



JANAÍNA ALVES CARVALHO

**EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO DO BAGAÇO
DE CANA NA HIDRÓLISE ÁCIDA PARA
OBTENÇÃO DE GLICOSE**

LAVRAS - MG

2015

JANAÍNA ALVES CARVALHO

**EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO DO BAGAÇO DE CANA NA
HIDRÓLISE ÁCIDA PARA OBTENÇÃO DE GLICOSE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Maria Lúcia Bianchi

LAVRAS - MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha
Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados
informados pelo (a) próprio(a) autor(a).**

Carvalho, Janaína Alves.

Efeito do pré-tratamento do bagaço de cana na hidrólise ácida para
obtenção de glicose / Janaína Alves Carvalho. – Lavras: UFLA, 2015.
59 p.

Dissertação (mestrado acadêmico) – Universidade Federal de
Lavras, 2015.

Orientadora: Maria Lúcia Bianchi.

Bibliografia.

1. Biomassa. 2. Pré-tratamentos. 3. Rendimento de Glicose. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

JANAÍNA ALVES CARVALHO

**EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO DO BAGAÇO DE CANA NA
HIDRÓLISE ÁCIDA PARA OBTENÇÃO DE GLICOSE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 25 de fevereiro de 2015.

Dr. Jonas Leal Neto UFLA

Dr. Paulo Ricardo Gherardi Hein UFLA

Dra. Maria Lúcia Bianchi
Orientadora

**LAVRAS - MG
2015**

A minha mãe, Oneide, pelo exemplo de vida; pelos ensinamentos diários sobre força, conquista, bondade e esperança; por me trazer paz nos momentos mais conturbados, mais difíceis e, acima de tudo, por sempre acreditar que sou capaz.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Após tantos empecilhos enfrentados em mais uma jornada de estudos, e a finalização desta sendo vencida com êxito, agradeço, primeiramente, a Deus, que ilumina os meus caminhos e me mostra sempre a melhor direção a seguir, com garra e segurança.

Agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho; aos familiares que torceram por mim e me compreenderam; às amigas Helen e Jordana, pela ajuda em todos os momentos; aos amigos de Japaraíba que me fortaleceram; aos amigos do laboratório que me auxiliaram nas pesquisas e me levantaram quando em dificuldades; a Sandra e a Dona Maria, pelo cuidado e carinho.

À professora orientadora Dr. Maria Lúcia Bianchi, pelo direcionamento, paciência e confiança, sendo exemplo para meus posteriores estudos.

À minha família; minha mãe, Oneide; meu pai, Paulo e meu irmão, João Paulo, presentes nos bons e maus momentos, carinhosos como sempre. Ao Paulo Márcio, pela força e dedicação recebida em todos estes anos de convivência.

À Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Química e ao CAPQ, pela oportunidade e estrutura, e à CAPES e ao CNPq, pelo essencial financiamento. Obrigada a todos!

RESUMO

Neste trabalho foi avaliado o efeito de pré-tratamentos da biomassa bagaço de cana-de-açúcar no rendimento de glicose após a hidrólise ácida. Este processo é uma das etapas da produção de etanol de segunda geração, que é conseguida em baixo rendimento, sendo, ainda, um impasse para a sua produção em larga escala. Foi testada a moagem em um moinho de bolas. O tratamento com ultrassom foi realizado em vários tempos, em soluções ácidas (HCl) e alcalinas (NaOH) e em diferentes concentrações. Peróxido de hidrogênio (3%, 5% e 7%) em meio alcalino (pH=11,5), em diferentes tempos e temperaturas de reação, foi utilizado. O tratamento Corona foi realizado com variação no tempo de exposição da biomassa à descarga elétrica do aparelho. O pré-tratamento combinado consistiu em moagem e ultrassom. Após os pré-tratamentos da biomassa, foram realizadas reações de hidrólise ácida e determinação dos açúcares redutores totais (ART). Foram realizadas análises de raios X, microscopia óptica e HPLC. Maiores valores de %ART e de glicose foram obtidos quando os tratamentos com peróxido de hidrogênio em meio alcalino e ultrassom em meio alcalino foram utilizados. As micrografias mostraram alterações nas paredes das fibras do bagaço em todos os tratamentos, tendo, para o material pré-tratado com peróxido, as modificações sido mais acentuadas. Houve um aumento da cristalinidade dos materiais tratados em relação ao bagaço não tratado em todos os tratamentos, indicando perda de material amorfo (hemiceluloses e lignina), favorecendo o processo. Dessa forma, os pré-tratamentos com peróxido de hidrogênio alcalino e ultrassom em meio também alcalino foram mais eficientes em relação ao rendimento de glicose obtido após a reação de hidrólise ácida.

Palavras-chave: Biomassa. Pré-tratamentos. Rendimento de Glicose.

ABSTRACT

In this study it was evaluated the effects of pretreatments of biomass in the bagasse of sugar cane in the glucose yield after acid hydrolysis. This process is one of the steps in the production of second generation of ethanol that is achieved in low-income, being also, an obstacle to production in large-scale. Grinding was tested in a ball mill. The treatment with ultrasound was performed in various times, in acid solutions (HCl) and alkaline (NaOH) and in different concentrations. Hydrogen peroxide (3,5 and 7%) in an alkaline medium (pH= 11,) at different reaction times and temperatures were used. The Corona treatment was performed with variation in exposure time of the biomass to electrical discharge of the apparatus. The combined pretreatment consisted of grinding and ultrasound. After the biomass pretreatments, acid hydrolysis reactions and determination of total reducing sugars were performed (ART). X-ray analysis, optical microscopy and HPLC were performed. %ART and glucose larger values were obtained when the treatment with hydrogen peroxide and ultrasound in alkaline medium were used. The micrographs showed changes in the walls of the bagasse fibers in all treatments, wherein the material pre-treated with peroxide, the modifications, were more accentuated. There was an increase in the crystallinity of the materials treated compared to untreated bagasse in all treatments, indicating loss of amorphous material (hemicellulose and lignin), favoring the process. Thus, pre-treatment with alkaline hydrogen peroxide and ultrasound in alkaline medium were more efficient in relation to the glucose yield obtained after the acid hydrolysis reaction.

Keywords: Biomass. Pretreatment. Glucose yield.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura da fração celulósica de materiais lignocelulósicos.....	15
Figura 2	Ligações de hidrogênio inter e intramoleculares	15
Figura 3	Estrutura de monossacarídeos que formam as hemiceluloses	17
Figura 4	Precusores primários na formação da lignina.....	18
Figura 5	Composição média do bagaço de cana-de-açúcar.....	19
Figura 6	Moinho de bolas com jarros e bolas de cerâmica	29
Figura 7	Equipamento de tratamento Corona (a), caixa de alumínio contendo a amostra (b).....	30
Figura 8	Sistema da reação de hidrólise.....	32
Figura 9	Curva padrão de glicose	34
Figura 10	%ART dos produtos das reações de hidrólise de pré-tratados com moagem	40
Figura 11	% ART das hidrólises do bagaço pré-tratado com ultrassom	40
Figura 12	% ART dos produtos das reações de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com equipamento Corona	42
Figura 13	%ART dos produtos das reações de hidrólise pré-tratados com H ₂ O ₂ alcalino, pH 11,5, em diferentes temperaturas.....	44
Figura 14	% ART dos produtos das reações de hidrólise do bagaço com pré-tratamento combinado (moagem – 40 mesh; ultrassom).....	46
Figura 15	Difratograma de raios x do bagaço de cana-de-açúcar sem pré-tratamento.....	47
Figura 16	Micrografia do bagaço de cana-de-açúcar não tratado.....	51
Figura 17	Micrografia do bagaço pré-tratamento de moagem e ultrassom.....	51
Figura 18	Micrografia do bagaço de cana-de-açúcar com pré-tratamento corona.....	51
Figura 19	Micrografia do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com peróxido em meio alcalino	51
Figura 20	Quantidade de glicose analisada por HPLC	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição média de biomassas lignocelulósicas	14
Tabela 2	Exemplos de pré-tratamentos mais utilizados.....	25
Tabela 3	Planejamento completo do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino	31
Tabela 4	Pré-tratamentos escolhidos para a realização das análises de difratometria, microscopia óptica e HPLC	35
Tabela 5	%ART dos produtos das reações de hidrólise.....	38
Tabela 6	%ART dos produtos das reações de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com peróxido de hidrogênio em meio alcalino (NaOH até pH=11,5)	43
Tabela 7	Índice de Cristalinidade I_c e porcentagem de açúcares redutores totais (% ART) do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratados.....	48
Tabela 8	Biometria das fibras do bagaço de cana submetidas a diferentes pré-tratamentos.....	49

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Material lignocelulósico	14
2.2	Resíduo agroindustrial – bagaço da cana-de-açúcar	18
2.3	Reação de hidrólise de celulose.....	19
2.4	Etanol de 2ª geração.....	21
2.5	Pré-tratamentos de biomassa	23
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1	Material.....	28
3.2	Pré-tratamentos do bagaço de cana-de-açúcar	28
3.2.1	Moagem.....	28
3.2.2	Ultrassom em meio ácido e alcalino	29
3.2.3	Tratamento corona	29
3.2.4	Peróxido de hidrogênio alcalino	30
3.2.5	Moagem e ultrassom (meio ácido e alcalino).....	31
3.3	Avaliação dos materiais pré-tratados.....	31
3.3.1	Hidrólise ácida	32
3.3.2	Determinação de açúcares redutores totais (ART)	33
3.3.3	Difratometria de raios X (DRX).....	35
3.3.4	Microscopia óptica.....	36
3.3.5	Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).....	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1	Reações de hidrólise ácida do bagaço de cana-de-açúcar e quantificação dos açúcares redutores totais (% ART)	38
4.1.1	Reações de hidrólise ácida com amostras sem pré-tratamento	38
4.1.2	Reações de hidrólise ácida do bagaço de cana-de-açúcar em diferentes granulometrias.....	39
4.1.3	Reações de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com ultrassom em meio ácido e alcalino	40
4.1.4	Reações de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com equipamento corona.....	42
4.1.5	Reações de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com peróxido de hidrogênio em meio alcalino	42
4.1.6	Reações de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com moagem (40 mesh) e ultrassom em meio ácido e alcalino (combinados).....	45
4.2	Difratometria de raios X (DRX).....	46
4.3	Microscopia óptica.....	48
4.4	Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).....	52

5	CONCLUSÕES.....	53
	REFERÊNCIAS.....	54

1 INTRODUÇÃO

Preocupações ambientais e a futura limitação das reservas de combustíveis fósseis têm chamado a atenção de todos na atualidade. A falta de petróleo acarretará aumento dos preços, crise do mercado energético, além de alterações climáticas ocasionadas pela queima destes combustíveis. Com isso, surge a necessidade de pesquisas que busquem fontes renováveis de energia e tecnologias de produção de biocombustíveis que sejam mais sustentáveis, objetivando solucionar ou, pelo menos, diminuir os vários problemas relacionados ao uso de combustíveis fósseis.

O etanol de primeira e segunda geração e o biodiesel são exemplos de biocombustíveis, sendo o etanol de primeira geração obtido, principalmente, a partir de alimentos como cana-de-açúcar, milho e beterraba e já é um processo estabelecido. Já na produção do etanol de segunda geração utiliza-se matéria-prima não alimentícia, como os resíduos agroindustriais (bagaço e palha de cana-de-açúcar, resíduos da colheita do café e outros materiais lignocelulósicos). Porém, a produção de etanol de segunda geração ainda é um desafio que instiga vários pesquisadores.

