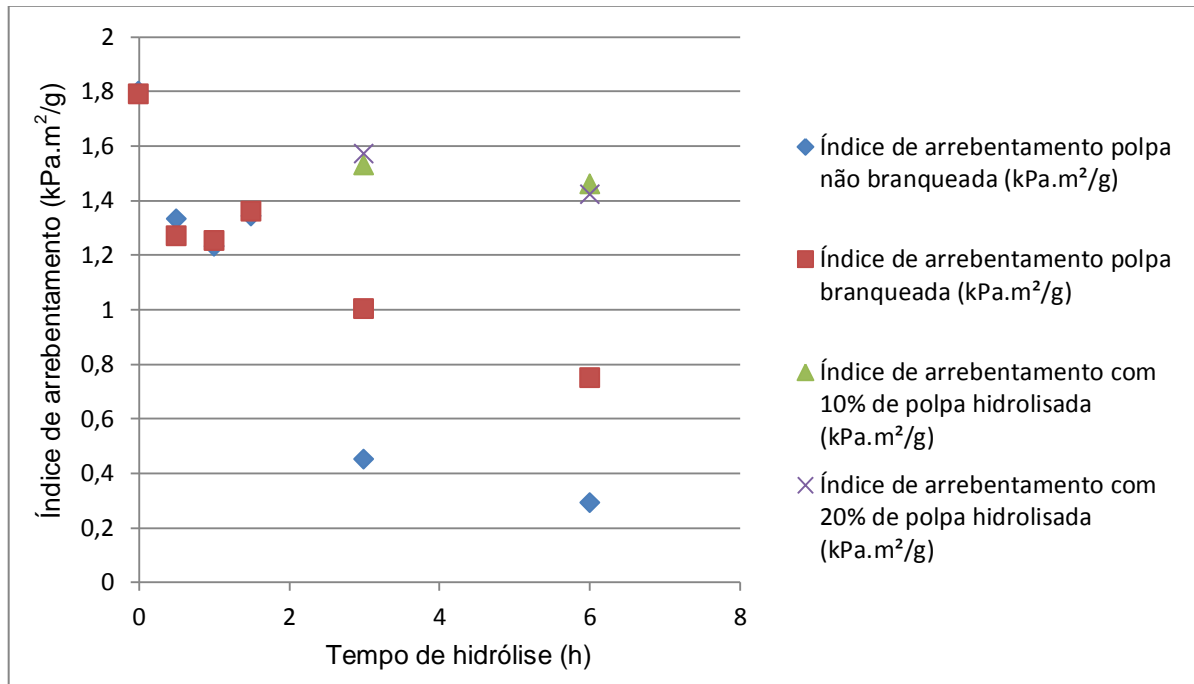


Figura 24. Gráfico do índice de arrebentamento vs tempo de hidrólise do papel.

Analisando a Figura 25 pode-se observar que em tempos maiores há a redução nos valores de viscosidade com relação ao tempo de hidrólise. Isso ocorre porque com o aumento do tempo da hidrólise existe uma maior degradação das fibras de celulose, o que causa o aumento da quantidade de finos e/ou monossacarídeos. A viscosidade está diretamente relacionada à degradação dos polímeros da polpa, por isso com o aumento do tempo de hidrólise é esperada a diminuição da viscosidade.

Segundo ROSA (2003) enquanto o número kappa fornece uma indicação do grau de deslignificação da pasta, a viscosidade traduz o grau de degradação (ou despolimerização) da celulose. A viscosidade está relacionada com a degradação dos carboidratos provocada pelos reagentes de cozimento. Ela dá idéia da seletividade de cozimento kraft. Maiores valores de viscosidade indicam melhores seletividades (GOMES).

