

Hidrólise enzimática da biomassa de eucalipto para produção de bioetanol: uma análise bibliométrica

Enzymatic hydrolysis of eucalyptus biomass for bioethanol production: a bibliometric analysis

Renan Amorim Margon

Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil

E-mail: renanmargon@gmail.com

Laura Marina Pinotti

Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil

E-mail: pinotti2008@hotmail.com

Rodrigo Randow de Freitas

Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil

E-mail: rodrigo.r.freitas@ufes.br

Recebido: 01/03/2018 – Aceito: 06/04/2018

Resumo

A matriz energética nos cenários brasileiro e mundial sofreram alterações significativas ao decorrer das últimas décadas. Com as oscilações do preço do barril de petróleo e seus derivados, o estudo de energias alternativas vem se intensificando. Neste contexto, a produção do bioetanol de segunda geração tem sido considerada uma forma de suprir esta demanda. Além de poder resolver em parte a dependência do uso de combustíveis fósseis, esta tecnologia se destaca por aproveitar resíduos industriais lignocelulósicos, agregando valor a este material. Este artigo consiste em uma revisão bibliométrica sobre essa aplicação, trazendo um panorama geral dos avanços realizados até o presente momento. Realizou-se assim uma análise quantitativa dos artigos encontrados na base *Web of Science* e posteriormente uma análise qualitativa. Feito isso, foram identificadas as convergências e divergências entre os artigos. Os resultados demonstram que algumas melhorias ainda são necessárias no processo, mas que a técnica é viável e vantajosa na produção de bioetanol.

Palavras-chave: Hidrólise enzimática; Eucalipto; Pré-tratamento; Bioetanol; Bibliometria.

Abstract

The energy matrix in the Brazilian and world scenarios has undergone significant changes during the last decades. Due to oscillations in the price of the oil barrel and its derivatives, the

study of alternative energies has been intensifying. In this context, the production of second generation bioethanol has been considered as a way to meet this demand. Besides being able to partially solve the dependence of the use of fossil fuels, this technology stands out for utilizing lignocellulosic industries residues, adding value to this material. This article consists of a bibliometric review of this application, giving an overview of the advances made to date. A quantitative analysis of the articles found in the Web of Science database was carried out, followed by a qualitative analysis. Subsequently, the convergences and divergences between the articles were identified. The results demonstrate that some improvements are still needed in the process, however the technique is feasible and advantageous in the production of bioethanol.

Keywords: Enzymatic hydrolysis; Eucalyptus; Pretreatment; Bioethanol; Bibliometrics.

1. Introdução

A matriz energética mundial apresenta alterações estruturais significativas ao longo dos anos. Fatores regionais, como nível de desenvolvimento, geografia e recursos naturais, assim como acordos internacionais e preços flutuantes de combustíveis fósseis, influenciam diretamente na utilização de determinada fonte energética (COSTA e BURNQUIST, 2016; LIMA *et al.*, 2006; MME, 2017).

Neste cenário, o etanol surge como alternativa mais limpa e renovável. Este pode ser obtido a partir de diferentes matérias-primas e tecnologias de conversão, que podem ser de primeira ou de segunda geração. As tecnologias de primeira geração são baseadas na fermentação alcoólica dos carboidratos presentes, por exemplo, no caldo de cana-de-açúcar ou em hidrolisados enzimáticos do amido de milho. Já as tecnologias de segunda geração utilizam resíduos agrícolas e agroindustriais, e o processo fermentativo é baseado nos carboidratos liberados da biomassa vegetal por hidrólise da celulose e das hemiceluloses (PITARELO *et al.*, 2012).

Para obtenção do bioetanol de segunda geração a partir deste material, é necessário que haja a hidrólise dos polissacarídeos da biomassa em açúcares fermentescíveis, para viabilizar a fermentação alcoólica. O processo de hidrólise utiliza tecnologias complexas e em mais de uma etapa, com uso de pré-tratamentos e rotas ácidas, básicas e/ou enzimáticas para a separação dos açúcares e remoção da lignina (PEREIRA JÚNIOR *et al.*, 2008).

Dessa forma, a hidrólise enzimática, principalmente da biomassa de eucalipto, com intuito de produzir açúcares fermentescíveis e geração de bioetanol é o tema chave para o

desenvolvimento desta revisão bibliométrica. A pesquisa teve foco nos tipos de pré-tratamento, rendimento na liberação de açúcares e parâmetros experimentais utilizados no processo. Além de somar às informações já apresentadas, o estudo visou acompanhar a tendência de cunho científico recente, na forma do estado da arte, preenchendo as lacunas e apresentando um direcionamento viável para o esclarecimento do tema abordado (GOMES e CAMINHA, 2014).

Por fim, a revisão bibliométrica, aqui realizada, pode ser utilizada para suprir essa lacuna deixada pelas simples revisões da literatura. Objetiva com isso resumir dados existentes, refinar hipóteses, estimar tamanhos de amostra e ajudar a definir o cronograma do trabalho futuro (MEDINA e PAILAQUILÉN, 2010). Também, claro, permitir mapear e gerar indicadores de tratamento e gestão da informação e do conhecimento.

2. Metodologia

A revisão bibliométrica foi realizada utilizando a base de dados da plataforma *Web of Science*. Inicialmente, realizou-se uma busca de caráter exploratória por artigos que tivesse como tópico relacionado o termo “*enzymatic hydrolysis*”, a partir do ano de 1945 (ano limite de registro de trabalhos na base de dados). Utilizando a ferramenta de análise de resultados da própria plataforma, os artigos puderam ser organizados por ano de publicação e país de origem, visando avaliar a progressão do estudo (LACERDA, ENSSLIN e ENSSLIN, 2012).

Para aumentar a relevância da pesquisa para o tema abordado, os artigos foram organizados pelo número de citações e as publicações anteriores ao ano de 2010 foram excluídas. Os 10 artigos mais citados foram apresentados e analisados quanto a seus conteúdos.

Posteriormente, outros termos foram adicionados a pesquisa: “*eucalyptus*”, este selecionado para aparecer no título das publicações; “*‘ethanol’ or ‘bioethanol’ or bioethanol*”; e “*‘pretreatment’ or ‘pretreated’*”. Os dois últimos termos foram selecionados para busca por tópicos, onde são mostrados artigos que contenha os termos no título, resumo e/ou palavras-chave. Os termos separados por ‘*or*’ tiveram o intuito de abranger artigos que utilizam termos diferentes para se referir a um mesmo processo ou produto. Também foram excluídos artigos que não estivessem nas línguas inglês, português ou espanhol (YAOYANG e BOEING, 2013).

