



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**

**ESCOLA POLITÉCNICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA- PPEQ**

**SAMIRA MARIA NONATO DE ASSUMPCÃO**

**PRÉ-TRATAMENTO QUÍMICO COMBINADO DO BAGAÇO  
DA CANA VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL DE  
SEGUNDA GERAÇÃO**

**SALVADOR**

**2015**

**SAMIRA MARIA NONATO DE ASSUMPCÃO**

**PRÉ-TRATAMENTO QUÍMICO COMBINADO DO BAGAÇO  
DA CANA VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL DE  
SEGUNDA GERAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção de título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio Magalhães Pontes

**SALVADOR**

2015

# **FICHA CATALOGRÁFICA**

# **FOLHA DE APROVAÇÃO**

Dedico esta dissertação aos meus pais, Sérgio e Maria  
Luiza, pelo amor e carinho incondicional.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por estar sempre presente na minha vida, me guiando e protegendo por todos caminhos.

A minha Família e amigos por todo incentivo e paciência.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luiz Pontes que foi meu amigo, meu incentivador e orientador.

À Profa. Msc. Leila Campos por permitir a minha inserção no grupo e, por todo carinho e confiança na minha capacidade de realização dos experimentos em laboratório.

Ao Prof. Dr. Antônio Cruz da UFSCar por todo suporte e por me proporcionar a oportunidade de aprender a técnica de cromatografia líquida (HPLC).

Ao Prof. Msc. Ronaldo Costa pelo suporte das análises de termogravimetria.

A todo grupo de iniciação científica do Núcleo de Química Verde (NQV) da Unifacs por me proporcionar momentos de muitos risos e trabalho árduo.

Aos professores e os técnicos do laboratório da Unifacs por toda disposição em ajudar.

Ao pessoal dos laboratórios da UFBA por permitir a caracterização química do bagaço por DRIFTS e por UV-visível, em especial a Sirlene por todo suporte.

Ao pessoal da FIOCRUZ pelas análises de microscopia eletrônica de varredura.

Ao pessoal da UFSCar pelas análises em HPLC, especialmente a Bruna, ao Luciano e a Thais.

Ao programa de pós graduação de engenharia química da UFBA por permitir a realização deste trabalho e o crescimento da minha carreira.

A coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

ASSUMPÇÃO, S.M.N. de. Pré-tratamento químico combinado do bagaço da cana visando a produção de etanol de segunda geração. 99 f. 2015. Dissertação (Mestrado) – Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.

## RESUMO

O etanol de segunda geração (E2G) surge como alternativa sustentável de energia, uma vez que utiliza resíduos agroindustriais, tais como bagaço e palha da cana de açúcar, na sua produção. Estes materiais são constituídos majoritariamente por celulose, lignina e hemicelulose. A celulose é um dos produtos de maior interesse e, quando hidrolisada disponibiliza uma fração rica em hexoses facilmente fermentáveis. No entanto, ela encontra-se protegida por uma barreira de lignina e hemicelulose que dificulta a ação de micro-organismos, na sua conversão a monômeros de glicose. As etapas de pré-tratamento visam desagregar a matriz lignina-carboidrato e tornar acessível a celulose à sacarificação. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do pré-tratamento químico do bagaço da cana de açúcar utilizando ácido sulfúrico diluído seguido do peróxido de hidrogênio alcalino. Os experimentos foram realizados em evaporador rotativo. O tratamento ácido ocorreu entre 105 °C e 120 °C e, concentração H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> de 0,75% (v/v) e 1,45% (v/v). O tratamento alcalino oxidativo com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 7,5% (v/v) a 80°C e pH 11,5. A avaliação da solubilização da lignina e hemicelulose foi mediante caracterização química do bagaço *in natura* e pré-tratado. O pré-tratamento ácido favoreceu a solubilização da fração hemicelulósica, enquanto que a combinação com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> alcalino permitiu a solubilização / remoção da lignina e hemicelulose, com menor degradação da cadeia celulósica, baixa produção dos inibidores furfural e 5-hidroximetilfurfural e, baixa precipitação de resíduos sólidos. O pré-tratamento combinado a 1,45% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 120 °C seguido de 7,5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 80 °C resultou numa fração sólida com 71,04% de celulose com remoção de 80,0% de hemicelulose e 73,3% lignina. As análises em Espectroscopia por Reflectância Difusa na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (DRIFTS) mostraram uma redução na intensidade das bandas espectrais relativas aos grupos funcionais presentes a lignina e hemicelulose do bagaço pré-tratado, quando comparado ao *in natura*, indicando alteração na estrutura química com a remoção destes compostos. Com a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi revelado mudanças morfológicas do bagaço pré-tratado com a formação de fendas e agregados amorfos. E, com as análises termogravimétricas (TGA) e análise térmica diferencial (DTA) observou-se que o bagaço pré-tratado apresentou maior estabilidade térmica que o bagaço *in natura*, em virtude da remoção da lignina e hemicelulose. Com o estudo, pode se verificar que o pré-tratamento combinado foi mais eficiente que o pré-tratamento em separado, aliado a condições operacionais amenas.

**Palavras chaves:** bagaço da cana de açúcar, pré-tratamento químico combinado, E2G.

ASSUMPÇÃO, S.M.N. de. Combined chemical pretreatment of sugarcane bagasse in order to second generation ethanol production. 99 pp. 2015. Master Dissertation – Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.

## ABSTRACT

The second-generation ethanol (E2G) appears as a sustainable alternative, since it uses agricultural residues such as bagasse and straw of sugarcane in its production. These materials are constituted mainly of cellulose, lignin and hemicellulose. The cellulose is one of the products of greatest interest, when hydrolyzed providing a rich fraction hexoses easily fermentable. However, it is protected by a cover formed by lignin and hemicellulose that inhibits the action of micro-organisms in its conversion to glucose monomers. Pretreatment steps aim to break down the lignin-carbohydrate matrix and became accessible to the cellulose saccharification. The objective of this study was to evaluate the chemical pretreatment efficiency of bagasse using dilute sulfuric acid followed by alkaline hydrogen peroxide. The experiments were performed in a rotary evaporator. The acid treatment was among 105 ° C and 120 ° C and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentration of 0.75% (v/v) and 1.45% (v/v). The alkaline oxidative treatment with 7.5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (v / v) at 80 ° C at pH 11,5. The evaluated of solubilization of lignina and hemicellulose was used chemical characterization of in nature and pretreated bagasse. The pretreatment acid favored removal of the hemicellulose fraction, while the pre-treatment combined resulted in the solubilization of lignin and hemicellulose, less degradation of the cellulosic chain, low production of furfural and 5-hydroxymethylfurfural inhibitors and low formation of solid waste. The pretreatment of 1.45% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 120 ° C followed 7.5% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 80 ° C presented a pulp with higher cellulose content of 71% with removal of 80.0% hemicellulose and 73.3% lignin. In the analysis with Diffuse Reflectance Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (DRIFTS) showed a reduction in the intensity os spectral bands relating of the functional groups in the lignin and hemicellulose of pretreated bagasse, when compared with bagasse without pretreatment, indicating change in chemical structure with the removal of these compounds. The Scanning Electron Microscopy (SEM) revealed the morphological change of pretreated bagasse to the formation of cracks and amorphous aggregates. And, with the thermogravimetric analysis (TGA) and differential thermal analysis (DTA) noted that pretreated bagasse showed a higher termal stability than the in nature bagasse due to removal of lignin and hemicellulose. In the study, it was observed that the combined pretreatment was more efficient than the pretreatment separately, and with mild operation conditions.

**Keywords:** sugarcane bagasse, chemical pretreatment, E2G

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIACOES

**BCA:** Bagaço da Cana de Aucar

**BEN:** Balanço Nacional de Energia

**CLAE (em inglês HPLC):** Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

**CONAB:** Companhia Nacional de Abastecimento

**DRIFTS:** Espectroscopia por Refletância Difusa na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier

**DTA:** Análise Térmica Diferencial

**E2G:** Etanol de Segunda Gerao

**5-HMF:** 5-hidroximetilfurfural

**MEV:** Microscopia Eletrônica De Varredura

**MME:** Ministério de Minas e Energia

**OIE:** Oferta Interna de Energia

**pH:** Potencial Hidrogeniônico

**rpm:** Rotao Por Minuto

**TGA:** Análise Termogravimétrica

**UNICA:** União da Agroindústria Canavieira de São Paulo

**UV-visível:** espectroscopia de absoro na região ultravioleta e visível

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|   |    |
|---|----|
| FIGURA 1 OFERTA INTERNA DE ENERGIA ANOS 2012 - 2015 .....   | 18 |
| FIGURA 2 IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO DO ETANOL NO BRASIL .....  | 20 |
| FIGURA 3 BALANÇO ENERGÉTICO DAS MATÉRIAS PRIMAS PARA A PRODUÇÃO ETANOL .....  | 21 |
| FIGURA 4 VARIAÇÃO PERCENTUAL ACUMULADA DA CANA DE AÇÚCAR EM RELAÇÃO À SAFRA ANTERIOR NO BRASIL.....   | 23 |
| FIGURA 5 CADEIA PRODUTIVA DA CANA DE AÇÚCAR .....   | 24 |
| FIGURA 6 PRODUTOS OBTIDOS A PARTIR DO BAGAÇO DA CANA.....   | 27 |
| FIGURA 7 ESTRUTURA DA CELULOSE .....  | 28 |
| FIGURA 8 REPRESENTAÇÃO DAS UNIDADES DE POLISSACARÍDEOS QUE COMPÕEM A HEMICELULOSE .....   | 29 |
| FIGURA 9 ESTRUTURA PARCIAL DA LIGNINA.....  | 31 |
| FIGURA 10 ESTRUTURA QUÍMICA DOS PRECURSORES DA LIGNINA.....   | 32 |
| FIGURA 11 PROCESSO PRODUTIVO SIMPLIFICADO DO E2G .....  | 34 |
| FIGURA 12 REAÇÃO TÍPICA ENTRE A LIGNINA E O ÁCIDO SULFÚRICO NA FORMAÇÃO DAS PSEUDO-LIGNINAS .....   | 38 |
| FIGURA 13 EFEITO DO TEOR DE HEMICELULOSE EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO ÁCIDA E TEMPERATURA APÓS O PRÉ-TRATAMENTO.                                       | 39 |
| FIGURA 14 GRÁFICO DE PERDA DE MASSA VERSUS O TEMPO DE REAÇÃO.....   | 39 |
| FIGURA 15 MECANISMO REACIONAL DA OXIDAÇÃO DA LIGNINA COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO ALCALINO .....  | 43 |
| FIGURA 16 SOLUBILIZAÇÃO DA LIGNINA: (I) PALHA DE TRIGO COM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (II) PALHA DE TRIGO PRÉ-TRATADO COM H <sub>2</sub> O ..... | 44 |
| FIGURA 17 FORMAÇÃO DOS INIBIDORES .....   | 50 |
| FIGURA 18 FASES DA PREPARAÇÃO DO BAGAÇO <i>IN NATURA</i> .....  | 53 |
| FIGURA 19 PERCENTUAL DA PERDA MÁSSICA DOS COMPONENTES MAJORITÁRIOS DO BAGAÇO APÓS O PRÉ-TRATAMENTO ÁCIDO.....                                       | 67 |
| FIGURA 20 PERCENTUAL PERDA MÁSSICA DOS COMPONENTES MAJORITÁRIOS DO BAGAÇO APÓS O PRÉ-TRATAMENTO COMBINADO..   | 70 |
| FIGURA 21 ASPECTO MACROSCÓPICO DAS ALTERAÇÕES DO BAGAÇO <i>IN NATURA</i> (A), PRÉ-TRATADO ÁCIDO (B), PRÉ-TRATADO ÁCIDO +<br>ALCALINO (C) .....      | 73 |
| FIGURA 22 MICROGRAFIAS DO BAGAÇO DE CANA <i>IN NATURA</i> .....   | 74 |
| FIGURA 23 MICROGRAFIAS DO BAGAÇO APÓS O PRÉ-TRATAMENTO ÁCIDO.....   | 75 |
| FIGURA 24 MICROGRAFIAS DO BAGAÇO APÓS PRÉ-TRATAMENTO COMBINADO .....  | 76 |
| FIGURA 25 ESPECTROS IV DO BAGAÇO <i>IN NATURA</i> E APÓS OS PRÉ-TRATAMENTO COMBINADO .....  | 77 |
| FIGURA 26 COMPARATIVO CURVA TGA DO BAGAÇO <i>IN NATURA</i> E BAGAÇO PRÉ-TRATADO .....   | 80 |
| FIGURA 27 CURVAS DTA PARA O BAGAÇO <i>IN NATURA</i> E PRÉ-TRATADO .....   | 82 |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| TABELA 1 PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DO ETANOL E DA GASOLINA .....   | 19 |
| TABELA 2 PODER CALORÍFICO INFERIOR DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS.....  | 25 |
| TABELA 3 COMPOSIÇÃO MÁSSICA EM DIFERENTES MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS .....   | 26 |
| TABELA 4 PRINCIPAIS DIFERENÇAS ENTRE A CELULOSE E A HEMICELULOSE .....   | 30 |
| TABELA 5 TIPOS DE PRÉ-TRATAMENTO DE BIOMASSAS LIGNOCELULÓSICAS .....   | 36 |
| TABELA 6 COMPOSIÇÃO QUÍMICA EM DIFERENTES TEMPOS DO BAGAÇO PRÉ-TRATADO COM ÁCIDO SULFÚRICO .....   | 40 |
| TABELA 7 REMOÇÃO MÁSSICA DE LIGNINA DOS PRÉ-TRATAMENTOS ALCALINOS .....  | 45 |
| TABELA 8 SOLUBILIZAÇÃO DOS COMPONENTES DA BIOMASSA APÓS PRÉ-TRATAMENTO .....   | 47 |
| TABELA 9 REAGENTES UTILIZADOS NOS EXPERIMENTOS .....   | 51 |
| TABELA 10 ATRIBUIÇÕES TÍPICAS DOS COMPONENTES DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA .....  | 61 |
| TABELA 11 TEOR DE UMIDADE DAS AMOSTRAS.....  | 63 |
| TABELA 12 COMPARAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE DIFERENTES AMOSTRAS DE BCA.....  | 64 |
| TABELA 13 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO BCA APÓS O PRÉ-TRATAMENTO ÁCIDO.....   | 65 |
| TABELA 14 COMPARATIVO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO BCA <i>IN NATURA</i> E A COMPOSIÇÃO CORRIGIDA DO BCA APÓS PRÉ-<br>TRATAMENTO ÁCIDO.....       | 66 |
| TABELA 15 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO BCA APÓS PRÉ - TRATAMENTO COMBINADO .....  | 68 |
| TABELA 16 COMPARATIVO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO BCA <i>IN NATURA</i> E A COMPOSIÇÃO CORRIGIDA DO BCA APÓS PRÉ -<br>TRATAMENTO COMBINADO ..... | 68 |
| TABELA 17 RESULTADOS OBTIDOS COM O PRÉ-TRATAMENTO COMBINADO POR DIFERENTES AUTORES.....  | 71 |
| TABELA 18 PRODUÇÃO DOS INIBIDORES COM O PRÉ-TRATAMENTO COMBINADO.....  | 72 |
| TABELA 19 VALORES MÁXIMOS DOS NÚMEROS DE ONDAS DO ESPECTRO IV .....  | 78 |
| TABELA 20 PERDA MÁSSICA E TEMPERATURA DE DECOMPOSIÇÃO DOS COMPONENTES DO BCA <i>IN NATURA</i> E PRÉ-TRATADO.....                             | 81 |

# SUMÁRIO

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>1.0</b> | <b>INTRODUÇÃO</b>                                   | <b>14</b> |
| <b>1.1</b> | <b>OBJETIVO GERAL</b>                               | <b>16</b> |
| <b>1.2</b> | <b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>                        | <b>16</b> |
| <b>2.0</b> | <b>REVISÃO DA LITERATURA</b>                        | <b>17</b> |
| <b>2.1</b> | <b>ENERGIAS RENOVÁVEIS E OS BIOCOMBUSTÍVEIS</b>     | <b>17</b> |
| 2.1.1      | <i>Etanol biocombustível</i>                        | 19        |
| <b>2.2</b> | <b>CANA DE AÇÚCAR</b>                               | <b>22</b> |
| <b>2.3</b> | <b>MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS: BAGAÇO DA CANA</b>   | <b>25</b> |
| 2.3.1      | <i>Celulose</i>                                     | 27        |
| 2.3.2      | <i>Hemicelulose</i>                                 | 29        |
| 2.3.3      | <i>Lignina</i>                                      | 31        |
| 2.3.4      | <i>Extrativos e Cinzas</i>                          | 33        |
| <b>2.4</b> | <b>ETANOL A PARTIR DE BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA</b>  | <b>33</b> |
| 2.4.1      | <i>Produção E2G</i>                                 | 34        |
| <b>2.5</b> | <b>PRÉ-TRATAMENTO DO BAGAÇO</b>                     | <b>35</b> |
| 2.5.1      | <i>Pré-tratamento ácido</i>                         | 37        |
| 2.5.2      | <i>Pré-tratamento alcalino oxidativo</i>            | 41        |
| 2.5.3      | <i>Pré-tratamento combinado</i>                     | 46        |
| <b>2.6</b> | <b>HIDRÓLISE E FERMENTAÇÃO</b>                      | <b>48</b> |
| <b>3.0</b> | <b>MATERIAS E MÉTODOS</b>                           | <b>50</b> |
| <b>3.1</b> | <b>MATERIAIS</b>                                    | <b>51</b> |
| 3.1.1      | <i>Reagentes</i>                                    | 51        |
| 3.1.2      | <i>Equipamentos</i>                                 | 52        |
| <b>3.2</b> | <b>MÉTODOS</b>                                      | <b>52</b> |
| 3.2.1      | <i>Preparações da matéria prima e dos reagentes</i> | 52        |
| 3.2.2      | <i>Procedimentos para o pré-tratamento</i>          | 54        |
| 3.2.3      | <i>Análises de composição química do BCA</i>        | 55        |
| 3.2.4      | <i>Microscopia Eletrônica de Varredura</i>          | 59        |
| 3.2.5      | <i>Espectroscopia por Infravermelho</i>             | 60        |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.2.6 Termogravimetria .....  | 61        |
| <b>4.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>  | <b>62</b> |
| <b>4.1 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE.....</b>   | <b>63</b> |
| <b>4.2 CARACTERIZAÇÕES QUÍMICA DO BAGAÇO <i>IN NATURA</i> .....</b>   | <b>63</b> |
| <b>4.3 CARACTERIZAÇÕES QUÍMICA DO BAGAÇO PRÉ-TRATADO .....</b>  | <b>64</b> |
| 4.3.1 Pré-tratamento ácido.....   | 65        |
| 4.3.2 Pré-tratamento combinado .....  | 67        |
| 4.3.3 Produção de furfural e 5-HMF.....   | 71        |
| <b>4.4 ANÁLISES TEXTURAIIS DO BAGAÇO .....</b>  | <b>72</b> |
| 4.4.1 Aspectos visuais do bagaço pré-tratado .....  | 72        |
| 4.4.2 Análises MEV.....   | 74        |
| <b>4.5 ANÁLISES ESTRUTURAIIS DO BAGAÇO.....</b>   | <b>77</b> |
| <b>4.6 ANÁLISES TÉRMICAS .....</b>  | <b>79</b> |
| <b>5.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>  | <b>83</b> |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>  | <b>85</b> |
| <b>APÊNDICE A – ANÁLISE GRAVIMÉTRICA DOS PRÉ-TRATAMENTO COMBINADO: CICLO SECAGEM DAS AMOSTRAS PRÉ-TRATADAS. ....</b>                              | <b>90</b> |
| <b>APÊNDICE B - FATOR DE CORREÇÃO DOS COMPONENTES DO BCA – DETERMINAÇÃO DOS AÇÚCARES .....</b>  | <b>91</b> |
| <b>APÊNDICE C- TRATAMENTO DOS DADOS DA CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO PRÉ-TRATAMENTO COM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> DILUÍDO .....</b>                 | <b>92</b> |
| <b>APÊNDICE D - TRATAMENTO DOS DADOS DA CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO PRÉ-TRATAMENTO COMBINADO.....</b>   | <b>93</b> |
| <b>APÊNDICE E - COMPARATIVO DOS ESPECTROS DO INFRAVERMELHO ENTRE O BCA <i>IN NATURA</i>, PRÉ-TRATAMENTO ÁCIDO E PRÉ-TRATAMENTO COMBINADO.....</b> | <b>94</b> |
| <b>APÊNDICE F CURVAS TGA E DTA DO BCA <i>IN NATURA</i> E APÓS PRÉ-TRATAMENTO COMBINADO .....</b>  | <b>96</b> |
| <b>ANEXO A - CICLO COMPLETO DA EMISSÃO DE CO<sub>2</sub> PELA CANA DE AÇÚCAR.....</b>   | <b>99</b> |

## 1.0 INTRODUÇÃO

A matriz energética mundial é, predominantemente, caracterizada pelo uso dos combustíveis fósseis. No entanto, o agravamento dos efeitos das mudanças climáticas, a elevação dos preços e a provável escassez dos derivados do petróleo, tem alterado este cenário, de modo a garantir três critérios: sustentabilidade, economicidade e segurança. Neste contexto, os biocombustíveis destacam-se em razão do caráter renovável e abundância de matérias primas. O bioetanol é o biocombustível mais difundido no Brasil, obtido comercialmente a partir da fermentação do caldo da cana de açúcar, e, por isso, denominado etanol de 1ª geração.

Segundo o Ministério de Minas e Energia (2015) o Brasil detém a matriz energética mais limpa do mundo com 39,3% de energia renovável. Os derivados da cana de açúcar (etanol e bioeletricidade) representam 15,8% desta matriz. A extração do caldo para a produção do etanol e açúcar responde por cerca 30% do potencial energético da cana, o restante encontra-se na forma de resíduos (bagaço e palha). Uma prática comum é a utilização do bagaço como combustível em caldeiras para a geração de vapor (cogeração). Segundo a União da Agroindústria Canavieira de São Paulo - UNICA (2015) o reaproveitamento destes resíduos atingiu, em maio de 2015, o marco de 10 mil MW de energia elétrica produzida, atrás apenas das fontes hídricas e gás natural. Além disso, o bagaço também pode ser utilizado na ração para gados, e a palha deixada na lavoura com o intuito de permitir a reciclagem de nutrientes, ou ainda, queimada no campo visando facilitar o corte na colheita manual. No entanto, desde 2007, a UNICA e o Governo do Estado de São Paulo assinaram protocolo que incentiva a mecanização da colheita, e logo a redução das queimadas. O prazo para a eliminação da queima da palha em áreas mecanizáveis foi antecipado de 2021 para 2014 e, em áreas não mecanizáveis de 2031 para 2017. Essa medida implica aumento da disponibilidade da palha, e oferece uma oportunidade em impulsionar o seu uso na produção da bioeletricidade, juntamente com o bagaço, embora a sua reutilização acarrete custos operacionais com etapas de transporte e limpeza. Estes resíduos agrícolas, todavia, possuem alto teor de açúcares fermentescíveis, o que confere uma excelente alternativa na conversão destes em etanol de segunda geração (E2G). Segundo Zancaner e Santos (2013), o E2G pode ampliar em até 50% a produção do etanol, sem alterar as áreas de plantio e nem competir com a produção de alimentos.

O bagaço proveniente dos processos de moagem da cana de açúcar, e a palha, composta de folhas e ponteiros, são constituídas majoritariamente por celulose, hemicelulose e lignina, e por compostos de baixo peso molecular, representados por extrativos, cinzas e proteínas. Na celulose é formada a glicose, a qual encontra-se fortemente protegida pela matriz lignina-carboidrato, dificultando o acesso dos agentes hidrolíticos na produção do E2G. Por isso, é imprescindível a inserção de etapas preliminares com objetivo de promover a maior abertura física da estrutura celular e, assim facilitar o ataque químico ou enzimático à celulose. Na etapa de pré-tratamento, a estrutura vegetal é modificada através da remoção de frações mássicas de lignina e hemicelulose. As etapas de hidrólise e fermentação seguintes são responsáveis pela quebra da cadeia celulósica em monômeros de glicose e, a sua fermentação a etanol. Etapas de purificação são necessárias para a remoção de resíduos do produto final, e a sua especificação para uso comercial.

O pré-tratamento é de grande relevância na produção do E2G por exercer forte influência nas etapas subsequentes. O desafio é aumentar eficiência e baixar os custos de produção. Existem diversas alternativas de pré-tratamento e, estas podem ser realizadas por meios físicos, químicos, biológicos e também uma combinação entres eles. A determinação da tecnologia a ser empregada depende de fatores como a máxima acessibilidade à celulose, baixa formação de inibidores, baixo consumo de energia e de insumos. (CHATUVERDI e VERMA, 2013). Os pré-tratamentos químicos tem sido amplamente estudado em razão da sua viabilidade técnica e econômica, e podem ser classificados em ácidos, alcalinos, oxidativos, que diferem entre si, pela ação dos reagentes, bem como pelo mecanismo envolvido para a modificação estrutural da parede celular. Os pré-tratamentos ácidos proporcionam a hidrólise da hemicelulose e a formação de uma fração sólida rica em celulose e lignina. O ácido sulfúrico e ácido fosfórico são os mais utilizados. Os pré-tratamentos alcalinos promovem elevada deslignificação da biomassa, e remoção parcial da hemicelulose, pela ação dos hidróxidos de sódio e cálcio. Já os pré-tratamentos oxidativos contemplam a remoção dos dois componentes supracitados por oxidação da estrutura. O peróxido de hidrogênio e o ozônio são reagentes mais comuns. Ressalta-se, que o pré-tratamento com agentes oxidantes exige meio alcalino, e por isso, são também classificados como pré-tratamento alcalino oxidativo.

A combinação entre diferentes tipos de pré-tratamento tem se mostrado vantajosa por resultar numa fração mássica pré-tratada com baixo teor de lignina e hemicelulose e, com condições amenas de operação. Muitos estudos têm buscado a otimização desta tecnologia. Chen e colaboradores (2012) utilizaram a combinação do ácido sulfúrico diluído e a irradiação de micro-ondas no tratamento do bagaço da cana de açúcar. Mendes e colaboradores (2014) e

Gomez e colaboradores (2010) optaram por utilizar o pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído seguido do hidróxido de sódio. Os resultados encontrados mostraram a desestruturação da parede celular, com remoção da lignina e hemicelulose assim como a quebra da cristalinidade da cadeia celulósica. No entanto, os estudos apresentaram elevado custo energético (micro-ondas) e a tendência dos álcalis na formação de sais irreversíveis que incorporam na biomassa, diminuindo assim a eficiência das etapas de digestibilidade. No entanto, ainda assim, o pré-tratamento químico combinado pode ser uma alternativa atrativa quanto a maior digestibilidade da biomassa.

### 1.1 Objetivo Geral

Avaliar o pré-tratamento combinado do bagaço da cana de açúcar com ácido sulfúrico diluído, seguido do peróxido de hidrogênio alcalino visando a produção do etanol de segunda geração. Desta forma, pretende-se contribuir com os esforços que vem sendo realizados com o intuito de tornar o processo de conversão de biomassas lignocelulósicas em etanol de segunda geração, uma alternativa viável a ser incorporada à matriz energética brasileira.

### 1.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o pré-tratamento químico combinado do bagaço da cana-de-açúcar com  $H_2SO_4$  diluído seguido do  $H_2O_2$  alcalino;
- Determinar as modificações na estrutura química do bagaço *in natura* após o pré-tratamento através da Espectroscopia Refletância Difusa na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (DRIFTS);
- Verificar as alterações morfológicas sofridas pelo bagaço após o pré-tratamento combinado por meio da análise microscópica eletrônica de varredura (MEV);
- Avaliar o comportamento térmico e determinar a temperatura de decomposição do bagaço pré-tratado com a Termogravimetria (TGA) e Análise Térmica Diferencial (DTA);
- Determinar a composição química do bagaço pré-tratado e compará-lo com o bagaço *in natura* através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);
- Avaliar o grau de remoção da lignina e hemicelulose e, a obtenção da celulose com o pré-tratamento combinado proposto e comparar com os resultados de pré-tratamento dispostos em literatura.

## **2.0 REVISÃO DA LITERATURA**

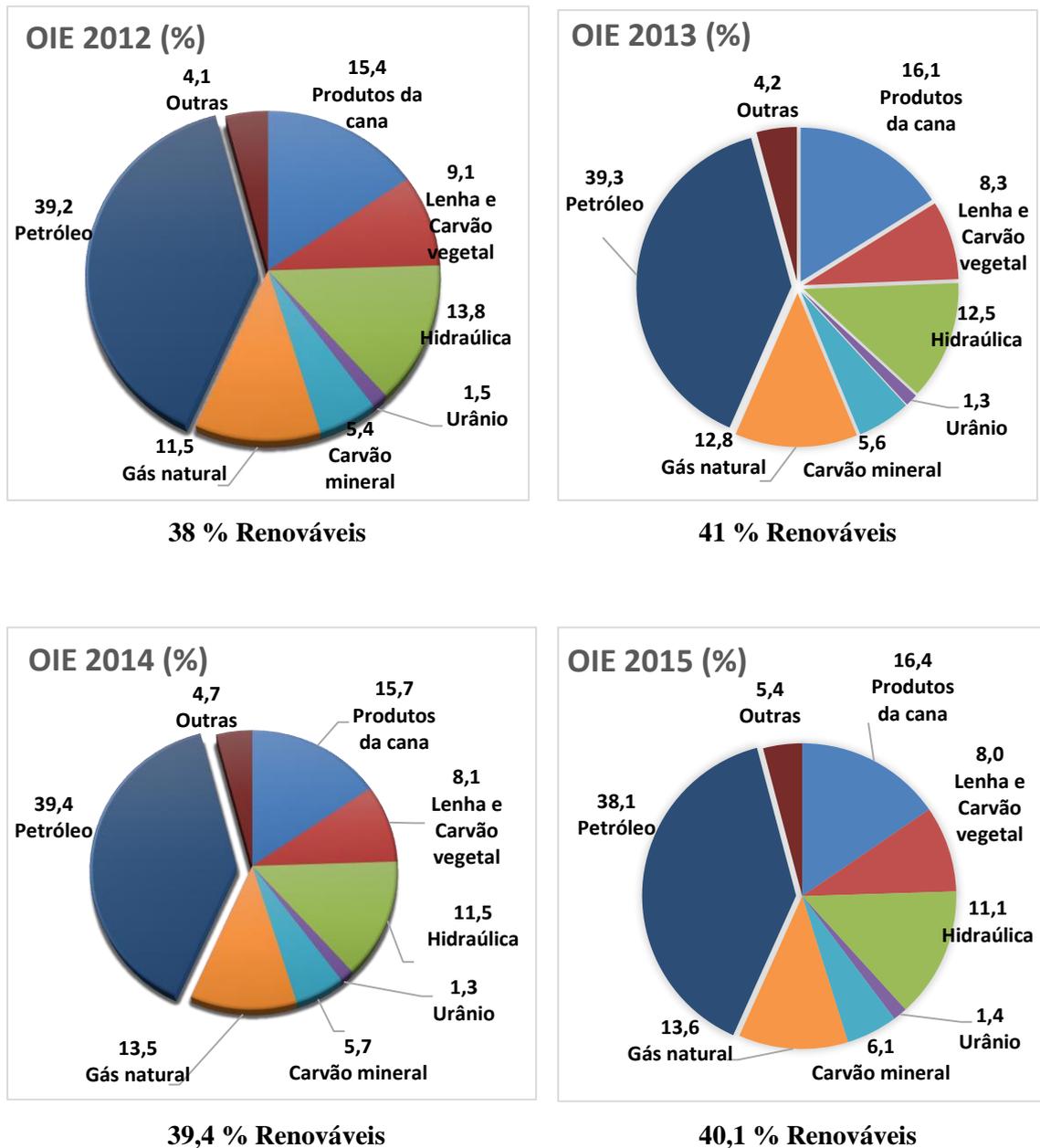
A evolução das energias renováveis no Brasil e os principais conceitos quanto a composição e as propriedades químicas da cana de açúcar e do etanol combustível, em especial do etanol de segunda geração estão dispostos nessa seção. Assim como, a avaliação dos tipos de pré-tratamento na separação dos constituintes da biomassa (bagaço da cana de açúcar) enfatizando, principalmente, o pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído, seguido do alcalino oxidativo com peróxido de hidrogênio alcalino.

