ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO COMO ALTERNATIVA PARA UTILIZAÇÃO DE COMBUSTÍVEIS FÓSSEIS

**Resumo**

**O etanol de segunda geração vem sido apontado como uma alternativa aos combustíveis derivados do petróleo, já que eles são obtidos de biomassa lignocelulósica, constituída principalmente por celulose, hemicelulose e lignina. Porém, a biomassa precisa de um pré-tratamento para que os açúcares fermentescíveis sejam liberados para produção de etanol. O pré-tratamento pode ser realizado a partir de métodos químicos, físicos e biológicos. Entre os métodos biológicos pode-se citar a utilização da enzima celulase, que são biocatalizadores altamente específicos na degradação da celulose e hemicelulose. Neste contexto, o** objetivo realizar um levantamento bibliográfico, a partir de artigos científicos sobre a importância da produção de etanol de segunda geração, descrevendo as vantagens da utilização enzimas celulases como alternativa do pré-tratamento da biomassa lignocelulósica.

**Palavras-chave:** celulase;hidrólise da biomassa lignocelulósica;bioetanol;biomassa

**ABSTRACT**

Second-generation ethanol has been identified as an alternative to petroleum-derived fuels, since they are obtained from lignocellulosic biomass, consisting mainly of cellulose, hemicellulose and lignin. However, biomass needs to be pre-treated so that fermentable sugars can be released for ethanol production. Pre-treatment can be performed using chemical, physical and biological methods. Among the biological methods we can mention the use of the enzyme cellulase, which are highly specific biocatalysts in the degradation of cellulose and hemicellulose. In this context, the objective is to carry out a bibliographic survey, based on scientific articles on the importance of second-generation ethanol production, describing the advantages of using cellulose enzymes as an alternative to the pre-treatment of lignocellulosic biomass.

**Keywords**: cellulase;lignocellulosic biomass hydrolysis; bioethanol; biomass

1. INTRODUÇÃO

O etanol é um álcool etílico (C2H5OH), produzido a partir da fermentação de açúcares encontrados em produtos vegetais. Boa parte da produção do etanol industrial ainda é feita por fermentação, embora também sejam feitos de forma sintética de fontes como o eteno que é derivado do petróleo (BASTOS, 2007).

Os biocombustíveis produzidos a partir da biomassa vegetal, também denominados combustíveis de segunda geração, são vistos como alternativa econômica-ambiental, quando comparados aos impactos causados pela queima de combustíveis fósseis (AZEVEDO; LIMA, 2016). A produção de biocombustíveis como o bioetanol e o biodiesel a partir de biomassa atende particularmente as necessidades de transporte veicular, pois ainda não existem outras formas renováveis além dos biocombustíveis com viabilidade econômica e tecnológica suficientes. (ZHANG; SMITH, 2007).

As tecnologias disponíveis no mercado para produção de bioetanol de segunda geração a partir de biomassas envolvem ganhos ambientais e energéticos bastante estreitos com exceção da cana de açúcar, essas matérias-primas apresentam uma vantagem econômica limitada e encontram mercados alternativos mais remunerados, como alimentos e insumos para outros fins. Apesar das vantagens da produção de etanol a partir da cana-de-açúcar, ela não é a opção mais viável em todas as regiões do planeta, em razão disso, países do hemisfério norte vem procurando alternativas tecnológicas para a produção de biocombustível eficiente do ponto de vista ambiental e econômico. (BNDES, 2008)

Considera-se biomassa qualquer matéria orgânica que possui energia química que possa ser transformada em energia mecânica, térmica ou elétrica. Ela pode ser de origem agrícola, florestal, indústrias, rejeitos urbanos ou animais. Seus derivados são obtidos através da tecnologia e processamento das matérias-primas. (NALI, et al., 2016).

Por serem compostos de difícil decomposição, a utilização de enzimas específicas, as chamadas celulases, tem sido alvo de diversas pesquisas no Brasil e no mundo, já que sua utilização é mais vantajosa do que a decomposição por compostos químicos, pois as enzimas são caracterizadas por sua alta especificidade, por atuar em condições amenas de temperatura e pressão e por não gerar produtos secundários que inibem a fermentação alcoólica (PINTO et al., 2014). Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo realizar um levantamento bibliográfico, a partir de artigos científicos, a produção de etanol de segunda geração, destacando as vantagens da utilização enzimas celulases como alternativa do pré-tratamento da biomassa lignocelulósica.

1. METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão de literatura, a partir de artigos científicos, levando em consideração a seguinte pergunta problema: “Produção de etanol de segunda geração”, “biomassa lignocelulósica” e “hidrólise enzimática da biomassa lignocelulósica a partir de celulase para produção de etanol de segunda geração”. Como critério de inclusão e exclusão foi utilizado artigos científicos publicados entre anos de 1994 e 2019. A coleta de dados foi realizada a partir de leituras selecionando os dados relevantes, relacionados ao tema. Os artigos selecionados relacionados ao tema, foram utilizados para compor os resultados e discussão.

1. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os combustíveis de primeira geração podem ser produzidos através do processamento de amido, óleo vegetal, gordura animal ou açúcar, baseiam-se da cana de açúcar, beterraba doce, trigo, mandioca e milho (CARVALHO et al., 2013). Combustíveis de segunda geração são produzidos a partir de materiais lignocelulósicos, ou seja, da utilização de matéria--prima não específica e reaproveitada. Esse processo de produção caracteriza uma alternativa para o uso energético da biomassa, apresentando vantagens econômicas e ambientais (PACHECO, 2011).

O bioetanol de segunda geração vem sendo produzido desde o final do século XIX, mas a tecnologia para atender o mercado de combustíveis foi proposta nos últimos 20 anos. Nos Estados Unidos e na Europa são conduzidos os principais programas de pesquisa e desenvolvimento em escalas experimentais, mas o sucesso do estudo poderia transformar o bioetanol um combustível possível de ser produzido em todas as regiões do mundo, utilizando-se da alta disponibilidade desses resíduos originados de diversas fontes.

Segundo Santiago e Rodrigues (2017), o etanol de segunda geração vem sido apontado como uma alternativa aos combustíveis derivados do petróleo, já que eles são obtidos de biomassa lignocelulósica. A biomassa lignocelulósica é renovável, bem distribuída geograficamente e vantajosa ao meio ambiente, devido ao fato de fixar CO2, não competem com a agricultura que é voltada para alimentação humana e é encontrado em abundância, além de apresentar baixo custo.

Os compostos lignocelulósicos são constituídos em suas estruturas por três polímeros, a celulose, a hemicelulose e um polímero aromático denominado lignina, presentes nas paredes celulares vegetais (LINO, 2015).

A celulose é um polímero linear e corresponde de 23% a 50% da matéria seca da biomassa lignocelulósica, 15.000 unidades de β-D-glicoses unidas por ligações glicosídicas β-1,4 carbono-carbono, por ligações de hidrogênio intermoleculares que são responsáveis pela rigidez, e por interações intramoleculares responsáveis pela formação das fibras de celulose (ARANTES; SADDLER, 2010).

Encontrada no formato de microfibrilas, a celulose possui regiões cristalinas intercaladas por regiões amorfas (STICKLEN, 2008; ALVES, 2011). Cada microfibila é constituído por varias unidades de glicose (monômero) e celobiose (dímero de glicose), aglutinadas ao longo do seu comprimento, ligadas por pontes de hidrogênios (GUTMAIS, 2008).

Considerando a massa do material lignocelulósico, a hemicelulose representa 35% de sua composição (TRAJANO et al., 2013). É uma classe de carboidratos que possuem composição e estruturas variáveis de acordo com o tipo de planta. São polissacarídeos que tem a estrutura amorfa com cadeia ramificada e podem conter pentoses e ácidos urônicos. Grupos de hidroxila nos açúcares podem ser substituídos parcialmente por grupos de acetila (GÍRIO et al., 2010). Devido a essas particularidades, a hemicelulose oferece menor resistência à conversão do que a celulose (SHIMIZU, 2018).

A lignina é uma macromolécula complexa de compostos polifenólicos em uma estrutura tridimensional que parcialmente encapsula os polissacarídeos nas paredes celulares de plantas. Por outro lado, a hemicelulose são polissacarídeos heterogênicos ramificados e amorfos, exibindo baixa recalcitrância comparada com a lignina (DAVISON et al., 2013). A lignina é o maior depósito de estruturas químicas aromáticas além de ser um dos maiores estoques de carbono/energia da natureza. O foco dos estudos com a lignina está voltado para o uso desse material como fonte de energia para processos, já que proporcionaria redução à dependência de recursos energéticos fósseis, sendo assim seu uso positivo para as questões econômicas e ambientais (JR. et al., 2008).

