



Instituto Superior de Engenharia de Lisboa
Área Departamental de Engenharia Química

Desenvolvimento de processos de desconstrução de biomassa de culturas energéticas selecionadas



Miguel Bruno Gomes

(Licenciado em Engenharia Química e Biológica)

Dissertação para a obtenção de grau de Mestre em Engenharia Química
e Biológica - Ramo de Processos Químicos

Orientadores:

Professor Doutor João Fernando Pereira Gomes, Orientador Interno

Investigador Luís Jorge Abreu Chorão de Quelhas Duarte, Orientador Externo

Júri:

Professor Doutor Teodoro José Pereira Trindade

Professor Doutor Jaime Borges Puna

Investigador Luís Jorge Abreu Chorão de Quelhas Duarte

Setembro 2021

Agradecimentos

Primeiro que tudo, gostaria de um modo geral agradecer a todo aqueles que tornaram a realização deste trabalho possível e me ajudaram durante esta longa jornada.

Ao Dr. Luís Duarte, pela orientação, disponibilidade, paciência e conhecimento transmitido. Também pela simpatia e calma, que sempre demonstrou nestes tempos difíceis que todos estamos a atravessar.

Ao Professor João Gomes, por toda a disponibilidade em ajudar com o que fosse necessário, simpatia e conhecimento.

Ao Professor Jaime Puna, que me ofereceu esta possibilidade em conjunto com o LNEG de desenvolver a minha tese de mestrado.

A toda a gente do LNEG, desde colaboradores a bolseiros, pela excelente receção e ajuda prestada durante esta jornada, em tudo o que fosse necessário. Deixo um agradecimento especial à Doutora Florbela Carvalheiro, e à Belina Ribeiro, e Céu Penedo. Agradeço também ao Doutor Fernando Costa Oliveira e Doutora Maria Alexandra Barreiros do LNEG a disponibilização das fotos de microscopia eletrónica de varrimento e à Ivone Torrado do CEBAL a ajuda prestada.

Aos meus pais, por todo o amor, suporte e princípios que recebi durante toda a minha vida. Sem eles não seria o que sou hoje, e não teria tido todas as possibilidades, por eles fornecidas, para ser uma pessoa melhor e lutar sempre por tudo o que quero.

Este trabalho foi realizado no âmbito do projeto “BRISK2 - Biofuels Research Infrastructure for Sharing Knowledge”, financiado pelo programa H2020 sob o contrato número 731101 utilizando a Infraestrutura de Investigação para a Biomassa e a Bioenergia (BBRI - Biomass and Bioenergy Research Infrastructure)- LISBOA-01-0145-FEDER-022059, financiada pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) através do Programa Operacional para a Competitividade e Internacionalização (PORTUGAL2020), do Programa Operacional Regional Lisboa Portugal (Lisboa 2020) e do Programa Operacional Regional Norte Portugal (Norte 2020) sob o acordo de parceria Portugal 2020.



Resumo

As culturas energéticas apresentam vantagens muito significativas ao nível agrícola, sendo já uma alternativa a outras fontes de biomassa, nomeadamente as culturas alimentares, para a produção de biocombustíveis sólidos. No entanto, há ainda diversas barreiras que limitam a sua utilização para a produção de combustíveis líquidos, nomeadamente a baixa digestibilidade da sua fração celulósica.

Neste trabalho avaliou-se a composição química de duas culturas energéticas tendo sido comparadas com outras fontes de biomassa, nomeadamente resíduos agroindustriais. A biomassa de *Miscanthus* e Faia, culturas energéticas passíveis de serem cultivadas em Portugal, foram estudadas em trabalhos posteriores com vista à sua valorização no âmbito do enquadramento da biorrefinaria, tendo-se desenvolvido dois processos de fracionamento, hidrólise ácida e autohidrólise.

O tratamento por hidrólise ácida permitiu a obtenção de elevados rendimentos em monossacáridos (tendo-se obtido hidrolisados com concentrações de açúcares superiores a 24 g/L) passíveis de conversão em biocombustíveis líquidos. A autohidrólise permitiu a recuperação da hemicelulose essencialmente na forma de oligossacáridos, compostos com potenciais efeitos pré-bióticos e que apresentam maior valor acrescentado, tendo-se atingido concentrações de 16 g/L.

Ambos os processos levaram ao aumento significativo da digestibilidade enzimática da fração celulósica remanescente de ambos os materiais testados, tendo-se atingido um máximo de aproximadamente, 70% em glucano e 80% em xilano para *Miscanthus* e aproximadamente 24% em glucano e 73% em xilano para a Faia, que contribui significativamente para o potencial de produção de biocombustíveis líquidos.

A viabilidade técnico-económica da valorização destes materiais é apresentada e discutida tendo por base os balanços de massa preliminares, tendo-se demonstrado que os processos de autohidrólise apresentam maior potencialidade de viabilidade económica.

Palavras Chave

Autohidrólise; Biomassa; Culturas Energéticas, Digestibilidade Enzimática; Faia; Hidrólise ácida; *Miscanthus*

Abstract

Energy crops have very significant advantages at the agricultural level, and are already an alternative to other sources of biomass, namely food crops, for the production of solid biofuels. However, there are still several barriers that limit their use for the production of liquid fuels, namely the low digestibility of its cellulosic fraction.

In this work, the chemical composition of two energy crops was evaluated and compared with other sources of biomass, namely agro-industrial wastes.

The biomass of *Miscanthus* and Beech, energy crops that can be grown in Portugal, were selected for further work aiming their valorization within the biorefinery, by studying two fractionation processes, acid hydrolysis and autohydrolysis. The treatment by acid hydrolysis allowed obtaining higher concentrations than 24 g/L in hemicellulosic monosaccharides, potentially convertible into liquid biofuels. Conversely, autohydrolysis allowed the recovery of hemicellulose essentially in the form of oligosaccharides, compounds with potential prebiotic effects and hence with higher added-value, where the values were higher than 16 g/L. Both processes led to a significant increase in enzymatic digestibility of the remaining cellulosic fraction of both tested materials, 70% of glucan and 80% of xilan, for *Miscanthus* and 24% of glucan and 73% of xilan, for Beech, which contributes gratefully to a potential production of liquid biofuels.

The techno-economic analysis of the proposed upgrading strategies is presented and discussed based on the preliminary mass and energy balances obtained. Autohydrolysis is shown to present potential economic advantages over the dilute acid hydrolysis process.

Keywords

Acid Hydrolysis; Auto-Hydrolysis; Beech; Biomass; Energy crops; Enzymatic Digestibility; Miscanthus

Índice geral

AGRADECIMENTOS	III
RESUMO	VII
PALAVRAS CHAVE	VII
ABSTRACT	IX
KEYWORDS	IX
ÍNDICE GERAL	XI
ÍNDICE DE QUADROS	XV
ÍNDICE DE FIGURAS	XV
LISTA DE ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS E SÍMBOLOS	XVII
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 ENQUADRAMENTO	1
1.2 OBJETIVO	3
1.3 ESTRUTURA.....	3
1.4 PUBLICAÇÕES	3
2 ESTADO DA ARTE	5
2.1 BIORREFINARIAS.....	5
2.1.1 <i>Biocombustíveis</i>	6
2.1.1.1 Biodiesel	7
2.1.1.2 Bioetanol	8
2.2 MATÉRIAS-PRIMAS	8
2.2.1 <i>Culturas energéticas</i>	8
2.2.2 <i>Miscanthus</i>	9
2.2.3 <i>Faia (Fagus sylvatica)</i>	10
2.2.4 <i>Sobrantes agroindustriais</i>	12
2.2.4.1 Borrás de café.....	12
2.2.4.2 Carçoço do fruto da palmeira	13
2.2.4.3 Dreche cervejeira	14
2.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICO-ESTRUTURAL DOS MATERIAIS LENHOCELULÓSICOS	14
2.3.1 <i>Celulose</i>	16
2.3.2 <i>Hemicelulose</i>	16
2.3.3 <i>Lenhina</i>	17

2.4	PRÉ-TRATAMENTOS	19
2.4.1	<i>Hidrólise ácida</i>	21
2.4.1.1	Ácido concentrado	21
2.4.1.2	Ácido diluído.....	22
2.4.2	<i>Tratamentos hidrotérmicos</i>	23
2.4.2.1	Autohidrólise	23
2.4.2.2	Explosão de vapor	24
2.4.2.3	Hidrólise assistida com CO ₂	24
2.4.3	<i>Tratamento alcalino</i>	25
2.4.4	<i>Hidrólise enzimática</i>	26
2.5	PRODUTOS DERIVADOS DOS PRÉ-TRATAMENTOS.....	27
2.5.1	<i>Oligossacáridos (OS)</i>	27
2.5.2	<i>Monossacáridos (OS)</i>	28
3	MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1	MATÉRIAS-PRIMAS	31
3.1.1	<i>Miscanthus</i>	31
3.1.2	<i>Faia</i>	31
3.1.3	<i>Borras de café</i>	31
3.1.4	<i>Caroço do fruto de palmeira</i>	31
3.1.5	<i>Dreche cervejeira</i>	31
3.2	PRÉ-TRATAMENTO DA BIOMASSA EM ÁCIDO DILUÍDO.....	32
3.3	PRÉ-TRATAMENTO DA BIOMASSA POR AUTOHIDRÓLISE	33
3.4	MÉTODOS ANALÍTICOS	34
3.4.1	<i>Caracterização física das matérias-primas</i>	34
3.4.1.1	Quantificação da densidade	34
3.4.1.2	Perfil granulométrico	35
3.4.2	<i>Determinação dos sólidos totais na biomassa</i>	35
3.4.3	<i>Determinação das cinzas na biomassa</i>	35
3.4.4	<i>Determinação do peso seco do hidrolisado</i>	36
3.4.5	<i>Caracterização estrutural de matérias-primas e biomassa tratada</i>	36
3.4.6	<i>Quantificação dos oligossacáridos presentes nos hidrolisados de autohidrólise</i>	37
3.4.7	<i>Avaliação da digestibilidade enzimática</i>	37
3.4.8	<i>Quantificação de açúcares, ácidos alifáticos e furanos por HPLC</i>	38
3.5	ANÁLISE ECONÓMICA	39
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MATÉRIAS-PRIMAS	41
4.1.1	<i>Caracterização física</i>	41

4.1.2	<i>Caracterização química</i>	42
4.2	PERFIS DE AQUECIMENTO E ARREFECIMENTO DO REATOR DE PRÉ-TRATAMENTO	46
4.3	PRÉ-TRATAMENTO DE <i>MISCANTHUS</i> POR HIDRÓLISE ÁCIDA DILUÍDA.....	50
4.4	PRÉ-TRATAMENTO DE <i>MISCANTHUS</i> POR AUTOHIDRÓLISE	55
4.5	PRÉ-TRATAMENTO DE FAIA POR HIDRÓLISE ÁCIDA DILUÍDA	60
4.6	PRÉ-TRATAMENTO DE FAIA POR AUTOHIDRÓLISE	64
4.7	COMPARAÇÃO DAS DIGESTIBILIDADES ENZIMÁTICAS ENTRE OS DIVERSOS PRÉ-TRATAMENTOS ENSAIADOS 69	
4.8	ANÁLISE TÉCNICO-ECONÓMICA PRELIMINAR	73
5	CONCLUSÕES	79
6	REFERÊNCIAS	83
7	ANEXOS	91
7.1	CÁLCULO DA SEVERIDADE.....	91
7.1.1	<i>Fator de severidade</i>	91
7.2	FATOR DE SEVERIDADE COMBINADO MODIFICADO (MCS)	91
7.3	CÁLCULO DE PARÂMETROS ANALÍTICOS	92
7.3.1	<i>Pré-tratamento</i>	92
7.3.2	<i>Hidrólise ácida quantitativa</i>	93
7.3.3	<i>Pós-hidrólise</i>	95
7.3.4	<i>Hidrólise enzimática</i>	95
7.4	CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL DA MADEIRA DE FAIA.....	96

Índice de quadros

Quadro 1 Comparação de alguns processos para o fracionamento de materiais lenhocelulósicos. Elevado (+); Moderado (0); Baixo (-); Não aplicável (n.a.). Adaptado de (73)	26
Quadro 2 Características da coluna cromatográfica HPX-87H e respetivas condições operacionais de análise.	39
Quadro 3 Caracterização química da Dreche cervejeira, Borrás de café e Caroço do fruto de palmeira.	43
Quadro 4 Caracterização química do Miscanthus.	44
Quadro 5 Caracterização química da Faia.	45
Quadro 6 Rendimentos de oligossacáridos e monossacáridos obtidos para cada condição ótima no tratamento da biomassa.	77
Quadro 7 Preços de mercado dos produtos propostos (€/Ton).	77
Quadro 8 Resumo dos parâmetros económicos para os modelos estudados.	78

Índice de figuras

Figura 1 Princípio da biorrefinaria. Adaptado de (14).	5
Figura 2 Esquema da reutilização de CO ₂ .	6
Figura 3 Reação de transesterificação (25).	7
Figura 4 Miscanthus (planta) e amostra de Miscanthus (pellets) utilizada.	10
Figura 5 Faia (árvore) e amostra de Faia (moída) utilizada.	10
Figura 6 Mapa da distribuição da Faia na Europa e capacidade de sobrevivência. Adaptado de (36).	12
Figura 7 Estrutura e composição da parede celular. Adaptado de (55).	15
Figura 8 Representação da molécula de celulose. Adaptado de (57).	16
Figura 9 Unidades de monossacáridos maioritárias na hemicelulose. Adaptado de (57).	17
Figura 10 Principais unidades monoméricas da lenhina. Adaptado de (66).	18
Figura 11 Efeito de um pré-tratamento em material lenhocelulósico. Adaptado de (72).	20
Figura 12 Diferentes tipos de Pré-tratamento.	20
Figura 13 Mecanismo proposto para a reação de hidrólise da celulose Adaptado de (78).	22
Figura 14 Reator Parr utilizado nos pré-tratamentos.	32
Figura 15 Distribuição do tamanho dos pellets.	41
Figura 16 Distribuição do tamanho das partículas da biomassa de Faia.	42
Figura 17 Perfil do tratamento com hidrólise ácida diluída de ambas as culturas, Miscanthus e Faia (A - Perfil de temperatura vs tempo; B - Perfil de pressão vs tempo; C - Perfil de energia vs tempo). Temperatura de aquecimento (●); Temperatura de arrefecimento (■); Temperatura isotérmico (▲); Pressão (◆); Energia (×).	47
Figura 18 Perfil do tratamento com autohidrólise de ambas as culturas, Miscanthus e Faia (A - Perfil de temperatura vs tempo; B - Perfil de pressão vs tempo; C - Perfil de energia vs tempo). Temperatura de aquecimento (●); Temperatura de arrefecimento (■); Temperatura isotérmico (▲); Pressão (◆); Energia (×).	48
Figura 19 Perfil de aquecimento do tratamento por autohidrólise para Miscanthus e Faia. Miscanthus (●); Faia (▲).	49
Figura 20 Perfil de aquecimento do tratamento por hidrólise ácida diluída para Miscanthus e Faia. Miscanthus (●); Faia (▲).	50
Figura 21 Composição do hidrolisado obtido por hidrólise ácida de Miscanthus. Glucose (■); Xilose (●); Arabinose (▲).	51

Figura 22 Composição do hidrolisado obtido por hidrólise ácida de Miscanthus. Ácido Acético (◆); Ácido fórmico (●); Ácido levulínico (■).	51
Figura 23 Composição do hidrolisado obtido por hidrólise ácida de Miscanthus. HMF (■); Furfural (●).....	52
Figura 24 Composição estrutural da biomassa residual obtida após hidrólise ácida de Miscanthus. Glucano (■); Xilano (●); Arabinano (▲); Grupos Acetilo (+); Lenhina Klason (ж); Rendimento em sólidos (×).	54
Figura 25 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise de Miscanthus. GOS (■); XOS (●); AOS (▲); AcOS (◆).....	55
Figura 26 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise de Miscanthus. Glucose (■); Xilose (●); Arabinose (▲).	56
Figura 27 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise de Miscanthus. Ácido Acético (◆); Ácido fórmico (●); Ácido levulínico (■).	56
Figura 28 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise de Miscanthus. Furfural (●); HMF (■).	57
Figura 29 Composição estrutural da biomassa residual obtida após autohidrólise de Miscanthus. Glucano (■); Xilano (●); Arabinano (▲); Grupos Acetilo (+); Lenhina Klason (ж); Rendimento em sólidos (×).	59
Figura 30 Composição do hidrolisado obtido por hidrólise ácida da Faia. Glucose (■); Xilose (●); Arabinose (▲).	61
Figura 31 Composição do hidrolisado obtido por hidrólise ácida da Faia. Ácido Acético (◆); Ácido Levulínico (■); Ácido Fórmico (●).....	61
Figura 32 Composição do hidrolisado obtido por hidrólise ácida da Faia. Furfural (●); HMF (■).	62
Figura 33 Composição estrutural da biomassa residual obtida após hidrólise ácida de Faia. Glucano (■); Xilano (●); Arabinano (▲); Grupos Acetilo (+); Lenhina Klason (ж); Rendimento em sólidos (×).	63
Figura 34 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise de Faia. GOS (■); XOS (●); AOS (▲); AcOS (◆).....	65
Figura 35 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise de Faia. Glucose (■); Xilose (●); Arabinose (▲).	65
Figura 36 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise da Faia. Ácido Acético (◆); Ácido fórmico (●); Ácido levulínico (■).	66
Figura 37 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise da Faia. Furfural (●); HMF (■).	66
Figura 38 Composição estrutural da biomassa residual obtida após autohidrólise de Faia. Glucano (■); Xilano (●); Arabinano (▲); Grupos Acetilo (+); Lenhina Klason (ж); Rendimento em sólidos (×).	68
Figura 39 Digestibilidade enzimática da Faia tratada por Autohidrólise. Glucano (■); Xilano (●).	70
Figura 40 Digestibilidade enzimática da Faia tratada por Hidrólise ácida diluída. Glucano (■); Xilano (●).....	70
Figura 41 Digestibilidade enzimática do Miscanthus, tratado por Autohidrólise. Glucano (■); Xilano (●).	72
Figura 42 Digestibilidade enzimática do Miscanthus, tratado por Hidrólise ácida diluída. Glucano (■); Xilano (●).....	72
Figura 43 Diagrama de blocos para a biorrefinaria baseada no processo de hidrólise ácida diluída.....	74

Figura 44	Diagrama de blocos para a biorrefinaria baseada no processo de autohidrólise.	74
Figura 45	Flowsheet do processo de hidrólise ácida diluída implementado em SuperPro Designer; Exemplo para a biomassa de Faia.	75
Figura 46	Flowsheet do processo de autohidrólise implementado em SuperPro Designer; Exemplo para a biomassa de Miscanthus.	76

Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Símbolos

AcOS	Acetooligossacáridos.
AOS	Arabinoologossacáridos
Ara	Arabinose
BRISK2	Projeto H2020 “ <i>Biofuels Research Infrastructure</i> ” (BRISK2 EUHorizon2020)
CERTH	Centro de Investigação e Tecnologia da Grécia (CERTH - The Centre for Research & Technology, Hellas)
COS	Celooligossacáridos
DAD	Detetor de fotodíodos (do inglês “ <i>Diode Array Detector</i> ”)
DP	Grau de polimerização (<i>Degree of Polymerisation</i> , na literatura inglesa)
EU	União Europeia.
FAME	ésteres metílicos de ácidos gordos (<i>Fatty acid methyl esters</i> , na literatura inglesa)
GEE	Gases de Efeito de Estufa.
Glc	Glucose
GOS	Glucooligossacáridos
HAc	Ácido Acético
HForm	Ácido Fórmico
HLev	Ácido Levulínico
HMF	5-(hidróximetil)-2-furaldeído
HPLC	A Cromatografia líquida de alta pressão (do inglês, <i>High Pressure Liquid Chromatography</i>)
IR	Índice de Refração
KIT	Instituto de Tecnologia de Karlsruhe (KIT - Karlsruhe Institute of Technology)
LNEG	Laboratório Nacional de Energia e Geologia (homepage LNEG Laboratório Nacional de Energia e Geologia)
MCS	O Fator de severidade modificado, do inglês, <i>Modified combined severity</i> ,.
NO_x	Óxidos de Azoto. Designação para substâncias poluentes à base de Azoto.
NREL	Laboratório Nacional de Energia Renovável (National Renewable Energy Laboratory (NREL) Home Page NREL).
OFCP	Óleo do caroço do fruto da palmeira.

OFF	Óleo do fruto de palmeira.
OS	Oligossacáridos.
RLS	Ração Líquido/sólido
SO_x	Óxidos de Enxofre. Designação para substâncias poluentes à base de Enxofre.
TNO	Organismo para a Investigação Científica Aplicada dos Países Baixos (TNO - innovation for life - Envision it TNO)
ton	Tonelada
VAL	Valor Atualizado Líquido
XOS	Xilooligossacáridos
Xyl	Xilose
YGlc	Rendimento em Glucose a partir de Glucano
YXOS	Rendimento em Xilooligossacáridos
YXyl	Rendimento em Xilose a partir de Xilano

1 Introdução

1.1 Enquadramento

Desde a revolução industrial do século XIX, o mundo tem sido dominado por uma economia onde os combustíveis fósseis apresentam um papel fundamental. Contudo, nos dias de hoje, a utilização destes combustíveis fósseis têm sofrido alguns recuos, como a sua utilização ser finita, o seu papel nas emissões de gases de efeito de estufa e alterações climáticas e o aumento do seu custo e oscilações inesperadas (1). As alterações climáticas e a degradação ambiental são uma ameaça existencial para a Europa e o mundo. Para ultrapassar esta ameaça, a Europa necessita de uma estratégia de desenvolvimento que transformará a UE numa economia moderna, eficiente e competitiva, onde não haverá emissões significativas de GEE a partir 2050. O pacto ecológico europeu é a nova estratégia de crescimento europeu, onde o grande objetivo, de longo prazo, será tornar a Europa no primeiro continente com um impacto neutro climático até 2050. Como parte deste pacto, a comissão propôs, em setembro de 2020, aumentar o objetivo na redução das emissões de GEE, para em 2030 haver pelo menos 55% de redução quando comparado com o ano de 1990. Isto irá possibilitar que a UE se mova de encontro a uma economia climática neutra e implementar os seus compromissos de acordo com o protocolo de Paris. De facto, o protocolo de Paris, assinado por 191 estados (dados em julho de 2021), definiu um enquadramento geral para evitar alterações climáticas perigosas limitando o aumento da temperatura global bem abaixo dos 2°C e prosseguir os esforços para o limitar a 1,5°C.

A transição para uma sociedade com impacto neutro no clima representa simultaneamente um desafio, que urge vencer, e uma oportunidade para construir um futuro melhor para todos. Toda a sociedade e todos os setores económicos terão um papel a desempenhar, do setor energético ao industrial passando pelos setores da mobilidade, construção, agrícola e florestal.

O efeito e o contributo da energia na vida do ser humano têm sido de enorme importância, quer seja a nível social, ambiental ou económico (2) e com o contínuo aumento da população para números inusitados surge também uma maior procura de energia e outras necessidades (3).

Como é do conhecimento geral, as fontes de energia podem ser classificadas como renováveis e não-renováveis (4). O uso das fontes de energia não renováveis é um dos maiores fatores prejudiciais ao meio-ambiente (5). A fonte de energia não renovável é a energia que não pode ser renovada naturalmente, ou seja, uma vez consumidos não estarão mais disponíveis para necessidades futuras. Estas fontes não

renováveis são o petróleo, o carvão mineral e o gás natural (2), também conhecidos como combustíveis fósseis.

Os combustíveis fósseis, como o nome indica, têm na sua origem matéria viva fossilizada (6). Esta matéria em decomposição foi sujeita a calor e pressão na crosta terrestre durante milhões de anos. Estes combustíveis fósseis também contêm compostos betuminosos tais como o xisto e o asfalto (7).

Atualmente, vive-se numa época de constante sensibilização ambiental. O uso de combustíveis fósseis desde o início da era industrial tem aumentado não só a concentração de dióxido de carbono na atmosfera bem como a temperatura da Terra (5), o que leva ao fenómeno conhecido como aquecimento global e conseqüente, um aumento do nível do mar devido ao degelo.

Com o início do desenvolvimento do setor da eletricidade no fim do século XIX, a fonte primária usada para a sua produção era o carvão e o petróleo. Hoje em dia, todos os tipos de fontes renováveis e até o gás natural são preferencialmente utilizados para gerar essa eletricidade (8).

A fonte de energia renovável é a energia que pode ser renovada naturalmente. Estas fontes vêm maioritariamente de recursos naturais como a luz solar (energia solar), o vento (energia eólica), a água (energia hidroelétrica) e a biomassa (bioenergia) (4).

Tem que se recorrer aos tempos ancestrais para se registar a primeira utilização de biomassa como uma importante fonte de obtenção de energia para o ser humano quando foi utilizada a madeira na descoberta do fogo.

A Bioenergia é então uma energia renovável produzida a partir da biomassa (9). A Biomassa é a matéria orgânica obtida direta ou indiretamente da matéria viva, tal como algas, árvores, culturas energéticas ou plantações agrícolas. A biomassa nas plantas é produzida pelo processo de fotossíntese onde o CO₂ e a água são absorvidos e convertidos nos glúcidos que constituem a planta (10). Os animais que se alimentam ou não de plantas também são uma forma de biomassa, assim como os dejetos dos mesmos (11).

A bioenergia ganhou um elevado interesse para a humanidade devido ao aumento dos preços dos combustíveis e à grande degradação ambiental causada pelos combustíveis fósseis (9).

O uso da biomassa como matéria prima para a produção de bioenergia é encorajada pela redução das emissões de CO₂ (12).

O uso da bioenergia como substituto dos combustíveis fósseis pode resultar numa redução significativa das emissões de gases com efeito de estufa o que tem um largo interesse a nível dos impactos ambientais (13).

1.2 Objetivo

A desconstrução da biomassa é ainda uma das barreiras técnicas mais significativas que impedem o desenvolvimento de aplicações industriais de valorização destes materiais.

Neste trabalho pretende-se comparar a performance do processo hidrotérmico aplicado à biomassa de Faia e *Miscanthus* com um processo catalisado (processo ácido), comparando e avaliando os principais produtos produzidos por cada um destes processos.

1.3 Estrutura

Esta dissertação está organizada em 5 capítulos.

O primeiro capítulo, inclui um breve enquadramento teórico relativo às energias renováveis e não renováveis e ao conceito de bioenergia, seguida de uma secção onde são apresentados os objetivos do presente estudo.

O segundo capítulo representa uma pesquisa bibliográfica mais aprofundada acerca do trabalho desenvolvido. Neste capítulo é então abordado o conceito de biorrefinaria, apresentadas as biomassas estudadas nesta dissertação e as composição químico-estrutural da biomassa lenhocelulósica. Termina com a apresentação dos principais tipos de pré-tratamentos e dos produtos que daí podem ser obtidos.

No terceiro capítulo, são descritos os materiais e métodos utilizados no desenvolvimento experimental do trabalho.

No quarto capítulo são apresentados e discutidos os resultados experimentais obtidos para os pré-tratamentos das duas biomassas estudadas em maior detalhe e processos posteriores, como a hidrólise enzimática.

Finalmente, no quinto capítulo é feita a conclusão e discussão de algumas perspetivas e aplicações futuras.

1.4 Publicações

O trabalho descrito nesta tese suporta, parcialmente, o seguinte Pedido Provisório de Patente:

- Torrado, I., I. César, M. Gomes, M. C. Fernandes, F. Carvalheiro and L. C. Duarte (2021). Bebidas Prebióticas, Probióticas ou Simbióticas de Segunda Geração (ou Holobiótica) Obtidas a partir de Borrás de Café e Processo para a sua Preparação. INPI. Portugal. Pedido Provisório de Patente 117363.

Os seguintes manuscritos, que se encontram atualmente em fase final de escrita são baseados, total ou parcialmente nos resultados desta tese:

- Gomes, M., F. Carvalho, L.C. Duarte (2021) The effect of process severity on the lignocellulosic microstructure of Beech biomass and on the production of oligosaccharides and glucose.
- Gomes, M., F. Carvalho, L.C. Duarte (2021) The effect of process severity on the production of oligosaccharides and glucose from Miscanthus biomass.
- Gomes, M., T. Lopes, F. Carvalho, L.C. Duarte (2021) Hemicellulosic oligosaccharides: key products for the economic viability of the hemicellulose upgrade in energy crops.
- Gomes, M., Torrado, I., L. B. Roseiro, F. Carvalho and L. C. Duarte (2021). Pellets com poder calorifico aumentado obtidos após o processo de autohidrólise de borras de café. INPI. Portugal. Pedido Provisório de Patente.

2 Estado da arte

2.1 Biorrefinarias

As biorrefinarias estão no centro da bioeconomia e contribuem para uma sociedade de “zero desperdício” (12).

Uma biorrefinaria é uma unidade industrial de conversão de biomassa em combustíveis, energia e outros produtos (8). A biomassa é uma mistura que consiste em açúcares, celulose, hemicelulose, lenhina, amido, gorduras, proteínas, entre outros (14). O objetivo de uma biorrefinaria é transformar esta biomassa em produtos úteis usando uma combinação de tecnologias e processos (15), com baixa exigência energética bem como uma baixa taxa de desperdício durante a produção (8).

As biorrefinarias são análogas às refinarias petroquímicas em muitos aspetos (16), dado que produzem uma quantidade balanceada de (bio)combustíveis e outros (bio)produtos a partir da Biomassa/petróleo. Na biorrefinaria, a matéria prima é muito mais diversificada e pode incluir todos os tipos de biomassa (14). Contrariamente às refinarias petroquímicas, as biorrefinarias podem ainda produzir alimentos como produtos primários. Em contraste com a refinaria petroquímica, a biorrefinaria utiliza recursos renováveis e produz combustível e químicos que contribuem para uma redução dos problemas ambientais (15). Por esta razão pode-se associar às biorrefinarias o termo, “Biorrefinaria verde”, uma vez que as biorrefinarias representam um sistema sustentável e de tecnologias que utilizam recursos “amigos” do ambiente (17).

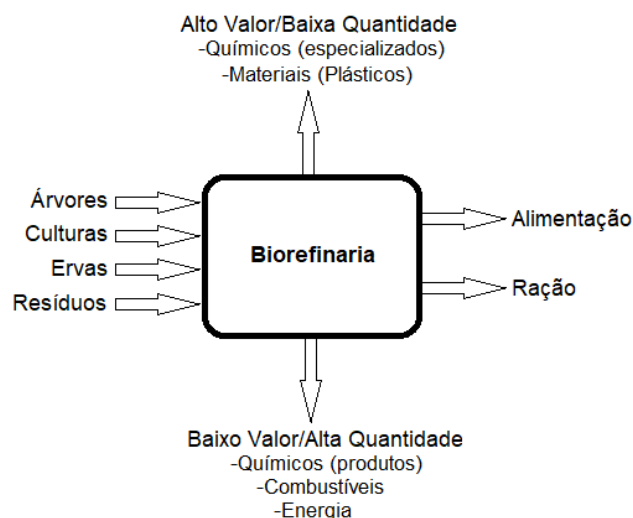


Figura 1 Princípio da biorrefinaria. Adaptado de (14).

Com a produção de múltiplos produtos, a biorrefinaria pode tirar algumas vantagens nos componentes da biomassa e maximizar o seu valor. A biorrefinaria pode

obter produtos de baixo preço (p. ex. os biocombustíveis) mas de grande volume de mercado, e simultaneamente, produzir produtos de alto-valor acrescentado, mas de baixo volume de mercado o que contribui para a sua rentabilidade (18).

2.1.1 Biocombustíveis

A sobre-exploração de reservas de combustíveis fósseis, que já é sobejamente conhecido por parte do ser humano por ter a particularidade de ser um recurso finito e de efeitos adversos no ambiente, criou a necessidade de utilização de novas fontes de energia alternativas como as plantas ou resíduos orgânicos (19).

A utilização de combustíveis à base de petróleo nos meios de transporte cria poluição atmosférica durante a combustão, pois ocorre a produção de compostos voláteis tais como os NO_x , SO_x , CO e CO_2 são produzidos (20).

Os biocombustíveis ao serem utilizados vão também produzir/libertar CO_2 para a atmosfera, não sendo por isso considerados combustíveis com zero emissões de carbono (20). Mas como o nome indica são “bio”, o que quer dizer que são obtidos de fontes renováveis, ou seja, a partir de matéria vegetal ou animal, uma vez que pode haver plantação e produção, respetivamente. Se a origem dos biocombustíveis é vegetal significa que existe um processo de fotossíntese por parte da planta em que é consumido o CO_2 da atmosfera, CO_2 esse que foi gerado na queima, sendo esta a grande vantagem da utilização destes biocombustíveis.

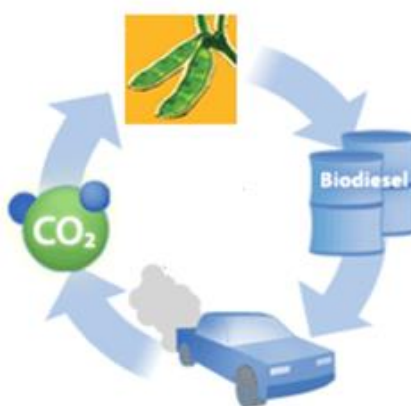


Figura 2 Esquema da reutilização de CO_2 .

Os biocombustíveis são vistos como uma alternativa válida aos combustíveis fósseis (9, 21). Os biocombustíveis podem ser obtidos de resíduos florestais, agrícolas, municipais ou industriais. O uso de biomassa para gerar energia reduz problemas como a poluição atmosférica e as emissões de gases de efeito de estufa (20).

O bioetanol e o biodiesel são as principais formas de biocombustíveis líquidos (22). Os biocombustíveis podem ser agrupados em três categorias, baseado no tipo de matéria prima. São então classificados em primeira, segunda e terceira geração (9).

Os biocombustíveis de primeira geração são produzidos a partir de culturas alimentares. Por exemplo, para produção de etanol pode ser utilizado cana de açúcar, milho entre outras matérias primas. Para produção de biodiesel pode-se utilizar como matéria de partida óleos vegetais naturais, como por exemplo, soja e canola.

Os biocombustíveis de segunda geração são produzidos a partir de material lenhocelulósico, como madeiras e várias espécies de plantas.

Os biocombustíveis de terceira geração são produzidos a partir de algas.

2.1.1.1 Biodiesel

O biodiesel é obtido de um óleo vegetal ou da gordura animal e é considerado um combustível biodegradável, não tóxico, obtido de fonte renovável (23). Com a matéria prima definida, recorre-se a uma reação de transesterificação, ou seja, a transformação um éster (o óleo ou gordura) noutro éster (o biodiesel). A reação de transesterificação é então uma reação entre um óleo (ou seja, ésteres também conhecidos como glicéridos) com um álcool alquílico. Geralmente é utilizado metanol ou etanol, numa proporção de óleo e álcool de 3:1, respetivamente. A reação é catalisada por ácido ou base. Como produto da reação surgirá então ésteres alquílicos com características muito semelhantes ao diesel - o biodiesel (24). Como subproduto haverá a formação de glicerina, que será separada do biodiesel (25). O principal álcool alquílico utilizado na indústria é o metanol, pelo que a maioria do biodiesel é constituído por esteres metílicos de ácidos gordos (FAME, *Fatty acid methyl esters* na literatura inglesa).