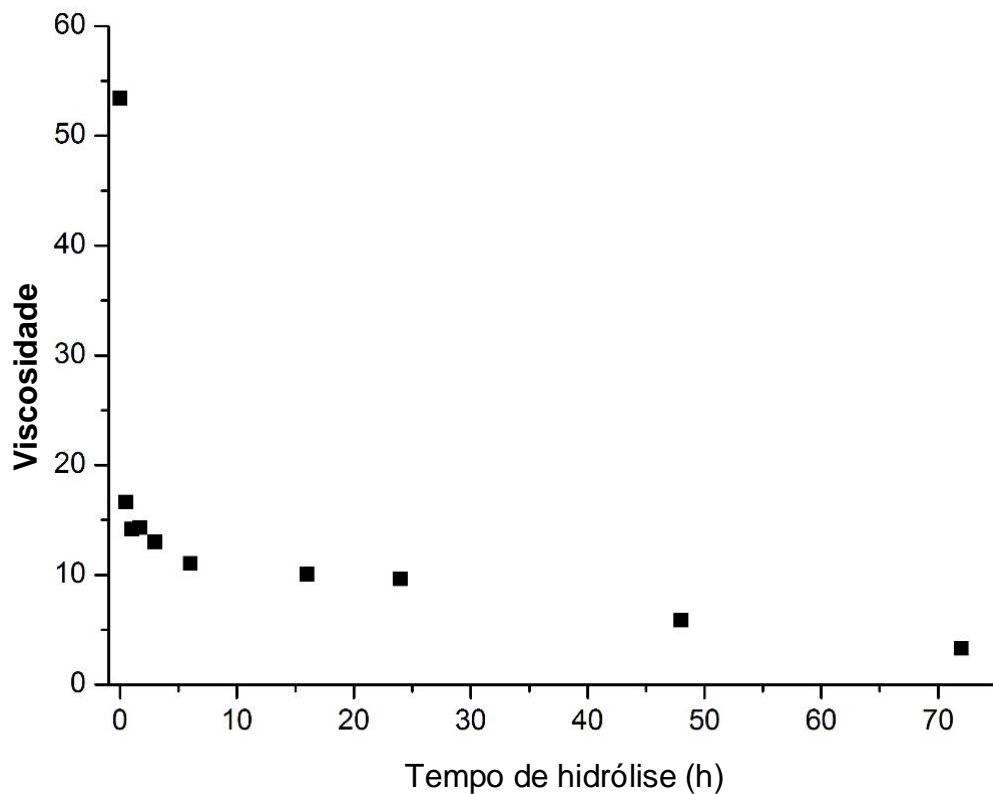


Figura 25. Gráfico da viscosidade da pasta de celulose vs tempo de hidrólise.

O grau Shoper Riegler ($^{\circ}$ SR) foi utilizado para medir a drenabilidade da polpa (Figura 26). Segundo MENEGAZZO (2012), a drenabilidade das polpas depende da sua resistência à passagem de água, a qual aumenta com a refinação, não apenas devido ao aumento das fibras (e dos finos), mas também devido à perda de porosidade da matriz fibrosa, como consequência da fibrilação externa e dos ganhos de flexibilidade e de colapsabilidade das fibras. Pode-se observar na Figura 26 que a drenabilidade diminui com o tempo de hidrólise para o papel não branqueado sem adição de polpa celulósica, indicando que há uma menor resistência à passagem de água no papel com o aumento do tempo de hidrólise.

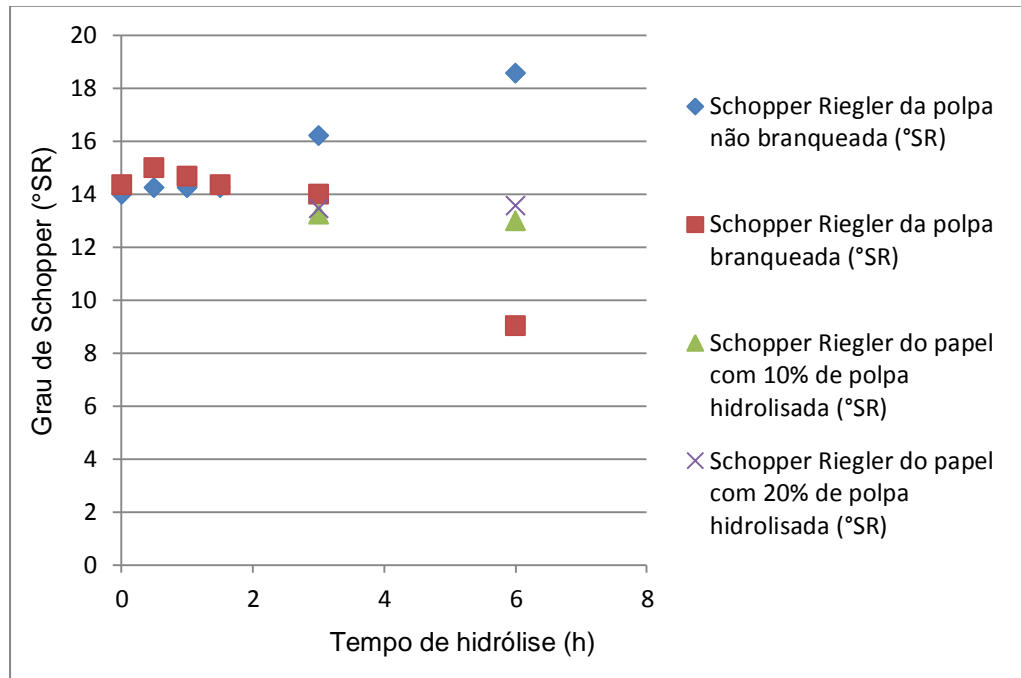


Figura 26. Gráfico do grau de Schopper Riegler vs tempo de hidrólise do papel.

Os finos presentes nas polpas celulósicas exerceram papel importante sobre a alteração das propriedades do papel. Os valores encontrados são compatíveis com o estudo de ARAUJO (2004) para madeiras pré-tratadas e branqueadas sem refino, sendo encontrado para *Eucalyptus saligna* o grau de drenabilidade 15°SR, para o índice de tração 26,9 N.m/g, para o índice de estouro 1,15 kPa.m²/g e para o índice de rasgo 5,95 mN.m²/g.

Com relação ao trabalho de ANDRADE (2010), os valores encontrados foram bem superiores, o índice de tração apresentou variação entre 35,6 N.m/g e 69,5 N.m/g. Os papéis tiveram variação entre 4,2 KPa.m²/g a 8,0 KPa.m²/g de arrebatamento. Quanto aos resultados para o índice de rasgo, constatou-se que este índice apresentou variação entre 8,2 mN.m²/g e 12,0 mN.m²/g (ANDRADE, 2010).