Para obtenção de etanol de segunda geração, é necessária a ruptura de estrutura da matriz do material fibroso e liberação dos açúcares fermentescíveis que é realizada a partir de um pré-tratamento. O pré-tratamento, ou tratamento termoquímico é a conversão de biomassa pelo uso da celulase. Essas são etapas necessárias para obtenção de monômeros livres de glicose que serão utilizados na produção de bioetanol. A obtenção da celulase é o processo mais custoso da produção de bioetanol de segunda geração, portanto novas técnicas têm sido estudadas a fim de diminuir esse custo (CHUNDAWAT et al., 2011). O pré-tratamento é a chave para aproveitar porções diferentes da biomassa celulósica (ZHU *et al*., 2015). Ele deve possuir um baixo custo por capital e operacional, deve ser efetivo para alta concentração e grande variedade de biomassa, e também facilita utilização de maior quantidade de possíveis frações do material, assim minimizar correntes degradadas (AGBOR et al., 2011).

Existem vários tipos de pré-tratamentos que são usados para elevar o sucesso da associação celulose-hemicelulose-lignina e com isso, melhorar a hidrólise enzimática. Esses podem ser processos físicos, químicos e biológicos (ALVES, 2011). No pré-tratamento físico, a biomassa é fragmentada pela combinação de pulverização, trituração e moagem (KUMAR et al*.*, 2009). A moagem representa custos energéticos industriais elevados e assim sua aplicabilidade é pequena (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009).

 Quanto ao pré-tratamento químico, ele pode ser classificado em ácido, alcalino e oxidativo. O pré-tratamento ácido obtêm a hidrólise da hemicelulose e a formação se uma porção sólida rica de celulase e lignina. Os tratamentos alcalinos causam uma deslignificação da biomassa, e remove parcialmente a hemicelulose, com a ação de hidróxidos de sódio e cálcio. Já os tratamentos oxidativos removem dos dois componentes, celulose e hemicelulose, por oxidação da estrutura (ASSUMPÇÃO, 2015).

 O pré-tratamento biológico ocorre sob ação de fungos que são produtores de enzimas, que catalisam as reações e direcionam o fracionamento da biomassa (ALVIRA *et al*.,2010 & ZHANG et al., 2007 & AGBOR et al., 2011). Essa deslignificação das polpas permite a remoção de grande parte da lignina e hemicelulose, característica é importante, pois coloca a biomassa em uma posição mais promissora e competitiva com resíduos agroflorestais lignocelulósicos para produção de bioetanol de segunda geração (SILVA, 2010).

Enzimas são utilizadas em diversos ramos na indústria devidos sua alta função catalítica, que aumenta a velocidade de reações biológicas, proporcionando processos limpos e sustentáveis (MONTEIRO; SILVA, 2009). A celulase tem sido intensamente utilizada em processos de pré-tratamento biológico. Essas enzimas estão disponíveis no mercado há mais de 30 anos e são alvos de interesses comerciais e estudos acadêmicos, inclusive na produção de bioetanol, onde se converte o material lignocelulósico em açúcares (KUHAD et al., 2011).

A enzima celulase é um biocatalizador responsável por hidrolisar as ligações β-1,4- glicosídicas da celulose (MÉLO et al. 2014), um polímero de longa cadeia encontrado em estruturas vegetais. A partir da quebra da celulose pela celulase, obtém-se monômeros de glicose, e esse processo vem despertando grande interesse industrial para produção de bioetanol (CASTRO; JR., 2010), já que a tendência é a diminuição do consumo de combustíveis à base de petróleo.

A classificação das celulases é realizada a partir do local de atuação no substrato. Desta forma, pode ser dividida em três componentes: as exoglucanases, as endoglucanases e as β-glicosidases. Para a hidrólise da celulose é necessária à ação conjunta das enzimas endo-exo. Nessas reações enzimáticas, as exoglucanases atuam como exoenzimas que climam moléculas presentes nas extremidades e liberam celobiose como produto principal. Já as endoglucanases agem de forma aleatória ao longo da cadeia, assim novos sítios são produzidos para ação das exoglucanases. As β-glicosidases atuam por meio da hidrólise da celobiose e outros oligossacarídeos curtos à glicose (MARTINS et al., 2008).