Para que definir o número de artigos avaliados dentre os resultados, o tamanho da amostra foi calculado e utilizado como coeficiente de confiança. Esse cálculo é necessário

para garantir a representatividade dos dados coletados e legitimidade da pesquisa (Equação 1) (BARBETTA, 2007).

$$n = \frac{Z^2 \cdot \left(\frac{x}{n}\right) \cdot \left[1 - \left(\frac{x}{n}\right)\right] \cdot N}{(N - 1) \cdot e^2 + Z^2 \cdot \left(\frac{x}{n}\right) \cdot \left[1 - \left(\frac{x}{n}\right)\right]} \quad \text{Equação 1}$$

Em que: n é o tamanho da amostra calculado; N é o tamanho da população; e é o erro amostral; x/n é a proporção estimada do item pesquisado na amostra (%); e Z é o valor da abscissa da curva normal associada ao nível de confiança escolhido.

Os artigos de maior relevância nos termos de pesquisa foram lidos, analisados e seus principais resultados foram sintetizados como o estado da arte para a hidrólise enzimática do eucalipto, visando a obtenção de etanol de segunda geração.

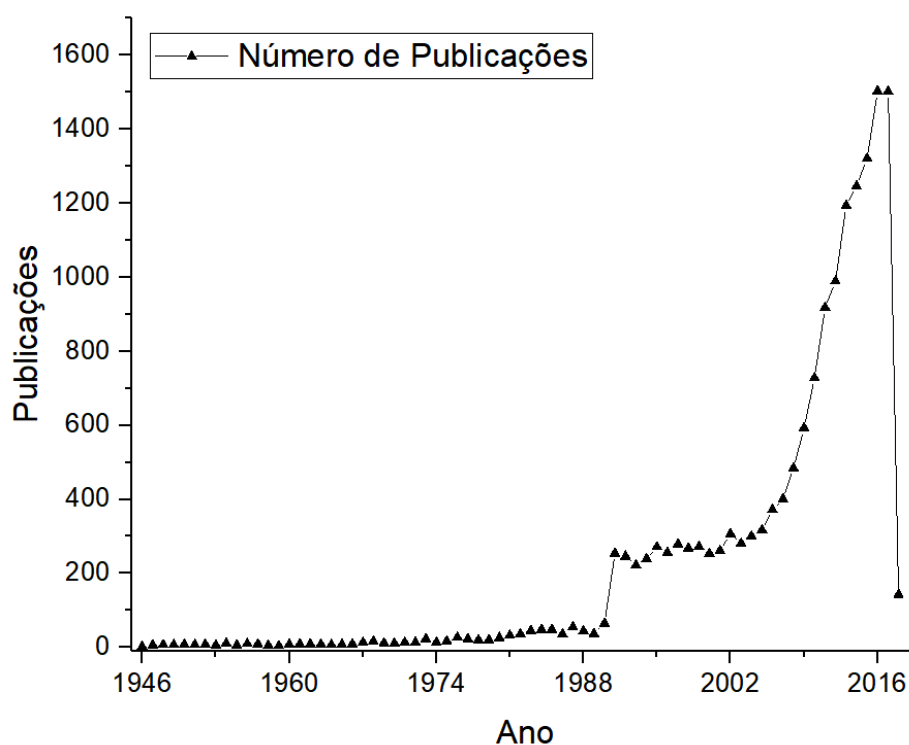
As informações dos autores, como país de origem e centros de pesquisa foram extraídos na plataforma *Web of Science* e salvos em extensão de arquivo “.txt”, sem formatação. Estes dados foram inseridos no *software* CiteSpace® versão 5.0. Através da ferramenta “*geographical*”, foi gerada uma rede de informações e localizações geográficas, que puderam ser inseridos no *software* Google Earth® para melhor observação das relações entre autores (CHEN *et al.*, 2012).

Ao final da revisão, elaborou-se uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities e Threats*) para melhor compreensão dos resultados e complementação das análises propostas. Assim, os fatores internos (pontos fortes e fracos) e externos (oportunidades e ameaças) da técnica foram compilados e apresentados em uma matriz (SILVEIRA, 2001).

3. Resultados e Discussão

A primeira pesquisa realizada na base de dados do *Web of Science*, apenas com o termo "*enzymatic hydrolysis*", retornou um resultado de 16.275 artigos publicados desde 1.946 (Figura 1). Como a base dispõe de publicações a partir do ano de 1.945, nota-se que, mesmo com um número baixo de artigos nos primeiros anos do arquivo, o estudo da hidrólise enzimática para diversos fins é antigo, podendo também haver publicações anteriores a esse ano limite.

Figura 1 - Número de artigos com o termo "*enzymatic hydrolysis*" publicados por ano, listados pela base *Web of Science*

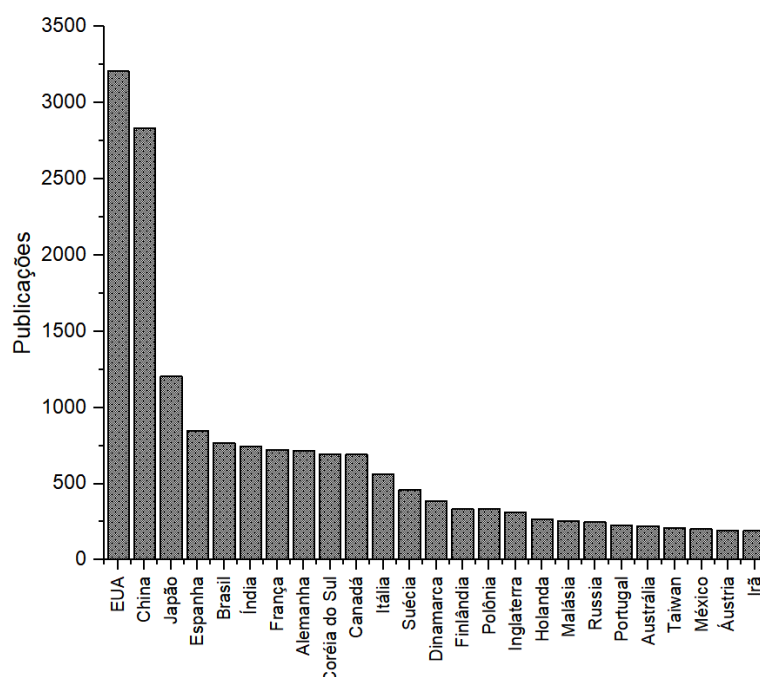


Fonte: o autor.

Até o ano de 1990, o crescimento do número de artigos publicados foi muito pequeno. A partir deste ano, nota-se um salto considerável nas publicações sobre o assunto. Ao investigar os motivos, foi possível observar que, a partir deste ano, os primeiros trabalhos que utilizavam a hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos para a produção de etanol combustível foram publicados. Essa nova aplicação pode ter contribuído para o aumento do interesse da comunidade acadêmica no assunto, que vem crescendo exponencialmente desde então.

