



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS DE PALMAS
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL

MARIANA DE SÁ ABREU

**EFICIÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO FÍSICO-QUÍMICA DO
BAGAÇO DA CANA-DE-AÇÚCAR COM PERÓXIDO DE
HIDROGÊNIO PARA PRODUÇÃO DE ETANEL
LIGNOCELULÓSICO.**

Palmas/TO
2020

MARIANA DE SÁ ABREU

**EFICIÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO FÍSICO-QUÍMICA DO
BAGAÇO DA CANA-DE-AÇÚCAR COM PERÓXIDO DE
HIDROGÊNIO PARA PRODUÇÃO DE ETANEL
LIGNOCELULÓSICO.**

Artigo apresentada (o) à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Campus Universitário de Palmas, Curso de Engenharia Ambiental para obtenção do título de Bacharelado em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Emerson Adriano Guarda

Palmas/TO
2020

*Ao meu filho, Bernardo, por todo o amor
dedicado a mim e por ser o motivo de tudo de
bom que acontece, ou que faço, nessa vida.
Tudo sempre será por você meu amor, minha
vida.*

AGRADECIMENTOS

Há Deus Pai pelo o amor e pelo dom da vida, o amor de Jesus e o cuidado de Nossa Senhora comigo, mesmo eu não sendo merecedora Nossa Senhora cuida e intercede por mim a Jesus que me ouve e me atende em tudo que me é necessário.

A minha mãe por sua história de coragem, superação e exemplo, por todo o sacrifício pela nossa família e o apoio em todos os momentos, sem a senhora nada seria possível.

Aos meus irmãos que sempre me incentivaram e tiveram ao meu lado me dando apoio e muitas alegrias, nossos momentos juntos me ajudaram e facilitaram a caminhada pois sempre foram momentos de muita união, sinto muito orgulho em fazer parte dessa família.

Aos meus avós, José Antônio Abreu e João de Sá por toda a base familiar, carinho, afeto e cuidado. As minhas avós Ilária e Raimunda (*in memoriam*) por me ensinarem a ser forte, determinada e a não desistir, vocês são meus exemplos.

Ao meu pai por todo o carinho.

Ao meu pequeno Bernardo por me ensinar a amar e por me ajudar a enxergar que eu sou capaz, por alegrar os meus dias e me dar tanto amor, obrigado meu anjo.

Ao meu companheiro, Bruno, por incondicionalmente estar ao meu lado em todos esses momentos de luta, por me ajudar a me posicionar e a conquistar tudo aquilo que sonhamos juntos.

Aos meus amigos e familiares por todo o apoio, paciência, alegrias e abraços em todos esses anos.

RESUMO

O bagaço da cana-de-açúcar é um resíduo gerado pela indústria sucroalcooleira, uma biomassa rica em celulose e passível de ser utilizada como matéria prima para produção de etanol 2G. Neste trabalho executou-se a caracterização físico-química do bagaço da cana-de-açúcar e o pré-tratamento com peróxido de hidrogênio buscando obter maior disponibilidade da fração celulósica disponível na biomassa. Após a hidrólise enzimática, a cromatografia líquida de alta eficiência constatou a presença de açúcares fermentescíveis nas amostras como xilose e glicose, evidenciando que o pré-tratamento é eficaz e possível de ser aplicado em grande escala.

Palavras-chaves: Bagaço de cana-de-açúcar. Pré-tratamento. Peróxido de hidrogênio.

ABSTRACT

Sugarcane bagasse is a residue generated by the sugar and alcohol industry, a biomass rich in cellulose and capable of being used as a raw material in the production of 2G ethanol. In this article, the physical-chemical characterization of the sugarcane bagasse and the pretreatment with hydrogen peroxide were carried out, in order to obtain greater availability of the cellulosic fraction available in the biomass. After enzymatic hydrolysis, high performance liquid chromatography found the presence of fermentable sugars in the samples, such as xylose and glucose, showing that the pretreatment is effective and can be applied on a large scale.

Key-words: Sugarcane bagasse. Pre-treatment. Hydrogen peroxide.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
2.1. Objetivo Geral	11
2.2. Objetivos Específicos.....	11
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFIA	12
3.1. Cadeia Produtiva Agroenergética	12
3.2. Cana de Açúcar.....	13
3.3. Bagaço-da-cana-de-açúcar.....	14
3.4. Etanol de Segunda Geração.....	14
3.5. Pré-tratamento e Hidrólise Enzimática	15
4. METODOLOGIA	17
4.1. Aquisição da Biomassa.....	17
4.2. Preparo Inicial da Biomassa	17
4.3. Determinação do teor de umidade	17
4.4. Determinação do Teor de Cinzas	18
4.5. Determinação do teor de Extrativos	19
4.6. Determinação de Lignina.....	19
4.7. Determinação do Teor de Celulose	20
4.8. Pré-tratamento Peróxido de Hidrogênio	21
4.9. Hidrólise Enzimática (SIQUEIRA et al., 2016)	21
4.10. Nomenclatura das amostras	22
4.11. Cromatografia Líquida	22
5. RESULTADOS E ANÁLISE	23
5.1. Caracterização da composição físico-química do bagaço de cana-de-açúcar.....	23
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
6.1. Trabalhos futuros	27
7. REFERÊNCIAS	28

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – NOMENCLATURA ADOTADA PARA AS BIOMASSAS ANALISADAS.....	22
TABELA 2: COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO BAGAÇO DA CANA DE AÇÚCAR. 23	
TABELA 3 – PRODUTOS DA HIDRÓLISE DA BIOMASSA.....	25
TABELA 4 - CONCENTRAÇÕES DE ARABINOSE, XILOSE E GLICOSE APÓS 72 HORAS DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA.	26

1. INTRODUÇÃO

O setor energético é um dos setores de maior relevância para a economia mundial e a demanda pelo consumo de combustíveis como fonte de energia vem crescendo cada vez mais. Uma alternativa para a produção de energia renovável é através do uso de matérias primas renováveis e os biocombustíveis, tais como bioetanol e biodiesel, são promissores para um desenvolvimento econômico sustentável (LUCARINI; DELQUIARO; VIDOCA; BRAZ, 2017).