### **2.1. Energias Renováveis e os Biocombustíveis**

Os combustíveis de origem fóssil ainda representam uma significativa parcela das fontes primárias de energia. A necessidade de reduzir esta dependência e permitir uma maior flexibilização da matriz energética tem impulsionado a busca por fontes alternativas. As energias renováveis são caracterizadas por atender os critérios de sustentabilidade no fortalecimento da indústria nacional, aumento do valor agregado às matérias primas agrícolas, mitigação das mudanças climáticas e geração de emprego e renda.

O Brasil, em 2012, atingiu de 42% da energia renovável em sua matriz energética, enquanto que a média mundial foi de 13%. No entanto, nos anos seguintes foi observado um pequeno recuo desta oferta, chegando a 40,1% em maio de 2015, em razão da retração da geração hidráulica e crise no setor sucroalcooleiro. A Figura 1 apresenta a oferta interna de energia (OIE) do Brasil entre 2012 - 2015 disponibilizada pelo Ministério de Minas e Energia (MME).

Figura 1 Oferta interna de energia anos 2012 - 2015



Fonte: MME, 2015

Nota: OIE 2015 referência até mês Maio 2015

Dentre as energias renováveis, os biocombustíveis no Brasil representam uma oportunidade para aumentar a vantagem competitiva frente aos outros países, e também suprir a demanda crescente no setor de transportes. Além disso, merecem destaque por serem oriundos de matéria prima renovável. O etanol e o biodiesel são dois principais tipos de biocombustíveis, e podem ser oriundos, por exemplo, da cana de açúcar, girassol e dendê. O etanol é um

combustível eficiente que vem sendo usado desde a implantação do Programa Proálcool na década de 70 que incentivou a produção em larga escala deste combustível a partir da fermentação do caldo da cana de açúcar.

### 2.1.1 Etanol biocombustível

O etanol, também conhecido como álcool etílico, é um composto orgânico líquido, volátil, incolor, tóxico, inflamável e com cheiro característico. É constituído de dois átomos de carbonos (C) ligados a cinco átomos de hidrogênio (H) e um grupo hidroxila (OH) com fórmula química  $C_2H_5OH$ . A presença do grupo hidroxila na cadeia torna o composto polar, favorecendo a miscibilidade em outros compostos polares, como a água. Possui um alto número de octanagem, o que permite maior taxa de compressão, aliada a baixa emissão de gases poluentes. De acordo a UNICA (2010) o etanol representa uma redução de 89% da emissão de gás carbônico ( $CO_2$ ) quando comparado à gasolina. Na Tabela 1 são apresentadas as principais propriedades físicas e químicas da gasolina e do etanol. O ciclo completo da emissão e reabsorção do  $CO_2$ , desde a plantação da cana de açúcar até a sua queima em forma de etanol, encontra-se disponível no Anexo A.

No Brasil, este combustível é usado como um substituto da gasolina, ou pelo menos, como um aditivo à mesma. As especificações regulamentadas pela Agência Nacional de Petróleo e Biocombustíveis - ANP as diferem pelo teor de água presente, sendo elas: o etanol hidratado combustível (EHC) que corresponde ao teor máximo de 4,9% (v/v) de água, e é utilizado diretamente como combustível veicular e, o etanol anidro combustível (EAC) com 0,4% (v/v) de água, e misturado à gasolina C visando a melhoria no desempenho do motor.

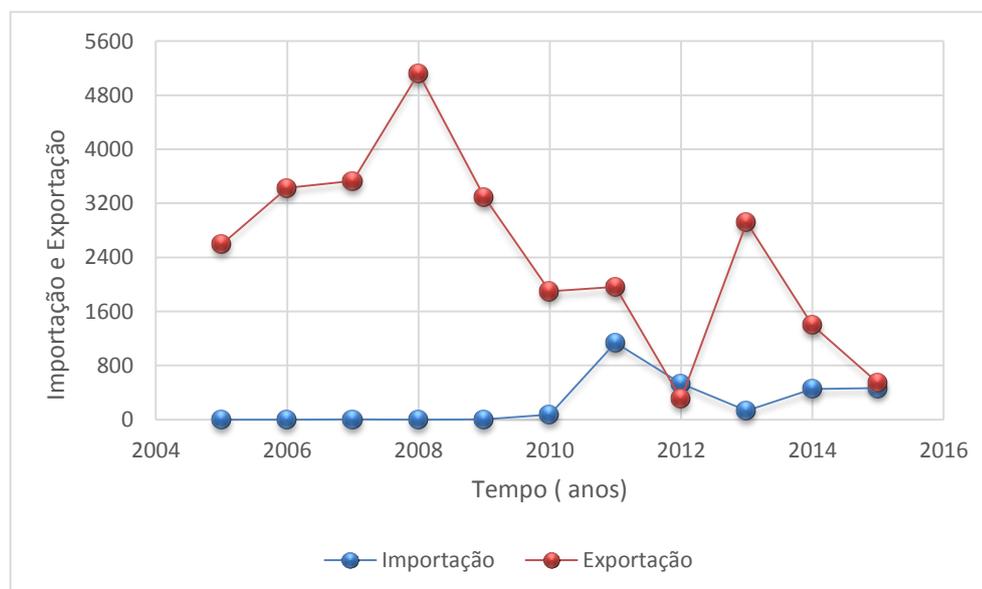
**Tabela 1 Propriedades físicas e químicas do etanol e da gasolina**

| <b>Propriedades</b>         | <b>Unidade</b>    | <b>Etanol</b> | <b>Gasolina C6-C12</b> |
|-----------------------------|-------------------|---------------|------------------------|
| Peso molecular              | g/mol             | 46            | ~ 114                  |
| Densidade do líquido        | g/cm <sup>3</sup> | 0,79          | 0,74                   |
| Octanagem                   | --                | 102-130       | 90-100                 |
| Ponto de ebulição           | K                 | 351           | 300 -510               |
| Ponto de fusão              | K                 | 129           | ---                    |
| Temperatura de auto ignição | K                 | 636           | 523 -733               |
| Solubilidade em água        | % em volume       | 100           | ~ 0                    |

**Fonte: Balat, 2011**

A produção do etanol recebeu forte incentivo governamental devido as crises do petróleo e, também com o objetivo de diminuir a dependência de importação destes combustíveis. Apesar disso, a crise financeira mundial em 2008 afetou negativamente os investimentos em canaviais que tiveram uma redução abrupta de crédito, e logo, um maior endividamento das empresas. As safras posteriores também sofreram com as condições climáticas adversas, como a forte seca, e o aumento do preço do açúcar, que provocou a produção do açúcar em detrimento do etanol, levando as empresas a experimentarem uma série de fusões com multinacionais e a desativação ou falência de usinas. A Figura 2 evidencia as oscilações da balança comercial do etanol provocadas pela crise econômica. Entre os anos de 2004 – 2008 o etanol brasileiro foi bastante exportado para diversos países, a exemplo do Japão, China, União Europeia e Estados Unidos, motivado por questões ambientais, discutidas no Protocolo de Kyoto e, pela insegurança na disponibilidade dos combustíveis fósseis. Entretanto essa forte expansão do etanol brasileiro foi interrompida, entre os anos de 2009-2012, pela crise financeira mundial. Ainda pela Figura 2, pode se perceber que a partir de 2012 foi iniciado a recuperação do setor sucroalcooleiro crescimento das exportações, e diminuição das importações, o que implica o retorno do incentivo à produção do etanol.

**Figura 2 Importação e Exportação do etanol no Brasil**



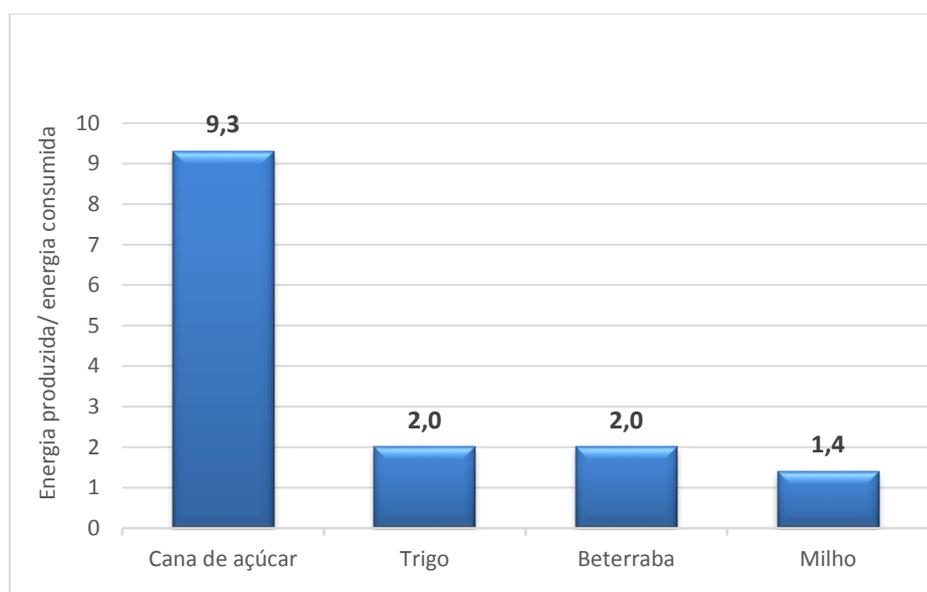
Fonte: UDOP<sup>1</sup>, 2015

---

<sup>1</sup> UDOP: União dos Produtores de Bioenergia

Os estudos comprovam que o etanol brasileiro, oriundo da cana de açúcar, apresenta uma vantagem competitiva grande frente aos seus concorrentes, por apresentar um balanço energético mais favorável, como pode ser visto na Figura 3. Segundo Oliveira e colaboradores (2014) este fator é bastante influente nas decisões econômicas dos processos por estabelecer os fluxos de energia deste processo, isto é, por identificar e quantificar a energia fóssil investida e a energia obtida por meio dos processos de produção do combustível. Valores superiores a um (1) significam que a energia obtida é maior que energia gasta, portanto o balanço energético é positivo e viável economicamente.

**Figura 3 Balanço Energético das matérias primas para a produção etanol**



**Fonte: Adaptação Unica, 2014; Salla e Cabello, 2010**

Como pode ser visto, a cana de açúcar o balanço energético é na ordem de 9,3, isto é, para cada custo agrícola e industrial envolvido no processamento da cana, são geradas cerca de 9,3 unidades de energia renovável, etanol. Segundo Oliveira e colaboradores (2014) os custos representam consumo de combustível para o transporte em máquinas agrícolas e, utilização de fertilizantes e defensivos agrícolas, enquanto que, os custos industriais são referentes a eletricidade, edificações e transporte do produto até o consumidor. A cana de açúcar apresenta um balanço energético cerca de sete vezes superior ao etanol obtido pelo milho, oriundo dos

Estados Unidos, e quatro vezes maior ao etanol obtido pelo trigo e beterraba, oriundo de países europeus. (SALLA e CABELLO, 2010; UNICA, 2014).

## 2.2 Cana de açúcar

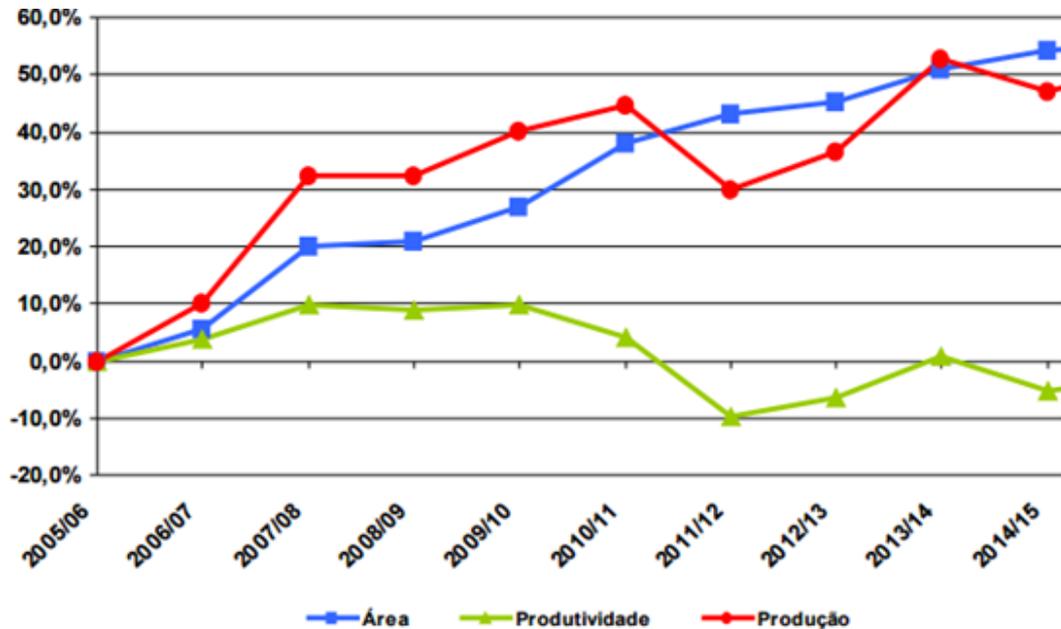
A cana de açúcar é uma planta semiperene, por permitir vários cortes sem a necessidade de replantio. Possui também um metabolismo fotossintético eficiente devido à elevada taxa de conversão da energia radiante (solar) em energia química, responsável pela produção da matéria orgânica. Outra característica peculiar deste vegetal é o autocontrole na perda de água em ambientes secos. (Companhia Nacional de Abastecimento Brasileiro - CONAB, 2015). Pertencente ao grupo das *Saccharum officinarum L.*, família das gramíneas, a sua produção é favorecida em locais com alta incidência solar e disponibilidade de água no solo, sendo ela considerada um vegetal essencialmente tropical. A sua estrutura é constituída de partes subterrâneas, raízes e rizomas, e partes aéreas como o colmo, as folhas e flores. Ainda segundo a CONAB (2015), no colmo ocorre a formação do produto de interesse, a sacarose. A fase de florescimento da cana de açúcar, apesar de ser essencial para a sobrevivência da planta, também é um fator indesejado do ponto de vista da produção do açúcar porque, as flores inibem o crescimento do colmo, logo ocorre perda do rendimento em açúcar. Além disso, outros fatores podem influenciar no desenvolvimento da planta, sendo eles: idade fisiológica, condições climáticas durante o desenvolvimento e maturação, propriedades físicas, químicas e microbiológicas do solo. Em função dessas características, o setor sucroalcooleiro brasileiro apresenta dois períodos distintos de colheita, sendo de setembro a março para a região Norte/Nordeste, e de abril a novembro para o Centro-Sul. As regiões brasileiras possuem níveis de produtividade diferenciadas, em razão das tecnologias empregadas e ações governamentais implementadas.

Na última safra (2014/15) o Brasil produziu 634,8 milhões de toneladas de cana, o que representa uma queda na produção de 3,7% em relação à safra anterior, decorrente da queda de 5,7% na produtividade. As condições climáticas desfavoráveis principalmente na Região do Centro-Sul, maior centro produtor, provocaram esse decréscimo.

Na Figura 4 verifica-se que desde a safra 2010/11 a produtividade da cana de açúcar brasileira tem apresentado quedas, em virtude das condições climáticas adversas, principalmente as restrições hídricas durante o período de crescimento da planta, seguido das dificuldades financeiras vivenciadas pelo setor, que tende a reduzir os investimentos nos canaviais. Em contrapartida, a partir do mesmo período ocorreu uma expansão da área agrícola

visando atender a demanda de biocombustíveis. De acordo com a CONAB (2015) ocorreu um aumento de 0,7% na área de plantio do país.

**Figura 4** Variação percentual acumulada da cana de açúcar em relação à safra anterior no Brasil

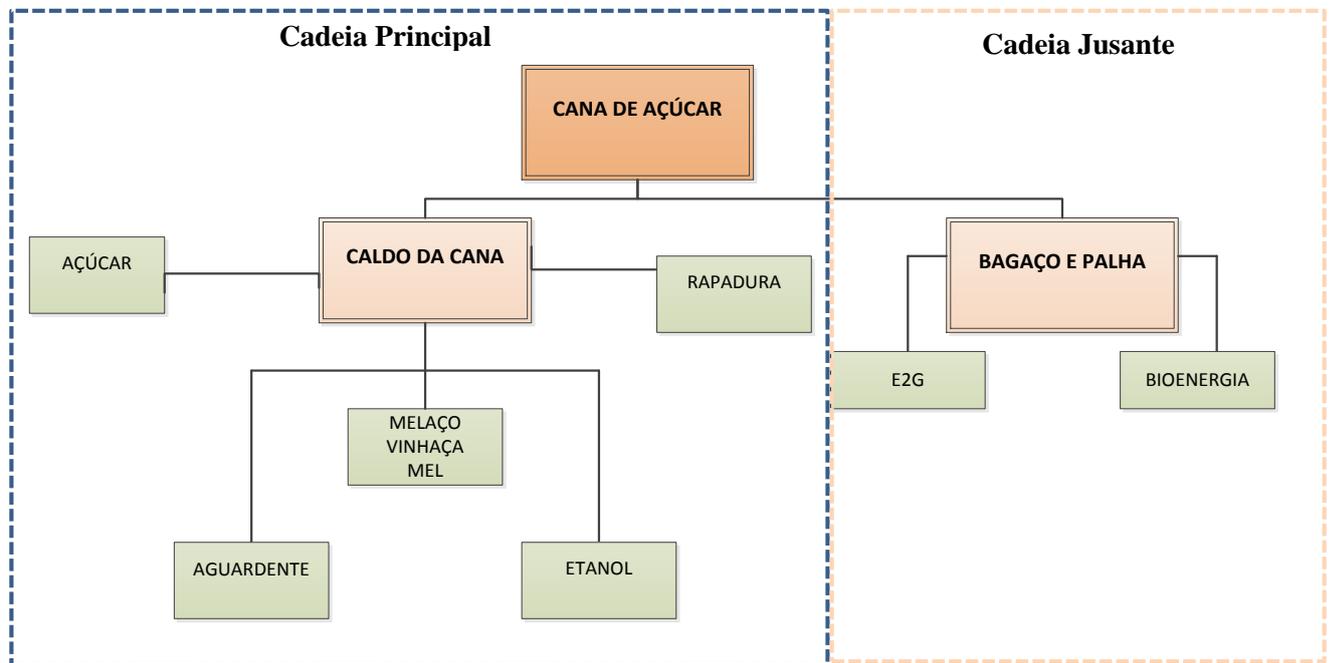


Fonte: CONAB, 2015

A cadeia produtiva da cana de açúcar é bastante estruturada, e pode ser segmentada em dois grupos: o primeiro referente a cadeia principal onde são produzidas açúcar, álcool e aguardente a partir do tratamento do caldo extraído pela moagem da cana, e o segundo que considera a produção do etanol de segunda geração (E2G) e bioeletricidade a partir dos resíduos da cadeia principal para a produção de produtos de alto valor agregado.

O etanol, o açúcar e a bioeletricidade são os produtos mais importantes na cadeia produtiva da cana de açúcar. Na Figura 5 é mostrado o esquema da cadeia produtiva da cana de açúcar. De acordo com a CONAB (2015), a produção de açúcar alcançou 35,56 milhões de toneladas, representando uma queda de 6,1% em relação à safra anterior. Por sua vez, no etanol houve um incremento de 2,5% com produção de 28,66 bilhões de litros de etanol.

Figura 5 Cadeia produtiva da cana de açúcar



Elaboração Própria

Os resíduos agroindustriais dos canaviais, bagaço e a palha, possuem alto potencial energético e podem ser reaproveitados, principalmente, na geração de eletricidade (cogeração) ou na produção do etanol de segunda geração (E2G). Por se tratar de processos competitivos por utilizarem a mesma matéria prima, o conhecimento prévio da estrutura vegetal e da composição destas biomassas pode se tornar um grande aliado nesta decisão, uma vez que, os processos de cogeração são limitados pelo teor de água presente na biomassa.

De acordo com Zancaner e Santos (2013) para a cogeração os resíduos agroindustriais devem possuir umidade máxima em 50% em massa, porque acima deste valor ocorre a perda de poder calorífico do combustível. Com menor quantidade de energia gerada e, logo menor desempenho nas caldeiras na geração de vapor. A Tabela 2 é apresentado os valores do poder calorífico inferior obtidos com a queima de alguns resíduos agrícolas, dentre eles o bagaço e a palha da cana.

**Tabela 2 Poder calorífico inferior de resíduos agroindustriais**

| <b>Combustível</b>                       | <b>Poder calorífico (kcal/kg)</b> |
|--|-----------------------------------|
| Bagaço da cana (20% H <sub>2</sub> O)    | 3.200                             |
| Bagaço da cana (50% H <sub>2</sub> O)    | 1.850                             |
| Bambu (10% H <sub>2</sub> O)             | 3.700                             |
| Casca de arroz (12% H <sub>2</sub> O)    | 3.300                             |
| Casca de cacau (8% H <sub>2</sub> O)     | 3.900                             |
| Lascas de madeira                        | 3.300                             |
| Lenha (40% H <sub>2</sub> O)             | 2.400                             |
| Palha da cana (15% H <sub>2</sub> O)     | 3.100                             |
| Palha da cana (50% H <sub>2</sub> O)     | 1.800                             |
| Palha de amendoim (12% H <sub>2</sub> O) | 3.100                             |
| Palha de trigo (20% H <sub>2</sub> O)    | 3.200                             |

Fonte: Alfa Laval Aalborg, 2015 e Lamonica, 2005

### **2.3 Materiais lignocelulósicos: bagaço da cana**

Os materiais lignocelulósicos são caracterizados por serem fibrosos e capazes de formar uma estrutura vegetal complexa devido ao entrelaçamento entres os principais constituintes, sendo eles os polissacarídeos (açúcares complexos), como a celulose (hexoses) e hemicelulose (pentoses) e a lignina. Podem ser oriundos de biomassas vegetais como os produtos agrícolas, bambu e sisal, e por resíduos agroindustriais, bagaço e cascas. Na Tabela 3 é apresenta a composição mássica dos três principais compostos para diferentes biomassas lignocelulósicas.

**Tabela 3 Composição mássica em diferentes materiais lignocelulósicos**

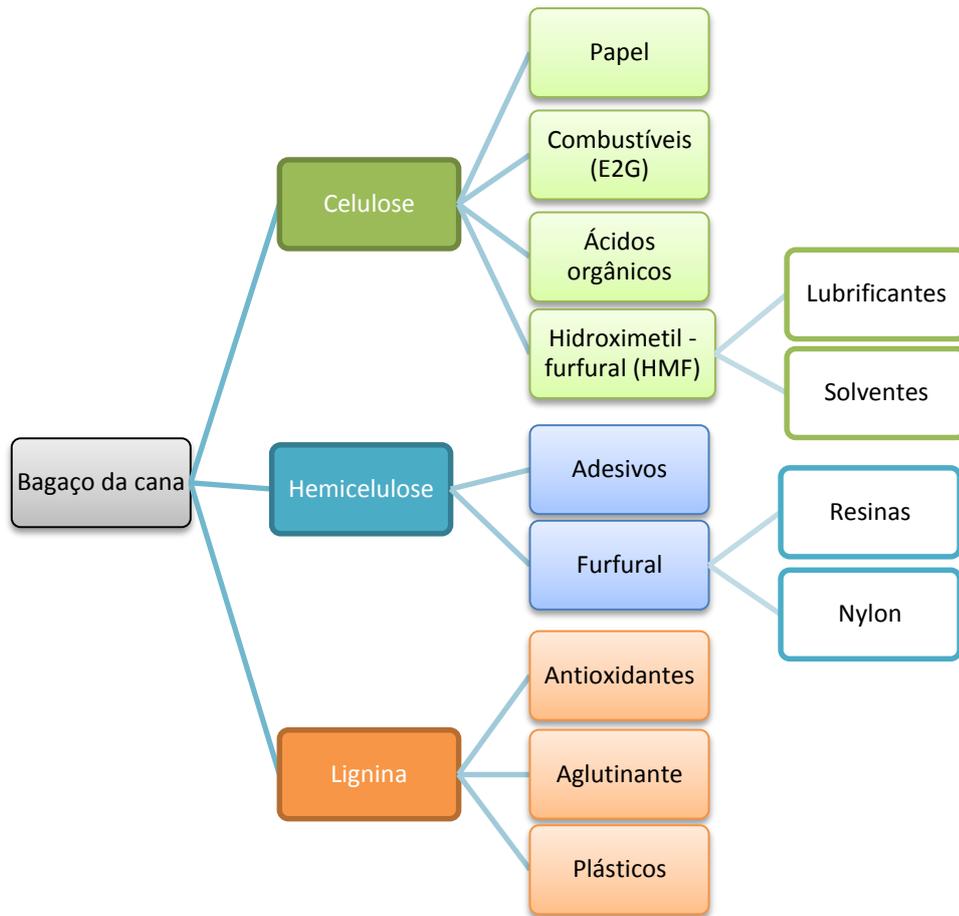
| <b>Material</b>    | <b>Celulose</b> | <b>Hemicelulose</b> | <b>Lignina</b> |
|--------------------|-----------------|---------------------|----------------|
| Bagaço da cana     | 32-48           | 19-24               | 23-32          |
| Palha de cana      | 40-44           | 30-32               | 22-25          |
| Madeira mole       | 40-44           | 25-29               | 25-31          |
| Madeira dura       | 43-47           | 23-35               | 16-24          |
| Palha de trigo     | 37-41           | 27-32               | 13-15          |
| Palha de cevada    | 31-45           | 27-38               | 14-10          |
| Casca de cereais   | 39-47           | 26-31               | 3-5            |
| Fibra de bananeira | 60-65           | 6 -8                | 5-10           |
| Espiga de milho    | 45              | 35                  | 15             |
| Forragem de milho  | 38-40           | 28                  | 7-21           |

**Fonte: Santos et al., 2012**

Dentre as biomassas apresentadas, o bagaço da cana destaca-se por ser altamente energético e de grande abundância, uma vez que sua produção está atrelada ao desempenho da safra da cana de açúcar. Segundo Rabelo e colaboradores (2011), safra brasileira deste vegetal produz em média de 280 kg de bagaço para cada tonelada de cana moída. Além disso, quando comparado à palha da cana, o seu custo de transporte para o reaproveitamento é menor, uma vez que é obtido logo após a extração do caldo, nos processos de moagem, enquanto que a palha é parcialmente deixada na lavoura com intuito de proteger o solo da proliferação de micro-organismos e na reciclagem dos nutrientes. De acordo com Silva e Monquero (2013) no sistema de colheita mecanizada é deixada sobre o solo uma camada de palha que pode superar até 20 t ha<sup>-1</sup>.

A partir dos compostos que constituem o bagaço pode se obter uma gama de produtos com alto valor agregado, como evidenciado na Figura 6. A compreensão da complexidade da parede celular, e o conhecimento prévio das características e propriedades de cada um dos seus componentes permite a separação e o reaproveitamento deles de forma rentável.

**Figura 6 Produtos obtidos a partir do bagaço da cana**

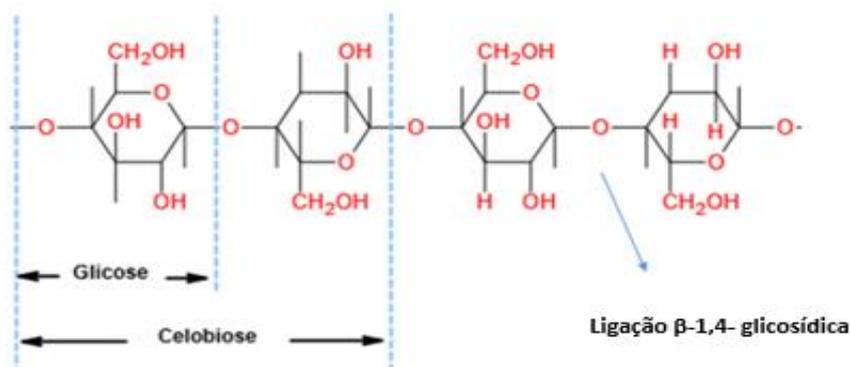


**Fonte: Elaboração Própria**

### 2.3.1 Celulose

A celulose ( $C_6H_{10}O_5$ ) é um dos materiais poliméricos mais abundante na natureza, e é caracterizada por possuir uma cadeia longa e alto peso molecular. As hidroxilas são os grupos funcionais predominantes. A celulose, juntamente com a lignina e hemicelulose constitui a parede celular dos vegetais com composição mássica variando de 20 a 99%. A celulose pode ser definida como um homopolissacarídeo linear e uniforme, formado por unidades repetitivas (monômeros) de celobiose (dímero de glicose), unidas entre si por ligações  $\beta$ -1,4- glicosídicas, como mostrado na Figura 7.

Figura 7 Estrutura da celulose



Fonte: Adaptação Fengel e Wegener, 1989

Moléculas de celulose correlacionam entre si, paralelamente, por ligações de hidrogênio que dão origem as fibrilas que as unem a lignina e hemicelulose. A associação destes polímeros torna a celulose de difícil acessibilidade a reagentes e catalisadores e, insolubilidade na maioria dos solventes, o que explica a sua baixa reatividade e elevada resistência a ação microbiana. (SANTOS et al, 2012). Os grupos funcionais de hidroxilas (OH) existentes em sua estrutura estabelecem ligações intramoleculares, entre grupos hidroxilas da mesma molécula, e intermoleculares, entre grupos hidroxilas de cadeias adjacentes, de forma a permitir a formação de fases cristalinas. As ligações intermoleculares conferem a rigidez a celulose, enquanto que as ligações intramoleculares são responsáveis pela formação das fibras vegetais.