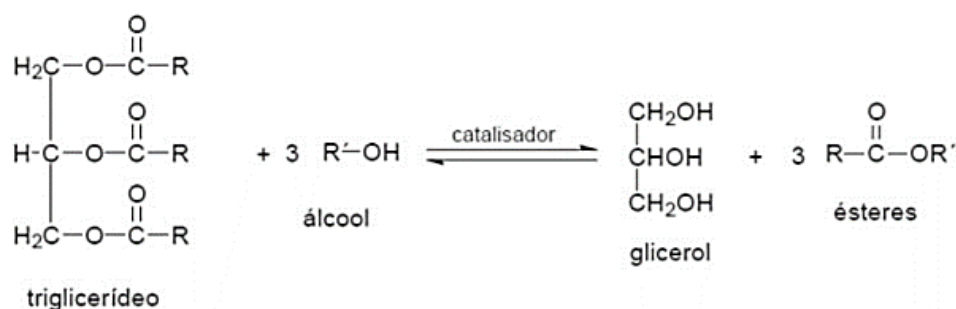


Figura 3 Reação de transesterificação (25).

O biodiesel possui propriedades semelhantes ao Diesel comum e pode ser usado puro ou misturado ao diesel de origem petrolífera.

2.1.1.2 Bioetanol

O etanol é um biocombustível líquido que pode ser produzido a partir de diferentes tipos de biomassas ricas em açúcares, sejam estes na forma de monossacáridos, dissacáridos, ou polissacáridos, (26).

O etanol pode ser obtido por vários processos, mas o principal é a fermentação de açúcares (23). A fermentação ocorre com a adição de fermento biológico, tipicamente uma levedura, a uma mistura que contém água e açúcares. A levedura possui enzimas que convertem os açúcares em álcool, sendo por isso responsável pelas reações de transformação de glicose em etanol. Com a fermentação obtém-se um teor de álcool de 20% no máximo, ou seja, para se obter maior percentagem de álcool recorre-se a uma destilação. Estas destilações fazem com que o álcool fique cada vez mais concentrado. No caso de obtenção do bioetanol, tem de se recorrer a um tal número de destilações, de modo a que a concentração de álcool esteja acima dos 85%, sendo por último necessário uma desidratação devida à gasolina e a água serem imiscíveis.

O bioetanol pode ser misturado com a gasolina (originária do petróleo) e pode ser classificada de acordo com o teor em etanol. Com esta medida é permitida uma melhoria, em termos das emissões de gases de efeito de estufa quando comparado com a gasolina regular, de 87% a 96% (27).

2.2 Matérias-primas

As matérias-primas utilizadas na biorrefinaria podem ter diversas origens, desde a biomassa aquática, aos resíduos sólidos urbanos, passando claro pelos sobrantes das atividades agrícola, Pecuária, florestal ou agroindustrial. Todos estas fontes são sustentáveis, mas a sua disponibilidade para a biorrefinaria não pode ser assegurada convenientemente. Uma forma de ultrapassar essa limitação passa pela utilização de culturas energéticas.

Neste capítulo fala-se também de sobrantes da atividade agroindustrial dada a sua maior consistência anual.

2.2.1 Culturas energéticas

As culturas energéticas são cultivadas com a finalidade de produzir combustíveis (28). Estas culturas têm sido estimuladas como alternativas ambientalmente mais sustentáveis ao uso intensivo de combustíveis de origem fóssil e à utilização de culturas alimentares para fins energéticos. Estas plantas podem ser convertidas em energia para aquecimento, em eletricidade e biocombustíveis. Na sua maioria, as culturas

energéticas são espécies de plantas com rápido crescimento, elevada produção de biomassa (29) e baixa necessidade de solos férteis (no caso das plantas terrestres).

As culturas energéticas podem ser classificadas em três categorias, as culturas aquáticas (macro e microalgas), as culturas herbáceas e lenhosas (30).

A utilização das macro e microalgas é um campo novo e em grande desenvolvimento, mas encontra-se fora do âmbito deste trabalho.

De entre as culturas herbáceas destaca-se o *Miscanthus* e de entre as culturas lenhosas, a faia.

2.2.2 *Miscanthus*

Entre as várias culturas energéticas, o *Miscanthus* apresenta-se como um excelente candidato (31).

O *Miscanthus* é um género que abrange 14 a 20 espécies perenes nativas da Ásia oriental, do norte da Índia e de África (32). As várias espécies de *Miscanthus* foram muito utilizadas na China e no Japão, para pastagens, construção, e em materiais de valor ornamental, até ao momento em que se tornaram de alto interesse energético (33).

A principal característica desta espécie é a sua notável adaptabilidade a diferentes ambientes, o que a torna uma cultura adequada a condições climáticas tão diferentes, como as observadas, tanto na Europa como na América do Norte (34).

O *Miscanthus* é uma planta rizomática, alta e perene. Os seus genótipos tropicais e subtropicais ascendem a valores de 3 a 4 metros quando cultivados na Europa. Em climas quentes e húmidos do sudeste asiático esta cultura energética pode atingir valores superiores (31).

As condições ambientais que afetam o crescimento da planta são altas ou baixas temperaturas, muita chuva, seca ou uma quantidade de nutrientes minerais do solo inadequada. Dependendo de onde estes fatores ambientais ocorrem, a sua intensidade e duração podem reduzir a vitalidade da planta e causar danos sérios (31).

A cultura é tipicamente colhida após a mesma alcançar o seu estado de envelhecimento, entre setembro e novembro, após atingir o pico de desenvolvimento, entre agosto e setembro (32). Apesar da colheita do *Miscanthus* apresentar a vantagem de produção com altos rendimentos, entre os meses de Outubro e Novembro, apresentam também uma desvantagem ao nível da humidade, apresentando alto teor de humidade (35). A identificação do período de colheita ótimo depende do uso final a que deseja sujeitar a biomassa. Por exemplo, se for desejável produzir energia através da combustão, um alto teor de humidade é uma grande desvantagem (35). O momento

de colheita do *Miscanthus* varia muito da zona do globo, uma vez que as condições climáticas não são as mesmas em todo o mundo.



Figura 4 *Miscanthus* (planta) e amostra de *Miscanthus* (pellets) utilizada.

2.2.3 Faia (*Fagus sylvatica*)

As culturas energéticas lenhosas, são culturas florestais de alto rendimento que permanecem em cultivo por alguns anos até alcançarem a produção máxima sendo depois colhidas. Esta categoria tem algumas vantagens sobre outros tipos de culturas energéticas, como por exemplo, uma eficiente conversão de energia solar, reduzida utilização de químicos, baixa necessidade de água e nutriente, entre outras (30).

As principais culturas lenhosas são as árvores folhosas com elevada rapidez de crescimento e capacidade de rebentação após o corte, com o objetivo de produzir uma maior quantidade de biomassa por unidade de superfície e tempo. Estas culturas apresentam uma alta produtividade de biomassa e a sua produção requer pouco ou nenhuma utilização de pesticidas e fertilizantes (30).



Figura 5 Faia (árvore) e amostra de Faia (moída) utilizada.

Utiliza-se o método de plantação de curta rotação, onde as culturas são plantadas e desenvolvem-se no primeiro ano após a plantação. Durante o primeiro inverno, o caule é cortado ao nível do solo de modo a encorajar o crescimento de várias ramificações (36). Na maioria das culturas energéticas com plantação de curta rotação, o espaçamento entre plantas e o ciclo de corte são os aspetos que mais influenciam a produção de biomassa. Também a adubação, que se deseja mínima, e a preparação do solo podem afetar significativamente a eficiência energética (37).

De entre as espécies florestais, destaca-se como cultura energética Faia.

A Faia europeia é uma árvore de folha caduca que normalmente atinge alturas de 30 a 40 metros, e em algumas zonas pode mesmo atingir alturas acima dos 50 metros (28). É uma espécie comum nas florestas europeias de clima ameno, que pode ser encontrada por toda a Europa central (29). O seu habitat natural estende-se desde o sul da Noruega até ao sul de Itália, e do norte de Espanha até ao norte da Turquia (30).

Não necessita de grande quantidade de água e nutrientes, adapta-se a solos de baixa qualidade e atinge a sua produção máxima em 10 anos (30). Embora não dependa de um certo tipo de solo, nem de muita água esta espécie requer um ambiente húmido, com precipitação bem distribuída por todo o ano e um solo bem drenado. No verão, as altas temperaturas, as secas e a baixa humidade são fatores limitativos para a distribuição da Faia, sendo que as alterações climáticas podem ter impactos negativos na sua distribuição futura na Europa (36).

A Faia é uma árvore importante tendo em conta ainda outras aplicações, que se estendem para mais de 250 (37). A sua resistência e excelente dobragem fazem com que seja um material ideal para construir barcos, pavimentos, instrumentos musicais e utensílios de cozinha como as *bowl*s e as colheres de madeira (36).

A larga distribuição, a excelente taxa de crescimento e potencial para originar madeira de alta qualidade, fazem da Faia uma das espécies economicamente mais importantes a nível europeu (38).

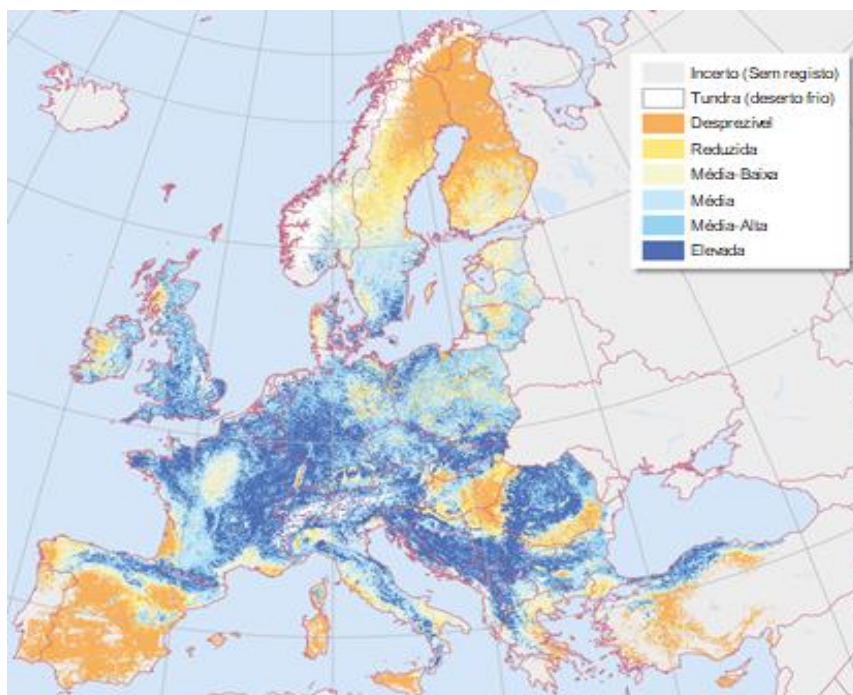


Figura 6 Mapa da distribuição da Faia na Europa e capacidade de sobrevivência. Adaptado de (36).

2.2.4 Sobrantes agroindustriais

Diariamente no mundo é produzida grande quantidade de resíduos. Normalmente incluem, resíduos urbanos, agrícolas e industriais. O despejo destes resíduos diretamente em aterros é bastante prejudicial se não for depositado ou reciclado apropriadamente uma vez que são tóxicos e podem causar sérios problemas ambientais (39).

A reciclagem de resíduos para obter energia e produtos de valor acrescentado é um modo efetivo de resolver o problema da maioria dos países que enfrentam sérios desafios em lidar com a elevada quantidade de resíduos por dia devido ao aumento da população e o crescimento industrial (39).

Neste trabalho caracterizaram-se três dos principais resíduos agroindustriais a nível mundial: as borras de café, o caroço do fruto da palmeira, e a dreche cervejeira, para comparação com a biomassa derivada das culturas energéticas.

2.2.4.1 Borras de café

A grande quantidade de resíduos gerados anualmente quando se bebe o chamado, café solúvel, requer um plano de tratamento residual importante (40). A esses resíduos dá-se o nome de borras de café.

A conversão de borras de café em biocombustíveis e produtos de valor acrescentado tem ganho importância do ponto de vista de uma política sustentável de gestão de resíduos (41).

Hoje em dia, existe uma variedade de opções para a utilização de borras de café no campo da agricultura e numerosas possibilidades de conversão de borras em biocombustíveis. As tecnologias para a valorização das borras incluem digestão anaeróbia, pirólise, liquefação ou gasificação, extração de óleo, fermentação e outras tecnologias para obtenção de produtos de valor acrescentado (42).

As borras de café apresentam na sua constituição um largo número de compostos orgânicos, onde se incluem os polissacáridos, oligossacáridos, lípidos, ácidos alifáticos, aminoácidos, proteínas, alcaloides e compostos fenólicos, minerais, lenhina e compostos voláteis (43).

Existe por isso uma urgente necessidade de ideias inovadoras para tratar esta biomassa residual e explorá-la ao máximo garantindo assim a sustentabilidade da indústria do café (40).

2.2.4.2 Caroço do fruto da palmeira

Cerca de 80% do óleo do fruto de palmeira (OFP) e do óleo do caroço do fruto da palmeira (OCFP) é usado para fins alimentares (44).

O OFP e o OCFP têm a mesma origem botânica, mas diferem significativamente na composição de ácidos gordos (45). O OFP é o óleo vegetal mais usado no mundo (45), deriva do mesocarpo, isto é, a polpa do fruto (44) e apresenta na sua constituição maioritariamente ácido palmítico, que é um ácido gordo saturado de dezasseis carbonos e ácido oleico monoinsaturado (C18) enquanto o óleo do caroço (46) contém maioritariamente ácido láurico (C12). Este fruto tropical apresenta uma cor avermelhada devido a uma alta quantidade, na sua composição, em β -caroteno e apresenta um comprimento de 3 a 5 centímetros (45).

Os dois óleos têm diferentes aplicações e mercados. O OFP é utilizado maioritariamente na alimentação, como substituto da gordura animal (45), enquanto o OCFP é utilizado na para a produção de sabonetes, detergentes e outros produtos de higiene (47).

Os óleos representam 10% da composição do fruto, enquanto os outros 90% representam uma grande fonte de fibra e material celulósico que torna o fruto da palmeira bastante atrativo como fonte de biomassa para obtenção de energia renovável (47).

2.2.4.3 Dreche cervejeira

Nos dias de hoje a maioria das empresas de produção, não considera os resíduos como lixo, mas sim, matéria prima para outros processos. A indústria cervejeira gera nos seus processos largas quantidades de produtos secundários considerados resíduos, como é o exemplo, da dreche (48). Este resíduo corresponde a cerca de 85% do total de resíduos gerados (49).

Apesar de ser um produto secundário na indústria cervejeira, a dreche, tem atraído alguma atenção como produto comercializável (50). Além do mais, devido à sua composição química, a dreche pode ser considerada uma matéria prima de grande valor (48).

A dreche é um material lenhocelulósico rico em proteína (19-30%) e fibra (30-50%), o que torna este material desejado devido ao seu teor nutricional com aplicação na indústria alimentar (49). Os componentes principais dos tecidos fibrosos da matéria são arabinxilano, lenhina e celulose. Alguns minerais, vitaminas e aminoácidos também podem ser encontrados na matéria (48).

O seu alto teor em fibras e proteínas, torna esta matéria importante a nível da ração animal, principalmente em gado. Esta matéria tem sido indicada também, devido ao seu baixo custo e alto valor nutritivo, para a fabricação de pão, biscoitos e aperitivos (48).

Outro uso indicado para a dreche é na produção de energia, podendo ser tratado por combustão direta ou fermentação para produzir biogás (51).

2.3 Caracterização químico-estrutural dos materiais lenhocelulósicos

Como descrito acima, a biomassa lenhocelulósica é uma matéria prima bastante promissora para produção um elevado número de aplicações de interesse industrial no âmbito das biorrefinarias (52). É então importante conhecer melhor a sua composição químico-estrutural.

A parede celular é o componente maioritário da maioria da biomassa vegetal. Várias funções são desempenhadas por parte da parede celular, tais como, fornecer resistência à pressão de turgescência, proteção contra agentes patogénicos, como bactérias e fungos, e agentes abióticos, como a temperatura e a humidade, servir de mediador de interações intercelulares, ou permitir a expansão da célula (53). É, por conseguinte, uma estrutura muito resistente e difícil desconstrução.

A parede celular apresenta diferentes componentes na sua estrutura e divide-se em três camadas principais. A lamela intermédia, é uma camada fina exterior às paredes

de aproximadamente 50 nm de espessura (54). É a camada que tem a função de unir a parede celular de duas células adjacentes. Esta camada é formada por celulose entrelaçadas com pectinas e hemiceluloses. A parede primária, rodeia e protege a célula, contribuindo para a integridade estrutural da célula (55). Na parede primária, as pontes de hidrogénio conferem uma maior flexibilidade à estrutura. É formada principalmente por celuloses, hemiceluloses e pectinas. A parede secundária, que se encontra entre a parede primária e a membrana celular é dividida em três camadas, S1, S2 e S3 (55). É formada principalmente por celuloses e hemiceluloses. Esta estrutura é bem mais resistente uma vez que apresenta na sua composição também lenhina. Esta parede confere assim uma maior rigidez à célula.

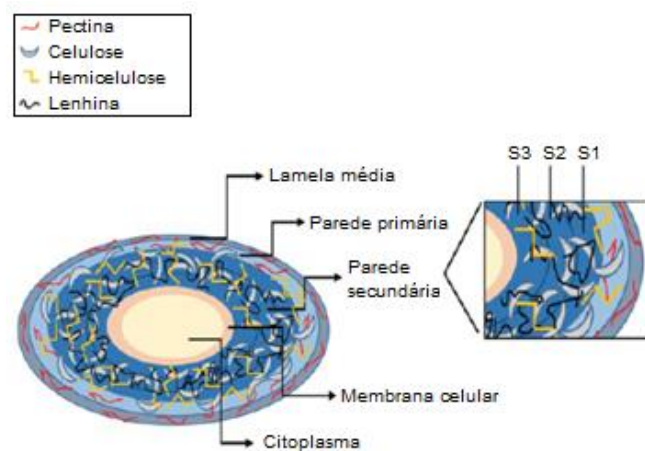


Figura 7 Estrutura e composição da parede celular. Adaptado de (55).

O material lenhocelulósico que confere rigidez e estrutura às plantas inclui três tipos de polímeros de carbono, a celulose, a hemicelulose e a lenhina (56), ligadas entre si formando uma estrutura complexa. As pectinas e as proteínas são outros compostos em baixa quantidade na estrutura celular (53). A composição e percentagem destes biopolímeros variam consideravelmente dependendo da espécie, parte anatómica, idade, entre outros fatores, nomeadamente os fatores edafo-climáticos do crescimento. Normalmente a quantidade de celulose pode variar entre 35-50%, a hemicelulose entre 15-30% e a lenhina entre 7-35% (8).

O pré-tratamento é o primeiro e mais importante fase do processamento da biomassa lenhocelulósica, uma vez que a deixa mais fragilizada com a destruição do “escudo resistente” de lenhina que forma uma barreira no que toca à acessibilidade das enzimas à celulose e hemicelulose. Assim a biomassa fica em condições de ser convertida em biocombustíveis ou outros produtos de elevado interesse (52).

A melhor maneira de romper este material lenhocelulósico e extrair os seus componentes para produção de combustíveis é por via de aquecimento e utilização de compostos químicos fortes (56) como se descreverá em detalhe no ponto seguinte (secção 2.4).

2.3.1 Celulose

A celulose, é o biopolímero mais abundante no mundo, dado ser a substância orgânica mais importante e maioritária que compõe a parede celular das plantas (8) e tem sido amplamente explorada na indústria da pasta e do papel (52).

A celulose é um polímero linear de glucose não ramificado, formada por subunidades de D-glucose ligadas por ligações glicosídicas β -1,4. Tem por isso a formula molecular $(C_6H_{10}O_5)_n$, onde n representa o grau de polimerização, isto é, o numero de moléculas de glucose da cadeia de celulose.

A forte estrutura cristalina que este polímero apresenta confere resistência à hidrólise, uma vez que faz com que os açúcares sejam difíceis de alcançar durante o pré-tratamento (8). Duas moléculas de glucose, adjacentes, unidas pela eliminação de uma molécula de água formam uma unidade de celobiose, que se repete ao longo da cadeia de celulose (57). As cadeias de celulose estão agregadas umas às outras por via de pontes de hidrogénio e forças de *van der Waals*, formando assim as microfibrilas (3-5 nm de diâmetro). As microfibrilas de celulose estão posteriormente ordenadas por pontes de hidrogénio às hemiceluloses formando agregados maiores, as macrofibrilas (50-250 nm de diâmetro) (58). Para solubilizar a celulose, a maioria dos grupos hidroxilo devem ser quebrados, contudo, com temperatura moderada, a celulose é insolúvel na maioria dos solventes tipicamente usados.

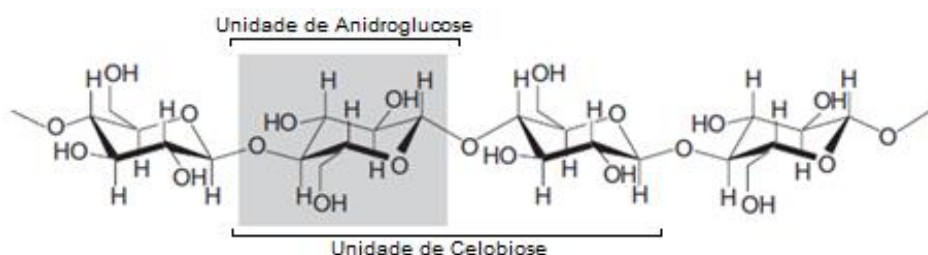


Figura 8 Representação da molécula de celulose. Adaptado de (57).

2.3.2 Hemicelulose

As hemiceluloses são o segundo polímero mais abundante na biomassa lenhocelulósica. Estruturalmente, as hemiceluloses são muito diversificadas quando comparadas com a celulose (58). A sua estrutura molecular consiste numa cadeia linear

ramificada (57). As hemiceluloses são polissacáridos heterogêneos compostos por unidades de monossacáridos incluindo as pentoses (xilose, arabinose), hexoses (manose, glucose e galactose) e ácidos urónicos (ácido glucurónico, metilglucurónico e galacturónico) (59).

Diferente da celulose, a hemicelulose é um polímero amorfo que apresenta uma composição muito variável, em termos de cadeia principal e substituintes, de planta para planta e é capaz de formar múltiplas pontes de hidrogénio consigo mesma ou com a celulose (3). As ligações β -1,4 na estrutura central da hemicelulose permitem essa ligação com a celulose (58). Em comparação com a celulose, a hemicelulose apresenta um grau de polimerização muito menor o que torna as hemiceluloses mais solúveis e suscetíveis ao tratamento por hidrólise (59). A solubilidade dos componentes da hemicelulose aumenta com o aumento da temperatura, mas a solubilização não depende só da temperatura, mas também do teor de humidade e principalmente do pH (60). Entre os três componentes lenhocelulósicos a hemicelulose é o termoquimicamente mais sensível (61).

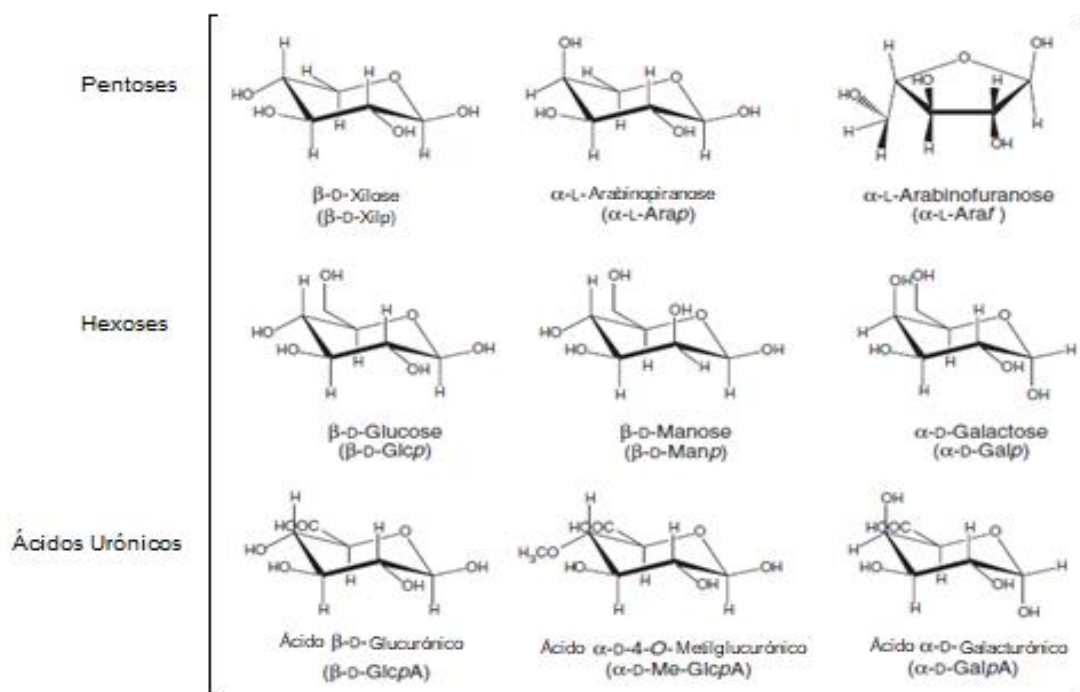


Figura 9 Unidades de monossacáridos maioritárias na hemicelulose. Adaptado de (57).

2.3.3 Lenhina

A lenhina é terceiro polímero mais abundante na natureza (61) e uma molécula muito complexa com unidades de fenilpropano unidas por ligações éter-carbono ou carbono-carbono, com elevado grau de polimerização (55). As fortes ligações que unem

os polímeros da lenhina tornam a sua quebra muito mais difícil em comparação com os polissacáridos, descritos anteriormente (56).

A lenhina apresenta-se como uma macromolécula tridimensional, não solúvel em água, com elevado peso molecular (2000 a 15000 g/mol) e que apresenta várias ligações cruzadas compostas na sua estrutura alquilfenólica (62). Três unidades básicas são encontradas na estrutura da lenhina, são elas o p-hidroxifenil, o guaiacil e o siringil. Estas unidades são derivadas de três precursores monoméricos, o álcool coniferílico, sinapílico e o cumarílico, com zero, um e dois grupos metóxi no anel aromático, respetivamente (63).

De todos os constituintes que formam a matriz lenhocelulósica, a lenhina é a que mais varia em composição e complexidade entre diferentes biomassas, contudo a sua estrutura ainda não foi perfeitamente estudada, maioritariamente devido à incapacidade em isolar a lenhina na sua forma nativa. A lenhina está presente na parede celular secundária e funciona como substância estrutural que confere solidez e resistência contra evasões patogénicas (64).

A lenhina tem aplicações na produção de colas, espumas, adsorventes, matéria prima para fabricar nanofibras de carbono, entre muitas outras aplicações (65).

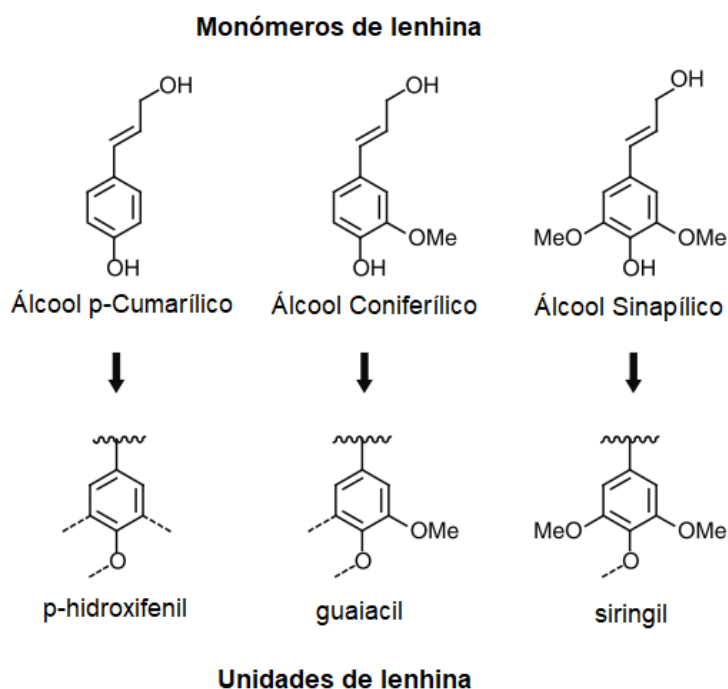


Figura 10 Principais unidades monoméricas da lenhina. Adaptado de (66).

2.4 Pré-tratamentos

A utilização de biomassa lenhocelulósica para obter produtos de valor acrescentado, nomeadamente combustíveis e químicos, é altamente limitada pela sua natureza recalcitrante induzida pela sua estrutura química complexa (58). De facto, a sacarificação enzimática dos polissacáridos presentes na biomassa para originar monossacáridos – uma fase importante para a produção de uma variedade de bioprodutos derivados das matérias-primas lenhocelulósica via fermentação microbiana ou reações químicas – é inviável ser aplicada diretamente à matéria prima “crua”, resultando em concentrações de açúcares muito baixas (58).

É assim necessário aplicar processos de pré-tratamento / fracionamento que permitam destruturar a complexa matriz lenhocelulósica descrita em cima, de forma a torná-la recetiva à ação enzimática (67). Assim, não é incomum definir os processos de pré-tratamento como os processos fulcrais da biorrefinaria em que é libertada a hemicelulose e a morfologia da lenhina é alterada, aumentando assim a disponibilidade da celulose ao ataque enzimático (68). O pré-tratamento é o primeiro e mais importante fase no processamento da biomassa lenhocelulósica, uma vez que torna a biomassa mais acessível a processos avançados ou reações, de modo a ser convertida em biocombustíveis ou outros produtos (52).

Uma elevada área superficial e específica acessível, o tamanho e volume dos poros, o tamanho da partícula, a composição química da lenhina, as hemiceluloses, os grupos acetilo e a celulose, o grau de polimerização da celulose, a estrutura da lenhina (composição em unidade de siringil e guaiacil), têm um papel importante na resistência da biomassa (69, 70).

Um pré-tratamento, para ser eficaz, tem de ser capaz de aumentar a eficiência enzimática, minimizar a perda ou destruição de polissacáridos, inibir a formação de produtos secundários encontrados normalmente na composição de hidrolisado, tais como, ácido acético, ácido fórmico, ácido levulínico, furaldeído (furfural) e HMF (3), recuperar os coprodutos de valor acrescentado (71) e ser um processo rentável (72). Todavia, esta fase do processo de conversão de materiais lenhocelulósicos é a mais dispendiosa. Assim, torna-se essencial uma recuperação e reutilização dos coprodutos envolvidos no processo (71).

Um modelo simplificado do que é pretendido/ocorre durante os processos de pré-tratamento está representado na figura seguinte.

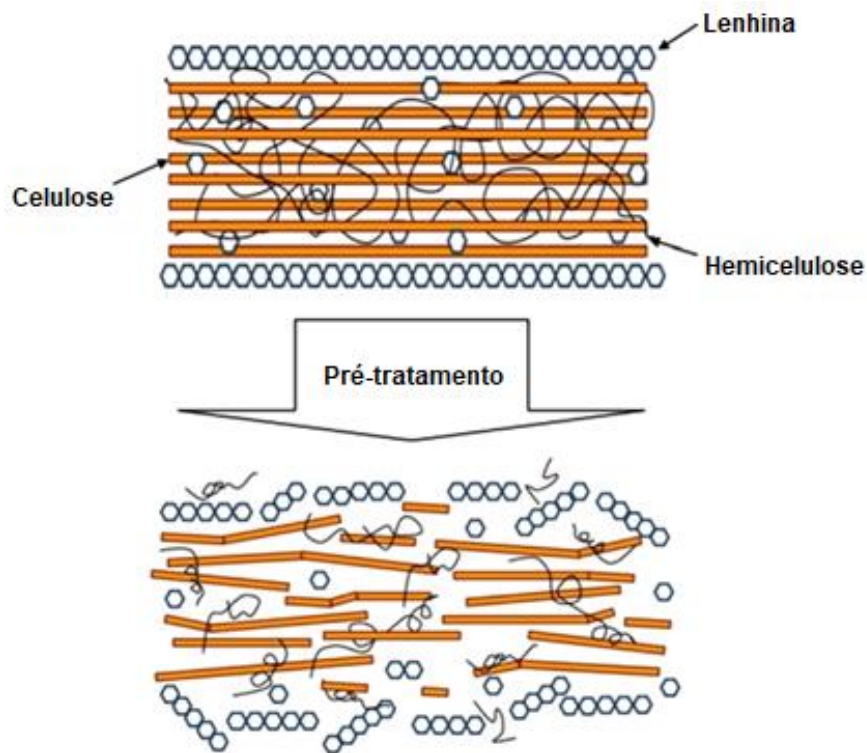


Figura 11 Efeito de um pré-tratamento em material lenhocelulósico. Adaptado de (72).

São vários os métodos de e pré-tratamento que têm sido desenvolvidos e otimizados de modo a melhorar e facilitar a acessibilidade das enzimas às fibras celulósicas (52). Estes podem ser classificados de acordo com o mecanismo principal do processo, como se apresenta na figura 12.



Figura 12 Diferentes tipos de Pré-tratamento.

Os pré-tratamentos físicos permitem diminuir o tamanho da partícula, aumentar a sua área superficial e, nalguns casos aumentar o tamanho dos poros, bem como diminuir a cristalinidade e o grau de polimerização da celulose (60).

Os pré-tratamentos químicos abordam principalmente os tratamentos com ácidos ou bases (73). Os ácidos ou bases que promovem a hidrólise e apresentam uma alta recuperação de glucose a partir da celulose através da remoção da hemicelulose ou lenhina durante o pré-tratamento, são normalmente o H_2SO_4 e $NaOH$, respetivamente (74).

Não é fácil comparar todas as tecnologias dos pré-tratamentos, uma vez que nenhum se superioriza ao outro, pois todos apresentam vantagens e desvantagens na sua utilização (71).

Os métodos físico-químicos, nomeadamente a autohidrólise e a explosão de vapor tem a vantagem de não necessitarem de catalisadores (na maioria dos casos) e associarem um efeito físico, principalmente na explosão com vapor em que uma rápida descompressão leva à rutura das fibras (75).

Quanto aos métodos biológicos, onde se destaca, por exemplo, os métodos baseados na utilização fungos da podridão branca, têm sido pouco explorados, pois apresentam uma eficiência limitada (76).

2.4.1 Hidrólise ácida

O objetivo principal da hidrólise ácida é solubilizar a hemicelulose, primariamente na forma de xilose, quebra da lenhina e redução da cristalinidade da celulose, de modo que, a biomassa tratada fique mais suscetível à subsequente hidrólise enzimática (16). Este processo pode ser realizado quer utilizando ácidos concentrados, quer ácidos diluídos.

2.4.1.1 Ácido concentrado

O tratamento dos materiais lenhocelulósicos com alta concentração de ácido e baixa temperatura é utilizado para obter altos rendimentos de açúcar sem que seja necessário realizar um passo adicional de hidrólise enzimática. Este pré-tratamento é altamente corrosivo devido ao uso de ácido concentrado (16).

A solubilização da hemicelulose e a precipitação da lenhina solubilizada é mais acentuada durante o pré-tratamento com ácido concentrada quando comparado ao pré-tratamento com ácido diluído (60).

Este pré-tratamento consiste em três fases. Primeiro a hemicelulose é removida durante a fase de pré-hidrólise, de seguida a celulose é dissolvida e hidrolisada em

celooligosacáridos solúveis durante a fase principal da hidrólise. Por fim os celooligosacáridos são então quebrados em glucose durante a fase de pós-hidrólise. Nas primeiras duas fases, a estrutura cristalina da celulose é desconstruída e os açúcares monoméricos são libertados da biomassa na fase de pós-hidrólise (77).