POTULSKI (2012) estudou o efeito da incorporação de microfibrilas de celulose sobre as propriedades do papel e obteve o aumento das propriedades mecânicas, sendo que o índice de tração variou de 8,51 a 75,60 N.m/g. A resistência ao rasgo apresentou uma variação de 2,89 a 13,86 N.m/g, seguindo a mesma tendência de crescimento do índice de tração com a adição de microfibrilas de celulose e do tratamento de refino, porém para o tratamento com refino essa tendência foi em menor intensidade, pois a adição das microfibrilas não interferiu de forma

significativa, apresentando resultados estatisticamente iguais para a maioria dos tratamentos realizados.

Esta variação entre os valores das propriedades é explicada pelas diferenças existentes entre os elementos fibrosos, condições diferenciadas nos processos de obtenção de polpa celulósica e produção do papel.

5.4 MICROSCOPIA ÓPTICA

A microscopia óptica foi empregada para a visualização das fibras de eucalipto, visando conhecer a morfologia e verificar mudanças durante a hidrólise. Conforme apresentado nas Figuras 27 a 31, observa-se claramente que após 6 horas de hidrólise enzimática ocorre a degradação visível da fibra de celulose.

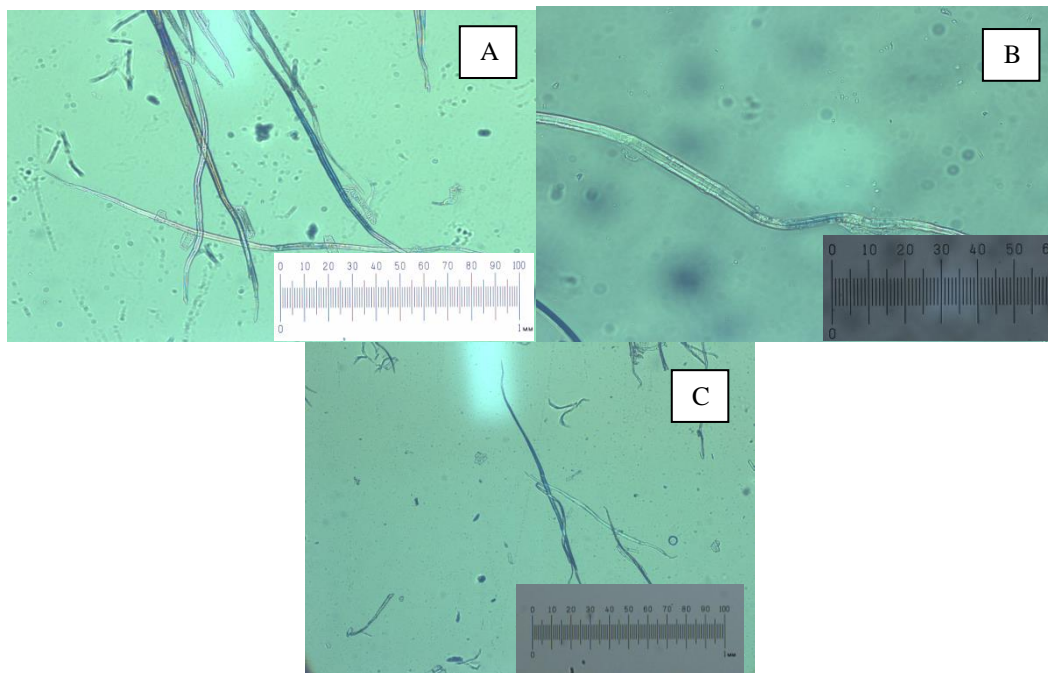


Figura 27. Imagens de transmissão de fibra de polpa celulósica *in natura*.

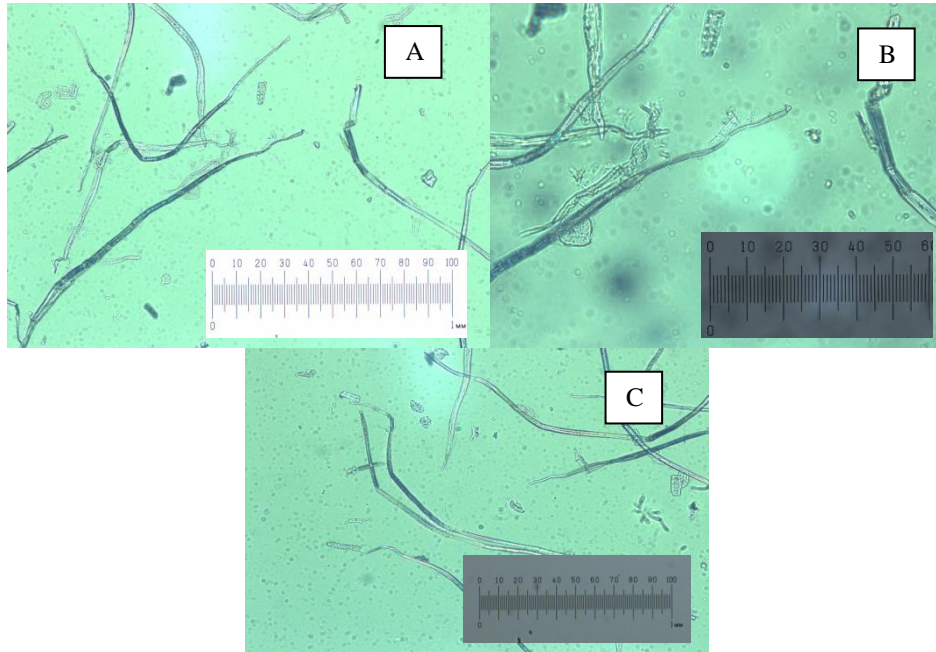


Figura 28. Imagens de transmissão de fibra de polpa celulósica hidrolisada por 1 hora.