A hidrólise da fração celulósica da biomassa vegetal (dos resíduos, por exemplo) gera a glicose que, posteriormente, é fermentada para a obtenção do etanol de segunda geração. Um dos desafios desse processo é fazer a hidrólise da celulose com boa conversão de açúcares e bons rendimentos de glicose, utilizando métodos eficazes, “limpos” e viáveis economicamente. A estrutura cristalina da celulose dificulta a reação de hidrólise, que é conseguida em baixos rendimentos. Além disso, partes amorfas da biomassa, como hemiceluloses e, principalmente, a lignina, interferem de forma negativa na disponibilidade da celulose em reagir. Dessa forma, o acesso do agente de hidrólise às ligações glicosídicas a serem quebradas se torna mais complexo. Logo, torna-se

necessária uma etapa de pré-tratamento que possibilite a quebra da estrutura cristalina da celulose e a remoção de parte da lignina, expondo as moléculas de celulose e hemiceluloses à reação de hidrólise para a obtenção dos monossacarídeos.

Neste contexto, o presente trabalho foi realizado com o objetivo avaliar o efeito de diferentes pré-tratamentos (moagem, ultrassom, peróxido de hidrogênio alcalino, tratamento corona e combinados) de bagaço de cana-de-açúcar, para a obtenção de glicose a partir da reação de hidrólise ácida.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Material lignocelulósico

Biomassa é todo recurso renovável oriundo de matéria orgânica (de origem animal ou vegetal) que pode ser utilizada na produção de energia (AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA - ANEEL, 2013). A biomassa vegetal é constituída por materiais lignocelulósicos que são compostos, basicamente, por celulose, lignina e hemiceluloses e, em menor proporção, por componentes de baixa massa molar, classificados como compostos orgânicos ou extrativos (terpenos, ceras, flavonoides, ácidos graxos, gorduras, hidrocarbonetos e esteroides) e constituintes inorgânicos ou substâncias minerais (sulfatos, fosfatos, oxalatos, carbonatos e silicatos de cálcio, de potássio, de magnésio, entre outros). A percentagem de todos estes componentes na biomassa sofre influência de uma série de fatores, tais como espécie, idade, origem, parte da planta da qual são extraídos, tipo de solo e temperatura, dentre outros (ALMEIDA, 1988; FENGEL; WENEGER, 1989).

Na Tabela 1 apresenta-se a composição química média de biomassas lignocelulósicas com potencial para a produção de etanol de segunda geração.

Tabela 1 Composição média de biomassas lignocelulósicas

Biomassa lignocelósica	% celulose	% hemicelulose	% lignina
Palha de trigo	30	50	15
Bagaço de cana	33-48	19-24	23-32
Palha de cana	40-44	30-32	22-25
Talo de milho	35	25	35
Ferragem de milho	38-40	28	7-21
Fibra de coco	36-43	0,15-0,25	41-45

Fonte: Santos et al. (2012)

A celulose é um polímero linear com ligações glicosídicas β -1,4 entre unidades D glicopirranose. Em geral, cadeias de celulose em parede celular primária de plantas têm graus de polimerização (DP) na faixa de 5.000 a 7.500; o DP de celulose de madeira é em torno 10.000, e a de celulose de algodão, 15.000. As ligações glicosídicas β -1,4 dão à cadeia de celulose uma conformação linear em espiral, de forma a conferir força e flexibilidade às fibras (Figura 1).

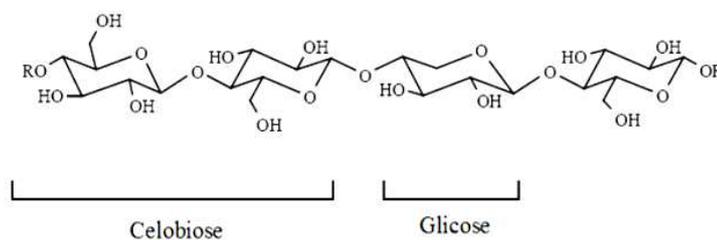


Figura 1 Estrutura da fração celulósica de materiais lignocelulósicos
Fonte: Silva (2010)

Possui característica fibrosa, responsável por dar rigidez e firmeza às plantas. Suas fortes ligações de hidrogênio (Figura 2) conferem rigidez à molécula, que é refletida nos altos valores de viscosidade e cristalinidade (GAMA, 1996).

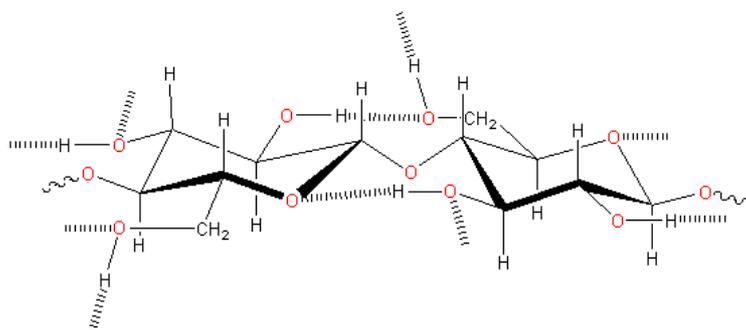


Figura 2 Ligações de hidrogênio inter e intramoleculares

Em biomassas, a celulose é encontrada em ambas as formas, cristalina e amorfa, mas a maior proporção de celulose está relacionada com a sua forma cristalina. A fração cristalina da celulose tem sido considerada como um fator importante nas taxas de rendimento de hidrólise de substratos de celulose (KARIMI et al., 2014).

Quando maior a cristalinidade e a viscosidade da celulose, mais resistente ela é a ataques de ácidos ou enzimas, portanto, mais resistente às reações de hidrólise. Além disso, é insolúvel em solventes orgânicos, água, ácidos e álcalis diluídos, à temperatura ambiente (SILVA, 2010).

A celulose tem potencial para se tornar uma alternativa promissora para a produção sustentável de produtos químicos e biocombustíveis, reduzindo, assim, as emissões de CO₂, que dizem respeito ao aquecimento global (TIAN et al., 2010).

Muito importante industrialmente, tem-se a polpa celulósica. As fibras utilizadas industrialmente na produção da polpa provêm, principalmente, da madeira. Ela é constituída, basicamente, de celulose (~50%), lignina (15 a 35%), polioses (~20%) e constituintes menores (até 10% e que incluem compostos orgânicos e inorgânicos) (RODRIGUEZ-CHONG et al., 2004). O processo para a obtenção de polpa de celulose é utilizado, principalmente, para a fabricação de papel e papelão.

As hemiceluloses atuam como um elo químico entre a celulose e a lignina, apresentando natureza heteropolissacarídica ramificada, formada, principalmente, por blocos de construção de pentoses (xilose, raminose e arabinose), hexoses (glicose, manose e galactose), ácidos urônicos (ácidos 4-O-metilglucurônico e galacturônico) e radicais acetila (SZENGYEL et al., 2000) (Figura 3). São, geralmente, classificadas de acordo com o resíduo de açúcar principal no esqueleto, como, por exemplo, xilanas, mananas e glucanas. Dependendo da espécie da planta, do estágio de desenvolvimento e do tipo de

tecidos, várias subclasses de hemiceluloses podem ser encontradas, incluindo glucuronoxilanas, arabinoxilanas, mananas lineares, glicomananas, galactomananas, galactoglicomananas, β -glucanas e xiloglucanas.

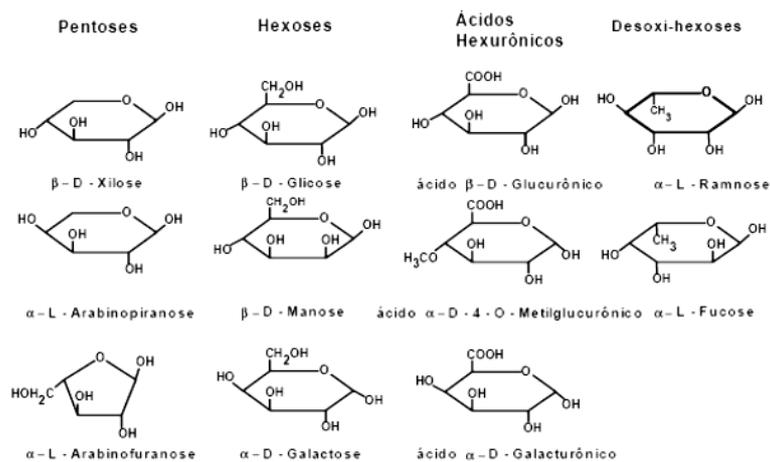


Figura 3 Estrutura de monossacarídeos que formam as hemiceluloses
Fonte: Fengel e Wegener (1989)

A lignina nativa é um polímero derivado de unidades do álcool coniferílico (coníferas) ou mistura de álcool coniferílico e sinapílico (folhosas). O modo de polimerização dessas unidades (Figura 4), dentro da parede celular, forma um polímero com ramificação heterogênea em que as unidades de fenilpropano são ligadas por meio de ligações carbono-carbono e carbono-oxigênio (GELLERSTEDT, 1996).

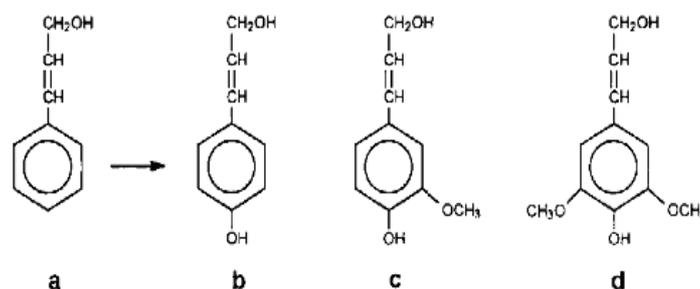


Figura 4 Precusores primários na formação da lignina
Fonte: Fengel e Wegener (1989)

2.2 Resíduo agroindustrial – bagaço da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) foi introduzida no Brasil pelos portugueses, no início do século XVI, em dois estados, Pernambuco e São Paulo. Não houve muitas mudanças até o início da década de 1970, quando foi criado o Programa Brasileiro do Alcool, o Proálcool, que provocou um grande aumento da área cultivada com cana no Brasil (MENDES, 2011).

O Brasil não é apenas o maior produtor de cana. É também o primeiro do mundo na produção de açúcar e etanol da cana-de-açúcar e conquista, cada vez mais, o mercado externo, com o uso do biocombustível como alternativa energética (BRASIL, 2013). Dessa forma, são geradas milhares de toneladas de resíduos lignocelulósicos de bagaço de cana, gerados após a moagem e, nesse processo, a fibra é separada do caldo. Depois da extração do caldo, o bagaço de cana é constituído de 46% de fibras, 50% de água e 4% de sólidos dissolvidos. O bagaço de cana pode ser reaproveitado como combustível, gerando energia, como adubo, como ração e, mais recentemente, tem sido aplicado em painéis e compósitos (FIORELLI et al., 2011; MENDES et al., 2010; SANCHEZ et al., 2010). Contudo, a produção de etanol de segunda geração a partir desse resíduo tem se mostrado um mercado com grande potencial.