A principal vantagem deste tratamento é a não utilização de enzimas para hidrólise adicional devido ao alto rendimento em açúcares. Devido a este pré-tratamento se realizar a baixa temperatura e pressão, a formação de inibidores na degradação do açúcar é menor que no tratamento com ácido diluído.

A principal desvantagem é a capacidade de corrosão do próprio ácido. Devido a essa alta corrosão, é necessário um equipamento caro e resistente. O alto consumo de ácido, faz com que o mesmo tenha de ser recuperado e reciclado de modo a tornar este processo economicamente viável (77).

2.4.1.2 Ácido diluído

Este pré-tratamento é realizado normalmente numa temperatura entre 120 a 215 °C, concentrações de ácido entre 0,5 a 5 %, e abaixo dos 10 bar de pressão por alguns minutos. Esta condição permite uma hidrólise da hemicelulose a xilose e outros açúcares, uma rutura da lenhina e uma parcial solubilização da celulose (77). Com esta hidrólise ácida ocorre também a quebra parcial da celulose a glucose, glucose essa que forma ainda HMF e outros produtos de degradação (74).

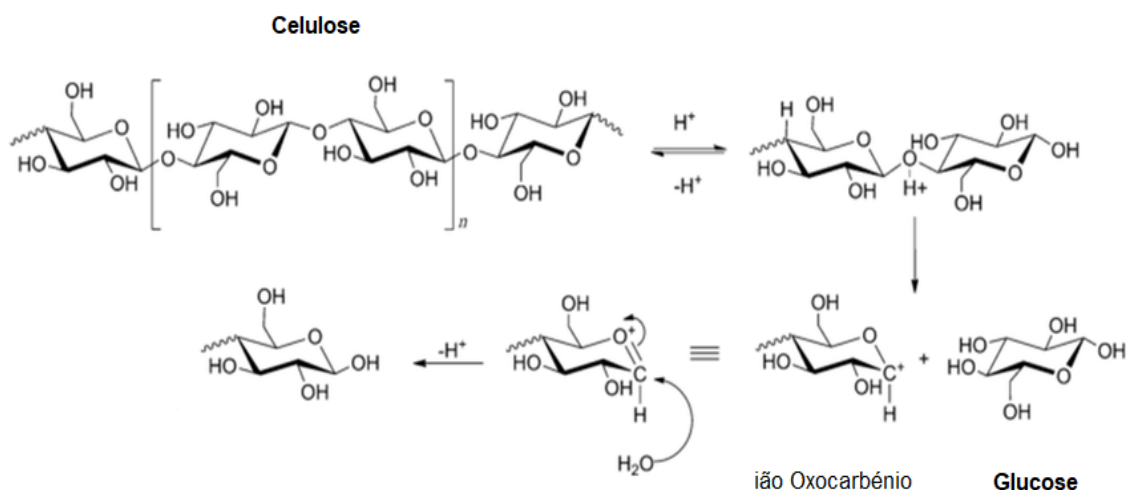


Figura 13 Mecanismo proposto para a reação de hidrólise da celulose Adaptado de (78).

No tratamento ácido, as frações de polissacáridos da biomassa são maioritariamente afetadas, conforme são hidrolisadas a oligossacáridos e monossacáridos em meio ácido. O mecanismo de hidrólise ácida da celulose (análogo

para hemicelulose) é ilustrado na Figura 13. A hidrólise inicia-se com uma protonação reversível do oxigênio da ligação glicosídica β -1,4. A ligação éter protonada decompõe-se para formar a molécula de glucose e o ião carboxénio. Esta última espécie reage então com a água para voltar a gerar o catião hidrónio (79).

A hidrólise da celulose e da hemicelulose ocorre do mesmo modo, contudo a estrutura cristalina ordenada da celulose suportada por fortes ligações de hidrogénio intramoleculares torna esta hidrólise muito mais difícil do que ocorre com as hemiceluloses (80).

O ácido sulfúrico é largamente utilizado por ser barato, para além de que são atingidos pelo menos 90 % de rendimentos em hemicelulose, e na hidrólise enzimática altos rendimentos em glucose, acima de 90 % (81). Contudo o ácido nítrico, ácido clorídrico e ácido fosfórico também são algumas opções válidas (80).

Após este pré-tratamento, a acessibilidade da celulose por parte das enzimas aumenta devido à remoção da hemicelulose. (77).

Este pré-tratamento apresenta algumas limitações, como por exemplo, a corrosão que exige assim materiais de construção mais caros. A formação de produtos de degradação e a libertação de inibidores de fermentação são outras características desvantajosas (74).

2.4.2 Tratamentos hidrotérmicos

2.4.2.1 Autohidrólise

Neste tipo de pré-tratamento a biomassa é pré tratada num reator a temperaturas e pressões variáveis, em que se utiliza apenas água para promover o fracionamento parcial da biomassa, sem a utilização de catalisadores químicos.

A autohidrólise por utilizar apenas aquecimento e água para romper a parede celular da biomassa é considerado um tratamento de elevado interesse e preferência em relação a outros, devido a ser uma tecnologia verde, menos poluidora e de baixo custo em matérias-primas, mas com maiores custos energéticos, pois tipicamente estes pré-tratamentos são tratados a altas temperaturas (160-240 ° C) e pressões (10-35 bar), durante alguns minutos ou horas.

Altas temperaturas durante o processo vão aumentar a solubilização de xilano e produzir uma quantidade abundante de açúcares oligoméricos. Este pré-tratamento hidrotérmico degrada o xilano na biomassa e expõe a celulose a subsequente reação enzimática (82).

A hidrólise da biomassa começa por iões hidrogénio, que são gerados na auto-ionização da água. A altas temperaturas, uma alta concentração de iões está presente

na água, que atua como catalisador ácido, e majoritariamente hidrolisa os polissacáridos da hemicelulose em oligômeros. Assim, a maioria da hemicelulose é removida da biomassa e é efetivamente convertida em oligossacáridos e monómeros, com baixa concentração de produtos de degradação, como o furfural e o HMF. A celulose e a lenhina ácida insolúvel, contudo, permanece na biomassa. (83)

2.4.2.2 Explosão de vapor

O objetivo deste tratamento é também solubilizar a hemicelulose para tornar a celulose mais acessível à hidrólise enzimática e evitar a formação de inibidores (60).

Este processo consiste num tempo curto de tratamento numa temperatura entre os 180 e 240 ° C, seguida de uma descompressão explosiva da biomassa. A explosão de vapor utiliza vapor saturado de alta pressão de 10 a 35 bar para aquecer rapidamente a biomassa seguida de uma rápida descompressão (explosão) de modo a romper a estrutura rígida da biomassa (84).

Alegadamente, baixas temperaturas e tempos de residência maiores são mais promissores porque evitam a formação de produtos de degradação dos açúcares que inibem a subsequente fermentação (61).

Durante o processo de explosão de vapor, a lenhina é quebrada em unidades de polímeros menores. Já a hemicelulose é mais suscetível que a lenhina e é decomposta em sacáridos oligoméricos, que são predominantemente solúveis em água e são assim lavados (85).

A hemicelulose abrange a maior porção de polissacáridos que são solubilizados durante o tratamento, enquanto a lenhina sofre a transformação como resultado da alta temperatura imposta ao sistema. A hidrólise da hemicelulose é mediada pelo ácido acético produzido através dos grupos acetilo associados à hemicelulose e outros ácidos libertados durante o pré-tratamento, que posteriormente pode catalisar a hidrólise da hemicelulose resultando na libertação de monómeros de glucose e xilose (61).

2.4.2.3 Hidrólise assistida com CO₂

O pré-tratamento usando alta pressão, como a adição de dióxido de carbono (CO₂) e água é a mais recente forma de hidrolisar a hemicelulose. O dióxido de carbono é um solvente verde, que não é tóxico, é barato, existe em abundância, é renovável e funciona como catalisador neste pré-tratamento. A combinação do CO₂ com a água forma ácido carbónico. Este ácido carbónico formado vai promover a hidrólise da hemicelulose, bem como de alguns açúcares (82). Dado que o ácido carbónico é um ácido fraco, a hidrólise não é muito extensa.

2.4.3 Tratamento alcalino

O tratamento alcalino é um dos processos mais comumente usado como tratamento químico. O hidróxido de sódio (NaOH), o hidróxido de cálcio (Ca(OH)₂), o hidróxido de potássio (KOH) e o hidróxido de amónia (NH₄OH) são os catalisadores alcalinos deste tipo de tratamento (16). A tecnologia de pré-tratamento alcalino, é em parte semelhante ao processo kraft.

Os pré-tratamentos alcalinos utilizam baixas temperaturas (entre a temperatura ambiente, e pouco superiores a 100° C) e pressões, em comparação com outras tecnologias, pelo que as necessidades energéticas são baixas, mas em termos de tempo de tratamento, estes são muito mais longos, sendo da ordem das horas ou até dias, ao contrário dos processos ácidos que tipicamente não ultrapassam as 3 horas (74). Contudo, a principal desvantagem deste método é o uso de químicos corrosivos, bem como os problemas ambientais e de operação associados (16).

O principal efeito deste tipo de tratamento é a deslenhificação da biomassa, i.e. a remoção de lenhina da biomassa (86), e assim aumentar a reatividade dos polissacáridos restantes (74). O mecanismo envolvido no pré-tratamento alcalino é a clivagem das ligações da lenhina com as ligações glicosídicas dos polissacáridos o que causa uma redução no grau de polimerização e na cristalinidade. Este tratamento também remove grupos acetilo e vários ácidos urónicos que baixam a acessibilidade à celulase (87).

A utilização de catalisadores alcalinos, para remover a lenhina, aumenta a digestibilidade enzimática, mas o hidróxido de sódio e outras bases são muito caras e difíceis de recuperar e reciclar para torna-los viáveis na produção de biocombustíveis (81). Uma das limitações deste pré-tratamento é devido à base utilizada como catalisador que pode ser convertida em sais irrecuperáveis que se incorporam na biomassa durante a reação (74).

Este processo é relativamente mais suave quando comparado com a hidrólise ácida, e assim, a degradação do açúcar em furfural, HMF é reduzida, mas pode haver a decomposição dos açúcares noutros produtos, p. ex. ácido acético (16).

Um quadro resumo é assim necessário de modo a comparar os diferentes pré-tratamentos abordados em cima, no que diz respeito à remoção da fração celulósica, digestibilidade enzimática, condições de operação e corrosão de material. Posto isto, tem-se então o Quadro 1.

Quadro 1 Comparação de alguns processos para o fracionamento de materiais lenhocelulósicos. Elevado (+); Moderado (0); Baixo (-); Não aplicável (n.a.). Adaptado de (73)

Tratamentos	Ácidos		Alcalino	Hidrotérmicos		
	Diluído	Concentrado		Autohidrólise	Explosão com Vapor	Explosão com CO ₂
Temperatura	+	-/0	-/0	+	+	+
Remoção de hemicelulose	+	+	0	+	+	+
Recuperação de hemicelulose	+	0	0	+	0	+/0
Remoção de celulose	-	+	-	-	-	-
Digestibilidade enzimática	+	n.a.	+	+	++	+
Remoção de lenhina	-	-	+	-	-	-
Formação de inibidores	-/0	+/-	-	-	-/0	-/0
Corrosão de equipamento	0	+	+	-	-	-/0
Energia necessária	+	-	-	+	+	+
Recuperação dos catalisadores	Difícil	Necessário	Fácil	n.a	n.a.	Difícil
Formação de resíduos	+	-	-	-	-	+/-
Implementado à escala piloto	Sim	Sim	Sim/Não	Sim	Sim	Sim

2.4.4 Hidrólise enzimática

A aplicação de qualquer dos métodos de pré-tratamento descritos anteriormente permitirá um aumento da digestibilidade enzimática da celulose remanescente na fração sólida da biomassa. Por exemplo, a remoção da hemicelulose hidrólise ácida diluída que promove a destruição da matriz protetora lenhina-polissacáridos da parede celular das matérias-primas (88, 89), pode melhorar eficazmente a acessibilidade e por sua vez, a digestibilidade enzimática, originando uma excelente fonte de açúcares, nomeadamente glucose, para produção de bioetanol (90-93).

A vantagem mais significativa da hidrólise enzimática sobre os processos ácidos são, condições de temperatura e pH mais leves, o que leva a uma reação livre de produtos de degradação dos açúcares que limitam os processos fermentativos posteriores. Isto leva a vantagens económicas a nível, por exemplo, do custo de equipamento (94).

Tem havido um aumento significativo da eficiência das enzimas que são utilizadas neste processo, destacando-se as enzimas comerciais da Novozymes, nomeadamente as enzimas Cellic[®] CTec2 e Cellic[®] CTec3 HS. Estas são enzimas de última geração que apresentam atividades celulolíticas, de β -glucosidases e de hemicelulase. São tipicamente eficazes numa ampla variedade de matérias-primas, mas a sua eficiência tem de ser testada, especialmente em função do pré-tratamento.

Os pré-tratamento de autohidrólise utilizados no processamento dos materiais lenhocelulósicos, dão origem, no geral, a soluções ricas em hemiceluloses, na forma oligomérica que é por vezes necessário converter em monossacáridos para possibilitar o acesso da maioria dos microrganismos, quando estes compostos são direcionados para conversão biológica, nomeadamente para produção de bioetanol. Isso pode ser conseguido através da utilização de processos químicos, ou biológicos (95). No entanto, neste trabalho isso não será realizado, pois é considerado que os oligossacáridos têm mais valor como produtos diretamente comercializáveis.

2.5 Produtos derivados dos pré-tratamentos

Para valorização da fração hemicelulósica, tanto a hidrólise em ácido diluído como os tratamentos hidrotérmicos são os métodos mais adequados uma vez que estes são muito seletivos para a fração referida.

2.5.1 Oligossacáridos (OS)

Como descrito a cima, os processos hidrotérmicos são preferidos em relação ao processo com ácido tanto a nível económico como ambiental.

Com condições moderadas, os OS são geralmente o produto maioritário e as proporções de OS, monossacáridos e produtos de degradação varia de acordo com as condições de operação e tipo de pré-tratamento. A autohidrólise permite, no geral, obter altos rendimentos de OS (96).

Os oligossacáridos (OS) são moléculas de baixo peso molecular que contém unidades de monossacáridos conectadas por ligações glicosídicas (97). Muitos autores consideram que os OS contém geralmente de 3 a 10 unidades de monossacáridos, denominados DP3 a DP10 (DP, *Degree of Polymerisation*, na literatura inglesa) (97, 98),

o que é também a definição dada pela IUPAC. No entanto, outros autores consideram que o grau de polimerização poderá ser maior (99), definindo oligossacáridos até DP20 ou superior, desde que estes compostos de peso molecular elevado sejam solúveis.

Como representantes majoritários dos oligossacáridos, tem-se os celooligossacáridos (COS) e os xilooligossacáridos (XOS) (97).

Os celooligossacáridos são cadeias lineares com ligações de anidroglicose β -1 \rightarrow 4, com baixo grau de polimerização. Os COS são importantes oligossacáridos funcionais, com elevada importância no campo da alimentação e na indústria farmacêutica (100, 101).

Os xilooligossacáridos (XOS) são cadeias lineares com ligações de anidroxilose β -1 \rightarrow 4, com baixo grau de polimerização (102). Os XOS são utilizados como probióticos benignos para a saúde humana, que mostra uma gama de atividades biológicas, bem como, promover a absorção de cálcio, reduzir os níveis de colesterol, reduzir os riscos de cancro colorretal, melhorar o sistema imunitário humano e atuar como antioxidante (97).

Os oligossacáridos, particularmente os XOS, obtidos por matérias-primas do tipo herbáceo e folhosa, podem ser um importante produto de valor acrescentado, apresentando muitas propriedades interessantes para aplicar nas indústrias alimentares, farmacêutica e cosmética bem como produtos químicos especiais (103).

Os XOS são normalmente obtidos através da hidrólise de xilano de biomassa lenhocelulósica. Nas últimas décadas, alguns processos têm avaliado a produção de XOS, contudo, ainda é uma área que se encontra em constante desenvolvimento e onde as melhores metodologias, e substratos não estão bem definidas (104) e serão explorados neste trabalho.

2.5.2 Monossacáridos (OS)

As reações de hidrólise ácida devem ser controladas em termos de concentração de ácido, tipos de ácidos utilizados e tempo de hidrólise. Um dos inconvenientes pode ser a formação de produtos colaterais como o furfural, quando estão presentes pentoses, ou o HMF, quando as hexoses fazem parte da composição de polissacáridos (105).

Dependendo da severidade do tratamento, os produtos resultantes são essencialmente os monossacáridos e ácido acético, sendo usualmente fácil limitar a produção de produtos de degradação (106).

Os principais monossacáridos presentes nos hidrolisados são as pentoses, que apresentam um baixo valor comercial, quando comparadas com a glucose. Este último

monossacárido só é produzido significativamente durante o processo de hidrólise enzimática da celulose, conseguindo-se obter xaropes de glucose com concentrações significativas, mas que têm dificuldade em conseguir competir no Mercado com outros produtos semelhantes. Assim, quer os xaropes de pentoses, quer os xaropes de glucose têm sido essencialmente utilizados para a produção de biocombustíveis (p. ex. o bioetanol) ou outros produtos com grande volume de Mercado, como por exemplo o ácido láctico, diretamente, *in situ*, na biorefinaria (105).

3 Materiais e métodos

3.1 Matérias-primas

3.1.1 *Miscanthus*

O *Miscanthus*, uma das matérias primas principais utilizadas neste trabalho, foi gentilmente fornecido pelo TNO (Países Baixos) no âmbito do projeto BRISK2 em forma de pellets. O material foi armazenado num contentor plástico, à temperatura ambiente. Este material foi utilizado como recebido, sendo apenas moído para efeitos de análise química estrutural.

3.1.2 Faia

A amostra de Faia (*Fagus sylvatica*, Beech, na literatura inglesa) foi fornecida moída em forma de pó tendo sido gentilmente fornecida pelo KIT (Alemanha), também no âmbito do projeto BRISK2. A amostra foi armazenada como descrito para a amostra de *Miscanthus*. Este material foi utilizado como recebido, sendo apenas moído para efeitos de análise química estrutural.

3.1.3 Borrás de café

As borras de café (*Spent coffee grounds*, na literatura inglesa) foram gentilmente fornecida pela cafetaria situada no edifício O do campus do Lumiar.

Dado a elevada humidade das amostras, parte da amostra é recolhida para determinação de humidade e cinza (em duplicado), enquanto que a restante é posta a secar numa estufa a 60°C.

3.1.4 Carço do fruto de palmeira

Carço do fruto de palmeira (*Palm kernel*, na literatura inglesa) é um subproduto da produção de biodiesel a partir de óleo de palma, tendo sido gentilmente fornecida moída em forma de pó pelo CERTH (Grécia), também no âmbito do projeto BRISK2. A amostra foi armazenada em congelador (-18°C). Este material foi seco e moído para efeitos de análise química estrutural.

3.1.5 Dreche cervejeira

A Dreche cervejeira (*Brewerie spent grains*, na literatura inglesa) é um subproduto oriundo da indústria cervejeira, tendo sido gentilmente fornecida moída em forma de pó pelo CERTH (Grécia), também no âmbito do projeto BRISK2. A amostra foi armazenada

como descrito para a amostra de Carço do fruto de palmeira. Este material foi seco e moído para efeitos de análise química estrutural.

3.2 Pré-tratamento da biomassa em ácido diluído

Os ensaios de hidrólise ácida diluída foram realizados utilizando uma razão líquido/sólido de 7 (p/p, base seca), e uma massa total da mistura de 350 g (biomassa, água e ácido sulfúrico). Tipicamente pesam-se uma quantidade de biomassa equivalente a 43,75 de biomassa seca, adicionando-se posteriormente quantidades da solução de ácido sulfúrico a 4% (p/p) e água destilada por forma a completar a massa a 350 g e a concentração de ácido sulfúrico final ser 0,10 g H₂SO₄/g biomassa¹.

A mistura foi colocada num reator Parr (Parr Instruments Company, EUA, ver Figura 14). Utilizou-se um vaso de 600 mL construído em Hastelloy™.



Figura 14 Reator *Parr* utilizado nos pré-tratamentos.

A agitação do reator é feita por um veio com pás planas e o aquecimento é feito através de uma manta externa (elétrica). Inicialmente, a temperatura é estabilizada a 25 °C e posteriormente o aquecimento é ligado de forma a obter um perfil de aquecimento reprodutível (aproximadamente 7 °C/min) até se atingir a temperatura desejada (140 °C), a partir da qual esta é mantida constante por tempos pré-determinados, de 0 a 80 minutos. Por forma a seguir a reação ao longo do período de aquecimento foram

¹ Por exemplo, para uma biomassa com 8,4% de humidade foram pesadas 47,76 g de biomassa, 188,90 g de água desmineralizada e 113,34 g de ácido sulfúrico (4%, p/p)

também retiradas amostras quando se atingiram as temperaturas de 90 e 110. As condições operacionais são monitorizadas através de um controlador PID, Parr modelo 4842. Registam-se os valores de temperatura, velocidade de rotação, pressão, gasto energético (eletricidade), e output, durante a reação. No fim da reação, o reator é arrefecido rapidamente fazendo circular água na serpentina interior e também pela imersão parcial do reator em água fria dentro de um copo de precipitação de 5 L. Posto isto, a separação da mistura (sólido/hidrolisado) é feita por prensagem manual, seguida por filtração por papel de filtro Whatman® n.º 1. O sólido é lavado com ≈600 g de água desmineralizada. Por fim quantificaram-se os sólidos e líquidos após cada tratamento, de forma a ser possível avaliar as perdas durante o processo. Após a prensagem parte do hidrolisado obtido é analisado em HPLC, para quantificar os açúcares livres e o restante é congelado a -20 °C. Da fração sólida lavada recolhem-se 3 alíquotas: 1) amostra para quantificar a humidade e cinzas (aproximadamente 10 g) utilizada de imediato; 2) amostra para determinação da digestibilidade enzimática (aproximadamente 10 g); e 3) amostra remanescente que será seca na estufa a 45 °C para posterior caracterização analítica da composição da biomassa.

As fórmulas de cálculo do fator de severidade combinado e de alguns parâmetros relevantes para a análise dos resultados, por exemplo o rendimento em sólidos, são apresentadas em Anexo (Anexos 7.2 e 7.3, respetivamente).

3.3 Pré-tratamento da biomassa por autohidrólise

Os ensaios de autohidrólise foram realizados utilizando uma razão líquido/sólido de 7 (p/p, base seca), e uma massa total da mistura de 350 g (biomassa, água). Tipicamente pesam-se uma quantidade de biomassa equivalente a 43.75 de biomassa seca, adicionando-se posteriormente água destilada por forma a completar a massa total de 350 g.

A mistura foi colocada no reator Parr já descrito, mas utilizou-se um vaso construído em aço inoxidável 316L. A agitação do reator é feita por um veio com pás planas e o aquecimento é feito através de uma manta externa (elétrica). Inicialmente, a temperatura é estabilizada a 25 °C e posteriormente o aquecimento é ligado de forma a obter um perfil de aquecimento reprodutível (aproximadamente 7 °C/min) até se atingir a temperatura desejada (170 °C), a partir da qual esta é mantida constante por tempos pré-determinados, de 0 a 80 minutos. Por forma a seguir a reação ao longo do período de aquecimento foram também retiradas amostras quando se atingiram as temperaturas de 140, 150 e 160. As condições operacionais são monitorizadas através de um controlador PID, Parr modelo 4842. Registam-se os valores de temperatura, velocidade

de rotação, pressão, gasto energético (eletricidade), e output, durante a reação. No fim da reação, o reator é arrefecido rapidamente fazendo circular água na serpentina interior e também pela imersão parcial do reator em água fria dentro de um copo de precipitação de 5 L. Posto isto, a separação da mistura (sólido/hidrolisado) é feita por prensagem manual, seguida por filtração por papel de filtro Whatman® n.º 1. O sólido é lavado com ≈600 g de água desmineralizada. Por fim quantificaram-se os sólidos e líquidos após cada tratamento, de forma a ser possível avaliar as perdas durante o processo. Após a prensagem parte do hidrolisado obtido é analisado em HPLC, para quantificar os açúcares livres e o restante é congelado a -20 °C. Da fração sólida lavada recolhem-se 3 alíquotas: 1) amostra para quantificar a humidade e cinzas (aproximadamente 10 g) utilizada de imediato; 2) amostra para determinação da digestibilidade enzimática (aproximadamente 10 g); e 3) amostra remanescente que será seca na estufa a 45 °C para posterior caracterização analítica da composição da biomassa.

As fórmulas de cálculo do fator de severidade combinado e de alguns parâmetros relevantes para a análise dos resultados, por exemplo o rendimento em sólidos, são apresentadas em Anexo (7.2 e 7.3, respetivamente).

3.4 Métodos analíticos

Apresenta-se seguidamente as diferentes metodologias analíticas utilizadas. As fórmulas de cálculo relevantes são apresentadas em Anexo (7.3).

3.4.1 Caracterização física das matérias-primas

A caracterização física das matérias primas teve por objetivo a quantificação da sua densidade e o estabelecimento do seu perfil granulométrico.

3.4.1.1 Quantificação da densidade

A densidade dos pellets de *Miscanthus* foi obtida pela quantificação da massa de pellets individuais (pelo menos 25 pellets) e a estimativa do seu volume, assumindo uma geometria cilíndrica e medindo o diâmetro e comprimento de cada pellet, com um paquímetro digital.

A quantificação da densidade aparente (ou *bulk*) foi realizada tendo por base a norma CEN / CENELEC 15103 (107), com ligeiras alterações (utilização de recipientes de menores dimensões do que os prescritos). Especificamente, foi utilizado uma proveta volumétrica de plástico de 250 mL. A biomassa foi adicionada por alíquotas, medindo-se a massa total adicionada e o volume ocupado ao longo do preenchimento, agitando

a amostra na proveta por forma a evitar os espaços não preenchidos. A densidade aparente é calculada pela razão entre a massa e o volume aparente ocupado.

3.4.1.2 Perfil granulométrico

A caracterização do tamanho das partículas constituintes das restantes matérias-primas, foi realizado através de um agitador de peneiros (EVS1, Endecotts, Inglaterra) utilizando 7 peneiros (ASTM E11, Retsch, Alemanha) dispostos em série, com diferentes tamanhos de poros, ordenados de acordo com o diâmetro dos poros (0,25, 0,50, 0,71, 1,00, 1,60, 2,36 e 3,55 mm)

Para realizar a análise granulométrica, amostras de aproximadamente 100g cada, foram agitadas durante 20 minutos, recorrendo ao agitador de peneiros. Os peneiros foram tarados individualmente numa balança (N2B110 Navigator, OHAUS, Suíça). Os ensaios foram feitos pelo menos em triplicado.

3.4.2 Determinação dos sólidos totais na biomassa

Os sólidos totais na biomassa foram determinados, de acordo com o método standard do NREL (108). A determinação dos sólidos totais na biomassa, é obtida através da humidade presente na biomassa. Esta determinação pode ser feita aos resíduos sólidos resultantes dos pré-tratamentos ou à biomassa tal qual, ou seja, sem pré-tratamento.

Os cadinhos de porcelana são previamente tarados em mufla (Heraeus D-6450, Alemanha) a 550 °C, durante, pelo menos, 5 h. Após este tempo, são retirados e colocados diretamente num exsiccador, para arrefecerem sem que ganhem humidade. Finalmente os cadinhos são pesados numa balança analítica (Mettler HK160, Suíça), e registam-se os valores com precisão de 0,1 mg.

A determinação da humidade é feita pesando, para os cadinhos previamente tarados, aproximadamente 2 g de amostra. Após o que são colocados na estufa a 105 °C durante, pelo menos, 18 h. Após a secagem, os cadinhos contendo as amostras passam para um exsiccador onde irão arrefecer. Quando os cadinhos estiverem à temperatura ambiente são pesados novamente na qual se regista o valor. Os ensaios foram sempre realizados, pelo menos, em duplicado.

3.4.3 Determinação das cinzas na biomassa

As cinzas foram determinadas de acordo com o método standard do NREL (109). Com a determinação da humidade já efetuada, utilizaram-se os mesmo cadinhos de porcelana com a amostra seca. Os cadinhos foram colocados na mufla (Heraeus D-

6450, Alemanha) a 550 °C, durante, pelo menos, 5 h. Após a mufla procedeu-se ao arrefecimento dos cadinhos no exsiccador até à temperatura ambiente. Foram pesados os cadinhos numa balança analítica (Mettler HK160, Suíça) e registados os valores. Obtém-se assim a quantidade de cinza da amostra.

3.4.4 Determinação do peso seco do hidrolisado

Após a realização de cada pré-tratamento foi quantificado o resíduo seco do hidrolisado e a quantidade de cinza presente. O procedimento usado, é em tudo semelhante ao da determinação da humidade (secção 3.4.2) e cinza (secção 3.4.3). Neste caso foram pesados, recorrendo a Erlenmeyers previamente tarados em mufla, 10 g de hidrolisado. A determinação foi feita sempre em duplicado.

3.4.5 Caracterização estrutural de matérias-primas e biomassa tratada

Método 1:

As amostras foram submetidas a uma hidrólise ácida quantitativa para determinação de polissacáridos e grupos acetilo, de acordo com o método standard do NREL (110), com ligeiras alterações. Para tal, foram pesadas em tubos de ensaio 0,5 g de biomassa pré-tratada e moída, às quais se adicionou 5 mL de H₂SO₄ 72% (p/p). A mistura foi incubada a 30 °C num banho termostaticado (Mammert, Alemanha), durante 1 h, com agitação de 10 em 10 minutos com recurso a uma vareta de vidro (1 vareta para cada tubo). Terminado esse tempo, todo o conteúdo do tubo de ensaio foi transferido para frascos Schott de 250 ml através do arrastamento com água desmineralizada, numa quantidade suficiente para se obter uma concentração de H₂SO₄ de 4% (p/p). Anota-se o peso todo do conjunto, ou seja, o peso do frasco mais o peso da mistura. Feito isto colocam-se os frascos no autoclave onde permanecerão durante 1 h a uma temperatura de 121 °C. De seguida, o autoclave é arrefecido, com a abertura do esgoto permitindo que a temperatura baixe até aproximadamente 90 °C, momento em que se abre a autoclave e se retira os frascos para arrefecerem até à temperatura ambiente. Após o arrefecimento, os frascos, são novamente pesados para verificar a ocorrência de possíveis perdas. A mistura foi filtrada por filtros de placa porosa, previamente tarados, na mufla (Heraeus D-6450, Alemanha) durante 5 h.

As frações sólidas foram lavadas com água desmineralizada e os cadinhos foram postos a secar durante 18 h a 105 °C na estufa. O resíduo seco é considerado lenhina de *Klason*, após correção da cinza determinada por incineração das amostras numa

mufla a 550 °C durante 5 h. O filtrado é analisado em HPLC para a quantificação de açúcares (monossacáridos) e ácido acético.

O cálculo das percentagens dos polímeros e grupos acetilo é feito com base nas concentrações de glucose, xilose, arabinose e ácido acético presente nos hidrolisados (ver anexo 7.3.2).

Método 2:

As amostras foram submetidas a uma hidrólise ácida quantitativa para determinação de polissacáridos e grupos acetilo, de acordo com o método standard do NREL (110). Para tal, foram pesadas em tubos de alta pressão 0,3 g de biomassa pré-tratada e moída, às quais se adicionou 3 mL de H₂SO₄ 72% (p/p). A mistura foi incubada a 30 °C de forma análoga ao descrito a cima. Terminado esse tempo, foi adicionado a cada tubo 84 g de água desmineralizada, quantidade suficiente para se obter uma concentração de H₂SO₄ de 4% (p/p). Todo o procedimento seguinte é idêntico ao anterior.

3.4.6 Quantificação dos oligossacáridos presentes nos hidrolisados de autohidrólise

As amostras de hidrolisados de autohidrólise foram submetidas a uma pós-hidrólise para determinação de açúcares oligoméricos, de acordo com o método standard do NREL (111). Foram pesados 4,25 g de hidrolisado para um tubo de ensaio e adicionados 0,25 g de ácido sulfúrico (H₂SO₄ 72%). Foi anotado o peso de todo o conjunto, ou seja, o peso do tubo mais o peso da mistura. Feito isto foram colocados os tubos na autoclave onde permanecerão por 1 h a uma temperatura de 121 °C. Foram depois retirados os tubos da autoclave e arrefecidos até à temperatura ambiente. Após o arrefecimento, os tubos foram novamente pesados para perceber se se verificou alguma alteração significativa no peso do conjunto. O líquido final obtido é recolhido para posterior análise em HPLC. Os oligossacáridos (OS) são quantificados por diferença entre a contração final e inicial de monossacáridos, tendo em conta a degradação dos monossacáridos e a diluição imposta pela adição do ácido sulfúrico.

3.4.7 Avaliação da digestibilidade enzimática

As amostras foram submetidas a uma hidrólise enzimática, de acordo com o método standard do NREL (112). Tipicamente utilizou-se uma carga de sólidos de 5% (p/v, base seca) e uma dose de enzima de 10% em função do glucano (0,1 g de enzima por g de glucano presente na biomassa).

Preparação da solução tampão (pH 5, 0, 0,1 Mol) – Num balão de 500 mL, foi colocado 3,7 g de ácido cítrico monohidratado e 9,55 g de citrato de sódio dihidratado e água desmineralizada de modo a perfazer o volume total do balão.

Preparação da solução tampão mais enzima – Num balão de 100 mL, foram adicionados aproximadamente 1 g de enzima Cellic[®] CTec2, gentilmente cedida pela Novozymes, e completado o volume total do balão com a solução tampão preparada anteriormente.

A quantidade de biomassa foi tomada em conta para os cálculos da quantidade de água destilada a ser usada de modo a obter o volume final total final desejado de 10 mL, considerando que a biomassa tem uma densidade de 1 g/mL.

Foi adicionada Azida de sódio por forma a controlar o crescimento microbiano (concentração final: 0.02 % p/v)

Todos os ensaios foram realizados em duplicado utilizando tubos tapados de fundo redondo. Foram realizados brancos tendo em conta os açúcares que podem surgir da solução enzimática (sem adição de biomassa) e os açúcares derivados da hidrólise não enzimática da biomassa (sem adição de enzima).

Depois das amostras preparadas, coloca-se os tubos com as misturas reacionais no incubador orbital a 50 °C e uma velocidade de agitação de 180 rpm durante 72 h. Após as 72 h, os tubos são colocados num banho a 100 °C por 10 minutos, com o intuito de inativar as enzimas. O conteúdo de cada frasco é diretamente filtrado por filtros de nylon de 0,22 µm para os *vials* para análise de HPLC para quantificação dos açúcares produzidos.

3.4.8 Quantificação de açúcares, ácidos alifáticos e furanos por HPLC

A quantificação da concentração dos monossacáridos: glucose (Glc), xilose (Xyl), e arabinose (Ara); ácidos alifáticos: ácido acético (HAc), ácido fórmico (HForm) e ácido levulínico (HLev); e furanos: 5-(hidróximetil)-2-furaldeído (HMF) e Furfural nos hidrolisados obtidos por hidrólise ácida ou autohidrólise, pós-hidrólise dos licores de autohidrólise e nas amostras provenientes da caracterização estrutural da biomassa, foi efetuada através da análise por HPLC. Utilizou-se um equipamento Agilent 1100 Series, (Alemanha) equipado com bomba, desgasificador, forno de colunas, e dois detetores colocados sequencialmente, um detetor de Índice de Refração, e um detetor do tipo detetor de fotodíodos (DAD, *diode-array*, na literatura inglesa). Foi utilizada uma coluna Aminex HPX-87H (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). As características da coluna e as respetivas condições operacionais estão descritas no **Quadro 2**.