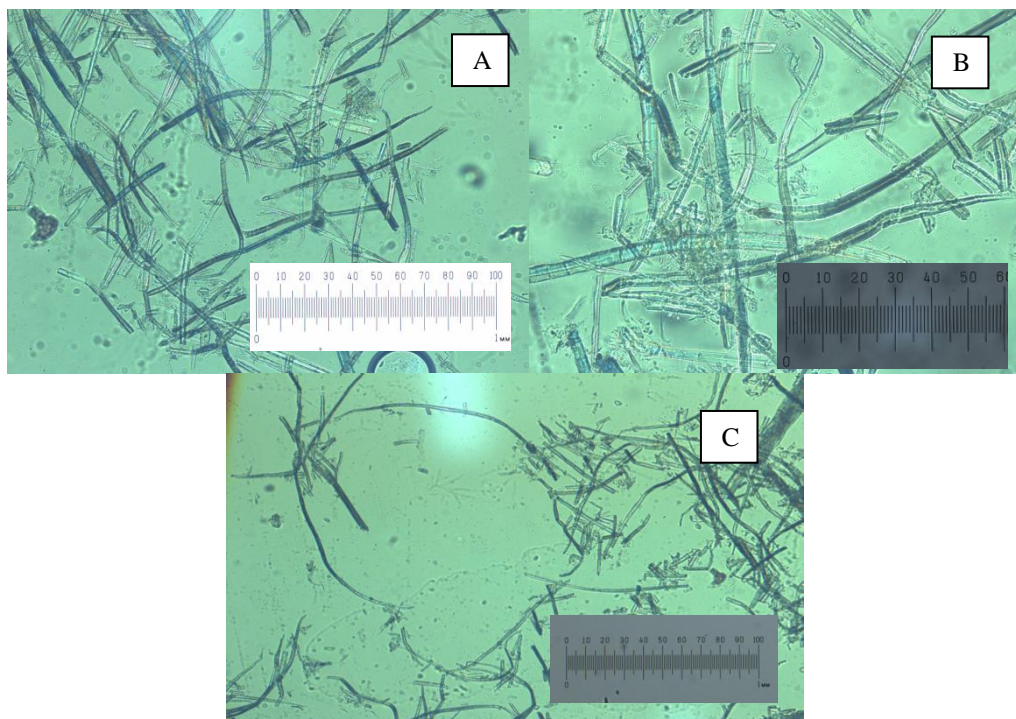


Figura 29. Imagens de transmissão de fibra de polpa celulósica hidrolisada por 3 horas.

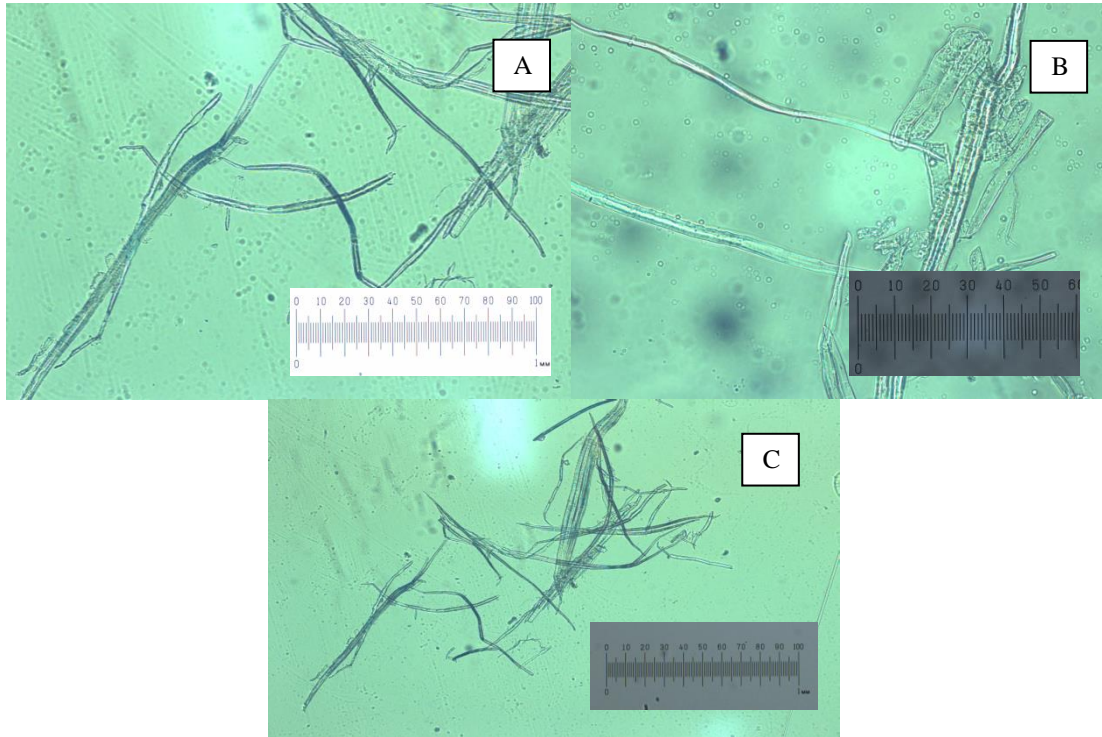


Figura 30. Imagens de transmissão de fibra de polpa celulósica hidrolisada por 6 horas.