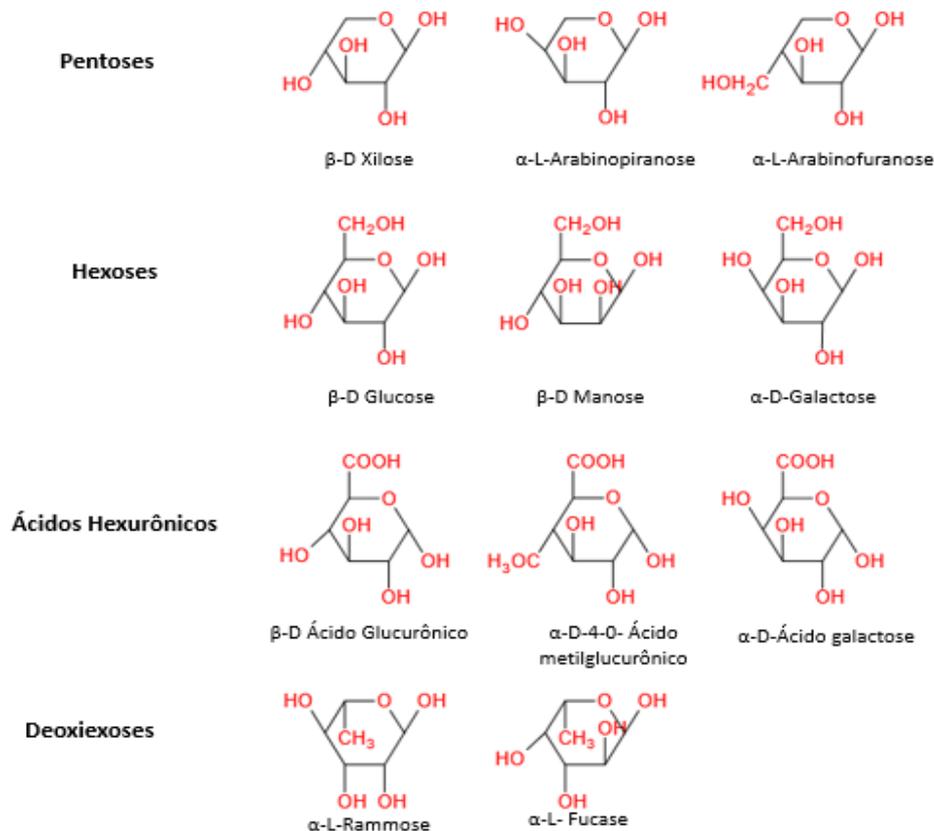
Segundo Pitarelo (2013), a celulose possui sete formas cristalinas, sendo elas I $\alpha$ , I $\beta$ , II, III<sub>I</sub>, III<sub>II</sub>, IV<sub>I</sub> e IV<sub>II</sub>. Cada uma delas apresenta características físicas e químicas próprias, tais como solubilidade, densidade, ponto de fusão e estrutura cristalina, além de propriedades ópticas e elétricas. Dentre elas, a celulose tipo I (I $\alpha$  e I $\beta$ ) é a de maior abundância por ser oriunda durante a síntese do vegetal, e por isso é denominada celulose nativa. As demais formas são de natureza sintética, podendo ser obtidas por tratamentos térmicos ou alcalinos. Isto ocorre, pois as cadeias da celulose nativa se abrem e se recombinaem de forma aleatória, dando origem a uma nova forma amorfa.

### 2.3.2 Hemicelulose

As hemiceluloses são heteropolissacarídeos constituídos por unidades de açúcares diferentes ligados entre si. Possuem uma cadeia curta e ramificada e, em função disso são mais reativas que a celulose. As ramificações propiciam a menor energia das ligações. Além disso, seu caráter amorfo permite uma maior absorção de água, o que contribui para a maior flexibilidade das fibras e também, maior área específica.

Dentre os açúcares que a compõem, as xilanas ou pentoses são predominantes. São formadas pela condensação de unidades de xilose, associadas a grupos acetil, arabinosil e glucoranosil. Os grupos funcionais mais abundantes na hemicelulose são: as hidroxilas (OH), seguido das ligações acetil (COCH<sub>3</sub>) nos anéis dos açúcares e das ligações éster aos grupos acetil. A hemicelulose de gramíneas, como o bagaço da cana de açúcar, é formada majoritariamente por xilanas altamente acetiladas. (PITARELO, 2013).

Figura 8 Representação das unidades de polissacarídeos que compõem a hemicelulose



Fonte: Adaptação Fengel e Wegener, 1989

Segundo Santos e colaboradores (2012), a hemicelulose e a celulose são estruturalmente semelhantes por conterem grupos de açúcares, mas em função do tipo da cadeia, assim como a estrutura reticular elas apresentam diferentes comportamentos reacionais. Na Tabela 4 é possível verificar as principais diferenças entre os dois compostos.

**Tabela 4 Principais diferenças entre a celulose e a hemicelulose**

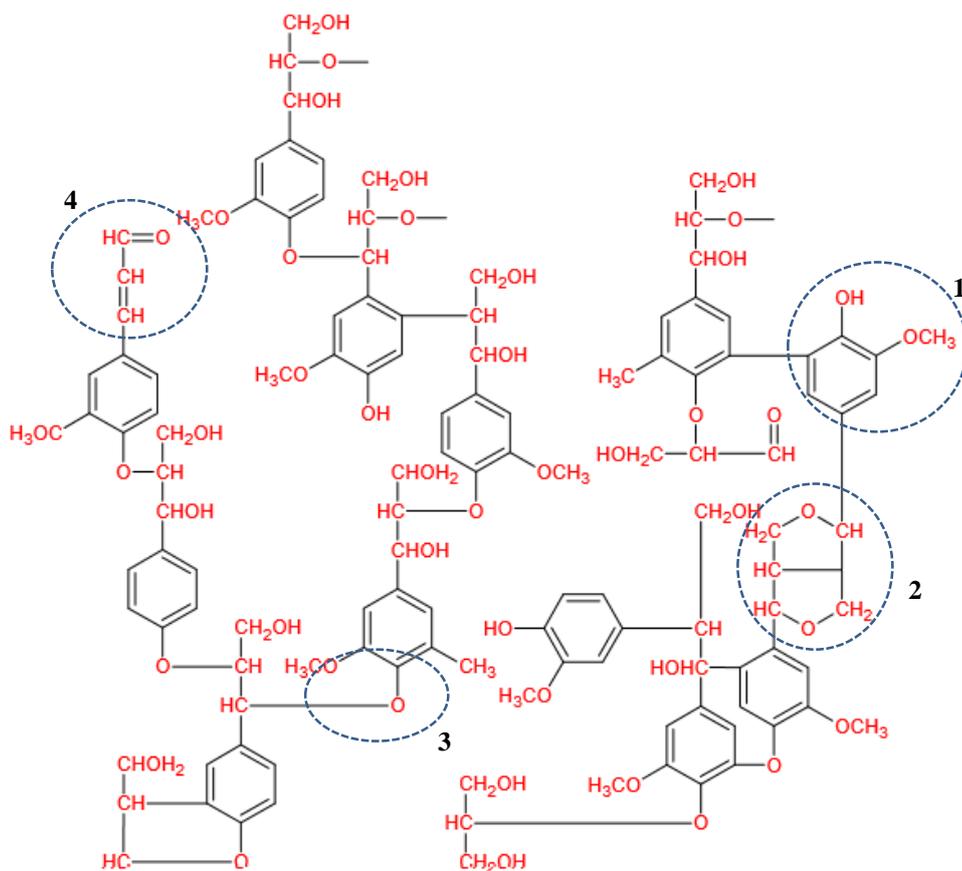
| <b>Fatores</b>                              | <b>Celulose</b>                           | <b>Hemicelulose</b>                              | <b>Referências</b>                                       |
|---|---|--|--|
| Natureza das ligações                       | Homopolímero (monômeros de glicose)       | Heteropolímeros (unidades de hexoses e pentoses) | Candido et al (2012); Chen et al (2012)                  |
| Grau de polimerização                       | Alto ( $100 < n < 1500$ )                 | Baixo ( $50 < n < 300$ )                         | Agbor (2011)   |
| Tipo de cadeia                              | Linear                                    | Ramificada                                       | Agbor (2011); Ferreira e Rocha (2009); Chen et al (2012) |
| Morfologia do polímero                      | Regiões cristalinas e amorfas             | Amorfa   | Santos et al (2012); Alvira et al (2010)                 |
| Absorção de água                            | Baixa absorção (somente na região amorfa) | Alta absorção                                    | Ferreira e Rocha (2009)                                  |
| Hidrólise com ácidos orgânicos a quente     | Baixa (Hidrólise lenta)                   | Alta (Hidrólise rápida)                          | Santos et al (2012); Candido et al (2012)                |
| Solubilidade em soluções alcalinas diluídas | Baixa                                     | Alta   | Rabelo (2010); Fengel e Wegener (1989)                   |

Devido a sua estrutura ramificada a hemicelulose é mais propensa a sofrer a hidrólise, quando comparada a celulose. A sua degradação por hidrólise ácida ou por oxidação são as alternativas mais comuns. Segundo Ayala (2012), a sua degradação por ácidos é mais viável por atacar mais facilmente as ligações éster e acetil, provocando a formação do ácido acético. O ácido acético torna o meio reacional ainda mais ácido, permitindo assim o avanço na degradação de novos grupos.

### 2.3.3 Lignina

A lignina é a segunda macromolécula polimérica mais abundante dentre os materiais lignocelulósicos e representa cerca de 20 a 30% (em massa) da biomassa. A sua formação acontece de maneira gradual, e vai sendo incorporada a estrutura durante o crescimento vegetal. É um polímero amorfo e hidrofóbico constituído por moléculas aromáticas e grupos alifáticos (Figura 9). Sua estrutura é formada por diversos monômeros de fenil propano ligados por diferentes tipos de ligações, como a do tipo carbono-carbono (C-C) ou tipo éter (ROR'), tais como as hidroxilas (OH), carbonilas (CO), carboxilas (COOH), ésteres (RCOOR') e ligações etilênicas (CH<sub>2</sub>). (ALVES, 2011).

Figura 9 Estrutura parcial da lignina

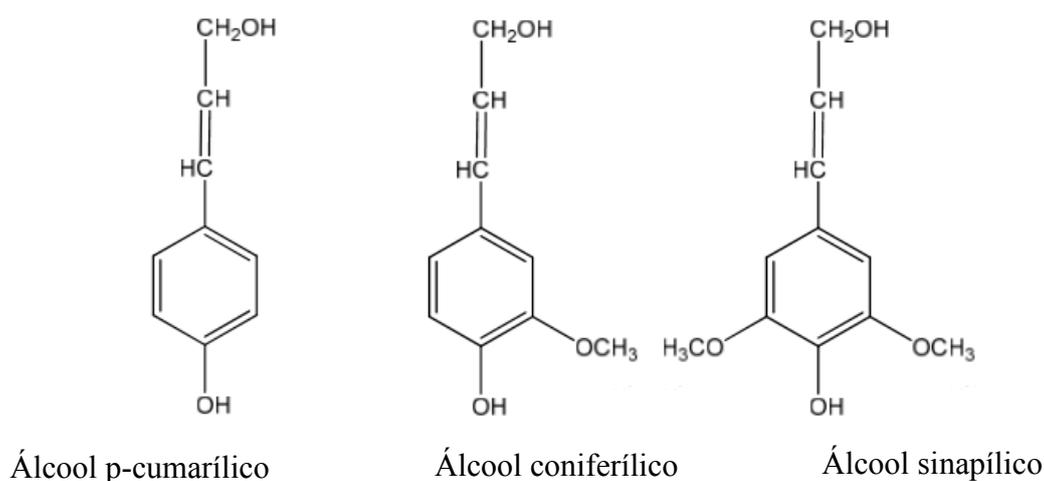


Grupos funcionais na estrutura da lignina: (1) grupo hidroxila fenólico (2) ligação carbono-carbono (3) Ligação tipo éter (4) Carbonila e ligações etilênicas

Fonte: Adaptação Fengel e Wegener, 1989

O teor de aromáticos na lignina é elevado, e isto é resultado da intensa polimerização desidrogenativa dos seus precursores, sendo eles: álcool coniferílico, álcool sinapílico e álcool p-cumarílico mostrados na Figura 10. A concentração destes álcoois nos materiais lignocelulósicos dependem da espécie do vegetal, e o bagaço da cana como uma gramínea, possui os três precursores citados acima.

**Figura 10** Estrutura química dos precursores da lignina



**Fonte: Fengel e Wegener, 1989**

A lignina recobre os demais polissacarídeos dificultando os processos fermentativos na obtenção do etanol. Segundo Pitarelo (2013), este composto é de fundamental importância à sobrevivência da planta por exercer o transporte de água e nutrientes, e também por ser responsável pela resistência mecânica da planta, assim como sua proteção contra a degradação química e enzimática. A sua estrutura química é complexa, e então para a produção do E2G é necessário “desmontar” a parede celular do vegetal, retirando a lignina, de forma a permitir o aproveitamento da glicose existente na celulose. Os processos de degradação da lignina envolvem reações bioquímicas simultâneas com a rupturas das ligações, hidroxilações e demetilações. A maior remoção da lignina induz a uma etapa de digestibilidade da biomassa mais eficiente, pois isso permite a menor concentração dos compostos fenólicos responsáveis por inibir a atividade de enzimas e micro-organismos.

### 2.3.4 Extrativos e Cinzas

Além dos compostos estruturais formados por lignina, hemicelulose e celulose, as espécies vegetais também são constituídas de outras substâncias com baixo peso molecular. Sua composição é bastante variável e dependente de fatores como a espécie da planta e a região a qual foi cultivada. Além disso, são responsáveis por características como cheiro, cor e resistência ao apodrecimento do vegetal. (ESTEVES, 2011)

Os constituintes em menores proporção dividem-se em duas classes: a primeira corresponde aos extrativos, por serem extraíveis em água e solventes orgânicos neutros, ou ainda volatilizados em presença de vapor. Os extraíveis no bagaço são representados pelos óleos vegetais e minerais, ácidos graxos e ceras. A segunda classe é considerada de difícil extração e, são denominados de cinzas. Em biomassas lignocelulósicas são representados pelos sais, óxidos de potássio, cálcio e manganês e, sódio. Para Fengel e Wegener (1989) os extrativos e cinzas representam entre 5-20% (em massa) de todo material lignocelulósico.

## 2.4 Etanol a partir de biomassa lignocelulósica

Segundo o Centro de Tecnologia Canavieira – CTC (2014), a Itália inaugurou, em 2013, a primeira fábrica do mundo de produção do E2G em escala comercial, com capacidade de 75 milhões de litros de etanol a partir da palha de arroz e trigo. Em seguida, vieram os Estados Unidos em 2014, com três plantas de produção de E2G a partir dos resíduos da colheita do milho e do sorgo como a palha e o sabugo, sendo a DuPont com potencial estimado em 113 milhões de litros de E2G/ano, a Abengoa Bioenergy e o Projeto Liberdade da POET-DSM (Advanced Biofuels) com cada um representando 95 milhões de litros etanol/ano. O Brasil, por sua vez, foi o terceiro país a desenvolver o etanol celulósico e, o primeiro no hemisfério sul. A sua primeira unidade, inaugurada em 2014, foi a Bioflex Agroindustrial com capacidade instalada em 82 milhões de litros/ano. No mesmo ano, a Raízen em unidade anexa a sua Usina Costa Pinto, já existente, iniciou o processamento do E2G em São Paulo com capacidade de produção de 40 milhões de litros de etanol/ano. De forma geral, os projetos brasileiros utilizam como matéria prima, o bagaço e a palha da cana de açúcar, e a tecnologia de produção do E2G instalada nas usinas foi desenvolvida com parcerias estrangeiras como a Beta Renewables e a Iogen Corporation, com adaptações da variedade da cana como matéria prima.

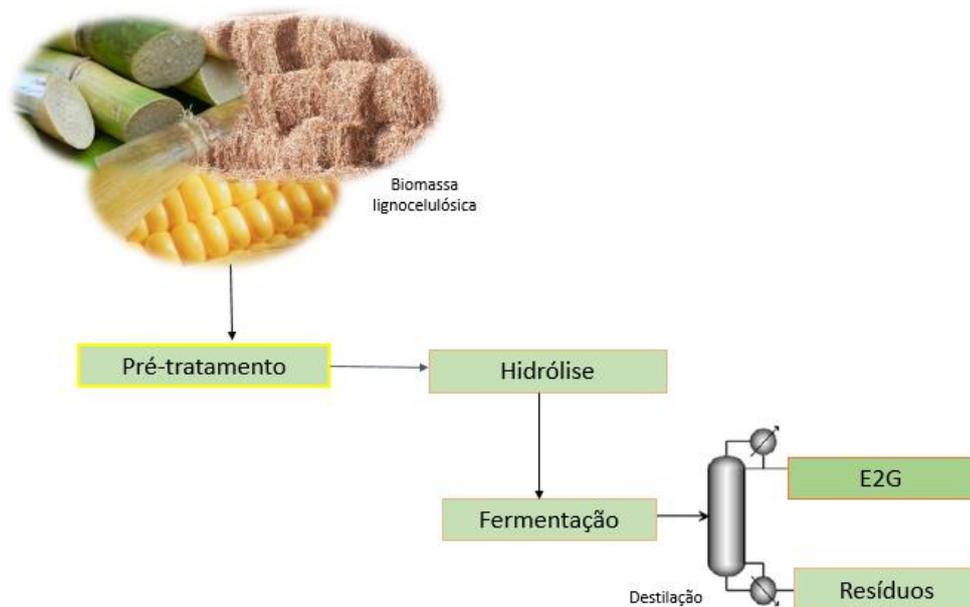
Atualmente, o setor sucroalcooleiro na produção do E2G brasileiro depende de subsídios governamentais que permitam a competição com as indústrias petrolíferas, e o

reconhecimento da importância dos combustíveis renováveis na matriz energética nacional. No entanto, o E2G já é uma realidade, e apesar da crise energética atual, o etanol ainda é visto como um combustível renovável viável, por garantir a produção de um maior volume de etanol de forma a atender a ao mercado nacional.

### 2.4.1 Produção E2G

A produção do E2G é um desafio e, sua vantagem competitiva está em converter a biomassa lignocelulósica em açúcares fermentescíveis em escala industrial. No entanto, se essa conversão for feita com baixo custo é possível aumentar a produtividade de forma sustentável, mantendo inalterada a disponibilidade de alimentos e área de plantio. Diferentemente do que ocorre com o etanol de 1ª geração, a produção do E2G necessita de etapas preliminares visando diminuir a resistência do acesso de catalisadores (micro-organismos e enzimas) na estrutura da celulose, onde encontra-se o açúcar de interesse (glicose). As etapas estão descritas na Figura 11.

**Figura 11** Processo produtivo simplificado do E2G



**Fonte: Elaboração Própria**

O pré-tratamento e a hidrólise são as etapas que mais impactam no custo de produção do E2G, já que são responsáveis por desestruturar a parede celular e disponibilizar a glicose

para a ação dos micro-organismos. Conforme o estudo do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES) em conjunto com o Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE) (2015) o custo de produção do litro de E2G (R\$ 1,50) encontra-se próximo do etanol convencional (R\$ 1,10), e a expectativa que até 2020 esta diferença seja ainda mais acentuada, podendo o E2G atingir custos de produção na ordem de R\$ 0,70 e R\$ 0,50. Todavia, esta redução dos custos está atrelada à necessidade do aprimoramento da tecnologia na produção do etanol.

## **2.5 Pré-tratamento do bagaço**

A bioconversão do bagaço em etanol envolve duas etapas: a hidrólise da celulose para a produção dos monômeros de glicose e, a fermentação destes em etanol. Para que a etapa de hidrólise enzimática seja eficiente é necessário romper a barreira vegetal formada pela lignina e hemicelulose, desestruturando a parede celular do vegetal por meio dos pré-tratamentos. O objetivo do pré-tratamento é tornar a celulose mais susceptível ao acesso das enzimas na hidrólise. Segundo Moraes (2010), sem o pré-tratamento, a ação das enzimas é lenta e com rendimentos inferiores a 20%, mas a inserção de uma etapa de pré-tratamento resulta em rendimentos superiores a 80%. A avaliação da eficiência desta etapa é função de rendimento, seletividade, funcionalidade e custo de operação. Para isso alguns critérios devem ser atendidos como a ruptura do complexo lignina-carboidrato, preservação da cadeia celulósica, redução do grau de polimerização e cristalinidade dos constituintes, aumento da área superficial e baixa produção de substâncias de degradação dos açúcares tais como ácido acético, furfural, 5-hidroximetilfurfural e compostos fenólicos.

Vários métodos têm sido propostos para a separação e aproveitamento dos materiais lignocelulósicos, podendo estes serem classificados em físicos (tratamento mecânico por trituração, moagem, ultrassons e micro-ondas), químicos (líquidos iônicos, agentes oxidantes, ácidos, álcalis, solventes orgânicos e AFEX- explosão com solução de amônia), físico-químicos (explosão a vapor d'água, fluidos supercríticos e a auto hidrólise com água líquida quente (LHW)) e biológicos (ação de micro-organismos). Além da possível combinação entre eles. A determinação do melhor tipo de pré-tratamento depende de dois fatores, o material a ser tratado e a finalidade proposta, pois todos os processos tem vantagens e desvantagens relacionados ao modo como ocorrerão as alterações químicas da parede celular. Na Tabela 5 é apresentado um resumo dos principais tipos de pré-tratamentos com os seus respectivos fatores de modificação estrutural, vantagens e desvantagens.

Tabela 5 Tipos de pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas

| Pré-tratamentos | Fatores  | Vantagens   | Desvantagens   | Referências   |
|-----------------|--|---|--|---|
| Físicos         | Moagem e trituração; Radiação e Altas temperaturas | Redução tamanho da partícula; Redução cristalinidade.   | Alto gasto energético; Não remoção de lignina e hemicelulose e Formação de inibidores.                                     | Agbor et al (2011); Santos et al (2012); Sarkar et al (2012).           |
|                 | Alcalinos e AFEX                                   | Remoção da lignina; Despolimerização da hemicelulose.   | Formação de sais irrecuperáveis; Baixa eficiência em resíduos com alto teor de lignina e Corrosão.                         | Agabor et al (2011); Kumar et al (2009); Sarkar et al (2012).           |
| Químico         | Ácidos   | Remoção da hemicelulose; altera estrutura da lignina.   | Necessidade neutralização; Ataque pouco efetivo a lignina e Corrosão.  | Candido et al (2012); Chatuverdi e Verma (2013).                        |
|                 | Agentes Oxidantes                                  | Remoção efetiva a hemicelulose; Baixa degradação da celulose; Não geração de resíduos sólidos.              | Necessidade ajuste de pH do reagente.  | Dawson Boopathy (2008); Chatuverdi e Verma (2013); Rabelo et al (2011). |
|                 | Solventes Orgânicos (organossolv)                  | Remoção da lignina e hemicelulose; Obtenção da lignina com alto grau de pureza.                             | Necessidade remoção do solvente residual; Formação de inibidores; Alto custo na recuperação do solvente.                   | Sun et al. (2002); Agbor et al (2011); Santos et al (2012).             |
| Biológico       | Micro-organismos (Fungos)                          | Remoção lignina e hemicelulose; Baixo gasto energético; Ideal para materiais com alto teor de carboidratos. | Maior tempo de residência; Alto custo; Taxa de hidrólise baixa; Menor rendimento em açúcares.                              | Balat (2011); Zheng et al (2009); Ogeda e Petri (2010).                 |
| Físico-Químico  | Explosão a vapor, Explosão a CO <sub>2</sub> e LHW | Aumento da área superficial; eficiência energética.   | Equipamentos resistentes a alta pressão; Alto controle das variáveis de processo; Etapa adicional para remoção da lignina. | Sun et al. (2002); Alvira et al (2010) Ogeda e Petri (2010).            |

Dentre os pré-tratamentos, os químicos possuem maior número de publicações devido à infinidade de combinações possíveis. Eles diferem entre si pela ação dos reagentes e, pelo mecanismo envolvido para a modificação estrutural da parede celular para aumentar o rendimento e a acessibilidade das enzimas a celulose.

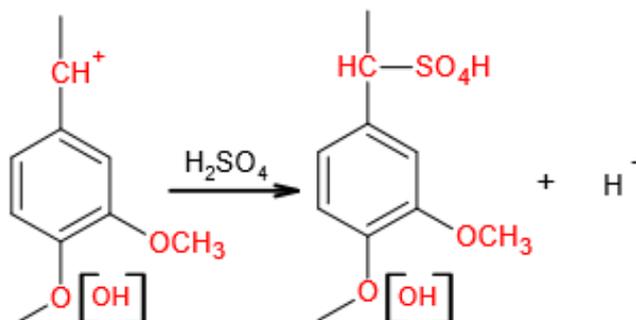
### **2.5.1 Pré-tratamento ácido**

O pré-tratamento ácido utiliza principalmente soluções de ácido clorídrico, sulfúrico e fosfórico responsáveis pela decomposição da hemicelulose. O ácido sulfúrico é preferível em razão do baixo custo quando comparado o clorídrico e fosfórico, como por exemplo. Fatores como concentração ácida e temperatura da reação são limitantes, pois condições severas podem favorecer a degradação da celulose e da hemicelulose, com a formação do furfural, 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) e ácido acético, caracterizados por serem fortes inibidores de fermentação. (SARKAR, et al. 2012).

O uso de ácidos concentrados promove uma melhor digestibilidade da biomassa quando comparado aos ácidos diluídos; e também degradam fortemente a lignina por reações de condensação, fazendo-a precipitar. Além disso, requerem equipamentos resistentes a corrosão. Já com ácidos diluídos é verificada uma maior efetividade na remoção da hemicelulose, baixa degradação da celulose e lignina, aliado ao baixo custo operacional. Bluhum e colaboradores (2012) indicaram que concentrações entre 0,5-1,5 % (v/v) são mais usuais. Pitarelo (2013) verificou que são necessárias etapas de moagem e lavagem antes do pré-tratamento ácido. A moagem visa aumentar sua área superficial e, a lavagem reduzir o teor de cinzas e impurezas na biomassa. Isso ocorre, pois a área superficial do bagaço e o teor de cinzas atuam como um efeito tamponante sobre a ação do ácido, resultando no seu maior consumo para a obtenção do pH adequado aos processos do pré-tratamento.

Ácidos minerais agem por meio da hidrólise da xilana, polímero predominante na hemicelulose, para formar as xiloses ou pentoses. Este tipo de pré-tratamento exerce pouca influência quanto a extração da lignina, apenas permitem reações de condensação capazes de promover uma alteração em sua estrutura devido a formação das pseudo-ligninas, que se redistribuem na parede celular, de modo a torna-la mais acessível aos processos posteriores. A Figura 12 apresenta a reação da formação das pseudo-ligninas ao reagir a lignina com ácido sulfúrico, como por exemplo.

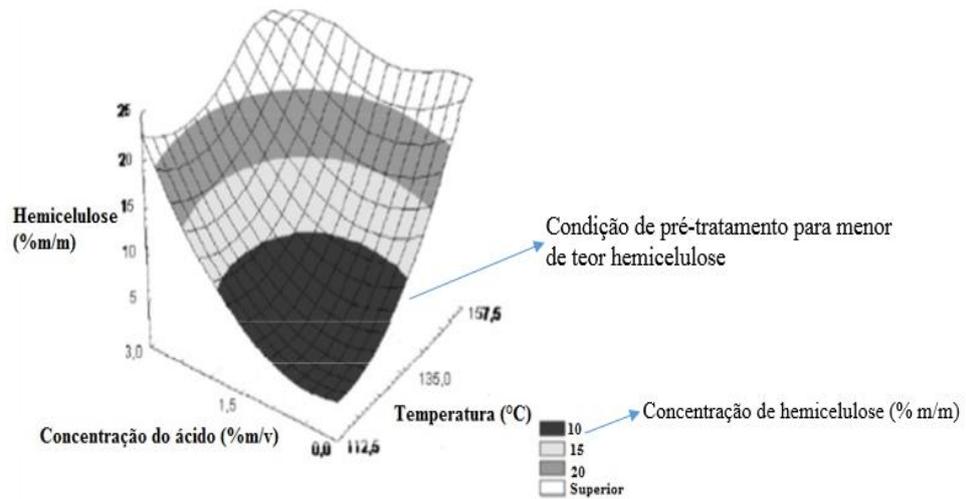
Figura 12 Reação típica entre a lignina e o ácido sulfúrico na formação das pseudo-ligninas



Fonte: Alves, 2011

Canilha e colaboradores (2011) estudaram o efeito da concentração da xilose (hemicelulose) com a variação da concentração do ácido. Utilizaram o bagaço da cana de açúcar como matéria prima, e as condições operacionais foram: concentração do ácido sulfúrico entre 0,5-2,5 m/m, tempo de residência entre 5-35 minutos, e temperatura entre 112-150 °C. Com a caracterização química do material pré-tratado os autores observaram que o tempo era a variável de menor influência na etapa de pré-tratamento, mas que a interação entre a concentração e a temperatura eram bem significativos. Isso pode ser evidenciado através do gráfico de superfície de resposta (Figura 13) apresentado por eles, onde foi verificado que a concentração e temperatura eram grandezas diretamente proporcionais. Os autores consideraram uma concentração mínima de 10% (m/m) de hemicelulose no bagaço pré-tratado, e para obtê-lo era necessário aumentar a concentração do ácido sulfúrico e a temperatura reacional. Sendo assim, a condição ótima determinada pelos autores foi concentração de ácido sulfúrico em 2% (m/m), tempo de residência de 30 minutos e temperatura de 150 °C. A composição final do bagaço pré-tratado sólido deu-se em 8,76% de hemicelulose, 56,52% de celulose e 29,93% de lignina.

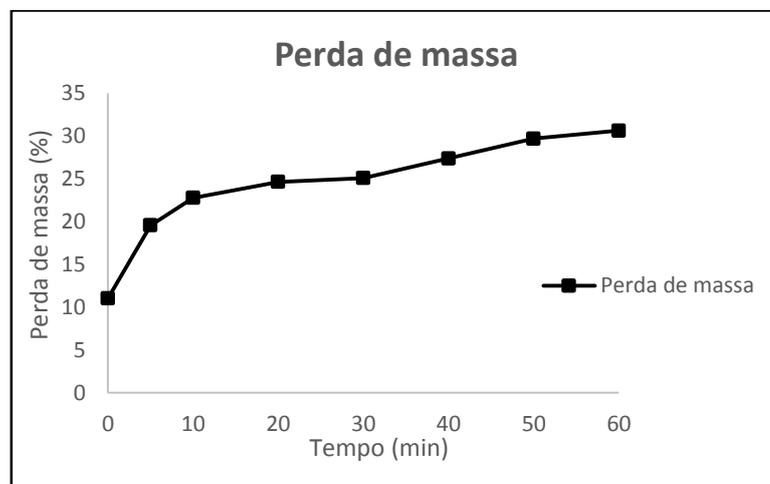
**Figura 13** Efeito do teor de hemicelulose em função da concentração ácida e temperatura após o pré-tratamento



Fonte: Canilha et al., 2011

Candido e colaboradores (2012) estudaram o efeito do tempo de reação no pré-tratamento do bagaço da cana de açúcar. Foram utilizadas concentração de ácido sulfúrico em 10% (v/v) e temperatura em 100 °C. A reação foi conduzida em tempos pré-determinados dentro do intervalo de 0 - 60 minutos. Com os resultados, os autores reafirmaram que a relação entre o tempo reacional e perda mássica dos componentes não é linear devido à complexidade da estrutura vegetal como pode ser visualizado na Figura 14.

**Figura 14** Gráfico de perda de massa versus o tempo de reação



Fonte: Candido et al., 2012

Em adição, eles também apresentaram a caracterização do bagaço para os intervalos de tempo estudados (Tabela 6). Verificaram que a hemicelulose apresentou maior índice de remoção quando comparado a lignina e celulose, devido a menor complexidade da sua estrutura (regiões amorfas). Com relação a celulose e a lignina insolúvel é observado que suas respectivas composições químicas mantiveram aproximadamente constante, decorrente da cristalinidade de celulose e a pouca interferência do meio ácido à lignina. A lignina solúvel apresentou pequeno grau de remoção. O tempo de 40 minutos foi considerado satisfatório quanto aos objetivos do trabalho. A partir de 40 minutos evidencia-se o aumento dos teores de lignina, hemicelulose e celulose na biomassa indicando que não existe mais a remoção destes componentes, mas sim a formação de espécies indesejadas que podem inibir os processos de hidrólise e fermentação posteriores.