As condições ambientais atuais e o mercado energético estão transformando a percepção da utilização de combustíveis fósseis em diversas áreas e setores energéticos. A matriz energética está se diversificando e o uso de fontes renováveis de energia corrobora para a eficiência energética nos diversos processos. O interesse em fontes alternativas de energia abrange a necessidade de mitigação das emissões de gases responsáveis pela problemática do efeito estufa (ANTERO; DA SILVA; DO VALE, 2019).

Nesse aspecto, a produção de biocombustíveis tem se destacado em todo o mundo, sendo o etanol apontado como uma das principais alternativas energéticas para o futuro. Ainda somos dependentes do petróleo como fonte predominante de energia, mas a disposição de fontes limpas de produção de energia terá seu espaço para desenvolvimento e pode mudar esse cenário (DELGADO; SOUSA; ROITMAN, 2017).

A recente busca por combustíveis renováveis que substituam o petróleo e não sejam tão agressivos ao meio ambiente faz da cana-de-açúcar um produto de importância global na procura por um desenvolvimento mais sustentável (DE ANDRADE; DE CARVALHO; DE SOUZA, 2009).

O etanol de segunda geração (2G) é uma fonte de energia limpa, renovável e com menor impacto ambiental. O etanol de segunda geração é um biocombustível promissor uma vez que sua produção envolve como matéria-prima os materiais lignocelulósicos, biomassa mais abundante do planeta, sendo a palha e sabugo de milho, a palha de trigo, a palha e bagaço da cana de açúcar entre outros, matérias-primas não competitivas no mercado alimentício, mas sim resíduos da agroindústria e com baixo custo associado (LUCARINI, DELQUIARO; VIDOCA; BRAZ, 2017).

A utilização da biomassa como recurso energético tem apresentado grande potencial, mas ainda é um desafio que instiga a curiosidade de vários pesquisadores devido à grande dificuldade de disponibilização das subunidades do complexo lignocelulósico; celulose, hemicelulose e lignina (DA SILVA; DA SILVA, 2016).

Logo, torna-se necessária e imprescindível uma etapa de pré-tratamento que possibilite alterações nas subunidades do complexo, expondo as moléculas de celulose, hemiceluloses e lignina a reações. O pré-tratamento é uma das etapas mais caras e difíceis do processo de utilização da biomassa como recurso energético. Dessa forma, estudos direcionados a novos pré-tratamentos são de extrema importância para analisar seu real efeito não só para melhorar o rendimento de reações, mas também para outros fins e para tornar mais viável a utilização dessa matéria-prima (CARVALHO; BIANCHI; DA SILVA BORGES; CARVALHO *et al.*, 2017).

Deste modo, neste trabalho executou-se a caracterização físico-química do bagaço da cana de açúcar e o pré-tratamento alcalino com peróxido de hidrogênio, visando a obtenção de açúcares fermentáveis e sua possível utilização para produção de etanol 2G.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Caracterizar físico-quimicamente o bagaço da cana-de-açúcar e avaliar o desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio para produção etanol lignocelulósico.

2.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar físico-quimicamente o bagaço da cana de açúcar;
- Executar o pré-tratamento com peróxido de hidrogênio;
- Aferir, através de cromatografia líquida, a eficiência da liberação de açúcares para produção de etanol do bagaço de cana-de-açúcar.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFIA

3.1. Cadeia Produtiva Agroenergética

Atualmente, houve um grande avanço nos estudos sobre produção de etanol de segunda geração, como forma de diminuir a dependência do petróleo e com isso aumentar a matriz energética. (COSTA, 2019) Com o bioetanol houve maior diversificação na matriz energética brasileira desde a época da criação do Proálcool, na década de 70. Esse biocombustível possibilitou ao país menor dependência dos combustíveis fósseis e tornou o Brasil referência mundial em tecnologias de produção de bioetanol a partir de cana-de-açúcar (SILVA; MIGOT; DA SILVA, 2020).

No Brasil a indústria sucroalcooleira e as agroindústrias de modo geral são uma excelente representação do desenvolvimento do País. Por outro lado, gera-se uma altíssima quantidade de resíduos como o bagaço de cana de açúcar e as palhas e cascas provenientes de grãos como milho, trigo, soja, entre outros. Dentre as várias biomassas disponíveis, a biomassa lignocelulósica é uma matéria-prima promissora devido a sua abundância, disponibilidade e baixo custo (LANGARO; HASAN; FIORESE; MUNHEIRO *et al.*, 2014).

A matriz energética brasileira está entre as mais limpas do mundo, com 43,5% de energia de fonte renovável (em 2016) e com a bioenergia (produtos derivados da cana-de-açúcar e óleo vegetal, nesse caso o biodiesel), representando mais de 18% (17,5% de participação da biomassa da cana e 1% do biodiesel) já em 2016 (DELGADO; SOUSA; ROITMAN, 2017).

A introdução dos biocombustíveis na matriz energética brasileira se deu com o etanol, a partir do Programa Nacional do Álcool (Proálcool) em 1975, que teve uma segunda etapa em 1979. Esse programa surgiu como uma resposta à crise do petróleo, com o objetivo de reduzir a dependência do país pelo óleo importado. Ou seja, antes mesmo de uma preocupação ambiental, o Brasil recorreu aos biocombustíveis por questões de segurança energética, em uma posição de vanguarda tecnológica em relação à maioria dos países do mundo (DELGADO; SOUSA; ROITMAN, 2017).

ROCHA; ORTEGA; KOLTERMANN e ORTEGA (2015) Afirmam que a produção de álcool no Brasil vem se firmando como principal fonte alternativa de energia. O aumento na produção da indústria canavieira gera conseqüentemente, uma maior quantidade de subprodutos, que representam um potencial significativo de uma fonte renovável no setor energético. No Brasil, a produção do etanol celulósico, advindo da palha e do bagaço da cana-de-açúcar, é capaz de aumentar em até 50% a produção de álcool no país, enfatizando a

importância tanto econômica quanto ambiental dessa possibilidade, responsável por transformar resíduo em recurso (SILVA; GOMES; DO NASCIMENTO, 2019).