Esta coluna não separa/resolve todos os monossacáridos presentes na hemicelulose, nomeadamente junto com a xilose co-eluem também a galactose e a manose. No entanto, a quantificação da xilose não é grandemente afetada, pois a maioria dos materiais apresenta um conteúdo praticamente residual destes outros monossacáridos em comparação com a xilose.

Antes da análise, todas as amostras foram previamente filtradas através de filtros Millipore® de diâmetro de poro 0,22 µm. Os monossacarídeos e os ácidos alifáticos, acima mencionados, foram quantificados utilizando o detetor de Índice de refração (IR), enquanto o HMF e Furfural foram quantificados a 280 nm recorrendo ao DAD.

As concentrações dos compostos analisados foram calculadas a partir de curvas de calibração, traçadas a partir de soluções padrão, numa gama de concentrações de 0,1-20 gL⁻¹.

Quadro 2 Características da coluna cromatográfica HPX-87H e respetivas condições operacionais de análise.

Coluna	HPX-87H
Características da coluna	Dimensões: 300 x 7.8 mm; Resina catiónica (H ⁺); 9 µm de diâmetro de partícula; 8% <i>cross linkage</i> ; gama de pH: 1–3
Condições operacionais	
Fase móvel	H ₂ SO ₄ 0,5 mM
Caudal	0,6 mL/min
Volume da amostra	5 µL
Temperatura da coluna	50 °C
Temperatura do detetor IR	50 °C
Comprimento de onda UV	280 nm

3.5 Análise económica

A análise económica foi realizada utilizando o software SuperProDesigner® Versão 10, Built 2, Special Built 3010 (Intelligent, Inc.). Dado que apenas se pretende comparar entre os dois materiais principais / dois processos de pré-tratamento estudados, e não o desenvolvimento completo de uma simulação dos processos com vista a uma análise de investimento detalhada, optou-se por utilizar os custos dos

equipamentos definidos por defeito no software. O preço das matérias-primas principais e dos produtos são tirados na literatura (**Erro! A origem da referência não foi encontrada.**).

Todos os cálculos são apresentados para uma instalação que processa 100 000 ton/ano, base seca.

4 Resultados e discussão

4.1 Caracterização físico-química das matérias-primas

4.1.1 Caracterização física

A densidade das matérias-primas é um parâmetro importante, para efeitos avaliação logística, de dimensionamento de equipamentos e análise técnico-económica.

Para o *Miscanthus*, fornecido em pellets foi quantificada a densidade específica do pellet e a densidade aparente (ou *bulk*).

O diâmetro de cada pellet é bastante reprodutível apresentando um coeficiente de variação de 2,8% no diâmetro médio ($8,83 \pm 0,24$ mm). Por outro lado, o comprimento dos pellets apresenta uma maior heterogeneidade, tendo-se obtido uma média de $12,84 \pm 2,44$ mm, com variação percentual de 19%, o que certamente é consequência da maior suscetibilidade à rutura, originando pellets de menores dimensões. A distribuição dos comprimentos obtidos para os *pellets* pode ser verificado na Figura 15.

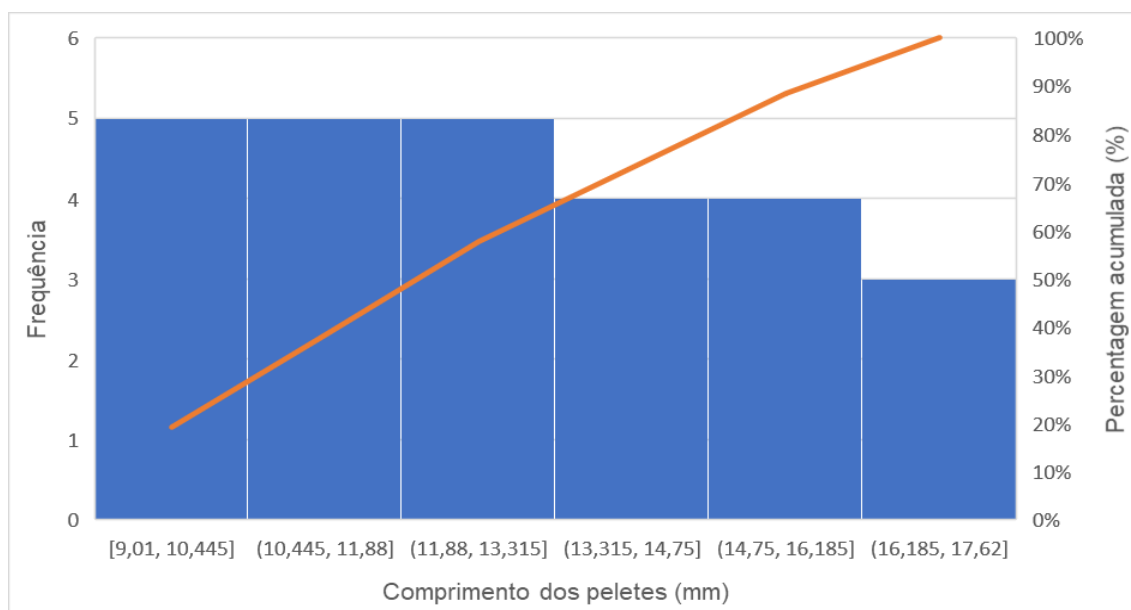


Figura 15 Distribuição do tamanho dos pellets.

De forma análoga a massa dos *pellets* apresenta também uma grande variação (21,9%), com uma massa média de 0,65 g/pellet.

Pelo contrário, o cálculo da média da densidade dos pellets permitiu obter um valor de $0,81 \pm 0,07$ kg/L, a que corresponde um coeficiente de variação de 8,6%. Este valor está em linha com a literatura, mas é menor do que os valores reportados para outros materiais, como por exemplo, pellets de palha de milho (8 mm de diâmetro) e palha de

trigo (10 mm de diâmetro), que apresentam densidades específicas de 1,133 kg/L e 1,096 kg/L, respetivamente (113).

No entanto, para diversas aplicações, é mais importante conhecer a densidade aparente, tendo-se obtido um valor de 0,49 kg/L.

Quanto à faia, a distribuição das dimensões das partículas de biomassa utilizadas neste trabalho pode ser encontrada na Figura 16.

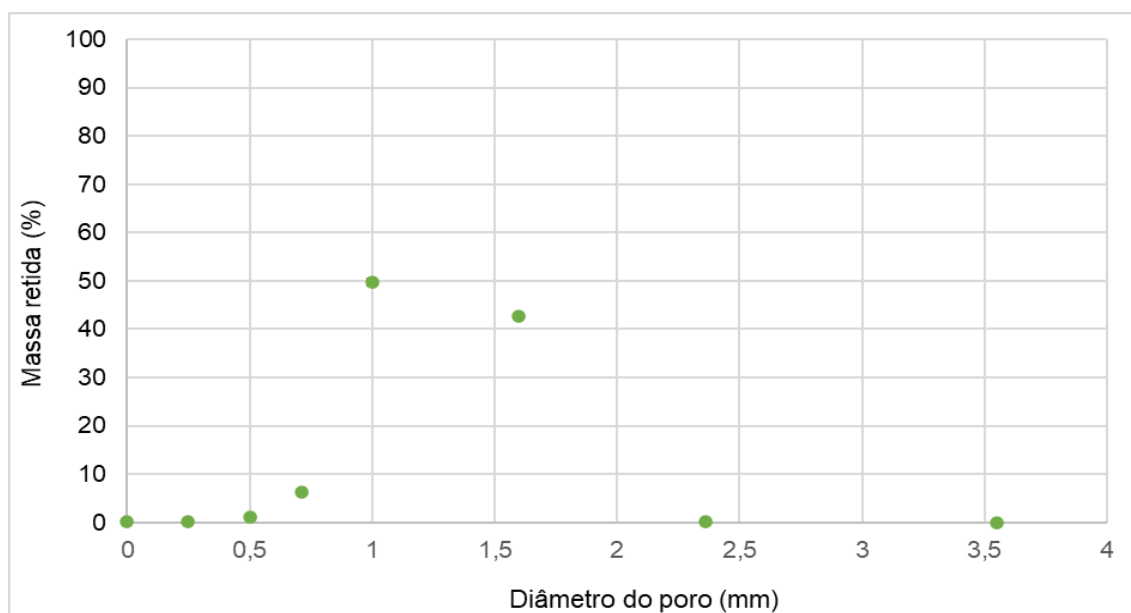


Figura 16 Distribuição do tamanho das partículas da biomassa de Faia.

Como se pode observar, a amostra é bastante homogênea, com aproximadamente 92% da matéria-prima a apresentar uma dimensão entre 1 e 2 mm, com apenas cerca de 8% da matéria-prima com dimensões inferiores a 1 mm, sendo desprezável a quantidade de biomassa que apresenta dimensões superiores a 2,36 mm. Esta distribuição é considerada adequada quer para o processamento por hidrólise ácida, quer por autohidrólise (114).

4.1.2 Caracterização química

A composição química dos materiais lenhocelulósicos variam com a origem, espécie e condições de cultivo. Estas variações ocorrem principalmente nos componentes macromoleculares (celulose, hemicelulose e lenhina), em particular na fração hemicelulósica.

Para obter uma remoção efetiva da maioria dos compostos dos materiais lenhocelulósicos, como a celulose, hemicelulose, lenhina e outros compostos, a sua

caracterização química é de extrema importância e servirá como suporte para a determinação da composição presente nas amostras a serem tratadas.

No quadro seguinte, tem-se a comparação da composição química de três biomassas quantificadas neste trabalho, a Dreche cervejeira (*BSG*), as borras de café (*SCG*) e o Caroço do fruto da palmeira (*Palm kernel*), no entanto posteriormente não foram sujeitas a qualquer tratamento, uma vez que apenas foram selecionadas o *Miscanthus (M. x giganteus)* e Faia (*Fagus sylvatica*), que no Quadro 4 e 5, respetivamente, serão apresentadas em comparação com estudos feitos por outros autores, a ambas as matérias primas, sem qualquer tipo de tratamento prévio.

Quadro 3 Caracterização química da Dreche cervejeira, Borras de café e Caroço do fruto de palmeira.

Componentes	Estudo atual	Ref.	Estudo atual	Ref.	Estudo atual	Ref.
	Dreche cervejeira	(115)	Borras de café	(116)	Caroço do fruto de palmeira	(117)
Celulose (como Glucano)	16,82	21,20	9,29	8,60	8,56	6,92
Hemicelulose	24,33	30,40	39,94	36,70	41,75	26,16
Xilano	16,14	19,80	37,50	-	40,50	-
Arabinano	7,22	9,80	2,14	1,70	0,20	-
Grupos acetil	0,97	0,80	0,30	2,20	1,05	-
Lenhina de Klason	11,91	21,70	28,86	-	13,11	-
Cinzas	4,29	1,10	1,69	1,60	3,93	8,68
Humidade	5,31	-	7,47	-	5,42	6,11

Como se pode observar pelo Quadro 3, ambas as biomassas selecionadas são relativamente concordantes com outros estudos realizados. De realçar que, das três biomassas, o caroço do fruto de palmeira, é o que apresenta ao nível da hemicelulose um valor muito mais alto que o observado na literatura. O mesmo acontece com a Lenhina Klason da Dreche cervejeira, onde os valores estão um pouco distantes. Este valor pode ser justificado, por exemplo, pela quantidade e tempo de moagem realizado no processo industrial, uma vez que esta dreche são resíduos das indústrias cervejeiras. Já as borras de café estão bastante concordantes com outros estudos realizados.

Quadro 4 Caracterização química do *Miscanthus*.

Componentes	Estudo atual	Referências			
		(118)	(119)	(120)	(121)
Celulose (como Glucano)	44,52	42,00	40,70	38,00	42,80
Hemicelulose	27,16	25,00	24,60	16,00	25,00
Xilano	20,75	-	19,10	14,90	22,00
Arabinano	4,19	-	2,50	1,10	-
Grupos acetil	2,22	-	3,00	-	3,00
Lenhina de Klason	23,39	26,00	24,50	20,80	18,30
Cinzas	1,82	-	-	0,80	-
Humidade	7,22	-	-	-	<10,00

Na literatura observa-se que a quantidade de polissacáridos presentes nas amostras de *Miscanthus* ronda, recorrendo a uma média dos valores, aproximadamente os 63,53%. Já neste estudo foi obtido um valor de 71,68%, que se encontra muito perto dos outros estudos apresentados no Quadro 4, no entanto é sempre superior.

Como se pode verificar pelo quadro ilustrado acima, a celulose está presente em grande quantidade em relação aos outros constituintes da matéria orgânica, com um valor médio, de aproximadamente 40,88%. Os resultados obtidos neste estudo foram de 44,52%, que se encontra acima dos resultados da literatura, no entanto, o desvio que este apresenta não é muito significativo.

Em relação à quantidade de hemicelulose, considerado pela maioria dos autores, o segundo composto com maior representação nos materiais lenhocelulósicos, tem-se um valor médio de aproximadamente 22,65%. Neste estudo foi alcançado um valor de 27,56%, que, comparando individualmente com os outros estudos, é maior, mas completamente aceitável pois não existe grande discrepância no valor. É possível também notar que existe uma grande proporção entre os componentes presentes na hemicelulose, sendo o xilano o componente que mais se notabiliza.

A lenhina também contribui, com grande ênfase, para a constituição do material lenhocelulósico. Dos resultados apresentados no Quadro 4, o valor médio da lenhina para os outros estudos é, aproximadamente 22,40%, que comparado com este estudo, o valor obtido de 23,39% se encaixa na perfeição, não havendo grande desvio do valor reportado na literatura.

Os estudos apresentados não têm muita informação quanto ao teor de cinzas e teor de humidade do *Miscanthus*, por isso não é possível realizar grandes comparações. Contudo, o teor de cinza obtido foi de 1,82% que é superior ao valor encontrado na literatura de 0,80%, já o teor de humidade obtido de 7,22%, está concordante com o único valor relativo à literatura que foi possível encontrar, que indica que o teor deverá ser menor que 10,00%.

Quadro 5 Caracterização química da Faia.

Componentes	Estudo atual	Referências		
		(122)	(123)	(124)
Celulose (como Glucano)	40,15	36,00	46,10	40,50
Hemicelulose	29,04	15,00	20,00	24,50
Xilano	21,79	-	15,50	19,40
Arabinano	3,60	-	0,30	0,40
Grupos acetil	3,65	-	4,20	4,70
Lenhina de <i>Klason</i>	23,02	25,00	19,60	24,50
Cinzas	0,83	-	0,40	-
Humidade	7,15	8,60	-	-

Na literatura observar-se que a quantidade de polissacáridos presentes nas amostras de Faia ronda, recorrendo a uma média dos valores, aproximadamente os 60,70%. Já neste estudo foi obtido um valor de 69,19% que se encontra muito perto dos outros estudos apresentados no Quadro 5, contudo é sempre superior.

Como se pode verificar pelo quadro ilustrado acima, a celulose está presente em grande quantidade em relação aos outros constituintes da matéria orgânica, com um valor médio, de aproximadamente 40,87%. Os resultados obtidos neste estudo foram de 40,15%, que se encontra de acordo com os valores apresentados no quadro acima.

Em relação à quantidade de hemicelulose, considerado pela maioria dos autores, o segundo composto com maior representação nos materiais lenhocelulósicos, tem-se um valor médio de aproximadamente 19,83%. Neste estudo foi alcançado um valor de 29,04%, que, é bastante superior com os resultados obtidos noutros estudos, ainda assim, é considerado um valor bastante aceitável. É possível também notar que existe uma grande proporção entre os componentes presentes na hemicelulose, sendo o xilano o componente que mais se notabiliza.

A lenhina também contribui, com grande ênfase, para a constituição do material lenhocelulósico. Dos resultados apresentados no Quadro 5, o valor médio da lenhina para os outros estudos é, aproximadamente 23,03%, que comparado com este estudo, o valor obtido de 23,02% se encaixa na perfeição com os valores em comparação na literatura.

Os estudos apresentados não têm muita informação quanto ao teor de cinzas e teor de humidade do Faia, por isso não é possível realizar grandes comparações. Contudo, o teor de cinza obtido foi de 0,83% que é superior ao valor encontrado na literatura de 0,40%, já o teor de humidade obtido de 7,15%, está abaixo do valor relativo à literatura que foi possível encontrar de 8,60%, no entanto a diferença verificada não é tão discrepante.

4.2 Perfis de aquecimento e arrefecimento do reator de pré-tratamento

Neste trabalho foram analisados os perfis de temperatura de duas culturas energéticas selecionadas, o *Miscanthus* e a Faia. Estes perfis são muito úteis para verificar a viabilidade e reprodutibilidade de cada ensaio. Apesar de ser possível replicar a performance dos tratamentos, cada perfil irá sempre variar, o que pode servir como uma explicação comparativa caso surjam algumas anomalias ou erros no processo. Para poder tirar conclusões à cerca do diferente comportamento de ambas as culturas foram impostas, em cada tratamento, diferentes condições de reação. A temperatura, o tempo de reação e o catalisador foram as diferentes condições impostas em cada ensaio.

O *Miscanthus* e a Faia foram sujeitos a tratamento por autohidrólise sobre condições isotérmicas, para uma temperatura isotérmica de 170°C e não-isotérmicas, para temperaturas finais de 140°C, 150°C, 160°C e 170°C e por ácido diluído sobre condições isotérmicas, para uma temperatura isotérmica de 140°C e não-isotérmicas, para temperaturas finais de 90°C, 110°C e 140°C.

Na Figura 17 e 18, pode-se observar que os perfis registados têm um comportamento similar, o que indica que sobre estas condições o processo pode ser considerado reprodutível.

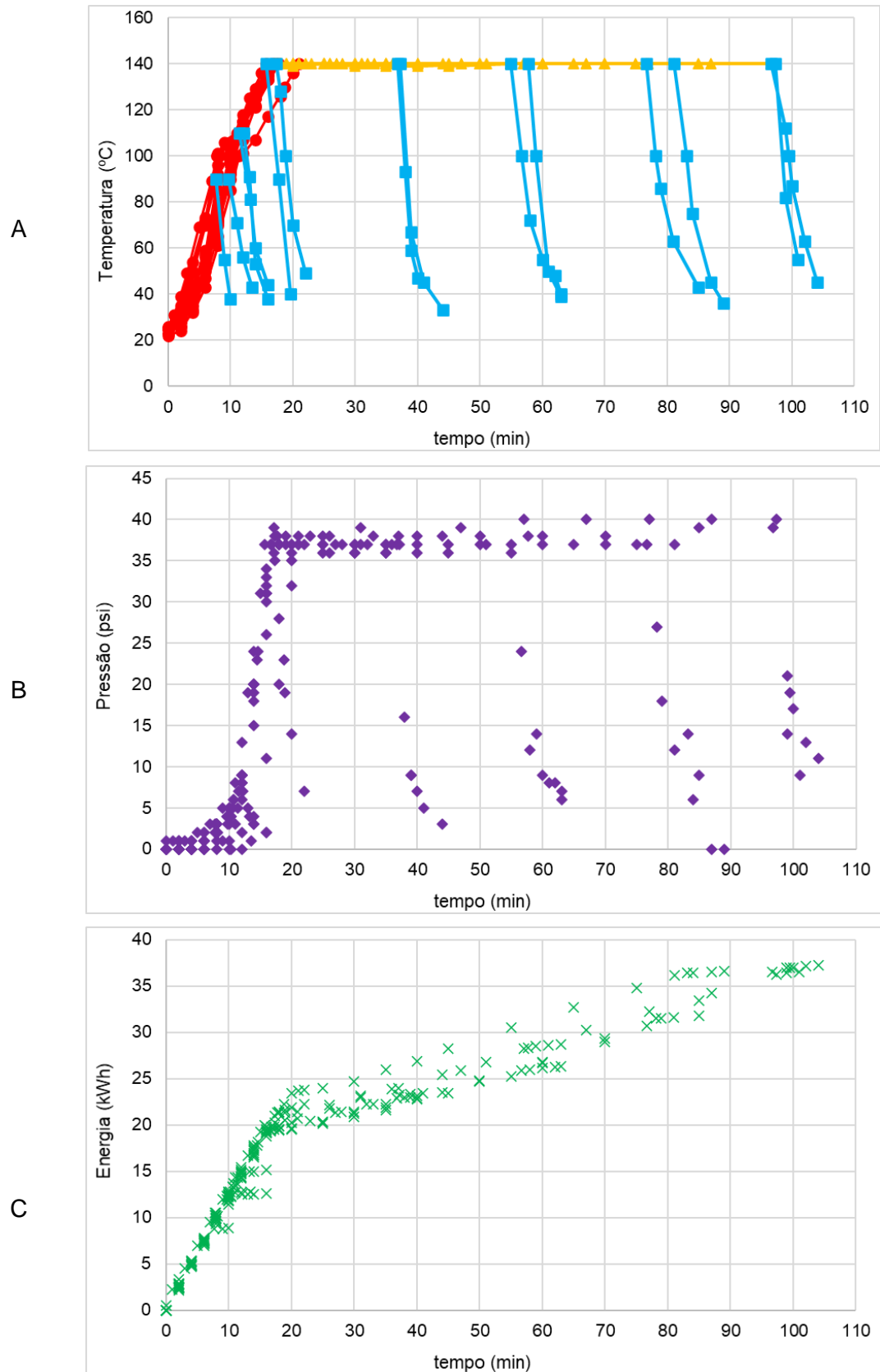


Figura 17 Perfil do tratamento com hidrólise ácida diluída de ambas as culturas, *Miscanthus* e Faia (A - Perfil de temperatura vs tempo; B - Perfil de pressão vs tempo; C - Perfil de energia vs tempo). Temperatura de aquecimento (●); Temperatura de arrefecimento (■); Temperatura isotérmico (▲); Pressão (◆); Energia (×).

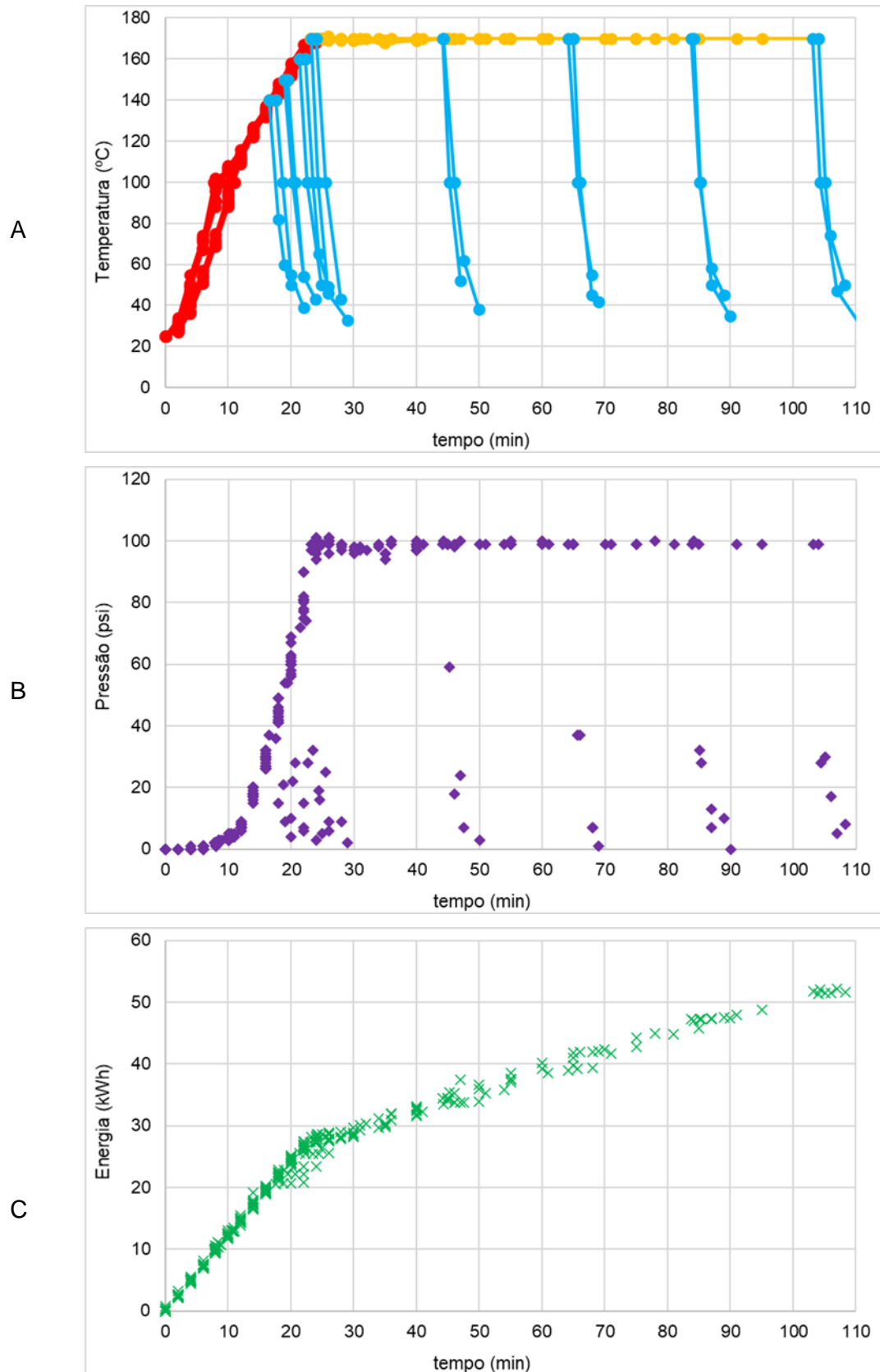


Figura 18 Perfil do tratamento com autohidrólise de ambas as culturas, *Miscanthus* e Faia (A - Perfil de temperatura vs tempo; B - Perfil de pressão vs tempo; C - Perfil de energia vs tempo). Temperatura de aquecimento (●); Temperatura de arrefecimento (■); Temperatura isotérmico (▲); Pressão (◆); Energia (×).

A variação da temperatura e pressão aumenta exponencialmente ao longo do tempo, aproximadamente durante os primeiros 25 minutos de aquecimento. Durante o aquecimento, a partir do momento em que é alcançada a temperatura de ebulição da água (100°C), nota-se uma redução do aumento exponencial da temperatura, até ser atingida a temperatura desejada para cada ensaio. Contrariamente, a pressão, continua a aumentar até ao momento em que estabiliza (condição isotérmica) ou reduz (condição não-isotérmica) na fase de arrefecimento.

Também se pode verificar que a energia necessária para o sistema atingir as referidas temperaturas alvo, têm um comportamento convergente com o esperado, uma vez que com o aumento da temperatura tem-se, conseqüentemente, um aumento da energia consumida pelo sistema. No momento da estabilização do sistema, período isotérmico, ainda existe aumento do consumo de energia, no entanto o consumo de energia é muito menor do que na fase de aquecimento como seria de esperar, uma vez que a temperatura se mantém constante nesta fase do sistema.

Como foi analisada acima, as Figuras 17A e 18A, representam o perfil geral para todos os ensaios realizados, no entanto para tornar possível uma melhor análise do perfil de aquecimento de ambas as biomassas, comparando-as, apresenta-se a Figura 19 e 20, que focam a curva de aquecimento do *Miscanthus* e da Faia, nos primeiros 25 minutos de aquecimento.

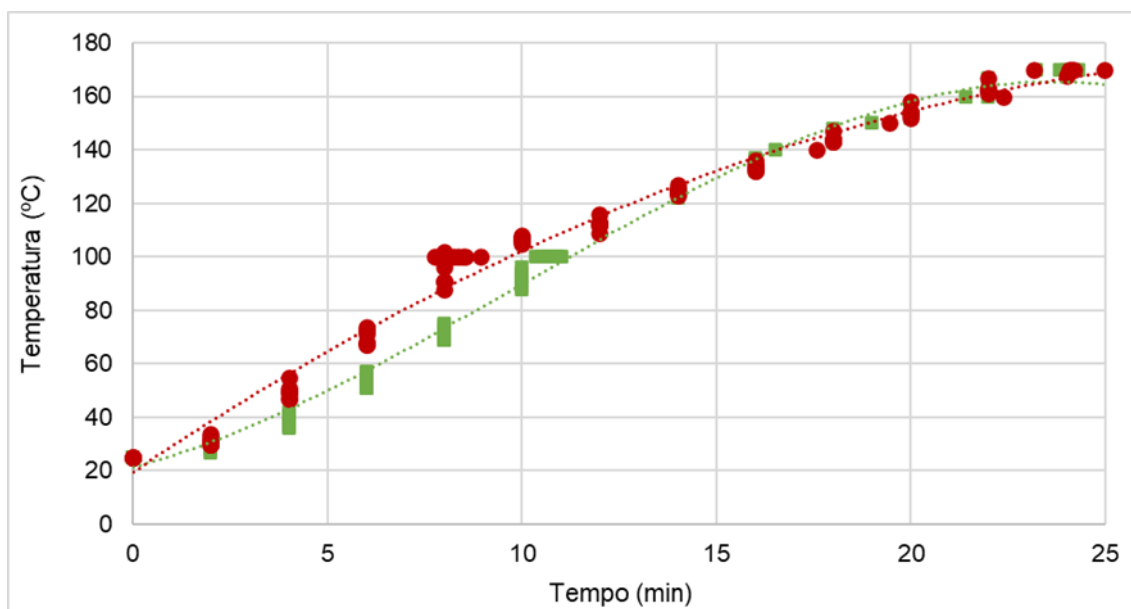


Figura 19 Perfil de aquecimento do tratamento por autohidrólise para *Miscanthus* e Faia. *Miscanthus* (●); Faia (▲).

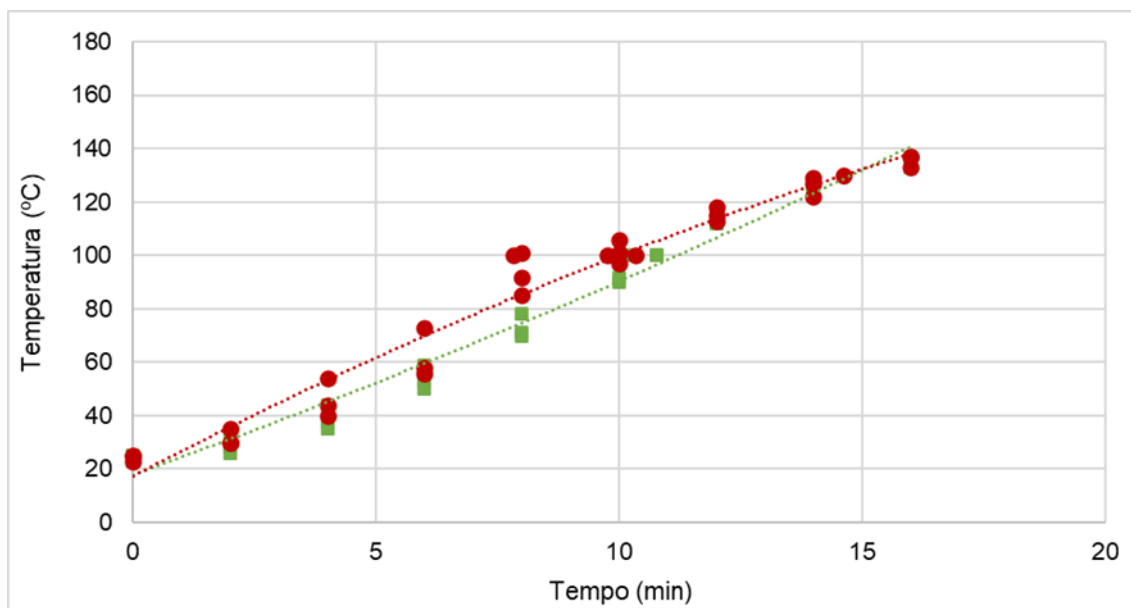


Figura 20 Perfil de aquecimento do tratamento por hidrólise ácida diluída para *Miscanthus* e Faia. *Miscanthus* (●); Faia (▲).

Pelas Figuras 19 e 20, regista-se um comportamento semelhante tanto para autohidrólise como para hidrólise ácida diluída, no entanto uma maior temperatura de aquecimento é observável, para o mesmo registo de tempo, no que diz respeito ao *Miscanthus*. Isto pode ser explicado devido ao *Miscanthus* ser tratado na forma de pellet, e a diferença observada pode dever-se ao tempo que o mesmo pellet demora até ser quebrado, e assim estando menos disperso, a solução acaba por aquecer mais depressa em relação ao tratamento com Faia, que é previamente moída.

4.3 Pré-tratamento de *Miscanthus* por hidrólise ácida diluída

A composição da fase líquida resultante da hidrólise ácida do *Miscanthus* em função do fator de severidade modificado (MCS, ver apêndice), está presente desde a Figura 21 à Figura 23. Na Figura 21, os monossacáridos, na Figura 22 os ácidos alifáticos e na Figura 23 encontram-se os produtos resultantes da degradação dos açúcares.

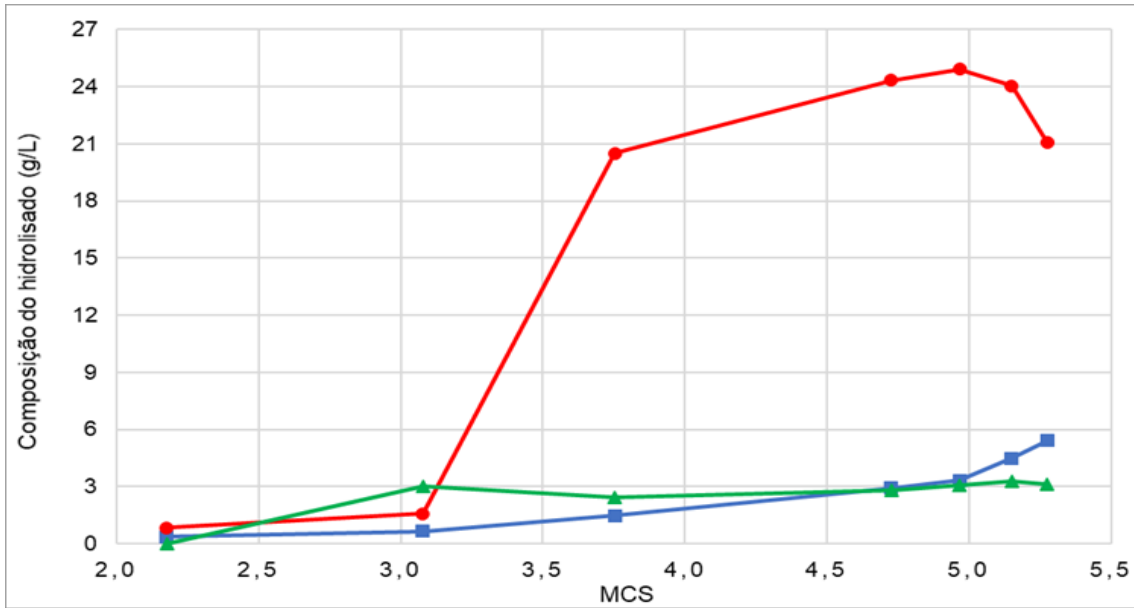


Figura 21 Composição do hidrolisado obtido por hidrólise ácida de *Miscanthus*. Glucose (■); Xilose (•); Arabinose (▲).