**Tabela 6 Composição química em diferentes tempos do bagaço pré-tratado com ácido sulfúrico**

| Tempo reação (min) | Celulose (%) | Lignina insolúvel (%) | Lignina solúvel (%) | Hemicelulose (%) |
|--------------------|--------------|-----------------------|---------------------|------------------|
| 0                  | 47,44        | 23,43                 | 7,31                | 21,20            |
| 5                  | 50,17        | 23,47                 | 6,38                | 18,38            |
| 10                 | 51,98        | 24,58                 | 6,55                | 15,96            |
| 20                 | 53,88        | 26,02                 | 5,72                | 13,93            |
| 30                 | 53,96        | 26,18                 | 5,59                | 12,68            |
| <b>40</b>          | <b>53,76</b> | <b>25,90</b>          | <b>6,87</b>         | <b>10,57</b>     |
| 50                 | 55,06        | 29,57                 | 5,71                | 9,18             |
| 60                 | 53,21        | 28,37                 | 6,07                | 11,37            |

**Fonte: Candido et al., 2012**

Por sua vez, Manzoor e colaboradores (2012) fizeram o pré-tratamento ácido visando uma maior deslignificação da biomassa. O bagaço da cana foi pré-tratado com várias concentrações de ácido sulfúrico (0,5 – 5% (m/v)) a diferentes tempos reacionais (30 – 180 minutos) mantendo constante a temperatura em 121 °C. Com este trabalho, os autores verificaram que a condição de 4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 180 minutos provocou maior grau de remoção da lignina chegando a 82%. No entanto, essa condição degradou a celulose de forma bem acentuada cerca de 88%.

A hidrólise enzimática da celulose é melhorada quando a biomassa pré-tratada possui um baixo teor de hemicelulose, o que ratifica a necessidade de condições de temperatura e concentração ácida mais elevadas. Em contrapartida, condições operacionais muito severas podem aumentar a degradação dos açúcares, e com isso permitir a formação de inibidores de fermentação, diminuindo assim a eficiência global do processo de pré-tratamento. Os estudos apresentados indicaram que o ácido sulfúrico fornece respostas positivas e eficazes quanto a remoção da hemicelulose. Fatores como concentração do ácido e temperatura são os mais influentes, enquanto que o tempo não interfere de forma significativa.

O pré-tratamento quando submetido a maiores concentrações de ácido e tempo reacional elevado também pode alterar as interações do complexo lignina-carboidrato na estrutura celular, provocando assim a sua solubilização. No entanto, nesta condição ocorre a degradação da cadeia celulósica, que do ponto de vista da produção do E2G este resultado não é satisfatório. Sendo assim, torna-se imprescindível a inserção de uma etapa complementar afim de remover a lignina, e concomitantemente preservar a celulose.

### **2.5.2 Pré-tratamento alcalino oxidativo**

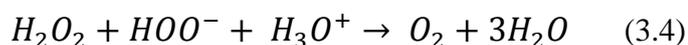
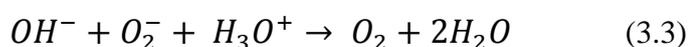
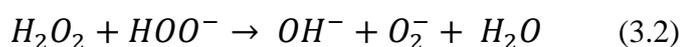
Uma alternativa promissora é o pré-tratamento alcalino oxidativo que utiliza agentes oxidantes sob condição alcalina, como peróxido de hidrogênio, ozônio e ácido paracético. Estas substâncias potencializam a remoção da lignina por oxidar seletivamente os compostos aromáticos da lignina, sem a formação de resíduos sólidos.

O peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) é um forte agente oxidante e atua tanto em soluções básicas quanto ácidas. É muito versátil por apresentar seletividade diferenciada quando submetido em condições específicas, ou seja, a variação de temperatura, concentração, tempo reacional e a adição ou não de catalisadores pode tornar o peróxido de hidrogênio um forte agente redutor, capaz de oxidar diferentes espécies. Mas a sua decomposição química pode ser acelerada por influência do pH e temperatura. Segundo Mattos e colaboradores (2003) a taxa de decomposição aumenta cerca de 2,5 vezes para cada 10 °C de incremento de temperatura, logo este reagente ser armazenado em locais de pouca variação de temperatura. O ideal é que sejam refrigeradas. Tem grande aplicação nas indústrias químicas em reações de oxidação e indústrias de papel e celulose como agente branqueador, por permitir a retirada da lignina que possui uma tonalidade escura.

Segundo Gould e Freer (1984) o pré-tratamento de biomassas com solução diluída de peróxido de hidrogênio é capaz de remover cerca de 50% da lignina tornando a celulose mais

disponível a ocorrência da hidrólise. Como a deslignificação dos materiais lignocelulósicos é potencializado em meio alcalino, faz-se então necessário a adição de soluções básicas para ajuste de pH, sendo o hidróxido de sódio o álcali mais utilizado. Sob esta condição ocorre a dissociação do peróxido de hidrogênio, e a formação do ânion hidroperóxido ( $\text{HOO}^-$ ) considerado a principal espécie ativa. Contudo, este reagente também é instável em meio alcalino, e por isso, ainda decompõe-se formando dois outros radicais livres, sendo eles: superóxido ( $\text{OO}^-$ ) e hidroxil ( $\text{OH}^-$ ). Estes últimos são responsáveis por oxidar a estrutura dos constituintes da biomassa, por quebrar as ligações dos grupos hidrofílicos, e conseqüentemente por dissolver a lignina e hemicelulose. Na ausência de reagente, os radicais livres formados (superóxido e hidroxil) podem reagir entre si, formando água e oxigênio. (AYALA, 2012; RABELO, 2010).

A reação de decomposição do peróxido de hidrogênio para a formação de espécies ativas necessárias para as etapas deslignificação da biomassa é apresentada nas equações dispostas a seguir.



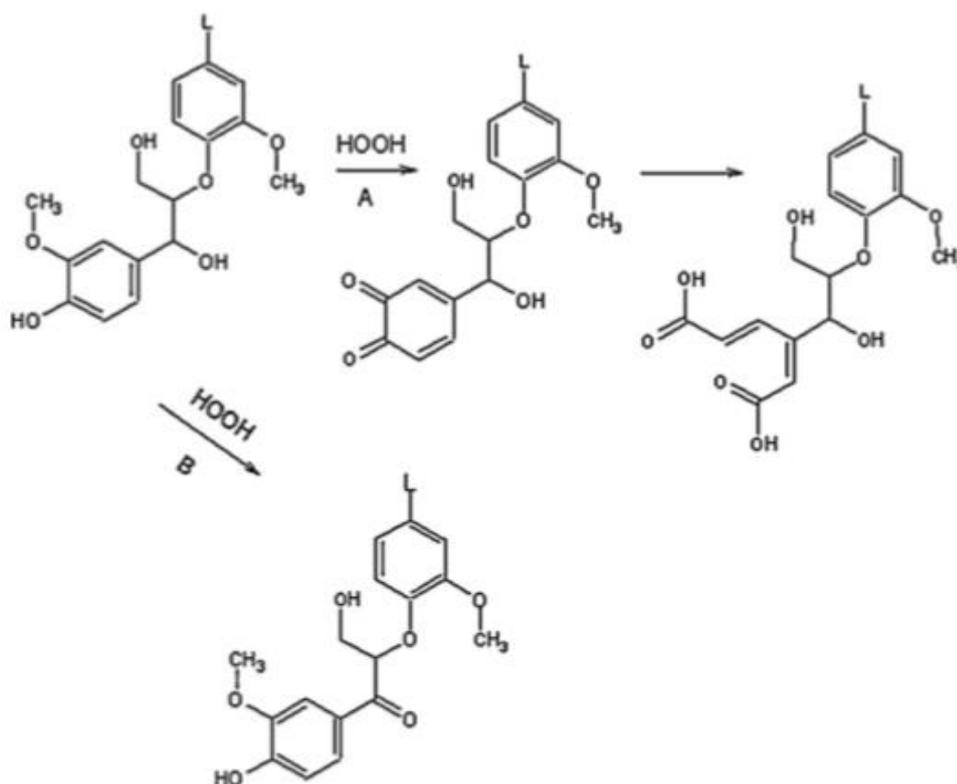
Representação da reação global simplificada (reação 3.5):



O pH é o fator de maior influência na oxidação dos grupos fenólicos da lignina e, segundo Maziero e colaboradores (2012), somente com o pH acima de 11 existe uma deslignificação significativa de biomassas lignocelulósicas. Na Figura 15 é apresentada o mecanismo reacional da ação do peróxido de hidrogênio na estrutura vegetal, onde é evidenciado o efeito do pH da decomposição da lignina. A primeira (parte A) é a desejada, pois nela ocorre a clivagem oxidativa do anel aromático levando a sua abertura e a formação de ácidos orgânicos, dióxido de carbono e outros produtos orgânicos de baixo peso molecular. Em adição, os radicais livres também promovem a remoção do grupo funcional metil ( $\text{OCH}_3$ ). Estas alterações na estrutura vegetal permitem a maior solubilidade da lignina em água, facilitando

assim a sua remoção. A segunda (parte B) ocorre somente a oxidação dos grupos alifáticos da macromolécula, sem a quebra do anel aromático.

**Figura 15 Mecanismo reacional da oxidação da lignina com peróxido de hidrogênio alcalino**



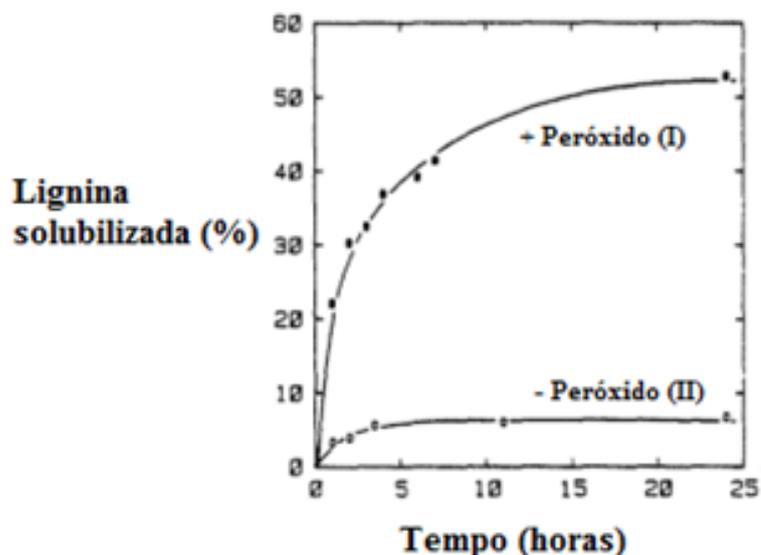
Fonte: Maziero et al., 2012

O pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino tem sido aplicado em diversos tipos de materiais lignocelulósicos tais como palha de trigo, palha de cevada e bagaço de cana com o intuito de verificar a sua eficiência na remoção da lignina, e assim otimizar a efetividade da etapa de hidrólise enzimática.

Gould e Freer (1984) mostraram a eficiência do peróxido de hidrogênio, quanto a remoção da lignina, durante o pré-tratamento da palha de trigo. Para isso amostras foram tratadas com 1% (m/v) de peróxido de hidrogênio (pH = 11,5) a 25 °C durante 24 horas, e outras foram pré-tratadas com água destilada, sem o agente oxidante, mas mantendo inalterados os valores de tempo reacional, temperatura e pH. Desta forma, os autores encontraram uma relação da remoção da lignina contida no material lignocelulósico em função do tempo reacional, como mostrado na Figura 16. Nela foi possível verificar que o peróxido de hidrogênio removeu um

pouco mais de 50% da lignina, enquanto que a solução sem o reagente removeu menos que 10%.

Figura 16 Solubilização da lignina: (I) palha de trigo com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (II) palha de trigo pré-tratado com H<sub>2</sub>O



Fonte: Gold e Freer, 1984

Dawson e Boopathy (2008) realizaram estudo semelhante ao anterior, mas desta vez, utilizaram o bagaço da cana de açúcar como biomassa. O pré-tratamento ocorreu com o peróxido de hidrogênio com concentração variando entre 1-5% (v/v), tempo de incubação de 24 e 48 horas e pH igual a 11,5 e 13. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 7, os autores viram que altos valores de pH não propiciam a maior remoção da lignina, e que o maior tempo de incubação estudado (48 horas) promoveu maior perda mássica deste componente. A condição onde ocorreu máxima deslignificação foi na concentração de peróxido de hidrogênio igual de 2% (v/v), tempo de 48 horas e pH=11,5.

**Tabela 7 Remoção mássica de lignina dos pré-tratamentos alcalinos**

| Concentração<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> % (v/v) | Tempo (horas) | pH   | Perda mássica<br>lignina (%) |
|---|---------------|------|------------------------------|
| 2   | 48            | 11,5 | 60,45                        |
| 5   | 48            | 13   | 56,04                        |
| 1   | 48            | 13   | 55,70                        |
| 2   | 48            | 13   | 51,45                        |
| 1   | 24            | 13   | 51,32                        |

**Fonte: Dawson e Boopathy, 2008**

Rabelo e colaboradores (2011) investigaram os efeitos do hidróxido de cálcio e o peróxido de hidrogênio no pré-tratamento do bagaço da cana de açúcar. Para ambos os reagentes variaram concentração em 1 - 5% (v/v), tempo reacional entre 6 - 24 horas, e temperatura entre 20 - 60 °C. O peróxido apresentou melhores resultados quando comparado ao álcali, e isso pôde ser observado pela maior preservação da cadeia celulósica e maior facilidade no manuseio do reagente, uma vez, que os autores observaram que o bagaço após o pré-tratamento com o hidróxido de cálcio necessitou de uma lavagem mais minuciosa a fim de evitar que o pH influencie nas etapas posteriores. Além disso, os autores encontraram que a concentração é a variável de maior influência no pré-tratamento, mas que também a interação da concentração com o tempo e temperatura é significativa. A condição ótima para a ocorrência da hidrólise foi tempo de 24 horas, temperatura de 20 °C e concentração de peróxido de 5% (v/v). Saha e Cotta (2014) utilizaram a palha de milho como material lignocelulósico na avaliação do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino (pH=11,5). Neste estudo foi utilizado 2% (v/v) do reagente na temperatura a 35 °C e tempo de 24 horas. Os autores verificaram que nesta condição houve a redução de 67% da hemicelulose e apenas 18% da lignina na fração sólida. Além disso, também observaram em estudo em paralelo que a concentração do peróxido e o pH são os fatores que mais influenciam na melhora da hidrólise enzimática, ratificando os resultados dos trabalhos anteriores.

Diferentemente dos estudos supracitados, Correia e colaboradores (2013) optaram pelo bagaço de caju como biomassa para estudar as condições ótimas do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino (pH =11,5). Eles analisaram as variações na concentração do peróxido em 0 - 4,3% (v/v) e tempo de incubação 30 minutos - 24 horas, e mantiveram a temperatura fixa de 35 °C. O pré-tratamento resultou numa deslignificação efetiva quando a

concentração do reagente foi maior que 2,15% (v/v), e que tempos maiores que 6 horas não influenciavam de forma significativa o processo. A condição ótima encontrada foi concentração de peróxido igual 4,3% (v/v) com tempo de incubação igual a 6 horas. É possível notar que o tempo reacional otimizado no trabalho de Correia e colaboradores (2013) foi sensivelmente menor quando comparado aos pré-tratamentos utilizando resíduos agroindustriais não provenientes de frutas, isso se deve provavelmente pela estrutura celular menos complexa do bagaço de caju.

De acordo com os estudos apresentados infere-se que os parâmetros de concentração do peróxido e o pH influenciam fortemente na eficiência do pré-tratamento. O peróxido de hidrogênio em concentrações baixas não afeta a lignina, devido à complexidade da sua estrutura, o que não ocorre com a hemicelulose. Outro fator importante é o pH do peróxido de hidrogênio, pois somente em meio alcalino ocorre a sua decomposição para a formação das espécies ativas (hidroxil e superóxido). Apesar dos trabalhos com o pré-tratamento dos resíduos agrícolas com o peróxido de hidrogênio alcalino apresentarem remoção da lignina e solubilização parcial da hemicelulose, foram utilizados tempos reacionais longos, maiores que 20 horas. Isso pode tornar o pré-tratamento inviável economicamente. Rabelo e colaboradores (2011) afirmaram que uma das possibilidades de diminuir o tempo reacional do pré-tratamento é o aumento da concentração do peróxido de hidrogênio o que levaria a uma alta remoção da lignina, mas também uma alta probabilidade de degradação dos açúcares redutores. Outra alternativa destacada por Pitarelo (2013) é o pré-tratamento combinado, que consiste na combinação de processos ácidos e alcalinos, como por exemplo, para a melhoria na hidrólise enzimática, onde o pré-tratamento ácido seria responsável por remover a hemicelulose e consequentemente o ácido acético, o qual interfere na ação da base, e o pré-tratamento alcalino a lignina

### 2.5.3 Pré-tratamento combinado

O pré-tratamento combinado utilizando ácido sulfúrico e o hidróxido de sódio foi estudado por Mendes e colaboradores (2012) que tiveram como foco a máxima preservação da celulose da forrageira *Brachiaria brizantha* cv. *Marandu*<sup>2</sup> e, por isso, estudaram a condição de

---

<sup>2</sup> *Brachiaria brizantha* cv. *Marandu* é uma das espécies de forrageira, gramíneas, mais utilizadas nos sistemas de pecuária extensiva no Brasil.

ácido sulfúrico 1,5% (v/v) seguido do hidróxido de sódio 4% (v/v), ambos a 121 °C durante 30 minutos. Eles notaram que nesta condição houve elevada recuperação da cadeia celulósica cerca de 92%. Rezende e colaboradores (2011), por sua vez, utilizaram o bagaço da cana para a máxima remoção da lignina e, adotaram o pré-tratamento com ácido sulfúrico 1% (m/v) a 121 °C por 45 minutos seguido do tratamento com hidróxido de sódio com concentração 2% (m/v) a 121 °C por 30 minutos. Isso resultou numa remoção de 89% de lignina. Contudo, os autores verificaram que logo após a biomassa ser submetida ao pré-tratamento alcalino foi necessária uma inserção de etapa de lavagem muito minuciosa, o que exigiu elevado volume de água. Essa etapa de lavagem posterior é imprescindível, pois o pH alcalino e os resíduos da soda propiciam a formação de sais irrecuperáveis que podem ser incorporados na biomassa e, também, a formação de compostos de inibição da hidrólise e fermentação. Para Mendes e colaboradores (2012) foi necessário a lavagem com água quente, num volume equivalente a cinco vezes o volume de hidróxido utilizado.

Neste contexto o peróxido de hidrogênio alcalino pode ser um forte substituto ao hidróxido de sódio no pré-tratamento combinado, uma vez que também age preferencialmente na lignina e forma poucos resíduos reacionais. Haripriya e colaboradores (2014) investigaram o pré-tratamento do bagaço da cana utilizando uma suspensão de 1% de peróxido de hidrogênio alcalino e 1% de ácido acético. O tratamento ocorreu a 37 °C durante 10 horas. Nesta condição houve perda mássica de celulose em 50%, resultado considerado insatisfatório para a produção do E2G. Wang e colaboradores (2014) empregaram o ácido fosfórico concentrado (80% m/m) seguido do peróxido de hidrogênio (1,77% m/m) por 5 horas para diversas biomassas lignocelulósicas. Os resultados encontrados neste estudo, estão dispostos na Tabela 8, onde é possível verificar uma degradação média de celulose em 29%.

**Tabela 8 Solubilização dos componentes da biomassa após pré-tratamento**

| Materiais lignocelulósicos | Celulose (%) | Hemicelulose (%) | Lignina (%) |
|----------------------------|--------------|------------------|-------------|
| Palha de trigo             | 17,8         | 100              | 71,4        |
| Forragem de milho          | 10,6         | 100              | 78,3        |
| Resíduos de bambu          | 42,9         | 95,0             | 76,9        |
| Resíduos de madeira        | 45,5         | 98,7             | 87,8        |

**Fonte: Wang et al., 2014**

O pré-tratamento combinado com o uso do peróxido de hidrogênio permite a maior remoção da lignina e hemicelulose. No entanto, nos estudos apresentados ainda houve uma alta degradação da cadeia celulósica, resultado este não satisfatório quando é visado a produção do E2G. O ácido acético é pouco usual em pré-tratamentos de biomassas lignocelulósicas e, é caracterizado por um reagente de difícil manuseio em razão da sua toxicidade e inflamabilidade. O ácido fosfórico, por sua vez, representa um ácido eficiente na decomposição da estrutura cristalina da celulose, mas o alto custo e o difícil manuseio o tornam inviável de serem utilizados no pré-tratamento de biomassas.

## **2.6 Hidrólise e Fermentação**

A hidrólise ácida e a enzimática são os dois tipos mais reportados em literatura. O uso de ácidos concentrados favorece um alto rendimento na quebra das ligações de celulose, porém requer equipamentos resistentes a corrosão, elevando os custos do processo. Já em ácidos diluídos, a quebra das ligações é mais lenta, e por isso faz necessário elevar a temperatura reacional. No entanto, temperaturas muito altas propiciam a degradação dos açúcares e da lignina residual, levando a formação de inibidores. Tratando-se da hidrólise enzimática, verifica-se uma reação heterogênea catalisada pelas enzimas celulases; sendo a celulose o substrato insolúvel, e as enzimas o catalisador solúvel. A celulase é um complexo enzimático composto por três enzimas, sendo endoglicanase, exoglicanases e celobiasas. As duas primeiras são responsáveis por hidrolisar a cadeia de celulose formando a celobiose, enquanto a última é responsável por hidrolisar a celobiose produzindo glicose. O uso de enzimas reduz a geração de subprodutos e dispensa a utilização de equipamentos resistentes, além de favorecer condições de temperatura e pressão mais amenas. Estes biocatalisadores são muito sensíveis e de alto custo, o que exige forte controle do processo. Os fatores de maior influência na desativação ou baixa eficiência das enzimas são: elevado teor de lignina, a cristalinidade da celulose, a presença de grupo acetil, alto grau de polimerização e baixa área superficial da fibra de celulose.

A fermentação, por sua vez é um processo biológico no qual os micro-organismos produzem enzimas capazes de converter os açúcares redutores, obtidos pela hidrólise, em etanol. Os micro-organismos devem atender critérios de modo a garantir uma produção alcoólica eficiente, tais como alta velocidade de fermentação, tolerância aos inibidores e às altas temperaturas. Os principais fatores que afetam esta etapa são a temperatura, o pH e a qualidade

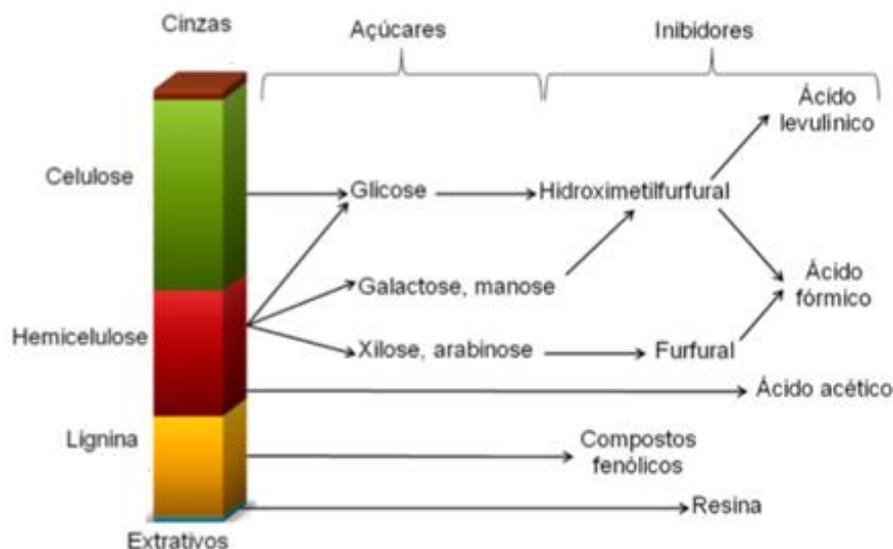
da matéria prima. As hexoses são facilmente fermentadas anaerobicamente pela levedura *Saccharomyce cerevisiae*, cuja tecnologia encontra-se bem consolidada, por possuir elevada eficiência e alta tolerância ao produto formado (etanol). Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (2013) as pentoses seguem um procedimento metabólico diferente das hexoses. Atualmente cientistas em todo mundo estão criando linhagens recombinantes da levedura *Saccharomyce cerevisiae* por meio da engenharia genética com o objetivo de torná-la naturalmente fermentadora de pentoses e suficientemente eficientes para permitir sua utilização em processos industriais.

O “vinho” que é resultante da etapa de fermentação dos açúcares é composto de etanol e subprodutos como o glicerol, ácidos orgânicos e açúcares redutores não fermentados dentre outros. Para a separação e purificação do E2G são realizadas sucessivas destilações. A primeira é a purificação do vinho com a eliminação parcial das impurezas como os aldeídos e ésteres. A segunda consiste na destilação da corrente do destilado, oriundo da primeira coluna, chamada de álcool bruto, onde resulta em duas frações denominadas de flegma, constituído de água e álcool, e a vinhaça composto de resíduos do “vinho”. O flegma, por fim, é submetido a etapas de retificação para a obtenção do etanol hidratado com concentração alcoólica cerca de 97%. O etanol anidro é resultado da desidratação do etanol hidratado, mediante destilação azeotrópica, destilação extrativa ou por adsorção em peneira molecular.

As etapas de hidrólise e fermentação podem ser prejudicadas pela ação de substâncias inibidoras que alterem o metabolismo de enzimas e leveduras, com a danificação da parede vegetal e, das membranas celulares dos micro-organismos. Estes compostos podem ser classificados em dois grupos: inibidores originalmente presentes na biomassa, e os inibidores produzidos por condições severas de pré-tratamento. Os inibidores presentes na biomassa são facilmente liberados durante a etapa de pré-tratamento. Estes não afetam de forma significativa o crescimento microbiano. A resina oriunda dos extrativos e as cinzas são os inibidores mais comuns. No entanto, quando estes compostos são oriundos da degradação e desidratação dos componentes majoritários da biomassa (celulose, lignina e hemicelulose) ocorre a produção de substâncias tóxicas, responsáveis por desativar a ação das micro-organismos na fermentação, causando assim uma baixa eficiência na etapa de sacarificação, pois degrada a glicose, o açúcar de interesse. De acordo com Pitarelo (2013) embora a grande maioria dos inibidores ser removido do material fibroso com simples lavagens após o pré-tratamento, parte ainda permanece no interior das fibras devido a sua baixa solubilidade em água.

Na Figura 17 é apresentado um esquema simplificado da formação dos principais inibidores.

**Figura 17 Formação dos inibidores**



Fonte: Rabelo, 2010

Na hemicelulose a degradação das pentoses pode produzir o furfural, e as hexoses levam ao 5-hidroximetilfurfural (5-HMF). A decomposição destes inibidores também, propiciam a formação do ácido levulínico e ácido fórmico. A lignina quando degradada, forma diversos compostos fenólicos, tais como o ácido 4-hidroxibenzoico, vanilina, catecol e o seringaldeído, ácido vanílico e ácido ferúlico. (PALMQVIST e HAHN-HÄGERDAL, 2000; MAICHE e HUBER, 2010).

Desta forma, fica claro que a avaliação do pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas é de extrema importância ao processo do etanol de segunda geração, uma vez que, impacta de forma significativa às etapas de hidrólise e fermentação. O pré-tratamento do bagaço da cana de açúcar com ácido sulfúrico diluído seguido do peróxido de hidrogênio alcalino visa aumentar a disponibilidade da celulose à hidrólise, através da remoção de frações mássicas de lignina e hemicelulose, responsáveis por inibir a ação de micro-organismos.

### 3.0 MATERIAS E MÉTODOS

Nesta seção do trabalho são apresentados os reagentes, matéria prima e equipamentos utilizados na preparação e nos pré-tratamentos da biomassa. Também é explicitada a metodologia adotada para o pré-tratamento químico combinado usando ácido sulfúrico diluído seguido do peróxido de hidrogênio alcalino. São mostrados os métodos de avaliação do pré-

tratamento combinado proposto, sendo eles: a caracterização química através das técnicas de cromatografia líquida (CLAE) e espectroscopia de UV-visível e também análise por espectroscopia refletância difusa na região do infravermelho com Transformada de Fourier (DRIFTS), termogravimetria (TGA), análise térmica diferencial (DTA) e por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

### 3.1 Materiais

#### 3.1.1 Reagentes

Na Tabela 9 são apresentados os reagentes utilizados na parte experimental.

**Tabela 9 Reagentes utilizados nos experimentos**

| <b>Reagente</b>                | <b>Grau de pureza (%)</b> | <b>Fabricante</b> |
|--------------------------------|---------------------------|-------------------|
| Acetonitrila                   | P.A                       | Merck             |
| Ácido acético                  | P.A                       | Synth             |
| Ácido sulfúrico                | P.A                       | F. Maia           |
| Ácido clorídrico               | P.A                       | Synth             |
| Ácido fórmico                  | P.A                       | Sigma-Aldrich     |
| Ácido glucorônico              | P.A                       | Sigma-Aldrich     |
| Álcool etílico                 | P.A                       | Synth             |
| Amido solúvel                  | P.A                       | Reagen            |
| D-Arabinose                    | P.A                       | Sigma-Aldrich     |
| Biftalato de potássio          | P.A                       | Vetec             |
| Carbonato de sódio anidro      | P.A                       | Nuclear           |
| D-Celobiose                    | P.A                       | Sigma-Aldrich     |
| D-Glicose                      | P.A                       | Sigma-Aldrich     |
| Dicromato de potássio          | P.A                       | Quimex            |
| Furfural                       | P.A                       | Vetec             |
| 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) | P.A                       | Chem Service      |
| Hidróxido de sódio             | P.A                       | Vetec             |
| Metanol                        | P.A                       | Merck             |
| Iodeto de potássio             | P.A                       | Vetec             |
| Molibdato de amônio            | P.A                       | Reagen            |
| Peróxido de hidrogênio         | 30%                       | Vetec             |
| Tiosulfato de sódio            | P.A                       | Quimex            |
| D-Xilose                       | P.A                       | Sigma-Aldrich     |

### 3.1.2 Equipamentos

- Agitador de peneiras para análises granulométricas (Tipo magnética) marca Bertel;
- Autoclave vertical da marca Phoenix modelo AV-300;
- Analisador de umidade marca OHAUS MB25;
- Balança analítica da marca Shimadzu modelo AUX 220;
- Balança semi - analítica marca Shimadzu modelo UX-4200H;
- Banho maria marca Tecnal modelo TE- 054 mag;
- Bomba de vácuo Primatec;
- Cromatógrafo líquido (CLAE) marca Shimadzu;
- Coluna de separação de açúcares e ácidos orgânicos da Bio-Rad modelo Aminex HPX87H;
- Coluna de separação de furfural e 5-HMF da Waters modelo  $\mu$ -Bondapack C-18 (5 mm);
- Difusor de reflectância marca Shimadzu modelo IR- Prestige 21;
- Espectrofotômetro UV-visível Shimadzu modelo UV-2450;
- Estufa da marca Quimis modelo Q317B252;
- Evaporador rotativo da marca Fisatom modelo 802D;
- Forno Mufla marca Nova;
- Moinho de facas Thomas Wiley model 4;
- Moinho de facas Tecnal tipo Willy TE-648;
- Metalizador da amostra modelo Denton Vacuum LLC - Desk IV;
- Microscópio eletrônico modelo Joel JSM-6390 1.0;
- Papel filtro qualitativo Macherey-Nagel (MN-617);
- Peneira de 42-60 mesh da marca Bertel;
- pHmetro marca Digimed modelo DM-20;
- Termobalança marca Shimadzu modelo DTG-60.