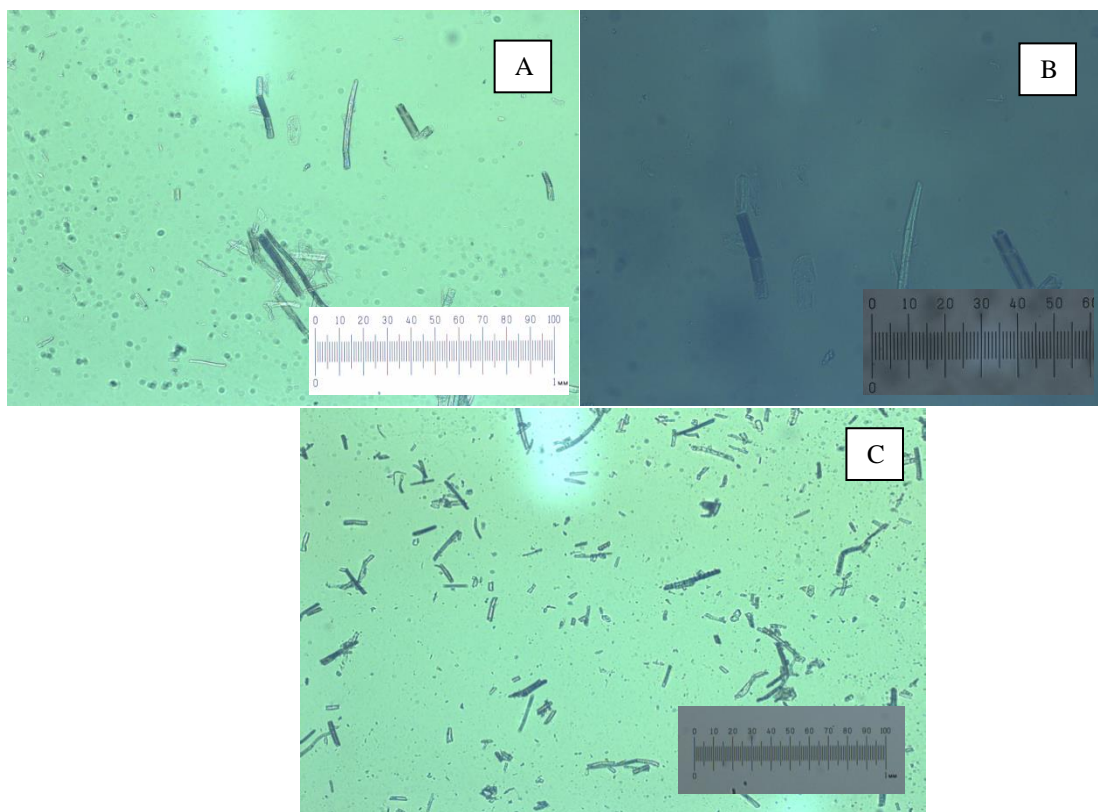


Figura 31. Imagens de transmissão de fibra de polpa celulósica hidrolisada por 16 horas.

6 CONCLUSÕES

A composição química da polpa celulósica não branqueada de *Eucalyptus dunnii* apresentou teores de açúcares totais potencialmente fermentescíveis (73%). O conteúdo de pentoses foi praticamente 20% dos açúcares encontrados na polpa. Após 72 h de tempo de residência a conversão de holocelulose à glicose foi de 34,6%, resultado baixo comparado a outros estudos. Fatores como a cristalinidade da celulose, o elevado teor de sólidos e a falta de homogeneidade da solução no meio sólido podem ter afetado a eficiência da hidrólise enzimática.

De acordo com os resultados apresentados, para um posterior trabalho que visa à conversão de polpa celulósica em etanol, tempos de hidrólise com no máximo 24 horas seriam mais interessantes. Uma vez que este tempo pode reduzir custos operacionais, sendo ainda relevante uma otimização da concentração a ser analisada e o emprego da chamada batelada alimentada.

Para a produção de papel a partir de polpa celulósica, o tempo ideal foi o menor, até 3 horas para o caso de uso direto após hidrólise, ou superior até 6h, desde que seja adicionada a pasta em até 20% com polpa celulósica não hidrolisada. Nos tempos 0,5 h, 1 h, 1,7 h, 3 h e 6 h foi possível a confecção de folhas não-branqueadas e branqueadas. Nos tempos maiores ocorreu maior degradação das fibras, impossibilitando a formação de folhas de papel.