Quando analisadas as primeiras publicações, observa-se que a hidrólise enzimática vinha sendo estudada majoritariamente para aminoácidos, peptídeos e proteínas. Os primeiros estudos voltados para a quebra da celulose por enzimas surgiram em 1950 e 51, quando Levinson, Mendels e Reese publicaram uma série de artigos onde investigavam o mecanismo de degradação da celulose por enzimas e a possível composição do complexo enzimático das celulases. O fato revela um pioneirismo na pesquisa pelos Estados Unidos. Porém muitos outros países contribuíram para o aumento do número de artigos. Os 25 primeiros estão organizados na Figura 2.

Figura 2 - Número de artigos com o termo "*enzymatic hydrolysis*" publicados por país, listados pela base *Web of Science*



Fonte: o autor.

Além de pioneiro nas pesquisas, os Estados Unidos também lideram o ranking de países com maior número de publicações sobre o tema, seguido pela China, que também apresenta um número considerável de publicações. O Brasil aparece em quinto lugar, posição de destaque, porém ainda com um baixo número de artigos, levando em consideração a extensão territorial e a grande produção de cana-de-açúcar, eucalipto e outros materiais lignocelulósicos que exigem um maior potencial de pesquisas para um melhor aproveitamento.

Dentre as publicações relacionadas a hidrólise enzimática, as 10 mais citadas de 2010 a 2018 foram selecionadas, visando avaliar quais tópicos mais recentes estão gerando maior interesse dos pesquisadores (Tabela 1).

Quadro 1 – 10 artigos mais citados na base de dados *Web of Science* quando pesquisado o termo "*enzymatic hydrolysis*"

Título	Autores
<i>Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance</i>	Park <i>et al.</i> (2010)
<i>Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review</i>	Belat (2011)
<i>Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation</i>	Talebnia, Karakashev e Angelidaki (2011)

<i>Woody biomass pretreatment for cellulosic ethanol production: Technology and energy consumption evaluation</i>	Zhu e Pan (2010)
<i>Genetic manipulation of lignin reduces recalcitrance and improves ethanol production from switchgrass</i>	Fu <i>et al.</i> (2011)
<i>Bioethanol production from rice straw: An overview</i>	Binod <i>et al.</i> (2010)
<i>Lignin content in natural Populus variants affects sugar release</i>	Studer <i>et al.</i> (2011)
<i>Production of bioethanol from sugarcane bagasse: Status and perspectives</i>	Cardona, Quintero e Paz (2010)
<i>Xylooligomers are strong inhibitors of cellulose hydrolysis by enzymes</i>	Qing, Yang e Wyman (2010)
<i>Traffic Jams Reduce Hydrolytic Efficiency of Cellulase on Cellulose Surface</i>	Igarashi <i>et al.</i> (2011)

Fonte: o autor.

Park *et al.* (2010) estudaram diferentes técnicas de para medir o índice de cristalinidade da celulose e seu impacto na interpretação do desempenho das celulases durante a hidrólise. Concluíram que, embora as celuloses com alto conteúdo amorfo sejam, em geral, mais facilmente digeridas por enzimas, uma pequena variação no índice de cristalinidade entre amostras não deve ser correlacionada com seu nível de conversão, já que outros parâmetros como a quantidade de lignina e/ou hemicelulose, e distribuição, porosidade e tamanho das partículas também podem afetar o acesso à celulose.

Balat (2011) fez uma revisão sobre a produção de bioetanol a partir de materiais lignocelulósicos por via bioquímica. Destaca as vantagens do bioetanol na redução da poluição ambiental e do consumo de petróleo, e que essa biomassa é mais promissora por ser uma matéria prima com alta disponibilidade e baixo custo.

Talebnia, Karakashev e Angelidaki (2011) fizeram uma revisão sobre a produção de bioetanol a partir da palha de trigo, onde compararam diferentes métodos de pré-tratamento, hidrólise enzimática e fermentação. Destacam que o pré-tratamento das amostras aumentam significativamente o rendimento da hidrólise, e que as diferentes técnicas possuem pouca variação no custo, visto que reatores e reagentes de baixo custo são contrabalanceados com maior custo de catalisadores e/ou no rendimento em etanol. Destacam também que o uso de celulases suplementadas com outras enzimas (como β -glicosidases e xilanases) aumentam a taxa de hidrólise.

Zhu e Pan (2010) estudaram o pré-tratamento da biomassa lignocelulósica, fazendo uma revisão das diferentes tecnologias e avaliando o consumo energético das técnicas de explosão a vapor, *organosolv* e SPORL, com este último obtendo melhores resultados. Também propõem que se faça uma redução de tamanho das partículas após o pré-tratamento químico para diminuir o consumo energético.

Fu *et al.* (2011) estudaram a hidrólise enzimática da planta *Panicum virgatum* L. e compararam com sua versão geneticamente manipulada, que teve um decréscimo no teor de lignina e em sua proporção siringil:guaiacil. A versão transgênica exigiu pré-tratamentos menos severos e doses menores de celulase, proporcionando um aumento no rendimento de etanol de 38 %.

Binod *et al.* (2010) fizeram uma revisão sobre a produção de bioetanol a partir da palha do arroz. Destacam que a palha possui alto teor de lignina, cinzas e sílica, porém estes problemas podem ser contornados com a escolha de pré-tratamentos apropriados.

Studer *et al.* (2011) estudaram a relação entre total de açúcares liberados durante a hidrólise enzimática e a quantidade de lignina e proporção siringil:guaiacil presentes em amostras de *Populus trichocarpa*. Eles encontraram evidências de que há uma forte diminuição na liberação de açúcares com o aumento do teor de lignina quando a proporção S/G é maior do que 2. Porém outros resultados sugeriram que estes não seriam os únicos fatores que influenciariam a liberação de açúcar, propondo estudos mais profundos das paredes celulares vegetais.

Cardona, Quintero e Paz (2010) pesquisaram sobre a produção de bioetanol a partir do bagaço da cana-de-açúcar. Estes também apresentaram vários métodos de pré-tratamento, apontando pontos fracos e fortes dos tratamentos ácido, alcalino, *organosolv* e oxidação úmida. Também fazem um comparativo econômico, apontando a produção de bioetanol a partir do bagaço mais lucrativo que a sua queima para geração de energia elétrica.

Qing, Yang e Wyman (2010) estudaram o efeito da xilose, xilano e xilooligômeros como inibidores na hidrólise enzimática da celulose. Demonstraram que os xilooligômeros tem maior poder de inibição das celulasas que os outros dois compostos estudados, e também que a glicose e celobiose, em proporções equimolares.