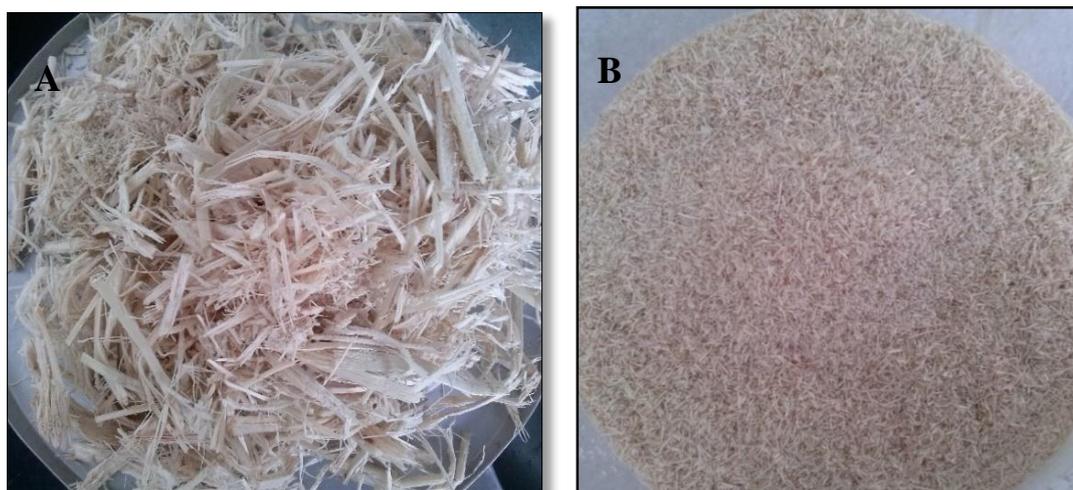
## 3.2 Métodos

### 3.2.1 Preparações da matéria prima e dos reagentes

#### 3.2.1.1 Preparação do Bagaço da Cana de Açúcar (BCA)

O bagaço *in natura* após o processo de moagem para a obtenção do caldo da cana encontra-se impregnado por açúcares residuais, extrativos e outros compostos inorgânicos solúveis em água. Sendo assim, etapas de lavagem e secagem foram necessárias afim de removê-los. Inicialmente, o bagaço foi submetido a processos cíclicos de lavagem por imersão em água por 12 - 14 horas entre cada ciclo. A umidade foi removida através do processo de secagem com ciclos com duração de 180 minutos em estufa à 100 °C. O processo de secagem foi contínuo até o bagaço apresentar teor de umidade abaixo de 10%. A Figura 18A é visualizado o aspecto do bagaço após secagem. A última etapa foi a adequação e padronização do tamanho dos grãos para o pré-tratamento. Segundo Sarkar e colaboradores (2012), a redução do tamanho das partículas podem gerar melhores resultados, mas também se forem muito pequenas podem formar aglomerados no fundo do recipiente e interferir negativamente nas etapas de pré-tratamentos. Desta forma, no presente trabalho foi determinado o tamanho da partícula em 42-60 mesh. A Figura 18B é o aspecto do bagaço após os processos de peneiração.

**Figura 18 Fases da preparação do bagaço *in natura***



**Elaboração Própria**

### 3.2.1.2 Preparações das soluções para os pré-tratamentos

Para o pré-tratamento ácido foi utilizado o ácido sulfúrico diluído, enquanto que para o pré-tratamento alcalino oxidativo, o peróxido de hidrogênio em meio alcalino. Em ambos os casos foram necessárias à preparação e adequação prévia dos reagentes para a etapa de pré-tratamento. A padronização do ácido sulfúrico foi utilizada a metodologia da titulação ácido-base, com a solução básica de hidróxido de sódio 0,1 mol/L. O peróxido de hidrogênio foi preparado a partir do reagente a 30% (v/v) e a padronização ocorreu mediante a metodologia

de titulação por iodometria. Ressalta-se que o peróxido recém preparado foi alcalinizado com a adição gradual da solução de hidróxido de sódio 4%. A medida do pH da solução foi através do pHmetro.

### 3.2.2 Procedimentos para o pré-tratamento

#### 3.2.2.1 Pré-tratamento ácido: ácido sulfúrico diluído

O procedimento do pré-tratamento ácido foi realizada com variações de temperatura e concentração de ácido a fim de determinar qual a condição operacional mais favorável a solubilização da hemicelulose. O ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) foi escolhido devido a sua efetividade aliado a baixo custo, quando comparado a outros ácidos. As condições do pré-tratamento foram determinadas mediante estudo da literatura, onde viu-se que o ácido diluído deve apresentar concentração menor 1,5 % (v/v). Quanto as temperaturas de trabalho, os autores estudados utilizaram uma faixa entre 100 - 150 °C com ácidos diluídos e, a partir desta que foram selecionadas as temperaturas deste estudo. Para este trabalho foram utilizadas as seguintes condições: concentração  $H_2SO_4$  0,75% e 1,45% (v/v) e temperatura 105 °C e 120 °C. Para cada temperatura foram testadas as duas condições de concentração. Todos os experimentos foram realizados em triplicata, de forma a assegurar a maior confiabilidade dos resultados.

O bagaço da cana de açúcar (BCA) *in natura*, seco e peneirado, foi colocado juntamente com o ácido sulfúrico diluído, previamente preparado, em balão volumétrico na proporção BCA/  $H_2SO_4$  de 1:10 (m/v). O balão com a mistura foi acoplado em evaporador rotativo com rotação fixa de 60 rpm durante 75 minutos. Ao fim deste tempo, o bagaço pré-tratado ácido foi lavado em água corrente para neutralização (pH = 6). A fração sólida resultante foi submetida a ciclos de secagem em estufa à 100 °C com duração de 1 hora cada com o objetivo de remover a umidade existente. Após a estabilização da massa, o bagaço seco foi retirado parcialmente para análises de caracterização química, e o restante armazenado para o pré-tratamento alcalino seguinte.

#### 3.2.2.2 Pré tratamento alcalino: peróxido de hidrogênio alcalino

O bagaço pré-tratado com o ácido foi utilizado para o pré-tratamento alcalino. Neste procedimento foram adotadas as condições fixas de temperatura e concentração do peróxido de hidrogênio, definidas mediante estudo da literatura, a fim de avaliar sua influência na remoção

dos compostos do bagaço. Em revisão bibliográfica, o uso de peróxido de hidrogênio em baixas concentrações (1 – 4% (v/v) implica altos tempos reacionais, acima de 10 horas, então neste estudo, optou-se por reduzir o tempo reacional para 180 minutos e, logo aumentar a concentração do reagente. Os experimentos também foram realizados em triplicata.

A biomassa previamente tratada com ácido sulfúrico diluído e seca foi inserida em um balão volumétrico com a solução de peróxido de hidrogênio 7,5% (v/v) e pH=11,5. Adotou-se uma razão BCA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 1:20 (m/v). A mistura foi submetida ao pré-tratamento em evaporador rotativo a 80 °C durante de 180 minutos e rotação de 60 rpm. Decorrido este tempo, o bagaço pré-tratado também foi lavado em água corrente a fim de obter um pH neutro, e a fração sólida resultante foi seca em estufa à 100 °C por ciclos de 1 hora para a remoção da água remanescente. Ao fim, o bagaço foi armazenado em potes plásticos e guardado à temperatura ambiente para posterior caracterização química.

### 3.2.3 Análises de composição química do BCA

A caracterização química consiste na identificação e quantificação dos constituintes do bagaço. A metodologia utilizada foi descrita por Sluiter e colaboradores (2011).

#### 3.2.3.1 Determinações do rendimento mássico e solubilidade dos componentes

Os rendimentos, expressos em relação a fração sólida, foram calculados mediante razão entre a massa inicial utilizada e a final obtida após os pré-tratamento. O rendimento do pré-tratamento ácido foi determinado em relação a massa do bagaço *in natura*, já o rendimento do pré-tratamento combinado foi determinado em relação a massa final do bagaço pré-tratado ácido. A análise da solubilidade ou perda mássica dos componentes majoritários do bagaço (celulose, lignina e hemicelulose) após os pré-tratamentos foi através da Equação 3.6, onde é possível verificar a correlação da composição química inicial e final.

$$S = \left( 1 - \left( \frac{m_p \times y_p}{m_i \times y_i} \right) \right) \times 100 = \left( 1 - R \left( \frac{y_p}{y_i} \right) \right) \times 100 \quad \text{Equação 3.6}$$

Onde:

$m_p$  = massa de bagaço pré-tratado seco (g);

$y_p$  = fração mássica do componente no bagaço pré-tratado;

$m_i$  = massa de bagaço *in natura* seco (g);

$y_i$  = fração mássica do componente no bagaço *in natura*;

S= solubilidade do componente ou perda mássica do componente;

R= rendimento da etapa de pré-tratamento.

### 3.2.3.2 Determinação do teor de umidade

O teor de umidade foi determinado em analisador de umidade da OHAUS modelo MB-25. Para a análise de cada fração, cerca de 1,0 g de bagaço *in natura* e também pré-tratado foi colocado na balança e aquecido a 105 °C por aproximadamente 3 minutos. A balança fornece a porcentagem de perda mássica relativa ao teor de umidade de cada amostra.

### 3.2.3.3 Hidrólise ácida

A hidrólise ácida é responsável pelo ataque aos polissacarídeos contidos no bagaço. A lignina apresenta um comportamento diferenciado em presença de ácidos minerais concentrados, por sofrer reações de condensação. Amostras de 2g de bagaço seco e moído foram transferidas para béqueres de 100 mL e hidrolisadas com 10 mL ácido sulfúrico 72% (v/v), em banho termostático a 45 °C durante 7 minutos, sob agitação vigorosa. Em seguida, as amostras foram transferidas para erlenmeyers de 500 mL, adicionando-se 275 mL de água destilada. Os frascos foram vedados com papel alumínio e autoclavados por 30 minutos à 120 °C. Após a autoclavagem, as amostras ficaram esfriando a temperatura ambiente, e então iniciou-se a filtração. A fração líquida obtida foi armazenada em balão volumétrico de 500 mL, o qual foi avolumado até a altura do menisco com água destilada. Essa solução será utilizada para análises posteriores do teor de lignina solúvel, carboidratos, ácidos orgânicos, 5-HMF e furfural. A fração sólida, retida no papel de filtro, foi utilizada para a determinação da lignina insolúvel.

### 3.2.3.4 Determinação da lignina insolúvel em fração sólida

A fração sólida ainda foi lavada com água destilada com o objetivo de neutralizar o pH da amostra que encontrava-se ácido. Em seguida, a amostra foi transferida para um pesa filtro para a secagem em estufa a 105 °C até a estabilização da massa. A porcentagem mássica da lignina insolúvel foi obtida através da equação 3.7.

$$L_I = \left( \frac{m_I - m_C}{m_A} \right) \times 100 \quad \text{Equação 3.7}$$

Onde:

$m_I$  = massa da lignina insolúvel seca (g);

$m_C$  = massa de cinzas da lignina insolúvel (g);

$m_A$  = massa da biomassa pré-tratada seca utilizada (g);

$L_I$  = lignina insolúvel (%).

### 3.2.3.5 Determinação da lignina solúvel em fração líquida

Uma alíquota de 5 mL da solução hidrolisada pelo ácido sulfúrico foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL juntamente com 1,5 mL solução de NaOH a 6,5 mol/L. O uso de hidróxido de sódio foi utilizado para tornar a amostra com pH alcalino antes da análise em UV-visível. O comprimento de onda lido foi 280 nm referente à lignina. A concentração da lignina solúvel na amostra foi determinada pela equação 3.8. Os valores de absorvidade do furfural e 5-hidroximetilfurfural foram os mesmos utilizados por Gouveia e colaboradores (2009).

$$L_S = \left( \frac{4,187 \times 10^{-2} \times (A_{lig} - (\epsilon_{HMF} \times C_{HMF} + \epsilon_{furf} \times C_{furf})) - 3,2 \times 10^{-4}}{20} \right) \quad \text{Equação 3.8}$$

Onde:

$L_S$  = concentração da lignina solúvel (g/L);

$A_{lig}$  = absorvância da lignina a 280 nm;

$\epsilon_{HMF}$  = absorvidade do 5-hidroximetilfurfural ( $\epsilon_{HMF} = 114 \text{ L g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ );

$\epsilon_{furf}$  = absorvidade do furfural ( $\epsilon_{furf} = 146,85 \text{ L g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ );

$C_{HMF}$  = concentração do 5-hidroximetilfurfural (g/L);

$C_{furf}$  = concentração do furfural (g/L).

### 3.2.3.6 Determinação dos carboidratos, ácidos orgânicos e inibidores de fermentação

Para a determinação dos carboidratos, ácidos orgânicos e dos inibidores de fermentação foi utilizada a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). E para tal, foi utilizada a solução líquida hidrolisada por ácido sulfúrico obtida em procedimento do item 3.2.3.3. As análises cromatográficas foram realizadas em Laboratório de Controle de Processos Químicos (LaDABio) existente na Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) em São Paulo.

Para quantificação dos carboidratos e ácidos orgânicos foi utilizada uma coluna de separação Aminex HPX87H. Os compostos foram determinados através do detector de índice de refração Shimadzu modelo RID-6A. A fase móvel consistia em solução de ácido sulfúrico 5 Mm à vazão de 0,6 mL/min e temperatura de 45 °C. Já para a determinação do furfural e 5-hidroximetilfurfural utilizou-se a coluna da Waters modelo  $\mu$ -Bondapack C-18, com fase móvel de solução de acetonitrila em água na proporção de 1:8 acrescido de 1% de ácido acético com o fluxo de 0,8 mL/min a 30 °C, mediante o detector de UV-visível a 274 nm.

Para a quantificação dos compostos descritos foram realizadas previamente curvas de calibração feita a partir dos padrões dos açúcares e ácidos orgânicos com glicose, xilose, arabinose, celobiose, ácido acético, ácido fórmico, ácido glucurônico e dos inibidores com furfural e 5-hidroximetilfurfural. O cálculo da concentração dos açúcares foi mediante a equação 3.9.

$$\% \text{ açúcares} = \left( \frac{C_{HPLC} \times C_F \times V_{Filtrado}}{m_A} \right) \times 100 \quad \text{Equação 3.9}$$

Onde:

% açúcares = concentração do açúcar obtidos no HPLC (g/L);

$C_F$  = fator de correção de cada componente;

$m_A$  = massa seca de biomassa utilizada na caracterização (g);

$V_{FILTRADO}$  = volume do hidrolisado filtrado corresponde ao valor de 0,5 L.

O cálculo da concentração dos inibidores e ácidos orgânicos seguem a mesma equação dispostas para os açúcares, somente alterando os respectivos valores dos fatores de correção. Os fatores de correção para cada componente encontram-se dispostos no Apêndice C.

### 3.2.3.7 Determinação de teor de cinzas

O teor de cinzas totais na biomassa foi determinado utilizando cerca de 2 g de bagaço base seca (*in natura* e pré-tratada). O processo de calcinação foi realizado em mufla em dois ciclos, sendo o primeiro a temperatura de 300 °C por 1 hora em cadinho tarado e tampado, e o segundo à 800 °C por 2 horas, em cadinho sem tampa. Decorrido do tempo, a porcelana foi resfriada até a temperatura ambiente em dissecador a vácuo, e logo, pesada. Para a determinação das cinzas contidas na lignina insolúvel, determinadas nos procedimentos anteriores, foi utilizada a mesma metodologia. A porcentagem de cinzas foi calculada pela equação 4.0.

$$\text{Cinzas} = \left( \frac{m_C}{m_A} \right) \times 100 \quad \text{Equação 4.0}$$

Onde:

$m_C$  = massa de cinzas (g);

$m_A$  = massa da biomassa base seca utilizada (g);

Cinzas = teor de cinzas (% m/m).

### 3.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica versátil e imprescindível em vários campos da ciência como geologia, eletrônica e engenharia dos materiais. O microscópio eletrônico é um instrumento de alta resolução e com capacidade de ampliação em até 300.000x. Diferentemente da microscopia comum que utiliza fótons, o MEV utiliza um feixe fino de elétrons que quando emitidos, interagem com a superfície das amostras resultando em uma série de radiações, tais como elétrons secundários, elétrons retro espalhados e raios-X característicos. Estas radiações são captadas e convertidas em imagens que exibem as características morfológicas da amostra.

A técnica de microscopia eletrônica de varredura foi utilizada na análise morfológica do bagaço de cana de açúcar, após os pré-tratamentos. A micrografia do bagaço *in natura* foi gerada visando melhor comparação com as micrografias obtidas com o bagaço pré-tratado. As análises foram realizadas Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz - Fundação Oswald Cruz (FIOCRUZ) em microscópio eletrônico modelo Denton Vacuum LLC Desk IV. As amostras, inicialmente, foram metalizadas com 10 nm de ouro em atmosfera de argônio por 300

segundos, com vácuo de aproximadamente 500 Mtorr em equipamento Joel JSM-6390 1.0 com tensão de 12 kv, produzindo fótons de 4.500 keV. O ângulo de incidência foi de aproximadamente 38 deg e aproximação de 500 x.

### 3.2.5 Espectroscopia por Infravermelho

A espectroscopia por refletância difusa na região do infravermelho com transformada de Fourier (DRIFTS) é uma técnica importante de análise química que permite detecção de todos os comprimentos de ondas simultaneamente, e proporciona uma maior qualidade na resolução dos espectros. É uma ferramenta útil no controle de qualidade, na identificação e caracterização de amostras, que em virtude de serem constituídas de moléculas e átomos são capazes de interagir e absorver a radiação eletromagnética. Os grupos funcionais das moléculas são caracterizados por ligações químicas com forças e tipos diferentes, que quando submetidas ao calor, radiação infravermelha (IV), sofrem vibrações intramoleculares devido à variação do momento dipolar. Cada grupo funcional interage de maneira diferente com a onda eletromagnética emitida. Quando a onda é absorvida, as moléculas se excitam e apresentam três tipos de energia: eletrônica, rotacional e vibracional. A radiação infravermelha detecta a energia vibracional, e a converte em bandas espectrais. As posições das bandas são representadas em números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) e comprimentos de onda ( $\mu\text{m}$ ) que geralmente encontram-se entre 4000 -  $40\text{cm}^{-1}$  (em micrômetros: 2,5 - 25  $\mu\text{m}$ ) denominado região de infravermelho médio. Na espectroscopia IV a intensidade das bandas, sinal analítico/ruído, pode ser codificado pela absorbância ou transmitância, sendo a absorbância a quantificação da energia absorvida da radiação emitida, e transmitância a fração da radiação transmitida.

Para a avaliação do pré-tratamento químico combinado do bagaço de cana de açúcar, o DRIFTS foi útil na investigação qualitativa das alterações sofridas pela biomassa com a solubilização e/ou remoção da lignina e hemicelulose. Os grupos funcionais existentes no bagaço *in natura* foram identificados visando melhor análise das modificações do bagaço quando submetido ao pré-tratamento. Na Tabela 10 são apresentadas atribuições típicas dos grupos funcionais para os principais componentes da biomassa lignocelulósica. As análises foram realizadas na Universidade Federal da Bahia (UFBA) em um Espectrofotômetro modelo IR Prestige 21 Shimadzu com registro espectral na região 4000 -  $400\text{cm}^{-1}$ , acumulando 45 leituras com  $4\text{cm}^{-1}$ .

**Tabela 10 Atribuições típicas dos componentes da biomassa lignocelulósica**

| <b>Faixa de absorção (cm<sup>-1</sup>)</b> | <b>Grupos Funcionais</b>   | <b>Atribuição</b>       |
|--|--|-------------------------|
| 3640-3200                                  | Vibração de deformação axial OH (álcoois e fenóis)   | Celulose                |
| 3000-2840                                  | Deformação axial de alcanos (típico CH <sub>2</sub> e CH <sub>3</sub> )  | Extrativos e celulose   |
| 1870-1540                                  | Deformação axial de C=O (ácidos carboxílicos, cetonas e aldeídos)  | Hemicelulose            |
| 1610-1516                                  | Vibração da quinona e dos anéis aromáticos   | Lignina                 |
| 1420-1330                                  | Vibração de deformação angular no plano OH (fenóis). Deformação CH   | Lignina e carboidratos  |
| 1400-1200                                  | Vibração de deformação grupos acetatos   | Hemicelulose            |
| 1200-1000                                  | Estiramento C-O-H de álcoois primários e secundários. Estiramento de ligações glicosídicas. Vibração C-O-C de anéis aromáticos | Celulose e hemicelulose |
| 1170-1114                                  | Deformação das ligações C-O (éter) e deformação de OH de álcoois primários   | Celulose e lignina      |
| 1150-1085                                  | Deformação axial de éteres alifáticos  | Lignina                 |
| 900-675                                    | Vibração angular CH de anéis aromáticos  | Lignina                 |
| 600-420                                    | Deformação angular dos derivados do benzeno  | Lignina                 |

**Fonte:** Silverstein, 2006

### 3.2.6 Termogravimetria

A termogravimetria (TGA) é uma técnica termoanalítica caracterizada por medir a variação da massa da amostra em função da variação de tempo ou temperatura. Isto permite a determinação da umidade, temperatura de decomposição dos componentes da amostra (estabilidade térmica), e a estimativa dos parâmetros cinéticos nas reações de oxidação,

combustão e desidratação, por exemplo. Esta técnica pode ser classificada de acordo como a análise é conduzida, podendo ser: isotérmica onde a variação de massa é registrada em função do tempo, a temperatura constante, semi-isotérmica por meio do aquecimento da amostra a temperatura constante até que haja variação de massa, e dinâmica por aquecimento da amostra a uma variação de temperatura pré-determinada. Sendo esta última a mais usual devido à maior rapidez e precisão na obtenção dos resultados, e por isso a utilizada nas análises deste trabalho.

A análise térmica diferencial (DTA) registra os efeitos das transformações com ou sem variações de massa, pela diferença de temperatura. As mudanças de temperatura são causadas pelas transições térmicas, reações endotérmicas e exotérmicas provocadas por mudança de fase, fusão, sublimação, vaporização, reações de decomposição, oxidação entre outros.

Esta técnica foi útil na verificação da estabilidade térmica do bagaço pré-tratado frente ao *in natura*, assim como a determinação da sua temperatura de decomposição. Também foi possível a identificação dos eventos endotérmicos e exotérmicos quando frações de lignina e hemicelulose são removidas do bagaço *in natura*. As condições das análises termogravimétricas seguiram os procedimentos descritos por Yang e colaboradores (2007) e Cruz e colaboradores (2014) que estudaram os materiais lignocelulósicos com e sem pré-tratamento. Para este trabalho, as análises foram realizadas no Laboratório de Catálise e Meio Ambiente na Universidade Salvador (Unifacs) em termobalança da Shimadzu modelo DTG-60. Foram utilizadas no máximo 5 mg de bagaço com intervalo de temperatura 25- 800 °C, e taxa de aquecimento de 20 °C/min em atmosfera inerte de Nitrogênio com vazão de 100 mL/min.

#### **4.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

A avaliação dos efeitos causados após o pré-tratamento combinado (ácido e alcalino oxidativo) do bagaço é através da análise da composição química, onde foram quantificados os teores dos componentes estruturais (celulose, lignina e hemicelulose) e não estruturais (cinzas). Análises texturais compreendidas em estudo do aspecto visual, por fotografias, e por MEV pelas quais verificaram-se, respectivamente, as alterações na coloração e na morfologia do bagaço após a ação química. Análise estrutural pelo DRIFTS para a identificação das mudanças na estrutura química após o pré-tratamento, e análises térmicas com TGA e DTA para o estudo do perfil de decaimento mássico e as transições térmicas sofridas, ambas, pela degradação da matéria orgânica.

#### 4.1 Determinação do teor de umidade

A detecção do teor de umidade é uma medida indireta da eficiência do processo de secagem do bagaço após os procedimentos. Para os processos de caracterização química do bagaço da cana, a umidade é um fator de grande influência por propiciar a proliferação de micro-organismos e por facilitar a auto hidrólise de componentes. Sendo assim, imprescindível a sua determinação e controle. Na Tabela 11 estão os resultados obtidos.

**Tabela 11 Teor de umidade das amostras**

| <b>Condições do bagaço</b>   | <b>Umidade<br/>(% m/m)</b> |
|--|----------------------------|
| Bagaço <i>in natura</i>  | 9,36                       |
| 0,75% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 105 °C + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 8,87                       |
| 0,75% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 120 °C + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 8,90                       |
| 1,45% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 105 °C + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 8,47                       |
| 1,45% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 120 °C + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 8,91                       |

Percebe-se que para o bagaço *in natura* e pré-tratado, o teor de umidade encontrou-se abaixo de 10%, indicando que o processo de secagem foi eficiente, e que o material está adequado para as análises subsequentes. Morando e colaboradores (2014) encontraram 9,44% (m/m) e Maziero e colaboradores (2012) 10% (m/m) para o bagaço da cana de açúcar.

#### 4.2 Caracterizações química do bagaço *in natura*

A caracterização do bagaço *in natura* foi importante pois com os dados obtidos foi possível verificar as variações da composição química após o pré-tratamento. As análises foram realizadas em duplicatas para maior confiabilidade dos resultados. A composição química do bagaço *in natura*, assim como o comparativo entre as composições encontrados por outros autores estão dispostos na Tabela 12.

Tabela 12 Comparação da composição química de diferentes amostras de BCA

| Componentes  | Composição mássica (%) |                      |                     |                     |
|--------------|------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
|              | Presente estudo        | Rabelo et al. (2014) | Rocha et al. (2011) | Gómez et al. (2010) |
| Celulose     | 39,58                  | 39,60                | 45,5                | 37,35               |
| Hemicelulose | 20,50                  | 23,90                | 27,0                | 23,66               |
| Lignina      | 22,57                  | 25,80                | 21,10               | 25,10               |
| Cinzas       | 0,91                   | 3,80                 | 2,20                | 1,79                |
| Outros       | 16,44                  | 7,0                  | 4,2                 | 12,1                |

A composição do material lignocelulósico varia de acordo com a espécie da cana, e condições de colheita, tempo de corte, métodos de estocagem e processamento o qual foi submetido. Isso justifica as variações das composições entre os bagaços encontrados. Quanto ao teor dos componentes estruturais estão de acordo com os resultados reportados em literatura. Quanto as cinzas, é observado que foi obtido uma composição mássica inferior aos encontrados pelos outros autores. Esta diferença pode ser atribuída as sucessivas lavagens pelo qual o bagaço foi submetido durante todo o processo. Fengel e Wegener (1989) ratificam tal atribuição, por relatarem que as cinzas e os extrativos podem ser facilmente removidos da biomassa lignocelulósica por ação de solventes e soluções aquosas, pois geralmente são constituídos de minerais e espécies como proteínas e sais inorgânicos que são solúveis em água.

#### 4.3 Caracterizações química do bagaço pré-tratado

Para a caracterização do bagaço pré-tratado é importante salientar que os pré-tratamentos possuem um rendimento reacional, e este precisa ser considerado nos cálculos. Então, para cada condição de pré-tratamento multiplicou-se a composição mássica de cada componente, obtida com a caracterização, pelo respectivo rendimento mássico do pré-tratamento. Dessa forma, é possível obter uma correlação entre as porcentagens, possibilitando analisar na mesma base mássica as alterações do bagaço pré-tratado frente ao bagaço *in natura*.

Assim, como ocorreu no bagaço *in natura*, o balanço de massa das composições mássicas não alcançou 100%. Isso pode ser atribuído a não quantificação de compostos orgânicos (extrativos), proteínas e outros açúcares e ácidos provenientes da hemicelulose como a manose e galactose. Contudo, Marabezi (2009) justificou que análise de composição de materiais lignocelulósicos é dificultada pela intensa associação entre as macromoléculas (lignina,

celulose e hemicelulose). Durante os métodos analíticos da caracterização química, frações de lignina e polissacarídeos, as vezes, permanecem como resíduo junto as frações isoladas de cada componente, dificultando assim, a sua quantificação. O balanço mássico inferior a 100% é também influenciado, se o número de etapas ou análises individuais é elevado, causando sobreposição de resultados, combinados com erros individuais.

#### 4.3.1 Pré-tratamento ácido

As Tabelas 13 e 14 apresentam os resultados obtidos somente quando o bagaço foi submetido ao pré-tratamento ácido. Nelas percebe-se que a quantidade de celulose aumenta em relação à sua composição no bagaço *in natura* já apresentada. Isto é um indicativo do aumento proporcional da cadeia celulósica em relação a remoção/ solubilização do demais componentes.

