

**CAROLINA GONÇALVES**

**APLICAÇÃO DE AGENTES OXIDANTES NO PRÉ-TRATAMENTO DO  
BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E SUA INFLUÊNCIA NA  
SACARIFICAÇÃO DA CELULOSE.**

**SÃO CAETANO DO SUL**

**2009**

**CAROLINA GONÇALVES**

**APLICAÇÃO DE AGENTES OXIDANTES NO PRÉ-TRATAMENTO DO  
BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E SUA INFLUÊNCIA NA  
SACARIFICAÇÃO DA CELULOSE.**

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia para a obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos.

Linha de Pesquisa: Análise e Controle de Processos Químicos.

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Fejfar

**SÃO CAETANO DO SUL**

**2009**

Gonçalves, Carolina

Aplicação de Agentes Oxidantes no Pré-Tratamento do Bagaço de Cana-de-Açúcar e sua Influência na Sacarificação da Celulose / Carolina Gonçalves. – São Caetano do Sul, SP: Escola de Engenharia Mauá, 2009.

73 p.

Dissertação de Mestrado – Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, SP, 2009. Orientador: Prof. Dr. José Luiz Fejfar.

1. Celulose 2. Biomassa lignocelulósica 3. Bioetanol 4. Fenton 5. Sacarificação 6. Deslignificação I. Fejfar, José Luiz. II. Instituto Mauá de Tecnologia. Centro Universitário. Escola de Engenharia Mauá. III. Título

**CAROLINA GONÇALVES**

**APLICAÇÃO DE AGENTES OXIDANTES NO PRÉ-TRATAMENTO DO  
BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E SUA INFLUÊNCIA NA  
SACARIFICAÇÃO DA CELULOSE.**

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia para a obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos.

Linha de Pesquisa: Análise e Controle de Processos Químicos.

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Fejfar

Banca examinadora:

Prof. Dr. José Luiz Fejfar  
Orientador  
Escola de Engenharia Mauá

Prof. Dr. Leo Kunigk  
Escola de Engenharia Mauá

Profa. Dra. Solange Kazumi Sakata  
Universidade de São Paulo

**SÃO CAETANO DO SUL**

**2009**

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, que sempre me incentivaram a continuar estudando.

Ao meu namorado, por estar sempre ao meu lado.

Ao Prof. Dr. José Luiz Fejfar, por todo tempo que dedicou a esse trabalho.

A todos os técnicos do laboratório que me ajudaram com os experimentos, especialmente a Natasha.

A todo o pessoal da biblioteca e a Margareth, que me ajudaram de diversas maneiras.

A Deus, que sempre guiou os meus passos, e hoje me concede mais essa graça.

## RESUMO

O bagaço da cana-de-açúcar é constituído de material lignocelulósico, que pode ser hidrolisado, gerando unidades de açúcares simples. Esses açúcares são facilmente fermentados e convertidos em etanol, mas os processos atuais de hidrólise da biomassa lignocelulósica ainda esbarram em vários obstáculos e oferecem aos pesquisadores uma série de desafios tecnológicos, pois as lignoceluloses são resistentes à hidrólise e são necessários pré-tratamentos para tornar a celulose acessível. O pré-tratamento é considerado uma das etapas mais caras e menos desenvolvidas no processo de conversão da biomassa em etanol.

O desenvolvimento de novas tecnologias e otimização dos processos atuais são as chaves para viabilizar a produção de etanol a partir do bagaço da cana-de-açúcar, o que aumentará a capacidade de produção de etanol não só no Brasil, mas em todo o mundo, dado que a biomassa lignocelulósica é a matéria prima mais abundante no planeta.

O objetivo desse trabalho é avaliar a aplicação de agentes oxidantes como pré-tratamento no bagaço de cana-de-açúcar e sua influência na sacarificação da celulose. O efeito esperado de agentes oxidantes na biomassa é a oxidação da lignina e hidrólise das hemiceluloses, facilitando a posterior hidrólise da celulose.

Nos experimentos realizados, as amostras de bagaço de cana-de-açúcar foram tratadas com reagente Fenton, soluções de peróxido de hidrogênio e peróxido de hidrogênio alcalino. Foram comparados os resultados de teor de açúcar no hidrolisado, perda de massa das amostras após o pré-tratamento, teor de lignina Klason após o pré-tratamento e teor de açúcar nas soluções oxidantes.

O pré-tratamento com reagente Fenton se mostrou ineficiente na remoção de lignina, mas provocou hidrólise de parte das hemiceluloses. O pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino se mostrou mais eficaz na remoção de lignina que os demais métodos estudados, porém provocou degradação dos açúcares hidrolisados.

Palavras-chave: celulose, biomassa lignocelulósica, bioetanol, Fenton, sacarificação, deslignificação.

## ABSTRACT

Sugarcane bagasse is composed by lignocellulosic material that can be hydrolyzed to sugar monomers. These sugar monomers are easily fermented and converted to ethanol. As the available hydrolysis processes for lignocellulosic biomass aren't efficient enough, there is a great interest in improving them. Lignocellulosic biomass is resistant to hydrolysis and the pre-treatments are usually required to make cellulose accessible for hydrolysis. The pretreatment is one of the most expensive and less developed steps in the process for converting biomass to ethanol.

The development of new technologies and improvement of current processes are the key for making ethanol production from sugarcane bagasse feasible. It will increase the ethanol production capacity, not only in Brazil, but worldwide, since lignocellulosic biomass is the most plentiful raw material on earth.

The objective of this work is to evaluate the use of oxidant agents as a pretreatment for sugarcane bagasse and its influence on cellulose saccharification. The expected effect of oxidant agents in biomass is the oxidation of lignin and hydrolysis of hemicelluloses, which improves hydrolysis of cellulose.

In these experiments, samples of sugarcane bagasse were treated with Fenton's reagent, hydrogen peroxide e alkaline hydrogen peroxide. The results of sugar content in the hydrolisate, mass loss after pretreatment, Klason lignin content after pretreatment, and the sugar content in the oxidant solutions were compared.

The pretreatment with Fenton's reagent wasn't effective for removing lignin, but it's caused the hydrolysis of part of the hemicelluloses. The alkaline hydrogen peroxide showed to be more effective for removing lignin than all the other studied methods, although it has caused degradation of most part of hydrolysed sugars.

Key-words: cellulose, lignocellulosic biomass, Fenton, saccharification, bioethanol, delignification.

## FIGURAS

Figura 1	Fluxograma conceitual de uma biorrefinaria de cana-de-açúcar	20
Figura 2	Fórmula estrutural da D-glicose.	23
Figura 3	Representação espacial da $\beta$ -D-glicose.	24
Figura 4	Cadeia da celulose.	25
Figura 5	Monossacarídeos que compõe as hemiceluloses.	26
Figura 6	Estrutura da arabinoxilana.	26
Figura 7	Precusores da lignina.	27
Figura 8	Estrutura parcial da lignina	28

## TABELAS

Tabela 1	Composição típica de diversas fontes lignocelulósicas	22
Tabela 2	Possíveis combinações entre agente oxidante e catalisador	36
Tabela 3:	Condições de teste do pré-tratamento com reagente Fenton e peróxido de hidrogênio	47
Tabela 4	Condições de teste do pré-tratamento com soluções 15 e 60 mM	51
Tabela 5	Condições de teste: comparativo entre pré-tratamentos com H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> alcalino e reagente Fenton	54
Tabela 6	Resultados de umidade e substâncias solúveis no bagaço moído	56
Tabela 7	Resultado da hidrólise das amostras submetidas ao pré-tratamento com H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e reagente Fenton	57
Tabela 8	Determinação de lignina Klason nas amostras tratadas com H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e reagente Fenton com soluções 15 e 60 mM	58
Tabela 9	Perda de massa nas amostras tratadas com H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> alcalino e reagente Fenton	65
Tabela 10	Determinação de lignina em amostras tratadas por 48 horas com reagente Fenton, peróxido de hidrogênio alcalino e água	68
Tabela 11	Determinação de açúcares redutores totais nas amostras tratadas por 48 horas com reagente Fenton, peróxido de hidrogênio alcalino e água.	70

## GRÁFICOS

Gráfico 1	Curva de calibração construída com padrões de D-glicose.	49
Gráfico 2	Resultados médios do teor de lignina Klason após o pré-tratamento com reagente Fenton e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> com soluções 15 e 60 mM.	59
Gráfico 3	Comparativo de perda de massa em amostras tratadas com soluções de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 2% em diversas condições e amostra tratada com água.	
Gráfico 4	Comparativo de perda de massa entre amostras tratadas com soluções de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 4% em diversas condições e amostra tratada com água.	
Gráfico 5	Perda de massa provocada pelo peróxido de hidrogênio alcalino.	
Gráfico 6	Perda de massa provocada pelo reagente Fenton.	
Gráfico 7	Teor de lignina Klason em amostras tratadas por 48 horas com água, reagente Fenton e peróxido de hidrogênio alcalino.	