Igarashi *et al.* (2011) avaliaram o mecanismo de sacarificação da celulose pela ação das celulasas, deslocando CBH I unidirecionalmente ao longo da superfície da celulose cristalina. Os autores fizeram uma analogia com um engarrafamento quando houve uma interrupção coletiva das enzimas por impedimento espacial. Pré-tratamento e uso de CBH II simultaneamente reduziram o congestionamento molecular, por alterarem a forma polimórfica

da celulose, aumentando o número aparente de sítios livres e a eficiência da hidrólise.

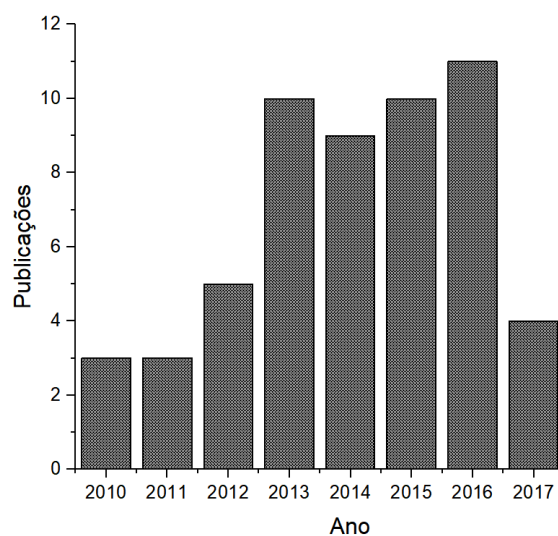
A partir destes dados, pode-se concluir que o campo da hidrólise enzimática mais estudado atualmente é o que se refere a materiais lignocelulósicos para a produção de bioetanol, visto que este tema é abordado em todos os 10 artigos mais citados. Isso demonstra o interesse da comunidade científica no melhoramento das tecnologias de obtenção de combustíveis alternativos ao petróleo.

Dentre a seleção, metade dos artigos (5) são revisões do tema abordado. A outra metade trata de técnicas de previsão de rendimentos e como a composição química dos materiais, estrutural e químicos inibidores, influenciam neste rendimento.

Porém, o número de artigos encontrados foi demasiado grande para uma análise significativa de suas informações. Assim os novos termos de pesquisa foram adicionados para refinamento dos resultados e direcionamento da hidrólise à biomassa em estudo, o eucalipto. Foram então encontrados 60 artigos publicados até o ano de 2017. O primeiro resultado data de 1993, em que Albornoz *et al.* realizam uma hidrólise simultânea com fermentação em amostras de *Eucalyptus globulus*. Após esse ano, houve um hiato sem publicações sobre o assunto até 2008, onde os estudos do uso de eucalipto para a produção de etanol de segunda geração foram retomados.

Novamente, visando os estudos mais atuais, foram considerados os artigos publicados a partir de 2010, totalizando 55 publicações, todas em inglês (Figura 3).

Figura 3 - Número de artigos relacionados a hidrólise enzimática de eucalipto para a produção de bioetanol, publicados a partir de 2010, listados pela base *Web of Science*

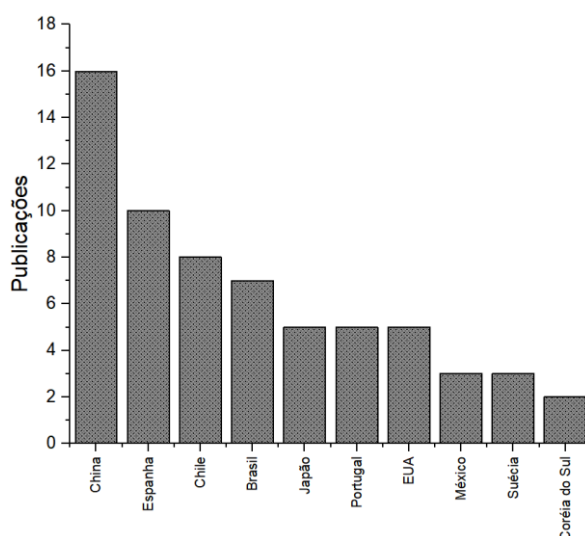


Fonte: o autor.

Observa-se um crescimento do interesse no assunto nos últimos anos, visto que das 60 publicações relacionadas, apenas 5 não ocorreram nos anos selecionados. Este desempenho

pode ser relacionado com o aumento da área plantada de eucalipto, que no Brasil teve um crescimento de quase 16 % entre 2010 e 2016, seguindo tendência mundial (IBÁ, 2017), e com o aumento da demanda energética (MME, 2017). Quanto aos países de origem, 19 registraram ao menos uma publicação. Os que publicaram mais de uma vez são mostrados na Figura 4.

Figura 4 - Número de artigos relacionados a hidrólise enzimática de eucalipto para a produção de bioetanol, publicados a partir de 2010, por país, listados pela base Web of Science