3.2. Cana de Açúcar

A cana-de-açúcar é uma angiosperma, da família Poaceae e gênero *Saccharum*, que se caracteriza por ter caule em colmos e as folhas com sílica nas bordas. Típica de regiões com clima tropical e subtropical, a origem da cana-de-açúcar é incerta. No Brasil a cana-de-açúcar chegou trazida pelos portugueses, a quantidade de engenhos no litoral brasileiro logo aumentou rapidamente, fazendo do Brasil um grande produtor de cana-de-açúcar.(DA SILVA; MARESTONI, 2020) O Brasil é considerado o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e seus derivados (LANGARO; HASAN; FIORESE; MUNHEIRO *et al.*, 2014).

Com a cana-de-açúcar pode-se obter o combustível de primeira geração, por meio da fermentação de seu caldo açucarado, e o de segunda-geração, a partir de seu bagaço e palha (GRASEL; STIEHL; BERNARDI; HERPICH *et al.*, 2017).

A cana é usada no Brasil para produzir açúcar, etanol anidro em misturas de gasolina e etanol hidratado. O etanol hidratado é um alternativa de biocombustível à gasolina e é amplamente utilizada em automóveis no Brasil (CARVALHO; MORETTI; COLODETTE; BIZZO, 2020).

A atual expansão da produção de cana-de-açúcar e etanol no Brasil está atingindo novas regiões, como o estado de Goiás e Mato Grosso do Sul. A mais recente área de ocupação é conhecida pela sigla MATOPIBA, região que abrange os estados do Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia. Essas áreas ainda têm grande potencial e começaram a ser exploradas pela produção de grãos e, ultimamente, pela cultura da cana-de-açúcar. No Tocantins a produção de grãos e cana-de-açúcar tem-se intensificado por sua localização estratégica, que favorece a competitividade nas exportações e, também, na distribuição dos produtos a nível nacional. A produção de cana-de-açúcar no Tocantins é destinada à indústria sucroalcooleira. Faz-se importante ressaltar que o município de Pedro Afonso, conhecido por ser destaque na produção de grãos, especialmente, a soja, tem se tornado responsável pelo crescimento da participação do Estado na produção de cana-de-açúcar após a instalação da empresa BUNGE no município com a finalidade de produzir etanol (DE ABREU; NASCIMENTO, 2016).

3.3. Bagaço-da-cana-de-açúcar

No cenário brasileiro, a matéria-prima potencial para a produção de etanol de segunda geração é o bagaço de cana, que já é disponível nos sistemas convencionais de primeira geração (CARVALHO; MORETTI; COLODETTE; BIZZO, 2020).

Embora seja uma fonte de energia menos poluente, para cada tonelada de cana-de-açúcar produzida, 140 kg permanecem como resíduo na forma de bagaço de cana-de-açúcar. Atualmente, esse bagaço de cana é utilizado para geração de energia nas usinas, contudo, essa biomassa ainda tem o potencial de fornecer compostos de alto valor agregado, como o etanol de segunda geração. Para isso, é necessário realizar um processo de pré-tratamento que fracione os principais componentes do bagaço: celulose, hemicelulose e lignina (REGO; VALIM; VIEIRA; VILANI *et al.*, 2018).

NIJU e SWATHIKA (2019) afirmam que o bagaço da cana-de-açúcar é uma biomassa lignocelulósica composta de celulose, hemiceluloses, lignina e outros extrativos vegetais. A composição do bagaço geralmente difere, pois depende de vários fatores, como localização, variedade da cultura, composição química do solo, fertilizantes, condições climáticas e fatores físicos. Devido ao seu alto teor de celulose, pode ser usado para produção de bioetanol.

De acordo com DE OLIVEIRA; MIYASHIRO; SCHNEIDER; BONASSA *et al.* (2014) o bagaço de cana-de-açúcar é um resíduo proveniente do processo de moagem de cana, composta geralmente de 20-25 % de lignina, 25-30 % de polioses, 40-50 % de celulose onde, os componentes de menores percentuais são extrativos e cinzas.

3.4. Etanol de Segunda Geração

O Brasil é considerado o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e seus derivados (açúcar e etanol). A possibilidade de se produzir combustíveis derivados da maior fonte de carbono existente no planeta, a lignocelulose, incentivou grandes investimentos na indústria de biocombustíveis recentemente (LANGARO; HASAN; FIORESE; MUNHEIRO *et al.*, 2014).

Segundo DELGADO; SOUSA e ROITMAN (2017), o etanol é um álcool produzido usualmente pelo processo de fermentação de açúcares. O processo de produção mais simples, que envolve menos etapas, é o que emprega matérias-primas açucaradas, como a cana de açúcar, pois o açúcar a ser fermentado já está disponível. A biomassa deve passar por uma etapa de extração dos açúcares, o que pode ser feito por meio de processos de moagem ou

difusão, e depois segue para a fermentação. A produção de etanol a partir de matérias-primas contendo amido, como é o caso do milho e da mandioca, por exemplo, demanda uma etapa a mais, chamada de hidrólise, na qual o amido é quebrado em açúcar por meio de enzimas (hidrólise enzimática). Essas duas rotas de produção são consideradas convencionais e o álcool obtido é chamado de etanol de primeira geração.

Diversas matérias primas podem ser utilizadas na produção de etanol, as quais podem ser divididas em três categorias: sacaríneas, amiláceas e celulósicas. Na primeira classe estão envolvidas as fontes que possuem o açúcar sacarose (cana-de-açúcar, sorgo sacarino, beterraba, entre outros). No segundo grupo (amiláceos) têm-se os produtos compostos por amido (mandioca, cereais, sorgo, batata, etc.). Em última categoria têm-se as matérias primas celulósicas, na qual o etanol é produzido a partir da celulose existente em sua composição, destacando-se o eucalipto, bagaço de cana, casca de arroz, entre outros, o chamado etanol de segunda geração (ANTERO; DA SILVA; DO VALE, 2019).