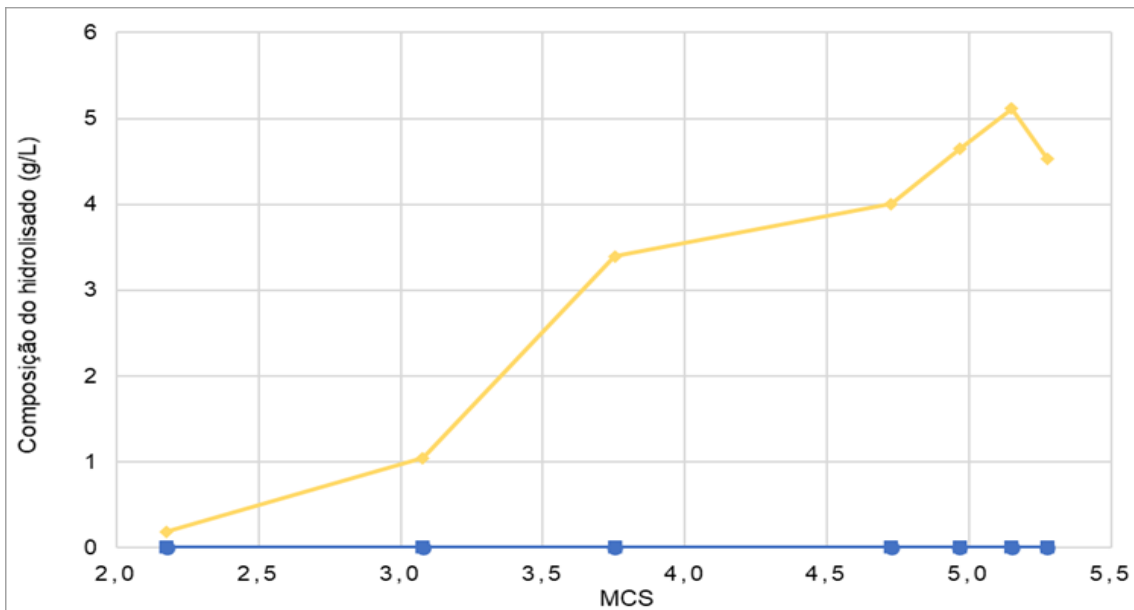


Figura 22 Composição do hidrolisado obtido por hidrólise ácida de *Miscanthus*. Ácido Acético (♦); Ácido fórmico (•); Ácido levulínico (■).

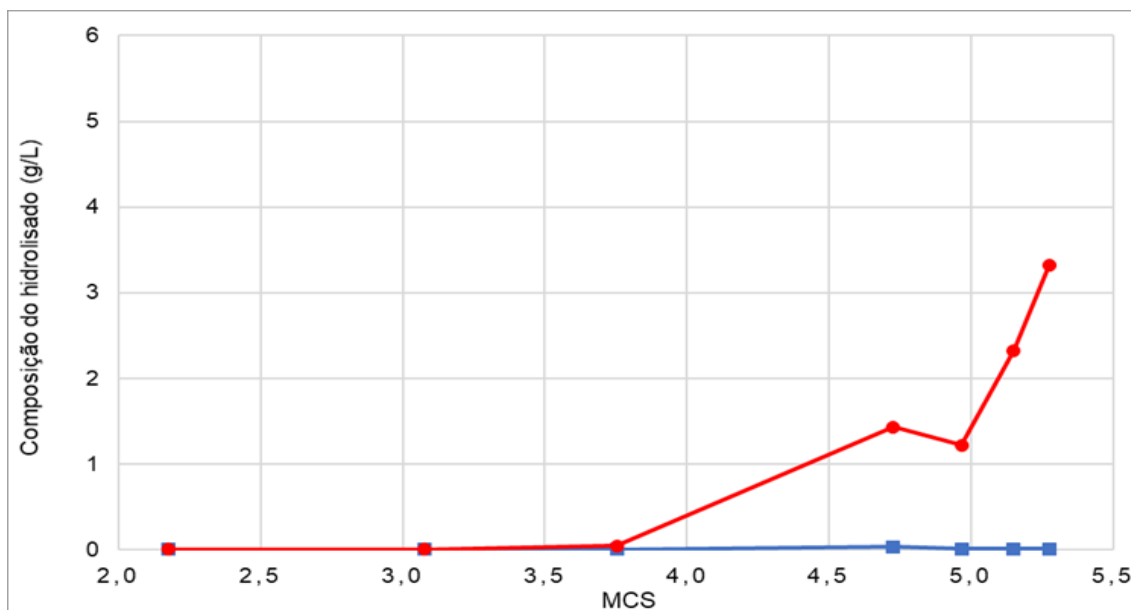


Figura 23 Composição do hidrolisado obtido por hidrólise ácida de *Miscanthus*. HMF (■); Furfural (●).

O hidrolisado resultante da separação da mistura originada no tratamento foi sujeito a uma caracterização por HPLC, de forma a quantificar os componentes presentes e assim determinar a condição mais rentável, tendo em conta as condições aplicadas em cada ensaio e o fator de severidade.

Realizando uma análise geral, pode-se constatar pelas três figuras que para todos estes compostos caracterizados, os valores de concentração mais elevados foram obtidos para os fatores de severidade mais altos. Apesar das concentrações atingirem valores máximos em condições mais severas, esse mesmo máximo não é necessariamente atingido quando de um fator de severidade máximo de 5,28. As exceções verificam-se para a arabinose e o ácido acético, que atingem a máxima concentração para uma severidade de 5,15, a xilose, que num fator de severidade de 4,97 atinge a concentração máxima e por fim o HMF para uma severidade de, 4,73.

Pela Figura 21, comprova-se que a xilose é o principal composto presente nos hidrolisados, sendo o monossacárido que apresenta um maior aumento na concentração. Esse aumento da concentração resulta da hidrólise de xilano da matéria-prima atingindo, para uma severidade 4,97, uma concentração de 24,93 g/L. Um estudo anterior realizado com cana de açúcar (114), apresenta uma maior composição ao nível da xilose mas ainda assim os valores estão bastante concordantes, não havendo grande discrepância.

A glucose é o segundo composto mais importante, mas encontra-se com concentrações semelhantes à arabinose. No entanto, a partir do fator de severidade de 4,97, a glucose atinge maiores valores de concentração, devido à recuperação que se

começa a verificar com o aumento de severidade, ao passo que quanto à arabinose passa-se precisamente o oposto devido a uma maior solubilização da mesma. Ao contrário do que acontece com a xilose, estes dois monossacáridos não sofrem, ainda assim, grandes variações na concentração com o aumento da severidade.

Na Figura 22, o aumento da concentração de ácido acético resulta da hidrólise dos grupos acetilo da matéria-prima atingindo, para uma severidade 5,15 uma concentração máxima de 5,11 g/L. De salientar que o tanto o ácido fórmico como o ácido levulínico não foram identificados, o que indica que não houve uma degradação extensiva dos açúcares nestes ácidos.

Na Figura 23, para condições de maior severidade, é observável um aumento da concentração em Furfural, o que está concordante com o decréscimo na concentração de xilose na Figura 21, isto é verificado, uma vez que a degradação da xilose leva a formação de furfural. Enquanto o aumento da concentração de ácido acético está relacionado com a hidrólise da hemicelulose da matéria-prima, o aumento de outros inibidores, como o furfural, indicam a existência de reações de degradação da xilose, uma vez que a desidratação desta, conduz à formação de furfural que por sua vez pode ser convertido em ácido fórmico. De uma forma semelhante, o mesmo acontece para a degradação das hexoses em HMF e este em ácido levulínico. Sendo que para estes compostos de degradação, a concentração é sempre baixa, tal poderá indicar que a glucose é pouco afetada pelas condições impostas no tratamento.

Os sólidos resultantes da hidrólise ácida foram quimicamente caracterizados, de modo a obter a sua composição e comparar as alterações químicas que ocorreram no tratamento. Os resultados obtidos, são mostrados na Figura 24, e de forma a monitorar a solubilização do tratamento, o rendimento em sólidos também está representado.

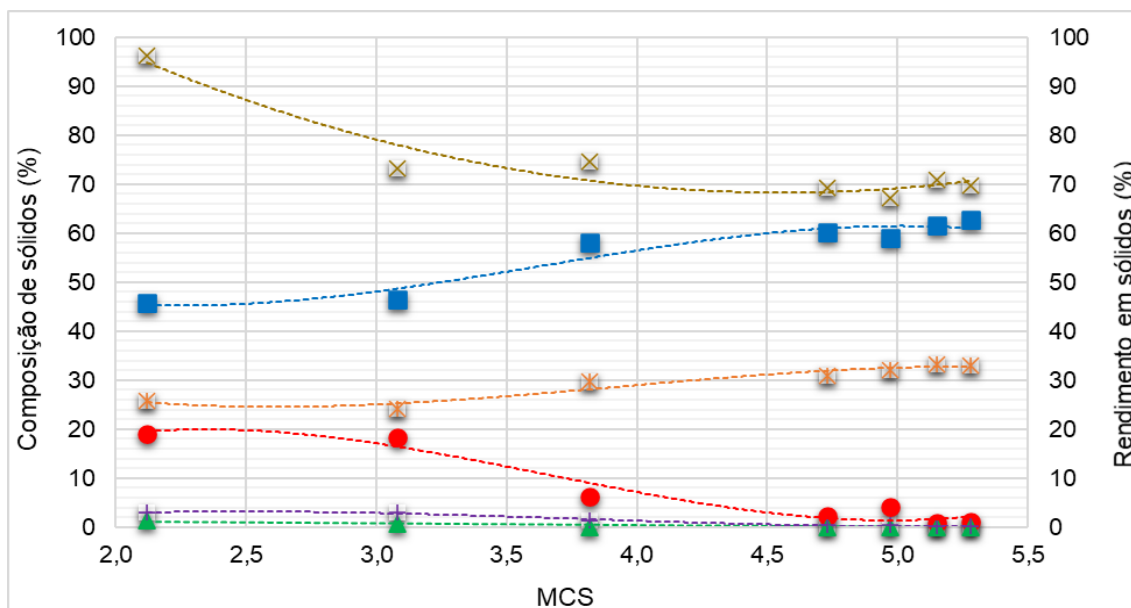


Figura 24 Composição estrutural da biomassa residual obtida após hidrólise ácida de Miscanthus. Glucano (■); Xilano (●); Arabinano (▲); Grupos Acetilo (+); Lenhina Klason (⋈); Rendimento em sólidos (×).

À medida que a severidade aumenta o rendimento em sólidos diminui. Desde o fator de severidade mais baixo existe uma redução de cerca de 30% do rendimento, de aproximadamente, 98% a 69%. Desde de um MCS= 2,12 até 4,73, tem-se uma redução gradual deste rendimento, e quando se alcança este valor, o rendimento permanece à volta dos 69%.

Nas condições mais suaves, a solubilização dos sólidos que ocorreu foi muito baixa, sendo o teor de polissacáridos e de lenhina semelhante ao da matéria-prima.

Dentro das hemiceluloses, o arabinano sendo o componente que existe em menor quantidade foi o primeiro a ser hidrolisado, sendo solubilizado na totalidade para uma condição de severidade de 3,82. Quanto à percentagem de xilano e dos grupos acetilo, observa-se uma diminuição com o aumento da severidade do tratamento e com isso um aumento da solubilização dos mesmos, atingindo praticamente 100% de solubilização para as condições de tratamento mais severas, MCS=5,28, o que corresponde a um teor destes componentes nos resíduos sólidos processados de 0,79% e 0,08%, respetivamente.

No caso do glucano, acontece precisamente o oposto do que acontece na hemicelulose. Em todos os ensaios, existe uma grande recuperação deste componente, indicando que a solubilização praticamente não ocorre. À medida que a severidade aumenta, é notório pela Figura 24 que a percentagem de glucano aumenta no sólido recuperado. Sendo que para uma condição menos severa tem-se um valor recuperado de 45,85%, e para uma das condições mais severas uma composição no sólido de

62,89%. Concluindo assim que a celulose não foi significativamente afetada pelo tratamento efetuado.

Em todos os ensaios realizados, houve algumas variações em relação à percentagem de lenhina *Klason* no resíduo sólido. No entanto comprova-se, para condições menos severas uma menor quantidade de lenhina, e para a condições mais severas uma maior composição no sólido recuperado. Assim, é possível afirmar que não existe um efeito significativo dos tratamentos hidrotérmicos, devido à baixa solubilização verificada deste componente.

Uma vez que a autohidrólise não afeta, a celulose nem a lenhina *Klason*, pode-se afirmar que este método não é o mais apropriado para a sua recuperação. Apesar disso, devido a estes compostos permanecerem praticamente intactos com o tratamento, é possível valorizá-los recorrendo a outro tratamento, como seja a hidrólise enzimática.

4.4 Pré-tratamento de *Miscanthus* por autohidrólise

A composição da fase líquida resultante da autohidrólise do *Miscanthus* em função do fator de severidade (MCS), está presente da Figura 25 à Figura 28.

Na Figura 25, apresenta-se o perfil oligossacáridos, na Figura 26, o perfil de monossacáridos, na Figura 27 os grupos acetilo presentes na hemicelulose e na Figura 28 encontram-se os furanos, principais produtos resultantes da degradação dos açúcares.

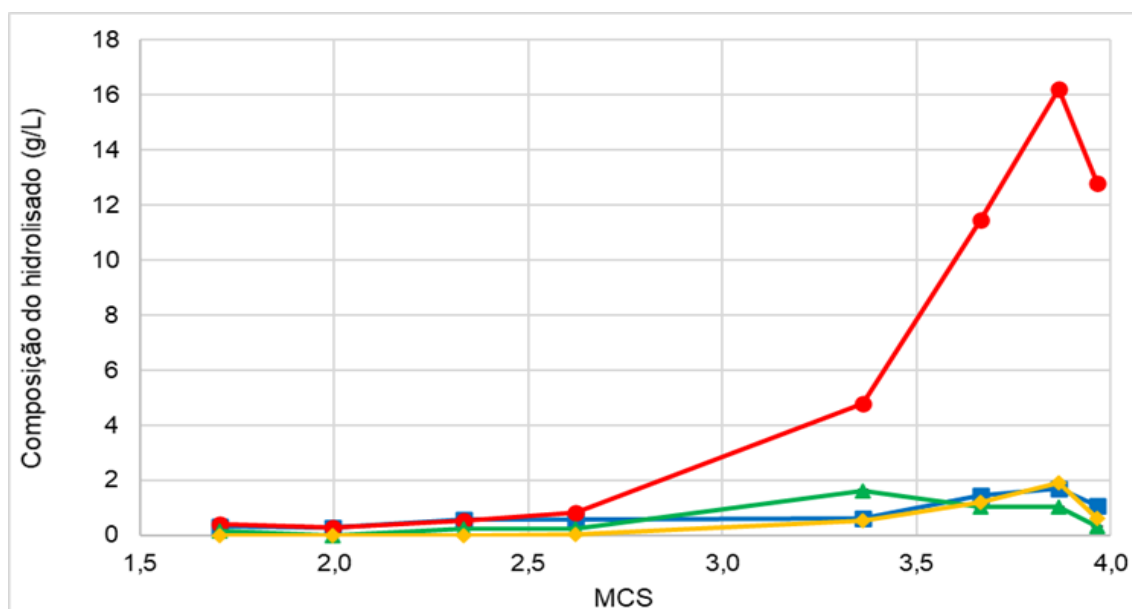


Figura 25 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise de *Miscanthus*. GOS (■); XOS (●); AOS (▲); AcOS (◆).

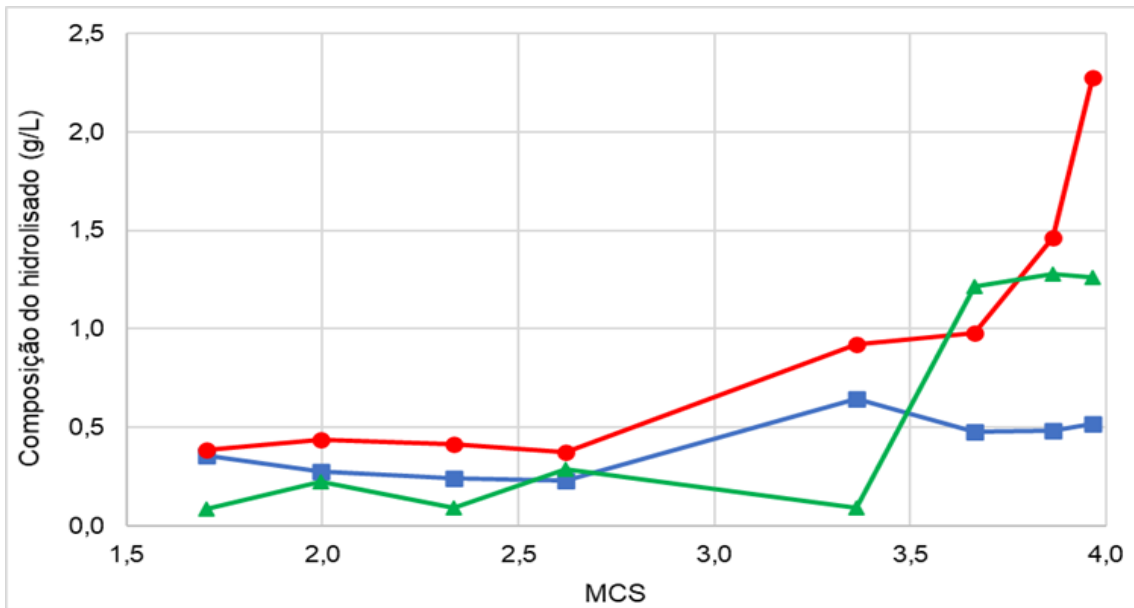


Figura 26 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise de *Miscanthus*. Glucose (■); Xilose (●); Arabinose (▲).

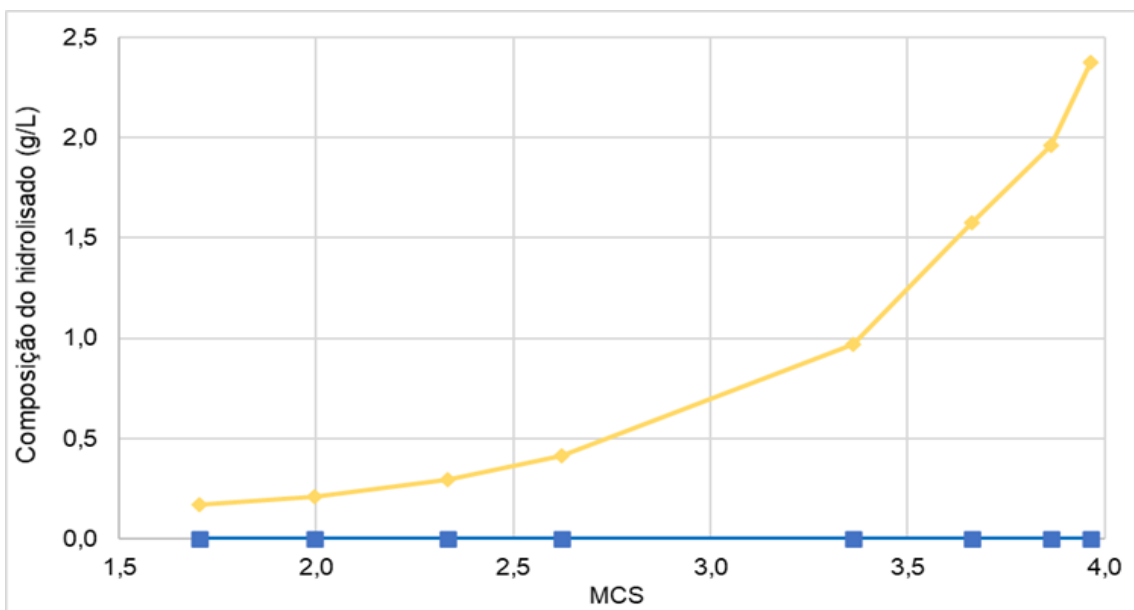


Figura 27 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise de *Miscanthus*. Ácido Acético (◆); Ácido fórmico (●); Ácido levulínico (■).

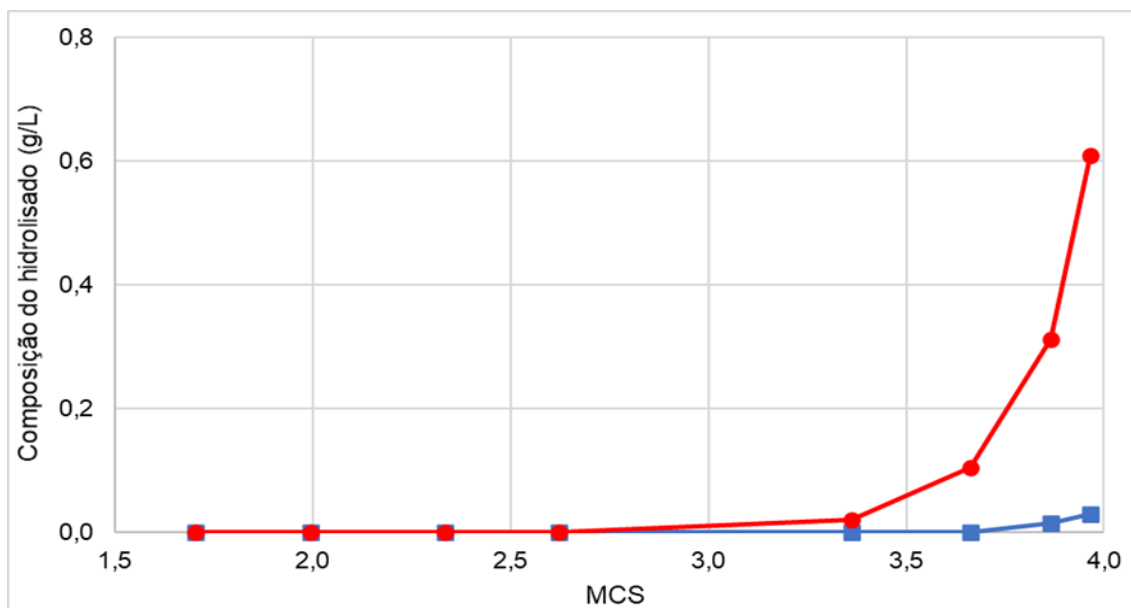


Figura 28 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise de *Miscanthus*. Furfural (•); HMF (■).

O hidrolisado resultante da separação da mistura originada no tratamento foi sujeito a uma caracterização por HPLC, de forma a quantificar os componentes presentes e assim determinar a condição mais rentável, tendo em conta as condições aplicadas em cada ensaio e o fator de severidade.

Realizando uma análise geral, pode-se constatar pelas quatro figuras que para todos estes compostos caracterizados, os valores de concentração mais elevados foram obtidos para os fatores de severidade mais altos. Apesar das concentrações atingirem valores máximos em condições mais severas, esse mesmo máximo não é necessariamente atingido aquando de um fator de severidade máximo de 3,98, como foi constatado também para o tratamento de hidrólise ácida diluída.

Ao hidrolisar o xilano, obtém-se oligossacáridos que contêm, xilose, arabinose e ácido acético, e no caso do glucano oligossacáridos que contêm glucose, no entanto com o aumento da severidade dos tratamentos, começa-se a observar uma degradação por parte dos oligossacáridos (Figura 25). Os valores estão concordantes, uma vez que a degradação do XOS, dará lugar ao aparecimento da xilose no hidrolisado, como se pode concluir pela Figura 26. Pode-se também verificar que a degradação do AcOS, dará lugar ao Ácido acético (Figura 27), que assim gera um aumento da sua concentração no hidrolisado. Estes valores de oligossacáridos encontram-se superiores, e bastante concordantes em relação a outro trabalho realizado com Dreche cervejeira (106).

Recorrendo à Figura 26, é possível notar um aumento na concentração total das pentoses monoméricas. Destes compostos, a xilose, foi a que teve uma maior

concentração no hidrolisado, 2,28 g/L sendo obtida aquando do máximo fator de severidade registado, 3,98. Quando a curva da xilose atinge o seu máximo, a concentração de produtos de degradação aumenta. Em relação ao componente derivado da degradação da xilose, o furfural, aumenta gradualmente a sua concentração com o aumento da severidade do tratamento, e atinge uma concentração máxima de 0,61 g/L para o tratamento mais severo (3,98), como se pode verificar pela Figura 28. As curvas de ambas as Figuras estão concordantes uma vez que, para valores mais severos há lugar para a degradação da xilose, que leva à formação de furfural.

A glucose é o segundo composto mais importante, mas encontra-se com concentrações menores em comparação à arabinose. Obtém-se para estas condições de tratamento e para um fator de severidade máximo, os valores de concentração de 0,52 e 1,26 g/L, para a glucose e arabinose, respetivamente. O que permite concluir que essas condições não são suficientes para se atingir uma boa recuperação de glucose. Ao contrário do que acontece com a xilose, estes dois monossacáridos não sofrem, grandes variações na concentração com o aumento da severidade. Em relação aos produtos de degradação derivados do glucano, verifica-se uma baixa formação, praticamente inexistente, de HMF, com um valor máximo de 0,03 g/L para a condição de tratamento mais severa.

A autohidrólise não necessita de catalisador para ser efetiva, uma vez que se complementa por si própria. Isto é possível devido a este tipo de tratamento originar componentes acídicos, derivados da degradação de grupos acetilo das hemiceluloses, como o ácido acético. Com o aumento da severidade é verificado um aumento da concentração destes compostos acídicos na Figura 27. Foi obtido um máximo de concentração de 2,38 g/L, para o valor mais alto de severidade, de 3,98. Como já foi referido em cima, tanto o ácido fórmico como o ácido levulínico não serão quantificados, no entanto ele está presente no hidrolisado.

Enquanto o aumento da concentração de ácido acético está relacionado com a hidrólise da hemicelulose da matéria-prima, o aumento de outros inibidores, como o furfural, indicam a existência de reações de degradação da xilose, uma vez que a desidratação desta, conduz à formação de furfural que por sua vez pode ser convertido em ácido fórmico. De uma forma semelhante, o mesmo acontece para a degradação das hexoses em HMF e este em ácido levulínico. Sendo que para estes compostos de degradação, a concentração é sempre baixa, tal poderá indicar que a glucose é pouco afetada pelas condições impostas no tratamento.

De acordo com (120), um estudo realizado com *Miscanthus*, pode-se verificar alguma concordância nos resultados, como seria de esperar. As pequenas diferenças

que se podem observar, explicam-se devido às condições impostas na reação e o volume do reator.

Comparando os dados obtidos nos gráficos acima, com um outro trabalho de autohidrólise realizado com palha de trigo (103), pode-se ver que neste estudo foram obtidas concentrações de hidrolisado relativamente superiores de um modo geral. Apesar da biomassa utilizada e as condições de reação serem diferentes, os valores não são nada discrepantes, o que seria de esperar devido às diferenças em ambos os tratamentos.

Os sólidos resultantes da autohidrólise foram quimicamente caracterizados, de modo a obter a sua composição e comparar as alterações químicas que ocorreram no tratamento. Os resultados obtidos, são mostrados na Figura 29, e de forma a monitorar a solubilização do tratamento, o rendimento em sólidos também está representado.

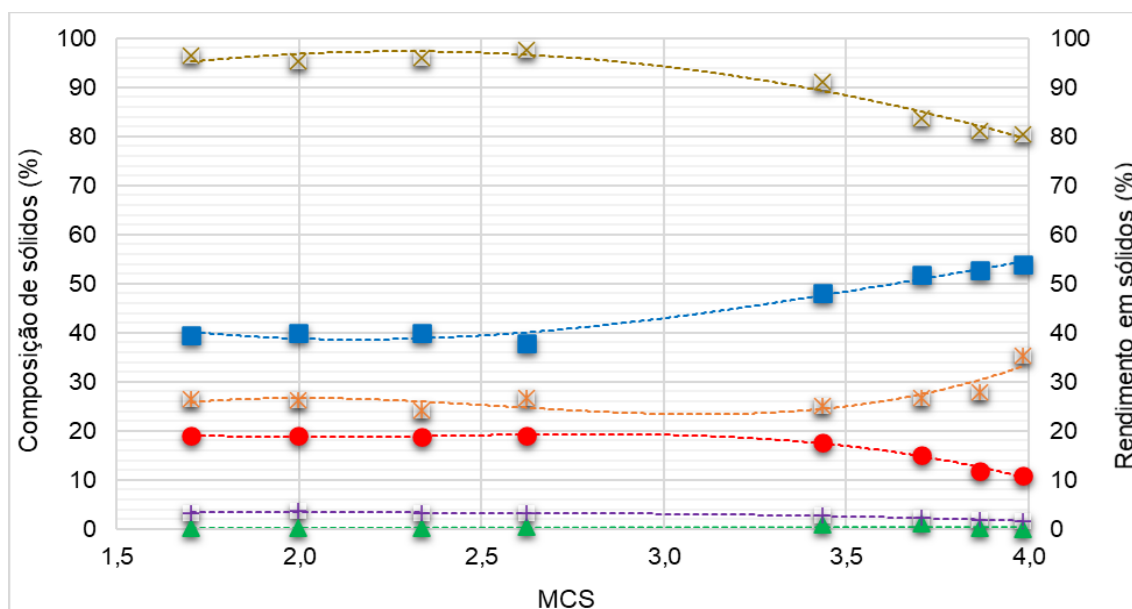


Figura 29 Composição estrutural da biomassa residual obtida após autohidrólise de Miscanthus. Glucano (■); Xilano (●); Arabinano (▲); Grupos Acetilo (+); Lenhina Klason (x); Rendimento em sólidos (x).

À medida que a severidade aumenta o rendimento em sólidos diminui. Desde o fator de severidade mais baixo existe uma redução mais ou menos gradual no rendimento até ser alcançado um valor de aproximadamente 80%, para o valor mais severo apresentado, 5,28.

Realizando uma análise à hemicelulose, observa-se que praticamente não foi possível quantificar a presença de arabinano residual no sólido, sendo este, o componente que existe em menor quantidade. Quanto à percentagem de xilano, verifica-se que os dados registados apresentam um resultado muito satisfatório, uma vez que a composição de xilano no sólido diminui com o aumento da severidade do

tratamento, como se verifica a partir do fator de severidade de 2,62. Nos grupos acetilo, observa-se uma diminuição, como seria de esperar com o aumento da severidade do tratamento e com isso um aumento da solubilização dos mesmos.

No caso do glucano, os dados encontram-se concordantes com o esperado também. É de notar que acontece precisamente o oposto do que acontece na hemicelulose, se se restringir o gráfico, por exemplo, a partir da severidade de 3,43 conclui-se que não existe remoção, apenas uma acumulação de glucano. Em todos os ensaios, existe uma grande recuperação deste componente, indicando que a solubilização praticamente não ocorre. Concluindo assim que a celulose não foi significativamente afetada pelo tratamento efetuado.

Como já foi referido em cima, o glucano tende a acumular, e o mesmo comportamento seria de esperar em relação percentagem de lenhina *Klason*, como é verificado pela Figura 29, uma vez que esta segue o mesmo comportamento do glucano, com tendência para se acumular no resíduo sólido.

4.5 Pré-tratamento de Faia por hidrólise ácida diluída

A composição da fase líquida resultante da hidrólise ácida da Faia em função do fator de severidade (MCS), está presente nas figuras seguintes.

O hidrolisado resultante da separação da mistura originada no tratamento foi sujeito a uma caracterização por HPLC, de forma a quantificar os componentes presentes e assim determinar a condição mais rentável, tendo em conta as condições aplicadas em cada ensaio e o fator de severidade.

Nas Figuras 30 a 32, apresentam-se os monossacáridos, ácido acético e produtos resultantes da degradação dos açúcares (furanos).

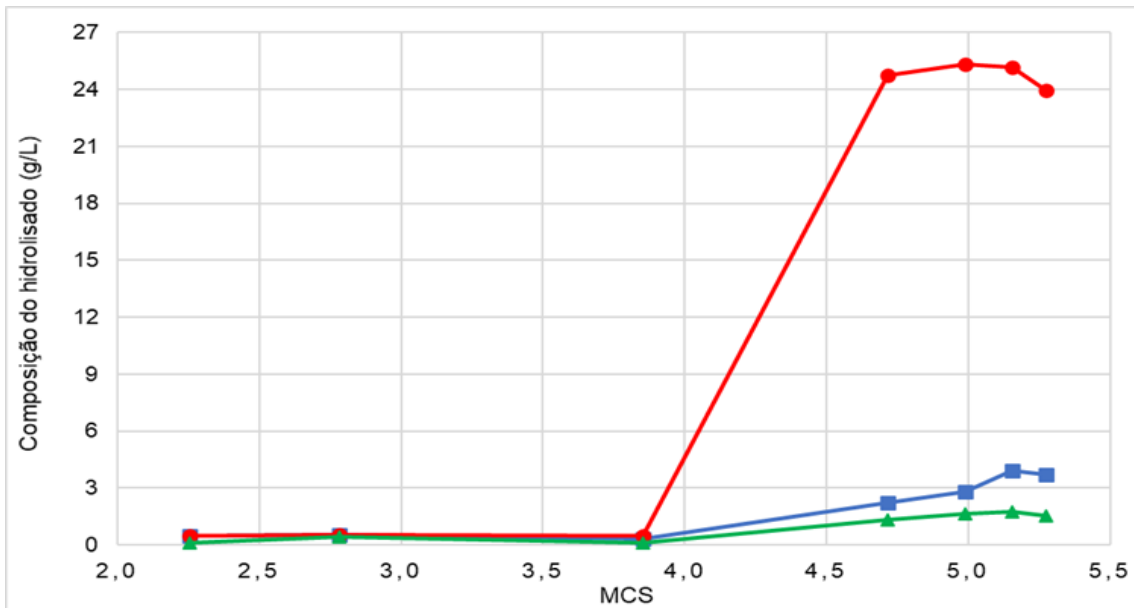


Figura 30 Composição do hidrolisado obtido por hidrólise ácida da Faia. Glucose (■); Xilose (●); Arabinose (▲).

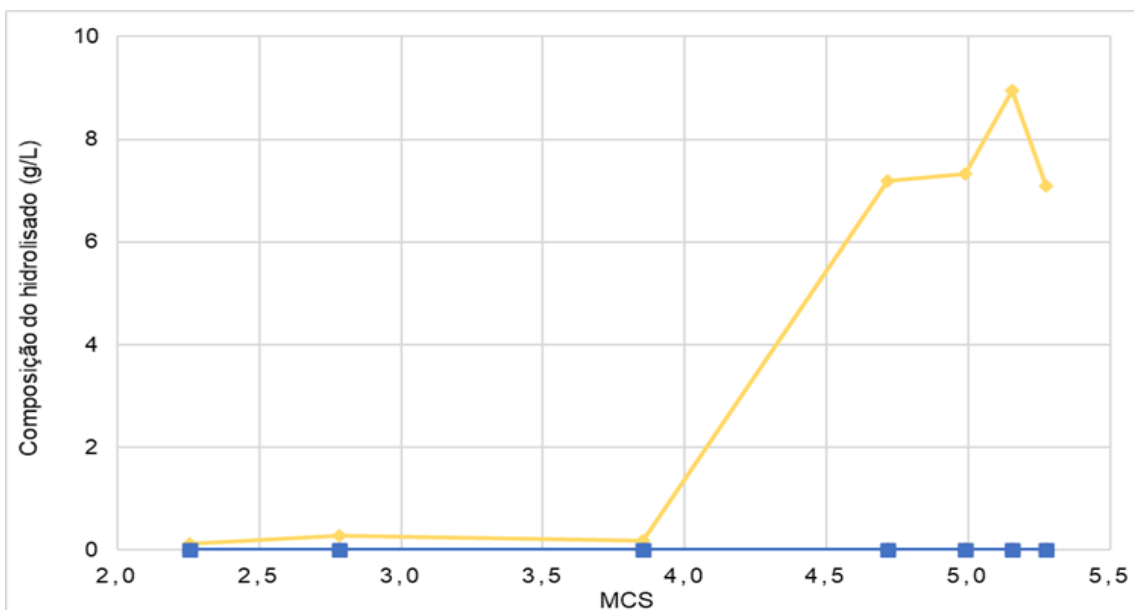


Figura 31 Composição do hidrolisado obtido por hidrólise ácida da Faia. Ácido Acético (◆); Ácido Levulínico (■); Ácido Fórmico (●).