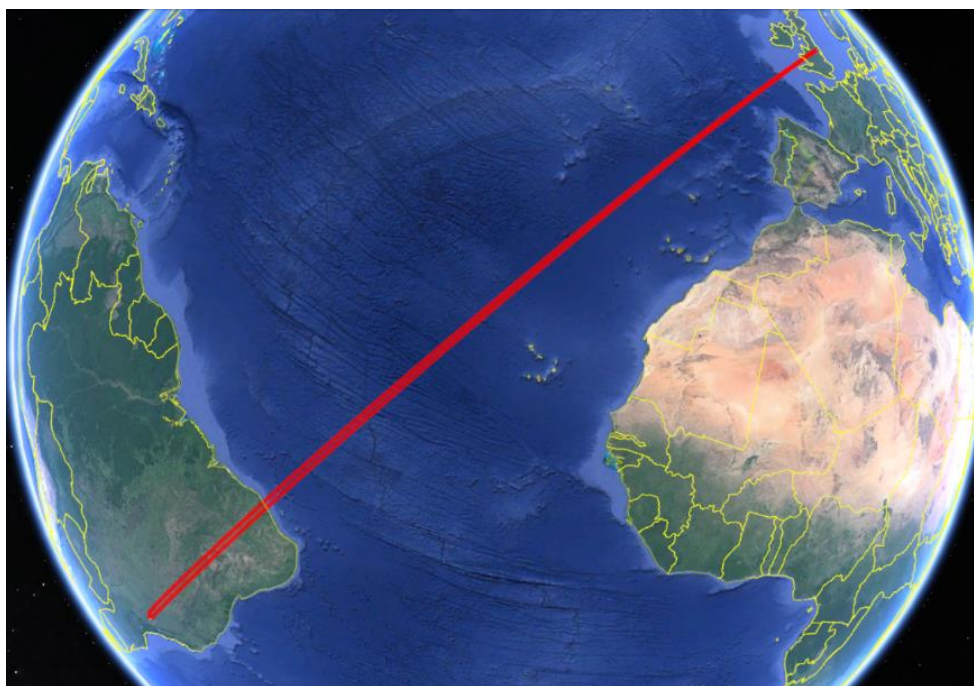
Fonte: o autor

Quando observadas as publicações referentes a hidrólise enzimática específica do eucalipto, encontra-se variação em relação às posições dos países. Dentre os citados, Brasil, China, Chile, Portugal e Espanha estão entre os 10 países com maior área plantada de eucalipto no mundo, com uma fatia de, respectivamente, 21 %, 13 %, 3 %, 3 % e 3 % do total (AREA e POPA, 2014). Isso pode explicar o aumento de publicações desses países em relação a outros, como os EUA. Curiosamente, a Índia, que possui a segunda maior área plantada de eucalipto (19 %), não possui nenhuma publicação sobre o tema.

Continuando, o tamanho da amostra calculado para representação neste estudo foi calculado com base na Equação 1, totalizando 15 artigos de referência. O critério de escolha destes, foram as mais citadas entre as 55 publicações encontradas com os termos utilizados anteriormente.

A partir desta amostra, verificou-se o relacionamento entre os autores e coautores de diferentes países e centros de pesquisa. Nota-se que há apenas uma interação de grupos internacional, com pesquisadores de duas cidades diferentes do Brasil com um grupo de pesquisa na Inglaterra (Figura 5).

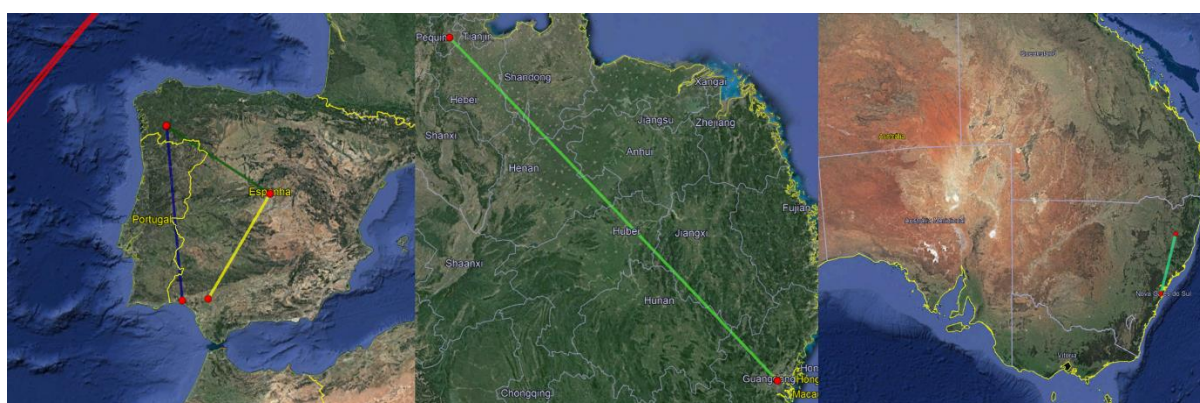
Figura 5 - Relação entre os autores Brasil - Inglaterra



Fonte: o autor.

As outras interações são nacionais, sendo que na Espanha, quatro grupos trabalharam em conjunto em três publicações diferentes. Na China e na Austrália também houve ocorrência de grupos interestaduais trabalhando em conjunto (Figura 6). Sendo que, todos os outros grupos trabalharam individualmente, localizados nos Estados Unidos, Brasil e Suécia.

Figura 6 - Relação entre os autores Espanha; China; e Austrália



Fonte: o autor.

Discorrendo melhor sobre a evolução da pesquisa científica e relacionamento entre esses autores, podemos citar, por exemplo, que Romaní *et al.* (2010a) avaliaram a produção de bioetanol a partir de amostras de *Eucalyptus globulus* pré-tratadas hidrotérmicamente, variando a temperatura máxima de tratamento entre 195 e 250 °C. Os melhores rendimentos em termos de celulose livre e liberação de açúcares foram alcançados quando a temperatura

máxima de pré-tratamento foi próxima aos 230 °C. Temperaturas superiores resultaram na degradação parcial da celulose.

Yu *et al.* (2010) elaboraram um pré-tratamento hidrotérmico em duas etapas, visando aumentar o rendimento da hidrólise enzimática de amostras de *Eucalyptus grandis*. O tratamento consistiu em deixar o substrato em água quente (180-200 °C) por determinado tempo (10 a 60 minutos), drenar o hidrolisado e adicionar novamente água quente, mantendo a proporção de sólido/líquido, para uma nova etapa de pré-tratamento. Concluíram que a primeira etapa deveria ser feita a 180 °C por 20 minutos, seguido por outra etapa a 200 °C por mais 20 minutos, fornecendo rendimentos superiores comparados a pré-tratamento em uma etapa ou com ácido diluído.

Também, Romaní *et al.* (2011) estudaram o fracionamento de amostras de *Eucalyptus globulus*, utilizando uma sequência de pré-tratamentos hidrotérmico e *organosolv*. Dessa forma, três correntes separadas foram obtidas, sendo a primeira contendo hemicelulose solubilizada pela autohidrólise no tratamento hidrotérmico; a segunda de fragmentos de lignina livre de enxofre, proveniente da deslignificação *organosolv*; e a última de solução de glicose, obtida pela hidrólise enzimática da celulose.

Já Rico *et al.* (2014) utilizaram um pré-tratamento enzimático, com o uso da lacase *Myceliophthora thermophila* e siringato de metila como mediador. Eles reportaram uma remoção de lignina de até 50 % em amostras de *Eucalyptus globulus*, comparado com o material in natura. Consequentemente, o rendimento de glicose e xilose aumentaram aproximadamente 40 % durante a hidrólise enzimática.

Li *et al.* (2013) compararam a hidrólise enzimática de *Eucalyptus globulus*, *Pinus radiata* e *Panicum virgatum* L. pré-tratados com líquido iônico e ácido diluído. Os rendimentos em açúcares obtidos após a hidrólise foram de 93, 62 e 96 %, respectivamente, quando pré-tratados com líquido iônico. O tratamento com ácido diluído não foi eficaz para o eucalipto e pinus nas condições estudadas (1,2 %, 160 °C e 15 minutos).