A composição química do bagaço varia de acordo com diversos fatores, como o tipo de cana e de solo e as técnicas de colheita. A fibra do bagaço é constituída de celulose (26,6% a 54,3%), hemicelulose (14,3% a 24,4%) e lignina (22,7% a 29,7%) (MENDES, 2011). Na Figura 4 se observa a representação da composição química média dos componentes citados, encontrados no bagaço de cana-de-açúcar.

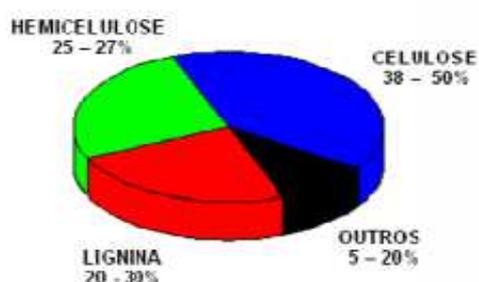


Figura 5 Composição média do bagaço de cana-de-açúcar
Fonte: Pitarelo (2007)

2.3 Reação de hidrólise de celulose

Com o passar dos anos, vários métodos foram propostos para a hidrólise de material celulósico. Em comum a todos tem-se a necessidade de um pré-tratamento para a disponibilização do material lignocelulósico. Duas rotas são frequentemente empregadas. A primeira é o uso de hidrólise ácida, utilizando ácido diluído ou concentrado e a segunda é a hidrólise enzimática do material pré-tratado. Em ambos os casos, há vários modos de operação; a escolha deve ser baseada em várias considerações, como, por exemplo, qual o produto bruto que será utilizado, o organismo empregado para a fermentação dos açúcares liberados, além da economia.

Embora os ácidos concentrados sejam fortes agentes na hidrólise da celulose, eles são tóxicos, corrosivos e requerem reatores que sejam resistentes a essa corrosão. É necessário também recuperar esse ácido no fim do processo para que essa hidrólise seja economicamente viável. Normalmente, quando se utilizam esses ácidos, a fração de hemicelulose hidrolisa-se mais rapidamente que a fração de celulose, e são expostos no meio reacional, por muito tempo, os monossacarídeos liberados da hemicelulose, o que leva à degradação e à perda desses açúcares. No uso de ácido diluído, devido às altas temperaturas empregadas, uma quantidade considerável de açúcares e lignina solúvel é degradada, levando a uma inibição durante o processo de fermentação (SUN; CHENG, 2002).

Na hidrólise enzimática, a celulose é quebrada através das enzimas celulasas e não há a formação de subprodutos devido à especificidade das enzimas, resultando em alto rendimento de açúcares fermentescíveis. Entretanto, são necessárias altas concentrações de enzima para atingir uma alta conversão da celulose, aumentando o custo de produção, dentre outros fatores (EKLUND; GALBE; ZACCHI, 1990).

A produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica compreende as seguintes etapas principais: hidrólise da celulose e da hemicelulose, fermentação de açúcar, separação dos resíduos de lignina e, finalmente, a recuperação e a purificação do etanol para atender às especificações do combustível. A tarefa hidrólise de lignocelulose para a fermentação de monossacáridos é, ainda, tecnicamente problemática, porque a digestibilidade da celulose é impedida por muitos fatores físico-químicos, estruturais e composicionais. Devido a estas características estruturais, tratamento prévio é um passo essencial para a obtenção potencialmente de açúcares fermentáveis na fase de hidrólise (MOSIER et al., 2005).

2.4 Etanol de segunda geração

Qualquer que seja a sua origem, biomassa ou processos petroquímicos e carboquímicos, o etanol é um combustível, ou seja, libera significativas quantidades de calor ao se queimar. Contudo, apresenta algumas diferenças importantes em relação aos combustíveis convencionais derivados de petróleo. A principal delas é o elevado teor de oxigênio, que constitui 35% em massa do etanol. As características do etanol possibilitam a combustão mais limpa e o melhor desempenho dos motores, contribuindo para a redução das emissões poluidoras. Além disso, comporta-se como um verdadeiro aditivo para a gasolina (GOLDEMBERG; COELHO; GUARDABASS, 2008).

Devido à crescente consciência dos problemas ambientais relacionados com a queima de combustíveis fósseis, existe uma necessidade para a identificação de novas fontes de energia e novas tecnologias para expandir a produção de biocombustíveis. Uma alternativa para aumentar a produção de etanol é proporcionar a utilização total da cana-de-açúcar (incluindo palha e bagaço) por despolimerização, por meio de hidrólise, das frações de celulose e hemicelulose, em açúcares fermentáveis, que podem ser fermentados para etanol (PEREIRA et al., 2012).

O etanol de primeira geração obtido a partir de cana-de-açúcar vem sendo produzido em larga escala, por mais de 30 anos, no Brasil (SOCCOL et al., 2010), seguindo o programa nacional Próálcool, criado pelo governo como uma resposta à crise do petróleo (KOSTIN et al., 2012). Na produção de etanol no Brasil, decidiu-se por utilizar a cana-de-açúcar como matéria-prima, pelo fato de ela ser abundante em terras brasileiras e devido à baixa no preço do açúcar, na época (BRASIL, 2008). O etanol de segunda geração é obtido a partir da biomassa lignocelulósica, em que, ao realizar um processo ou tratamento na biomassa, é possível disponibilizar açúcares que, ao serem fermentados e

destilados, fornecem esse etanol (SILVA, 2010). Ele apresenta vantagens em relação ao etanol de primeira geração convencional, tais como nenhuma competição com a produção de alimentos, abundância e baixo preço da matéria-prima (CU CEK et al., 2011). Assim, o aumento da produção de etanol a partir de matéria-prima lignocelulósica é de fundamental importância para estabelecer um futuro de energia sustentável (NIGAM; SINGH, 2011).

Atualmente, o bagaço de cana-de-açúcar, por meio da queima nas caldeiras da usina, é utilizado para a cogeração de energia elétrica. No faturamento total da atividade sucroalcooleira, esse processo de bioeletricidade tem participação significativa na rentabilidade, considerando o bagaço um resíduo de baixo valor comercial.

Devido a este cenário, faz-se necessário, além de desenvolver uma tecnologia eficaz para a fabricação do etanol celulósico em grande escala, fazer com que essa tecnologia possa competir com a queima do bagaço (BOSCO, 2009). A própria usina tomaria a decisão por produzir etanol celulósico ou bioeletricidade do resíduo bagaço de cana-de-açúcar, gerado na produção de açúcar e etanol de primeira geração. Decisão esta que seria tomada baseando-se na estrutura da usina no momento ou no mercado, a partir do momento em que a tecnologia estivesse disponível em escala comercial.

As pesquisas em biocombustíveis de segunda geração começam a produzir efeitos positivos, atendendo às especificidades e às potencialidades locais e, de forma gradativa, tornam realidade os avanços esperados das novas tecnologias após árduas pesquisas.

Investimentos em novas tecnologias, rotas, processos, estudos e a implantação de novas usinas mostram que o etanol de segunda geração está realmente próximo de ser produzido em larga escala e se consolidar como rota viável, tornando-se competitivo em alguns anos, podendo deixar de ser uma

perspectiva em longo prazo e se tornar uma tecnologia disponível a preço competitivo (BARBOSA, 2013).

2.5 Pré-tratamentos de biomassa

A biomassa lignocelulósica, matriz de lignina e hemicelulose em torno das fibras de celulose, apresenta baixo volume de poros nas paredes das células, bem como elevada cristalinidade das fibrilas celulósicas, limitando a taxa de extensão da reação de hidrólise de celulose (CHANG; HOLTZAPPLE, 2000).

A lignina restringe a hidrólise, pois esconde a superfície celulósica, impedindo a disponibilidade das fibras. Logo, torna-se necessário o processo chamado pré-tratamento, para romper a cristalinidade das fibras lignocelulósicas e remover lignina e hemicelulose, expondo as moléculas de celulose (GALBE; ZACCHI, 2007), deixando os componentes da biomassa susceptíveis à conversão a biocombustível com um melhor rendimento.

O pré-tratamento da biomassa lignocelulósica consiste em uma das etapas operacionais mais relevantes, em termos de custos, tanto energéticos quanto financeiros, além de influenciar consideravelmente os custos das etapas anteriores e subsequentes do processo. Basicamente, relaciona-se às operações de preparação de matéria-prima, bem como à hidrólise da celulose, geração de produtos inibidores à hidrólise enzimática e fermentação alcoólica, concentrações sacarídicas dos hidrolisados produzidos, purificação de produtos intermediários, tratamento de resíduos, agitação mecânica e geração de energia (LEE et al., 1994; LYND; ELANDER; WYMAN, 1996; MOSIER; HENDRICKSON; DRESCHER, 2003; MOSIER; HENDRICKSON; WELCH, 2003).

Vários métodos de pré-tratamentos têm sido propostos e desenvolvidos, cada um com suas vantagens e desvantagens. Esses métodos podem ser

classificados de diferentes formas: pré-tratamentos físicos, químicos, biológicos ou uma combinação destes, no intuito de reduzir a recalcitrância da biomassa lignocelulósica (SARKAR et al., 2011).

De modo geral, o pré-tratamento deve ser muito eficiente, em termos de alto rendimento, seletividade, funcionalidade (garantindo acessibilidade da celulose aos agentes hidrolíticos), simplicidade operacional, segurança, higiene industrial e atributos ambientais, enquanto consiste em reduzido consumo de insumos químicos, energia e utilidades (BAUDEL, 2006). É visto como uma das etapas mais caras do processo de conversão da biomassa em açúcares fermentescíveis e, por isso, apresenta um grande potencial para melhorar a eficiência e baixar o custo no processo de pesquisa e desenvolvimento (LEE et al., 1994; LYND; ELANDER; WYMAN, 1996; MOSIER; HENDRICKSON; DRESCHER, 2003; MOSIER; HENDRICKSON; WELCH, 2003). Os principais objetivos do pré-tratamento são: reduzir o grau de cristalinidade da celulose, dissociar o complexo lignina-celulose, aumentar a área superficial da biomassa, preservar as pentoses maximizando os rendimentos em açúcares e evitar ou minimizar a formação de compostos inibidores do processo, tanto na etapa de hidrólise quanto na etapa de fermentação (HSU, 1996).

São encontrados diversos tipos de pré-tratamentos citados na literatura, com função de separação, aproveitamento e maior taxa de rendimento de reações feitas com materiais lignocelulósicos (Tabela 2).

Dos vários processos descritos, os mais comuns são baseados no emprego de álcali, explosão a vapor, água quente, fluido supercrítico, amônia líquida e hidróxido de sódio (CUNHA; SILVA, 2001; GÁMEZ et al., 2006; LASER et al., 2002).

Busca-se uma perfeita integração energética do processo, com aproveitamento de todos os resíduos, como a hemicelulose e a lignina, além de

uma grande quantidade de águas residuais geradas pelo processo (RABELO, 2010).