**Tabela 13 Caracterização química do BCA após o pré-tratamento ácido**

| Pré-tratamentos                               | Composição mássica do BCA (%) |              |              |             | Rendimento mássico (%) |
|---|-------------------------------|--------------|--------------|-------------|------------------------|
|   | Celulose                      | Hemicelulose | Lignina      | Cinzas      |                        |
| 0,75% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 105 °C | 39,14 ± 0,11                  | 16,77 ± 0,21 | 26,05 ± 0,09 | 0,57 ± 0,01 | 91,74                  |
| 0,75% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 120 °C | 45,57 ± 0,04                  | 13,88 ± 0,10 | 26,58 ± 0,45 | 0,75 ± 0,02 | 77,35                  |
| 1,45% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 105 °C | 46,18 ± 0,18                  | 13,07 ± 0,08 | 24,74 ± 0,47 | 0,79 ± 0,01 | 80,56                  |
| 1,45% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 120 °C | 46,88 ± 0,12                  | 12,89 ± 0,20 | 23,02 ± 0,39 | 0,74 ± 0,01 | 79,37                  |

**Tabela 14 Comparativo da composição química do BCA *in natura* e a composição corrigida do BCA após pré- tratamento ácido**

| Pré-tratamentos                               | Composição mássica do BCA (%) |              |         |        |
|---|-------------------------------|--------------|---------|--------|
|   | Celulose                      | Hemicelulose | Lignina | Cinzas |
| Bagaço <i>in natura</i>                       | 39,58                         | 20,50        | 22,57   | 0,91   |
| 0,75% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 105 °C | 35,91                         | 15,38        | 23,90   | 0,52   |
| 0,75% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 120 °C | 35,24                         | 10,74        | 20,56   | 0,58   |
| 1,45% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 105 °C | 37,20                         | 10,53        | 19,93   | 0,63   |
| 1,45% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 120 °C | 37,21                         | 10,23        | 18,27   | 0,59   |

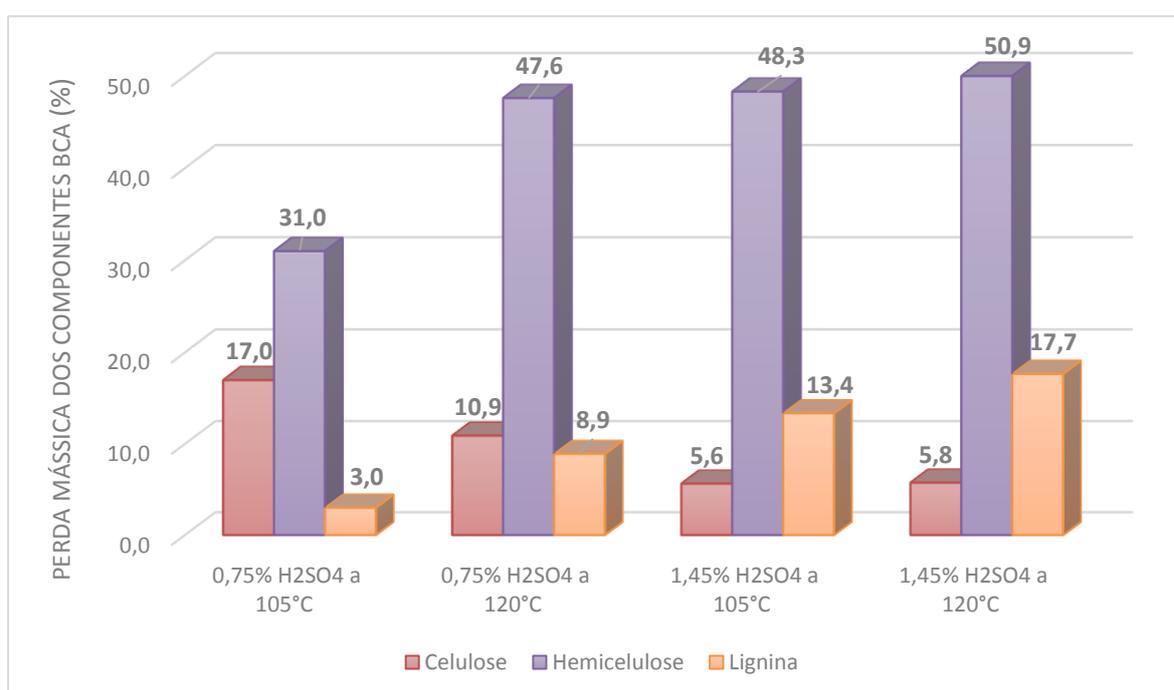
É possível inferir que o ácido sulfúrico apresentou maior tendência na remoção dos açúcares da hemicelulose e pouca influência na celulose e lignina. A hemicelulose por possuir uma estrutura celular amorfa é logo hidrolisada. A lignina, por sua vez, pode interagir com ácido com a ruptura de ligações éster e éter do complexo lignina-carboidrato, propiciando a formação de compostos de baixo peso molecular (pseudo-ligninas) que se redistribuem na parede celular, de modo a torna-la mais acessível aos processos posteriores.

A análise da eficiência do pré-tratamento do ácido sulfúrico do bagaço só foi possível a partir da quantificação da solubilização dos componentes estruturais após a ação química como mostrado na Figura 19. Nela, verifica-se que para todas as condições de pré-tratamento ácido ocorreu remoção de média de 45% da fração hemicelulósica. Para Agbor e colaboradores (2011) a remoção de, pelo menos, 50% da hemicelulose já é suficiente para aumentar significativamente a digestibilidade da celulose.

Quanto a cadeia celulósica os resultados revelaram que o pré-tratamento ácido não a degradou de forma extensiva, com exceção da condição 0,75% (v/v) e 105 °C onde foi observado uma solubilização de 17% da celulose. Isso pode ser explicado pela ação ácida na região amorfa da celulose e, também pela formação de compostos inibidores que a degradou. Para a produção do E2G esta perda mássica da celulose não é interessante.

Com relação a lignina pôde observar que o pré-tratamento ácido conseguiu remover no máximo 17,7% da lignina, correspondendo a condição ácida mais severa (1,45% (v/v)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 120 °C). Esse resultado já era esperado devido à baixa interação do ácido com os compostos fenólicos presentes neste componente. Além disso, nesta mesma condição é observado uma baixa perda mássica da celulose (5,8%) resultado positivo para a produção do E2G.

**Figura 19** Percentual da perda mássica dos componentes majoritários do bagaço após o pré-tratamento ácido



As biomassas após serem submetidas ao pré-tratamento ácido encontraram-se com alto teor de lignina em sua composição. A lignina durante a hidrólise enzimática, por exemplo, pode ser absorvida na superfície da enzima diminuindo a sua atividade e, durante a fermentação os compostos fenólicos desativam a ação das leveduras. Sendo assim, a etapa de deslignificação é imprescindível.

#### 4.3.2 Pré-tratamento combinado

Uma fração do bagaço pré-tratado ácido foi submetido ao pré-tratamento alcalino. Os resultados da caracterização química e os rendimentos mássicos obtidos para cada condição estão disponibilizados na Tabelas 15 e Tabela 16.

**Tabela 15 Caracterização química do BCA após pré - tratamento combinado**

| Pré-tratamentos   | Composição mássica do BCA (%) |              |              |             | Rendimento mássico (%) |
|---|-------------------------------|--------------|--------------|-------------|------------------------|
|   | Celulose                      | Hemicelulose | Lignina      | Cinzas      |                        |
| 0,75% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 105 °C +<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 65,00 ± 0,72                  | 15,59 ± 1,29 | 7,48 ± 0,14  | 0,85 ± 0,03 | 50,30                  |
| 0,75% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 120 °C +<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 69,07 ± 0,0                   | 9,22 ± 0,04  | 10,60 ± 0,02 | 0,78 ± 0,0  | 50,28                  |
| 1,45% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 105 °C +<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 67,77 ± 0,67                  | 12,47 ± 0,95 | 6,64 ± 0,28  | 0,51 ± 0,06 | 48,16                  |
| 1,45% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 120 °C +<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 71,04 ± 0,21                  | 8,09 ± 0,61  | 11,88 ± 0,03 | 0,88 ± 0,02 | 50,64                  |

**Tabela 16 Comparativo da composição química do BCA *in natura* e a composição corrigida do BCA após pré - tratamento combinado**

| Pré-tratamentos   | Composição mássica do BCA (%) |              |         |        |
|---|-------------------------------|--------------|---------|--------|
|   | Celulose                      | Hemicelulose | Lignina | Cinzas |
| Bagaço <i>in natura</i>   | 39,58                         | 20,50        | 22,57   | 0,91   |
| 0,75% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 105 °C +<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 34,73                         | 4,63         | 5,33    | 0,39   |
| 0,75% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 120 °C +<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 32,69                         | 7,84         | 3,76    | 0,43   |
| 1,45% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 105 °C +<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 32,64                         | 6,00         | 3,20    | 0,24   |
| 1,45% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 120 °C +<br>H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 35,97                         | 4,10         | 6,02    | 0,44   |

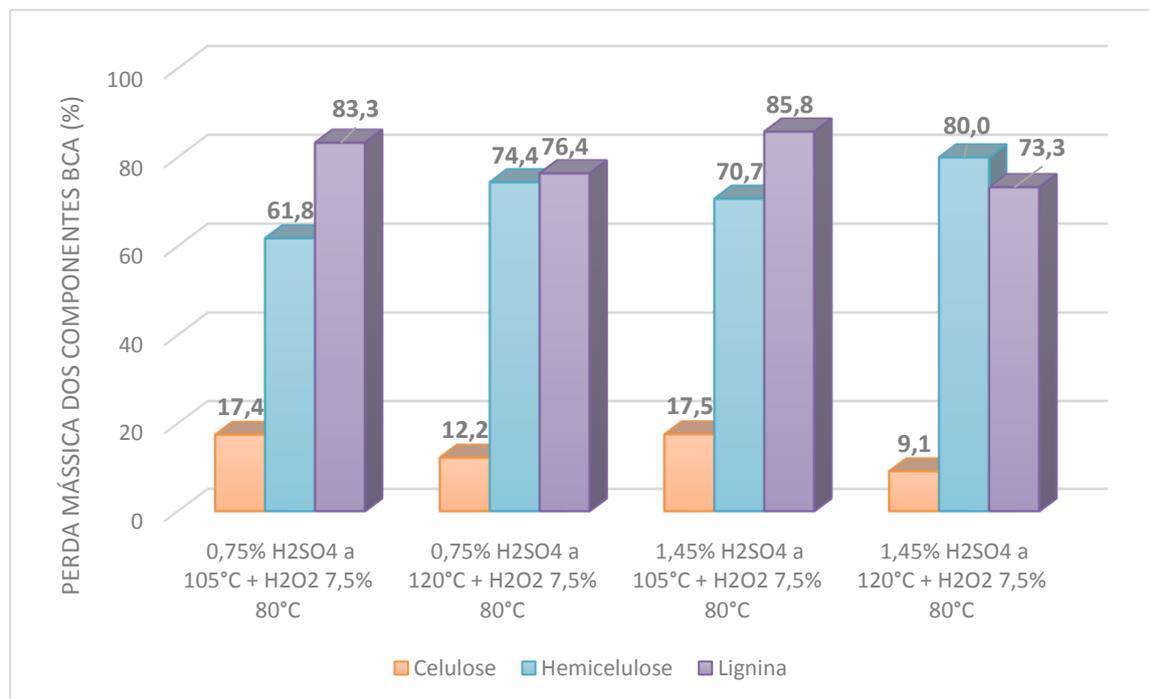
O pré-tratamento com ácido diluído seguido do peróxido de hidrogênio alcalino estudado nesse trabalho não gerou resíduos sólidos, especialmente na etapa alcalina, porque a

decomposição do peróxido de hidrogênio só gera água e oxigênio e, a pouca quantidade de água necessária para a neutralização do bagaço pré-tratado. Esses fatores são relevantes a nível industrial, pois principalmente o mínimo consumo de água é muito desejado, em virtude do alto custo envolvido. Assim como no pré-tratamento ácido, no pré-tratamento combinado também foi feita a análise da solubilização dos compostos majoritários presentes no bagaço. Na Figura 20 é mostrado o percentual das frações lignocelulósicas solubilizadas, perda mássica, após o pré-tratamento combinado.

A solubilização dos componentes macromoleculares após o pré-tratamento combinado revela que houve uma efetiva remoção da hemicelulose e lignina. Em média 72% (m/m) da hemicelulose e 80% (m/m) da lignina presentes no bagaço *in natura* foram removidos, indicando que o material remanescente apresenta majoritariamente celulose em sua composição com mínimas quantidades dos compostos que atuariam como inibidores nas etapas posteriores da hidrólise e fermentação. Ao realizar o pré-tratamento ácido e alcalino sequenciado, Kim e Kim (2013) obtiveram uma deslignificação de 70% (m/m) e remoção de 83% (m/m) de hemicelulose, enquanto Wang e colaboradores (2014) tiveram remoção média de lignina em 78,6% (m/m) e hemicelulose 98% (m/m).

Com relação a composição da celulose no bagaço *in natura*, o efeito do pré-tratamento combinado não provocou a sua degradação em grande extensão, sendo o percentual mássico máximo igual a 17,4% para o pré-tratamento a 0,75% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 105 °C seguido de 7,5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 80 °C. Neste trabalho, a solubilização média da celulose para as quatro condições de pré-tratamento combinado foi igual a 15,5% (m/m), sendo ainda inferior ao valor reportado por Wang e colaboradores (2014) que encontraram 29% (m/m) e Haripriya e colaboradores (2014) com 50% (m/m). Segundo Nada e colaboradores (2009), a celulose é composta de uma fase 15% amorfa, esta pode ter sido degradada com o pré-tratamento combinado deste estudo. A existência da fase amorfa da celulose facilita os processos de hidrólise enzimática devido à maior acessibilidade das enzimas.

**Figura 20** Percentual perda mássica dos componentes majoritários do bagaço após o pré-tratamento combinado



O resultado mais significativo do pré-tratamento combinado quando ocorre a mínima perda da cadeia celulósica, aliada a alta solubilização da lignina e hemicelulose foram para as temperaturas de pré-tratamento ácido iguais a 120 °C. Nesta temperatura, a condição mais severa do ácido (1,45% (v/v)) resultou em uma polpa pré-tratada com alto teor de celulose (71,04 % m/m), como pôde ser visto na Tabela 15, devido a efetiva solubilização/ perda da camada protetora formada pela lignina (73,3% m/m) e hemicelulose (80% m/m).

Na literatura foram encontrados trabalhos semelhantes que utilizaram o pré-tratamento combinado em biomassas lignocelulósicas. Com o intuito da melhor comparação entre os resultados obtidos com este estudo e os dispostos em literatura a Tabela 17 está apresentada.

Tabela 17 Resultados obtidos com o pré-tratamento combinado por diferentes autores

| Autores              | Pré-tratamento Combinado  | Vantagens   | Desvantagens   |
|----------------------|---|---|--|
| Chen H. et al., 2008 | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> alcalino + Explosão a vapor                           | Solubilização de 60,9% hemicelulose e Remoção de 75,7 % lignina.    | Longo tempo reacional (120 horas).                     |
| Chen W. et al., 2012 | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> diluído + Micro-ondas                                | Solubilização de 80-98% de hemicelulose.                            | Gasto energético. Não afeta a lignina.                 |
| Wang et al., 2014    | H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> concentrado + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> alcalino | Solubilização de 98% da hemicelulose e Remoção 78,6% (m/m) lignina. | Corrosão dos equipamentos. Degradação 29% m/m celulose |

Nos estudos apresentados foi verificado uma eficiente remoção da lignina e hemicelulose, porém também elevado gasto energético e alta degradação da celulose, sendo este último indesejado quando visa-se a produção de E2G. Neste trabalho, a biomassa pré-tratada apresentou uma rica fração celulósica, o que a torna susceptível a ocorrência das etapas posteriores de sacarificação, aliada a condições amenas de operação, baixa precipitação de resíduos sólidos e não corrosão de equipamentos.

### 4.3.3 Produção de furfural e 5-HMF

Os inibidores de fermentação são importantes condicionantes para a eficiência das etapas de sacarificação enzimática, pois eles são responsáveis por impedir a atividade de enzimas e micro-organismo. Dentre eles, o furfural e o 5-hidroximetilfurfural são os principais. Na Tabela 18 estão apresentadas as concentrações (g/L) das duas substâncias inibidoras presentes na fração sólida do bagaço após o pré-tratamento combinado.

**Tabela 18 Produção dos inibidores com o pré-tratamento combinado**

| Condições   | Concentração Furfural (g/L) | Concentração 5-Hidroximetilfurfural (g/L) |
|---|-----------------------------|---|
| PT: 0,75% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 105 °C<br>+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 0,03                        | 0,02                                      |
| PT: 0,75% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 120 °C<br>+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 0,02                        | 0,02                                      |
| PT: 1,45% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 105 °C<br>+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 0,02                        | 0,01                                      |
| PT: 1,45% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 120 °C<br>+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 0,01                        | 0,01                                      |

Ao analisar a Tabela 18 percebe-se que a condição mais branda de pré-tratamento combinado a 0,75% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 105 °C seguido de 7,5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 80 °C produziu uma maior concentração de furfural e 5-hidroximetilfurfural, enquanto que para a condição mais severa 1,45% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 120 °C seguido de 7,5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 80 °C esta produção foi mínima. A produção da substância inibidoras pode ser atribuída a condição desfavorável do pré-tratamento, ou a problemas no armazenamento e/ou refrigeração do material para as análises. Os resultados encontrados nesta análise corroboram com os resultados obtidos com a caracterização dos componentes majoritários, onde a condição mais branda do pré-tratamento provocou maior degradação da celulose.

#### 4.4 Análises texturais do bagaço

##### 4.4.1 Aspectos visuais do bagaço pré-tratado

O pré-tratamento do bagaço de cana promoveu variações na coloração da biomassa como pode ser visto na Figura 21. Ao ser submetido ao pré-tratamento ácido a biomassa tornou-se mais escura, quando comparado ao bagaço *in natura*. Isto é atribuído a ação ácida no rompimento das ligações do complexo lignina-carboidrato e a formação de produtos de degradação dos polissacarídeos. Tanto a lignina solúvel quanto os compostos furfural e 5-hidroximetilfurfural liberados, apresentam coloração marrom escura. Quando o bagaço é

submetido ao pré-tratamento combinado é evidenciada uma nítida mudança na coloração. O bagaço tornou-se mais claro, indicativo da remoção da lignina.

**Figura 21** Aspecto macroscópico das alterações do bagaço *in natura* (A), pré-tratado ácido (B), pré-tratado ácido + alcalino (C)



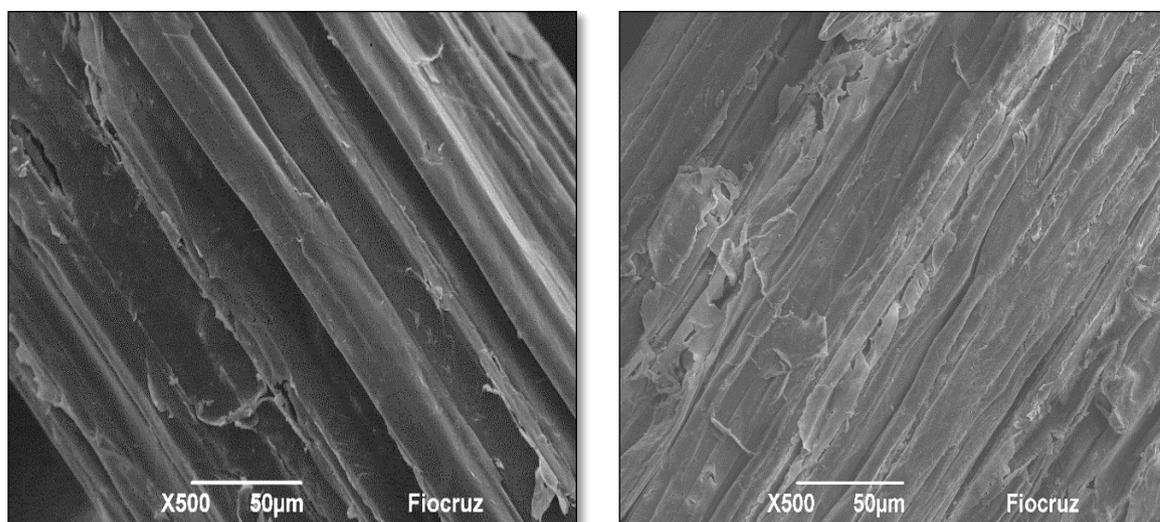
**Fonte: Própria**

Outra alteração física observada foi o aspecto mais desintegrado do bagaço após o pré-tratamento combinado, quando comparado ao bagaço submetido somente ao pré-tratamento ácido, o que propiciou uma maior absorção de água pela biomassa. Esse comportamento pode ser justificado pela diminuição da cristalinidade da celulose, que permite uma maior abertura da sua estrutura e maior poder de hidratação deste componente devido a sua maior acessibilidade. Gould e Freer (1984) verificaram tais alterações físicas, ao realizar o pré-tratamento da palha do trigo com o peróxido de hidrogênio alcalino.

#### 4.4.2 Análises MEV

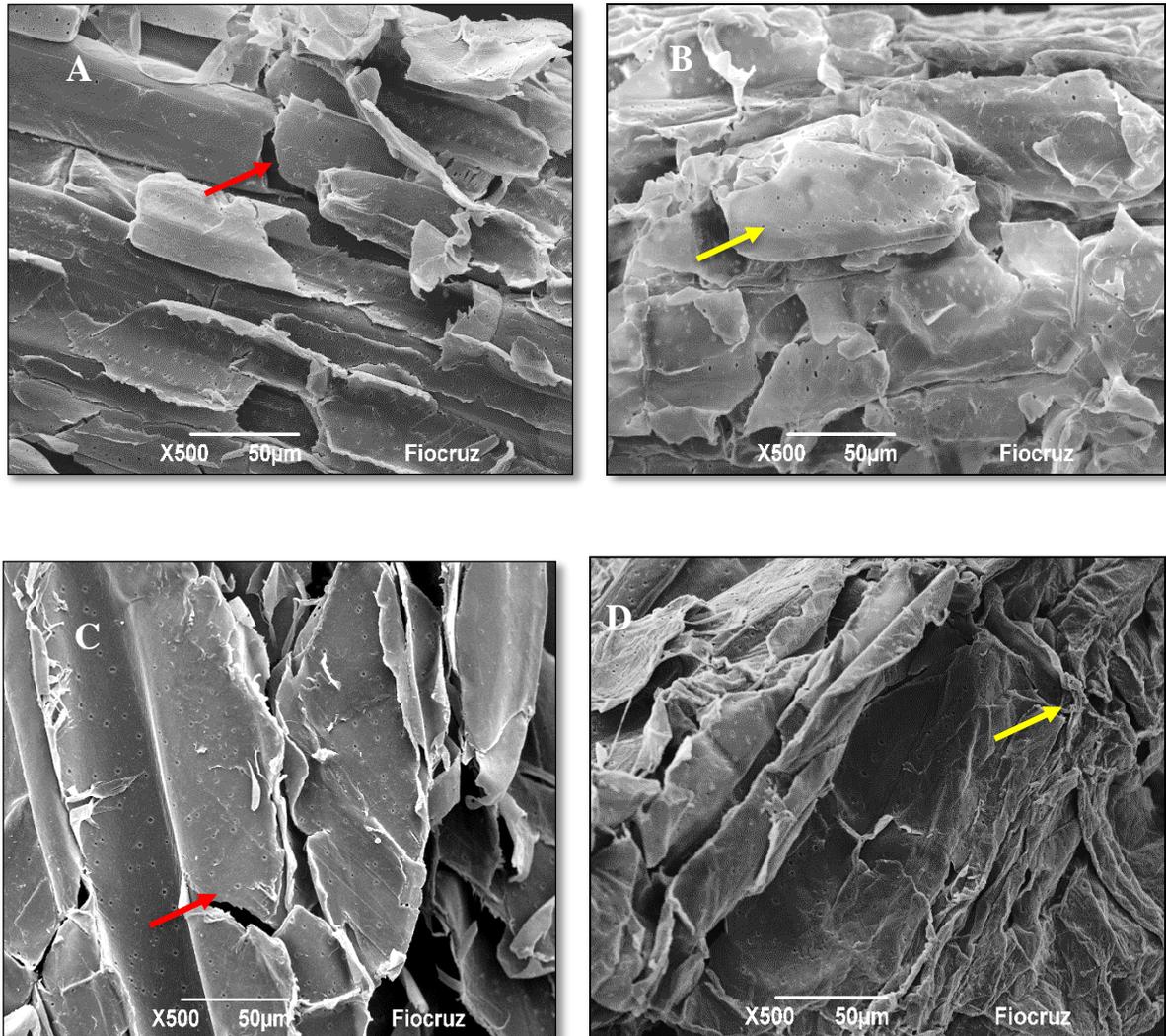
O uso do microscópio eletrônico de varredura é útil na identificação das alterações morfológicas do bagaço quando submetido aos processos de pré-tratamentos citados. Na Figura 22 são apresentadas micrografias do bagaço *in natura* e nelas verifica-se a existência de uma estrutura vegetal bem organizada com fibras lisas, compactas e sem nenhuma ruptura. Essa característica é atribuída a presença da barreira vegetal, formada pela lignina e hemicelulose, que recobre toda a cadeia celulósica.

Figura 22 Micrografias do bagaço de cana *in natura*



Na Figura 23, mostra-se as alterações sofridas pelo bagaço após o pré-tratamento ácido. O ácido sulfúrico atua na remoção de grande parte da fração hemicelulósica e diminuição das ligações lignina-carboidrato. As micrografias apresentam uma estrutura menos compacta, com fissuras nas fibras e aumento da área superficial. As rupturas da estrutura celular, indicadas pelas setas vermelhas, só são evidenciadas no pré-tratamento à temperatura de 105 °C (Figura 23A e 23C). Quando realizado o pré-tratamento ácido à temperatura de 120 °C (Figuras 23B e 23D) foram observadas a formação de agregados amorfos, identificadas pelas setas amarelas, que diminuem a resistência da fibra à etapa posterior de hidrólise. Em relação a concentração do ácido sulfúrico é possível inferir que para a maior concentração (1,45% (v/v)) a desestruturação do bagaço foi mais significativa. Estes resultados podem ser atribuídos ao caráter mais agressivo da maior temperatura e maior concentração ácida durante o pré-tratamento.

Figura 23 Micrografias do bagaço após o pré-tratamento ácido

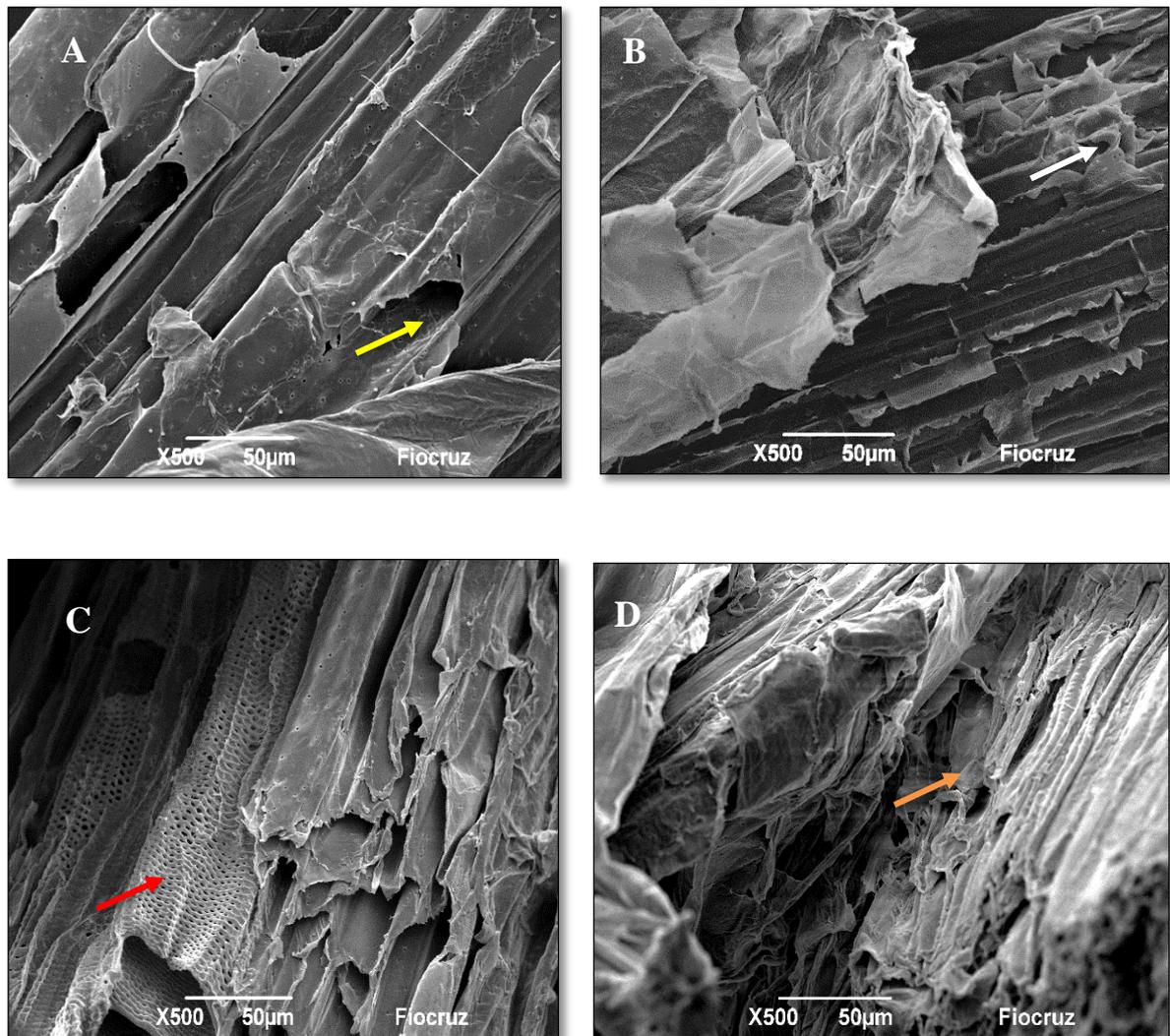


Micrografias PT ácido: (A) bagaço pré-tratado à 0,75%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e 105 °C (B) bagaço pré-tratado à 0,75%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e 120 °C (C) bagaço pré-tratado à 1,45%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e 105 °C (D) bagaço pré-tratado à 1,45%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e 120 °C

Para todas as micrografias referente ao bagaço submetido ao pré-tratamento combinado (ácido seguido do alcalino) disponíveis na Figura 24 é possível visualizar uma relevante desestruturação da fibra *in natura*, e a perda da camada protetora com a solubilização / perda mássica, principalmente, da lignina e hemicelulose. O pré-tratamento combinado quando ocorre com o ácido sulfúrico mais diluído (0,75% (v/v)) há predominantemente dois tipos de efeitos: a abertura de fendas ou canais, indicado pela seta amarela na Figura 24A, e formação de uma parede celular estratificada, ou seja, em várias camadas, identificado pela seta branca na Figura 24B. Já quando a condição ácida é mais severa é observada um tecido vascular

fraturado na Figura 24C pela seta vermelha. E a formação de agregados amorfos mais definidos visto na Figura 24D pela seta laranja.

**Figura 24** Micrografias do bagaço após pré-tratamento combinado



**Micrografias do PT combinado:** (A) bagaço pré-tratado à 0,75%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  105 °C +  $\text{H}_2\text{O}_2$  7,5% (v/v) (B) bagaço pré-tratado à 0,75%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  120 °C +  $\text{H}_2\text{O}_2$  7,5% (v/v) (C) bagaço pré-tratado à 1,45%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  105 °C +  $\text{H}_2\text{O}_2$  7,5% (v/v) e (D) bagaço pré-tratado à 1,45%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  120 °C +  $\text{H}_2\text{O}_2$  7,5% (v/v)

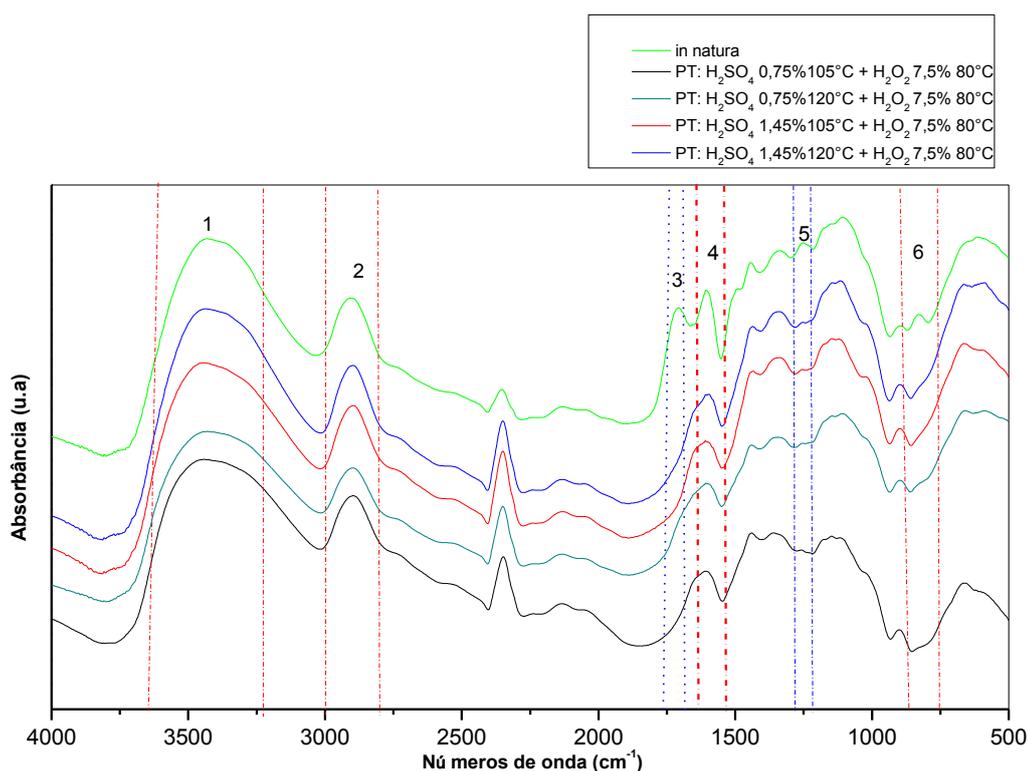
Por se tratar de uma análise qualitativa, com o MEV não foi possível verificar diferenças nítidas entre o bagaço após os pré-tratamento ácido, e após o pré-tratamento combinado. No entanto, é verificado que os pré-tratamentos provocaram mudanças significativas na estrutura e

morfologia do bagaço. Os resultados da microscopia mostram que a condição mais severa do pré-tratamento apresenta uma polpa celulósica na forma de agregado amorfo corroborando com a extensiva solubilização dos componentes, que fornecem resistência e rigidez estrutural a biomassa. A formação de fissuras e a abertura de fendas também colaboram com a maior acessibilidade da celulose às etapas posteriores de sacarificação enzimática devido a maior área superficial.