## EQUAÇÕES

Equação 1	Reação Fenton	38
Equação 2	Reação entre o radical hidroxila e o íon $\text{Fe}^{2+}$	38
Equação 3	Reação entre o peróxido de hidrogênio e o íon $\text{Fe}^{3+}$	38
Equação 4	Reação entre o radical peroxila e o íon $\text{Fe}^{3+}$	38
Equação 5	Reação entre o radical hidroxila e o peróxido de hidrogênio	38
Equação 6	Cálculo do teor de umidade	46
Equação 7	Cálculo do teor de substâncias solúveis	46
Equação 8	Cálculo do teor de lignina Klason	52
Equação 9	Cálculo de perda de massa	55

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1	Etanol.....	17
2.2	Produção de etanol no Brasil .....	18
2.3	Combustíveis .....	20
2.4	Biorrefinarias.....	21
2.5	Aspectos ambientais.....	22
2.6	Biomassa lignocelulósica.....	23
2.7	Bagaço de cana-de-açúcar .....	24
2.8	Celulose.....	24
2.9	Hemiceluloses.....	26
2.10	Lignina .....	28
2.11	Pré-Tratamento da Biomassa Lignocelulósica.....	29
2.11.1	Métodos Físicos.....	30
2.11.1.1	Pulverização Mecânica.....	30
2.11.2	Métodos Físico-Químicos .....	30
2.11.2.1	Explosão por Vapor ou Auto-hidrólise .....	30
2.11.2.2	Explosão por vapor de amônia (AFEX) .....	31
2.11.3	Métodos Biológicos.....	31
2.11.3.1	Fungo da podridão branca.....	31

2.11.4	Métodos Químicos .....	32
2.11.4.1	Pré-hidrólise ácida .....	32
2.11.4.2	Pré-Tratamento Alcalino .....	33
2.11.4.3	Processo Organosolv .....	33
2.11.4.4	Ozonólise .....	34
2.11.4.5	Ácido Peracético .....	35
2.11.4.6	Oxidação Úmida .....	35
2.11.4.7	Peróxido de Hidrogênio Alcalino .....	36
2.11.4.8	Processos Oxidativos Avançados .....	37
2.11.4.9	Reagente Fenton .....	38
2.12	Hidrólise ácida .....	40
2.13	Detoxificação .....	41
2.14	Hidrólise enzimática .....	41
2.15	Fermentação alcoólica .....	42
3	MATERIAIS E MÉTODOS .....	44
3.1	Materiais .....	44
3.1.1	Bagaço de cana-de-açúcar .....	44
3.1.2	Água .....	44
3.1.3	Vidraria .....	44
3.1.4	Reagentes .....	44
3.1.5	Equipamentos .....	45
3.2	Métodos .....	46

3.2.1	Pré-tratamento com reagente Fenton e peróxido de hidrogênio seguido de hidrólise ácida. ....	46
3.2.1.1	Preparação do bagaço de cana-de-açúcar.....	46
3.2.1.2	Determinação de umidade e dos teores de sólidos não voláteis e solúveis no bagaço de cana de açúcar.....	46
3.2.1.3	Pré-tratamento.....	47
3.2.1.4	Hidrólise.....	48
3.2.1.5	Detoxificação .....	49
3.2.1.6	Preparação do reagente DNS.....	49
3.2.1.7	Determinação do teor de açúcares redutores totais .....	49
3.2.2	Pré-tratamento com reagente Fenton e peróxido de hidrogênio seguido de determinação de lignina Klason. ....	50
3.2.2.1	Preparação do bagaço de cana-de-açúcar.....	50
3.2.2.2	Preparo das soluções oxidantes.....	51
3.2.2.3	Pré-Tratamento.....	51
3.2.2.4	Determinação do teor de lignina Klason .....	52
3.2.3	Estudo comparativo entre pré-tratamentos com reagente Fenton, peróxido de hidrogênio e peróxido de hidrogênio alcalino.....	53
3.2.3.1	Preparo das soluções .....	54
3.2.3.2	Pré-Tratamento.....	55
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	57
4.1	Pré-tratamento com reagente Fenton e peróxido de hidrogênio seguido de hidrólise ácida.....	57
4.1.1	Determinação de umidade e substâncias solúveis no bagaço moído..	57

4.1.2	Resultados da hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar tratado com reagente Fenton e peróxido de hidrogênio.....	57
4.2	Determinação de lignina Klason em amostras tratadas com reagente Fenton e peróxido de hidrogênio alcalino .....	59
4.3	Comparativo entre amostras tratadas com reagente Fenton, peróxido de hidrogênio e peróxido de hidrogênio alcalino.....	61
4.3.1	Determinação de perda de massa no pré-tratamento.....	61
4.3.2	Determinação de lignina Klason nas amostras repetidas .....	64
4.3.3	Análise de açúcares redutores totais na solução oxidante .....	66
5	CONCLUSÃO .....	67

## 1 INTRODUÇÃO

A necessidade da substituição dos combustíveis fósseis por combustíveis produzidos a partir de fontes renováveis decorre de uma série de razões econômicas, ambientais e geopolíticas. A dependência do petróleo como fonte de combustível para automóveis é um grande problema na maioria dos países industrializados dada a instabilidade política de muitas das nações produtoras e o aumento da demanda por combustível em todo mundo. Além disso, a pressão sobre os países industrializados no sentido de diminuir as emissões de dióxido de carbono na atmosfera vem aumentando e as metas de redução tendem a tornar-se cada vez mais duras.

O etanol obtido através de processo fermentativo é considerado um biocombustível, pois as matérias-primas são renováveis, e pode ser utilizado como combustível em veículos sozinho, em misturas com metanol ou adicionado à gasolina. No Brasil o etanol é produzido exclusivamente a partir da cana-de-açúcar, mas em muitos países ele é produzido a partir de cereais, como o milho. Embora a cana de açúcar e o milho sejam fontes renováveis, existe um grande interesse em produzir etanol a partir de biomassa lignocelulósica, como resíduos de madeira ou bagaço de cana-de-açúcar, por serem matérias-primas muito baratas e abundantes em todo mundo. Especialistas alertam para o fato de que o plantio de cana estimula o desmatamento, diminui a fertilidade do solo e a sua disponibilidade para a produção de alimentos. Além disso, se a demanda por etanol aumentasse repentinamente, o crescimento da produção seria limitado pela oferta da matéria-prima.

A possibilidade de produção de etanol a partir das fontes lignocelulósicas vem despertando o interesse de pesquisadores em várias partes do mundo, mas alguns obstáculos ainda fazem com que o processo não seja economicamente viável. Grande parte dos açúcares produzidos pelas plantas na fotossíntese está armazenada na forma de celulose, que é altamente resistente à degradação e não pode ser fermentada. Além da celulose esses resíduos contêm grande quantidade de lignina, que é ainda mais resistente à degradação, e por isso são denominados resíduos lignocelulósicos. Para que a biomassa lignocelulósica possa ser também aproveitada na produção de álcool, é necessário submeter a celulose à um processo

de hidrólise, onde a celulose é quebrada formando açúcares simples e fermentáveis, como glicose, xilose e manose. A conversão de celulose em açúcares fermentáveis ainda é um processo de baixa eficiência e alto custo. Durante o processo de hidrólise pode ocorrer a formação de substâncias tóxicas aos microrganismos responsáveis pela fermentação, comprometendo ainda mais sua eficiência.

No Brasil várias frentes de pesquisa trabalham no desenvolvimento de novas tecnologias para viabilizar a produção de etanol a partir da biomassa lignocelulósica proveniente do bagaço da cana, obtido após a extração do suco nas usinas de álcool e açúcar. O desenvolvimento dessa tecnologia torna-se indispensável para que a produção mundial possa ser ampliada e possa atender às demandas por combustível em todo mundo, pois mesmo em países que contam com extensas áreas de plantio, como é o caso do Brasil, a oferta de matéria-prima pode ser insuficiente.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Etanol

O etanol, ou álcool etílico ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ), é um composto orgânico com propriedades únicas e possui grande número de aplicações, que incluem alimentos, bebidas, produtos de limpeza e desinfecção, fármacos, solventes e combustíveis. É um líquido incolor, altamente volátil, inflamável, miscível em água, em qualquer proporção, e em solventes apolares.

De todo etanol produzido no mundo, cerca de 93 % é obtido através da fermentação de açúcares extraídos da cana-de-açúcar, da beterraba, de amido de cereais como o milho ou de outros grãos. O microrganismo mais utilizado para fermentação da glicose é a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (SÁNCHEZ, 2008). Mais de 90% desse etanol é utilizado como combustível. Uma pequena parte é obtida por vias sintéticas, pela hidratação catalítica do etileno em fase gasosa, mas é destinado a usos como solvente e intermediário químico (PURWADI, 2006).

Embora o processo atual de obtenção do álcool por fermentação seja bem conhecido e muito eficiente, e apesar do sucesso do modelo de produção brasileiro, uma expressiva expansão da capacidade de produção brasileira hoje esbarraria em limitações para as áreas de plantio, principalmente por competir com as áreas destinadas à pastagem e produção de alimentos para o homem. Uma das alternativas para promover a ampliação da capacidade de produção nacional é o desenvolvimento de tecnologias que permitam a produção de etanol a partir da biomassa lignocelulósica.

Enquanto a conversão dos carboidratos simples e amido em álcool é um processo simples, a conversão da biomassa é extremamente complexa e impõe aos pesquisadores uma série de desafios tecnológicos. O processo consiste em pré-tratamento do bagaço, hidrólise ácida ou enzimática, detoxificação (em alguns casos) e finalmente a fermentação, que produz o etanol.

A hidrólise é a etapa onde as cadeias de celulose são quebradas até sua unidade monomérica, a glicose. A detoxificação é remoção de subprodutos da hidrólise que podem ser tóxicos às leveduras e inibir a fermentação. A biomassa lignocelulósica é

altamente resistente à hidrólise devido, principalmente, à presença de lignina. Por isso é necessário o pré-tratamento para facilitar a ação do ácido ou das enzimas e garantir a conversão da celulose em glicose. Existem umas séries de pré-tratamentos possíveis, que podem ser métodos físicos, químicos ou biológicos.

## **2.2 Produção de etanol no Brasil**

O Brasil começou a investir na produção de álcool combustível na década de 70, logo após a crise do petróleo. Na época, 90% da gasolina utilizada no país era importada e houve grande alta nos preços.

O Programa Nacional do Álcool (Proálcool), criado em 1975, visava diminuir a importação de gasolina e criar uma alternativa para o mercado de açúcar, que sofria com a grande queda de preços. Além de tornar obrigatória a adição de etanol a gasolina (em torno de 20%), o governo investiu na construção de novas unidades, financiou obras, fixou preços e vinculou forte propaganda para incentivar o uso de álcool (BASTOS, 2007).

A segunda fase do programa visava substituir a frota brasileira por carros movidos exclusivamente a álcool. Para isso foram concedidos vários incentivos aos consumidores, como IPVA e imposto sobre venda de veículos reduzidos. Em 1984, 94,5% dos carros produzidos no Brasil eram movidos a álcool (BASTOS, 2007).