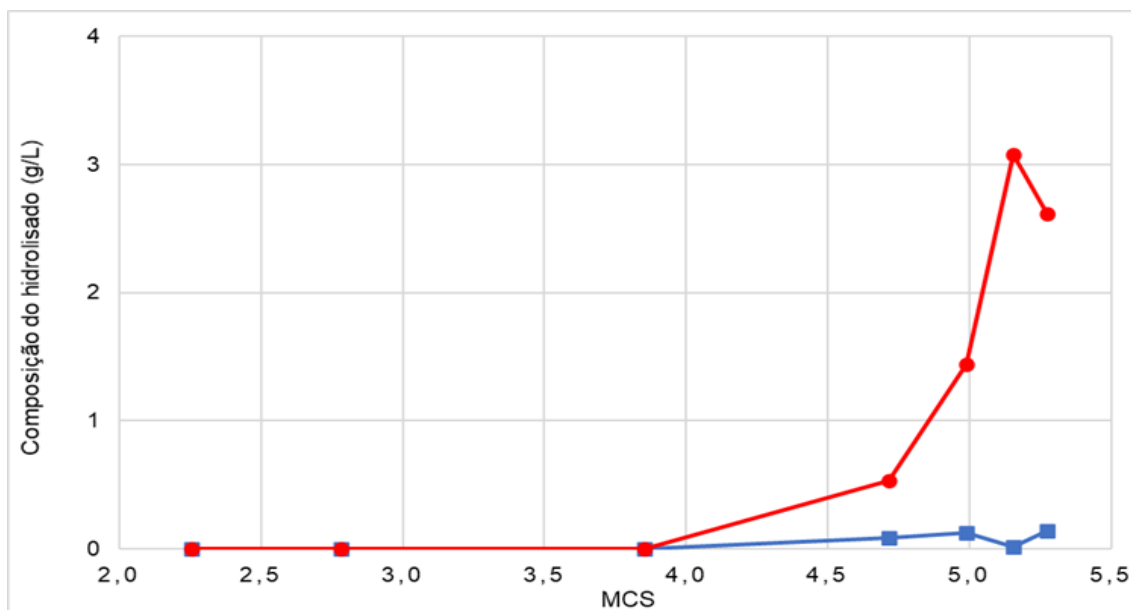


Figura 32 Composição do hidrolisado obtido por hidrólise ácida da Faia. Furfural (●); HMF (■).

Pela análise da Figura 30, pode-se desde já comprovar um comportamento muito semelhante, ao nível das composições dos açúcares, com a Figura 31. No entanto apenas se começou a registar composições significativas a partir de uma severidade de 3,85. Observar-se que para a maioria dos açúcares e dos compostos inibidores, os valores de concentração mais elevados foram obtidos para os fatores de severidade mais altos. Apesar do valor de concentração destes açúcares e compostos inibidores atingir o seu máximo, nestas condições mais severas, esse mesmo máximo de concentração dos compostos não é necessariamente atingido aquando de um fator de severidade máximo de 5,28. A arabinose, o ácido acético, a glucose e o furfural atingem a máxima concentração para uma severidade de 5,16, já a xilose e o HMF atingem a concentração máxima num MCS=4,99.

A xilose é o principal composto presente nos hidrolisados para a maioria dos ensaios, sendo o monossacárido que apresenta um maior aumento na concentração. Esse aumento da concentração resulta da hidrólise de xilano da matéria-prima atingindo, para uma severidade 4,99, uma concentração de 25,31 g/L.

A glucose é o segundo composto mais importante, mas encontra-se com concentrações semelhantes à arabinose. No entanto, a partir do fator de severidade com valor de 4,99, a glucose atinge maiores valores de concentração, devido à recuperação que se começa a verificar com o aumento de severidade, ao passo que quanto à arabinose passa-se precisamente o oposto devido a uma maior solubilização da mesma. Ao contrário do que acontece com a xilose, estes dois monossacáridos não sofrem, ainda assim, grandes variações na concentração com o aumento da severidade.

A partir de uma condição mais severa (4,97), é observável um pequeno decréscimo na concentração de xilose, e conseqüentemente uma maior concentração de furfural, isto é verificado, uma vez que a degradação da xilose leva a formação de furfural. O aumento da concentração de ácido acético resulta da hidrólise dos grupos acetilo da matéria-prima atingindo, para uma severidade 5,16 uma concentração máxima de 8,94 g/L. Enquanto o aumento da concentração de ácido acético está relacionado com a hidrólise da hemicelulose da matéria-prima, o aumento de outros inibidores, como o furfural, indicam a existência de reações de degradação da xilose, uma vez que a desidratação desta, conduz à formação de furfural que por sua vez pode ser convertido em ácido fórmico. De forma semelhante, o mesmo acontece para a degradação das hexoses em HMF e este em ácido levulínico. Sendo que para estes compostos de degradação, a concentração é sempre baixa, tal poderá indicar que a glucose é pouco afetada pelas condições impostas no tratamento.

Os sólidos resultantes da hidrólise ácida foram quimicamente caracterizados, de modo a obter a sua composição e comparar as alterações químicas que ocorreram no tratamento. Os resultados obtidos, são mostrados na Figura 33, e de forma a monitorar a solubilização do tratamento, o rendimento em sólidos também está representado.

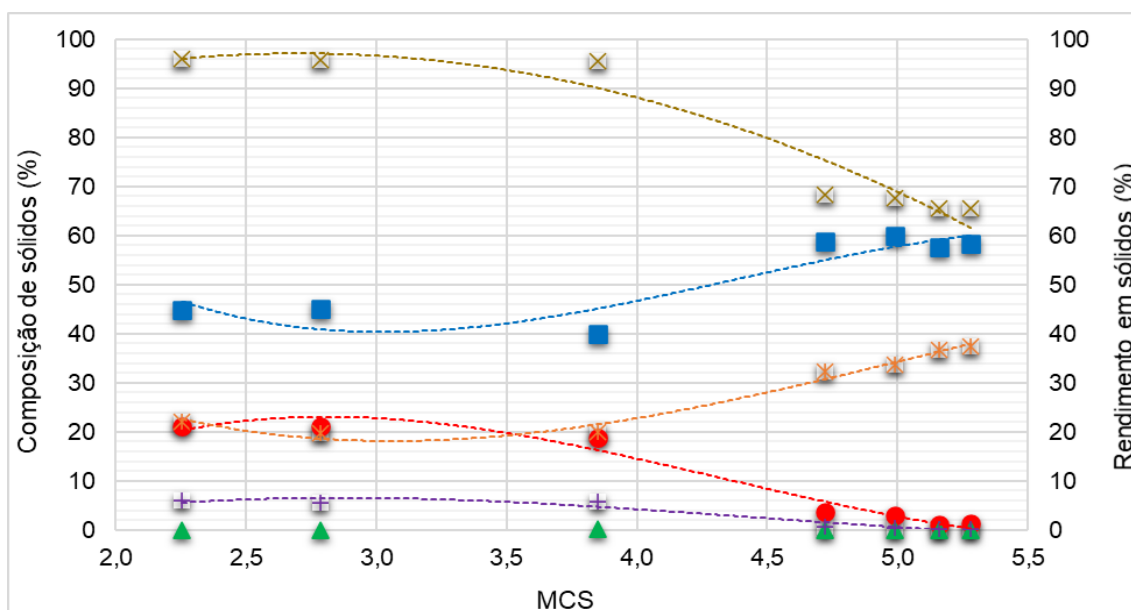


Figura 33 Composição estrutural da biomassa residual obtida após hidrólise ácida de Faia. Glucano (■); Xilano (●); Arabinano (▲); Grupos Acetilo (+); Lenhina Klason (×); Rendimento em sólidos (×).

À medida que a severidade aumenta o rendimento em sólidos diminui, como já foi visto para os pré-tratamentos anteriores. Aqui, tem-se um comportamento um pouco diferente uma vez que nos valores menos severos o rendimento se mantém constante,

na ordem dos 98%. Até ao momento que diminui e se fixa num rendimento que anda à volta de 68%, desde a severidade de 4,73.

Nas condições mais suaves, a solubilização dos sólidos que ocorreu foi muito baixa, sendo o teor de polissacáridos e de lenhina semelhante ao da matéria-prima, como se vê no **Quadro 5**.

Dentro das hemiceluloses, não foi possível quantificar a presença de arabinano residual no sólido sendo este, o componente que existe em menor quantidade. Quanto à percentagem de xilano e dos grupos acetilo, observa-se uma diminuição com o aumento da severidade do tratamento e com isso um aumento da solubilização dos mesmos, atingindo praticamente 100% de solubilização para as condições de tratamento mais severas, o que corresponde a um teor mínimo destes componentes nos resíduos sólidos processados de 1,03% e 0,12%, respetivamente.

No caso do glucano, acontece precisamente o oposto do que acontece na hemicelulose. Em todos os ensaios, existe uma grande recuperação deste componente, indicando que a solubilização praticamente não ocorre. À medida que a severidade aumenta, é notório pela Figura 33 que a percentagem de glucano aumenta no sólido recuperado. Sendo que para uma condição menos severa tem-se um valor recuperado de 44,74%, e para uma das condições mais severas uma composição no sólido de 58,34%. Concluindo assim que a celulose não foi significativamente afetada pelo tratamento efetuado.

Em todos os ensaios realizados, houve algumas variações em relação à percentagem de lenhina *Klason* no resíduo sólido. No entanto, para condições menos severas tem-se uma menor quantidade de lenhina, e para as condições mais severas tem-se uma maior composição no sólido recuperado. Assim, é possível afirmar que não existe um efeito significativo dos tratamentos hidrotérmicos, devido à baixa solubilização verificada deste componente.

4.6 Pré-tratamento de Faia por autohidrólise

A composição da fase líquida resultante da autohidrólise do *Miscanthus* em função do fator de severidade (MCS), está presente da Figura 34 à Figura 37. A Figura 34, apresenta o perfil de oligossacáridos, na Figura 35, apresenta-se o perfil de monossacáridos, na Figura 36 os ácidos alifáticos e finalmente na Figura 37 apresentam-se os furanos.

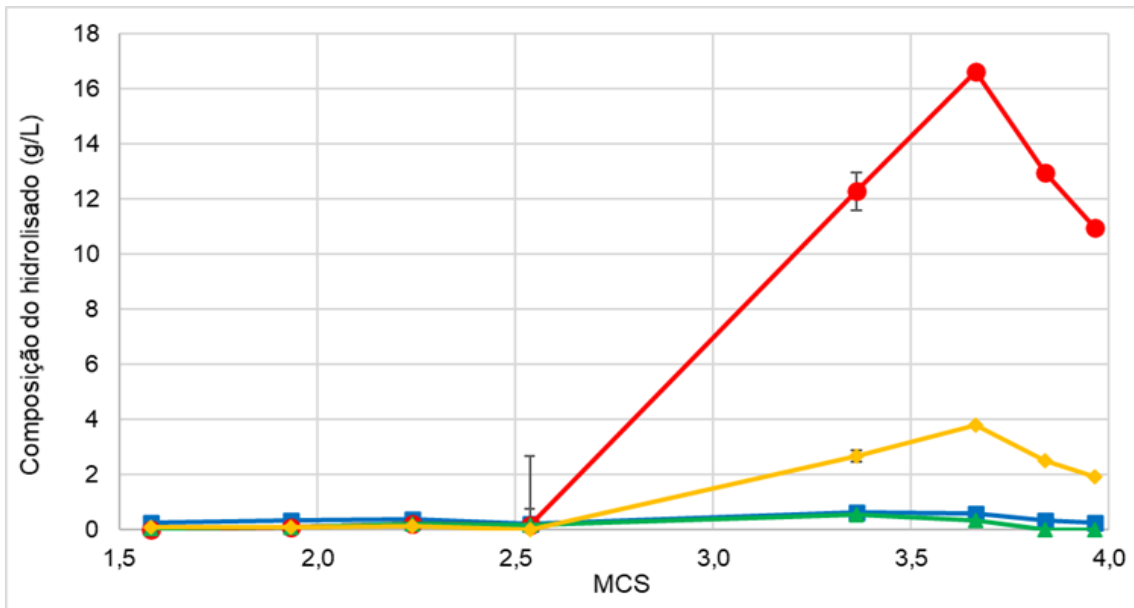


Figura 34 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise de Faia. GOS (■); XOS (♦); AOS (▲); AcOS (◆).

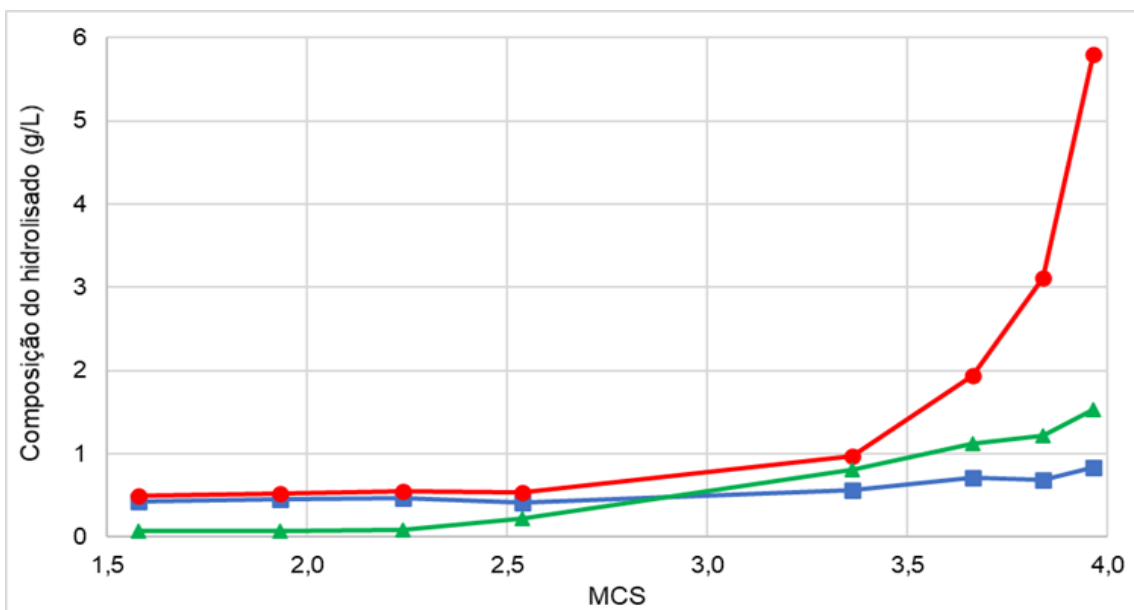


Figura 35 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise de Faia. Glucose (■); Xilose (♦); Arabinose (▲).

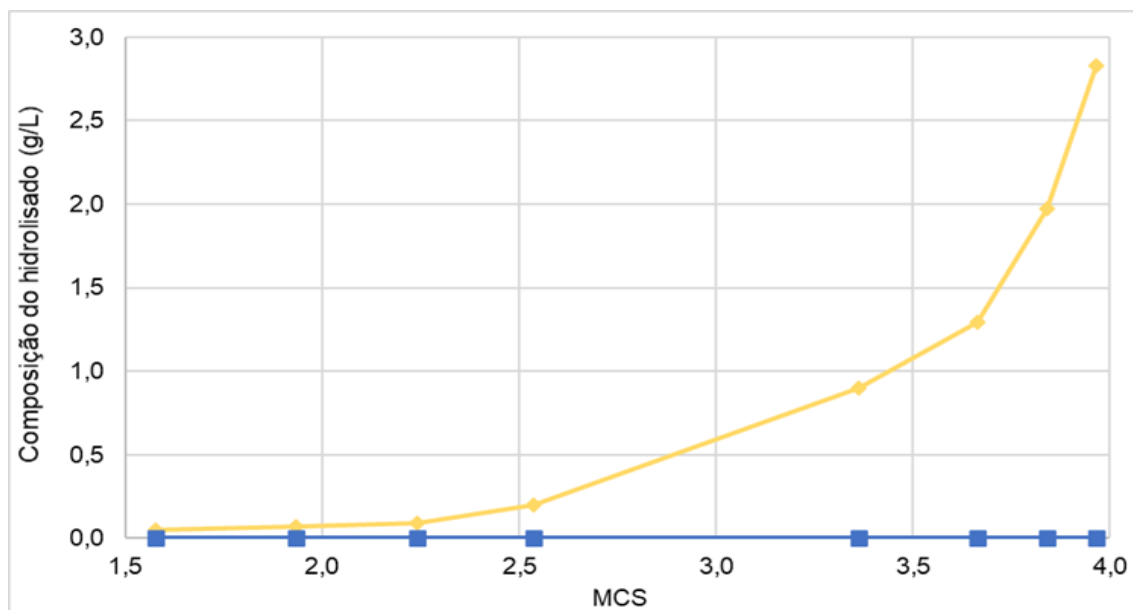


Figura 36 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise da Faia. Ácido Acético (♦); Ácido fórmico (●); Ácido levulínico (■).

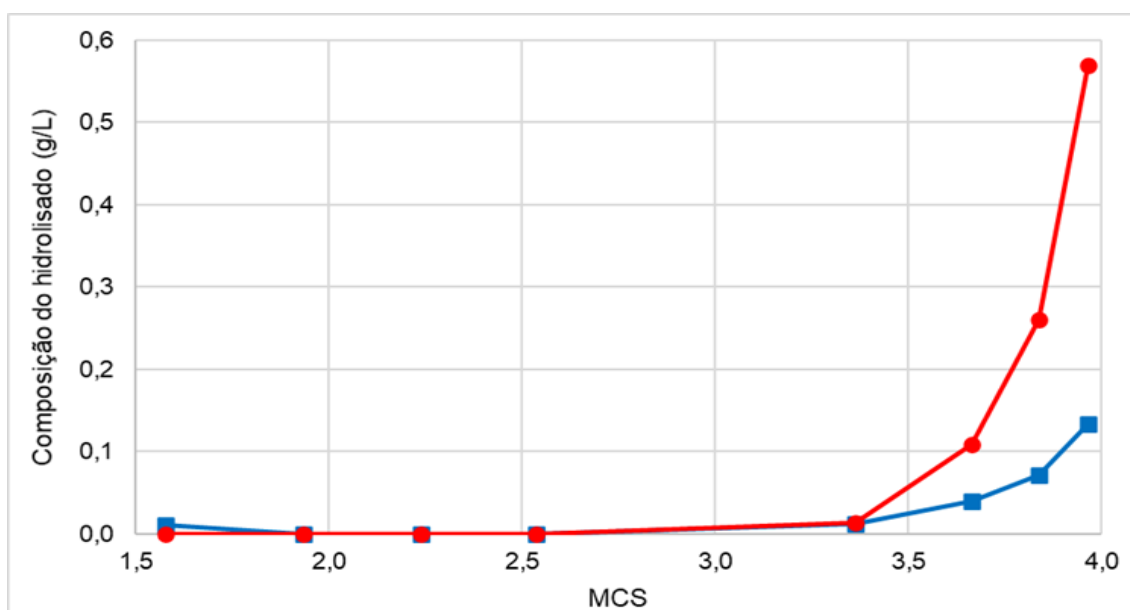


Figura 37 Composição do hidrolisado obtido por autohidrólise da Faia. Furfural (●); HMF (■).

O hidrolisado resultante da separação da mistura originada no tratamento foi sujeito a uma caracterização por HPLC, de forma a quantificar os componentes presentes, principalmente os oligossacáridos, e assim determinar a condição mais rentável, tendo em conta as condições aplicadas em cada ensaio e o fator de severidade.

Realizando uma análise geral, pode-se constatar pelas quatro figuras que para todos estes compostos caracterizados, os valores de concentração mais elevados foram

obtidos para os fatores de severidade mais altos. Apesar das concentrações atingirem valores máximos em condições mais severas, esse mesmo máximo não é necessariamente atingido aquando de um fator de severidade máximo de 3,98, como foi constatado também para o tratamento de hidrólise ácida diluída.

Ao hidrolisar o xilano, obtém-se oligossacáridos que contêm, xilose, arabinose e ácido acético, e no caso do glucano oligossacáridos que contêm glucose, no entanto com o aumento da severidade dos tratamentos, começa-se a observar uma degradação por parte dos oligossacáridos, como se pode verificar pela Figura 34. Os valores estão concordantes, uma vez que a degradação do XOS, dará lugar ao aparecimento da xilose no hidrolisado, como se conclui pela Figura 35. Pode-se também verificar que a degradação do AcOS, dará lugar ao Ácido acético (Figura 36), dados existir um aumento da sua concentração no hidrolisado.

Recorrendo à Figura 35, é possível notar um aumento na concentração total das pentoses monoméricas. Destes compostos, a xilose, foi a que teve uma maior concentração no hidrolisado, 5,79 g/L sendo obtida aquando do máximo fator de severidade registado, 3,96. Quando a curva da xilose atinge o seu máximo, a concentração de produtos de degradação aumenta. Em relação ao componente derivado da degradação da xilose, o furfural, aumenta gradualmente a sua concentração com o aumento da severidade do tratamento, e atinge uma concentração máxima de 0,57 g/L para o tratamento mais severo (3,96), como se verifica pela Figura 37. As curvas de ambas as Figuras estão concordantes uma vez que, para valores mais severos há lugar para a degradação da xilose, que leva à formação de furfural.

A glucose é o segundo composto mais importante, mas encontra-se com concentrações menores em comparação à arabinose. Obtém-se para estas condições de tratamento e para um fator de severidade máximo, os valores de concentração de 0,84 e 1,53 g/L, para a glucose e arabinose, respetivamente. O que permite concluir que essas condições não são suficientes para se atingir uma boa recuperação de glucose. Ao contrário do que acontece com a xilose, estes dois monossacáridos não sofrem, grandes variações na concentração com o aumento da severidade. Em relação aos produtos de degradação derivados do glucano, verifica-se uma baixa formação, praticamente inexistente, de HMF, com um valor máximo de 0,13 g/L para a condição de tratamento mais severa. Pode-se comprovar que os resultados obtidos para a Glucose e Xilose, se encontram concordantes com um outro trabalho realizado com Faia (125), apesar de algo superiores, mas a diferença pode ser justificada pelo método e pelas diferentes condições aplicadas.

A autohidrólise não necessita de catalisador para ser efetivo, uma vez que se complementa por si própria. Isto é possível devido a este tipo de tratamento originar

componentes acídicos, derivados da degradação de grupos acetilo das hemiceluloses, como o ácido acético. Com o aumento da severidade é verificado um aumento da concentração destes compostos acídicos na Figura 36. Foi obtido um máximo de concentração de 2,83 g/L, para o valor mais alto de severidade, de 3,96.

Enquanto o aumento da concentração de ácido acético está relacionado com a hidrólise da hemicelulose da matéria-prima, o aumento de outros inibidores, como o furfural, indicam a existência de reações de degradação da xilose, uma vez que a desidratação desta, conduz à formação de furfural que por sua vez pode ser convertido em ácido fórmico. De uma forma semelhante, o mesmo acontece para a degradação das hexoses em HMF e este em ácido levulínico. Sendo que para estes compostos de degradação, a concentração é sempre baixa, tal poderá indicar que a glucose é pouco afetada pelas condições impostas no tratamento. Quando se atinge uma certa severidade nos tratamentos, consegue-se por sua vez a deformação dos compostos que originam assim estes derivados que conseguem inibir e tornar o processo mais acídico.

Os sólidos resultantes da autohidrólise foram quimicamente caracterizados, de modo a obter a sua composição e comparar as alterações químicas que ocorreram no tratamento. Os resultados obtidos, são mostrados na Figura 38, e de forma a monitorar a solubilização do tratamento, o rendimento em sólidos também está representado.

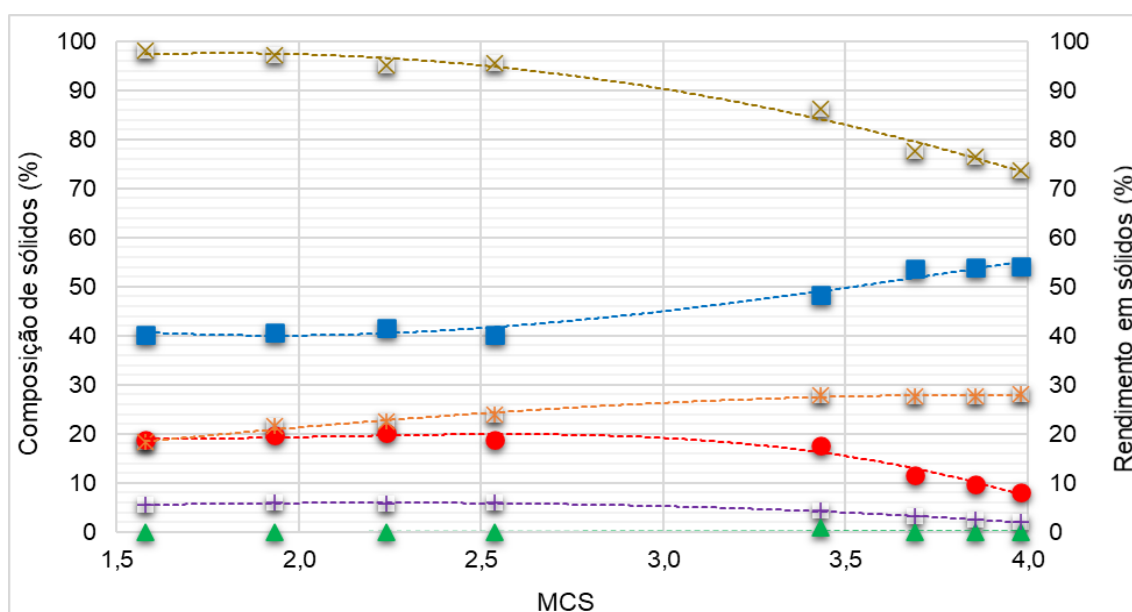


Figura 38 Composição estrutural da biomassa residual obtida após autohidrólise de Faia. Glucano (■); Xilano (●); Arabinano (▲); Grupos Acetilo (+); Lenhina Klason (x); Rendimento em sólidos (x).

À medida que a severidade aumenta o rendimento em sólidos diminui. Desde o fator de severidade mais baixo, até ao valor mais severo que existe uma redução

gradual no rendimento. De registrar que todos os pré-tratamentos, este é o que apresenta um valor mínimo de rendimento mais alto, de aproximadamente 74%.

Da Figura 38, verifica-se que dentro da hemicelulose, praticamente não foi possível quantificar a presença de arabinano residual no sólido sendo este, o componente que existe em menor quantidade. Quanto à percentagem de xilano e dos grupos acetilo, observa-se uma diminuição com o aumento da severidade do tratamento e com isso um aumento da solubilização dos mesmos.

No caso do glucano, acontece precisamente o oposto do que acontece na hemicelulose, onde não existe remoção uma vez que este tende a acumular. Em todos os ensaios, existe uma grande recuperação deste componente, indicando que a solubilização praticamente não ocorre. À medida que a severidade aumenta, é notório pela Figura 38 que a percentagem de glucano aumenta no sólido recuperado. Sendo que para uma condição menos severa tem-se um valor recuperado de 40,22%, e para uma das condições mais severas tem-se uma composição no sólido de 54,73%. Concluindo assim que a celulose não foi significativamente afetada pelo tratamento efetuado.

Em todos os ensaios realizados, houve uma variação crescente em relação à percentagem de lenhina *Klason*, uma vez que esta segue o mesmo comportamento do glucano, com tendência para se acumular no resíduo sólido. Assim tem-se que, para condições menos severas, menor quantidade de lenhina, e para condições mais severas um maior conteúdo de lenhina no sólido recuperado.

4.7 Comparação das digestibilidades enzimáticas entre os diversos pré-tratamentos ensaiados

Como já foi referido anteriormente, a celulose, não foi efetivamente afetada pelos tratamentos já realizados, então foi necessário recorrer a uma hidrólise enzimática. Com todos os tratamentos que antecedem a hidrólise enzimática realizados, foi possível uma boa recuperação e solubilização de compostos hemicelulósicos e os seus derivados.

O efeito de diferentes pré-tratamentos na digestibilidade da celulose foi então avaliado pelo método de hidrólise enzimática da fração sólida remanescente. Este procedimento leva à produção de hidrolisados ricos em glucose, que pode ser usado em vários processos, com o mais comum a ser a produção de etanol (126).

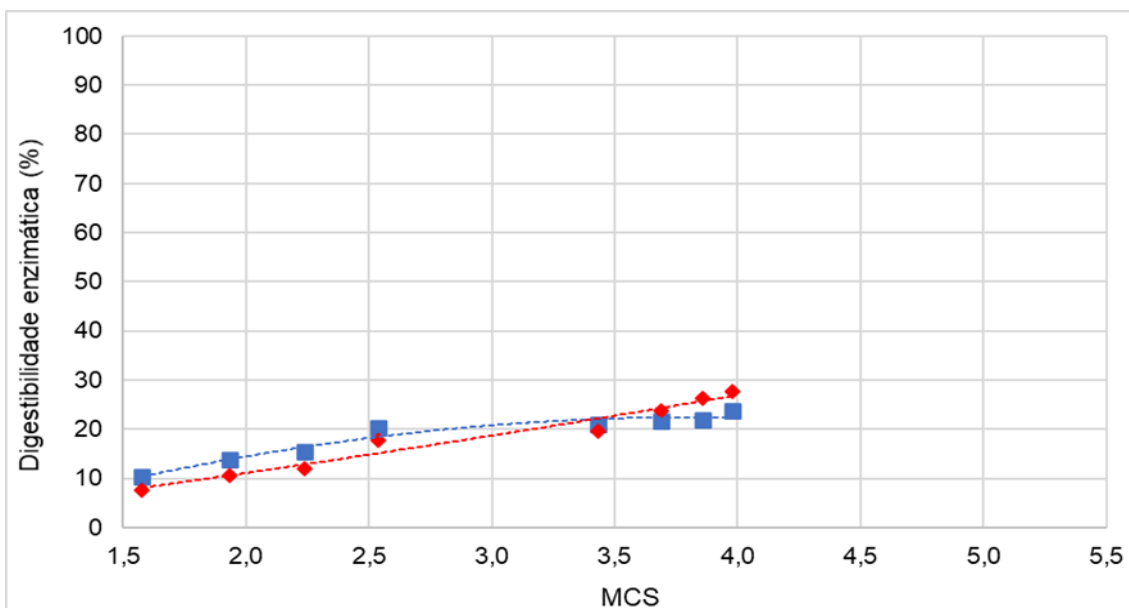


Figura 39 Digestibilidade enzimática da Faia tratada por Autohidrólise. Glucano (■); Xilano (●).

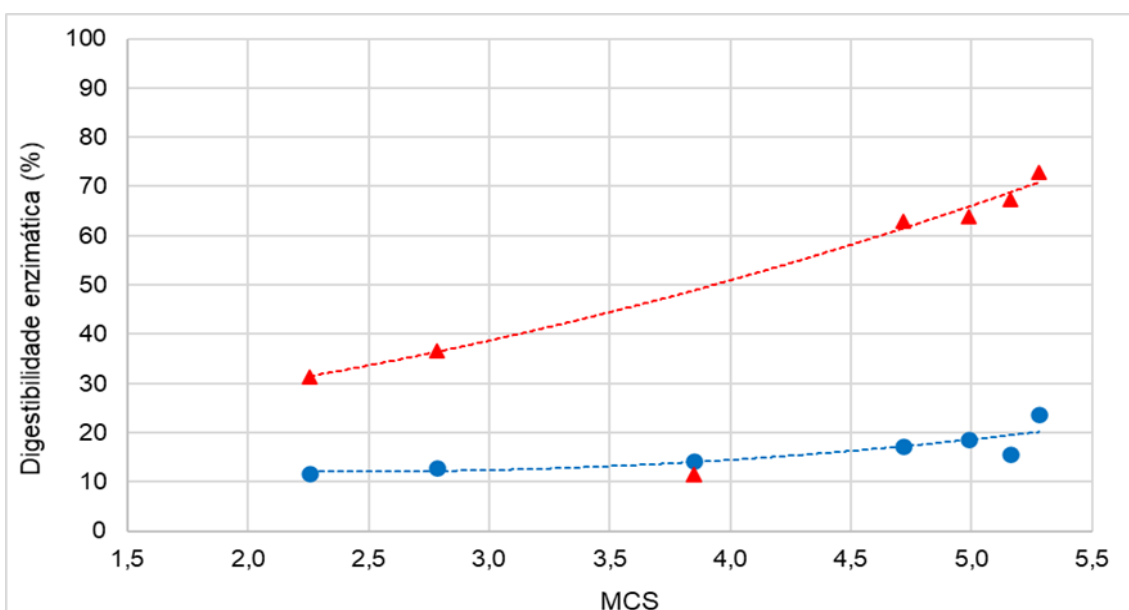


Figura 40 Digestibilidade enzimática da Faia tratada por Hidrólise ácida diluída. Glucano (■); Xilano (●).

Na Figura 39, tem-se representado a digestibilidade enzimática obtida no sólido pré-tratado por autohidrólise e na Figura 40 os valores de digestibilidade enzimática obtida no sólido pré-tratado por hidrólise ácida.

De um modo geral, é possível notar que a digestibilidade enzimática do xilano foi muito superior para o pré-tratamento com hidrólise ácida, uma vez que para o caso do glucano os valores são bastante semelhantes para ambos os tratamentos, apresentando uma variação na digestibilidade de 10% a 24%, aproximadamente. A digestibilidade enzimática da hidrólise ácida para o glucano causa alguma surpresa por

não haver uma grande variação nos resultados, sendo que se esperaria uma digestibilidade muito superior à observada.

A digestibilidade enzimática do glucano varia de 10,29% (MCS=1,58) a 23,44% (MCS=3,98), para autohidrólise e varia de 11,68% (MCS=2,25) a 23,66% (MCS=5,28) na hidrólise ácida. Já a digestibilidade enzimática do xilano varia de 7,67% (MCS=1,58) a 27,77% (MCS=3,69), para autohidrólise e varia de 31,32% (MCS=2,25) a 72,83% (MCS=5,28) na hidrólise ácida.

Apesar das altas concentrações de derivados da hemicelulose terem sido obtidos nos tratamentos, é possível observar no gráfico apresentado na Figura 40, que pela hidrólise enzimática também é possível remover uma grande quantidade de xilose, uma vez que o tratamento foi mais severo. Pode-se notar ainda por esta figura que, para uma severidade de 3,85, a digestibilidade enzimática apresenta um valor que não seria expectável, no que toca ao xilano. Este valor podia ter sido rejeitado, no entanto a sua presença no gráfico indica que nem tudo corre como esperado durante um tratamento experimental, ocorrendo erros.

Para ambas as curvas apresentadas, nota-se que o valor de digestibilidade mais alto se aplica a um fator de severidade máximo, tornando-se assim bastante claro que quanto maior for a severidade do tratamento maior será a digestibilidade enzimática observada.

Pazitny *et al*, reportou no seu estudo o efeito da temperatura, pelo tratamento de explosão de vapor, na hidrólise enzimática com Faia, valores obtidos de Glucose superiores a 60% e de xilose inferiores a 20%, para um tempo de incubação de 72h (75). Com a realização de um pré-tratamento diferente que abrange maiores temperaturas, pode-se concluir que os valores são bastantes distintos dos observados no presente estudo, sendo que essas diferenças nos tratamentos prévios à hidrólise enzimática, podem estar na origem destes valores tão distintos.