Tabela 2 Exemplos de pré-tratamentos mais utilizados

Processo	Descrição
Físico	
Explosão a vapor	A biomassa triturada é tratada com vapor (saturado, 160 a 260 C) seguida de uma rápida descompressão.
Termohidrólise	Utiliza água quente e alta pressão (pressões acima do ponto de saturação) para hidrolisar a hemicelulose
Químicos	
Hidrólise ácida	Por meio do uso de ácidos sulfúrico, clorídrico ou nítrico, concentrados ou diluídos
Hidrólise alcalina	Pelo uso de bases como hidróxido de sódio ou cálcio
Organosolv	Uma mistura de um solvente orgânico (metanol, bioetanol e acetona, por exemplo) com um catalisador ácido (H_2SO_4 , HCl) é usada para quebrar as ligações internas da lignina e da hemicelulose
Biológicos	Utilização de fungos para solubilizar a lignina. Geralmente é utilizado em combinação com outros processos.
Combinados	
Explosão de vapor catalisada	Adição de H_2SO_4 (ou SO_4) ou CO_2 na explosão de vapor pode aumentar a eficiência da hidrólise enzimática, diminuir a produção de compostos inibidores e promover uma remoção mais completa da hemicelulose
Afex (ammonia fibre explosion)	Exposição à amônia líquida a alta temperatura e pressão por um certo período de tempo, seguida de uma rápida descompressão
Explosão de CO_2	Similar à explosão de vapor

Fonte: Hamelink et al. (2005 apud RABELO, 2010)

Sobre o pré-tratamento de moagem, ele pode ser produzido por uma combinação de lascas, trituração ou moer o material, dependendo do tamanho final das partículas (SUN; CHENG, 2002). Diferentes processos de moagem podem ser utilizados, como moinho de bolas, moagem de dois rolos, trituração martelo,

moagem colóide e moagem vibratória de energia (TAHERZADEH; KARIMI, 2008). Neste processo ocorre a diminuição do tamanho das partículas do material sólido, tendo em vista o aumento da superfície específica, buscando melhorar a velocidade de reação de determinada matéria-prima e permitindo a obtenção deste com características ideais de utilização ou tamanhos específicos (RIBEIRO; ABRANTES, 2001).

Um dos pré-tratamentos químicos utilizados é o ultrassom. Apesar de uma menor pesquisa em torno dele, alguns investigadores demonstraram que a sacarificação de celulose é aumentada, pois promove intensa vibração das moléculas, gerando calor e causando alterações estruturais das fibras celulósicas. Pode aumentar a capacidade de retenção de água do substrato, contribuindo, assim, para um maior desenvolvimento da capilaridade, deixando a fibra mais disponível ao ataque enzimático, por exemplo. O processo é complexo e influenciado por variáveis, como temperatura, tempo, intensidade, frequência do ultrassom e superfície do substrato. Em alguns casos pode alterar o grau de cristalinidade, de polimerização, aumentar a fração solúvel da fibrila de celulose e também ajudar a reduzir o tamanho das partículas (LEE; LEWIS; ASHMAN, 2012).

Outro pré-tratamento que vem sendo bastante explorado é o método de oxidação por peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é um dos oxidantes mais versáteis que existe. Além de possuir um alto poder oxidante na sua forma natural, ele pode ser convertido em radical hidroxila ($\bullet OH$) por meio de catálise, obtendo um potencial de oxidação ainda maior. Além disso, o peróxido de hidrogênio não gera resíduos na biomassa, além de, praticamente, não formar produtos secundários (RABELO; MACIEL FILHO; COSTA, 2008)

e, com isso não interfere na etapa posterior de hidrólise e fermentação (REYES; PERALTA-ZAMORA; DURÁN, 1998).

O equipamento de tratamento Corona para superfícies tridimensionais utiliza descarga elétrica para aumentar a umectabilidade da superfície de produtos, tais como tubos extrudados, perfis, cabos e fios, copos, potes, vasilhames, madeira e peças injetadas. Este processo elimina a ineficiência e o perigo das técnicas de tratamento por chama aberta e também proporciona um melhor resultado de aderência na superfície de produtos sólidos tratados (CORONA BRASIL, 2015).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

As matérias-primas utilizadas neste estudo foram celulose (micro cristalina), polpa celulósica e bagaço de cana-de-açúcar.

A celulose microcristalina (CMC) foi obtida comercialmente pela empresa Synth. A polpa celulósica (PC) foi doada por uma indústria de papel e celulose, na forma de cartão, que passou por processo de moagem (moinho de facas, tipo Micro Wyllie), para ser utilizada como fibra em algumas análises. O bagaço de cana-de-açúcar (BC) foi doado pela Usina Biosev, situada no município de Lagoa da Prata, Minas Gerais, Brasil.

Os reagentes, hidróxido de sódio e ácido clorídrico PA, utilizados nos pré-tratamentos e hidrólise, eram da marca Vetec Química Fina.

Na determinação dos açúcares redutores foram utilizados os reagentes DNS (ácido 3,5 dinitro-salicílico), tartarato duplo de sódio e potássio, fenol, metabissulfito de sódio marca Synth e hidróxido de sódio marca Vetec Química Fina.

Os reagentes utilizados no pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino foram soluções concentradas de hidróxido de sódio e soluções de peróxido de hidrogênio PA 29 % (Synth), em diferentes concentrações.

3.2 Pré-tratamentos do bagaço de cana-de-açúcar

3.2.1 Moagem

O bagaço de cana-de-açúcar foi colocado em moinho de bolas (Figura 6), moinho para jarros marca Marconi, por tempo necessário para a obtenção de

quantidade suficiente de material. Após a moagem foram utilizadas peneiras de 200, 100, 60 e 40 mesh, para a classificação do conteúdo por granulometria.



Figura 6 Moinho de bolas com jarros e bolas de cerâmica

3.2.2 Ultrassom em meio ácido e alcalino

Aproximadamente 5 g de bagaço de cana-de-açúcar e 50 mL de solução de HCl 0,002% (ou HCl 2% ou NaOH 0,005% ou NaOH 5%) foram acondicionados em erlenmeyer de 250 mL. O erlenmeyer permaneceu em imersão em banho termostatzado, em tempos de 15, 30 e 60 minutos.

O experimento foi conduzido, em temperatura ambiente, em um aparelho de ultrassom com processador ECEL (Alpha 3L e Alpha 3L PLUS) 50/60 Hz.

3.2.3 Tratamento corona

As fibras de bagaço de cana-de-açúcar foram submetidas a uma descarga elétrica produzida pelo equipamento Corona. As amostras foram colocadas em uma caixa feita de alumínio (Figura 7).

O experimento foi conduzido em um equipamento de tratamento Corona para superfícies tri-dimensionais, Plama Tech – Corona Brasil, Modelo PT-1, potência 0,5 KW, 220 Volts e frequência de 60 Hz. Foram pesados 6,0 g

de cada amostra e a altura de exposição foi fixada a 3,5 cm, fazendo-se variação apenas do tempo de exposição de 2, 6 e 10 minutos.



Figura 7 Equipamento de tratamento Corona (a), caixa de alumínio contendo a amostra (b)

3.2.4 Peróxido de hidrogênio alcalino

O pré-tratamento foi realizado em béqueres de 600 mL contendo 3,0 g de amostra (bagaço de cana-de-açúcar) e 100 mL de solução de peróxido de hidrogênio, em diferentes concentrações (Tabela 3).

A solução foi alcalinizada com adição de NaOH, até atingir o pH de 11,5 e a agitação foi fixada em 150 rpm.

As reações foram conduzidas à temperatura de 25 °C e realizadas em uma mesa agitadora orbital marca Certomat MO II, B. Braun Biotech International. Os béqueres foram fechados com papel filme.

Para a realização dos pré-tratamentos que envolviam as temperaturas mais elevadas foi utilizada uma incubadora Shaker ACB LABOR, para atingir os parâmetros estabelecidos no planejamento e os béqueres foram envolvidos em papel alumínio, devido à temperatura utilizada no sistema.

A concentração do peróxido de hidrogênio (% v/v em relação ao volume de solução), a temperatura e o tempo do experimento foram estabelecidos de acordo com o planejamento experimental 2^3 ; planejamento completo, com

triplicata no ponto central, utilizando o software Chemoface (versão 1.4), como mostrado na Tabela 3.

Tabela 3 Planejamento completo do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino

Limites	Variáveis		
	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Concentração (%v/v)
Limite inferior (-)	40	25	3
Ponto central (0)	80	45	5
Limite superior (+)	120	65	7
Experimento	Valores assumidos pelas variáveis do sistema		
A	Bagaço sem pré-tratamento		
B	-	-	-
C	+	-	-
D	-	+	-
E	+	+	-
F	0	0	0
G	0	0	0
H	0	0	0
I	-	-	+
J	+	-	+
K	-	+	+
L	+	+	+

3.2.5 Moagem e ultrassom (meio ácido e alcalino)

O pré-tratamento de moagem e ultrassom foi feito da mesma maneira descrita nos itens 3.2.1 e 3.2.2. Foram utilizadas amostras de bagaço de cana-de-açúcar com granulometria de 40 mesh, obtidas na moagem e com este material foram feitos os pré-tratamentos de ultrassom em meio ácido e alcalino, nos tempo de 15, 30 e 60 minutos.

3.3 Avaliação dos materiais pré-tratados

Após a realização dos pré-tratamentos, os materiais obtidos foram utilizados em reações de hidrólise ácida para a obtenção dos monossacarídeos.

Os produtos das reações (o hidrolisado) foram avaliados em relação aos teores de açúcares redutores totais (%ART).

3.3.1 Hidrólise ácida

A hidrólise ácida foi realizada em sistema fechado, com a utilização de um reator de bancada de aço inoxidável, equipado com agitador magnético, manômetro e controlador de temperatura, em um banho de óleo (Figura 8).



Figura 8 Sistema da reação de hidrólise

O sistema foi realizado com quatro frascos contendo as amostras, uma delas contendo apenas a solução de ácido clorídrico e uma segunda com bagaço de cana sem pré-tratamento, para a comparação dos resultados. Foram utilizados 0,1 g de amostra sólida e 7 mL de solução de ácido clorídrico 0,1% (v/v) como catalisador. A temperatura de trabalho foi fixada em 170 °C e o tempo de reação em 60 minutos.

Após esse tempo, o reator foi rapidamente resfriado até a temperatura ambiente, com a passagem de água. Os resíduos líquidos foram recolhidos por meio de filtração em papel e, para posterior análise dos produtos de reação, foram adicionados 7 mL de solução de NaOH 0,1%, buscando-se neutralizar o

sistema. Os produtos das reações foram quantificados com relação aos teores de açúcares redutores totais (ART), pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS) e por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

3.3.2 Determinação de açúcares redutores totais

Os produtos das reações foram analisados em um espectrofotômetro UV/Vis Micronal-AJX-3000 e quantificados, com relação aos teores de açúcares redutores totais (%ART, pelo método do ácido dinitrossalicílico (DNS), desenvolvido por Miller (1959), com adequações.

Primeiramente, foi preparada uma curva padrão de glicose, utilizando-se o ácido 3-5 dinitrosalicílico (DNS), que se reduz a ácido 3-amino-5-nitrosalicílico (ANS), quando em contato com um açúcar redutor em meio alcalino. O ANS absorve radiação em comprimento de onda de 540 nm e, assim, pode ser quantificado. Uma solução padrão de glicose $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ foi preparada e diferentes quantidades dessa solução foram utilizadas para gerar a curva padrão de glicose, medindo-se a absorbância da mistura em cada concentração. Em todos os ensaios, utilizaram-se 0,4 mL de DNS e variou-se apenas o número de mols de glicose e água. Nas reações contendo celulose, água e DNS, a mistura foi colocada em ebulição por 5 minutos e resfriada sob jato d'água, adicionando-se, em seguida, 3 mL de água sob agitação. As leituras de absorbância foram feitas em comprimento de onda de 540 nm. Gerou-se uma curva padrão em μmol de glicose por absorbância e, a partir da equação da reta gerada, pôde-se calcular o teor de açúcares redutores totais obtidos após as reações de hidrólise dos materiais.