Lima *et al.* (2013) estudaram os efeitos dos pré-tratamentos ácido, alcalino e da combinação de ambos em diferentes concentrações no rendimento da hidrólise enzimática da casca de duas espécies de eucalipto: *E. grandis* e *E. urograndis*. A maior liberação de glicose foi obtida quando apenas o pré-tratamento alcalino foi empregado, mesmo com o tratamento combinado retirando uma maior porcentagem de lignina e hemicelulose. Concluíram que este efeito foi devido a maior perda de glicose durante a etapa ácida de pré-tratamento.

Gonzales *et al.* (2011) utilizaram dados médios da literatura para simular os custos de

produção de etanol a partir de *Eucalyptus urograndis* pré-tratado com ácido diluído. O rendimento calculado foi de 347,6 L de etanol por tonelada de biomassa seca, ao custo de US\$ 0,46 por litro. Verificaram que os principais custos do processo são a matéria-prima (33 %), enzimas (16 %), impostos (14 %), combustível (7 %), mão-de-obra (6 %) e depreciação de equipamentos (5 %).

Wei, Wu e Liu (2012) estudaram a hidrólise enzimática do eucalipto testando diferentes condições de pré-tratamento com ácido diluído. Encontraram um rendimento máximo de açúcares totais (xilose e glicose, somando o liberado no pré-tratamento e ao final da hidrólise) de 82 % quando a concentração de ácido foi de 0,75 % por 10 minutos a 160 °C,

Romaní, Garrote e Parajo (2012) fizeram um planejamento experimental para avaliar a influência da proporção sólido/líquido (6,25-25 %) na hidrólise enzimática de *Eucalyptus globulus*, variando também a concentração enzimática (4-16 FPU/g) e a temperatura no pré-tratamento hidrotérmico (210-230 °C). A maior conversão de etanol foi encontrada nas condições de S/L = 10 %, 16 FPU/g e 220 °C.

Wei, Wu e Liu (2013) testaram os melhores parâmetros de tempo e temperatura do pré-tratamento hidrotérmico (180 °C por 20 minutos) e combinaram com uma moagem em disco úmido para aumentar o rendimento da hidrólise enzimática de eucalipto. O rendimento máximo de xilose e glicose liberados foi de 91,62 e 88,12 %, respectivamente, do total disponível nas amostras. Os resultados foram superiores ao uso do tratamento hidrotérmico sozinho e ao de ácido diluído realizado previamente pelos autores.

De Carvalho *et al.* (2015) avaliaram as transformações químicas da matéria em *Eucalyptus urograndis* e em bagaço e palha de cana-de-açúcar durante os pré-tratamentos hidrotérmicos, ácido diluído e alcalino. Concluíram que o tratamento com ácido diluído exerce grande influência na retirada de hemiceluloses em todas as amostras, eliminando-a quase por completo; o tratamento alcalino tem maior influência na retirada de lignina, principalmente nas amostras derivadas da cana-de-açúcar; e o tratamento hidrotérmico teve menor rendimento para todas as amostras. O índice de cristalinidade da celulose foi maior após todos os pré-tratamentos nas três biomassas estudadas.

McIntosh *et al.* (2012) elaboraram um planejamento fatorial para avaliar a influência das variáveis em um pré-tratamento com ácido diluído na hidrólise enzimática de *Eucalyptus dunnii* proveniente do desbaste de plantações. A melhor condição de tratamento foi com 0,5 % de ácido, por 7 minutos a 195 °C, sendo estes os maiores valores de cada parâmetro estudados no processo, e resultou 74 % de conversão teórica da celulose em glicose.

Romaní *et al.* (2010b) desenvolveram um modelo empírico para predição da

quantidade de glicose liberada ao fim da hidrólise enzimática de *Eucalyptus globulus* pré-tratado hidrotermicamente a partir dos dados severidade do pré-tratamento, tempo de hidrólise, proporção líquido/sólido e concentração enzimática.

Sun *et al.* (2013) compararam o rendimento da hidrólise enzimática da celulose proveniente de eucalipto pré-tratada com diferentes líquidos iônicos e catalisadores, obtendo rendimentos superiores a 80 % de conversão em glicose. Também constataram que catalisadores como $MgCl_2$ e H_2SO_4 podem melhorar o rendimento do pré-tratamento.

Romaní *et al.* (2013) avaliaram o rendimento da hidrólise enzimática em *Eucalyptus globulus* tratados com explosão de vapor em diferentes temperaturas e tempo de permanência. Os melhores rendimentos (98,7 % de glicose liberada do total) foram obtidos com o uso dos parâmetros 195 °C e 34 minutos. A conversão de celulose livre em glicose foi de 99,5 %.

Assim, quando analisados os artigos mais citados (Tabela 2), observa-se que praticamente todos avaliam parâmetros do pré-tratamento do material. Apenas três dos 15 trabalhos propõem a variação de parâmetros da hidrólise para avaliar seu rendimento. Porém, quando fazemos uma comparação entre os parâmetros utilizados por cada autor, percebe-se que há discrepância entre todos os valores. Isso demonstra que a etapa de pré-tratamento é crucial para a melhora do rendimento, mas também comprova a necessidade de pesquisas avaliativas dos parâmetros utilizados nas hidrólises.

A partir dos dados coletados, foi possível identificar os pontos positivos e negativos da técnica que vem sendo discutidos pelos estudos recentes através de uma análise SWOT. Na matriz elaborada (Tabela 3), as vantagens e desvantagens são listadas como suas forças e fraquezas, que são fatores internos ao processo. Os fatores externos são divididos em oportunidades e ameaças, que são as tendências alheias ao processo que podem contribuir ou prejudicar o seu uso.

Tabela 1 - Resumo dos dados de hidrólise enzimática dos autores consultados

(Continua)

Autores	Pré-tratamento	S/L (%)	Concentração Enzimática (FPU/g)	Temperatura (°C)	Rotação (rpm)	pH	Tempo (h)	Granulometria (mm)
Romaní <i>et al.</i> (2010a)	Hidrotérmico	2,5 - 5	6,2 - 10,3 (BGL 10 UI/FPU)	48,5	150	4,85	96	< 8
Yu <i>et al.</i> (2010)	Hidrotérmico em duas etapas	5	40	50	--	4,8	72	0,177-0,420
Romaní <i>et al.</i> (2011)	Hidrotérmico; Organosolv	4	10,3 (BGL 51,5 UI/g)	48,5	150	4,85	72	< 8
Rico <i>et al.</i> (2014)	Enzimático (lactase)	1	2 (BGL 6 UI/g)	45	170	5	72	< 0,149
Li <i>et al.</i> (2013)	Ácido diluído; Líquido iônico	0,5	3,5 (BGL 4,5 UI/g)	50	150	4,8	24	< 0,420
Lima <i>et al.</i> (2013)	Ácido diluído; Alcalino	5	25 (BGL 12,5 BGLU/g)	50	200	5	48	0,250 - 0,420
Gonzalez <i>et al.</i> (2011)	Ácido diluído	--	--	--	--	--	--	--
Wei, Wu e Liu (2012)	Ácido diluído	2	20	50	150	4,8	60	< 5