Entretanto, no final da década de 80 a crise do petróleo foi amenizada, os preços caíram, o governo cortou os subsídios e a produção de etanol começou a decair. Conseqüentemente, a produção de carros teve que ser praticamente interrompida, e foram mantidos apenas alguns modelos, mas a obrigatoriedade da adição do etanol à gasolina foi mantida e permanece até os dias de hoje (BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Conselho Interministerial do Açúcar e do Álcool, *Resolução nº 37, de 27 de Junho de 2007*).

A indústria começou a crescer novamente a partir do ano de 2003, impulsionada pelo advento da tecnologia bicombustível, aumentando a produção de 4,3 bilhões de litros em 2003 para 10,1 bilhões de litros em 2007. Com essa tecnologia, o proprietário pode escolher o combustível ou misturá-los em qualquer proporção, de acordo com o preço e disponibilidade. Hoje são fabricados e comercializados 64

modelos de veículos *Flex-Fuel* no Brasil, que correspondem à aproximadamente 88% do mercado brasileiro de veículos leves (BRASIL, Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior, Desenvolvimento da Produção, Biocombustíveis, 2008).

Em 2002, antes do início da produção, o governo brasileiro já havia regulamentado o desconto no valor da alíquota do Imposto sobre Produtos Industrializados (IPI) para os carros *Flex-Fuel* como incentivo à produção. Atualmente o desconto varia de 2 a 7%, dependendo das características do motor.

O Brasil é o maior produtor mundial de álcool etílico e tem toda a sua produção baseada na cana-de-açúcar. Na safra de 2007-2008 foram produzidos no país 22,3 bilhões de litros de álcool (BRASIL, Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior, Desenvolvimento da Produção, Biocombustíveis, 2008). Em segundo lugar estão os Estados Unidos, que utilizam o milho como matéria prima. Juntos, Brasil e Estados Unidos são responsáveis por 70% de todo etanol produzido no mundo (BASTOS, 2007). O Brasil é hoje um dos poucos países que geram excedentes e exportam etanol, e tem potencial para tornar-se um grande exportador no futuro, mas apesar do sucesso do álcool combustível e da vantagem nos custos do etanol da cana-de-açúcar, o Brasil corre o risco de perder a posição de maior produtor mundial. Em 2005 a produção dos Estados Unidos alcançou a produção brasileira e a meta norte-americana é viabilizar a produção do etanol a partir de fontes lignocelulósicas já em 2012 e tornar-se o maior produtor mundial (BASTOS, 2007).

Além de substituir os combustíveis fósseis, o etanol deve substituir, no futuro, o petróleo como fonte de matérias-primas utilizadas em diversos setores da indústria de transformação (BASTOS, 2007). É o ressurgimento da Alcoolquímica, segmento da indústria química que utiliza o etanol como matéria-prima para a fabricação de produtos químicos, como eteno, éter etílico, acetatos e algumas resinas. O grupo francês Rhodia produz solventes derivados do etanol há mais de cinquenta anos e planeja novos investimentos na rota alcoolquímica (RHODIA, 2008). Os grupos Braskem e Dow já anunciaram investimentos em fábricas de polietilenos e a Solvay planeja ampliar sua produção de PVC a partir de etanol (BOSCO, 2008).

Atualmente a indústria química mundial obtém mais de 90% da matéria-prima para síntese de compostos orgânicos do petróleo, mas a alcoolquímica tende a ganhar

cada vez mais espaço, diante do alto preço do petróleo e das perspectivas de escassez no futuro (BRASIL, Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior, Desenvolvimento da Produção, Biocombustíveis, 2008).

### 2.3 Combustíveis

O etanol é utilizado como combustível desde o início da produção de veículos de passeio, mas logo no início do século XX o petróleo tornou-se barato e abundante o suficiente para ser o principal combustível automotivo em todo o mundo, até os dias atuais (PURWADI, 2006). Hoje, a pressão pela substituição dos combustíveis fósseis por fontes renováveis vem aumentando, não só pela perspectiva de esgotamento, mas também devido à necessidade de redução das emissões de CO<sub>2</sub>, de controle da poluição nos grandes centros urbanos e o aumento da produção de veículos, com conseqüente aumento da demanda de combustível.

O álcool é utilizado como combustível líquido quase que exclusivamente pelo Brasil e pelos Estados Unidos, puro ou misturado à gasolina. A gasolina comercializada no Brasil hoje contém 25% de etanol anidro. Na Europa é utilizado somente como aditivo, de 2 a 10% (BASTOS, 2007). Por ser um composto oxigenado (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, 34,7% m/m de O<sub>2</sub>), a adição de etanol à gasolina fornece uma quantidade extra de oxigênio à combustão, tornando-a mais eficiente. E quanto mais eficiente for a combustão, menores serão as emissões de monóxido de carbono e hidrocarbonetos. A adição de 15% de etanol na gasolina reduz em 20% as emissões de NO<sub>x</sub>, comparado a gasolina pura (OTERO, 2007).

Para obter a mesma quantidade de energia na combustão, é necessário um volume maior de álcool do que de gasolina. Em contrapartida, o etanol é um combustível de alta octanagem que faz com que o combustível resista a maior temperatura e pressão sem que ocorra detonação. Isso aumenta a taxa de compressão no motor (definida como a variação de volume entre o pistão e a cabeça do motor antes e depois da explosão) e altas taxas de compressão resultam em alta potência e eficiência, favorecendo a economia de combustível. Quando comparado à gasolina, um carro movido exclusivamente a álcool tem um rendimento de 20 a 25% inferior em quilômetros rodados (OTERO, 2007).

## 2.4 Biorrefinarias

A biorrefinaria propõe a substituição dos produtos derivados da indústria petroquímica por produtos obtidos a partir de biomassa. Por definição, a biorrefinaria engloba uma série de etapas de processos e reações químicas e/ou bioquímicas, formando um complexo industrial que visa a produção de diferentes intermediários da indústria química.

O conceito de biorrefinaria é análogo ao conceito atual de refinaria de petróleo, que produz uma ampla gama de combustíveis e produtos para a indústria química, buscando o total aproveitamento da matéria prima. A figura 1 ilustra o fluxograma conceitual de uma biorrefinaria.

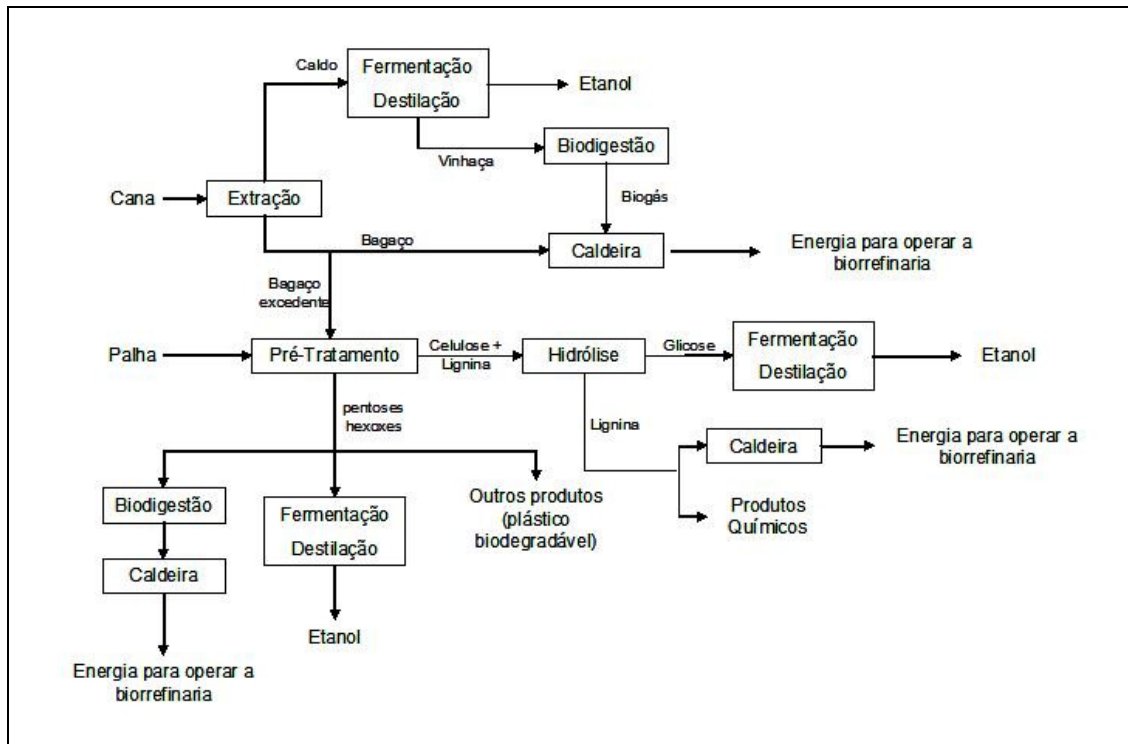


Figura 1: Fluxograma conceitual de uma biorrefinaria de cana-de-açúcar (BONOMI, 2006).

As usinas de álcool e açúcar operando hoje no Brasil funcionam como grandes complexos industriais autônomos. Os principais produtos são açúcar e álcool combustível, e o bagaço é queimado para alimentar caldeiras e fornecer a energia necessária para o funcionamento da usina. Em plantas onde a produção de energia é otimizada são gerados excedentes de energia e de bagaço.

Muitos resíduos do processo são descartados, como a vinhaça resultante da destilação do álcool, a água de condensação do processamento do açúcar, a torta obtida na filtração do caldo, cinzas e resíduos de carbono dos queimadores. A produção do açúcar também gera o melaço, que é um substrato muito rico e pode ser convertido por fermentação em várias substâncias de alto valor agregado, como ácidos orgânicos, aminoácidos e biopolímeros (ROSSEL, 2006).

O foco das pesquisas hoje está no desenvolvimento de tecnologias que permitam o aproveitamento total da cana-de-açúcar, através da produção de novos produtos, e nesse cenário, o domínio da tecnologia de conversão de biomassa em etanol é um importante passo a ser dado pelos cientistas (BONOMI, 2006).