A curva padrão de glicose (Figura 9) apresentou equação da reta $y=0,2997x - 0,0224$ e $R^2 = 0,9995$.

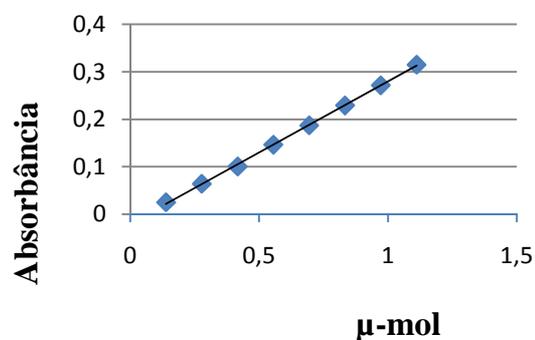


Figura 9 Curva padrão de glicose

Após as reações de hidrólise e determinação dos teores de ART, foram escolhidos 12 experimentos para que fossem realizadas as análises de difratometria de raios x, para a determinação da cristalinidade; microscopia eletrônica, para a avaliação das modificações físicas ocorridas nas fibras do bagaço de cana-de-açúcar e HPLC, para a determinação da quantidade de glicose nos produtos das reações de hidrólise. Foram escolhidas amostras pré-tratadas com peróxido, com o equipamento corona e pré-tratamento combinado (moagem – 40 mesh, ultrassom em meio ácido e básico). Os 12 experimentos escolhidos e as condições de cada pré-tratamento são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 Pré-tratamentos escolhidos para a realização das análises de difratometria, microscopia óptica e HPLC

Experimento	Condições do experimento
1	H ₂ O ₂ 3%/NaOH, 40 min, 25 °C
2	H ₂ O ₂ 7%/NaOH, 40 min, 25 °C
3	H ₂ O ₂ 3%/NaOH, 120 min, 25 °C
4	H ₂ O ₂ 7%/NaOH, 120 min, 25 °C
5	Bagaço de cana-de-açúcar não tratado
6	Corona, 2 min
7	Corona, 6 min
8	Corona, 10 min
9	40 mesh, ultrassom, 30 min, HCl 2%
10	40 mesh, ultrassom, 30 min, NaOH 5%
11	40 mesh, ultrassom, 60 min, HCl 2%
12	40 mesh, ultrassom, 60 min, NaOH 5%

3.3.3 Difractometria de raios X

As amostras pré-tratadas foram analisadas por difratometria de raios X (DRX), para a determinação da cristalinidade, em um equipamento Shimadzu XRD-6000, radiação de Cu-K α com $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ e um passo de $0,02^\circ \text{ s}^{-1}$, usando cristal de grafite como monocromador. A cristalinidade foi encontrada de acordo com um método empírico desenvolvido por Segal et al. (1959), no qual, por meio das medidas das intensidades I_{002} , pico da intensidade de difração que representa o material cristalino em $2\Theta = 22,5^\circ$, e do pico da intensidade da difração que representa o material amorfo I_{am} , medida em $2\Theta = 18^\circ$, foi definido um índice de cristalinidade, I_c , dado pela Equação 1.

$$I_c = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

3.3.4 Microscopia óptica

Os materiais pré-tratados foram analisados por microscopia eletrônica para a análise das fibras, visando à determinação das dimensões e ao comportamento antes e depois do tratamento. Foi utilizado um equipamento de Microscópio Eclipse E-200 Led Nikon, software DinoCapture. Anteriormente, foi feita a preparação do material, também chamada etapa de maceração. A preparação do macerado foi feita de acordo com o método de Nicholls & Dadswell, descrito por Ramalho (1987). Este método, também conhecido como método do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), utiliza como solução macerante de peróxido de hidrogênio 30% e ácido acético glacial, na proporção de 1:1, muito utilizado porque não é agressivo e não degrada o material.

Aproximadamente 0,2 g de amostra foram colocadas num tubo de ensaio, juntamente com 8 mL da solução macerante, volume suficiente para recobrir todas as fibras. Os tubos foram colocados em estufa aquecida a 60 °C por, aproximadamente, 48 horas. Em seguida, o material foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada para a eliminação de resíduos químicos.

Após a maceração, foi feita a coloração do material com safranina alcoólica a 1%. Posteriormente, foram confeccionadas as lâminas temporárias em glicerina e água, na proporção de 1:1. Para a análise das características da fibra, como comprimento e espessura, foram feitas vinte medições e obtidas as médias dos resultados.

3.3.5 Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Análises cromatográficas dos hidrolisados do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratados foram realizadas para avaliar a quantidade de glicose obtida. Foram realizadas análises quantitativas de glicose por meio de cromatografia líquida de alta eficiência, HPLC, em um aparelho Shimadzu, com detector eletroquímico

Antec, modelo Decade II. A coluna cromatográfica utilizada foi de troca iônica Carbopac PA1 e a análise foi conduzida em modo pulsado. Utilizou-se como eluente solução de NaOH 20 mmol L⁻¹, em um fluxo de 0,2 mL min⁻¹, com temperatura do forno de 44 °C. Foi preparada curva padrão do açúcar glicose, seguindo os mesmos procedimentos para as análises, as quais permitiram a identificação quantitativa do açúcar por meio da correlação da área dos picos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Reações de hidrólise ácida do bagaço de cana-de-açúcar e quantificação dos açúcares redutores totais (% ART)

As reações de hidrólise da celulose microcristalina, da polpa celulósica, do bagaço de cana-de-açúcar não tratado e do bagaço obtido dos vários pré-tratamentos foram realizadas sempre nas mesmas condições de reação (0,1 g de material, HCl 0,1 %, 170 °C, 60 min). A quantidade de açúcares redutores totais presentes no hidrolisado após cada reação de hidrólise foi determinada pelo método do ácido dinitrossalicílico (DNS)

4.1.1 Reações de hidrólise ácida com amostras sem pré-tratamento

Foram realizadas reações de hidrólise com celulose microcristalina, polpa celulósica não branqueada e o resíduo agroindustrial bagaço de cana-de-açúcar (Tabela 5).

Tabela 5 %ART dos produtos das reações de hidrólise

	Celulose	Polpa	Bagaço
% ART	35,67	30,72	14,01
% celulose	100	85	48
% conversão	36	36	29

Os valores de porcentagem de celulose na porção da polpa, apresentados da Tabela 5, foram fornecidos pela indústria de papel e celulose e a porcentagem da celulose do bagaço de cana está de acordo com Gouveia et al. (2009).

Os resultados mostram que a quantidade de conversão de açúcares redutores totais obtida para a celulose microcristalina e polpa é um pouco maior

que a obtida para o bagaço, mesmo considerando a porcentagem de celulose diferente presente em cada material.

Isso se dá porque, na celulose pura, as ligações glicosídicas, apesar da maior cristalinidade, estão mais disponíveis. Além disso, a celulose é bastante hidrofílica e facilita a penetração do agente de hidrólise (que está em meio aquoso). A polpa é um material já modificado (a madeira passou por um processo químico para a obtenção da polpa), deslignificado e com certa porcentagem de hemiceluloses (que são mais facilmente hidrolisadas). Já o bagaço, apesar de ter hemiceluloses, tem também a lignina, que deixa a fibra mais impermeável. Diferentemente da polpa, o bagaço tem sua estrutura fibrosa ainda virgem e, por isso, é mais resistente ao ataque de agentes hidrolíticos, necessitando, assim, de um pré-tratamento.

Dessa forma, pode-se observar uma menor disponibilidade das cadeias de açúcares no bagaço de cana-de-açúcar, sendo mais difícil a obtenção de monossacarídeos a partir da forma bruta da biomassa (sem tratamento).

4.1.2 Reações de hidrólise ácida do bagaço de cana-de-açúcar em diferentes granulometrias

Nas reações realizadas com bagaço de cana pré-tratado com moagem foram comparados os resultados obtidos com diferentes granulometrias, mas em iguais condições de hidrólise. Os resultados de % ART são apresentados na Figura 10.

Observa-se que não houve diferença significativa nos valores de % ART, para os diferentes tamanhos do material, informação muito importante para a escolha das posteriores amostras a serem hidrolisadas. Assim, nas próximas etapas foram utilizados resíduos com granulometria de 40 mesh.

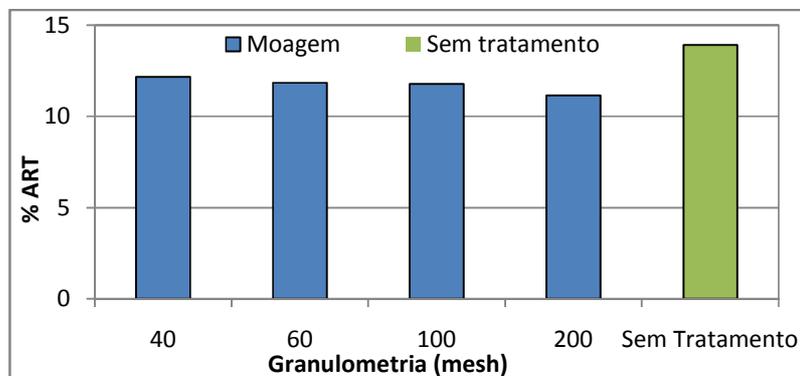


Figura 10 %ART dos produtos das reações de hidrólise dos pré-tratados com moagem

4.1.3 Reações de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com ultrassom em meio ácido e alcalino

Nas reações realizadas com bagaço pré-tratado com ultrassom foram comparados os resultados obtidos em diferentes tempos de exposição ao aparelho e soluções diferentes, ácida e básica, mas em iguais condições de hidrólise. Os resultados de % ART são apresentados na Figura 11.

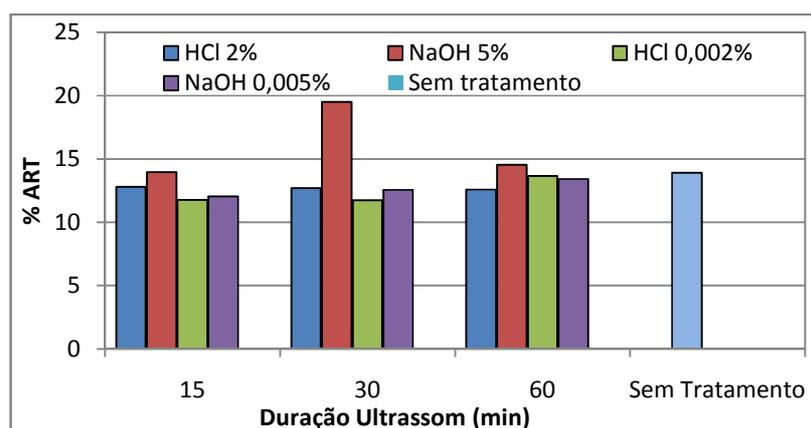


Figura 11 % ART das hidrólises do bagaço pré-tratado com ultrassom

Pode-se observar que todas as reações feitas com pré-tratamento de ultrassom em baixas concentrações de ácido e base, 0,002% de HCl e 0,005% de NaOH, apresentaram quantidade de açúcares redutores totais mais baixa do que os resultados conseguidos em concentrações maiores, 2% de HCl e 5% de NaOH.