O processo mais complexo é o da produção de etanol celulósico, ou de segunda geração, obtido a partir de biomassa celulósica, como o bagaço e a palha da cana. Os materiais celulósicos possuem uma estrutura rígida e ordenada, dificultando o acesso das enzimas ao substrato, sendo necessária uma etapa de pré-tratamento antes da hidrólise (DELGADO; SOUSA; ROITMAN, 2017).

A escolha de uma tecnologia eficiente de pré-tratamento é essencial para a viabilidade econômica do etanol celulósico, uma vez que essa etapa afeta o rendimento de todos os estágios subsequentes (DELGADO; SOUSA; ROITMAN, 2017).

3.5. Pré-tratamento e Hidrólise Enzimática

As etapas envolvidas na produção de biocombustíveis (etanol de segunda geração) e compostas químicos a partir de biomassa lignocelulósica consistem de preparo do material, pré-tratamento visando à quebra da lignina, fracionamento, hidrólise enzimática da celulose (sacarificação), fermentação dos açúcares obtidos na etapa de hidrólise, recuperação do produto obtido (LANGARO; HASAN; FIORESE; MUNHEIRO *et al.*, 2014).

A dificuldade de converter os materiais lignocelulósicos em açúcares é atribuída às substâncias químicas e características morfológicas da biomassa, e o pré-tratamento é realizado com o objetivo de aumentar a área superficial da biomassa, aumentando sua porosidade e reduzindo a cristalinidade da celulose (SANTOS-ROCHA; SOUZA; SILVA; CRUZ *et al.*, 2017).

Os materiais lignocelulósicos são resistentes à degradação; portanto, o pré-tratamento é necessário também para a quebra das moléculas e para separar a celulose da hemicelulose e da lignina, para que a hidrólise enzimática possa ser realizada, liberando Dglicose / D-xilose para fermentação de etanol. Apesar de haver muitas pesquisas em desenvolvimento, o pré-tratamento permanece uma das etapas mais caras do processo (SU; ZHAO; KHODADADI; LEN, 2020).

O pré-tratamento é eficaz quando minimiza os gastos de energia, evita danos físicos da biomassa durante o tratamento e é feito com um reagente de baixo custo. Dessa forma as etapas do tratamento são reduzidas e é possível ter um custo menor, menor impacto ambiental e maiores rendimentos na obtenção de biocombustíveis (SILVEIRA; MORAIS; DA COSTA LOPES; OLEKSZYSZEN *et al.*, 2015).

Após o pré-tratamento, a hidrólise enzimática ou química da celulose e hemicelulose libera Dglucose, hexose e pentose, respectivamente, como simples carboidratos fermentáveis. (SU; ZHAO; KHODADADI; LEN, 2020). Na hidrólise enzimática (sacarificação), as enzimas são adicionadas ao material pré-tratado para converter os polissacarídeos de biomassa em açúcares fermentáveis. (CARVALHO; MORETTI; COLODETTE; BIZZO, 2020). GRASEL; STIEHL; BERNARDI; HERPICH *et al.* (2017) afirmam que a hidrólise enzimática da celulose para a produção de etanol a partir de biomassas lignocelulósicas é metodologia muito utilizada porque apresenta, em condições ideais, rendimento satisfatório de glicose.

Apesar de ainda haver gargalos, muitos dos pontos críticos da tecnologia de segunda geração já foram solucionados, como o desenvolvimento de enzimas para a quebra das complexas estruturas da matéria-prima celulósica e de leveduras para a fermentação dos açúcares. (DELGADO; SOUSA; ROITMAN, 2017). Entretanto, é necessário investimentos para que os desafios, como o pré-tratamento da matéria-prima na produção de bioetanol 2G, sejam superados (SILVA; MIGOT; DA SILVA, 2020).

4. METODOLOGIA

As análises realizadas para caracterização físico-química do bagaço da cana de açúcar foram teor de umidade, cinza, extrativos, lignina, holocelulose e alfacelulose. A metodologia empregada foi desenvolvida por Moraes *et al*, (2010). Importante informar que todas as análises realizadas na etapa de caracterização e hidrólise enzimática foram executadas em triplicata.

4.1. Aquisição da Biomassa

Neste trabalho foi utilizado o resíduo sólido bagaço de cana-de-açúcar, provenientes dos processos industriais de moagem da cana-de-açúcar. As amostras foram gratuitamente fornecidas pela empresa Bunge, localizada no município de Pedro Afonso – TO. As amostras sólidas foram coletadas no pátio de estocagem da empresa, buscou-se coletar os resíduos mais recentes, a fim de evitar alterações químicas que podem ocorrer quando elas são afetadas pelos processos de intemperismo e pela fermentação natural, buscando preservar as características físico-químicas dos materiais.

4.2. Preparo Inicial da Biomassa

Após a coleta da amostra a mesma foi destinada ao Laboratório de Pesquisa em Química Ambiental e de Biocombustíveis – LAPEQ, da Universidade Federal do Tocantins, onde foram realizadas as análises para o desenvolvimento do presente projeto. A mesma foi desidrata em estufa a 65^a C até peso constante visando a remoção da umidade e triturada em um moinho de facas com peneira de mesh 20. As amostras foram acondicionado em saco plástico hermético e reservado para as análises.

4.3. Determinação do teor de umidade

A massa foi medida em um cadinho, recipiente inerte, sem tendência a absorver umidade e resistente a temperaturas acima de 100°C. A umidade foi feita em triplicata, portanto os três cadinhos foram lavados e secos na estufa. Em seguida foram mantidos em dessecador com sílica gel por pelo menos 30 minutos, para garantir o resfriamento até a temperatura ambiente. A partir desse ponto o manuseio do conjunto recipiente/amostra foi feito com pinça evitando a alteração da massa por gordura ou umidade. A massa do recipiente foi anotada. A balança foi utilizada na precisão de 0,1. O material vegetal foi pesado no recipiente em uma quantidade de aproximadamente 2,0 g e teve sua medida de massa anotada. Então o conjunto material-recipiente foi levado à estufa e permaneceu a $105 \pm 2^\circ\text{C}$, por três

horas. Decorrido esse tempo o conjunto foi retirado e posto em um dessecador com sílica gel por meia hora. Os três conjuntos então foram pesados e sua massa anotada. Para maior precisão e exatidão da análise, o conjunto retornou para a estufa por uma hora e o procedimento de resfriamento-pesagem foi repetido até a obtenção de uma massa constante. No total o conjunto material-recipiente foi levado à estufa cinco (05) vezes, totalizando sete (07) horas em estufa até atingir massa constante.