Com relação aos processos fermentativos, as enzimas podem ser obtidas a partir da fermentação submersa (FS), onde o substrato encontra-se suspenso no meio ou dissolvido juntamente com o microrganismo, e a partir da Fermentação em Estado Sólido (FES), caracterizado pela baixa disponibilidade de água no meio onde ocorre a reação (RODRIGUES; SANT’ANNA, 2001).

O processo de fermentação submersa é o mais utilizado, no entanto o processo de fermentação em estado sólido vem ganhando interesse na produção de celulase devido sua utilização para cultura de fungos que geram extratos com grande concentração e atividade, isso se dá devido à semelhança ao meio natural do fungo (SINGHANIA *et al*., 2010).

Existem microorganismos que produzem celulases, dentre eles estão os fungos filamentosos (*Trichoderma*, *Bulgaria*, *Helotium*, *Poria*, *Aspergillus*), bactérias aeróbicas (*Cellulomonas*, *Thermobifida*), bactérias anaeróbicas (*Clostridium*, *Rominococcus*), actinomicetos (*Streptomyces)* (LYND et al., 2002; PALOMER et al., 2004). Dos microorganismos citados que contribuem para a produção de celulase os mais utilizados na indústria são os fungos filamentosos, devido às suas características bioquímicas e fisiológicas que permitem aumento da capacidade de hidrólise em substratos sólidos (SOCCOL et al., 1994).

A obtenção de etanol celulósico a partir de hidrólise enzimática apresenta vantagens em comparação à química, pois apresenta menor consumo de energia, menor geração de efluentes e maiores eficiências na ação das leveduras no mosto fermentativo. Porém o obstáculo principal da utilização da celulase para produção industrial de etanol, além da questão econômica, também existe a dificuldade de obtenção de estabilidade estabilidade da atividade enzimática para cada matéria prima e pré-tratamentos (DAMASO; FARINAS;SALUM, 2012). Em experimentos realizados por Leonel e Cereda (2010), foram avaliados o uso de enzimas celulase no processo de hidrolise e sacarificação de farelo de mandioca para produção de etanol de segunda geração. Os resultados demonstraram que ocorreu a degradação de 65,42% da biomassa a partir da hidrólise enzimática

O Brasil é visto como um país potencial para efetivação de novas tecnologias, pois possui importante produção na história do biocombustível e muitas empresas visam proteger suas patentes devido sua grande geração de biomassa e um mercado potencial para enzima. A primeira patente foi registrada em 1970 com o método de pré-tratamento de biomassa celulósica, após a década de 1980 os pedidos de patente diminuíram de 359 para 149 patentes relevantes onde as tecnologias utilizadas no pré-tratamentos foram as que ganharam destaque e foram depositadas no Brasil (SCHLITTLER et al., 2012).

1. CONCLUSÃO

O etanol de segunda geração é visto como uma proposta de sucesso, pois diferente do etanol de primeira geração, não compete com agricultura e possui baixo custo, visto que sua matéria- prima consiste em materiais lignocelulósicos reutilizados através da hidrólise realizada por microrganismos produtores de celulase. Além disso, o etanol de segunda geração a redução dos resíduos agroindustriais, agregando valor que antes não existia.

Pesquisas em escala experimentais ainda estão sendo conduzidas, porém o etanol provido de compostos lignocelulósicos tem potencial para ser produzido em ampla escala, sendo capaz de atender as necessidades econômicas e sustentáveis da atualidade.

**REFERÊNCIAS**

AGBOR, V.B; CICEK, N; SPARLING, R; BERLIN, A; LEVIN, D.B. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *In: Biotchnology Advances,* V.29, p. 675-685, 2011.

ALVES, R.E. Caracterização de fibras lignocelulósicas pré-tratadas por meio de técnicas espectroscópicas e microscópicas ópticas de alta resolução. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Carlos/ SP, p.23-115, 2011.

ALVIRA, P; PEJÓ, E.T; BALLESTEROS, M.; NEGRO, M.J. Pretreatment Technologies for an eficiente bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *In: Bioresource Technology,* V.101, p.4851-4861, 2010.

ARANTES. V; SADDLER, J.N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. *In: Biotechnology for Biofuels,* V.03, p.4-11, 2010.

ASSUMPÇÃO, S.M.N. Pré-tratamento químico combinado do bagaço da cana visando a produção de etanol de segunda geração. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Bahia, Salvador/ BA, p.14-99, 2015.

AZEVEDO, A.N.G; LIMA, B.G.D.A. Biocombustíveis: desenvolvimento e inserção internacional. *In*: *Revista Ambiental e sociedade,* V.06, n.1, p. 77-100, 2016.