## **2.5 Aspectos ambientais**

Um dos grandes desafios que enfrentam hoje os países industrializados é a urgente necessidade da redução das emissões atmosféricas de gases causadores do efeito estufa, especialmente o CO<sub>2</sub>. Grande parte das emissões de CO<sub>2</sub> é causada pela queima de combustíveis fósseis em veículos automotores, e nesse cenário a substituição desses por combustíveis produzidos a partir de fontes renováveis torna-se uma alternativa muito atraente.

A principal vantagem da utilização de biocombustíveis é promover a sustentabilidade da produção e consumo de combustíveis, utilizando fontes renováveis de matéria-prima, acabando com a dependência de petróleo, e diminuindo as emissões de poluentes e dióxido de carbono.

O CO<sub>2</sub> presente na atmosfera é assimilado e metabolizado pelas plantas através da fotossíntese e utilizado na construção das estruturas vegetais e armazenamento de carboidratos. A biomassa é utilizada para produção de etanol e o CO<sub>2</sub> proveniente da queima do combustível pode ser novamente assimilado pela natureza. Portanto, não existe aumento nas emissões, mas um ciclo de consumo sustentável.

Estudos demonstram que o balanço energético para a produção de etanol da cana-de-açúcar é positivo; para cada 1 kcal de energia consumida para produção de etanol, há um ganho de 3,24 kcal pelo etanol produzido (ANDREOLI, 2007).

O etanol representa menos perigo para o meio ambiente, pois sua degradação é

rápida, tanto no solo, como na água ou na atmosfera, aeróbica ou anaerobicamente. A exposição ao etanol também é menos perigosa para o homem, quando comparado a gasolina. Estudos ainda comprovam que a toxicidade dos gases de exaustão de motores movidos a álcool é muito menor do que nos motores movidos à gasolina (PURWADI, 2006).

## 2.6 Biomassa lignocelulósica

As lignoceluloses compõem a estrutura das paredes celulares das plantas e são os polímeros mais abundantes na terra: correspondem a aproximadamente 50% da biomassa de todo o mundo e a produção anual é estimada entre 10 e 50 bilhões de toneladas/ano (SÁNCHEZ, 2008).

A biomassa lignocelulósica é composta, basicamente, por celulose, hemiceluloses e lignina e as proporções desses constituintes variam de uma espécie para outra, conforme ilustrado na tabela 1.

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO TÍPICA DE DIVERSAS FONTES LIGNOCELULÓSICAS

<b>Tipo de resíduo</b>	<b>Celulose (%)</b>	<b>Hemicelulose (%)</b>	<b>Lignina (%)</b>
madeira	40 – 55	24 - 40	18 – 35
sabugo de milho	45	35	15
palha de arroz	32	24	18
bagaço de cana	40	24	25
palha de trigo	30	50	15
folhas	15 – 20	80 - 85	0
grama	45	31	12

FONTE: HOWARD, 2003; SUN, 2002

Além desses três componentes principais, toda biomassa lignocelulósica contém quantidades variadas de outras substâncias, chamadas de constituintes menores. Esses constituintes menores incluem os mais diversos compostos orgânicos e inorgânicos, e são responsáveis por determinadas características das plantas, como cor, cheiro, sabor e resistência ao apodrecimento. São divididos em extrativos e não extraíveis. Os extrativos são as substâncias facilmente extraíveis com água ou solventes orgânicos e os não extraíveis são compostos inorgânicos, proteínas e substâncias pécticas (D'ALMEIDA, 1988).

## 2.7 Bagaço de cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) é uma das fontes mais ricas em carboidratos na natureza. De uma tonelada de cana-de-açúcar, obtêm-se 150 kg de açúcares fermentáveis e 125 kg de bagaço seco (RODRIGUES, 2008). Grandes quantidades de bagaço são queimadas nas usinas de álcool e açúcar para produção de energia elétrica e o excedente é vendido para as indústrias de celulose e ração animal, dentre outras.

O bagaço de cana é constituído principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, que juntas compõe mais de 90% da massa total, sendo aproximadamente 40 % de celulose, 24 % de hemiceluloses e 25 % de lignina. Extrativos como graxas, gomas, amidos, alcalóides, resinas e óleos essenciais representam aproximadamente 5% da massa total (CANILHA, 2007) (RODRIGUES, 2008).

## 2.8 Celulose

A celulose é um polímero linear formado exclusivamente por unidades de  $\beta$ -D-glicose que se ligam entre si pelos átomos de carbonos 1 e 4, através de ligações glicosídicas. A figura 2 ilustra a fórmula estrutural plana da molécula de D-glicose e na figura 3, a representação espacial da  $\beta$ -D-glicose.

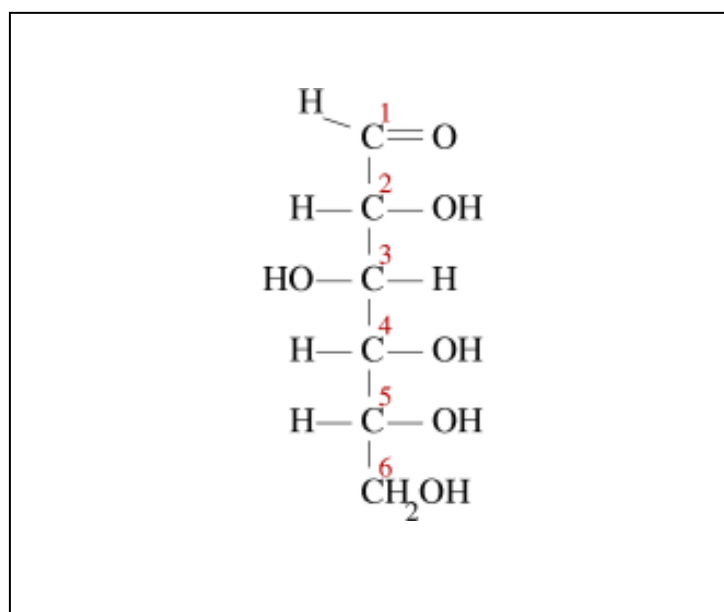


Figura 2: Fórmula estrutural da D-glicose.

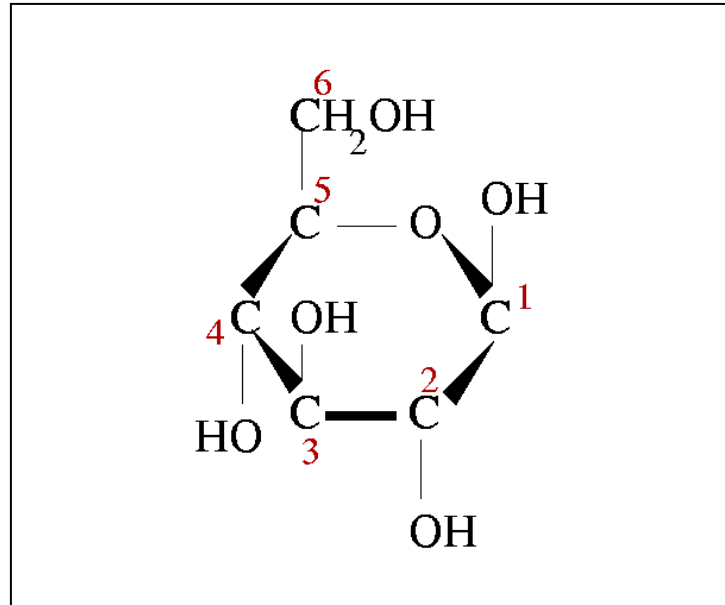


Figura 3: Representação espacial da molécula de  $\beta$ -D-glicose.

A celulose é o principal polímero estrutural na parede celular e forma uma estrutura fibrosa. As moléculas de celulose tendem a formar pontes de hidrogênio intramoleculares (entre unidades de glicose da mesma molécula), responsáveis pela rigidez das cadeias, e intermoleculares (entre unidades de glicose de moléculas adjacentes), responsáveis pelo alinhamento das moléculas e conseqüente formação da fibra vegetal. As longas cadeias poliméricas são unidas por pontes de hidrogênio e forças de Van der Waals, formando as fibras, que são recobertas por hemicelulose e lignina (PURWADI, 2006).

As fibras da celulose são constituídas por regiões cristalinas, onde as cadeias de celulose apresentam arranjo altamente ordenado, e regiões amorfas ou desordenadas, onde as cadeias apresentam orientação menor. Na região cristalina, a fibra tem maior resistência à tração e à solvatação (absorção de solvente). A proporção entre as regiões cristalinas e amorfas determina o grau de cristalinidade da celulose (D'ALMEIDA, 1988).

A figura 4 ilustra a cadeia da celulose. Celubiose é o nome dado à unidade de repetição do polímero. O número de unidades de  $\beta$ -D-glicose presentes nas cadeias da celulose define o grau de polimerização e, como as fibras são formadas por moléculas de tamanhos diferentes, o grau de polimerização refere-se sempre ao valor médio. Na celulose nativa o grau de polimerização varia de 7000 a 15000

unidades (PURWADI, 2006).

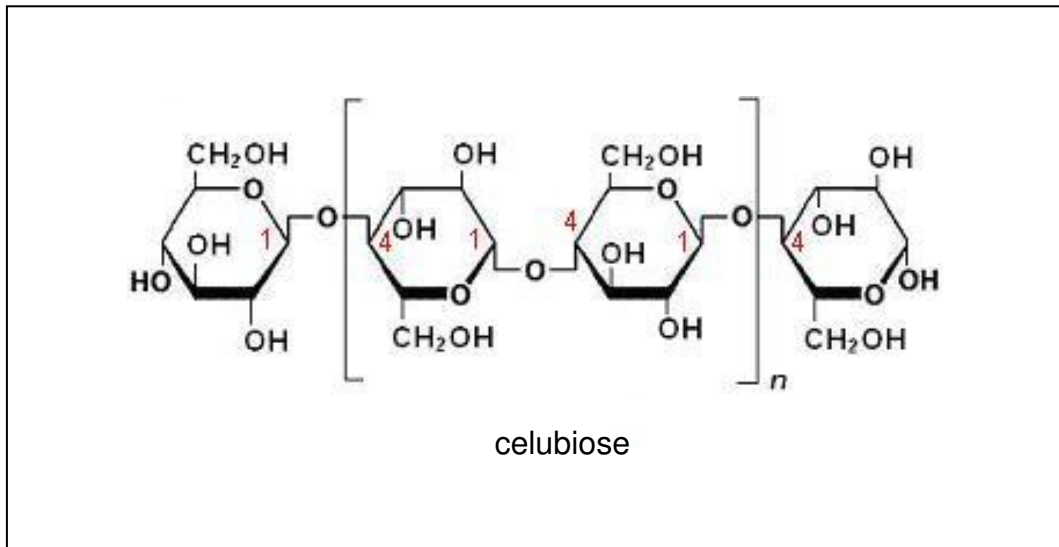


Figura 4: Cadeia da celulose.