Tabela 1 - Resumo dos dados de hidrólise enzimática dos autores consultados

Autores	Pré-tratamento	S/L (%)	Concentração Enzimática (FPU/g)	Temperatura (°C)	Rotação (rpm)	pH	Tempo (h)	Granulometria (mm)	(Conclusão)
Romaní, Garrote e Parajo (2012)	Hidrotérmico	6,25 - 25	4 - 16 (BGL 5 UI/FPU)	35	150	5	96	< 8	
Wei, Wu e Liu (2013)	Hidrotérmico; Moagem em disco úmido	2	20	50	150	4,8	60	< 5	
De Carvalho et al. (2015)	Hidrotérmico; Ácido diluído; Alcalino	--	--	--	--	--	--	--	
McIntosh et al. (2012)	Ácido diluído	10	10,5	50	40	5,2	48	1,0 - 1,4	
Romaní et al. (2010b)	Hidrotérmico	5 - 16,7	8 - 28 (BGL 200 UI/g)	48,5	150	4,85	96	< 8	
Sun et al. (2013)	Líquido iônico	4	15 (BGL 150 UI/g)	50	180	4,8	72	< 0,841	
Romaní et al. (2013)	Explosão de vapor	5	50	50	150	4,85	96	< 8	

Fonte: o autor.

Quadro 2 - Matriz SWOT do processo de hidrólise enzimática para a produção de

bioetanol

FORÇAS	FRAQUEZAS
<ul style="list-style-type: none">- Fonte renovável;- Condições do processo amenas;- O pré-tratamento pode ser realizado de maneiras distintas;- Produção eficiente de etanol;- Rendimento e custo comparáveis aos modelos atuais de produção etanol.	<ul style="list-style-type: none">- Presença de inibidores diminui o rendimento do processo;- O uso de suplementação do coquetel enzimático para aumentar o rendimento, pode encarecer o processo;- Enzimas são sensíveis a variações bruscas de condições externas;- Requer etapas adicionais de pré-tratamento para produção de etanol.
OPORTUNIDADES	AMEAÇAS
<ul style="list-style-type: none">- Matéria-prima abundante e barata;- Pode ser proveniente de resíduos industriais;- Pode ser aplicado a diversos materiais lignocelulósicos;- Novos estudos para aumentar o rendimento de hidrólise.	<ul style="list-style-type: none">- O uso de maior quantidade de enzimas pode encarecer o processo;- Pequenas variações nos parâmetros de processo podem reduzir o rendimento;- A escolha do pré-tratamento deve ser feita com base no estudo de custo de reatores, energético e de materiais.

Fonte: o autor.

4. Conclusão

Com a revisão bibliométrica realizada na base de dados *Web of Science*, foi possível identificar que a maioria dos trabalhos recentes sobre hidrólise enzimática são relativos a produção de bioetanol. Essa técnica obteve maior interesse da comunidade científica a partir dos anos de 1990, quando os primeiros trabalhos sobre o tema foram publicados e foi possível observar a ascensão de suas pesquisas.

A produção de bioetanol a partir de hidrólise enzimática do material lignocelulósico é uma ótima alternativa para produção de energia limpa e renovável. As condições brandas, próximas a ambiente, reduzem os gastos energéticos decorrentes do processo. A abundância de matéria-prima barata, produzidas para esse objetivo específico ou como rejeito de outros processos industriais, também contribui para a redução dos custos, sendo obtidos ótimos resultados e rendimentos com o uso de madeira de eucalipto.

O pré-tratamento do material é uma etapa bastante estudada, pois a escolha da técnica correta é essencial para obtenção de bons rendimentos, com a menor produção de inibidores e menores gastos com reatores, catalizadores ou reagentes.

Os parâmetros da hidrólise enzimática não foram observados constantes. Os autores pesquisados variavam os parâmetros de acordo com suas próprias condições, sendo pouco observado o estudo da influência de cada um destes no processo de hidrólise. Estudos dos valores ideais são requeridos para que o refinamento do processo seja atingido e aumente sua competitividade ante a processos mais tradicionais de obtenção de etanol, a partir do caldo da cana-de-açúcar, beterraba ou amido.

Referências

ALBORNOZ, C. *et al.* Coupled saccharification and fermentation of pretreated eucalyptus wood - A simple kinetic-model. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 9, n. 3, p. 313-318, 1993.

AREA, M. C.; POPA, V. I. **Wood Fibres for Papermaking**. Shrewsbury: Smithers Rapra. 2014.

BALAT, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. **Energy Conversion and Management**, v. 52, n. 2, p. 858-875, 2011.

BARBETTA, P. A. **Estatística Aplicada Às Ciências Sociais**. 7ª Ed. Florianópolis: Editora UFSC. 2007.

BINOD, P. *et al.* Bioethanol production from rice straw: An overview. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4767-4774, 2010.

CARDONA, C. A.; QUINTERO, J. A.; PAZ, I. C. Production of bioethanol from sugarcane bagasse: Status and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4754-4766, 2010.

CHEN, C.; HU, Z.; LIU, S.; TSENG, H. *Emerging trends in regenerative medicine: a scientometric analysis in CiteSpace*. **Expert Opinion On Biological Therapy**, v. 12, n. 5, p. 593-608, 2012.

COSTA, C. C.; BURNQUIST, H. L. Impactos do controle do preço da gasolina sobre o etanol biocombustível no Brasil. **Estudos Econômicos**. São Paulo, v. 46, n. 4, p. 1003-1028, 2016.

DE CARVALHO, D. M. *et al.* Assessment of chemical transformations in eucalyptus, sugarcane bagasse and straw during hydrothermal, dilute acid, and alkaline pretreatments. **Industrial Crops and Products**, v. 73, p. 118-126, 2015.

FU, C. X. *et al.* Genetic manipulation of lignin reduces recalcitrance and improves ethanol production from switchgrass. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 9, p. 3803-3808, 2011.

GOMES, I. S.; CAMINHA, I. O. Guia para estudos de revisão sistemática: uma opção metodológica para as Ciências do Movimento Humano. **Movimento**, Porto Alegre, v. 20, n. 01, p. 395-411, 2014.

GONZALEZ, R. *et al.* Converting Eucalyptus biomass into ethanol: Financial and sensitivity analysis in a co-current dilute acid process. Part II. **Biomass & Bioenergy**, v. 35, n. 2, p. 767-772, 2011.