BNDES. *Bioetanol de cana de açúcar: Energia para o desenvolvimento sustentável.* Rio de Janeiro, Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social, 2008.

BASTOS, V.D. Etanol, alcoolquímica e biorrefinarias. *BNDES Setorial*, Rio de Janeiro, n.25, p. 5-38, 2007.

BORZANI, W; SCHMIDELL, W; LIMA, U.A; AQUARONE, E. *Biotecnologia Industrial.* 1°ed, São Paulo: Edgard Blucher, 2001.

CARVALHO, L.C; BUENO, R.C.O.F; CARVALHO, M.M; FAVORETO, A.L; GODOY, A.F. Cana-de-açúcar e álcool combustível: histórico, sustentabilidade e segurança energética. *In: Enciclopédia Biosfera*, V.09, n.16, p. 530-543, Goiânia, 2013.

CASTRO, A.M.C; JR, N.P. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. *In: Quim. Nova*, V.33, n.1,181-188, Rio de Janeiro, 2010.

CHUNDAWAT, S.P.S; BECKHAM, G.T; HIMMEL, M.E; DALE, B.E. Deconstruction of lignocellulosic biomass to fuels and chemicals. *In: Annual Review of chemical and biomolecular engineering,* V.02, p.121-145, 2011.

DAMASO, M.C.T; FARINAS, C.S; SALUM, T.F.C. Produção e imobilização de enzimas aplicadas à produção de etanol e biodiesel. MACHADO, C.M.M (ed), *Microrganismos na produção de biocombustíveis líquidos.* Brasília: Embrapa, 2012, p. 101-125.

DAVISON, B.H; PARKS, J; DAVIS, M.F; DONOHOE, B.S. Chemistry, Accessibility and the Influence on Conversion. *In: Aqueous Pretreatment of Plant Biomass for Biological and Chemical Conversion to Fuels and Chemicals,* V.03, p.23-38, 2013.

FLORENCIO, C; FARINAS, C.S. Microrganismos produtores de celulases: seleção de isolados de *Trichoderma spp.* In: Anais da I Jornada Científica, Embrapa, São Carlos/ SP, 2009.

GÍRIO, F.M; FONSECA, C; CARVALHEIRO, F; DUARTE, L.C; MARQUES, S; LUKASIK, R.B. Hemicelluloses for fuel etanol: A review. *In: Bioresource Technology,* V.101, p.4775-4800, 2010.

GUTMANIS, G. Modulação do gene ugp e análise das alterações na composição dos carboidratos da parede celular primária e secundária de *Nicotiana tabacum* e *Eucalyptus grandis.* Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Luiz de Queiroz/ Piraciaba, p.08-135, 2008.

HENDRIKS, A.T.W.M; ZEEMAN. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *In: Bioresource Technology*, V.100, p.10-18, 2009.

JR, N.P; COUTO, M.A.P.G; ANNA, L.M.M.S. Biomass of Lignocellulosic composition for fuel etanol production within the contexto of biorefinery. *In: Series on Biotechnology,* V.02, p.8-41, Rio de Janeiro, 2008.

KUHAD, R.C; GUPTA, R; SINGH,A. Microbial cellulases and their industrial Applications. *In: Enzyme Research,* p.1-10, 2011.

KUMAR, R; MAGO, G; BALAN, V; WYMAN, C.E. Physical and chemical characterizations of corn stover and poplar solids resulting from leading pretreatment technologies. *In: Bioresource Technology,* V.100, p.3948-3962, 2009.

LEONEL, M; CEREDA, M.P. Avaliação da celulase e pectinase como enzimas complementares, no processo de hidrólise-sacarificação do farelo de mandioca para produção de etanol¹. *In: Ciência e Tecnologia de Alimentos,* p.1-18, 1999.

LINO, A.G. Composição química e estrutural da lignina e lipídeos do bagaço e palha da cana de açúcar. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG, 97 p., 2015.

LYND, L.R; WEIMER, P.J; ZYL, W.H.V; PRETORIUS, I.S. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *In: Microbiology and Molecular Biology Reviews,* V.66, n.3, p.506-577, 2002.

MARTINS, L.F; KOLLING, D; CAMASSOLA, M; DILLON, A.J.P; RAMOS, L.P. Comparison of *Penicillium echinulatum* and *Trichoderma reesei* cellulases in relation to their activity against various cellulosic substrates. *In: Bioresource Technology*, V.99, p.1417-1424, 2008.