## 2.9 Hemiceluloses

As hemiceluloses, também chamadas polioses, são uma mistura de polissacarídeos de baixa massa molecular. Estão presentes na estrutura da parede celular, fortemente associadas à celulose. É um polímero heterogêneo, de estrutura amorfa, solúvel tanto em meio ácido como em meio básico e, ao contrário da celulose, é facilmente hidrolisável (LEE, 2005).

O termo hemicelulose não designa um composto químico, mas uma classe de polímeros presentes nos vegetais fibrosos, sendo que cada polímero possui propriedades peculiares. Enquanto a celulose contém exclusivamente unidades de D-glicose, as hemiceluloses são compostas por unidades de  $\beta$ -D-xilose,  $\beta$ -D-manose,  $\beta$ -D-glicose,  $\alpha$ -D-arabinose,  $\alpha$ -D-galactose, ácido  $\beta$ -D-glucurônico, ácido  $\beta$ -D-galacturônico e ácido  $\alpha$ -D-4-O-metilglucurônico (figura 5). Alguns desses monossacarídeos possuem 5 átomos de carbono (pentoses), enquanto outros possuem 6 átomos de carbono (hexoses).

As hemiceluloses são formadas por pelo menos dois tipos de açúcares e são nomeadas de acordo com essa composição. Uma hemicelulose formada por unidades de arabinose e galactose é denominada arabinogalactana; se formada por unidades de galactose e manose é denominada galactomanana, e assim por diante

(D'ALMEIDA, 1988). A figura 6 ilustra a estrutura da arabinoxilana, uma hemicelulose composta por unidades de arabinose e xilose.

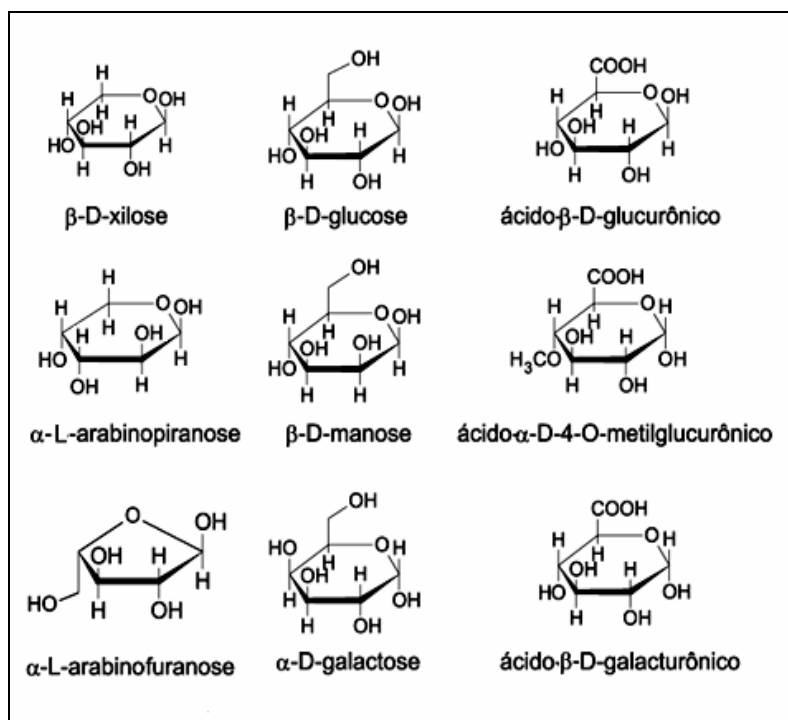


Figura 5: Monossacarídeos que compõe as hemiceluloses.

A hemicelulose encontrada no bagaço de cana-de-açúcar é constituída principalmente por unidades xilose (CANILHA, 2007).

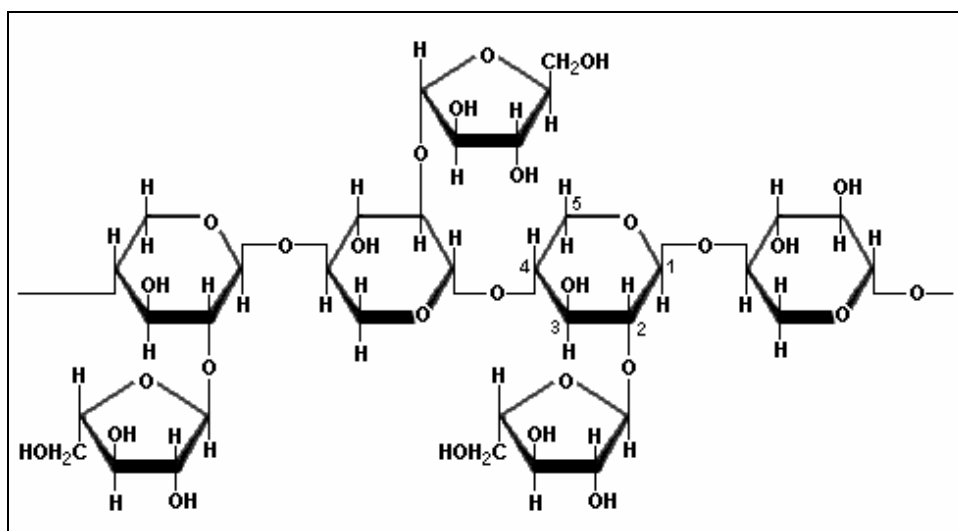


Figura 6: Estrutura da arabinoxilana.

## 2.10 Lignina

A lignina é um polímero fenólico, composto de unidades de p-hidróxifenil-propano, guaiacilpropano e siringilpropano (figura 7) que formam uma grande, complexa e desordenada estrutura molecular (LEE, 2005) (TWUMASI, 2007).

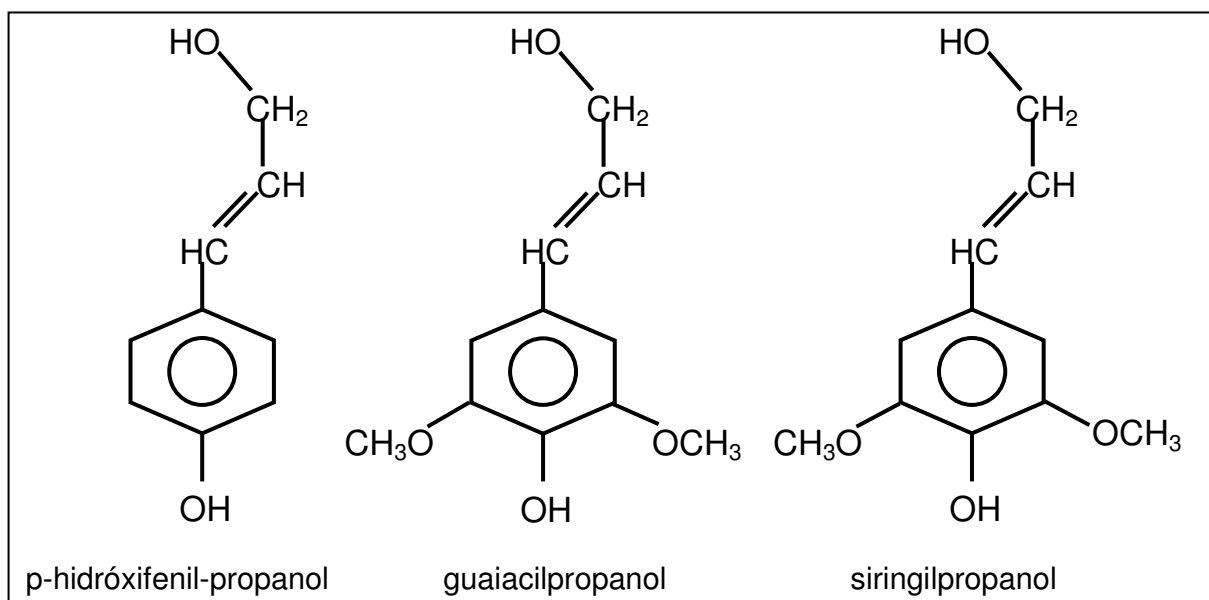


Figura 7: Precursores da lignina.

A figura 8 ilustra a estrutura parcial da lignina. A lignina está presente na parede celular, conferindo às células resistência estrutural, flexibilidade, impermeabilidade, resistência ao ataque microbiano e à oxidação. As ligninas presentes nas paredes celulares estão sempre associadas com as hemiceluloses, não só através da interação física, mas também por ligações covalentes.

A composição da lignina encontrada em diferentes espécies não é sempre a mesma. Portanto, lignina não é uma substância química, mas uma classe de polímeros encontrados em grande parte dos vegetais.

Na produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica, é necessário eliminar a lignina para que as celulosas e as hemiceluloses sejam hidrolisadas. No entanto, a lignina pode servir como ponto de partida para a obtenção de matérias primas para plásticos e outros compostos orgânicos.