Tanto para o papel branqueado quanto para o não branqueado ocorreu uma redução na resistência à tração (43,2% e 51,3%, respectivamente), ao estouro (41,8% e 16,2%) e ao rasgo (82,4% e 82,3%, respectivamente) do papel comparada a polpa in natura quando a polpa utilizada passa por um tempo maior de hidrólise (6 h).

Os resultados sugerem que a hidrólise parcial da celulose não branqueada de *Eucalyptus dunnii* é uma opção para o conceito de biorrefinarias. Os açúcares hidrolisados podem ser usados para a produção de bioetanol ou outros produtos de alto valor agregado. Os sólidos não hidrolisados podem ser adicionados à pasta não tratada visando à fabricação de papel. Essa abordagem é uma possibilidade para superar o alto custo da produção de bioetanol a partir de biomassa de madeira.

7 TRABALHOS FUTUROS

Para futuros trabalhos seriam interessantes novas hidrólises em outras condições de temperatura, concentração, utilizando outras enzimas, além de realizar estudos de conversão dos açúcares em etanol. Fatores como a cristalinidade, a homogeneidade da solução e concentração de sólidos devem ser observados. Novas análises de hidrólises com hemicelulases separadas de celulasas seriam interessantes para a fabricação de outros produtos, como a celulose solúvel, de elevado valor agregado no mercado.

A formação de papel a partir de novas hidrólises também seria importante, assim como também o estudo da melhor aplicação deste papel fabricado. Além disso, trabalhos para avaliar a viabilidade econômica da produção de etanol em uma fábrica de papel e celulose também seriam interessantes.

8. REFERÊNCIAS

AGUIAR, André; FERRAZ, André. Mecanismos envolvidos na biodegradação de materiais lignocelulósicos e aplicações tecnológicas correlatas. **Química Nova**, v.34, n. 10, p.1729-1738, 2011.

ANDRADE, Alan Sulato de. **Utilização de micropartículas de lignina kraft combinadas com amido anfótero visando o aumento das propriedades do papel embalagem**. 2010. 196 f. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba- PR, 2010.

ANGELO, H. **Determinantes do preço da madeira para produção de celulose no Brasil**. 2012. 98 f. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2012.

ARAUJO, R. H. **Celulose kraft produzida a partir das madeiras de bragatinga (*Mimosa scabrella*) e eucalipto (*Eucalyptus saligna*) misturadas em diferentes proporções**. 84 f. 2004. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria (RS), 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14853 - Madeira: determinação solúvel em etanol-tolueno e em diclorometano**. Rio de Janeiro, 2002. 3 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13999 - Papel, cartão, pastas celulósicas e madeira: determinação do resíduo (cinza) após a incineração a 525°C**. Rio de Janeiro, 2003. 4 p.

BALLESTEROS, M. et al. Ethanol production from paper material using a simultaneous saccharification and fermentation system in a fed-batch basis. **World Journal of Microbiology e Biotechnology**, v.18, 559-561, 2002.

BELAL, Elsayed B. Bioethanol production from rice straw residues. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.44, p.225-234, 2013.

BHAT, M. K. Cellulases and related enzymes in biotechnology. **Biotechnology advances**, v.18, p.355-383, 2000.

BRAGATTO, J. **Avaliação do potencial da casca de Eucalyptus spp para a produção de bioetanol.** 2010. 156f. Tese de doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

BON, E. P. S. **Ethanol production via enzymatic hydrolysis of sugar-cane bagasse and straw.** Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Instituto de Química, jan. 2008.

BORA, K. C. **Favorabilidade climática da ferrugem do eucalipto no estado do Paraná.** 2013. 59f. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

CANETTIERI, E. V. **Obtenção dos parâmetros e estudo cinético da hidrólise ácida dos resíduos florestais de eucalipto.** 2004. 145 f. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista, Guaratinguetá – SP, 2004.

CAO, Yu; TAN, Huimin. Effects of cellulose on the modification of cellulose. **Carbohydrate Research**, v.337, p.1291-1296, 2002.

CAREY, F. A. **Química Orgânica.** Vol. 2. 2011.

COMELATO, Jaqueline Silveira et al. Geração de finos no branqueamento de pasta kraft de eucalipto e seu efeito nas propriedades do papel. **Revista Árvore**, v..37, n.1, p.181-189, 2013.

DAVIS, MARK W. A rapid modified method for compositional carbohydrate analysis of lignocellulosics by high ph anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC/PAD). **Journal of wood chemistry and technology**, v. 18(2), p.235-252, 1998.

DIAS, M.O.S. et al. Production of bioethanol and other bio-based materials from sugar cane bagasse: integration to conventional bioethanol production process. **Chemical Engineering Research and Design.** v.87, p.1206–1216, 2009.

EL-TAYEB, T. S. Effect of acid hydrolysis and fungal biotreatment on agro-industrial wastes for obtainment of free sugars for bioethanol production. **Brazilian Journal Microbiology**, vol. 43, n.4, 1523-1535, 2012.

FERNANDES, D. M. **Estudo de estabilidade térmica de blendas de poli (álcool vinílico)/lignina modificada**. 2005. 151 f. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá – PR, 2005.

FINGUERUT, J. **Caracterização do material lignocelulósico**. III Workshop sobre Hidrólise para Produção de Etanol, São Paulo, dez. 2006.