Nota-se que as reações realizadas com os pré-tratados com ultrassom e maiores concentrações de ácido e base (2% de HCl e 5% de NaOH) obtiveram maior quantidade de açúcares redutores do que o bagaço sem pré-tratamento, porém, resultados não são relevantes, levando-se em consideração o custo gerado pelo processo de pré-tratamento de ultrassom.

Também se observa que o pré-tratamento em meio alcalino promoveu influência mais positiva sobre o sistema, apresentando resultados melhores do que aqueles em que se utilizou solução ácida.

4.1.4 Reações de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com equipamento corona

Nas reações realizadas com bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com equipamento Corona para superfícies tridimensionais, foram comparados os resultados considerando-se o tempo de exposição ao aparelho. Os resultados de % ART são apresentados na Figura 12.

Nos dados obtidos com o tratamento em questão não foi observada melhoria na disponibilidade de açúcares para a reação de hidrólise ácida e, dessa forma, não foi observado bom rendimento de monossacarídeos redutores.

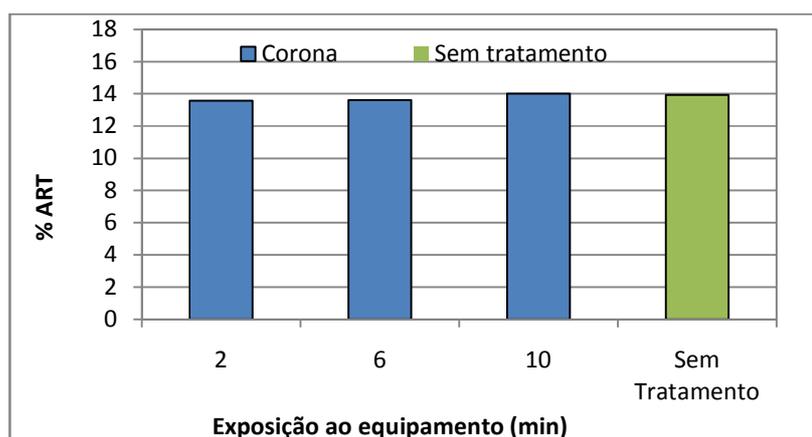


Figura 12 % ART dos produtos das reações de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com equipamento Corona

4.1.5 Reações de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com peróxido de hidrogênio em meio alcalino

Nas reações realizadas com bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com peróxido de hidrogênio alcalino foram testadas as variáveis tempo de reação, concentração de peróxido e temperatura. Os resultados obtidos encontram-se na

Tabela 6 e na Figura 13, dando destaque aos experimentos F, G e H, que constituem o ponto médio, ou ponto central, do planejamento fatorial, sendo realizados nas mesmas condições reacionais. O experimento A foi feito com a amostra de bagaço de cana-de-açúcar sem pré-tratamento, para comparação dos resultados.

Tabela 6 %ART dos produtos das reações de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com peróxido de hidrogênio em meio alcalino (NaOH até pH=11,5)

Exp.	Conc.¹ (%)	Tempo (min)	Temperatura (°C)	% ART
A	sem tratamento	sem tratamento	sem tratamento	13,92
B	3	40	25	20,36
C	3	120	25	23,86
D	3	40	65	23,83
E	3	120	65	25,21
F	5	80	45	23,30
G	5	80	45	22,97
H	5	80	45	23,11
I	7	40	25	22,18
J	7	120	25	25,49
K	7	40	65	28,34
L	7	120	65	25,37

¹Concentração de peróxido de hidrogênio % v/v

Na análise dos dados obtidos de ART pode-se observar que o pré-tratamento com peróxido foi eficiente. Os teores de açúcares redutores totais obtidos após os pré-tratamentos, comparados com o bagaço sem pré-tratamento, foram efetivamente maiores, em todos os experimentos realizados.

Além disso, os experimentos F, G e H mostraram valores aproximados, comprovando a eficiência dos valores, em nível de comparação.

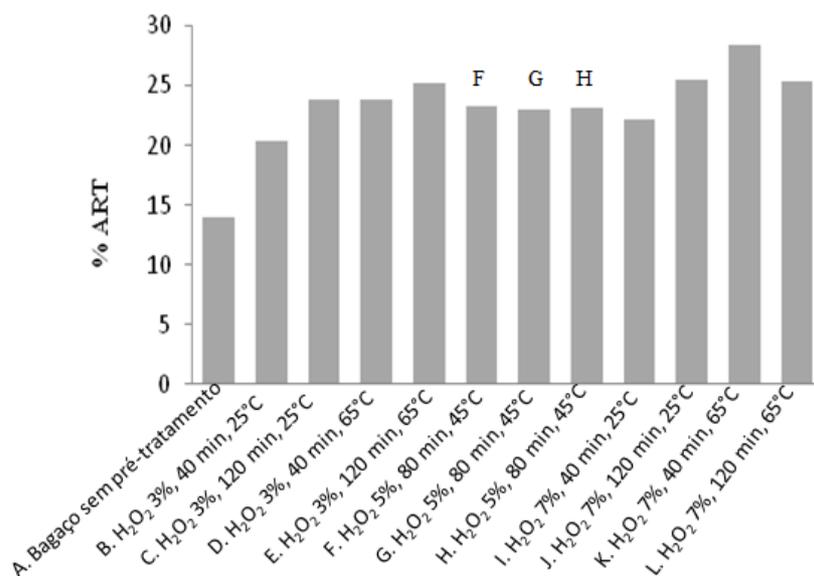


Figura 13 %ART dos produtos das reações de hidrólise pré-tratados com H₂O₂ alcalino, pH 11,5, em diferentes temperaturas

Analisando-se a variável temperatura, pode-se afirmar que os resultados mais relevantes (maior % de ART) foram obtidos à temperatura mais elevada, de 65 °C. Um aumento na temperatura de 25 para 65 °C acarreta um aumento na % ART em quase todos os casos. Destacam-se os experimentos I e K, cujo aumento da temperatura causa um aumento de quase 28% na % ART.

A única exceção ocorre se compararmos os experimentos J e L, cujo aumento da temperatura não altera significativamente a % ART. Possivelmente, isso se deve ao fato de que, nesses experimentos, também temos a maior porcentagem de peróxido (7%) e o maior tempo de reação (120 min), o que pode favorecer reações secundárias dos monossacarídeos inicialmente formados e a obtenção de produtos de degradação.

Avaliando-se a variável tempo, pode-se afirmar que o aumento no tempo de reação de 40 para 120 min promoveu um aumento na % ART. Chamando a

atenção novamente para o experimento L, observa-se que, comparando-se K e L, ocorre uma diminuição na % ART.

A 25°C, o aumento do tempo de reação causa um aumento de aproximadamente 16% na % ART. A 65 °C, esse aumento é bem pequeno (D e E) ou não ocorre (K e L).

Com relação à % de peróxido, nota-se que, a 25 °C, o aumento de 3% para 7% de peróxido promove um aumento de, aproximadamente, 8% na % ART. A 65 °C, esse aumento é de 19%, para um tempo de 40 minutos. Para 120 minutos, não se obteve diferença significativa nos valores de % de ART.

4.1.6 Reações de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com moagem (40 MESH) e ultrassom em meio ácido e alcalino (combinados)

Para o pré-tratamento combinado utilizaram-se a granulometria de 40 mesh e a solução de HCl 2% ou NaOH 5%. Os resultados de %ART obtidos são apresentados na Figura 14.

Analisando-se os resultados pode-se observar que os experimentos realizados com solução ácida não foram eficientes. Já os resultados obtidos com solução básica mostraram quantidade de açúcares redutores totais maior do que o bagaço sem pré-tratamento, mas não superiores aos obtidos na Figura 11 (sem moagem).

Observa-se que, para 30 e 60 minutos de tratamento com NaOH, houve maior perda de massa com maiores valores de % ART. A perda de massa se deve à dissolução de algumas hemiceluloses e parte da lignina (parcialmente solúvel em soluções alcalinas). Dessa maneira, a celulose do bagaço ficou mais disponível para os agentes hidrolíticos, favorecendo a obtenção dos monossacarídeos.

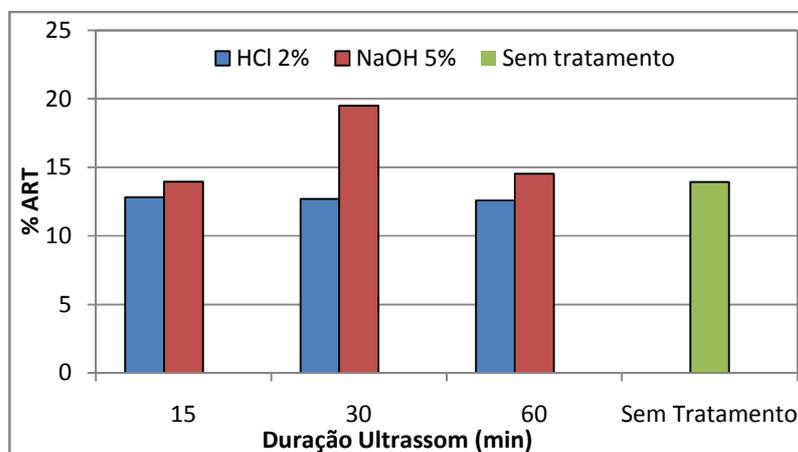


Figura 14 % ART dos produtos das reações de hidrólise do bagaço com pré-tratamento combinado (moagem – 40 mesh; ultrassom)

A seguir serão apresentados os resultados de difratometria de raio x, microscopia eletrônica e HPLC, obtidos dos 12 experimentos escolhidos (vide Tabela 4). A escolha dos tratamentos e as condições foram baseadas nos resultados das reações de hidrólise e a quantificação de açúcares redutores totais encontrada. Dessa forma, foram escolhidos diferentes pré-tratamentos que apresentaram maior porcentagem de ART.

4.2 Difratometria de RAIO X

A determinação do índice de cristalinidade foi realizada para os 12 experimentos escolhidos.

As amostras em questão foram analisadas por difratometria de raios X. O difratograma do bagaço de cana-de-açúcar sem tratamento está representado na Figura 11. Este apresenta índice de cristalinidade de 51,9%. As diferenças na intensidade dos picos estão relacionadas à cristalinidade dos materiais. O índice I_c foi calculado de acordo com a Equação 1 do tópico 3.3.3, utilizando-se os dados dos DRX.

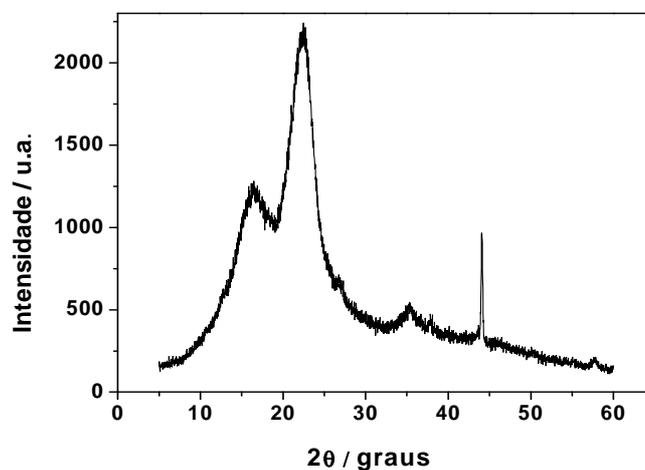


Figura 15 Difratograma de raios x do bagaço de cana-de-açúcar sem pré-tratamento

Na Tabela 7 apresentam-se as doze amostras que foram escolhidas e o índice I_c calculado. Analisando-se os dados pode-se afirmar que o pré-tratamento químico, feito com peróxido de hidrogênio alcalino, promoveu o aumento da cristalinidade do material. Estes valores são esperados, já que este pré-tratamento químico remove parte da lignina e hemiceluloses, que são componentes da biomassa com estrutura amorfa.