Com o conhecimento dos valores da massa do recipiente (MR), da massa da amostra úmida (MAU), da massa do conjunto recipiente/amostra úmida (MRAU) e da massa do conjunto recipiente/amostra seca (MRAS), foi possível o cálculo da massa da amostra seca (AS) e, conseqüentemente, a determinação do teor de umidade (TU%) em porcentagem, de acordo com a equação a seguir:

Eq. 1

$$\frac{(MRAU - MRAS) \times 100}{MAU} = TU\%$$

Onde:

MR: Massa do Recipiente

MAU: Massa da Amostra Úmida

MRAS: Massa do Conjunto recipiente/amostra seca

TU%: Teor de Umidade em Porcentagem

4.4. Determinação do Teor de Cinzas

Assim como na determinação do teor de umidade, pesou 2,0g do bagaço da cana-de-açúcar, levou-se a mufla com programação no aparelho para uma rampa com 9,6°C/min até que a temperatura atingisse 600°C. Após o decorrer de três horas, a temperatura foi reduzida para 200°C por mais uma hora. Com o conhecimento dos valores da massa do recipiente (MR), da massa da amostra (MA) e da massa do conjunto recipiente/amostra calcinada (MRAC), foi possível o cálculo da determinação do teor de cinzas totais (TC%), de acordo com a Equação 2 a seguir:

Eq. 2

$$\frac{MRAC - MR}{MA} \times 100\% = TC\%$$

Onde:

MA: Massa da Amostra

MR: Massa do Recipiente

MRAC: Massa do Conjunto recipiente/amostra seca

4.5. Determinação do teor de extrativos

A extração foi feita por Soxhlet, colocou-se um cartucho feito com papel filtro contendo 4,0g de bagaço de cana-de-açúcar. Ao balão de vidro, adicionou 200 mL de hexano. O conjunto balão- extrator foi colocado em uma manta aquecedora conectada ao condensador em um período de quatro horas de extração. O extrato foi transferido para uma placa de porcelana com a massa determinada. A placa de porcelana foi posta em uma estufa a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ permanecendo por uma hora. Com o conhecimento dos valores da massa do recipiente (MR), da massa da amostra (MA), da massa do conjunto recipiente/extrativos (MRE) e da massa do conjunto recipiente/resíduo de solvente (MRRS), foi possível o cálculo da determinação do teor de extrativos (TE%), de acordo com a Equação 3 a seguir:

Eq. 03

$$\frac{MRE - MRRS}{MA} \times 100\% = TE\%$$

Onde:

MRE: Massa do Conjunto Recipiente/Extrativos

MRRS: Massa do Conjunto Recipiente/Resíduo de Solvente

MA: Massa da Amostra

TE%: Teor de Extrativos

4.6. Determinação de Lignina

O teor de lignina foi estimado com adaptações realizadas com base nos procedimentos descritos por Moraes; Rosa; Marconcini (2010), onde, são adicionados 17 mililitros (mL) de ácido sulfúrico 72% em acuradamente 1 (um) grama (g) de amostra seca e, após 15 minutos de agitação vigorosa e cuidadosa, começou-se a marcar 24 horas de espera para o início da próxima etapa. Depois de decorrido esse tempo, adicionou-se água destilada até a diluição do ácido sulfúrico a 4%, e o conteúdo foi transferido, quantitativamente, para um balão e levado à manta aquecedora por um período de 4 horas. Transcorrido o tempo, o conteúdo do balão foi filtrado a vácuo e o balão foi sendo lavado com mais água destilada, sob agitação constante, para evitar perda de precipitado. O conteúdo retido no filtro foi lavado com mais água destilada até que o pH do filtrado ficasse neutro. Em seguida, o filtrado foi mantido em

estufa a 105° C até peso constante. Com base na massa do funil limpo e seco (MF); na massa da amostra (MA); na massa do funil somada à massa de lignina, após a secagem em estufa (MFL); e na massa do funil com cinzas, após calcinação em mufla (MFC), pode-se calcular o teor de cinzas (TC%) e o teor de lignina insolúvel (TLI%), conforme as fórmulas a seguir:

Eq. 4:

$$\frac{MFC - MF}{MA} \times 100\% = TC\%$$

Eq. 5:

$$\left(\frac{MFL - ML}{MA} \times 100\% \right) - TC\% = TLI\%$$

Onde:

MF: massa do funil limpo e seco;

MA: massa da amostra;

MFC: massa do funil com cinzas;

MFL: massa do funil + lignina (após secagem em estufa);

TC%: teor de cinzas.

4.7. Determinação do Teor de Celulose

A determinação do teor de celulose se deu com base em adaptações dos trabalhos realizados por RODRIGUES E PINTO; CALLONI; SILVA (2013). Para a quantificação de celulose presentes nas biomassas utilizadas, pesou-se acuradamente 1 (um) grama (g) das amostras em tubo de ensaio, e adicionou-se reagente ácido (composto por 72,73% de ácido acético glacial; 18,18% de água destilada e 9,09% de ácido nítrico). Os tubos de ensaio foram tampados e levados ao banho Maria por 30 min. Após este processo, os tubos foram retirados do banho Maria e resfriados até atingir a temperatura de 90°C e adicionou-se álcool etílico. Após o resfriamento procedeu-se com a filtração a vácuo, sendo que o material foi lavado com etanol, tolueno e éter sulfúrico todos quentes. Após a filtração o papel de filtro com a amostra foi colocado em um cadinho (previamente calcinado) e levado à estufa a 105° C, por 4 horas. Passado o tempo o sistema (cadinho; papel de filtro e amostra) foi pesado e em seguida submetido a calcinação em forno mufla a 550° C por 15 min. O teor de celulose foi determinado com base na equação descrita a seguir:

Eq. 6

$$\frac{[(Mi - P - Mf)] \times 100}{mA}$$

Onde:

Mi: massa do cadinho + papel + amostra;

P: massa do papel de filtro (papel quantitativo);

Mf: massa do cadinho+ cinzas;

MA: massa da amostra.