FLORENCIO, C. **Microrganismos produtores de celulases: seleção de isolados de *Trichoderma spp.*** 2011. 86f. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2011.

FRINHANI, E. M. D.; DALTOÉ, R. Comparação das propriedades físico-mecânicas de polpas celulósicas Kappa 45 e Kappa 100 destinada à fabricação de papéis para embalagens rígidas. **Unoesc & Ciência – ACET**, v. 3, 65-74, 2012.

FORNELL, R. et al. Techno-economic analysis of a kraft pulp-mill-based biorefinery producing both ethanol e dimethyl ether. **Energy**. v.50, 83-92, 2013.

GRAÇA, J. **Composição química da madeira de eucalipto (*Eucalyptus globulus* L.)**. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa. 34p. 2006.

GEHLEN, C. O. **Implementação de uma estrutura de controle indireto da concentração de etanol em uma coluna da destilação híbrida**. 2013. 108 f. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharias de Processos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria (RS), 2013.

GOMES, A. F. **Avaliação das características da madeira e da polpa de *Eucalyptus* mediante a aplicação de métodos não destrutivos na árvore viva**. 124 f. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2007.

GOUVÊA, P. F. **Estudos genéticos e moleculares da produção de celulases e hemicelulases em *Aspergillus nidulans* e *Aspergillus niger***. 2013. 205 f. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

GRANBIO. **“Granbio inicia produção de etanol de segunda geração”**. Disponível em: <http://www.granbio.com.br>. Acesso em: 27/05/2015.

HAMELINCK, C. N. et al. Etanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short, middle and long term. **Biomass and Bioenergy**, v.28, p.384-410, 2005.

HUANG, H. J., RAMASWAMY, S. Process modeling and analysis of pulp mill-based integrated biorefinery with hemicellulose pre-extraction for ethanol production: A comparative study. **Bioresource Technology**. V. 101, p.624-631. 2010.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Pulps: Determination of drainability - Part 1: Schopper-Riegler method**. 1999. 7 p. (ISO 5267-1:1999).

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Pulps: Preparation of laboratory sheets for physical testing – Part 2: Rapid-Koethen method**. 1980. 7 p. (ISO 5269-2:1980).

JARDINE, J. G. et al. **Considerações sobre o bioetanol lignocelulósico para subsidiar a elaboração de conteúdo da árvore do conhecimento agroenergia**. 2009. 32 f. Embrapa Informática Agropecuária, Campinas – SP, 2009.

KLOCK, U. et al. **Química da Madeira**. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

LACERDA, L. S. **Comparação analítica de alternativas de disposição final do lodo residual em indústrias de papel – Estudo de caso**. 2011. 101 f. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Desenvolvimento de Tecnologia, Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento (LACTEC) em parceria com o Instituto de Engenharia do Paraná (IEP), Curitiba – PR, 2011.

MARCO, Lilian Alves de. **Avaliação da influência do resíduo de reciclagem de papel no processo produtivo da cultura do milho**. 2011. 96 f. Dissertação mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos, Universidade da Região de Joinville, Joinville (SC), 2011.

MENEGAZZO, M. L. **Características morfológicas de celuloses branqueadas de pinus e eucalyptus em analisador óptico automático de fibras**. 2012. 65 f. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Ciência Florestal, Universidade Estadual Paulista, Botucatu (SP), 2012

MIELI, J. C. A. **Sistemas de avaliação ambiental da indústria de celulose e papel**. 2007. 99 f. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG), 2007.

MOCHIZUKI, J. et al. Market, welfare and land-use implications of lignocellulosic bioethanol in Hawai'i. **Renewable Energy**, vol. 76, 102-114, 2015.

MONTEBELLO, Adriana Estela Sanjuan; BACHA, Carlos José Caetano. Impactos da reestruturação do setor de celulose e papel no Brasil sobre o desempenho de suas indústrias. **Estud. Econ.**, vol.43, n.1, 109-137, 2013.

MUSSATTO, S. I. et al. Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. **Biotechnology Advances**, vol. 28, 817-830, 2010.

NAVROSKI, M. C. **Multiplicação *in vitro* de genótipos de *Eucalyptus dunnii* Maiden**. 2011. 101 f. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, 2011.

NOVOZYMES. **Application sheet**. Luna N° 01668, Denmark, 2010.

OGEDA, L.T.; PETRI, D.F.S. Hidrólise Enzimática de Biomassa. **Química Nova**, v. 33 (7), p.1549-1558, 2010.

PEREIRA, B. L. C. et al. Estudo da degradação térmica da madeira de *Eucalyptus* através de termogravimetria e calorimetria. **Revista Árvore**, v.37, n.3, p. 567-576, 2013.

PEREIRA, H. F. et al. Preparação e caracterização de materiais híbridos celulose/NbOPO₄.nH₂O a partir de celulose branqueada de bagaço de cana-de-açúcar. **Polímeros**, v. 22, n. 1, p. 88-95, 2012.

PEREZ, J. A. et al. optimizing liquid hot water pretreatment conditions to enhance ssugar recovery from wheat straw or fuel ethanol production. **Fuel**, v. 87, p. 3640-3647, 2008.