Dessa forma, ao relacionar matematicamente os picos, não são consideradas as partes amorfas perdidas, obtendo-se em proporção maior a celulose, que é a parte mais cristalina dos componentes. Isso resulta em um aumento relativo no valor da cristalinidade. Em comparação ao bagaço não tratado, por exemplo, com índice de 51,90%, observa-se um aumento considerável nos valores de cristalinidade para os materiais tratados com peróxido.

Tabela 7 Índice de cristalinidade I_c e porcentagem de açúcares redutores totais (% ART) do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratados

Exp.	Pré-tratamentos (condições)	ART (%)	I_c (%)
1	H ₂ O ₂ /NaOH 40min 25°C 3%	20,36	61,55
2	H ₂ O ₂ /NaOH 40min 25 °C 7%	22,18	60,12
3	H ₂ O ₂ /NaOH 120min 25 °C 3%	23,86	62,01
4	H ₂ O ₂ /NaOH 120min 25 °C 7%	25,50	61,84
5	Bagaço não tratado	13,92	51,90
6	Corona 2min	13,57	50,46
7	Corona 6min	13,62	52,25
8	Corona 10min	14,01	54,87
9	40 mesh, ultrassom 30 min, HCl 2%	12,70	58,40
10	40 mesh, ultrassom 30 min, NaOH 5%	19,51	59,67
11	40 mesh, ultrassom 60 min, HCl 2%	12,58	52,21
12	40 mesh, ultrassom 60 min, NaOH 5%	14,54	57,43

Quanto à cristalinidade do material pré-tratamento com o equipamento Corona não foram observadas diferenças significativas nos valores de cristalinidade. Este tratamento físico não promoveu modificações suficientes nos componentes do bagaço para afetar a estrutura do material.

Em relação ao comportamento dos materiais com pré-tratamentos combinados, houve um aumento da cristalinidade em relação ao bagaço não tratado, porém, esses valores foram inferiores aos obtidos com aos pré-tratamento com peróxido, não afetando a estrutura do bagaço de forma muito satisfatória.

4.3 Microscopia óptica

As análises de microscopia eletrônica foram realizadas com as 12 amostras escolhidas (Tabela 4). Foram realizadas vinte repetições para cada amostra e o resultado final foi obtido da média das medições fotografadas. Na Tabela 12 mostram-se os valores das médias das medidas de comprimento,

largura e espessura da parede das fibras do bagaço de cana-de-açúcar, com e sem pré-tratamento.

Tabela 8 Biometria das fibras do bagaço de cana submetidas a diferentes pré-tratamentos

Exp.	Pré-tratamentos (condições)	Comprimento μm	Largura μm	Espessura μm
1	H ₂ O ₂ /NaOH 40min 25 °C 3%	816,04	20,31	4,27
2	H ₂ O ₂ /NaOH 40min 25 °C 7%	846,38	21,55	4,74
3	H ₂ O ₂ /NaOH 120min 25 °C 3%	892,29	22,92	4,93
4	H ₂ O ₂ /NaOH 120min 25 °C 7%	886,60	23,59	5,12
5	Bagaço de cana não tratado	>1000	24,81	5,27
6	Corona 2 min	841,54	22,82	5,37
7	Corona 6 min	896,21	23,64	4,48
8	Corona 10 min	878,61	20,26	4,39
9	40 mesh, ultrassom 30 min, HCl 2%	755,31	19,13	5,01
10	40 mesh, ultrassom 30 min, NaOH 5%	755,57	20,09	4,69
11	40 mesh, ultrassom 60 min, HCl 2%	697,81	18,10	5,20
12	40 mesh, ultrassom 60 min, NaOH 5%	534,40	18,51	4,78

Com a análise dos resultados pode-se observar que, de forma geral, os pré-tratamentos tiveram influência principalmente no comprimento e na largura das fibras, tendo os pré-tratados com moagem e ultrassom (combinados) apresentado os menores valores.

Todos os pré-tratados apresentaram largura menor do que o bagaço *in natura*, sendo os valores apontados nos pré-tratamentos combinados menores, em comparação a todos os tratamentos. Ao analisar a espessura da parede das fibras não se evidencia alteração significativa, e esse aspecto não foi influenciado pelos tratamentos químicos e físicos realizados.

Em relação ao aspecto físico visual da fibra, observou-se alteração das mesmas, constatadas nas fotos tiradas para as medições. Nas Figuras 16, 17, 18 e 19 são apresentadas as fotos e algumas medições.

Na Figura 16 pode-se comprovar o que foi apontado na Tabela 8 sobre o valor do comprimento da fibra do bagaço de cana-de-açúcar não tratado. As fibras do bagaço *in natura* apresentam-se maiores do que a amplitude do aparelho de microscopia, não sendo possível fazer a medição de toda a extensão da fibra. Além disso, nota-se que as fibras, em geral, não estão desfibriladas e, sim, lisas e inteiras.

Na Figura 17 têm-se as fibras do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com moagem e ultrassom (meio ácido e básico). Nesse caso, as fibras estão mais desfibradas e quebradas. As fibras do bagaço foram visualmente alteradas com a utilização do tratamento de moagem e ultrassom, notando-se as pontas das fibras quebradas, estragadas e desfibriladas, diferente da fibra do bagaço não tratado, mostrada na Figura 16.

O mesmo se observa com o tratamento Corona, que causou alterações na parede da fibra. Neste pré-tratamento não se observou uma desfibrilação muito efetiva, mas nota-se a evidência de irregularidade na fibra, como mostrado na Figura 18. Na análise visual das fibras do bagaço depois de tratadas com peróxido de hidrogênio alcalino, também se observa certa irregularidade, como notado também nos pré-tratamentos anteriores. Além disso, nota-se certa desfibrilação. Este efeito pode ser comprovado na Figura 19, com a imagem das fibras.

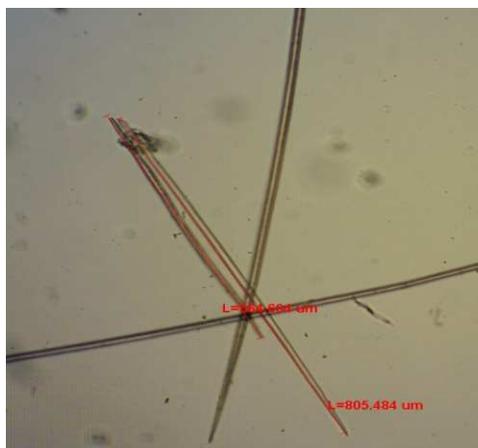


Figura 16 Micrografia do bagaço de cana-de-açúcar não tratado



Figura 17 Micrografia do bagaço pré-tratamento de moagem e ultrassom



Figura 18 Micrografia do bagaço de cana-de-açúcar com pré-tratamento corona

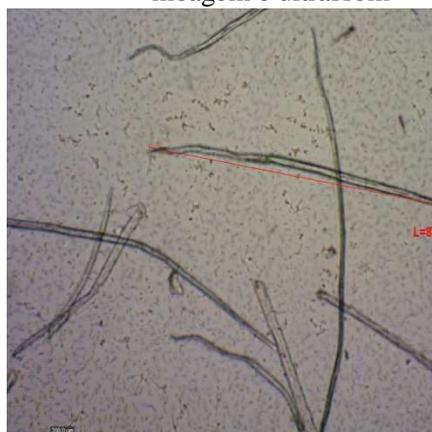


Figura 19 Micrografia do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com peróxido em meio alcalino

4.4 Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

As análises cromatográficas foram realizadas com os doze pré-tratamentos escolhidos. Na Figura 16 apresentam-se os resultados de quantidade de glicose obtida em cada reação.

De modo geral, foram encontradas maiores quantidades de glicose nos produtos obtidos da hidrólise ácida do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com peróxido de hidrogênio em meio alcalino.

Nota-se também que, em todos os pré-tratamentos em que o NaOH é utilizado (experimentos 1, 2, 3, 4, 10 e 12), a quantidade de glicose (Figura 20) e a % de ART (Tabela 8) são maiores que nos outros experimentos.

Por outro lado, nos pré-tratamentos em que o HCl foi utilizado (experimentos 9 e 11), foram obtidas as menores quantidades de glicose e menores % de ART.

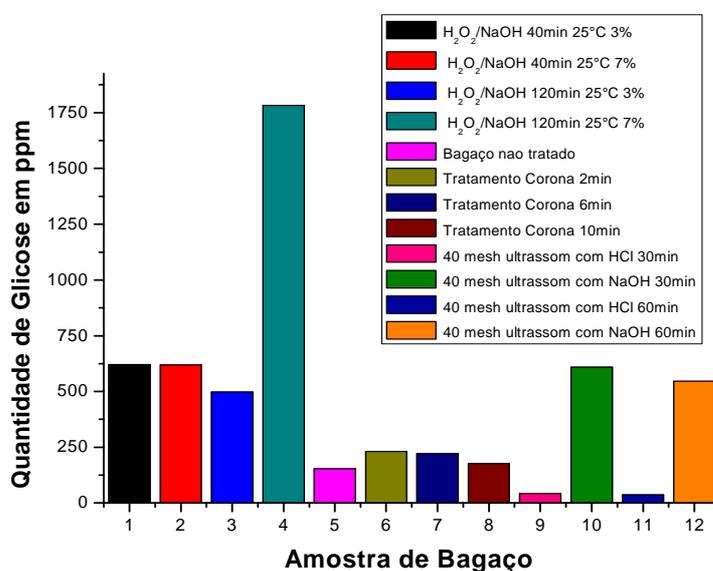


Figura 20 Quantidade de glicose analisada por HPLC

5 CONCLUSÕES

De maneira geral, o pré-tratamento feito com peróxido de hidrogênio alcalino demonstrou ser o mais eficiente de todos os outros realizados. Além de obter os melhores resultados em açúcares redutores totais, com a quantificação pelo método de cromatografia, pode-se comprovar a existência de glicose e sua quantidade relativa, confirmando a afirmação acima. Este pré-tratamento foi positivo para a remoção de algumas partes amorfas, como lignina e hemicelulose, comprovado nas análises de cristalinidade e, dessa forma, deixando o bagaço mais disponível para a reação de hidrólise. Além disso, influenciou na parte física visual da fibra, o que ficou comprovado na microscopia óptica.

Ainda, o pré-tratamento combinado que utilizou hidróxido de sódio obteve uma quantidade satisfatória de glicose, em comparação com os outros pré-tratados, demonstrando que alcalinidade do processo provoca certa influência nas fibras do bagaço, aumentando o rendimento de glicose. Os pré-tratamentos Corona, moagem e ultrassom influenciaram em modificações nas fibras em alguns testes. A moagem alterou de forma mais evidente o comprimento e a largura das fibras. O tratamento corona mostrou-se potencialmente positivo em modificar a cristalinidade da fibra, proporcionalmente ao aumento do tempo de exposição à descarga elétrica, mas não foram satisfatoriamente positivos na obtenção de glicose após a reação de hidrólise, afetando a biomassa de bagaço de cana, mas não contribuindo para a obtenção do açúcar em questão. Mais do que isso, estas informações poderão ser utilizadas para posteriores estudos, objetivando alterações na fibra do bagaço de cana.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA. **Biomassa**. Disponível em: <<http://www.aneel.gov.br/>>. Acesso em: 24 dez. 2013.