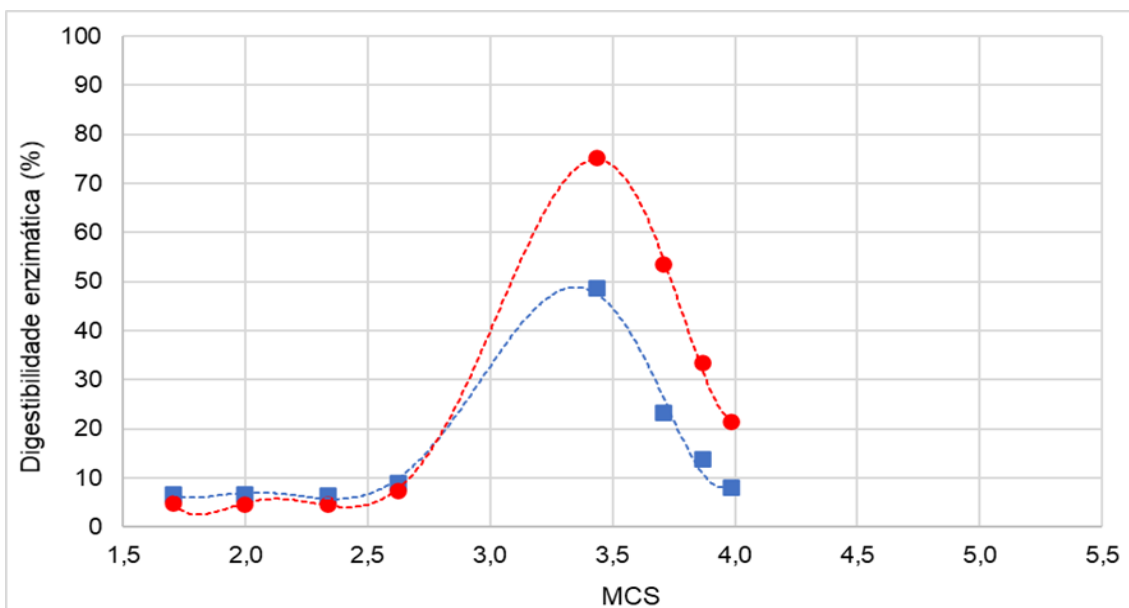


Figura 41 Digestibilidade enzimática do *Miscanthus*, tratado por Autohidrólise. Glucano (■); Xilano (●).

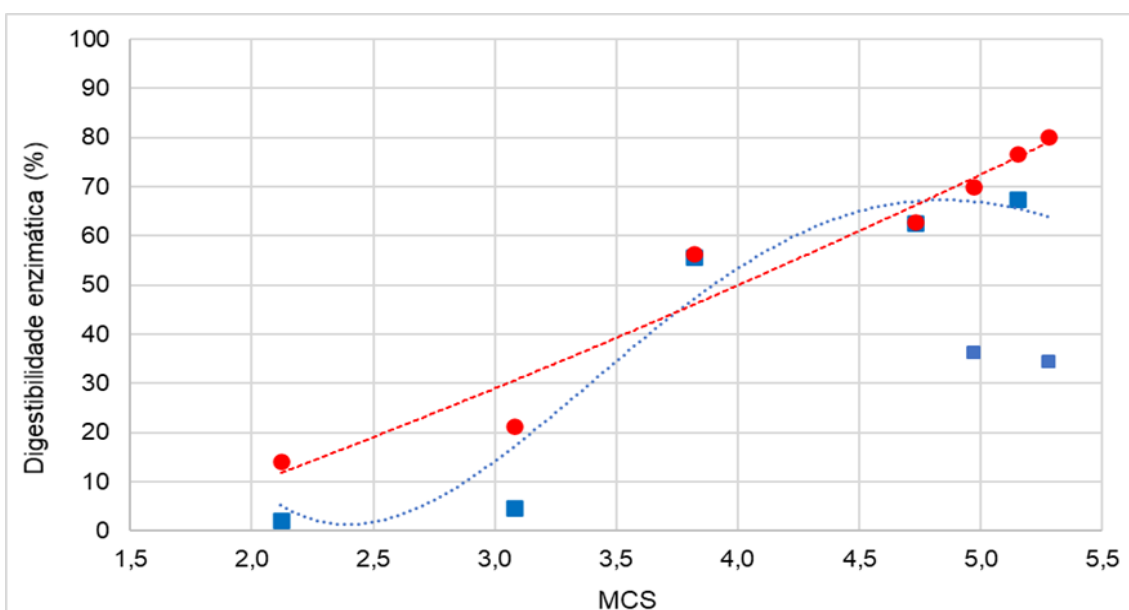


Figura 42 Digestibilidade enzimática do *Miscanthus*, tratado por Hidrólise ácida diluída. Glucano (■); Xilano (●).

Na Figura 41 representa-se a digestibilidade enzimática obtida no sólido pré-tratado por autohidrólise e na Figura 42 os valores de digestibilidade enzimática obtida no sólido pré-tratado por hidrólise ácida.

De um modo geral, é possível notar que a digestibilidade enzimática do xilano foi superior para ambos os pré-tratamentos.

Na Figura 41, tem-se um comportamento dos dados completamente diferente do que se tem observado, sendo que até aqui, todos os gráficos tendem a aumentar a

digestibilidade enzimática com o aumento da severidade. Neste gráfico, o que se observa é que a digestibilidade do *Miscanthus* apresenta um valor máximo, quer para a xilose como para a glucose, e de seguida decresce para fatores mais severos, presume-se que este comportamento esteja relacionado com a formação de “pseudo-lenhina” que limita a acessibilidade à celulose por parte das enzimas hidrolíticas (127).

Apesar das altas concentrações de derivados da hemicelulose terem sido obtidos nos tratamentos, é possível observar no gráfico apresentado na Figura 42, que pela hidrólise enzimática também é possível remover uma grande quantidade de xilose, apresentando um comportamento que seria esperado, ou seja, sempre em crescendo à medida que o tratamento é mais severo. No que diz respeito ao glucano, para uma severidade de 4,98 e 5,28, os valores são bastante baixos, em relação ao que seria esperado, 36,27% e 34,38%, respetivamente. Estes valores podem-se justificar por erros experimentais durante o tratamento de hidrólise enzimática.

Yoshida *et al*, realizou um estudo que consistia em dois testes separados com *Miscanthus*, aplicando uma deslenhificação num deles, onde só a hidrólise enzimática foi aplicada. Foi obtido para o ensaio sem deslenhificação uma quantidade de glucose máxima de 36,1%, valor esse que se encontra de acordo com a maioria dos obtidos neste estudo, em relação ao tratamento por autohidrólise. Com a deslenhificação, foi possível obter uma solubilização de glucose de 96% (128). O que nos indicam, estes valores, é que a lenhina presente, influencia bastante a sacarificação dos açúcares monoméricos.

Rivas *et al*, obteve alguns rendimentos em glucose entre 43 e 93%, onde uma das variáveis que mais influenciavam os rendimentos era a razão LS utilizada para cada ensaio (119).

Tendo em conta, estes trabalhos anteriores realizados com *Miscanthus*, conclui-se que os valores do presente estudo, são relativamente consistentes com os observados nesses estudos.

4.8 Análise técnico-económica preliminar

O objetivo deste capítulo é comparar a performance económica dos dois processos de pré-tratamento estudados, a hidrólise ácida diluída e a autohidrólise, tendo por base os dados estequiométricos encontrados para as biomassas estudadas.

Par tal, desenvolveram-se dois modelos da biorrefinaria utilizando o software SuperPro Designer que permite a simulação dos dois processos e a sua análise económica.

Os modelos desenvolvidos foram baseados nos modelos propostos por Kumar et al (129), tendo sido modificados para: 1) contemplarem a produção de xaropes de oligossacáridos e/ou de monossacáridos em detrimento da produção de bioetanol, e 2) contemplarem a produção de uma corrente sólida, rica em de lenhina, que poderá ser valorizada para fins energéticos, por exemplo por pirólise ou gasificação, ou servir de precursor para outros produtos industriais.

Os diagramas de blocos dos dois processos são apresentados nas figuras 43 e 44. Os *Flowsheets* implementados no software, são apresentados nas figuras 45 e 46.

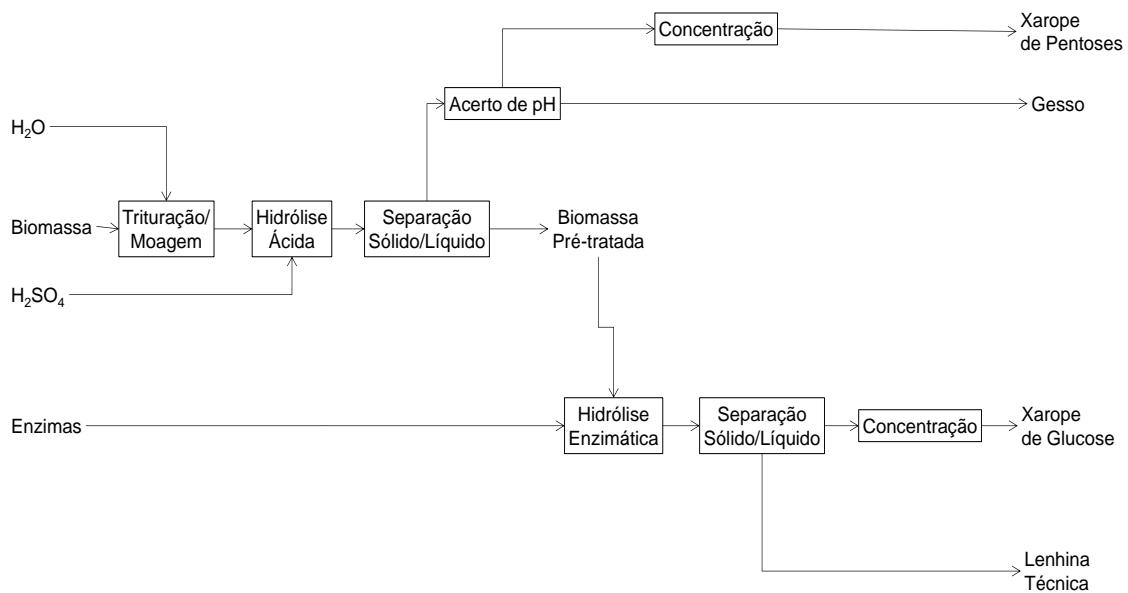


Figura 43 Diagrama de blocos para a biorrefinaria baseada no processo de hidrólise ácida diluída.

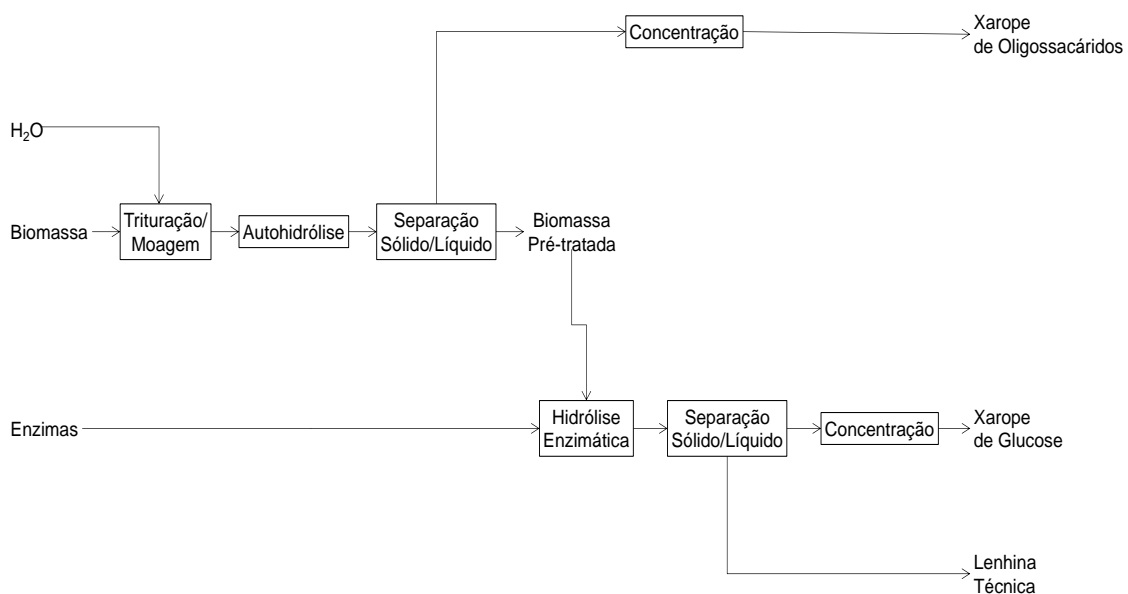


Figura 44 Diagrama de blocos para a biorrefinaria baseada no processo de autohidrólise.

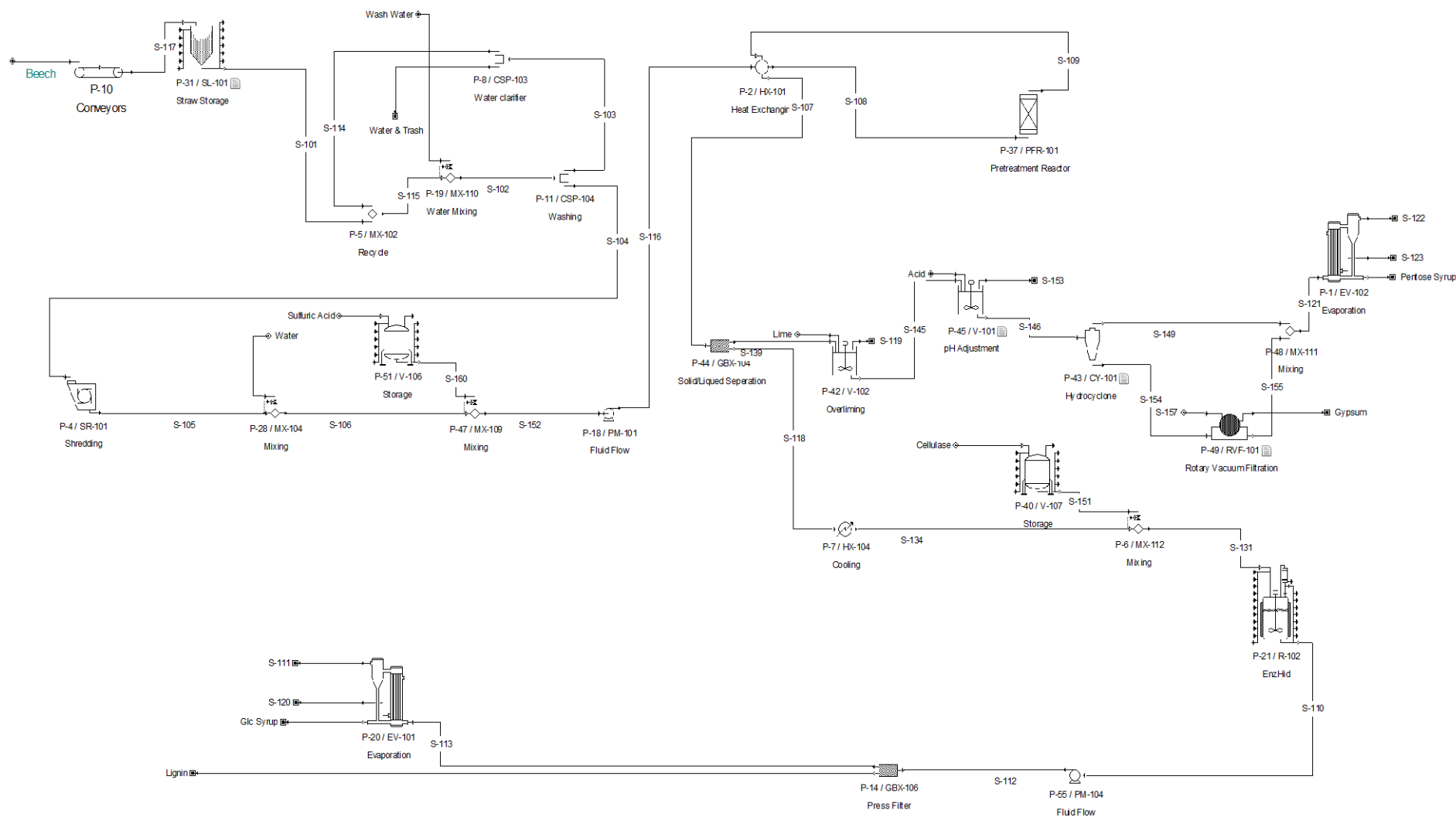


Figura 45 Flowsheet do processo de hidrólise ácida diluída implementado em *SuperPro Designer*, Exemplo para a biomassa de Faia.

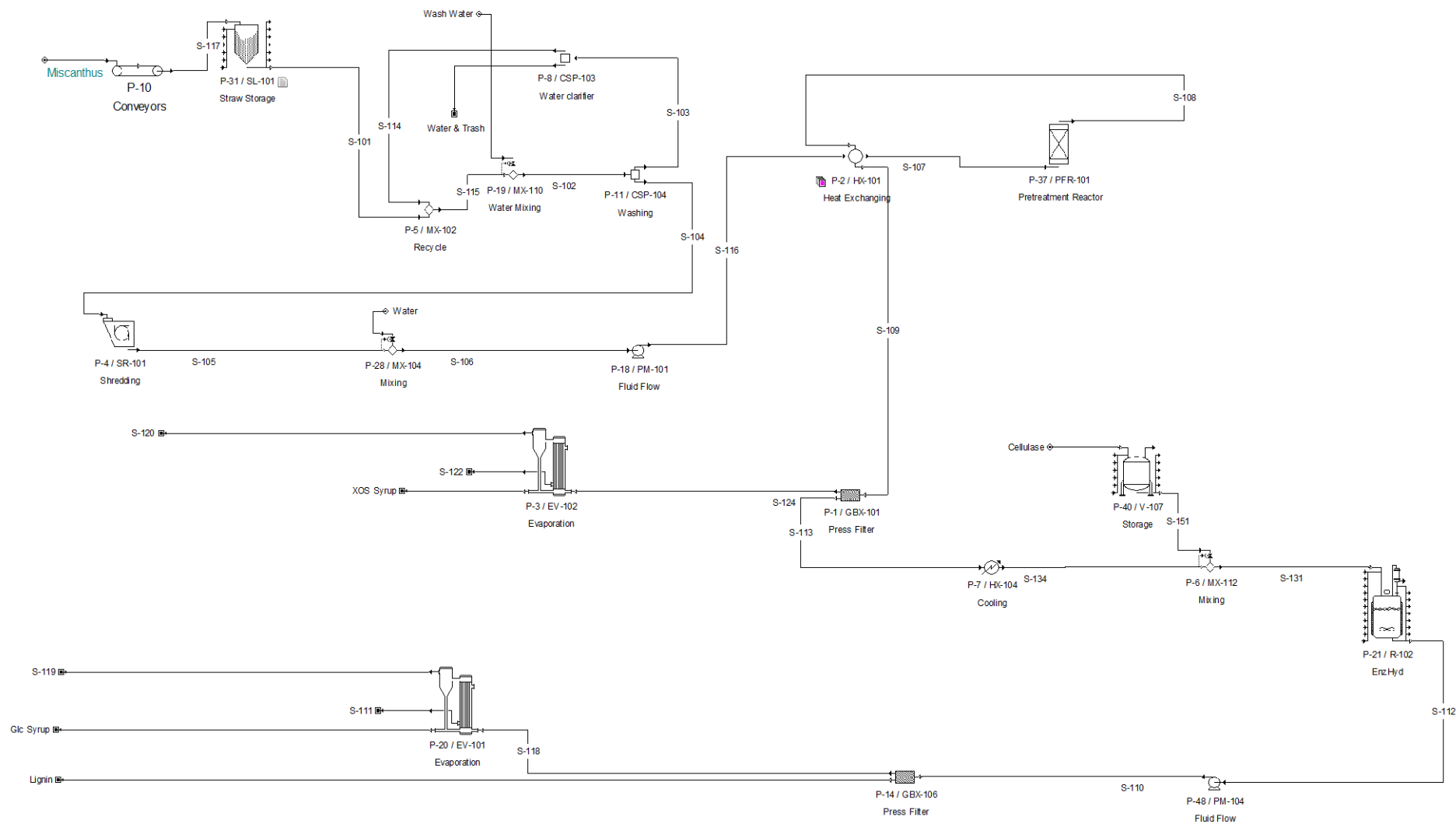


Figura 46 Flowsheet do processo de autohidrólise implementado em *SuperPro Designer*, Exemplo para a biomassa de *Miscanthus*.

Os modelos foram simulados para as condições ótimas obtidas nos diferentes tratamentos, estando os parâmetros utilizados para os diversos modelos representados no quadro seguinte.

Quadro 6 Rendimentos de oligossacáridos e monossacáridos obtidos para cada condição ótima no tratamento da biomassa.

Matéria-prima		<i>Miscanthus</i>		Faia	
Processo		Hidrólise ácida	Autohidrólise	Hidrólise ácida	Autohidrólise
Pré-tratamento	YXOS	-	41,24	-	39,77
	YGlc	3,93	0,79	6,10	1,26
	YXyl	64,63	3,87	60,26	4,82
Hidrólise Enzimática	YGlc	67,37	14,00	19,56	21,70
	YXyl	76,62	33,43	62,43	22,77

Quanto aos parâmetros económicos, foi assumido que o custo da matéria-prima seria, no máximo de 70 €/Ton (base seca). Este valor é justificado pelo histórico dos valores do preço da palha no mercado nacional², que atingiu um mínimo em 2016 (30 €/Ton) tendo subido sustentadamente desde aí, até atingir valores entre 60 e 70 euros/Ton. Valores superiores a este limite levariam a que as biorrefinarias preferissem utilizar palhas como matéria-prima, pois estas apresentam características, físico-químicas e/ou logísticas mais vantajosas do que os materiais aqui propostos. Os preços de mercado para os diversos produtos estão apresentados no Quadro 7, tendo sido assumidos com base em dados na literatura (130).

Quadro 7 Preços de mercado dos produtos propostos (€/Ton).

	Hidrólise ácida diluída	Autohidrólise
XOS	-	3600
Glucose	300	
Pentoses (xilose)	140	
Lenhina	45	
Gesso	10	-

É de notar que estes preços são relativos a produtos com grau de pureza elevado, mas os modelos propostos não contemplam todos os processos necessários para se atingir essas especificações, pelo que os valores dos xaropes de glucose e xilose foram ajustados a 75% do valor de referência e o xarope de XOS a 30%, porque a sua purificação será mais exigente.

² <http://sima.gpp.pt:8080/sima/default/>. Acedido a 15/07/2021.

Quadro 8 Resumo dos parâmetros económicos para os modelos estudados.

		Miscanthus		Faia	
		Hidrólise ácida diluída	Autohidrólise	Hidrólise ácida diluída	Autohidrólise
Investimento	€	61 394 000	66 062 000	57 447 000	65 403 000
Custos operacionais	€/ano	26 580 000	26 193 000	25 343 000	25 560 000
Vendas	€/ano	19 261 000	56 300 000	25 745 000	60 002 000
Margem Bruta	%	- 38,00	53,48	1,56	57,40
Retorno sobre o investimento	%	- 3,11	36,19	9,23	40,45
<i>Payback</i>	anos	N/A	2,76	10,83	2,47
VAL (at 7.0% Interest)	€	- 73 313 000	149 372 000	- 10 802 000	172 823 000

Como se pode observar, o tipo de processo de pré-tratamento tem uma influencia muito significativa sobre a economia da biorrefinaria, e muito superior à origem da biomassa.

Os investimentos apresentam valores próximos entre si para todos os pares processo/biomassa analisados, com a hidrólise ácida a apresentar valores ligeiramente inferiores, o que se pode justificar pelo maior custo do reator de autohidrólise em comparação com a hidrólise ácida diluída. Essas diferenças são ainda menores ao nível dos custos de operação, o que indica que os custos associados à utilização de ácido sulfúrico como catalisador e à necessidade de acerto de pH, são equivalentes aos gastos com o excesso de energia necessária para atingir as temperaturas mais altas da autohidrólise (170 °C) em comparação com a hidrólise ácida (140 °C)

Como se pode observar, o processo de autohidrólise apresenta indicações que poderá vir a ser autossustentável economicamente, mesmo que apenas se considere a produção de XOS, um produto de alto valor acrescentado, o que implica que a autohidrólise apresenta vantagens económicas muito significativas sobre a hidrólise ácida que apenas permite a produção de xaropes de glucose e de pentoses (xilose) como principais produtos da biomassa, mas que infelizmente apresentam um valor de mercado muito baixo.

Mais, nos processos de autohidrólise, o contributo da produção de xaropes de glucose para as vendas totais é tipicamente na ordem dos 25%, mas os custos de operação só marginalmente são cobertos por essas vendas, o que se justifica pelo elevado custo dos enzimas utilizados (dados não apresentados) e pelo baixo rendimento do processo de hidrólise enzimática (ver quadro 5).

Pese embora os dados forneçam boas indicações sobre o retorno sobre o investimento, *payback* e VAL, principalmente para a autohidrólise, este modelo não pode ainda ser utilizado como ferramenta de apoio ao investimento, pois é apenas baseado em dados experimentais obtidos à escala laboratorial.

5 Conclusões

As culturas energéticas apresentam vantagens muito significativas ao nível agrícola, sendo já uma alternativa a outras fontes para produção de biocombustíveis sólidos. No entanto ainda existem barreiras que limitam a produção de biocombustíveis líquidos a partir destas biomassas, nomeadamente a baixa digestibilidade da fração celulósica.

O *Miscanthus* é um material biológico com excelentes características para extração de componentes com alta capacidade valorativa. A sua compressão, na forma de pellets, torna possível um melhor transporte e armazenamento, bem como a Faia, que é moída, de modo a facilitar o seu armazenamento.

Este estudo surgiu com o propósito de desenvolver processos que permitam a desconstrução de biomassa e a separação dos biopolímeros principais como uma oportunidade de obter produtos com potenciais efeitos pré-bióticos e que apresentam maior valor acrescentado. O tratamento por autohidrólise e hidrólise ácida foram os processos estudados para remoção seletiva de hemicelulose, tendo-se realizado ensaios sob uma gama alargada de várias severidades.

O processo de autohidrólise caracterizou-se por ser um tratamento de biomassa altamente seletivo para a recuperação da hemicelulose. Os seus açúcares constituintes são obtidos preferencialmente na forma de oligossacáridos que podem apresentar potenciais atividades biológicas que os transformam assim, em produtos de valor acrescentado.

A hidrólise ácida com ácido acético apresenta vantagens ao nível das condições de operação, mas a concentração e rendimento em oligossacáridos é praticamente desprezável. Os açúcares das hemiceluloses são essencialmente obtidos na forma monomérica, que poderão ser utilizados posteriormente para valorização por via fermentativa.

Tanto o *Miscanthus*, como a Faia possuem uma composição favorável para obtenção de hidrolisados ricos em pentoses, uma vez que o xilano representa mais de 75% da composição das hemiceluloses, esta que é a fração mais suscetível de ser hidrolisada por um processo com ácido diluído.

Quanto aos perfis de temperatura em função do tempo, pode-se concluir que os perfis obtidos para as diferentes culturas têm um comportamento similar, o que indica que sobre estas condições o processo pode ser considerado reprodutível, apesar das diferentes condições impostas.

Os hidrolisados resultantes dos tratamentos foram sujeitos a uma caracterização por HPLC, de forma a quantificar os componentes presentes, tendo em conta as

condições aplicadas em cada ensaio e o fator de severidade, no qual é de registrar algumas semelhanças na composição dos componentes das duas culturas selecionadas. Os dados dos tratamentos por hidrólise ácida diluída permitem identificar um máximo de 24,93 g/L e 25,31 g/L de Xilose para *Miscanthus* e Faia, respetivamente. Também é de notar que para condições de maior severidade, é observável um aumento da concentração em Furfural, o que está concordante com um pequeno decréscimo observado na concentração de xilose. Isto é verificado, uma vez que se começa a degradar a xilose e a formar furfural, devido a uma grande severidade de tratamento. O mesmo fenómeno é verificado para a Faia.

Os sólidos resultantes dos tratamentos foram quimicamente caracterizados através de uma hidrólise ácida quantitativa, de modo a obter a sua composição e comparar as alterações químicas que ocorreram no tratamento. De notar que uma maior solubilização da xilose foi observada para os tratamentos por hidrólise ácida, como já seria de esperar devido a uma maior severidade a que a biomassa foi sujeita. Foi possível alcançar uma solubilização do xilano de praticamente 100%, como o aumento da severidade até MCS=5,28. De registrar também que no caso do glucano, acontece precisamente o oposto do que acontece na hemicelulose, onde não existe remoção uma vez que este tende a acumular. Em qualquer tratamento, existe uma grande recuperação deste componente, indicando que a solubilização praticamente não ocorre. Concluindo assim que a celulose não foi significativamente afetada pelo tratamento efetuado.

Em termos do rendimento em sólidos obtido nos tratamentos, para ambas as matérias-primas, observa-se uma redução do rendimento, de aproximadamente 30%. Com o aumento da severidade verifica-se uma diminuição gradual no rendimento, o que era bastante espectável devido à quantidade de monossacáridos que foi solubilizada durante os tratamentos.

Ao hidrolisar o xilano, obtém-se oligossacáridos que contêm, xilose, arabinose e ácido acético, e no caso do glucano oligossacáridos que contêm glucose, no entanto com o aumento da severidade dos tratamentos, começa-se a observar uma degradação por parte dos oligossacáridos, tanto no *Miscanthus* como na Faia. Os valores obtidos estão concordantes, uma vez que a degradação do XOS, dará lugar ao aparecimento da xilose no hidrolisado, verificando um aumento gradual da mesma. Pode-se também verificar que a degradação do AcOS, dará lugar ao Ácido acético, uma vez que existe um aumento da sua concentração no hidrolisado.

Para a Faia, de um modo geral, é possível notar que a digestibilidade enzimática do xilano foi muito superior para o pré-tratamento com hidrólise ácida, uma vez que para o caso do glucano os valores são bastante semelhantes para ambos os tratamentos,

apresentando uma variação na digestibilidade de 10% a 24%, aproximadamente. A digestibilidade enzimática da hidrólise ácida para o glucano causa alguma surpresa por não haver uma grande variação nos resultados, sendo que se esperaria uma digestibilidade muito superior à observada, devido a uma maior severidade imposta nos tratamentos.

A digestibilidade enzimática obtida para o *Miscanthus* foi completamente diferente da observada para a Faia. O comportamento da digestibilidade enzimática através da autohidrólise apresenta resultados que não se estava à espera, uma vez que a digestibilidade atinge um valor máximo, quer para a xilose como para a glucose, e de seguida decresce para fatores mais severos. Pode-se concluir que estes resultados se devem a uma formação de pseudo-lenhina que limita a acessibilidade à celulose por parte das enzimas hidrolíticas. O tratamento por hidrólise enzimática apresenta bons resultados ao nível da xilose, superiores a 75% de digestibilidade máxima, sendo que a digestibilidade apresenta um crescendo à medida que o tratamento se torna mais severo. Já ao nível da glucose, também se obteve bons resultados à exceção dos valores para a severidade de 4,97 e 5,28, onde se justifica a baixa digestibilidade com erros experimentais.

A análise tecno-económica demonstra que ambos os processos devem continuara a ser explorados e avaliados o se *scale-up* para futura implementação industrial, principalmente se forem acoplados a uma instalação que permita também a valorização da fração celulósica e da lenhina. No entanto, a autohidrólise apresenta um potencial mais significativo, dado ter maior rentabilidade devido ao maior preço de mercado de oligossacáridos. Infelizmente, estes produtos têm um mercado limitado em termos de volume.

6 Referências

1. **Haghighi Mood S, Hossein Golfeshan A, Tabatabaei M, Salehi Jouzani G, Najafi GH, Gholami M, Ardjmand M.** 2013. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **27**:77-93.
2. **Ghosh TK, Prelas MA.** 2009. Energy resources and systems: Fundamentals and non-renewable resources, vol 1. Springer Science + Business Media, New York, NY.
3. **Zhang K, Pei Z, Wang D.** 2016. Organic solvent pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuels and biochemicals: A review. *Bioresour Technol* **199**:21-33.
4. **Verma AK, Ajit S, Muruva HP.** 2015. Risk management of non-renewable energy systems. Springer International Publishing, Heidelberg, Germany.
5. **Hinrichs RA, Kleinbach M.** 2013. Energy: Its use and the environment, 5^a ed. Brooks/Cole, Cengage Learning, Boston, MA.
6. **Curley R.** 2012. Fossil fuels. Britannica Educational Publishing, New York, NY.
7. **Casper JK.** 2010. Fossil fuels and pollution: The future of air quality. Facts On File Inc., New York, NY.
8. **Kaltschmitt M.** 2019. Energy from Organic Materials (Biomass), p 1445. *In* Meyers RA (ed), *Encyclopedia of Sustainability Science and Technology*, ed 2^a, vol doi:10.1007/978-1-4939-7813-7Springer Science+Business Media, Estados Unidos da América.
9. **Rasool U, Hemalatha S.** 2016. A review on bioenergy and biofuels: sources and their production. *Brazilian Journal of Biological Sciences* **3**:3-21.
10. **McKendry P.** 2002. Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. *Bioresource Technology* **83**:37-46.
11. **Ness J, Moghtaderi B.** 2007. Biomass and Bioenergy, p 1-35. *In* Moghtaderi B, Ness J (ed), *Coal-Biomass Cofiring Handbook*. Cooperative Research Centre for Coal in Sustainable Development.
12. **Plaza GA, Wandzich D.** 2016. Biorefineries - new green strategy for development of smart and innovative industry. *Management Systems in Production Engineering* **3**:150-155.
13. **Reid WV, Ali MK, Field CB.** 2020. The future of bioenergy. *Global Change Biology* **26**:274-286.
14. **Ptasinski KJ.** 2016. Efficiency of biomass energy: An exergy approach to biofuels, power, and biorefineries. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey.
15. **Fernando S, Adhikari S, Chandrapal C, Murali N.** 2006. Biorefineries: Current status, challenges, and future direction. *Energy & Fuels* **20**:1727-1737.
16. **Clark J, Deswarte F.** 2015. Introduction to chemicals from biomass, 2^a ed. John Wiley & Sons, Reino Unido.
17. **Kamm B, Gruber PR, Kamm M.** 2006. Biorefineries – Industrial Processes and Products. *Status Quo and Future Directions*, vol 1. Wiley-VCH.
18. **DaSilva EJ, Doelle HW.** 2009. Bio-Refinery - Concept for Sustainability and Human Development, *Biotechnology*, vol 7. EOLSS.
19. **Naik SN, Goud VV, Rout PK, Dalai AK.** 2010. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **14**:578-597.
20. **Saraf M, Hastings A.** 2010. Biofuels, the role of biotechnology to improve their sustainability and profitability, p 123-148. *In* Lichtfouse E (ed), *Biodiversity, biofuels, agroforestry and conversation agriculture*, vol 5. Springer Science+Business Media, Berlin.
21. **Casas-Godoy L, Barrera-Martínez I, Ayala-Mendivil N, Aguilar-Juárez O, Arellano-García L, Reyes AL, Méndez-Zamora A, Sandoval G.** 2020. Biofuels,

- p 125-170. *In* Galanakis CM (ed), Biobased products and industries doi:10.1016/b978-0-12-818493-6.00004-x. Elsevier, Amesterdão.
22. **Dahiya A, Williams CL, Porter P.** 2015. Introduction to bioenergy, p 5-36. *In* Dahiya A (ed), Bioenergy-Biomass to biofuels. Elsevier, Amesterdão.
 23. **Fink JK.** 2013. Biofuels, p 507-542. *In* Fink JK (ed), The chemistry of bio-based polymers, 2^a ed. John Wiley & Sons.
 24. **De T, Sikder J, Narayanan CM.** 2017. Biodiesel synthesis and bioreactor design – An overview. *Indian Journal of Chemical Technology* **24**:575-592.
 25. **Alvarenga BM, Soares MA.** 2010. Potencialidade de produção de biodiesel por óleos e gorduras residuais na cidade de Itabira-MG. *Revista Ceres* **57**:721-729.
 26. **Vohra M, Manwar J, Manmode R, Padgilwar S, Patil S.** 2014. Bioethanol production: Feedstock and current technologies. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **2**:573-584.
 27. **P.Morone, Cottoni L.** 2016. Biofuels: Technology, economics and policy issues, p 61-83. *In* Luque R, Lin CSK, Wilson K, Clark J (ed), Handbook of biofuels production: Processes and technologies, 2^a ed, vol 98. Elsevier, Amesterdão.
 28. **Packham JR, Thomas PA, Atkinson MD, Degen T.** 2012. Biological flora of the british isles: *Fagus sylvatica*. *Journal of Ecology* **100**:1557-1608.
 29. **Erber G, Kanzian C, Stampfer K.** 2015. Modelling natural drying of European beech (*Fagus sylvatica* L.) logs for energy based on meteorological data. *Scandinavian Journal of Forest Research* **31**:294-301.
 30. **Fang J, Lechowicz MJ.** 2006. Climatic limits for the present distribution of beech (*Fagus* L.) species in the world. *Journal of Biogeography* **33**:1804-1819.
 31. **Zub HW, Brancourt-Hulmel M.** 2011. Agronomic and physiological performances of different species of miscanthus, a major energy crop, p 469-486. *In* Lichtfouse E, Hamelin M, Navarrete M, Debaeke P (ed), Sustainable agriculture, vol 2. Springer Science+Business Media B.V, Berlim.
 32. **Heaton EA, Dohleman FG, Miguez AF, Juvik JA, Lozovaya V, Widholm J, Zobotina OA, Mclsaac GF, David MB, Voigt TB, Boersma NN, Long SP.** 2010. Miscanthus: A promising crop, p 75-137. *In* Kader J-C, Delseny M (ed), Advances in Botanical Research, vol 56. Elsevier, Amesterdão.
 33. **Stewart JR, Toma YO, Fernández FG, Nishiwaki AYA, Yamada T, Bollero G.** 2009. The ecology and agronomy of *Miscanthus sinensis*, a species important to bioenergy crop development, in its native range in Japan: A review. *GCB Bioenergy* **1**:126-153.
 34. **Lewandowski I, Clifton-Brown JC, Scurlock JMO, Huisman W.** 2000. Miscanthus: European experience with a novel energy crop. *Biomass and Bioenergy* **19**:209-227.
 35. **Clifton-Brown JC, Breuer J, Jones MB.** 2007. Carbon mitigation by the energy crop, Miscanthus. *Global Change Biology* **13**:2296-2307.
 36. **Durrant TH, Rigo Dd, Caudullo G.** 2016. *Fagus sylvatica* in Europe: Distribution, habitat, usage and threats. *European Atlas of Forest Tree Species*:94-95.
 37. **Wühlisch Gv.** 2008. EUFORGEN: Technical guidelines for genetic conservation and use for european beech (*Fagus sylvatica*). *Biodiversity International*:6.
 38. **Peter Skovsgaard J, Nordfjell T, Holmgård Sorensen IB.** 2006. Precommercial thinning of beech (*Fagus sylvatica*L.): Early effects of stump height on growth and natural pruning of potential crop trees. *Scandinavian Journal of Forest Research* **21**:380-387.
 39. **Atabani AE, Al-Muhtaseb AaH, Kumar G, Saratale GD, Aslam M, Khan HA, Said Z, Mahmoud E.** 2019. Valorization of spent coffee grounds into biofuels and value-added products: Pathway towards integrated bio-refinery. *Fuel* **254**:1-20.
 40. **Campos-Vega R, Loarca-Piña G, Vergara-Castañeda HA, Oomah BD.** 2015. Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends in Food Science & Technology* **45**:24-36.