PERÍGOLO, D. M. **Quantificação de monossacarídeos de madeira e polpas celulósicas por HPLC/DAD e polpas celulósicas por HPLC/DAD utilizando derivatização com 1-fenil-3-metil-5-pirazolona**. 82 f. 2014. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2014.

PERISSOTTO, D. O. **Estudo comparativo das propriedades químicas de polpas Kraft convencionais e MCC de eucalipto**. Dissertação de doutorado. Curitiba, 2005.

POTULSKI, D. C. **Efeito da incorporação de microfibrilas de celulose sobre as propriedades do papel**. 73 f. 2012. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

REYES, Pablo et al. Extraction and characterization of hemicelluloses from *Pinus radiata* and its feasibility for bioethanol production. **Revista Árvore**, v.37, p.175-180, 2013.

ROCHA, C. F.; GNOATTO, V. E. Purificação de óleos vegetais e quantificação dos gases liberados na queima destes óleos em motores à diesel adaptados. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Curitiba, 2008.

RODRIGUES, R. C. L. B., ROCHA, G. J. M., RODRIGUES JR., D., FILHO, H.J.I., FELIPE, M.G.A., PESSOA JR.. Scale-up of diluted sulfuric acid hydrolysis for producing sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate (SBHH). **Bioresource Technology**. v.101. p.1247–1253, 2010.

RODRIGUES, J. A. R. Do engenho à biorrefinaria, a usina de açúcar como empreendimento industrial para a geração de produtos bioquímicos e biocombustíveis. **Química Nova**, v. 34 (7), p.1242-1254, 2011.

ROSA, C. A. B. **Influência do teor de lignina da madeira de *Eucalyptus globulus* na produção e na qualidade da celulose kraft**. cl f. 2003. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria (RS), 2003.

ROSA, S. E. S.; GARCIA, J. L. F. O etanol de segunda geração: limites e oportunidades. **Revista do BNDES**. v.32. p. 117–156, 2009.

SANTOS, M. F. R. F. **Elaboração do technology roadmap para biorrefinaria de produtos de lignina no Brasil**. 307 f. 2011. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

SANTOS, R. **Produção de polpa solúvel a partir de *Eucalyptus urograndis***. 54 f. 2011. Trabalho de conclusão de curso de Engenharia Industrial Madeireira. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Itapeva-SP, 2011.

SANTOS, D. S. **Produção de etanol de segunda geração por *Zymomonas mobilis* naturalmente ocorrente e recombinante, empregando biomassa lignocelulósica**. 218 f. 2012. Tese de doutorado. Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, 2012.

SANTOS, L. F. **Avaliação da diversidade genética em *Eucalyptus spp.* por meio de marcadores moleculares e métodos quantitativos.** 68 f. 2012. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus - BA, 2012.

SAMISTRARO, G. et al. Previsão das propriedades físicas do papel kraft por espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) e regressão por mínimos quadrados parciais (PLS). **Química Nova**, v.32 (6), p. 1422-1425, 2009.

SEGAL, L. et al. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. **Textile Research Journal**, v.29, n.10, p.786-794, 1959.

SÉKULA, P. R. **Uso de modelo de referência para melhoria do processo de fabricação de papel kraft.** 123 f. 2011. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Engenharia de Produção, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa – PR, 2011.

SILVA, A. S. A. **Pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com líquidos iônicos: efeito na desestruturação da parede celular e na eficiência da hidrólise enzimática.** 152 f. 2013. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

SILVA, Patrícia Raquel. **Produção de etanol com alternativa para o aproveitamento de resíduos da indústria de papel e celulose.** EMBRAPA, 2010.

SILVA, N. L. C. **Produção de bioetanol de segunda geração a partir da biomassa residual da indústria de celulose.** 123 f. 2010. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, 2010.

SILVA, D. A. L. et al. Life cycle assessment of offset paper production in Brazil: hotspots and cleaner production alternatives. **Journal of Cleaner Production**. 2015.

SOUZA, M. A. M. **Metodologias não destrutivas para a avaliação das tensões de crescimento em *Eucalyptus dunnii* Maiden.** 80 f. 2006. Tese de doutorado. Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR, 2006.

TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY (TAPPI). **TAPPI tests methods.** ATLANTA, 2004.

TAPPI. T 205-om02. **Forming handsheets for physical testes of pulp.** In: *Tappi Test Methods*. TAPPI Press, Norcross, GA, 2004. 9p.

TAPPI. T236 om-99. **Technical Association of the Pulp and Paper Industry.** In: *Tappi Test Methods*. 1999.

TEST METHODS. T230 om-94. **Viscosity of pulp.** In: *Tappi Test Methods*. 1982.

VIRKAJARVI, I. et al. Cellulosic ethanol via biochemical processing poses a challenge for developers and implementors. **Bio Resources**, v. 4 (4), p. 1718-1735, 2009.

ZANUNCIO, A. J. V.; COLODETTE, Jorge Luiz. Teores de lignina e ácidos urônicos na madeira e polpa celulósica de eucalipto. **Revista Árvore**, v.35, p.341-347, 2011.

WANG, L. et al. Bioethanol production from various waste papers: Economic feasibility and sensitivity analysis. **Applied Energy**, p. 1172-1182, 2013.

WYMAN, C. E. et al. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. **Bioresource Technology**, v. 96, p.1959-1966, 2005.