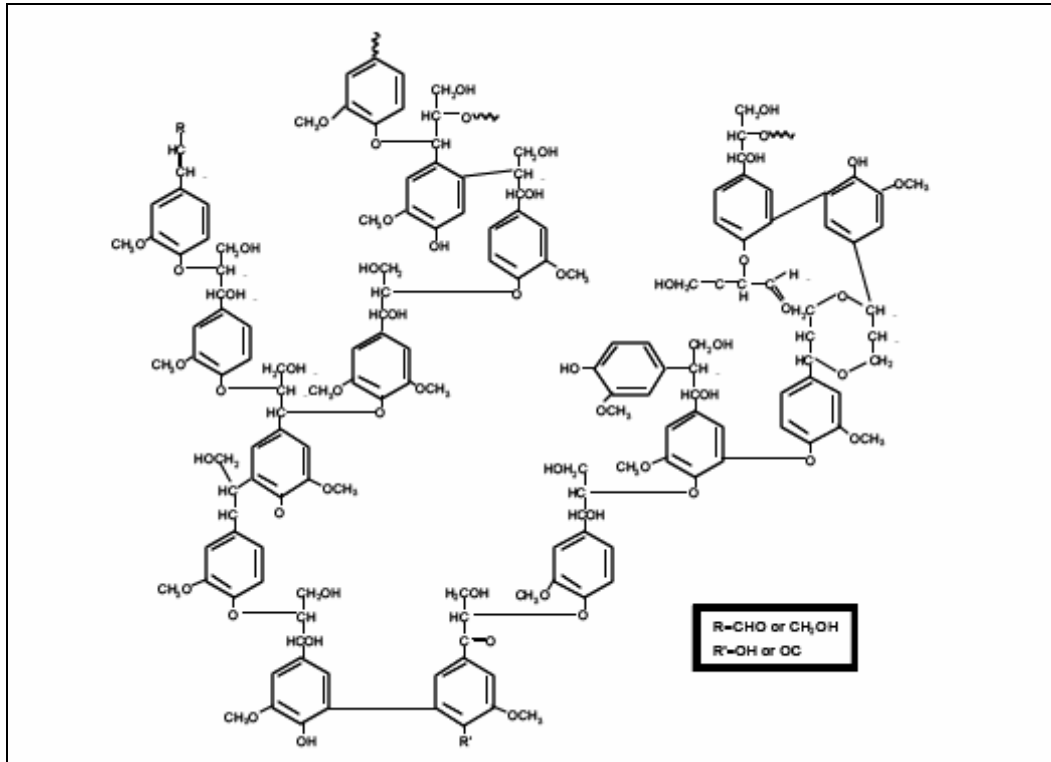


Figura 8: Estrutura parcial da lignina (LEE, 2005)

## 2.11 Pré-Tratamento da Biomassa Lignocelulósica

Os materiais lignocelulósicos são resistentes à hidrólise e requerem pré-tratamento para que a celulose fique acessível e aumente sua biodigestibilidade. A celulose tem uma estrutura ordenada e cristalina, apresenta-se associada às hemiceluloses e são envoltas em lignina, que atua como uma barreira física, dificultando a hidrólise. Os objetivos dos pré-tratamentos são, principalmente, a deslignificação<sup>1</sup>, aumento da porosidade da biomassa, redução da cristalinidade e diminuição do grau de polimerização da celulose (LEE, 2005) (PURWADI, 2006). O tratamento deve ainda evitar a formação de subprodutos inibidores da fermentação e preservar as hemiceluloses, que podem também ser fermentadas. Além de eficiente do ponto de vista técnico, um pré-tratamento deve ser econômico para tornar-se comercialmente viável (MARTÍN, 2007).

Os métodos de pré-tratamento podem ser divididos em:

---

<sup>1</sup> Remoção de lignina

- Métodos físicos – moagem, pirólise, irradiação
- Métodos físico-químicos – explosão por vapor, explosão por vapor de amônia
- Métodos biológicos – fungo da podridão branca
- Métodos químicos – ataque ácido, alcalino, substâncias oxidantes, redutoras, solventes orgânicos

Os pré-tratamentos mais freqüentemente usados estão descritos a seguir.

### **2.11.1 Métodos Físicos**

#### ***2.11.1.1 Pulverização Mecânica***

O material lignocelulósico é pulverizado por moagem ou trituração com o objetivo de diminuir o tamanho das partículas e com isso aumentar a superfície de contato, melhorando o desempenho da hidrólise. Muitas das estruturas cristalinas da celulose também podem ser quebradas nesse processo, mas não há remoção de hemicelulose ou lignina. Os moinhos de bola são freqüentemente utilizados nesses processos (LEE, 2005).

### **2.11.2 Métodos Físico-Químicos**

#### ***2.11.2.1 Explosão por Vapor ou Auto-hidrólise***

A explosão por vapor é o método de pré-tratamento mais utilizado. A biomassa é tratada com vapor saturado de água, sob alta pressão, e após alguns segundos, ou minutos, a pressão é diminuída repentinamente, provocando a explosão das fibras por descompressão. O processo tem início com temperaturas entre 160 e 260 °C, que corresponde à pressões absolutas de 0,69 a 4,83 MPa de vapor de água (SUN, 2002). As fibras são lavadas com água para solubilização dos açúcares e eliminação de compostos que inibam a fermentação. O processo elimina a maior parte das hemiceluloses, facilita a posterior hidrólise da celulose, e tem a grande vantagem de

não utilizar nenhum reagente químico (KAAR, 1998) (MARTÍN, 2007). Entretanto, estudos indicam que a auto-hidrólise de materiais lignocelulósicos pode produzir inibidores que são tóxicos aos microrganismos fermentativos, e uma etapa de detoxificação pode ser necessária para eliminação desses inibidores (MORJANOFF, 1987).

A adição de ácido sulfúrico, dióxido de enxofre ou dióxido de carbono ao processo pode aumentar o rendimento da hidrólise enzimática. As condições ótimas para pré-tratamento do bagaço de cana foram determinadas por Morjanoff (1987) como sendo as seguintes: aquecimento a 220 °C por 30 segundos e adição de 1% de ácido sulfúrico seguido de descompressão rápida.

### **2.11.2.2 Explosão por vapor de amônia (AFEX)**

Esse pré-tratamento é conhecido como AFEX, que é uma abreviação para *Ammonia fiber explosion*. O princípio do método é muito parecido com a explosão por vapor de água, mas ao invés de água utiliza-se uma solução de hidróxido de amônio, na proporção de 1 a 2 kg de amônia para cada kg de biomassa seca (SUN, 2002). Estudos demonstraram que esse pré-tratamento pode aumentar significativamente as taxas de sacarificação de vários materiais lignocelulósicos, como alfafa, palha de trigo, sabugo de milho, palha de arroz e bagaço de cana-de-açúcar.

A amônia pode ser recuperada após o pré-tratamento e não ocorre a formação de subprodutos inibidores de fermentação. Mas o tratamento não se mostra eficiente quando a biomassa possui alto teor de lignina, como é o caso de papel reciclado de jornais, que tem em sua composição 20 a 30% de lignina. O tratamento AFEX também não solubiliza significativamente as hemiceluloses, quando comparado com a explosão por vapor catalisada por ácidos ou a pré-hidrólise ácida.

### **2.11.3 Métodos Biológicos**

#### **2.11.3.1 Fungo da podridão branca**

Alguns fungos, responsáveis pela degradação da madeira na natureza, produzem enzimas denominadas fenoxidases que são capazes de decompor a lignina, assim

como uma série de poluentes orgânicos, tais como DDT, TNT, PCBs, dioxinas e pirenos (GUSSE, 2006) (OHKUMA, 2001). As enzimas responsáveis pela despolimerização da lignina e degradação dos anéis aromáticos são a lignina-peroxidase, manganês-peroxidase e lacase. Esse tratamento vem sendo utilizado tanto na indústria de celulose como em processos de biorremediação.

A degradação da lignina por certos fungos foi observada e descrita há mais de 120 anos. Ficaram conhecidos como fungos da podridão branca (*white-rot fungi*), pois atacam somente a lignina, deixando a celulose branca, e são os únicos microrganismos capazes de despolimerizar e mineralizar a lignina (DOE JOINT GENOME INSTITUTE, 2009). A produção das enzimas lignina-peroxidase e manganês-peroxidase foi demonstrada pela primeira vez em 1987 com o fungo *Phanerochaete Chrysosporium* (JEFFRIES, 1994). Esse fungo não produz a lacase, mas o excepcional potencial de oxidação das enzimas produzidas por essas culturas e o fato de não atacar a celulose fazem com que essa espécie seja a mais extensivamente estudada.

#### **2.11.4 Métodos Químicos**

##### **2.11.4.1 Pré-hidrólise ácida**

Uma pré-hidrólise com ácido sulfúrico diluído pode ser usada para promover a hidrólise das hemiceluloses. Após o tratamento obtém-se um hidrolisado contendo açúcares simples (xilose, glicose, arabinose e galactose) e um resíduo sólido constituído de celulose e lignina, que é então submetido a uma hidrólise enzimática, ou ácida, em condições mais severas. Esse pré-tratamento aumenta a reatividade da celulose na hidrólise enzimática (MARTIN, 2007). Apesar do ácido sulfúrico ser mais comumente utilizado, outros ácidos podem ser empregados, como o clorídrico e o fosfórico. Esse pré-tratamento também pode ser utilizado quando se deseja obter hidrolisados de xilose para produção de xilitol, utilizado como adoçante (GÁMEZ, 2006).

Os ácidos liberam prótons que quebram as ligações entre os açúcares monoméricos e as cadeias poliméricas formadas pelas hemiceluloses e celuloses. A quebra dessas ligações libera uma série de compostos, principalmente açúcares como a

xilose, glicose e arabinose, mas também libera oligômeros, furfural e ácido acético. A celulose permanece praticamente intacta, pois as ligações presentes na celulose são mais fortes (AGUILAR, 2002).

As desvantagens dos pré-tratamentos ácidos são a possibilidade de haver degradação dos açúcares, a formação de substâncias inibidoras da fermentação, como alguns ácidos orgânicos, compostos fenólicos e furânicos, e o custo dos reatores, que devem ser altamente resistentes à corrosão (RABELO, 2008).

A concentração do ácido, a temperatura e o tempo de exposição influenciam a quantidade de açúcares hidrolisados, a degradação desses carboidratos, e formação de subprodutos inibidores da fermentação. Martín (2007) tratou bagaço de cana e outros tipos de biomassa lignocelulósica com solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2% a 122 °C e o resultado ótimo foi obtido com 60 minutos de tratamento. Aguilar (2002), por sua vez, determinou as condições ótimas de pré-tratamento do bagaço com solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 %, a 122 °C por 24 minutos.