#### 4.5 Análises estruturais do bagaço

A espectroscopia por reflexão difusa no infravermelho com Transformada de Fourier (DRIFTS) é uma excelente ferramenta na análise química de biomassas lignocelulósicas, por não ser destrutiva, e requerer mínima preparação da amostra. Ela foi empregada para a identificação dos grupos funcionais, tais como álcoois, ácidos carboxílicos, cetonas e anéis aromático, existentes no bagaço *in natura* e bagaço pré-tratado. Em virtude da sua estrutura vegetal ser complexa, as bandas espectrais identificadas foram atribuídas aos três componentes principais: lignina, hemicelulose e celulose. Na Figura 25 são mostrados os espectros do bagaço antes, e após o pré-tratamento combinado obtidos neste estudo.

**Figura 25** Espectros IV do bagaço *in natura* e após os pré-tratamento combinado



Na Figura 25 são identificados seis intervalos de número de ondas (1 a 6) referentes aos grupos funcionais presentes na biomassa lignocelulósica. Na Tabela 19 são apresentadas o valor máximo dos números de onda para cada intervalo identificado.

**Tabela 19 Valores máximos dos números de ondas do espectro IV**

| Picos | Nº de ondas máximos |
|-------|---------------------|
| 1     | 3340                |
| 2     | 2898                |
| 3     | 1721                |
| 4     | 1605                |
| 5     | 1250                |
| 6     | 830                 |

Com o espectrograma apresentado é possível identificar seis bandas espectrais específicas e atribuí-las aos grupos funcionais existentes no bagaço. Os picos situados na banda larga 3640-3200  $\text{cm}^{-1}$  são referentes a vibração axial da hidroxila (OH), e está relacionada a presença de álcoois e fenóis com ligação de hidrogênio. Estes grupos funcionais podem ser atribuídos a celulose e a lignina. Já os picos registrados entre 3000-2840  $\text{cm}^{-1}$  são referentes a deformação axial de alcanos, normalmente grupos metil e metilenos ( $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$ ). São predominantes na celulose e nos extrativos, presentes em maior proporção no bagaço *in natura*. Os espectros do bagaço pré-tratado também apresentaram estes grupos funcionais, mas a intensidade da absorvância foi menor. Isso é positivo, pois ratifica os resultados da caracterização anterior, o qual mostra preservação da fração celulósica após o pré-tratamento combinado. Marengo e colaboradores (2013) atribuíram também estes grupos funcionais à banda espectral supracitada.

Para todas as condições de pré-tratamento combinado houve a análise do pico em 1721  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento das carbonilas ( $\text{C}=\text{O}$ ), vibrações de ácidos carboxílicos e cetonas. Tais grupos são característicos da hemicelulose. (SILVERSTEIN, 2006) Nota-se que este pico desaparece após o pré-tratamento combinado, isto está associado a redução percentual de hemicelulose na biomassa, pois em função da sua característica amorfa a hemicelulose é mais susceptível a quebra das suas ligações.

Em  $1605\text{ cm}^{-1}$ , banda situada entre  $1610\text{-}1516\text{ cm}^{-1}$ , é observado um pico estreito relativo a vibração da quinonas ( $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$ ) e dos anéis aromáticos, atribuídos a lignina. É observada uma nítida redução da intensidade na região espectral do bagaço pré-tratado quando comparado o bagaço *in natura*, indicando remoção da lignina da biomassa. Outra atribuição dos grupos aromáticos da lignina encontra-se no pico situado entre  $900\text{-}675\text{ cm}^{-1}$ . Os resultados mostram a presença do pico em  $830\text{ cm}^{-1}$  do bagaço *in natura* que logo desaparece após as duas etapas de pré-tratamento. Este é caracterizado pela deformação angular de ligações de hidrocarbonetos (C-H) provenientes de grupos aromáticos da lignina.

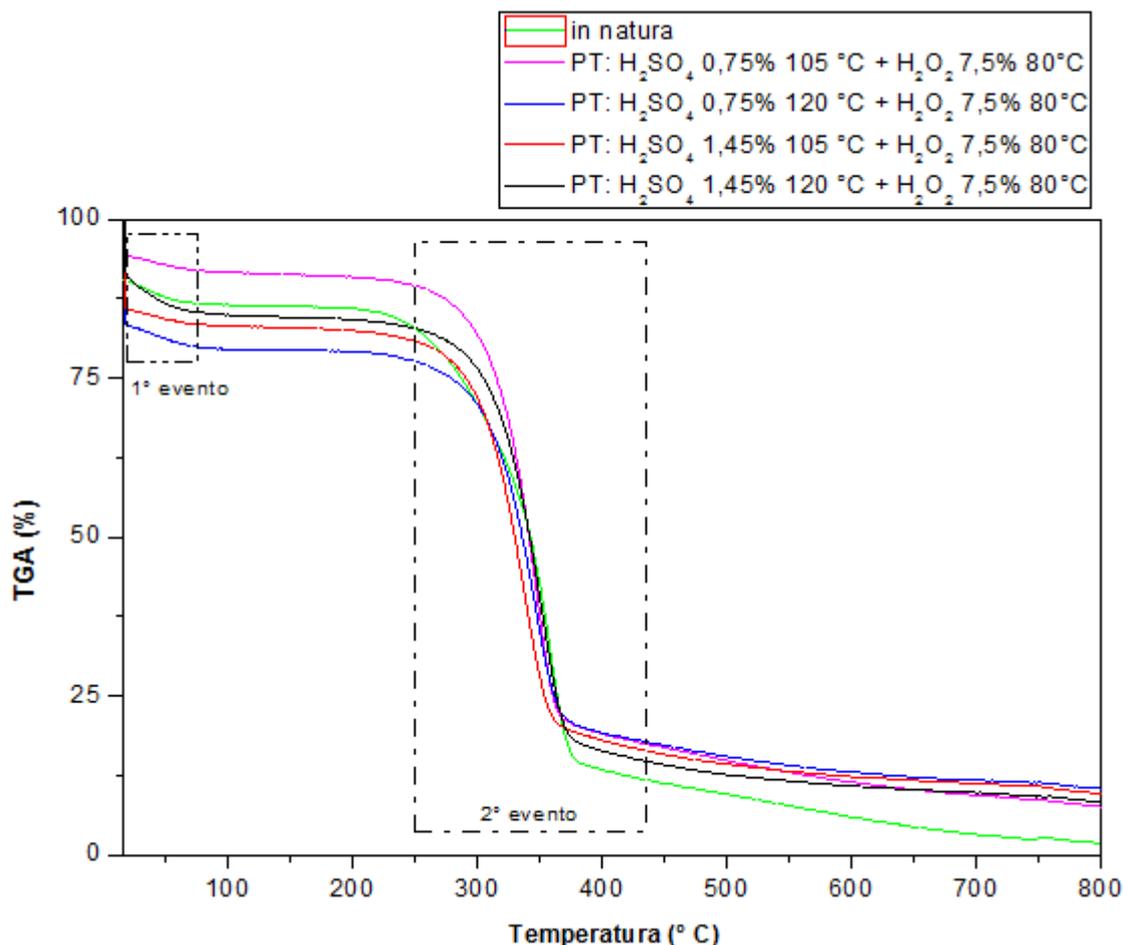
O pico localizado na banda entre  $1400\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$  é característico da deformação dos acetatos. (SILVERSTEIN, 2006). No espectrograma foi evidenciado um pico em  $1250\text{ cm}^{-1}$  o qual pode ser caracterizado pelos grupos acetatos, predominantes em hemicelulose, por esta possuir grupos acetil em sua estrutura. Após as etapas de pré-tratamentos combinado houve o desaparecimento deste pico, indicando que a fração hemicelulósica removida foi significativa.

As análises do DRIFTS permitiu avaliar as alterações na estrutura química após o pré-tratamento combinado, e verificar que para todas as condições foram encontradas evidências da remoção da lignina e hemicelulose no bagaço pré-tratado. Isso ocorreu por meio da redução da intensidade da absorvância quando comparado ao bagaço *in natura*. Estes resultados ratificam as análises da composição química realizadas, as quais mostram a remoção destes compostos após o pré-tratamento.

#### **4.6 Análises térmicas**

A análise térmica foi útil na determinação da estabilidade térmica da biomassa lignocelulósica após o pré-tratamento. Na Figura 26 apresenta-se o perfil do decaimento mássico para o bagaço *in natura* e o bagaço pré-tratado. Nela é possível perceber que a decomposição do bagaço *in natura* iniciou em torno de  $250\text{ }^\circ\text{C}$ , enquanto que para o bagaço pré-tratado em aproximadamente  $300\text{ }^\circ\text{C}$ . A estabilidade térmica da celulose aumenta com a remoção da lignina e hemicelulose, compostos menos estáveis.

Figura 26 Comparativo curva TGA do bagaço *in natura* e bagaço pré-tratado



Além disso, ainda é possível perceber a existência de dois eventos de decomposição. O primeiro evento com temperaturas menores que 100 °C, cujo está associado a perda mássica de água com a evaporação. E o segundo evento ocorrendo na faixa de 250 – 500 °C referente a decomposição da hemicelulose, celulose e lignina. No gráfico TGA (Figura 26) fica claro que o bagaço no segundo evento apresentou uma perda mássica rápida e abrupta. Não foi visualmente perceptível a decomposição, de forma isolada, de cada constituinte da biomassa, mas pode-se inferir que a hemicelulose por não ser cristalina possui uma menor temperatura de decomposição que a celulose, e por isso, deve ser a primeira a ser degradada com a ação térmica. A lignina, por sua vez, foi a última por possuir uma estrutura mais complexa. Segundo Yang e colaboradores (2007) na decomposição de materiais lignocelulósicos, a hemicelulose é degradada em temperaturas entre 220 – 315 °C, a celulose em 315 – 400 °C e a lignina em 150 – 800 °C. Sendo assim, o bagaço do presente estudo encontra-se dentro da faixa estabelecida em literatura.

Nas curvas de bagaço pré-tratado, em temperaturas superiores a 500 °C, ocorre um decaimento mássico lento. Zhao e colaboradores (2010) também observaram isto e, concluíram que nesta fase ocorre a decomposição da D-glucopiranosose, monômero oriundo da degradação da celulose, em grafite (carbono).

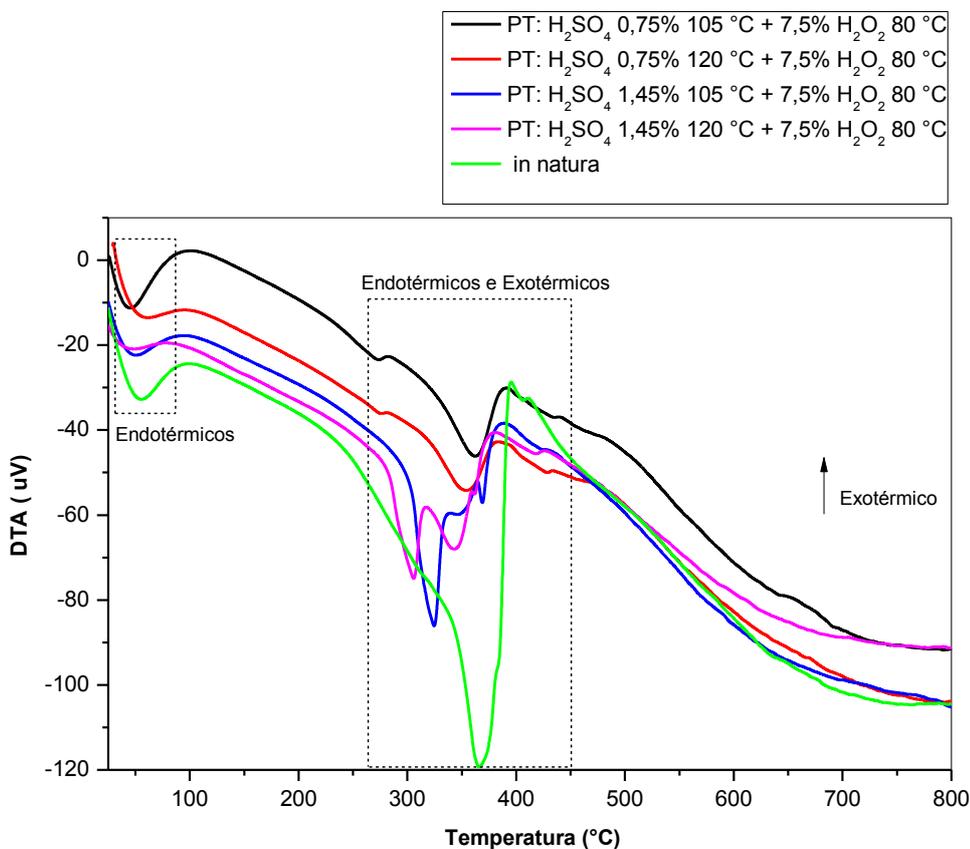
A Tabela 20 apresenta os valores de perda mássica e temperatura de decomposição do bagaço in natura e pré-tratado encontrados para os dois eventos térmicos discutidos anteriormente.

**Tabela 20 Perda mássica e temperatura de decomposição dos componentes do BCA in natura e pré-tratado**

| Pré-tratamentos   | Temp. umidade (°C) | Perda mássica (%) | Temp. Hemicel. (°C) | Temp. Celulose (°C) | Temp. Lignina (°C) | Perda mássica (%) |
|---|--------------------|-------------------|---------------------|---------------------|--------------------|-------------------|
| Bagaço <i>in natura</i>   | 54,15              | 4,53              | 312                 | 392                 | 402                | 82,05             |
| 0,75% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 105 °C<br>+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 67,78              | 2,93              | 300                 | 360                 | 436                | 82,26             |
| 0,75% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 120 °C<br>+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 50,50              | 4,45              | 284                 | 346                 | 436                | 77,27             |
| 1,45% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 105 °C<br>+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 61,00              | 2,79              | 273                 | 354                 | 436                | 79,47             |
| 1,45% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a 120 °C<br>+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 7,5% 80 °C | 45,57              | 7,08              | 273                 | 362                 | 435                | 77,82             |

As curvas de DTA mostradas na Figura 27 apresentam os processos entálpicos ocorridos durante a degradação térmica, podendo ser endotérmicos e exotérmicos.

Figura 27 Curvas DTA para o bagaço *in natura* e pré-tratado



Os processos entálpicos são decorrentes da degradação de compostos orgânicos e modificações das estruturas macromoleculares. A curva do bagaço *in natura* apresentou picos mais intensos que as curvas do bagaço pré-tratado. Cruz e colaboradores (2011) também verificaram o mesmo comportamento, e atribuiu a presença dos compostos lignina e hemicelulose na sua composição. Para todas as curvas foi observado um primeiro pico endotérmico relativo a perda da umidade. No bagaço *in natura* existe uma maior interação da molécula de água com a matriz polimérica, logo o pico é mais acentuado. Depois, são visualizados picos endotérmicos caracterizados pela decomposição da hemicelulose e degradação da estrutura cristalina da celulose, e por último, um pico exotérmico referente a degradação da lignina.

## 5.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O etanol de segunda geração surge como uma alternativa promissora e, não competitiva com a disponibilidade de alimentos, uma vez que utiliza como matéria prima os resíduos agroindustriais. Dentre as etapas de produção, a etapa de pré-tratamento ainda não encontra-se consolidada e representa um desafio por requerer desestruturação da parede celular e preservação da celulose aliada a baixa demanda energética. Com o estudo apresentado, pode-se verificar que o bagaço da cana de açúcar utilizado continha alto teor de celulose (38%), e que o pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído mostrou pouco eficiente na remoção da lignina, remoção máxima de 17%, solubilizando preferencialmente a hemicelulose (44%) e uma parte da cadeia celulósica, podendo esta estar atrelada a fase amorfa. O pré-tratamento combinado, por sua vez, removeu seletivamente a lignina e a fração hemicelulósica remanescente. Quanto às condições de pré-tratamento, verifica-se que o pré-tratamento ocorrendo a concentração ácida de 1,45% (v/v) a 120 °C seguido do peróxido de hidrogênio alcalino a 7,5% (v/v)  $H_2O_2$  a 80 °C é a condição mais adequada à produção do E2G por permitir a maior exposição da celulose, nesta obteve-se baixa solubilização da celulose (9,1 %) aliada uma remoção em 80% de hemicelulose e 73,3% da lignina, indicando que a biomassa agora encontra-se constituída majoritariamente de celulose. No entanto, ao contrário do que era esperado, a condição de pré-tratamento químico combinado mais branda ( $H_2SO_4$  0,75% (v/v) a 120 °C +  $H_2O_2$  7,5% a 80 °C) propiciou a maior formação de compostos inibidores de fermentação, sendo estes representados principalmente pelo furfural e 5-hidroximetilfurfural. A presença destas substâncias acelerou a degradação da celulose, e por isso tornou a biomassa pouco susceptível à hidrólise. As análises morfológicas e estruturais mostraram que houve alterações significativas na estrutura da bagaço pré-tratado, corroborando com os resultados obtidos com as caracterizações químicas. Foram observadas as formações de fendas e agregados amorfos no bagaço após o pré-tratamento, o que indicam maior acessibilidade das enzimas, devido a menor rigidez da parede celular. Alterações físicas do bagaço, como perda da integridade física, e uma coloração mais amarelada, quando comparado ao bagaço *in natura* também foram evidenciadas. Por fim, as análises térmicas indicaram que a remoção da lignina e hemicelulose que a biomassa apresentou maior estabilidade térmica, fato que pode ser visto com a alteração da temperatura de decomposição que aumentou de 250 °C para 300 °C. A perda mássica referente a matéria orgânica obtida com a termogravimetria entre 70 – 80% ratifica com resultados obtidos com a caracterização.

## SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Determinação do índice de cristalinidade da celulose do bagaço após o pré-tratamento combinado a partir da técnica de Difração de Raio X (DRX);
- Caracterizar fisicamente o bagaço de cana-de-açúcar após o pré-tratamento em relação as propriedades como porosidade, grau de polimerização e área superficial, para assim avaliar a influência destas propriedades na etapa da hidrólise enzimática;
- Quantificação da glicose obtida após a etapa de hidrólise enzimática a partir do bagaço da cana de açúcar pré-tratado com ácido sulfúrico diluído seguido do peróxido de hidrogênio;
- Determinação da influência dos inibidores furfural e 5-hidroximetilfurfural na etapa de fermentação alcoólica;
- Estudo e determinação do potencial energético de outras biomassas lignocelulósicas e, a sua aplicabilidade na obtenção do etanol de segunda geração.

## REFERÊNCIAS

AGBOR, V. L., et. al. Biomassa pretreatment: Fundamentals toward application. **Biotechnology Advances**. v. 29, p. 675-689, 2011.

**Alfa Laval Aalborg Industries**. Tabelas técnicas. Disponível em <<http://www.aalborg-industries.com.br/downloads/tabelas-tecnicas-aalborg-industries.pdf>> Acesso 29 abr. 2015.

ALVES, R. E. **Caracterização de fibras lignocelulósicas pré-tratados por meio técnicas espectroscópicas e microscópica ópticas de alta resolução**. 2011. 117 f. Dissertação (Mestrado Ciências e Engenharia de Materiais) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

ALVIRA P.; et al. Pretreatment Technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Technonology**, v.101 p. 4851- 4861. 2010.

AYALA, O. L. B. **Avaliação de pré-tratamento para hidrólise enzimática de palha de cana-de-açúcar considerando a produção de etanol**. 2012.173 f. Dissertação (Mestrado Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. Campinas.

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

BLUHUM, K. et al. Assessment of the ecotoxicological and enviroment effects of biorefineries. In: \_\_\_\_\_ **The role of green chemistry in biomass processing and conversion**. eds H. Xie and N. Gathergood), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. doi: 10.1002/9781118449400.ch15, 2012.

**BNDES: Custo de produção de etanol 2G será menor do que de 1G até 2020**. Disponível <<http://www.novacana.com/n/etanol/2-geracao-celulose/bndes-custo-producao-etanol-2g-menor-1g-2020-240315/>> Acesso 08 abr. 2015.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia: Secretaria de planejamento e desenvolvimento energético. **Boletim mensal de Energia**. Disponível em <[http://www.mme.gov.br/documents/10584/1143612/01+-+Boletim+Mensal+de+Energia+\(Abril+2015\)+\(PDF\)/45c66e88-fcf1-40ed-a23c-25d118ae634f;jsessionid=9C13C380DC725F3670DD0E83AAA0B872.srv155](http://www.mme.gov.br/documents/10584/1143612/01+-+Boletim+Mensal+de+Energia+(Abril+2015)+(PDF)/45c66e88-fcf1-40ed-a23c-25d118ae634f;jsessionid=9C13C380DC725F3670DD0E83AAA0B872.srv155)> Acesso 10 maio 2015.

CANDIDO. R. G, GODOY. G. G, GONÇALVES. A. R. Study of Sugarcane Bagasse Pretreatment with Sulfuric Acid as a Step of Cellulose Obtaining. **World Academy of Science, Engineering and Technology**. v. 6, 2012.

CANILHA, L. et al. A study on the pretreatment of a sugarcane bagasse sample with dilute sulfuric acid. **Journal of Industrial Microbiology Biotechnology**, v. 38, p.1467-1475. 2011.

CHATUVERDI, V.; VERMA, P. An overview of key pretreatment processes employed for bioconversion of lignocellulosic biomass into biofuels and value added products. **3 Biotech**. v. 3. n. 5, p. 415–431, 2013.

CHEN, H., HAN, Y., XU, J. Simultaneous saccharification and fermentation of steam exploded wheat straw pretreated with alkline pretreatment. **Process Biochemistry**, v. 43, p. 1462-1466, 2008.

CHEN, W.H.; YE, S.C.; SHEEN, H.K. Hydrolysis characteristics of sugarcane bagasse pretreated by dilute acid solution in a microwave irradiation environment. **Applied Energy**, v.93, p. 237-244, 2012.

CONAB Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar V.2- Safra 2015/2016. N.1- Primeiro levantamento abril /2015.-** Brasília: CONAB, 2015.

CORREIA, J.A.C et al Alkaline hydrogen pretreatment of cashew apple bagasse for etanol production: Study of parameters. **Bioresource Technology**, v.139, p.249-256, 2013.

CRUZ, G. et al Thermal and morphological evaluation of chemically pretreated sugarcane bagasse. World Academy of Science, **Engineering and Technology**, v. 7, n.6, p. 06-27, 2013.

DAWSON, L.; BOOPATHY, R. Cellulosic etanol production from sugarcane bagasse without enzymatic saccharification. **BioResources**, v. 3, n.2, p.452-460. 2008.

EMBRAPA. **Microbiota brasileira será estudada para produção etanol 2G**. Disponível em <<http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2012/marco/1a-semana/microbiota-brasileira-sera-estudada-para-producao-etanol-2g/?searchterm=etanol%202G>> Acesso em: 21 jan. 2014.

ESTEVES, P. J. **Pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluído em reator piloto por vapor direto**.2011. 93 f. Dissertações (Mestrado em Biotecnologia) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood Chemistry, ultrastructure reactions**. Berlin: Walter de Gruyter & CO, 613 p. 1989.

FERREIRA, V.F.; ROCHA, D.R. Potencialidades e oportunidades da química da sacarose e outros açúcares. **Química Nova**, v.32, n. 3, p. 623-638, 2009.

GOULD, J.M.; FREER, S.N. High-efficiency ethanol production from lignocellulosic residues pretreated with alkaline H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>\*. **Biotechnology and Bioengineering**, v. XXVI, p.628-631, 1984.

GOUVEIA, E. R. et al. Validação da metodologia para a caracterização química do bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1500-1503, 2009.

GOMEZ, S. M. R. et al. Pretreatment of sugar cane bagasse with phosphoric and sulfuric diluted acid for fermentable sugars production by enzymatic hydrolysis. **Chemical Engineering Transactions**, v. 20, 321-326, 2010.

HARIPRIYA, R.S. et al. Pretreatment of cellulosic waste materials. **European Journal of Biotechnology and Bioscience**, v.2, n.4, p. 4-13, 2014.

KIM, S.; KIM, C.H. Bioethanol production using the sequential acid/alkali-pretreated empty palm fruit bunch fiber. **Renewable Energy**, v.54, p. 150-155, 2013.

KUMAR, P.; BARRET, D. M.; DELWICHE, M. J.; STROEVE, P. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass of eficiente hydrolysis and biofuel production. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 48, n. 8, p. 3713-3729, 2009.

LAMONICA, H.M. **Geração de eletricidade a partir da biomassa da cana-de-açúcar**. Rio de Janeiro: Centro de Tecnologia Canavieira, 2005. 48 slides, color.

MAICHE, R. HUBER, C. Desenvolvimento da produção e pesquisa de bioetanol nos Estados Unidos: um enfoque nas rotas bioquímicas. **Revista Thema**, v. 7, n.2, p.1-19. 2010.

MANZOOR, A. et al. Dilute sulfuric acid: a cheap acid for optimization of bagasse pretreatment. **Science International**, v.24, n.1, p. 41-45, 2012.

MARABEZI, K. **Estudo sistemático das reações envolvidas na determinação dos teores de lignina e holocelulose em amostras de bagaço e palha de cana-de-açúcar**. 2009.135f. Dissertação (Mestrado em Ciências Físico-Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

MATTOS, I. L. et. al. Peróxido de Hidrogênio: Importância e Determinação. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 373-380, 2003.

MAZIERO, P. et al. Structural features of lignina obtained at diferente alkaline oxidation conditions from sugarcane bagasse. **Industrial Crops and Products**, v. 35, p. 61-69. 2012.

MENDES, T.D. et al. Avaliação de diferentes pré-tratamentos para a desconstrução da biomassa lignocelulósica. In: IXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2012, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro.

MORAIS, A. P. S. da. **Estudo do pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar e caracterização físico-química**. 2010. 47 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Botucatu.

MORANDO, L.E.N. et al Statistical optimization of alkaline hydrogen peroxide pretreatment of sugarcane bagasse for enzymatic saccharification with Tween 80 using response surface methodology. **Biomass Conversion and Biorefinary**, v. 4, p.15–23,2014.

MARENGO, V.A.; VERCELHEZE, A.E.S.; MALL, S.; Compósitos biodegradáveis de amido de mandioca e resíduos da agroindústria. **Química Nova**, v. 36, n.5, p.680-685. 2013.

NADA, A.A.M.A. et al. Preparation and characterization of microcrystalline cellulose (MCC). **BioResources**, v.4, n.4, p.1359-1371, 2009

OGEDA, T.L.; PETRI, D. F.S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química Nova**, v.33, n. 7, 1549-1558, 2010.

OLIVEIRA, L. M.; SERRA, J.C.V.; OLIVEIRA, K.B.M.; Balanços Energéticos da produção de etanol para diferentes matérias primas. **Geoambiente on line**, n.22, p. 39 – 52. 2014.

PALMQVIST, E.; HÄGERDAL, H.B. Fermentation of ligocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanism of inhibition. **BioResources Technology**, v.74, p. 24-33. 2000.

PITARELO, A.P. **Produção de etanol celulósico a partir do bagaço de cana pré-tratado por explosão a vapor**. 2013.162 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

RABELO, S.C. et al. Ethanol production from enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse pretreated with lime and alkaline hydrogen peroxide. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 3600-3607, 2011.

RABELO, S. C. **Avaliação e Otimização de pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a Produção de Etanol de Segunda Geração** 2010.447 f. Tese (Doutorado Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

RABELO, S. C et al. Alkaline hydrogen peroxide pretreatment, enzymatic hydrolysis and fermentation of sugarcane bagasse to ethanol. **Fuel**, v.136, p. 349-357, 2014.

REZENDE, C. A, et al. Chemical and morphological characterization of sugarcane bagasse submitted to a delignification process for a enhanced enzymatic digestibility. **Biotechnology for Biofuels**, v. 4, n.54, p.1-18. 2011.

ROCHA, G.J. M. de et al Dilute mixed-acid pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production. **Biomass and Bioenergy**, v.35, p. 663-670, 2011.

SALLA, A. D; CABELLO C. Análise energética de sistemas de produção de etanol de mandioca, cana-de-açúcar e milho. **Revista da Agricultura**. Botucatu, v. 25, n.2, p.32-53, 2010.

SAHA, B.C.; COTTA, M.A. Alkaline peroxide pretreatment of corn stover for enzymatic saccharification and ethanol production. **Industrial Biotechnology**, v. 10, n.1, p. 34 – 41, 2014.

SARKAR, N. et al. Bioethanol production from agricultural wastes: an overview. **Renewable Energy**, v. 37. P. 19-27. 2012.

SANTOS, F.A et al. Potencial da palha de cana-de-açúcar para a produção de etanol. **Química Nova**. Minas Gerais, v. 35, n.5, p. 1004-1010, 2012.

SILVA, P. V. da; MONQUERO, P.A. Influência da palha no controle químico de plantas daninhas no sistema de cana crua. **Revista Brasileira de Herbicidas**, São Paulo, v.12, n.1, p.94-103, 2013.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X; KIEMLE, D. J. Espectrometria no Infravermelho. In: \_\_\_\_\_ **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**, 7ª ed., LTC, 2006.

SLUITER, A et al **Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass**. 2011. National Renewable Energy Laboratory. NREL/TP-510-42618. Disponível <<http://www.nrel.gov/biomass/pdfs/42618.pdf> >

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **BioResources Technology**, v.83, p. 1-11, 2002.

UDOP União dos Produtores de Bioenergia. **Exportações brasileiras anuais de etanol**. Disponível em: <[http://www.udop.com.br/download/estatistica/etanol/07mai15\\_exportacao\\_anual\\_etanol.pdf](http://www.udop.com.br/download/estatistica/etanol/07mai15_exportacao_anual_etanol.pdf) > Acesso em: 7 mai. 2015.