41. **Karmee SK.** 2018. A spent coffee grounds based biorefinery for the production of biofuels, biopolymers, antioxidants and biocomposites. *Waste Management* **72**:240-254.
42. **Nosek R, Tun MM, Juchelkova D.** 2020. Energy utilization of spent coffee grounds in the form of pellets. *Energies* **13**:1-8.
43. **Kovalcik A, Obruca S, Marova I.** 2018. Valorization of spent coffee grounds: A review. *Food and Bioproducts Processing* **110**:104-119.
44. **Dian NLHM, Hamid RA, Kanagaratnam S, Isa WRA, Hassim NAM, Ismail NH, Omar Z, Sahri MM.** 2017. Palm oil and palm kernel oil: Versatile ingredients for food applications. *Journal of Oil Palm Research* **29**:487-511.
45. **Gesteiro E, Guijarro L, Sanchez-Muniz FJ, Vidal-Carou MDC, Troncoso A, Venanci L, Jimeno V, Quilez J, Anadon A, Gonzalez-Gross M.** 2019. Palm oil on the edge. *Nutrients* **11**:1-36.
46. **Mukherjee S, Mitra A.** 2009. Health effects of palm oil. *Journal of Human Ecology* **26**:197-203.
47. **Basiron Y.** 2007. Palm oil production through sustainable plantations. *European Journal of Lipid Science and Technology* **109**:289-295.
48. **Mussatto SI, Dragone G, Roberto IC.** 2006. Brewers' spent grain: Generation, characteristics and potential applications. *Journal of Cereal Science* **43**:1-14.
49. **Lynch KM, Steffen EJ, Arendt EK.** 2016. Brewers' spent grain: A review with an emphasis on food and health. *Journal of the Institute of Brewing* **122**:553-568.
50. **Öztürk S, Özboy Ö, Cavidoglu I, Köksel H.** 2002. Effects of brewer's spent grain on the quality and dietary fibre content of cookies. *Journal of the Institute of Brewing* **108**:23-27.
51. **Santos M, Jiménez JJ, Bartolomé B, Gómez-Cordovés C, Nozal MJ.** 2002. Variability of brewer's spent grain within a brewery. *Food Chemistry* **80**:17-21.
52. **Pandey A, Negi S, Binod P, Larroche C.** 2015. *Pretreatment of Biomass: Processes and Technologies*, 1^a ed. Elsevier B.V.
53. **Costa RD.** 2019. Parede celular vegetal. *Revista de Ciência Elementar* **7**:1-6.
54. **Zamil MS, Geitmann A.** 2017. The middle lamella-more than a glue. *Physical Biology* **14**:1-11.
55. **Ingle AP, Chandel AK, Silva SSd.** 2020. *Lignocellulosic biorefining technologies*. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ.
56. **Sanderson K.** 2011. Lignocellulose: A chewy problem. *Nature* **474**:S12-S14.
57. **Pereira H, Graça J, Rodrigues JC.** 2003. Wood chemistry in relation to quality, p 53-86. *In* Barnett JR, Jeronimidis G (ed), *Wood Quality and its Biological Basis*, vol 11. Blackwell Publishing.
58. **Zhang Z, Harrison MD, Rackemann DW, Doherty WOS, O'Hara IM.** 2016. Organosolv pretreatment of plant biomass for enhanced enzymatic saccharification. *Green Chemistry* **18**:360-381.
59. **Ajao O, Marinova M, Savadogo O, Paris J.** 2018. Hemicellulose based integrated forest biorefineries: Implementation strategies. *Industrial Crops and Products* **126**:250-260.
60. **Hendriks AT, Zeeman G.** 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* **100**:10-18.
61. **Bajpai P.** 2016. Pretreatment of lignocellulosic biomass, p 17-57. *In* Sharma SK (ed), *Pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuel production*. Springer.
62. **Demirbas A.** 2004. Adsorption of lead and cadmium ions in aqueous solutions onto modified lignin from alkali glycerol delignification. *Journal of Hazardous Materials* **109**:221-266.
63. **Watkins D, Nuruddin M, Hosur M, Tcherbi-Narteh A, Jeelani S.** 2014. Extraction and characterization of lignin from different biomass resources. *Journal of Materials Research and Technology* **4**:26-32.

64. **Nair A, Ithnin NB, Sim HL, Appleton DR.** 2017. Energy crops, p 164-176. *In* Thomas B, Murray BG, Murphy DJ (ed), Encyclopedia of applied plant sciences, 2^a ed, vol 3. Academic Press, Oxford.
65. **Schutyser W, Renders T, Van den Bosch S, Koelewijn SF, Beckham GT, Sels BF.** 2018. Chemicals from lignin: an interplay of lignocellulose fractionation, depolymerisation, and upgrading. *The Royal Society of Chemistry* **47**:852-908.
66. **Brown ME, Chang MC.** 2014. Exploring bacterial lignin degradation. *Current Opinion in Chemical Biology* **19**:1-7.
67. **Binod P, Pandey A.** 2015. Introduction, p 3-6. *In* Pandey A, Negi S, Binod P, Larroche C (ed), Pretreatment of Biomass: Processes and Technologies. Elsevier, Amesterdão.
68. **Rodríguez F, Sanchez A, Amaya-Delgado L.** 2019. Xylooligosaccharides production from lignocellulosic biomass using a pilot-scale pretreatment continuous tubular reactor. Modelling and experimental validation. *Industrial Crops and Products* **134**:62-70.
69. **Zhao X, Li S, Wu R, Liu D.** 2017. Organosolv fractionating pre-treatment of lignocellulosic biomass for efficient enzymatic saccharification: chemistry, kinetics, and substrate structures. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* **11**:567-590.
70. **Herbaut M, Zoglami A, Habrant A, Falourd X, Foucat L, Chabbert B, Paës G.** 2018. Multimodal analysis of pretreated biomass species highlights generic markers of lignocellulose recalcitrance. *Biotechnology for Biofuels* **11**:1-17.
71. **Ruiz HA, Romaní A, Michelin M, Teixeira JA.** 2013. A importância dos pré-tratamentos no conceito das biorrefinarias. *Boletim Biotecnologia* **3**:3-6.
72. **Sun Y, Cheng J.** 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology* **83**:1-11.
73. **Carvalho F, Duarte LC, Bogel-Lukasik R, Moniz P.** 2013. Métodos de fracionamento de biomassa para as biorrefinarias. *Boletim Biotecnologia* **3**:7-10.
74. **Mosier N, Wyman C, Dale B, Elander R, Lee YY, Holtzapple M, Ladisch M.** 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* **96**:673-686.
75. **Andrej Pažitný, Albert Russ, Štefan Boháček, Monika Stankovská, Vladimír Ihnát, Šutý Š.** 2019. Various lignocellulosic raw materials pretreatment processes utilizable for increasing holocellulosic acessibility for hydrolytic enzymes: Effect of steam explosion temperature on beech enzymatic hydrolysis. *Wood Research* **64**:437-448.
76. **Perez J, Munoz-Dorado J, de la Rubia T, Martinez J.** 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *Int Microbiology* **5**:53-63.
77. **Jung YH, Kim KH.** 2015. Acidic pretreatment, p 27-50. *In* Pandey A, Negi S, Binod P, Larroche C (ed), Pretreatment of Biomass: Processes and Technologies. Elsevier, Amesterdão.
78. **Muhaimin M, Wiyantoko B, Putri RN, Rusitasari R.** 2018. Determination of order reaction on hydrolysis reaction of pineapple leaf. *AIP Conference Proceedings* **2026**:1-5.
79. **Dee SJ, Bell AT.** 2011. A study of the acid-catalyzed hydrolysis of cellulose dissolved in ionic liquids and the factors influencing the dehydration of glucose and the formation of humins. *ChemSusChem* **4**:1166-1173.
80. **Gírio FM, Fonseca C, Carvalho F, Duarte LC, Marques S, Bogel-Lukasik R.** 2010. Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. *Bioresource Technology* **101**:4775-4800.
81. **Wyman CE, Dale BE, Elander RT, Holtzapple M, Ladisch MR, Lee YY.** 2005. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. *Bioresource Technology* **96**:1959-1966.

82. **Ahmad N, Zakaria MR.** 2019. Oligosaccharide From Hemicellulose, p 135-152. *In* Ariffin H, Sapuan SM, Hassan MA (ed), Lignocellulose for Future Bioeconomy doi:10.1016/b978-0-12-816354-2.00008-6. Elsevier.
83. **Jeong S-Y, Lee J-W.** 2015. Hydrothermal treatment, p 61-74. *In* Pandey A, Negi S, Binod P, Larroche C (ed), Pretreatment of Biomass: Processes and Technologies. Elsevier, Amesterdão.
84. **Sokhansanj S, Rezaei H, Lam PS, Yong T, Ghiasi B, Toyserkani Z.** 2018. Steam treatment of cellulosic biomass for pelletization, p 165-195. *In* Tumuluru JS (ed), Biomass preprocessing and pretreatments for production of biofuels: Mechanical, chemical and thermal methods. Taylor & Francis Group, Estados Unidos da América.
85. **Yue Y, Mani S.** 2018. The impacts of biomass pretreatment methods on bio-oil production, p 126-161. *In* Tumuluru JS (ed), Biomass preprocessing and pretreatments for production of biofuels: Mechanical, chemical and thermal methods. Taylor & Francis Group, Estados Unidos da América.
86. **Carvalho F, Duarte LC, Gírio F, Moniz P.** 2016. Hydrothermal/Liquid Hot Water Pretreatment (Autohydrolysis): A Multipurpose Process for Biomass Upgrading, p 315-347. *In* Mussatto S (ed), Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery doi:10.1016/b978-0-12-802323-5.00014-1. Elsevier.
87. **Sindhu R, Pandey A, Binod P.** 2015. Alkaline treatment, p 51-60. *In* Pandey A, Negi S, Binod P, Larroche C (ed), Pretreatment of Biomass: Processes and Technologies. Elsevier, Amesterdão.
88. **Zhang YP.** 2008. Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocellulose biorefineries. *Journal of Industrial and Microbiology and Biotechnology* **35**:367-375.
89. **Zhu W, Houtman CJ, Zhu JY, Gleisner R, Chen KF.** 2012. Quantitative predictions of bioconversion of aspen by dilute acid and SPORL pretreatments using a unified combined hydrolysis factor (CHF). *Process Biochemistry* **47**:785-791.
90. **Sun Y, Cheng J.** 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresour Technol* **83**:1-11.
91. **Castro E, Diaz MJ, Cara C, Ruiz E, Romero I, Moya M.** 2011. Dilute acid pretreatment of rapeseed straw for fermentable sugar generation. *Bioresour Technol* **102**:1270-1276.
92. **Gaur R, Soam S, Sharma S, Gupta RP, Bansal VR, Kumar R, Tuli DK.** 2016. Bench scale dilute acid pretreatment optimization for producing fermentable sugars from cotton stalk and physicochemical characterization. *Industrial Crops and Products* **83**:104-112.
93. **Cotana F, Cavalaglio G, Gelosia M, Coccia V, Petrozzi A, Ingles D, Pompili E.** 2015. A comparison between SHF and SSSF processes from cardoon for ethanol production. *Industrial Crops and Products* **69**:424-432.
94. **Carvalho F, Duarte LC, Gírio FM.** 2008. Hemicellulose biorefineries: a review on biomass pretreatments. *Journal of Scientific & Industrial Research* **67**:849-864.
95. **Palmqvist E, Hanh-Hagerdal B.** 2000. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. *Bioresour Technol* **74**:17-24.
96. **Taherzadeh MJ, Karimi K.** 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. *International Journal of Molecular Science* **9**:1621-1651.
97. **Liu X, Wei W, Wu S.** 2019. Thermo conversion of monosaccharides of biomass to oligosaccharides via mild conditions. *Process Biochemistry* **86**:98-107.
98. **Patel S, Goyal A.** 2010. Functional oligosaccharides: production, properties and applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **27**:1119-1128.

99. **Jan Van Loo, John Cummings, Nathalie Delzenne, Hans Englyst, Anne Franck, Mark Hopkins, Nadine Kok, George Macfarlane, Dorothy Newton, Michael Quigley, Marcel Roberfroid, Trinette van Vliet, Heuvel Evd.** 1999. Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94-1095). *British Journal of Nutrition* **81**:121-13281.
100. **Chu Q, Li X, Xu Y, Wang Z, Huang J, Yu S, Yong Q.** 2014. Functional cello-oligosaccharides production from the corncob residues of xylo-oligosaccharides manufacture. *Process Biochemistry* **49**:1217-1222.
101. **Zweckmair T, Oberlerchner JT, Bohmdorfer S, Bacher M, Sauerland V, Rosenau T, Potthast A.** 2016. Preparation and analytical characterisation of pure fractions of cellooligosaccharides. *Journal of Chromatography A* **1431**:47-54.
102. **Carvalho AFA, Neto PdO, da Silva DF, Pastore GM.** 2013. Xylo-oligosaccharides from lignocellulosic materials: Chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis. *Food Research International* **51**:75-85.
103. **Duarte LC, Silva-Fernandes T, Carvalheiro F, Girio FM.** 2009. Dilute Acid Hydrolysis of Wheat Straw Oligosaccharides. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **153**:116-126.
104. **Santibanez L, Henriquez C, Corro-Tejeda R, Bernal S, Armijo B, Salazar O.** 2021. Xylooligosaccharides from lignocellulosic biomass: A comprehensive review. *Carbohydrate Polymers* **251**:1-38.
105. **Akpinar O, Erdogan K, Bostanci S.** 2009. Production of xylooligosaccharides by controlled acid hydrolysis of lignocellulosic materials. *Carbohydrate Research* **344**:660-666.
106. **Carvalheiro F, Esteves MP, Parajó JC, Pereira H, Girio FM.** 2004. Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain. *Bioresource Technology* **91**:93-100.
107. **CEN.** 2009. CENELEC 15103. Solid biofuels - Determination of bulk density.
108. **Sluiter A, Hames B, Hyman D, Payne C, Ruiz R, Scarlata C, Sluiter J, Templeton D, Wolfe J.** 2008. Determination of total solids in biomass and total dissolved solids in liquid process samples. National Renewable Energy Laboratory, NREL, Cole Boulevard, Golden, Colorado.
109. **Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scarlata CJ, Sluiter J, Templeton D.** 2008. Determination of Ash in Biomass. NREL,
110. **Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scarlata C, Sluiter J, Templeton D, Crocker D.** 2012. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass, Revised August 2012 ed. National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado.
111. **Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scarlata CJ, Sluiter J, Templeton D.** 2008. Determination of sugars, byproducts, and degradation products in liquid fraction process samples. NREL,
112. **Resch MG, Baker JO, Decker SR.** 2015. Low Solids Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass.
113. **Tumuluru JS.** 2018. Effect of pellet die diameter on density and durability of pellets made from high moisture woody and herbaceous biomass. *Carbon Resources Conversion* **1**:44-54.
114. **Torrado I, Bandeira F, Shatalov AA, Carvalheiro F, Duarte LC.** 2014. The impact of particle size on the dilute acid hydrolysis of Giant Reed biomass. *Electronic Journal of Energy & Environment* **12**.
115. **Duarte LC, Carvalheiro F, Lopes S, Neves I, Girio FM.** 2008. Yeast biomass production in brewery's spent grains hemicellulosic hydrolyzate. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **148**:119-129.

116. **Mussatto SI, Carneiro LM, Silva JPA, Roberto IC, Teixeira JA.** 2011. A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. *Carbohydrate Polymers* **83**:368-374.
117. **Adeyemi IO, Nuhu AA, Thankgod EB.** 2016. Development of asbestos-free automotive brake pad using ternary agro-waste fillers. *Journal of Multidisciplinary Engineering Science and Technology* **3**:5307-5323.
118. **Liu Z, Padmanabhan S, Cheng K, Xie H, Gokhale A, Afzal W, Na H, Pauly M, Bell AT, Prausnitz JM.** 2014. Two-Step Delignification of *Miscanthus* To Enhance Enzymatic Hydrolysis: Aqueous Ammonia Followed by Sodium Hydroxide and Oxidants. *Energy & Fuels* **28**:542-548.
119. **Rivas S, Vila C, Alonso JL, Santos V, Parajó JC, Leahy JJ.** 2019. Biorefinery processes for the valorization of *Miscanthus* polysaccharides: from constituent sugars to platform chemicals. *Industrial Crops and Products* **134**:309-317.
120. **Ligero P, Kolk JCvd, Vega Ad, Dam JEGv.** 2011. Production of Xylo-oligosaccharides from *Miscanthus x Giganteus* by autohydrolysis. *BioResources* **6**:4417-4429.
121. **de Frias JA, Feng H.** 2013. Switchable butadiene sulfone pretreatment of *Miscanthus* in the presence of water. *Green Chemistry* **15**:1067-1078.
122. **Wang YM, Anders N, Spiess AC.** 2017. Cellulase Adsorption during the Hydrolysis of Organosolv- and Organocat-Pretreated Beech Wood. *Energy & Fuels* **31**:9507-9516.
123. **Simon M, Brostaux Y, Vanderghem C, Jourez B, Paquot M, Richel A.** 2014. Optimization of a formic/acetic acid delignification treatment on beech wood and its influence on the structural characteristics of the extracted lignins. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **89**:128-136.
124. **Vila C, Santos V, Parajo JC.** 2000. Optimization of beech wood pulping in catalyzed acetic acid media. *Canadian Journal of Chemical Engineering* **78**:964-973.
125. **Lu X, Saka S.** 2010. Hydrolysis of Japanese beech by batch and semi-flow water under subcritical temperatures and pressures. *Biomass & Bioenergy* **34**:1089-1097.
126. **Alvira P, Tomas-Pejo E, Ballesteros M, Negro MJ.** 2010. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology* **101**:4851-4861.
127. **Branco PC, Dionisio AM, Torrado I, Carvalho F, Castilho PC, Duarte LC.** 2015. Autohydrolysis of *Annona cherimola* Mill. seeds: Optimization, modeling and products characterization. *Biochemical Engineering Journal* **104**:2-9.
128. **Yoshida M, Liu Y, Uchida S, Kawarada K, Ukagami Y, Ichinose H, Kaneko S, Fukuda K.** 2008. Effects of cellulose crystallinity, hemicellulose, and lignin on the enzymatic hydrolysis of *Miscanthus sinensis* to monosaccharides. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* **72**:805-810.
129. **Kumar D, Murthy GS.** 2011. Impact of pretreatment and downstream processing technologies on economics and energy in cellulosic ethanol production. *Biotechnology for Biofuels* **4**:27.
130. **Lopes TF, Carvalho F, Duarte LC, Gírio F, Quintero JA, Aroca G.** 2019. Techno-economic and life-cycle assessments of small-scale biorefineries for isobutene and xylo-oligosaccharides production: a comparative study in Portugal and Chile. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* **13**:1321-1332.
131. **Lee HM, Jameel H, Venditti RA.** 2010. One and two stage autohydrolysis pretreatments for enzyme hydrolysis of coastal bermuda grass to produce fermentable sugars. *Bioresources* **5**:1496-1508.

7 Anexos

7.1 Cálculo da severidade

7.1.1 Fator de severidade

O fator de severidade proposto por Overend e Chornet em 1987 (131), pode ser calculado recorrendo à seguinte equação:

$$R_o = \int_0^t \exp\left(\frac{T - 100}{w}\right) dt$$

Onde,

T a temperatura da reação (°C);

t o tempo de residência (min);

O termo 100 é a temperatura de referência (°C), temperatura abaixo do qual se considera não ocorrer hidrólise;

w é um parâmetro empírico relacionado com a energia de ativação, e que habitualmente se assume o valor de 14,75.

Como nos processos de hidrólise utilizados existe um período de aquecimento (não-isotérmico), a equação é modificada para ter em conta o impacto deste período:

$$R_o = \int_0^{t_h} \exp\left(\frac{T - 100 \times t}{\frac{t_h}{14,75}}\right) dt + \int_{t_h}^t \exp\left(\frac{T - 100}{14,75}\right) dt$$

Onde,

t_h é o tempo de aquecimento;

t é o tempo isotérmico.

Considera-se que o efeito do período de arrefecimento, tipicamente muito curto (menos de 5 minutos para atingir uma temperatura inferior a 100°C), é desprezável

7.2 Fator de severidade combinado modificado (MCS)

Neste trabalho utilizou-se também o Fator de severidade combinado modificado (MCS) por forma a englobar numa mesma variável o impacto das variáveis tempo de reação, temperatura e concentração de catalisador ácido dos diversos pré-tratamentos realizados. Este fator é dado pela soma do logaritmo do fator de severidade ($\log R_o$) com o logaritmo da concentração de ácido utilizado ($\log [H_2SO_4]$), medido em mMolar.

$$MCS = \log R_o + \log [H_2SO_4]$$

É de notar que este fator não contempla a utilização do conceito de pH ($pH = -\log [H^+]$), onde um valor menor representa uma maior concentração de iões H^{+3} .

A utilização do MCS torna evidente que a uma concentração do ácido maior corresponde uma severidade maior.

7.3 Cálculo de parâmetros analíticos

7.3.1 Pré-tratamento

O rendimento em sólidos (Y_s), foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$Y_s (\%) = \frac{\text{Peso de sólido seco}}{\text{Peso inicial da matéria prima} \times \left(1 - \frac{H}{100}\right)} \times 100$$

A recuperação de glucano, xilano, arabinano, grupos acetilo, lenhina de *Klason* e cinza, expressada como a percentagem que fica retida no resíduo sólido após o pré-tratamento, foi calculada de acordo com as seguintes equações:

$$Gn_R = \frac{Gn \times Y_s}{Gn_{MP}}$$

$$Xn_R = \frac{Xn \times Y_s}{Xn_{MP}}$$

$$Arn_R = \frac{Arn \times Y_s}{Arn_{MP}}$$

$$Ac_R = \frac{Ac \times Y_s}{Ac_{MP}}$$

$$LK_R = \frac{LK \times Y_s}{LK_{MP}}$$

³ A utilização da medida em millimolar evita a utilização de números negativos quando se aplica o logaritmo. Não se considera a segunda dissociação do ácido sulfúrico dado esta ter um pKa bastante alto (2.0) ([pKa Vaules for Organic and Inorganic Bronsted Acids at 25o Ca \(umass.edu\)](http://pKa.Vaules.organicandInorganicBronstedAcidsat25oCa.umass.edu))

Onde,

Gn_R , Xn_R , Arn_R , Ac_R e LK_R são a percentagem de glucano, xilano, arabinano, grupos acetilo e lenhina de *Klason* que fica retida no resíduo sólido após pré-tratamento (g/100g do respetivo componente inicial);

Gn , Xn , Arn , Ac e LK são a percentagem de glucano, xilano, arabinano, grupos acetilo e lenhina de *Klason* no sólido pré-tratado (g/100g de matéria prima), respetivamente;

Gn_{MP} , Xn_{MP} , Arn_{MP} , Ac_{MP} e LK_{MP} são a percentagem de glucano, xilano, arabinano, grupos acetilo e lenhina de *Klason* na matéria prima (g/100g de matéria prima), respetivamente;

Y_s é o rendimento em sólido pré-tratado (g de sólido recuperado/100g de matéria prima).

7.3.2 Hidrólise ácida quantitativa

O teor de humidade (H) das amostras foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$H (\%) = \frac{\text{Peso da amostra húmida (g)} - \text{Peso da amostra seca (g)}}{\text{Peso da amostra húmida (g)}} \times 100$$

O teor de cinza (C) das amostras foi calculado recorrendo à seguinte equação:

$$C (\%) = \frac{\text{Peso da cinza (g)}}{\text{Peso da amostra seca (g)}} \times 100$$

As concentrações de glucose, xilose, arabinose e ácido acético nos licores resultantes da hidrólise ácida quantitativa das matérias primas e dos sólidos pré-tratados foram usados para calcular a percentagem de glucano, xilano, arabinano e grupos acetilo, respetivamente. O resíduo ácido insolúvel, após correção para quantidade de cinza, foi quantificado como Lenhina de *Klason* (LK).

Durante a hidrólise ácida quantitativa, uma percentagem significativa de monossacáridos é degradada, sendo por isso incluídos os fatores de correção (F) para contabilizar essas perdas. As seguintes equações foram utilizadas:

$$Gn = F \times \frac{100}{1025} \times \frac{162}{180} \times \frac{Glc \times P_{sol}}{A \times \left(1 - \frac{H}{100}\right)}$$

$$X_n = F \times \frac{100}{1025} \times \frac{132}{150} \times \frac{X_{il} \times P_{sol}}{A \times (1 - \frac{H}{100})}$$

$$A_{rn} = F \times \frac{100}{1025} \times \frac{132}{150} \times \frac{A_{ra} \times P_{sol}}{A \times (1 - \frac{H}{100})}$$

$$A_c = \frac{100}{1025} \times \frac{60}{61} \times \frac{HAc \times P_{sol}}{A \times (1 - \frac{H}{100})}$$

$$LK = \frac{RAI - C}{A \times (1 - \frac{H}{100})} \times 100$$

Onde,

G_n, X_n, A_{rn}, A_c and LK são as concentrações de glucano, xilano, arabinano, grupos acetilo, e lenhina de *Klason* (g/100 g de sólido seco), respetivamente;

Glc, Xil, Ara e HAc são as concentrações de glucose, xilose, arabinose e ácido acético no hidrolisado (g/L), respetivamente;

Os termos $\frac{162}{180}$, $\frac{132}{150}$ são fatores de conversão estequiométricos dos monómeros em polissacáridos (perda de uma molécula de água);

O termo $\frac{60}{61}$ é o fator de conversão estequiométrico de ácido acético a grupos acetilo (perda de um protão);

O termo 1025 corresponde à massa volúmica do hidrolisado (g/L), uma solução de 4% (m/m) de ácido sulfúrico;

F é o fator de correção que contabiliza a degradação dos açúcares (1,04 para as hexoses e 1,09 para pentoses);

P_{sol} e A são as massas de solução e de amostra seca utilizada no ensaio, respetivamente;

H representa o teor de humidade da amostra;

RAI e C são as massas de resíduo ácido insolúvel e de cinza da amostra, respetivamente.

7.3.3 Pós-hidrólise

As concentrações de gluco-oligossacáridos (GOS), xilo-oligossacáridos (XOS) e arabino-oligossacáridos (AOS) nos licores foram calculados, após tratamento de pós-hidrólise, de acordo com as seguintes equações:

$$\text{GOS} = (\text{Glc}_{\text{PH}} \times F \times \text{FD} - \text{Glc}_{\text{H}}) \times \frac{162}{180}$$

$$\text{XOS} = (\text{Xil}_{\text{PH}} \times F \times \text{FD} - \text{Xil}_{\text{H}}) \times \frac{132}{150}$$

$$\text{AOS} = (\text{Ara}_{\text{PH}} \times F \times \text{FD} - \text{Ara}_{\text{H}}) \times \frac{132}{150}$$

Onde,

Glc_{PH} , Xil_{PH} e Ara_{PH} são a concentração de glucose, xilose e arabinose nos hidrolisados da pós-hidrólise, em g/L;

Glc_{H} , Xil_{H} e Ara_{H} são as percentagens de glucose, xilose e arabinose no hidrolisado dos pré-tratamentos, em g/L;

FD é o fator de diluição associado à adição de ácido sulfúrico (72%) ao hidrolisado da pós-hidrólise, em mL/mL;

F é o fator de correção que contabiliza a degradação dos açúcares (1,04 para as hexoses e 1,09 para pentoses);

Os termos $\frac{162}{180}$, $\frac{132}{150}$ são fatores de conversão estequiométricos dos monómeros em polissacáridos (perda de uma molécula de água);

7.3.4 Hidrólise enzimática

A digestibilidade do glucano e xilano, Gn_{dig} e Xn_{dig} , respetivamente, dos sólidos pré-tratados após realizar a hidrólise enzimática foi calculada de acordo com as seguintes equações:

$$\text{GnDig} (\%) = \frac{\text{Glc}}{\text{Glc}_{\text{max}}} \times 100$$

$$\text{XnDig} (\%) = \frac{\text{Xil}}{\text{Xil}_{\text{max}}} \times 100$$

Onde,

Glc e Xil são as concentrações de glucose e xilose no hidrolisado enzimático corrigido com as respetivas concentrações de glucose e xilose na amostra e nos ensaios enzimáticos brancos, em g/L.

Glc_{max} e Xil_{max} são as concentrações máximas possíveis de glucose e xilose no hidrolisado enzimático, assumindo total conversão dos polissacáridos inicialmente presentes na amostra, em g/L. Estas concentrações máximas possíveis são então calculadas de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Glc}_{\text{max}} = \frac{S \times \left(1 - \frac{H}{100}\right) \times \text{Gn} \times \frac{162}{180}}{V}$$

$$\text{Xil}_{\text{max}} = \frac{S \times \left(1 - \frac{H}{100}\right) \times \text{Xn} \times \frac{132}{150}}{V}$$

Onde,

S é a massa de amostra do ensaio experimental;

H é o teor de humidade da amostra;

Gn e Xn são as concentrações de glucano e xilano da amostra;

V é o volume total do hidrolisado enzimático;

Os termos $\frac{162}{180}$, $\frac{132}{150}$ são fatores de conversão estequiométricos dos monómeros em polissacáridos (perda de uma molécula de água)

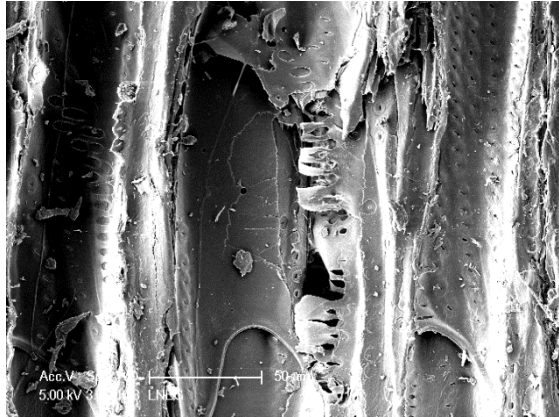
7.4 Caracterização microestrutural da madeira de faia

Adaptado de F.A. Costa Oliveira e M.A. Barreiros 2021. Caracterização microestrutural da madeira de faia. Relatório Interno. Unidade de Materiais para a Energia, LNEG

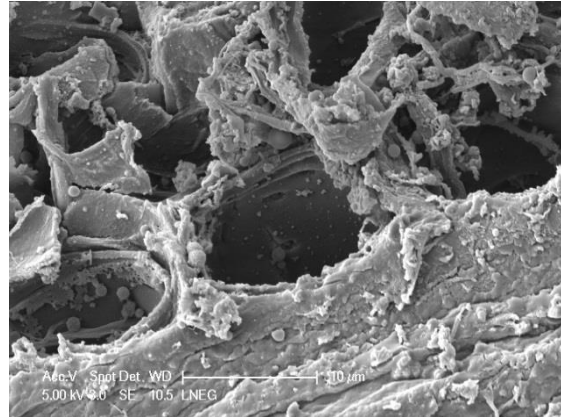
Neste trabalho procedeu-se à caracterização de madeira de faia (*Fagus sylvatica* L.), por microscopia eletrónica de varrimento, no intuito de avaliar o efeito do tratamento térmico efetuado na sua microestrutura.

As amostras apresentam as características típicas de uma madeira rija, nomeadamente vasos e fibras de celulose dispersas numa matriz constituída maioritariamente por (hemi)celulose e lenhina. Não se observaram, diferenças muito significativas entre a biomassa tal qual e a biomassa tratada, embora seja patente que a faia tratada é mais porosa em resultado da degradação da matriz causada pelo tratamento a que foi sujeita. Observa-se também o aparecimento de microesferas no

interior e na superfície de algumas das fibras observadas nas amostras biomassa tratada, o que sugere que ocorreu a fusão parcial de um dos constituintes presentes, putativamente a lenhina



Aspetto dos vasos (“*sap channels*”) presentes na direção tangencial da amostra de faia (Figura 6 do original)



Microesferas no interior de fibras de amostras de faia tratada (Figura 13 do original).