4.8. Pré-tratamento com peróxido de hidrogênio

Para a deslignificação foi utilizado o pré-tratamento químico com peróxido de hidrogênio alcalino e adaptado por LUCARINI et al., (2017a). Foram pesadas 10 g de amostras de bagaço triturado e adicionados 250 mL de solução de peróxido de hidrogênio 2% em massa (proporção 1:25). Ajustou-se o pH da suspensão para 11,5 utilizando escamas de hidróxido de sódio. Posteriormente a mistura reacional foi agitada a 200 rpm, à temperatura de 30°C até completar 24 horas. Após esse período, a biomassa foi filtrada e o componente residual lavado até a água de lavagem apresentar pH neutro. Posteriormente, o material obtido permaneceu em estufa a 60°C até massa constante.

4.9. Hidrólise Enzimática

Submeteu-se diretamente a amostra líquida com pré tratamento (TP), sem pré-tratamento (ST) à hidrólise enzimática, após a correção do pH da mesma com ácido clorídrico (HCl) que ficou entre 4,75-5,25. A enzima utilizada na etapa de hidrólise enzimática foi a Cellic CTec2, batch VCNI0013, que foi uma doação cortês da empresa Novozymes Bioenergy ao Laboratório de Pesquisa de Química da Universidade Federal do Tocantins. Conforme as descrições da empresa, esta enzima é um complexo de celulases agressivas (com alto percentual de β -glucosidase e hemicelulase) que visa degradar celulose em açúcar fermentescível. Para início da hidrólise enzimática colocou-se as amostras em erlenmeyer e corrigiu-se o pH de todas as amostras, até aproximadamente 5,0 (cinco). O conjunto foi encaminhado para a incubadora tipo Shaker, com temperatura na faixa de 50-55° C e agitação de 200 rpm, adicionando-se então a enzima comercial celulase CTec2 (12 μ L), o sistema ficou encubado por 72 horas.

Após este processo a solução foi filtrada, sendo que a biomassa residual foi descartada e alíquotas do líquido filtrado, onde se encontram os carboidratos, foram estocadas em tubos

ependorf, em freezer a -20°C , para posterior análise de açúcares por cromatografia líquida (CLAE).

4.10. Nomenclatura das amostras

Para a realização deste trabalho optou-se pela divisão da amostras em amostra sem pré-tratamento (ST) e amostra com pré-tratamento e hidrólise enzimática (TP), conforme tabela:

Tabela 1 – Nomenclatura adotada para as biomassas analisadas.

Biomassa Lignocelulósica	Nomenclatura adotada
Amostra sem pré tratamento	ST
Amostra com pré-tratamento	TP

Fonte: próprio autor (2020)

4.11. Cromatografia Líquida

A determinação e quantificação do perfil de carboidratos deu-se por cromatografia líquida de altaeficiência – CLAE. Os componentes de carboidratos nas amostras foram separados nas seguintes condições cromatográficas: equipamento marca Agilent, modelo 1260 infinity II, equipado com detector de índice de refração a 40°C , usando uma coluna cromatográfica Agilent Supelcogel C-610H (30cm x 7.8mm) – Sigma-Aldrich, pré coluna Supelguard C610H (5cm x 4,6mm) – sigma – Aldrich, a fase móvel utilizada foi 0.1% H_3PO_4 (água deionizada e ácido fosfórico), com fluxo (vazão da fase móvel) de $0,5\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, tempo total de corrida de 18 minutos e temperatura de forno de 40°C . Glicose foi usada como padrão.

5. RESULTADOS E ANÁLISE

5.1. Caracterização da composição físico-química do bagaço de cana-de-açúcar

A caracterização da composição físico-química do material lignocelulósico é fundamental para a eficiência das etapas de pré-tratamento e hidrólise enzimática. O tipo de pré-tratamento empregado é um fator importante e sua escolha irá depender das características e dos componentes químicos do material lignocelulósico, tendo como finalidade evitar a formação de coprodutos inibidores da hidrólise e assim otimizar o rendimento na produção de açúcares (CHANDRA et. al, 2012). O bagaço da cana é composto de cinzas, extrativos, ácidos urônicos, grupos acetil, açúcares (glucanos, xilanos, galactanos, mananos e arabinanos) e lignina (CARVALHO; MORETTI; COLODETTE e BIZZO (2020)).

A Tabela 2 apresenta a composição físico-química do bagaço da cana-de-açúcar empregada no presente trabalho, todas as análises foram feitas em triplicata:

Tabela 2: Composição físico-química do bagaço da cana de açúcar.

Componentes	Concentração (%)
Celulose	73,3
Lignina	23,95
Cinzas	7,62
Umidade	5,72
Extrativos	2,10

Fonte: próprio autor (2020)

Os resultados de obtidos estão em conformidade com as características da biomassa bagaço de cana de açúcar. SOARES; DO PATROCÍNIO e DA SILVA (2017) afirmam que na composição da biomassa da cana, existe um predomínio da holocelulose, (celulose + hemicelulose), seguido pela lignina. As biomassas vegetais contêm grandes quantidades de celulose, além de outros polissacarídeos hidrolisáveis em glicose para fermentação a álcool combustível ou para a produção de produtos químicos de interesse.