IGARASHI, K. *et al.* Traffic Jams Reduce Hydrolytic Efficiency of Cellulase on Cellulose Surface. **Science**, v. 333, n. 6047, p. 1279-1282, 2011.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. **Relatório Anual Iba 2017**. Brasília: Indústria Brasileira de Árvores, 2017. Disponível em: <http://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf>. Acesso em: 02 jan. 2018.

LACERDA, R. T. O.; ENSSLIN, L.; ENSSLIN, S. R. Uma análise bibliométrica da literatura sobre estratégia e avaliação de desempenho. **Gestão & Produção**, v. 19, n. 1, 2012.

LEVINSON, H. S.; REESE, E. T. Enzymatic hydrolysis of soluble cellulose derivatives as measured by changes in viscosity. **Journal of General Physiology**, v. 33, n. 5, p. 601-628, 1950.

LEVINSON, H. S.; MENDELS, G. R.; REESE, E. T. Products of enzymatic hydrolysis of cellulose and its derivatives. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 31, n. 3, p. 351-365, 1951.

LI, C. L.; SUN, L.; SIMMONS, B. A.; SINGH, S. Comparing the Recalcitrance of Eucalyptus, Pine, and Switchgrass Using Ionic Liquid and Dilute Acid Pretreatments. **Bioenergy Research**, v. 6, n. 1, p. 14-23, 2013.

LIMA, M. A. *et al.* Effects of pretreatment on morphology, chemical composition and enzymatic digestibility of eucalyptus bark: a potentially valuable source of fermentable sugars for biofuel production - part 1. **Biotechnology for Biofuels**, v. 6, n. 75, 2013.

LIMA, M. S. O.; REBELATTO, D. A. N.; SAVI, E. M. S. O papel das fontes renováveis de energia na mitigação da mudança climática. In: **XIII Simpósio de Engenharia de Produção**. Anais... Bauru: UNESP, 2006.

MCINTOSH, S.; VANCOV, T.; PALMER, J.; SPAIN, M. Ethanol production from Eucalyptus plantation thinnings. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 264-272, 2012.

MEDINA, E. U.; PAILAQUILÉN, R. M. B. A revisão sistemática e a sua relação com a prática baseada na evidência em saúde. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**: Ribeirão Preto, v. 18, n. 4, p. 1- 8 2010.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **Resenha Energética Brasileira**: exercício de 2016. Brasília: Secretaria de Planejamento e Desenvolvimento Energético, 2017. Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/documents/10584/3580498/02+-+Resenha+Energ%C3%A9tica+Brasileira+2017+-+ano+ref.+2016+%28PDF%29/13d8d958-de50-4691-96e3-3ccf53f8e1e4?version=1.0>>. Acesso em: 02 jan. 2018.

PARK, S. *et al.* Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. **Biotechnology for Biofuels**, v. 3, n. 10, 2010.

PEREIRA JÚNIOR, N.; COUTO, M. A. P. G.; SANTA ANNA, L. M. M. Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and the context of biorefinery. In: **Series on Biotechnology**. Rio de Janeiro: Amiga Digital UFRJ, Volume 2, 2008.

PITARELO, A. P.; SILVA, T. A.; PERALTA-ZAMORA, P. G.; RAMOS, L. P. Efeito do teor de umidade sobre o pré-tratamento a vapor e a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 35, n. 8, p. 1-8, 2012.

QING, Q.; YANG, B.; WYMAN, C. E. Xylooligomers are strong inhibitors of cellulose hydrolysis by enzymes. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 24, p. 9624-9630, 2010.

RICO, A. *et al.* Pretreatment with laccase and a phenolic mediator degrades lignin and enhances saccharification of Eucalyptus feedstock. **Biotechnology for Biofuels**, v. 7, n. 6, 2014.

ROMANI, A.; GARROTE, G.; ALONSO, J. L.; PARAJO, J. C. Bioethanol production from hydrothermally pretreated Eucalyptus globulus wood. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 22, p. 8706-8712, 2010a.

ROMANI, A.; GARROTE, G.; ALONSO, J. L.; PARAJO, J. C. Experimental Assessment on the Enzymatic Hydrolysis of Hydrothermally Pretreated Eucalyptus globulus Wood. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 49, n. 10, p. 4653-4663, 2010b.

ROMANI, A.; GARROTE, G.; LOPEZ, F.; PARAJO, J. C. Eucalyptus globulus wood fractionation by autohydrolysis and organosolv delignification. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 10, p. 5896-5904, 2011.

ROMANI, A.; GARROTE, G.; PARAJO, J. C. Bioethanol production from autohydrolyzed Eucalyptus globulus by Simultaneous Saccharification and Fermentation operating at high solids loading. **Fuel**, v. 94, n. 1, p. 305-312, 2012.

ROMANI, A.; GARROTE, G.; BALLESTEROS, I.; BALLESTEROS, M. Second generation bioethanol from steam exploded Eucalyptus globulus wood. **Fuel**, v. 111, p. 66-74, 2013.

SILVEIRA, H. SWOT. In: **Inteligência Organizacional e Competitiva**. Org. TARAPANOFF, K. Brasília: Editora UNB. 2001.

STUDER, M. H. *et al.* Lignin content in natural Populus variants affects sugar release. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.108, n. 15, p. 6300-6305, 2011.

SUN, Y. C.; XU, J. K.; XU, F.; SUN, R. C. Structural comparison and enhanced enzymatic hydrolysis of eucalyptus cellulose via pretreatment with different ionic liquids and catalysts. **Process Biochemistry**, v. 48, n. 5-6, p. 844-852, 2013.

TALEBNIA, F.; KARAKASHEV, D.; ANGELIDAKI, I. Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4744-4753, 2010.

WEI, W. Q.; WU, S. B.; LIU, L. G. Enzymatic saccharification of dilute acid pretreated eucalyptus chips for fermentable sugar production. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 302-307, 2012.

WEI, W. Q.; WU, S. B.; LIU, L. G. Combination of liquid hot water pretreatment and wet disk milling to improve the efficiency of the enzymatic hydrolysis of eucalyptus. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 725-730, 2013.

YAOYANG, X.; BOEING, W.J. *Mapping biofuel field: a bibliometric evaluation of research output*. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 28, p. 82-91, 2013.

YU, Q. *et al.* Two-step liquid hot water pretreatment of Eucalyptus grandis to enhance sugar recovery and enzymatic digestibility of cellulose. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4895-4899, 2010.

ZHU, J. Y.; PAN, X. J. Woody biomass pretreatment for cellulosic ethanol production: Technology and energy consumption evaluation. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4992-5002, 2010.