#### ***2.11.4.2 Pré-Tratamento Alcalino***

O pré-tratamento alcalino causa um aumento da área de contato superficial, diminuição do grau de polimerização, diminuição da cristalinidade, quebra das ligações entre a lignina e a celulose e quebra da estrutura da lignina. O mecanismo de ação aceito para o tratamento alcalino é a saponificação de ligações éster intermoleculares que ligam diferentes componentes, por exemplo, lignina e hemicelulose. A porosidade do material lignocelulósico aumenta devido à quebra de ligações cruzadas (SUN, 2002). Frequentemente são usadas soluções de hidróxido de sódio e de cálcio, mas também é possível utilizar amônia. Acredita-se que os tratamentos em meio alcalino causem menor degradação dos carboidratos e que não causem formação de produtos secundários, nocivos às leveduras (LEE, 2005; RABELO, 2008).

#### ***2.11.4.3 Processo Organosolv***

A tecnologia Organosolv tem origem na indústria de celulose, onde é utilizada para polpação da madeira. Nesse processo as ligações internas da lignina e das

hemiceluloses são quebradas por um solvente orgânico, ou uma mistura aquosa de solvente orgânico, catalisada por um ácido, normalmente clorídrico ou sulfúrico. Os solventes orgânicos mais usados são etanol, metanol, acetona, etilenoglicol e trietilenoglicol. Alguns ácidos orgânicos também podem ser usados como catalisador, como o ácido oxálico, salicílico e acetilsalicílico (SUN, 2002). Esse processo teve origem na indústria de celulose, como método para deslignificar a madeira, e consiste no cozimento da biomassa lignocelulósica com o solvente Organosolv, sob alta temperatura e pressão, e posterior recuperação da celulose e da lignina. O solvente é removido e recuperado posteriormente por destilação. É considerado muito eficiente na remoção de lignina e gera uma celulose bastante suscetível à hidrólise. Além de recuperar o solvente utilizado, pode-se ainda isolar a lignina na forma sólida e os carboidratos na forma de xarope, que podem ter outras aplicações em uma biorrefinaria. Alguns inconvenientes, como o alto custo dos solventes orgânicos e a necessidade de lavagem do resíduo após o tratamento, fazem com que o processo seja ainda muito caro para ser usado como pré-tratamento de biomassa (ZHAO, 2009).

A Dedini S/A Indústrias de Base, em uma parceria com a Coopersucar e com apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa no Estado de São Paulo, Fapesp, desenvolveram um processo para tratamento de bagaço de cana-de-açúcar denominado DHR, que já está patenteado em mais de 20 países. O processo combina a tecnologia Organosolv com hidrólise ácida simultânea, onde a dissolução da lignina e hidrólise da celulose e hemicelulose ocorrem no mesmo reator, simultaneamente. O solvente é uma mistura de 75 % etanol e 25 % água e o ácido utilizado é o sulfúrico. O bagaço imerso na mistura é submetido à pressões de 2,5 a 2,8 MPa e temperaturas entre 180 e 200 °C, e o processo dura poucos minutos (SOARES, 2007).

#### **2.11.4.4 Ozonólise**

O ozônio já foi usado em muitos trabalhos para degradar lignina e hemicelulose, sendo o ataque bastante seletivo para a lignina, aumentando consideravelmente o rendimento da hidrólise enzimática. As reações ocorrem em temperatura e pressão ambiente e não são gerados resíduos tóxicos após o pré-tratamento. Entretanto, as

grandes quantidades de ozônio necessárias para tratar a biomassa fazem com que o custo do processo seja muito alto (SUN, 2002).

#### **2.11.4.5 Ácido Peracético**

O ácido peracético é um agente fortemente oxidante e bastante seletivo no ataque à estrutura da lignina. Embora não hidrolise as hemiceluloses, é muito eficiente na remoção de lignina, e no aumento da porosidade da biomassa, com conseqüente exposição das fibras da celulose, resultando em aumento considerável da taxa de sacarificação. Teixeira (1999) demonstrou a eficácia do pré-tratamento com ácido peracético em amostras de bagaço de cana-de-açúcar tratadas em temperatura ambiente (20 °C). Zhao (2009) estudou o desempenho de um tratamento em dois estágios, sendo a primeira etapa um pré-tratamento com solução de hidróxido de sódio, seguido de lavagem e tratamento com solução de ácido peracético, com temperaturas entre 75 e 90 °C, obtendo a sacarificação de 92 % da celulose por hidrólise enzimática. O tratamento com ácido peracético pode ser realizado em temperaturas amenas (< 100 °C) e pressão atmosférica, que faz com que o processo seja menos custoso que a maioria dos tratamentos existentes. Comparado à tratamentos ácidos e alcalinos, o pré-tratamento com ácido peracético mostrou-se mais eficiente no aumento na remoção de lignina, com menor degradação de carboidratos e sem que ocorresse a produção de subprodutos inibidores de fermentação (ZHAO, 2009).

#### **2.11.4.6 Oxidação Úmida**

Os processos de oxidação úmida consistem em tratar a biomassa com água e oxigênio, ou ar atmosférico, em temperaturas acima de 120 °C. Conhecidos como WOP - *wet-oxidation processes* - também já foram testados com resultados satisfatórios quanto ao aumento da digestibilidade enzimática do bagaço de cana-de-açúcar. Podem ser realizados em meio alcalino, neutro ou ácido, sendo os melhores resultados obtidos em meio alcalino (MARTÍN, 2006) (MARTÍN, 2007).

Em meio alcalino tem-se a combinação da oxidação úmida com a hidrólise alcalina, que oxida a lignina e solubiliza as hemiceluloses, facilitando a hidrólise enzimática,

sem a formação de inibidores da fermentação (BJERRE, 1996).

#### **2.11.4.7 Peróxido de Hidrogênio Alcalino**

O peróxido de hidrogênio alcalino é uma solução aquosa de peróxido de hidrogênio e hidróxido de sódio. É um agente fortemente oxidante, amplamente utilizado como branqueador na indústria de celulose, e é um dos métodos de pré-tratamento mais promissores em estudo. Esse pré-tratamento é bastante seletivo no ataque a estrutura da lignina; aumenta a digestibilidade enzimática da biomassa e diminui a cristalinidade da celulose (CHENG, 2008). A biomassa pode ser tratada em temperatura ambiente e pressão atmosférica. Tem a grande vantagem de não deixar resíduos na biomassa, já que peróxido de hidrogênio é totalmente degradado. Além disso, praticamente não ocorre a formação de substâncias inibidoras da fermentação, como acontece com os tratamentos ácidos (RABELO, 2008).

A ação branqueadora do peróxido de hidrogênio alcalino é atribuída ao ânion hidroperóxido ( $\text{HOO}^-$ ), que é o íon predominante em condições alcalinas e é responsável pela eliminação dos grupos cromofóricos da lignina. Estudos demonstraram que o efeito branqueador é causado pela alta capacidade de reagir com várias estruturas carbonílicas coloridas, presentes na lignina, como quinonas e cinamaldeídos (SUN, 2000).

Dawson (2008) tratou amostras de bagaço de cana-de-açúcar com soluções de peróxido de hidrogênio variando de 1 a 5%, com pH 8, 11,5 e 13, e com duração de 8, 24 e 48 horas. O pH alcalino das soluções foi obtido pela adição de pastilhas de hidróxido de sódio. O pré-tratamento com solução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  2%, com pH 11,5 durante 48 horas apresentou o melhor resultado, avaliado pela perda de massa na amostra, que nesse teste foi de 60,45 %. Não houve redução de massa significativa no teste com solução de pH 8,0. O autor relaciona a perda de massa com a remoção de lignina.

Rabelo (2008) testou soluções de  $\text{H}_2\text{O}_2$  com concentrações de 1, 3 e 5%, com pH 11,5, durante 6, 15 ou 24 horas, com temperaturas de 20, 40 e 60 °C. O melhor resultado foi obtido com solução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  5%, a 20 °C, por 24 horas, avaliado pelo teor de açúcares redutores após a hidrólise enzimática da amostra tratada.

No trabalho de Sun (2000), amostras de palha de trigo foram tratadas com solução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 2%, a 50 °C, em pH 11.5 durante 4, 8.5, 12, 16, 20 e 30 horas. O melhor resultado foi obtido após 30 horas, onde 86% da lignina original foi removida.

### 2.11.4.8 Processos Oxidativos Avançados

Denomina-se processo oxidativo avançado (POA) qualquer processo oxidativo onde o radical hidroxila é a espécie dominante (TANG, 2004). O radical hidroxila ( $\text{OH}\cdot$ ) é uma espécie altamente reativa e extremamente oxidante, capaz de aumentar em muitas vezes a velocidade das reações de oxidação, quando comparada aos oxidantes comuns como oxigênio, peróxido de hidrogênio e ozônio. Em um processo oxidativo avançado esses oxidantes são combinados com catalisadores metálicos, óxidos metálicos, ultra-som ou radiação ultravioleta para promover a geração dos radicais hidroxila. A tabela 2 ilustra várias combinações possíveis entre agente oxidante e catalisador.

TABELA 2: POSSÍVEIS COMBINAÇÕES ENTRE AGENTE OXIDANTE E CATALISADOR

Catalisador Oxidante	Metais e Íons			Óxidos metálicos		Oxidantes			Radiação	Ultrasom	e- (reduzidor)
	$\text{Fe}^{2+}$	Fe	Pt	$\text{TiO}_2$	$\text{Fe}_2\text{O}_3$	$\text{OH}^-$	$\text{O}_3$	$\text{H}_2\text{O}_2$	UV		
$\text{O}_3$	X	X	X		X	X		X	X	X	
$\text{H}_2\text{O}_2$	X	X	X	X	X		X		X	X	
$\text{O}_2$	X	X	X	X						X	
$\text{H}_2\text{O}$				X						X	X
$\text{TiO}_2$									X		

X indica as combinações que promovem a formação de radicais hidroxila.