DE MÉLO, B.C.A.; SILVA, R.D.A; KUBO, G.T.M; CONRADO, L.S; SCHIMDELL, W. Avaliação do resíduo agroindustrial de acerola para produção de celulases por fermentação em estado sólido. *In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química*, p.1-8, Florianópolis, 2014.

MONTEIRO, V.N; SILVA, R.N. Aplicações Industriais da Biotecnologia Enzimática. *In: Revista Processos Químicos,* V. 03, p.9-23, Goiânia, 2009.

NALI, E.C; RIBEIRO, L.B.N.M. & HORA, A.B. Biorrefinaria integrada à indústria de celulose no
Brasil: oportunidade ou necessidade? *BNDES Setorial*, Rio de Janeiro, n.43, p.257-294, 2016.

PACHECO, T. F. Produção de etanol: Primeira e Segunda Geração. *In: Circular técnica*, V. 04, p. 1-4, Brasília, 2011.

PINTO, P; CARVALHO, L.C.T; CHAVES, E.J.F; BONFIM, K.S; DE ARAÚJO, D.A.M; DE SANTOS, S.F. Síntese de celulase por cultivo em estado sólido: otimização do processo de extração. *In: XX congresso Brasileiro de Engenharia Química*, p.1-8, Florianópolis, 2014.

RODRIGUES, A.M; SANT’ANNA, E.S. Efeito do cloreto de sódio na produção de proteínas (*Saccharomyces cerevisiae)* em fermentação semi-sólida. In: Ciência Tecnologia de Alimentos, V.21, p.57-62, 2001.

SANTIAGO, B.L.S; RODRIGUES, F.D.A. Processamento de Biomassa Lignocelulósica para produção de etanol: uma revisão. Disponível em: <https://periodicos.ufv.br/jcec/article/view/2336> acesso em: 01/10/2019.

SCHLITTLER, L.A.F.S; ANTUNES, A.M.S; JUNIOR, N.J. Use of patent applications as a tool for technology development investigations on ethanol production from lignocellulosic biomass in Brazil. *In: Journal of Technology Management & Innovation*, V.07, p.80-90, 2012.

SHIMIZU, F.L. Remoção de lignina e hemicelulose: influência na acessibilidade à celulose e sacarificação enzimática. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro/SP, 59 p., 2018.

SILVA, N.L.C. Produção de Bioetanol de segunda geração a partir de biomassa residual da indústria de celulose. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal, Escola de Química, Rio de Janeiro, 101p., 2010.

SINGHANIA, R.R; SUKUMARAN, R.K; PATEL, A.K; LARROCHE, C; PANDEY,A. Advancement and comparative profiles in the production technologies using solidstate and submerged fermentation for microbial cellulases. *In: Enzyme and Microbial Technology,* V.46, p.541-549, 2010.

SOCCOL, C.R; MARIN, B; RAIMBAULT, M; LEBEAULT, J.M. Breeding and growth of *Rhizopus* in raw cassava by solid state fermentation. *In: Applied Microbiology and Biotechnology*, V.41, p.330-336, 1994.

STICKLEN, M.B. Plant generic engineering for biofuel production: towards affordable cellulosic ethanol. *In: Nature Reviews Genetics,* V.09, p.433-444, 2008.

TRAJANO, H.L; WYMAN, C.E. Fundamentals of Biomass Pretreatment at Low ph. Department of chemical and Environmental Engineering and Center for Environmental Research and Technology, V.06, 2013

ZHANG, J.J; SMITH, K.R. Household Air Pollution from coal and Biomass fuels in china: Measurements, health impacts, and interventions. In: Environmental Health Perspectives, V.115, n.6, p. 848-855, 2007.

ZHANG, X; YU, H; HUANG, H; LIU,Y. Evaluation of biological pretreatment with White rot fungi for the enzymatic hydrolysis of bamboo culms. *In: International Biodeterioration & Biodegradation,* V.60, p.159-164, 2007.

ZHU, M.Q; WEN, J.L; SU, Y.Q; WEI, Q; SUN, R.C. Effect of structural changes os fignin during the autohydrolysis and organosolv pretreatment on *Eucommia ulmoides* Oliver for an effective enzymatic hydrolysis. *In: Bioresource Technology,* V.185, p.378-385, 2015.