5.2 Pré-tratamento alcalino com peróxido de hidrogênio

Dentro do processo de obtenção de etanol 2G o pré-tratamento é considerado uma das etapas mais importantes na produção de etanol da biomassa lignocelulósica. Pré-tratamentos

diferentes levam a materiais com características diferentes, influenciando a hidrólise enzimática e etapas de fermentação. O pré-tratamento com peróxido de hidrogênio é um tratamento alcalino. LAZARINI e MARCONCINI (2019) Em seu trabalho sobre a caracterização estrutural de fibras de bagaço da cana-de-açúcar geneticamente modificados constataram que os tratamentos alcalinos elevaram o índice de cristalinidade, mais acentuadamente que os tratamentos ácidos, dado que removem grande parte da lignina, que é amorfa, aumentando as frações de cristais de celulose no total da amostra, os efeitos dos tratamentos alcalinos são mais evidentes na remoção da lignina.

Figura 1: Biomassa pré-tratada



Fonte: próprio autor (2020).

Após o pré-tratamento com peróxido de hidrogênio as amostras passaram pela hidrólise enzimática, etapa necessária para que as moléculas de celulose, hemicelulose e lignina fossem quebradas e o pré-tratamento pudesse reagir com a biomassa.

Figura 2: Hidrólise enzimática da biomassa.



Fonte: próprio autor (2020).

As reações de hidrólise enzimática foram realizadas visando à produção de açúcares fermentescíveis, a fim de detectar a efetividade do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio.

Após o pré-tratamento com peróxido de hidrogênio as amostras passaram por cromatografia líquida e os resultados mostram a presença de açúcares. Dentre os açúcares encontrados estão a arabinose, xilose e glicose. Os resultados da hidrólise enzimática de 72 horas após o pré-tratamento com peróxido de hidrogênio são mostrados na tabela abaixo:

Tabela 3 – Produtos da Hidrólise da Biomassa.

Produto da Hidrólise da Biomassa	ST	TP
Arabinose	ND	ND
Xilose	ND	D
Glicose	ND	D

D: detectado ; ND: não detectado.

Fonte: Próprio autor (2020)

O principal objetivo de um pré - tratamento é remover a lignina da biomassa lignocelulósica . A lignina atua como uma barreira natural que impede que os microorganismos cheguem aos carboidratos, a fim de quebrá-los em açúcares fermentáveis. (REGO; VALIM; VIEIRA; VILANI *et al.*, 2018)

Após a hidrólise enzimática das duas biomassas e em comparação com a biomassa sem pré-tratamento já fica evidente que o tratamento com peróxido de hidrogênio é eficaz na quebra da lignina e disponibilização de açúcares fermentescíveis. Abaixo temos as concentrações encontradas de arabinose, xilose e glicose nas amostras sem pré-tratamento e com pré-tratamento alcalino com peróxido de hidrogênio:

Tabela 4 - Concentrações de arabinose, xilose e glicose após 72 horas de hidrólise enzimática.

Amostra	Concentração de arabinose (g.L ⁻¹)	Concentração de xilose (g.L ⁻¹)	Concentração de glicose (g.L ⁻¹)
ST I	0,050465	0,248819	0,06336
ST II	0,020748	0,099965	0
ST III	0,014826	0,108041	0,02382
TP I	0,030637	0,43389	1,2478
TP II	0,070371	1,099416	3,195
TP III	0,059696	1,164379	2,8439

Fonte: Próprio autor (2020)

As concentrações de açúcares verificadas nas análises foram satisfatórias evidenciando que o pré-tratamento adotado foi eficiente visto que se as condições proporcionam alto rendimento, gasto energético mínimo, sendo sustentável e economicamente viável, o pré-tratamento é considerado eficiente.

O trabalho de REGO *et al.*, (2018) utilizou o tratamento com peróxido de hidrogênio variando as temperaturas e concentrações de peróxido de hidrogênio na biomassa obtendo 1,56 (g.L⁻¹) de glicose e 0,9 (g.L⁻¹) de xilose em condições de concentração e temperatura semelhantes as executadas neste trabalho. Quando comparados pode-se notar que a efetividade na quebra da lignina e disponibilização de glicose e xilose é semelhante e que o pré-tratamento foi efetivo.

A partir dos resultados apresentados, é possível afirmar que o pré-tratamento utilizado neste trabalho foi eficiente em relação à disponibilidade da fração celulósica, visto que há uma quantidade significativa de açúcares extraídos. Pode-se observar que glicose e xilose apresentam maior quantidade, sendo esses açúcares os que têm maior relevância, uma vez que a glicose é representativa da fração celulósica e a xilose é predominante na hemicelulose. As concentrações de arabinose presentes nas amostras foram insignificantes.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A execução do presente trabalho conseguiu alcançar os objetivos e foi possível executar todas as etapas propostas inicialmente. O resultado da caracterização físico-química do bagaço da cana-de-açúcar apresentou dados semelhantes a composição química já conhecida da biomassa. O pré-tratamento com peróxido de hidrogênio obteve resultados muito positivos tornando a celulose suscetível a ação enzimática e a cromatografia líquida mostraram a presença significativa de açúcares fermentescíveis, glicose e xilose, na amostra pré-tratada.

Ademais, a biomassa analisada destacou-se com potencial para aplicação na produção de açúcares fermentescíveis e quando estudado quanto à produção de etanol e seu rendimento, o pré-tratamento da biomassa mostrou-se significativamente propício ao desenvolvimento de metodologias para uso em escalas experimentais maiores.

6.1. Trabalhos futuros

Ao longo do desenvolvimento deste trabalho, puderam ser identificadas algumas possibilidades de melhoria e de continuação a partir de futuras pesquisas, as quais incluem: variações de tempo da hidrólise enzimática para verificar a sua eficácia em tempos menores, tornando o pré-tratamento mais eficiente.

Como os resultados obtidos foram satisfatórios, o presente trabalho se tornará um artigo de revista e será enviado para publicação.