ALMEIDA, M. L. d'. **Celulose e papel**: tecnologia de fabricação da pasta celulósica. 2. ed. São Paulo: SENAI-IPT, 1988. v. 1, 559 p.

BARBOSA, V. **O etanol de segunda geração está próximo?** Disponível em: <<http://exame.abril.com.br/meio-ambiente-e-energia/energia/noticias/>>. Acesso em: 10 set. 2013.

BAUDEL, H. M. Pré-tratamento e hidrólise. In: WORKSHOP TECNOLÓGICO SOBRE HIDRÓLISE PARA PRODUÇÃO DE ETANOL, PROJETO PROGRAMA DE PESQUISAS EM POLÍTICAS PÚBLICAS, 3., 2006, Campinas. **Anais...** Campinas: UNICAMP, 2006. Disponível em: <<http://inovação.unicamp.br/etanol/report/Hidrolise%20Baudel%20Apresenta%E7%E3o.pdf>>. Acesso em: 19 nov. 2013.

BOSCO, F. Novo status para o bagaço. **AlcoolBrás**, São Paulo, n. 121, p. 1-2, dez. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Cana-de-açúcar**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar>>. Acesso em: 11 set. 2013.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. **Cadernos de energia EPE**: perspectivas para o etanol no Brasil. Brasília: EPE, 2008. 62 p.

CHANG, V. S.; HOLTZAPPLE, M. T. Fundamental factors affecting enzymatic reactivity. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v. 84/86, n. 1/9, p. 5-37, 2000.

CORONA BRASIL. **Tratadores Corona**. Disponível em: <<http://www.coronabrasil.com.br/produtos-linha-tratamento>>. Acesso em: 13 jan. 2015.

CU CEK, L. et al. Energy, water and process technologies integration for the simultaneous production of ethanol and food from the entire corn plant. **Computers & Chemical Engineering**, New York, v. 35, n. 8, p. 1547-1557, Oct. 2011.

CUNHA, C. M.; SILVA, F. T. Characterization of carbohydrates present in hydrolyzate obtained from sugar cane bagasse pretreated by explosion. In: **BRAZILIAN SYMPOSIUM CHEMISTRY LIGNINS AND OTHER WOOD COMPONENTS**, 6., 2001, Belo Horizonte. **Proceedings...** Belo Horizonte: UFMG, 2007. p. 221-226.

EKLUND, R.; GALBE, M.; ZACCHI, G. Optimization of temperature and enzyme concentration in the enzymatic saccharification of steam-pretreated willow. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 12, p. 225-228, 1990.

FENGEL, D.; WENEGER, G. **Wood chemistry, ultrastructure, reactions, walter de gruyte**. New York: Publisher, 1989. 613 p.

FIGLIOLI, J. et al. Painéis de partículas a base de bagaço de cana e resina de mamona: produção e propriedades. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 33, n. 4, p. 401-406, 2011.

GALBE, M.; ZACCHI, G. Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production. **Advances in Biochemical Engineering Biotechnology**, Berlin, n. 108, p. 41-65, 2007.

GAMA, F. M. P. **Mecanismo bioquímico da ação de celulases de Trichoderma reesei**. 1996. 89 p. Tese (Doutorado em Engenharia Biológica) - Universidade do Minho, Minho, 1996.

GÁMEZ, S. et al. Study of the hydrolysis of sugar cane bagasse using phosphoric acid. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 74, p. 78-88, May 2006.

GELLERSTEDT, G. The chemistry of bleaching and brightness reversion: chemical structure of pulp components. In: DENCE, C. W.; REEVE, D. W. (Ed.). **Pulp bleaching: principles and practice**. Atlanta: Tappi, 1996. p. 91-111.

GOLDEMBERG, J.; COELHO, S. T.; GUARDABASS, I. P. The sustainability of ethanol production from sugarcane. **Energy Policy**, Surrey, v. 36, p. 2086-2097, June 2008.

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

HSU, T. Pretreatment of biomass. In: WYMAN, C. F. (Ed.). **Handbook on bioethanol production and utilization**. Bristol: Taylor & Francis, 1996. p. 179-195.

KARIMI, M. et al. Ultrasound irradiation in the production of ethanol from biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, New York, v. 40, p. 400-421, Aug. 2014.

KOSTIN, A. M. et al. Design and planning of infrastructures for bioethanol and sugar production under demand uncertainty. **Chemical Engineering Research and Design**, Elmsford, v. 90, n. 3, p. 359-376, Mar. 2012.

LASER, M. et al. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol. **Bioresource Technology**, Essex, v. 81, p. 33-44, Jan. 2002.

LEE, A. K.; LEWIS, D. M.; ASHMAN, P. J. Disruption of microalgal cells for the extraction of lipids for biofuels: processes and specific energy requirements. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 46, p. 89-101, Nov. 2012.

LEE, D. et al. Evaluation of the enzymatic susceptibility of cellulosic substrates using specific hydrolysis rates and enzyme adsorption. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v. 45, p. 407-415, Mar. 1994.

LYND, L. R.; ELANDER, R. T.; WYMAN, C. E. Likely features and costs of mature biomass ethanol technology. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v. 57/58, n. 96, p. 741-761, 1996.

MENDES, R. F. **Efeito do tratamento térmico sobre as propriedades de painéis OSB**. 2010. 216 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Escola Superior de Agricultura "Luiz Queiroz", Piracicaba, 2011.

MENDES, R. F. Painéis aglomerados produzidos com bagaço de cana em associação com madeira de eucalipto. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 38, n. 86, p. 285-295, 2010.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, New York, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MOSIER, N. et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, Essex, v. 96, n. 6, p. 673-686, Apr. 2005.

MOSIER, N. S.; HENDRICKSON, R.; DRESCHER, R. **Principles and economics of pretreating cellulose in water for ethanol production**. New Orleans: American Chemical Society Meeting, 2003. 103 p.

MOSIER, N. S.; HENDRICKSON, R.; WELCH, G. Corn fiber pretreatment scale-up and evaluation in an industrial corn to ethanol facility. In: SYMPOSIUM ON BIOTECHNOLOGY FOR FUELS AND CHEMICALS, 25., 2003, Breckenridge. **Proceedings...** Breckenridge, 2003. Paper 6A-04.

NIGAM, P. S.; SINGH, A. Production of liquid biofuels from renewable resources. **Progress in Energy and Combustion Science**, Oxford, v. 37, n. 1, p. 52-68, Feb. 2011.

PEREIRA, F. da C. et al. Conversion of sugars present in rice hull hydrolysates into ethanol by *Spathaspora arborariae*, *Saccharomyces cerevisiae*, and their cofermentations. **Bioresource Technology**, Essex, v. 102, n. 5, p. 4218-4225, 2012.

PITARELO, A. P. **Avaliação da susceptibilidade do bagaço e da palha da cana-de-açúcar à bioconversão via pré-tratamento à vapor e hidrólise enzimática**. 2007. 109 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

RABELO, S.; MACIEL FILHO, R.; COSTA, A. A comparison between lime and alkaline hydrogen peroxide pretreatments of sugarcane bagasse for ethanol production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v. 144, n. 1, p. 87-100, 2008.

RABELO, S. C. **Avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração**. 2010. 413 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

RAMALHO, R. S. **O uso de macerado no estudo anatômico de madeiras**. Viçosa, MG: UFV, 1987. 4 p.

REYES, J.; PERALTA-ZAMORA, P.; DURÁN, N. Hidrólise enzimática de casca de arroz utilizando-se celulasas: efeito de tratamentos químicos e fotoquímicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 140-143, mar./abr. 1998.

RIBEIRO, M. J. P. M.; ABRANTES, J. C. C. Moagem em moinho de bolas: estudo de algumas variáveis e otimização energética do processo. **Cerâmica Industrial**, São Paulo, v. 2, n. 6, p. 7-11, mar./abr. 2001.

RODRIGUEZ-CHONG, A. et al. Hydrolysis of sugar cane bagasse using nitric acid: a kinetic assessment. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 61, n. 2, p. 143-152, 2004.

SANCHEZ, E. M. S. et al. Compósito de resina de poliéster insaturado com bagaço de cana-de-açúcar: influência do tratamento das fibras nas propriedades. **Polímeros**, São Carlos, v. 20, n. 3, p. 194-200, 2010.

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

SARKAR, N. et al. Bioethanol production from agricultural wastes: an overview. **Renewable Energy**, Oxford, v. 37, p. 19-27, July 2011.

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

SILVA, N. L. C. **Produção de bioetanol de segunda geração a partir de biomassa residual da indústria de celulose**. 2010. 109 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

SOCCOL, C. R. et al. Bioethanol from lignocelluloses: status and perspectives in Brazil. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, n. 13, p. 4820-4825, July 2010.

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

SZENGYEL, Z. et al. Cellulase production of trichoderma reesei Rut C 30 using steam-pretreated spruce hydrolytic potential of cellulases on different substrates. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v. 84/86, p. 84-86, 2000.

TAHERZADEH, M. J.; KARIMI, K. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 9, n. 9, p. 1621-1651, Sept. 2008.

TIAN, J. et al. Hydrolysis of cellulose by the heteropoly acid H₃PW₁₂O₄₀. **Cellulose**, Bucharest, v. 17, n. 3, p. 587-594, 2010.

ANEXO

Tabela A Condições dos pré-tratamentos do bagaço de cana-de-açúcar e resultados das análises das fibras dos materiais tratados; % de ART e quantidade de glicose obtida dos produtos das reações de hidrólise ácida dos materiais tratados

Exp.	Pré-tratamentos (condições)	Comp.¹ µm	Larg.¹ µm	Espes.¹ µm	% ART²	% I_c³	Glicose (ppm)
1	H ₂ O ₂ /NaOH 40min 25 °C 3%	816,04	20,31	4,27	20,36	61,55	620,64
2	H ₂ O ₂ /NaOH 40min 25 °C 7%	846,38	21,55	4,74	22,18	60,12	618,05
3	H ₂ O ₂ /NaOH 120min 25 °C 3%	892,29	22,92	4,93	23,86	62,01	496,29
4	H ₂ O ₂ /NaOH 120min 25 °C 7%	886,6	23,59	5,12	25,5	61,84	1782,84
5	Bagaço de cana não tratado	>1000	24,81	5,27	13,92	51,9	153,42
6	Corona 2 min	841,54	22,82	5,37	13,57	50,46	230,12
7	Corona 6 min	896,21	23,64	4,48	13,62	52,25	219,98
8	Corona 10 min	878,61	20,26	4,39	14,01	54,87	176,21
9	40 mesh, ultrassom 30 min, HCl 2%	755,31	19,13	5,01	12,7	58,4	40,82
10	40 mesh, ultrassom 30 min, NaOH 5%	755,57	20,09	4,69	19,51	59,67	608,57
11	40 mesh, ultrassom 60 min, HCl 2%	697,81	18,1	5,2	12,58	52,21	36,93
12	40 mesh, ultrassom 60 min, NaOH 5%	534,4	18,51	4,78	14,54	57,43	546,07

¹ Comprimento, largura e espessura das fibras. ² Porcentagem de açúcares redutores totais. ³ Índice de cristalinidade