UDOP União dos Produtores de Bioenergia **Importações brasileiras anuais de etanol**. Disponível em: <[http://www.udop.com.br/download/estatistica/etanol/07mai15\\_importacao\\_anual\\_etanol.pdf](http://www.udop.com.br/download/estatistica/etanol/07mai15_importacao_anual_etanol.pdf) > Acesso em: 7 mai. 2015.

UNICA – **UNIÃO DA INDÚSTRIA CANAVIEIRA**. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/>>. Acesso em: 15 abr. 2014.

UNICA - **UNIÃO DA INDÚSTRIA CANAVIEIRA. Cartilha Bioeletricidade: A energia inteligente do Brasil, 2010**. Disponível em: <[http://bioeletricidade.com.br/cartilha\\_bioeletricidade.pdf](http://bioeletricidade.com.br/cartilha_bioeletricidade.pdf)> Acesso 30 abr. 2015

WANG, Q. et al. Pretreating lignocellulosic biomass by the concentrated phosphoric acid plus hydrogen peroxide (PHP) for enzymatic hydrolysis: Evaluating the pretreatment flexibility on feedstocks and particle sizes. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 420-428, 2014.

YANG, H. et al Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. **Fuel**, v. 86, p. 1781-1788, 2007.

ZANCANER, M.G.; SANTOS, T.B.S. Cogeração: ampliação da oferta de energia elétrica com a biomassa. (Bagaço da cana de açúcar). **Revista Diálogo Interdisciplinares**, v.2, n.2, 2013.

ZHAO, X. et al. Delignification of sugarcane bagasse with alkali and peracetic acid and characterization of the pulp. **BioResources**, v. 5, n.3, p. 1565-1580, 2010.

ZHENG, Y.; ZHONGLY, P.; ZHANG, R. Overview of biomass pretreatment for cellulosic production. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 2, n.3, p. 41-69, 2009.

**APÊNDICE A – Análise gravimétrica dos pré-tratamento combinado: ciclo secagem das amostras pré-tratadas.**

| <b>Condição: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,75% (v/v) 105 °C + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 7,5% (v/v) 80 °C</b> |                   |                 |        |               |
|---|-------------------|-----------------|--------|---------------|
| Amostras  | Massa inicial (g) | Massa final (g) | Média  | Desvio padrão |
| Amostra 01  | 59,5946           | 5,0605          |        |               |
| Amostra 02  | 79,4598           | 4,7407          | 4,9444 | 0,1445        |
| Amostra 03  | 97,6535           | 5,0318          |        |               |

| <b>Condição: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,75% (v/v) 120 °C + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 7,5% (v/v) 80 °C</b> |                   |                 |        |               |
|---|-------------------|-----------------|--------|---------------|
| Amostras  | Massa inicial (g) | Massa final (g) | Média  | Desvio padrão |
| Amostra 01  | 74,4220           | 6,5104          |        |               |
| Amostra 02  | 82,4805           | 6,4970          | 6,5092 | 0,0095        |
| Amostra 03  | 78,4512           | 6,5203          |        |               |

| <b>Condição: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,45% (v/v) 120 °C + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 7,5% (v/v) 80 °C</b> |                   |                 |        |               |
|---|-------------------|-----------------|--------|---------------|
| Amostras  | Massa inicial (g) | Massa final (g) | Média  | Desvio padrão |
| Amostra 01  | 54,010            | 6,3227          |        |               |
| Amostra 02  | 85,3920           | 6,4383          | 6,4381 | 0,0942        |
| Amostra 03  | 93,0399           | 6,5534          |        |               |

| <b>Condição: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,45% (v/v) 105 °C + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 7,5% (v/v) 80 °C</b> |                   |                 |        |               |
|---|-------------------|-----------------|--------|---------------|
| Amostras  | Massa inicial (g) | Massa final (g) | Média  | Desvio padrão |
| Amostra 01  | 84,3083           | 5,9901          |        |               |
| Amostra 02  | 79,6437           | 5,9300          | 5,9730 | 0,0306        |
| Amostra 03  | 80,2458           | 5,9990          |        |               |

## APÊNDICE B - Fator de correção dos componentes do BCA – determinação dos açúcares

Os fatores de correção dos açúcares e ácidos orgânicos foram obtidos mediante a razão entre as suas massas moleculares, e a massas moleculares dos seus respectivos polímeros precursores (celulose e hemicelulose).

| <b>Monômero</b> | <b>Fator de correção</b> | <b>Polímero</b> |
|-----------------|--------------------------|-----------------|
| Glicose         | 0,90                     | Celulose        |
| Celobiose       | 0,95                     | Celulose        |
| Xilose          | 0,88                     | Hemicelulose    |
| Arabinose       | 0,88                     | Hemicelulose    |
| Ácido Acético   | 0,72                     | Hemicelulose    |
| Ácido. Fórmico  | 3,09                     | Celulose        |
| Furfural        | 1,37                     | Hemicelulose    |
| 5-HMF           | 1,20                     | Celulose        |

## APÊNDICE C- Tratamento dos dados da caracterização química do pré-tratamento com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluído

### 1. Pré-tratamento ácido 0,75% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 105 °C

| Componentes         | Amostra 1 | Amostra 2 | Média | Correção * |
|---------------------|-----------|-----------|-------|------------|
| <b>Celulose</b>     | 39,24     | 39,03     | 39,14 | 35,91      |
| <b>Hemicelulose</b> | 16,97     | 16,56     | 16,77 | 15,38      |
| <b>Lignina</b>      | 25,96     | 26,14     | 26,05 | 23,90      |
| <b>Cinzas</b>       | 0,55      | 0,58      | 0,57  | 0,52       |

\* Memória de cálculo Celulose:  $(39,14 \times \text{Rendimento}) = (39,14 \times 0,9174 = 35,91)$

### 2. Pré-tratamento ácido 0,75% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 120 °C

| Componentes         | Amostra 1 | Amostra 2 | Média | Correção* |
|---------------------|-----------|-----------|-------|-----------|
| <b>Celulose</b>     | 45,52     | 45,61     | 45,56 | 35,24     |
| <b>Hemicelulose</b> | 13,98     | 13,78     | 13,88 | 10,74     |
| <b>Lignina</b>      | 26,13     | 27,03     | 26,58 | 20,56     |
| <b>Cinzas</b>       | 0,73      | 0,77      | 0,75  | 0,58      |

\* Memória de cálculo Hemicelulose:  $(13,88 \times \text{Rendimento}) = (13,88 \times 0,7735 = 10,74)$

### 3. Pré-tratamento ácido 1,45% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 105 °C

| Componentes         | Amostra 1 | Amostra 2 | Média | Correção* |
|---------------------|-----------|-----------|-------|-----------|
| <b>Celulose</b>     | 46,35     | 45,99     | 46,18 | 37,20     |
| <b>Hemicelulose</b> | 13,15     | 12,99     | 13,07 | 10,53     |
| <b>Lignina</b>      | 24,27     | 25,21     | 24,74 | 19,93     |
| <b>Cinzas</b>       | 0,79      | 0,77      | 0,79  | 0,62      |

\* Memória de cálculo Lignina:  $(24,74 \times \text{Rendimento}) = (24,74 \times 0,8056 = 19,93)$

### 4. Pré-tratamento ácido 1,45% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 120 °C

| Componentes         | Amostra 1 | Amostra 2 | Média | Correção* |
|---------------------|-----------|-----------|-------|-----------|
| <b>Celulose</b>     | 46,99     | 46,763    | 46,88 | 37,50     |
| <b>Hemicelulose</b> | 15,88     | 15,36     | 15,62 | 12,50     |
| <b>Lignina</b>      | 23,41     | 22,634    | 23,02 | 18,42     |
| <b>Cinzas</b>       | 0,75      | 0,7287    | 0,74  | 0,59      |

\* Memória de cálculo Cinzas:  $(0,74 \times \text{Rendimento}) = (0,74 \times 0,7937 = 0,59)$

## APÊNDICE D - Tratamento dos dados da caracterização química do pré-tratamento combinado

### 1. Pré-tratamento combinado: 0,75% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 105 °C + 7,5% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 80 °C

| Componentes         | Amostra 1 | Amostra 2 | Média | Correção* |
|---------------------|-----------|-----------|-------|-----------|
| <b>Celulose</b>     | 64,28     | 65,72     | 65,00 | 32,69     |
| <b>Hemicelulose</b> | 14,29     | 16,88     | 15,59 | 7,84      |
| <b>Lignina</b>      | 7,62      | 7,34      | 7,48  | 3,76      |
| <b>Cinzas</b>       | 0,88      | 0,83      | 0,85  | 0,43      |

\*Memória de cálculo Celulose: (65 x Rendimento) = (65 x 0,5030 = 32,50)

### 2. Pré-tratamento combinado: 0,75% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 120 °C + 7,5% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 80 °C

| Componentes         | Amostra 1 | Amostra 2 | Média | Correção* |
|---------------------|-----------|-----------|-------|-----------|
| <b>Celulose</b>     | 69,07     | 69,07     | 69,07 | 34,73     |
| <b>Hemicelulose</b> | 9,25      | 9,18      | 9,21  | 4,63      |
| <b>Lignina</b>      | 10,58     | 10,62     | 10,60 | 5,33      |
| <b>Cinzas</b>       | 0,78      | 0,78      | 0,78  | 0,39      |

\*Memória de cálculo Hemicelulose: (9,21 x Rendimento) = (9,21\* 0,5028 = 4,63)

### 3. Pré-tratamento combinado: 1,45% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 105 °C + 7,5% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 80 °C

| Componentes         | Amostra 1 | Amostra 2 | Média | Correção* |
|---------------------|-----------|-----------|-------|-----------|
| <b>Celulose</b>     | 67,10     | 68,44     | 67,77 | 32,64     |
| <b>Hemicelulose</b> | 11,52     | 13,42     | 12,47 | 6,00      |
| <b>Lignina</b>      | 6,37      | 6,92      | 6,64  | 3,20      |
| <b>Cinzas</b>       | 0,56      | 0,45      | 0,51  | 0,24      |

\*Memória de cálculo Lignina: (6,64 x Rendimento) = (6,64 x 0,4816 = 3,20)

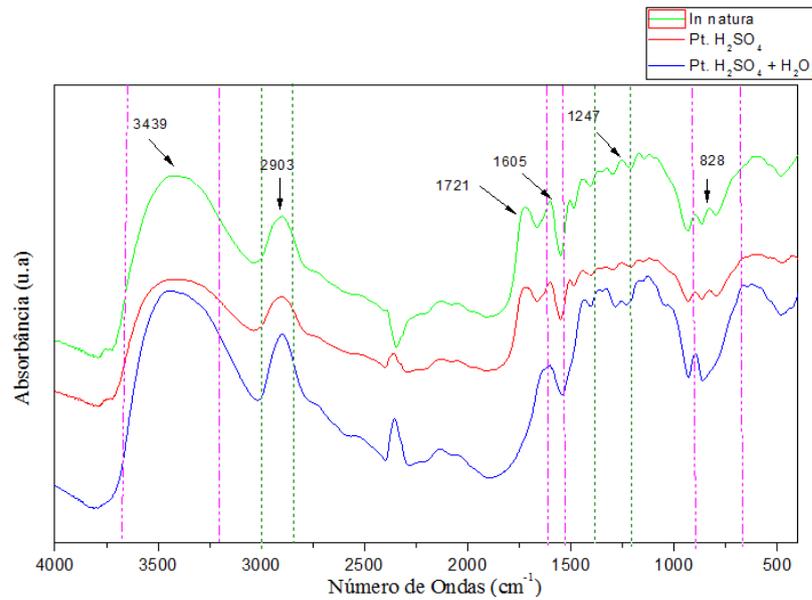
### 4. Pré-tratamento combinado: 1,45% (v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 120 °C + 7,5% (v/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 80 °C

| Componentes         | Amostra 1 | Amostra 2 | Média | Correção* |
|---------------------|-----------|-----------|-------|-----------|
| <b>Celulose</b>     | 71,25     | 70,83     | 71,04 | 35,97     |
| <b>Hemicelulose</b> | 7,48      | 8,70      | 8,09  | 4,10      |
| <b>Lignina</b>      | 11,91     | 11,85     | 11,88 | 6,02      |
| <b>Cinzas</b>       | 0,88      | 0,84      | 0,86  | 0,44      |

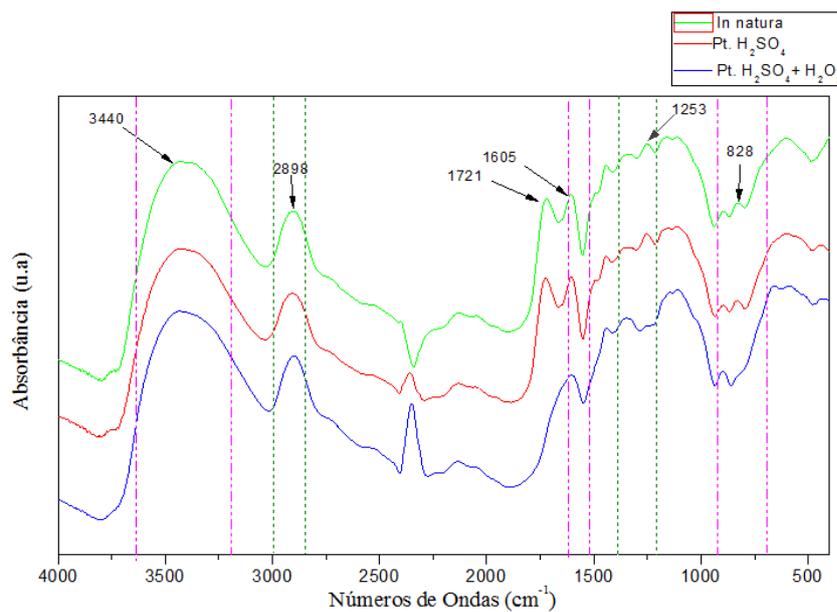
\*Memória de cálculo Cinzas: (0,84 x Rendimento) = (0,86 x 0,5064 = 0,44)

**APÊNDICE E - Comparativo dos espectros do infravermelho entre o bca *in natura*, pré-tratamento ácido e pré-tratamento combinado**

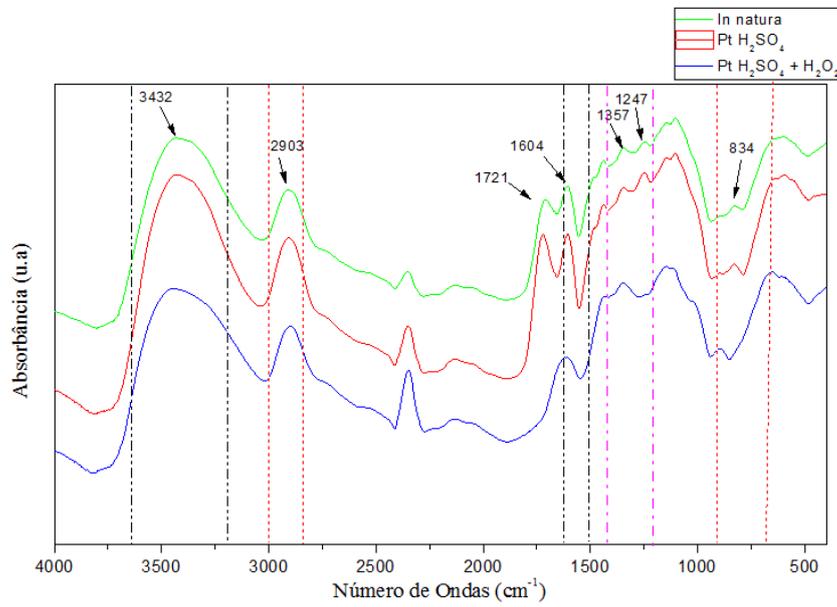
**Espectro infravermelho do bagaço *in natura* e pré-tratado  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,75% (v/v)  $T=105^\circ\text{C}$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  7,5% (v/v)  $T=80^\circ\text{C}$**



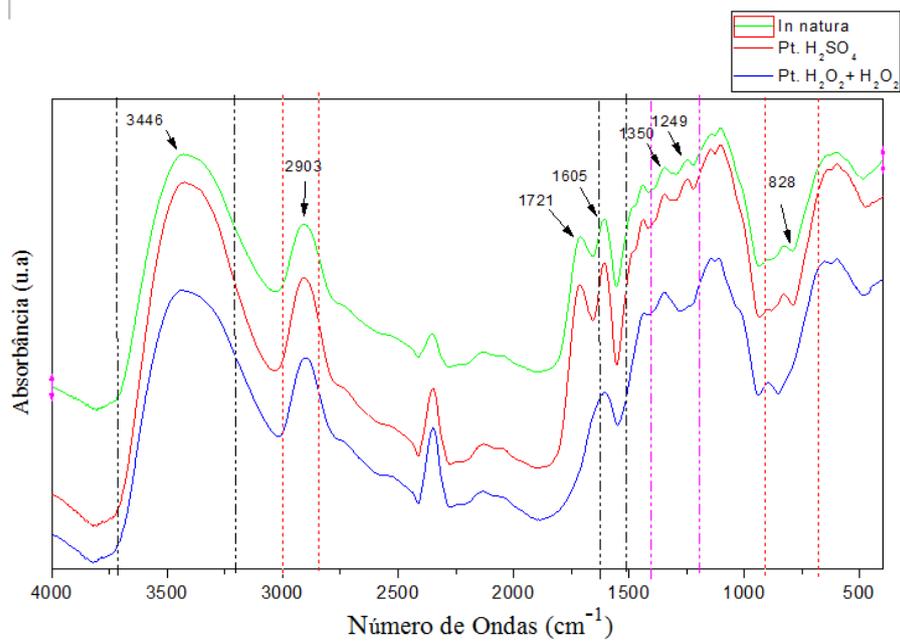
**Espectro infravermelho do bagaço *in natura* e pré-tratado  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,75% (v/v)  $T=120^\circ\text{C}$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  7,5% (v/v)  $T=80^\circ\text{C}$**



**Espectro infravermelho do bagaço *in natura* e pré-tratado  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,45% (v/v)  $T=105^\circ\text{C}$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  7,5% (v/v)  
 $T=80^\circ\text{C}$**

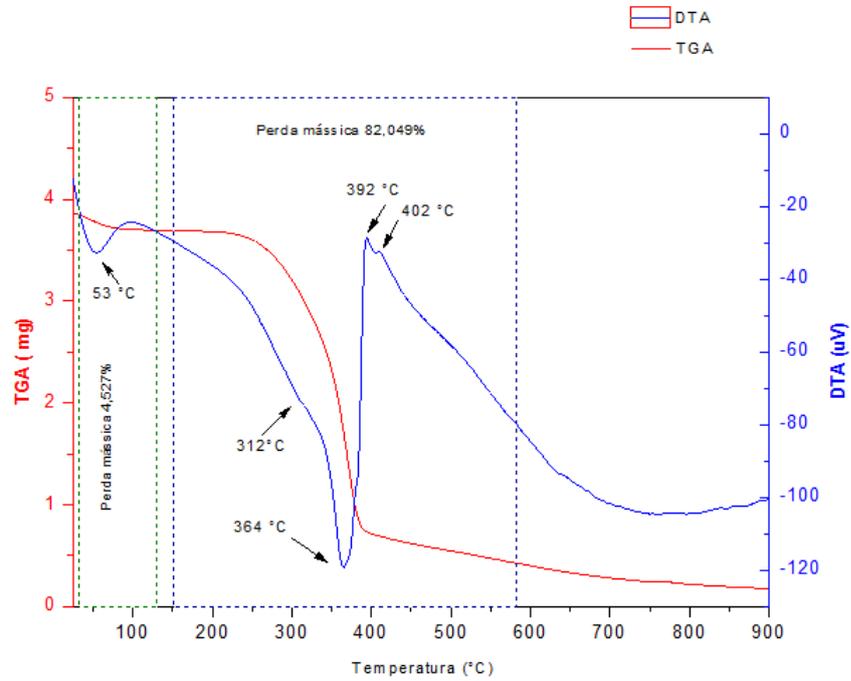


**Espectro infravermelho do bagaço *in natura* e pré-tratado  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,45% (v/v)  $T=120^\circ\text{C}$  +  
 $\text{H}_2\text{O}_2$  7,5% (v/v)  $T=80^\circ\text{C}$**

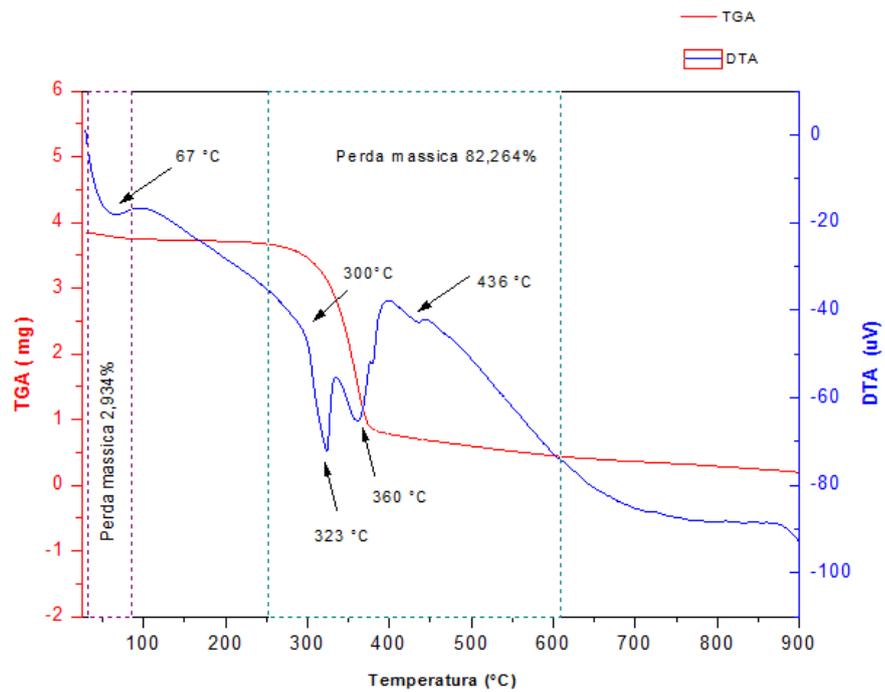


## APÊNDICE F Curvas TGA e DTA do BCA *in natura* e após pré-tratamento combinado

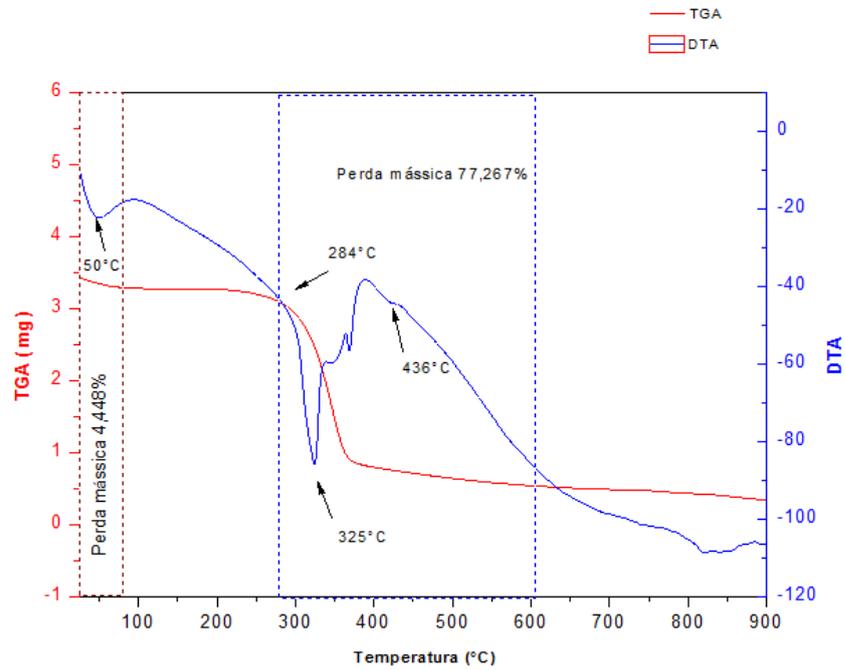
### Curvas TGA e DTA bagaço *in natura*



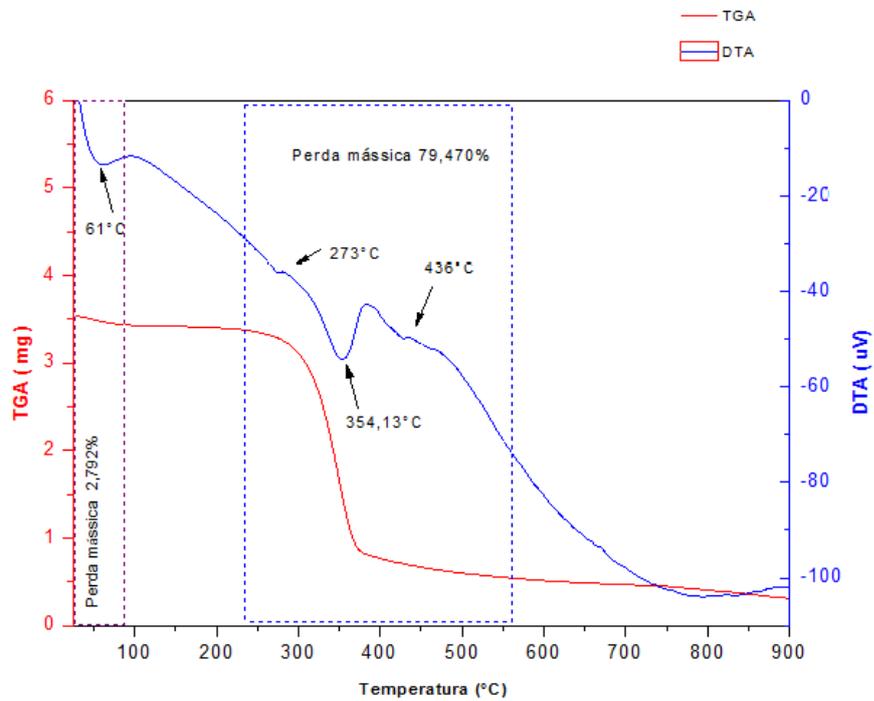
### Curvas TGA e DTA do bagaço pré-tratado $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0,75% (v/v) T=105 °C + $\text{H}_2\text{O}_2$ 7,5% (v/v) T=80 °C

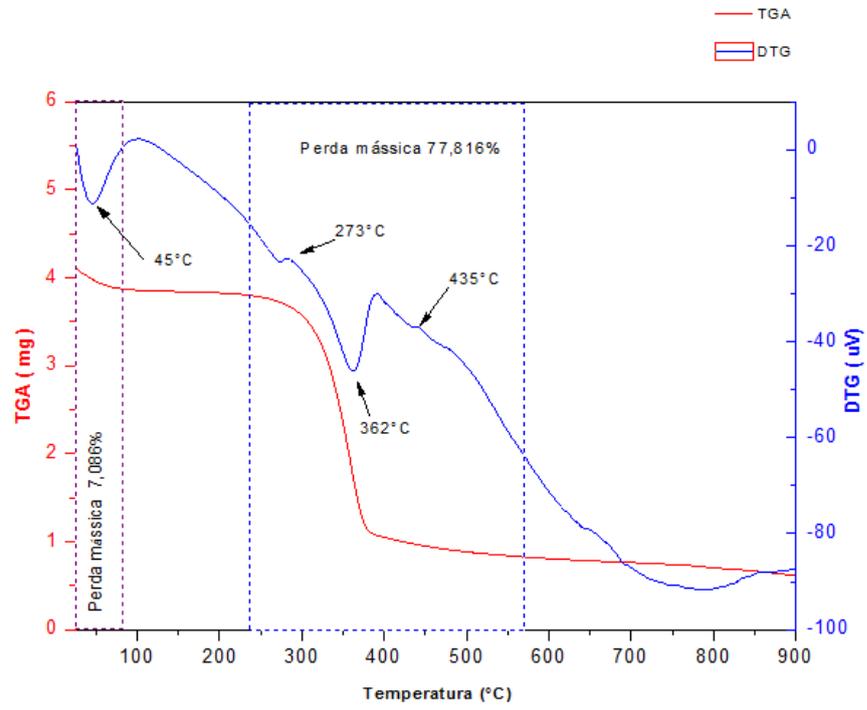


Curvas TGA e DTA do bagaço pré-tratado  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,75% (v/v) T= 120 °C +  $\text{H}_2\text{O}_2$  7,5% (v/v) T=80 °C



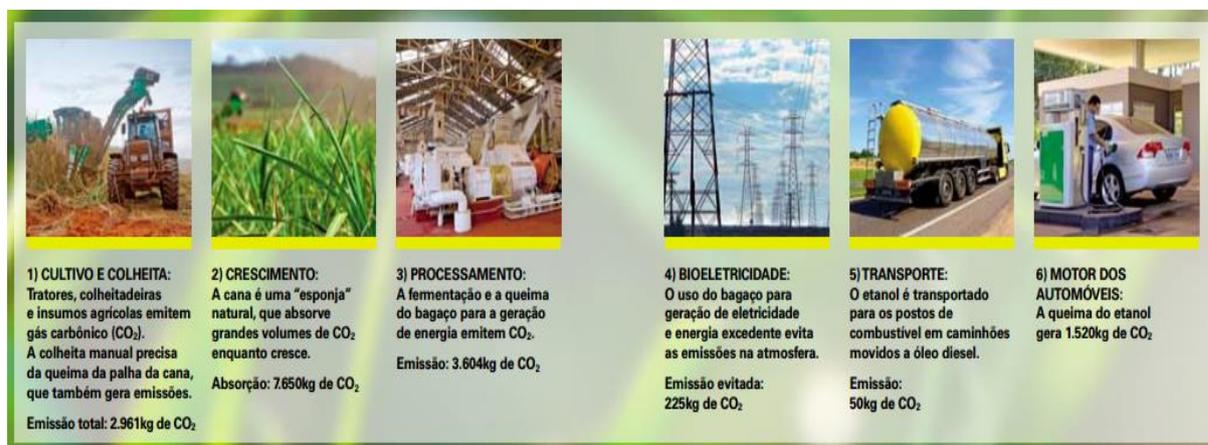
Curvas TGA e DTA do bagaço pré-tratado  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,45% (v/v) T= 105 °C +  $\text{H}_2\text{O}_2$  7,5% (v/v) T= 80 °C



**Curvas TGA e DTA do bagaço pré-tratado  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,45% (v/v)  $T=120^\circ\text{C}$  +  $\text{H}_2\text{O}_2$  7,5% (v/v)  $T=80^\circ\text{C}$** 

## ANEXO A - Ciclo completo da emissão de CO<sub>2</sub> pela cana de açúcar.

Figura 1. Ciclo de emissão de CO<sub>2</sub> pela cana de açúcar



Nota: Os valores das emissões de CO<sub>2</sub> são para cada mil litros de etanol produzido e consumido

No ciclo completo, a emissão de CO<sub>2</sub> pelo etanol é **89% menor** que a da gasolina

| <b>Balanco Final</b>                                     |                                     |
|--|-------------------------------------|
| <b>Fatores</b>   | <b>Massa de CO<sub>2</sub> (kg)</b> |
| Emissões geradas de CO <sub>2</sub>                      | 8.135                               |
| Emissões reabsorvidas + evitadas de CO <sub>2</sub>      | 7.875                               |
| Emissões geradas evitadas CO <sub>2</sub>                | 260                                 |
| Emissões com uso equivalente de gasolina CO <sub>2</sub> | 2.280                               |

Fonte: UNICA, 2010