7. REFERÊNCIAS

- ANTERO, R. V. P.; DA SILVA, D. B.; DO VALE, A. T. Balanço energético da produção de etanol a partir da cana-de açúcar e aspectos da produção brasileira atual. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, 7, n. 3, p. 399-412, 2019.
- CARVALHO, D. J.; MORETTI, R. R.; COLODETTE, J. L.; BIZZO, W. A. Assessment of the self-sustained energy generation of an integrated first and second generation ethanol production from sugarcane through the characterization of the hydrolysis process residues. **Energy Conversion and Management**, 203, p. 112267, 2020.
- CARVALHO, J. A.; BIANCHI, M. L.; DA SILVA BORGES, W. M.; CARVALHO, M. Z. *et al.* Efeito do pré-tratamento corona em materiais lignocelulósicos. **ForScience**, 5, n. 2, 2017.
- COSTA, L. F. M. Degradação lignocelulósica por hidrólise enzimática visando a produção de Etanol. **Revista Técnico Científica do IFSC**, 2, n. 7, p. 52-61, 2019.
- DA SILVA, I. B. G.; MARESTONI, L. D. Produção do etanol de cana-de-açúcar como tema interdisciplinar no ensino médio. **EDUCA-Revista Multidisciplinar em Educação**, 7, n. 17, p. 532-552, 2020.
- DA SILVA, R. L.; DA SILVA, A. P. Bioenergia da biomassa residual: potencial energético da combustão da casca de arroz em Dourados-MS e região. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, 5, n. 1, 2016.
- DE ABREU, Y. V.; NASCIMENTO, H. R. A produção da cana-de-açúcar e de etanol nas novas fronteiras agrícolas: o estado do Tocantins. **Revista Liberato**, 17, n. 27, p. 49-64, 2016.
- DE ANDRADE, E. T.; DE CARVALHO, S. R. G.; DE SOUZA, L. F. Programa do Proálcool e o etanol no Brasil. **Engevista**, 11, n. 2, 2009.
- DE OLIVEIRA, O. d. J.; MIYASHIRO, C. S.; SCHNEIDER, L. T.; BONASSA, G. *et al.* Utilização do bagaço de cana-de-açúcar como adsorvente na redução da acidez de óleo residual para produção de biodiesel. **Revista Tecnológica**, p. 83-91, 2014.

DELGADO, F.; SOUSA, M. E. d.; ROITMAN, T. Biocombustíveis. 2017.

GRASEL, F.; STIEHL, A.; BERNARDI, L.; HERPICH, T. *et al.* Inovação em Biorrefinarias I. Produção de Etanol de Segunda Geração a partir de Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum*) e Bagaço de Cana-de-Açúcar (*Saccharum officinarum*). **Revista Virtual de Química**, 9, n. 1, p. 4-14, 2017.

LANGARO, C.; HASAN, S. D. M.; FIORESE, M. L.; MUNHEIRO, P. M. *et al.* Otimização do processo de sacarificação do bagaço de cana-de-açúcar por hidrólise enzimática com celulases fúngicas. **Revista Tecnológica**, p. 53-62, 2014.

LAZARINI, R.; MARCONCINI, J., 2019, **Caracterização estrutural de fibras de bagaço de cana-de-açúcar quimicamente modificadas**. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE INSTRUMENTAÇÃO AGROPECUÁRIA, 4., 2019, São Carlos

LUCARINI, A. C.; DELQUIARO, A. C. T.; VIDOCA, L. C. P. T.; BRAZ, R. *et al.* ESTUDO DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA PALHA DA CANA DE AÇÚCAR PARA PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, 3, n. 2, p. 242-253, 2017.

MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. F.; MARCONCINI, J. M. Procedimentos para análise lignocelulósica. - Campina Grande: **Embrapa Algodão**, 2010.

NIJU, S.; SWATHIKA, M. Delignification of sugarcane bagasse using pretreatment strategies for bioethanol production. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, p. 101263, 2019.

REGO, A. S.; VALIM, I. C.; VIEIRA, A. A.; VILANI, C. *et al.* Optimization of sugarcane bagasse pretreatment using alkaline hydrogen peroxide through ANN and ANFIS modelling. **Bioresource technology**, 267, p. 634-641, 2018.

ROCHA, S. A. T. F.; ORTEGA, J. M.; KOLTERMANN, P. I.; ORTEGA, L. M. Análise da viabilidade de sistemas de geração de energia elétrica a partir de subprodutos do setor sucroalcooleiro. **Revista Eletrônica Gestão e Saúde**, n. 2, p. 1087-1107, 2015.

SANTOS-ROCHA, M.; SOUZA, R.; SILVA, G.; CRUZ, A. *et al.* Hydrothermal pretreatment of corn residues for second generation ethanol production. **Scientia Plena,[Sergipe]**, 3, p. 1-17, 2017.

SILVA, F. S. G.; GOMES, W. P. C.; DO NASCIMENTO, D. D. Avaliação da fermentação de leveduras visando produção de etanol de segunda geração. **Bioenergia em Revista: Diálogos (ISSN: 2236-9171)**, 9, n. 2, 2019.

SILVA, F. S. G.; MIGOT, B. C.; DA SILVA, F. C., 2020, **A importância do bioetanol dentro do contexto brasileiro, comparação de sua síntese a partir de cana-de-açúcar e milho e bioetanol de segunda geração.** In: JORNADA CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA FATEC DE BOTUCATU, 8., 2019

SILVEIRA, M. H. L.; MORAIS, A. R. C.; DA COSTA LOPES, A. M.; OLEKSZYSZEN, D. N. *et al.* Current pretreatment technologies for the development of cellulosic ethanol and biorefineries. **ChemSusChem**, 8, n. 20, p. 3366-3390, 2015.

SIQUEIRA, L. N.; GUARDA, E. A.; GUARDA, P. M.; SILVA, R. B. *et al.* Rendimento de hidrólise e produção de etanol lignocelulósico a partir de biomassa de capim elefante. **Journal of bioenergy and food science**, 3, n. 4, p. 191-196, 2016.

SOARES, S.; DO PATROCÍNIO, A. B.; DA SILVA, F. C., 2017, **Desenvolvimento de uma rota tecnológica para produção de etanol celulósico de segunda geração de bagaço de cana-de-açúcar.** In: MAGNONI JÚNIOR, L.; STEVENS, D.; SILVA, WTL da; VALE, JMF do; PURINI, SR

SU, T.; ZHAO, D.; KHODADADI, M.; LEN, C. Lignocellulosic biomass for bioethanol: Recent advances, technology trends and barriers to industrial development. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, 2020.