FONTE: TANG, 2004

LEE (2008) estudou a aplicação de uma mistura de hipoclorito de sódio e peróxido de hidrogênio no pré-tratamento de bagaço de cana-de-açúcar e demonstrou a eficiência do método na remoção de hemiceluloses e lignina. A reação entre o hipoclorito e o peróxido de hidrogênio gera espécies altamente reativas como o oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ), o ânion radical superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), hipoclorito ( $\text{OCl}^-$ ) e o radical hidroxila ( $\text{HO}\cdot$ ).

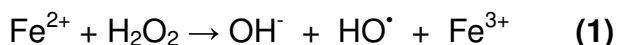
#### **2.11.4.9 Reagente Fenton**

O reagente Fenton tem sido amplamente empregado no tratamento de efluentes industriais contendo compostos orgânicos tóxicos, como fenóis, clorofenóis, nitrofenóis, formaldeídos, solventes orgânicos clorados e pesticidas. Sua ação oxidante provoca a destruição dos poluentes orgânicos, redução da toxicidade, aumento da biodegradabilidade, diminuição da demanda biológica / química de oxigênio, remoção de cor e odor (ARAÚJO, 2002). O reagente Fenton é uma combinação de uma solução de peróxido de hidrogênio e um sal ferroso que, em meio ácido, produz radicais hidroxila, consistindo um poderoso agente oxidante capaz de reagir com inúmeros compostos orgânicos. A eficiência da degradação para o processo de oxidação é aumentada pela irradiação com luz UV, chamado processo foto-Fenton, que acelera a formação de radicais hidroxila, podendo levar a mineralização total dos poluentes orgânicos (KAVITHA, 2004). O processo foto-Fenton mostrou-se capaz de oxidar até os ácidos acético e oxálico, que são subprodutos da oxidação de fenóis.

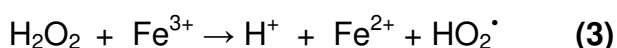
Araújo (2002) demonstrou a eficiência do reagente Fenton na degradação da lignina residual contida no licor negro, que é um resíduo do processo Kraft de fabricação de papel. Em seus trabalhos obteve degradação de até 95 % da lignina contida em amostras de licor negro utilizando o reagente Fenton com 60 mM de peróxido de hidrogênio e 1 mM de cloreto de ferro II. Em contrapartida o tratamento com soluções de peróxido de hidrogênio, sem adição de sal ferroso, provocou pouca ou nenhuma degradação da lignina.

A lignina contém grupos fenólicos em sua estrutura, e esses grupos têm grande afinidade por espécies reativas de oxigênio, especialmente o radical hidroxila e o oxigênio singleto.

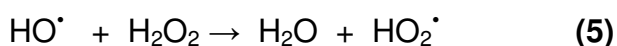
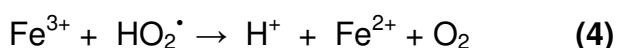
Na reação entre o peróxido de hidrogênio e o sal ferroso, os íons  $\text{Fe}^{2+}$  agem como catalisador da decomposição do peróxido de hidrogênio, levando à formação de íons hidroxila ( $\text{OH}^-$ ), radicais hidroxila ( $\text{HO}^\bullet$ ) e íons  $\text{Fe}^{3+}$ . A equação a seguir (1) demonstra o mecanismo aceito para essa reação.



Mas uma série de reações pode acontecer durante esse processo. O radical hidroxila formado pode reagir com os íons  $\text{Fe}^{2+}$ , formando íons  $\text{Fe}^{3+}$  (2). Os íons  $\text{Fe}^{3+}$  também podem reagir com o peróxido de hidrogênio, gerando íons  $\text{Fe}^{2+}$  e radicais peroxila o (3).



A reação do radical peroxila ( $\text{HO}_2^\bullet$ ) com  $\text{Fe}^{3+}$  leva a formação de  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{O}_2$  (4), enquanto que a decomposição do peróxido de hidrogênio pelo radical  $\text{HO}^\bullet$  leva a formação de água e radicais peroxila (5) (PÈREZ, 2002).



São muitos os fatores que influenciam o desenvolvimento da reação Fenton, mas principalmente:

- Concentração inicial de peróxido de hidrogênio
- Proporção entre os reagentes ( $\text{H}_2\text{O}_2 : \text{Fe}^{2+}$ )
- Temperatura
- pH do meio
- Tempo de reação

PÈREZ (2002) verificou aumento da degradação de poluentes orgânicos com aumento da temperatura do meio.

O pH do meio é determinante e estudos indicam que a faixa ideal de pH para oxidações tipo Fenton é entre 2,5 e 3,0, onde é máximo o rendimento na formação de radicais hidroxil (SILVA, 2007). Em pH alcalino os íons  $\text{Fe}^{2+}$  precipitam na forma de hidróxido, e em pH inferior a 2,0 pode ocorrer a formação do cátion  $\text{H}_3\text{O}_2^+$ , que

aumenta a estabilidade do peróxido de hidrogênio.

A concentração inicial de peróxido de hidrogênio e íons  $\text{Fe}^{2+}$  devem ser otimizadas para cada processo. O aumento da concentração de peróxido de hidrogênio geralmente provoca aumento da degradação de compostos orgânicos, mas em excesso pode consumir os radicais hidroxil gerados e impossibilitar a degradação. O aumento da concentração de íons  $\text{Fe}^{2+}$  acelera a reação, mas em contrapartida pode consumir rapidamente todo peróxido de hidrogênio do meio, interrompendo a reação. Pode ainda reagir com o radical hidroxil, como demonstrado na equação 2.

A proporção  $\text{H}_2\text{O}_2 : \text{Fe}^{2+}$  deve ser também otimizada para cada tipo de material a ser tratado, pois interfere na velocidade das reações e eficiência do processo. Existem relatos de experimentos que utilizam proporções de 5 : 1 até 5000 : 1 (SILVA, 2007). Dependendo do tempo de tratamento desejado, as concentrações e a proporção entre os reagentes devem ser otimizadas para que a reação não seja rápida demais, pois uma vez que todo peróxido de hidrogênio foi decomposto, a reação é interrompida.

## 2.12 Hidrólise ácida

A hidrólise ácida da celulose com ácido sulfúrico foi descrita pela primeira vez em 1819 (CUZENS, 1997). As celulosas e hemicelulosas presentes nos materiais lignocelulósicos são quebradas e transformadas em açúcares simples, que pode ser feita em meio de ácido sulfúrico ou clorídrico, sob altas pressões e temperatura. Em alguns processos uma etapa de hidrólise ácida é utilizada como pré-tratamento para uma posterior etapa de hidrólise enzimática.

A hidrólise ácida é um método rápido, barato e bastante difundido, mas com uma série de limitações. Durante esse processo ocorre a degradação de parte dos açúcares formados, levando a formação de vários subprodutos que são tóxicos às leveduras e inibem a fermentação. Dentre os principais subprodutos estão ácidos orgânicos (acético, fórmico e levulínico), compostos fenólicos (3-metóxi-4-hidroxibenzaldeído, 4-hidroxiacetofenona, vanilina, siringaldeído, acetovanilona, ácido ferúlico, ácido vanílico e ácido 4-hidroxibenzóico) e compostos furânicos (furfural e 5-hidróxi-metil-furfural) (PURWADI, 2006)

Na hidrólise ácida normalmente utiliza-se o ácido sulfúrico. Em uma primeira etapa, em temperaturas mais amenas (em torno de 190 °C), são hidrolisadas principalmente as hemiceluloses. No segundo estágio, com temperaturas mais altas (em torno de 215 °C), são hidrolisadas as frações mais resistentes de celulose. A fase líquida, que contém os açúcares, é separada do resíduo sólido, composto principalmente por lignina, e então é neutralizada e detoxificada (TWUMASI, 2007) (SÁNCHEZ, 2008).

### **2.13 Detoxificação**

A detoxificação é o processo de eliminação dos subprodutos da etapa de hidrólise que inibem o metabolismo dos microrganismos fermentativos, normalmente realizado após a hidrólise ácida, ou quando utiliza-se o processo de explosão por vapor. A detoxificação pode ser feita por neutralização, adicionando-se hidróxido de cálcio ao hidrolisado até atingir pH entre 9 e 12, onde ocorre a precipitação de sulfato de cálcio ( $\text{CaSO}_4$ ), que é eliminado por filtração a vácuo. O hidrolisado também pode ser detoxificado por adsorção com carvão ativo, resinas de troca iônica e detoxificação enzimática pela enzima lacase (CHANDEL, 2007) (MARTÍN, 2002).

### **2.14 Hidrólise enzimática**

A hidrólise enzimática é feita principalmente por enzimas celulase, que são enzimas altamente específicas. Os produtos da hidrólise são açúcares redutores, como glicose, xilose e arabinose. O custo de instalação para processos de hidrólise enzimática são baixos quando comparados à processos de hidrólise ácida, porque ocorre em condições amenas (pH 4,8 e temperaturas entre 30 e 50 °C) e não ocorre corrosão. O rendimento desses processos usualmente é maior que os processos de hidrólise ácida, pois não há degradação de carboidratos e nem produção de substâncias inibidoras da fermentação. A principal desvantagem é o alto custo da produção das enzimas e o tempo da reação, que pode levar vários dias (SOARES, 2007).

Tanto bactérias como fungos podem produzir as enzimas necessárias. Bactérias

pertencentes aos gêneros *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Thermomonospora*, *Ruminococcus*, *Bacteriodes*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora* e *Streptomyces* podem produzir celulases. Os fungos conhecidos como produtores de celulases incluem *Sclerotium rolfii*, *P. chrysosporium* e espécies de *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Schizophyllum* e *Penicillium* (SUN, 2002). Além das celulases, outras enzimas auxiliares também atacam a hemicelulose, como a xilanase, glucuronidase e acetilase. Adsul (2005) hidrolisou amostras de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratadas com enzimas celulase e xilanase produzidas pelo fungo *Penicillium Janthinellum*.

A atividade da celulase pode ser inibida pela própria glicose. Para reduzir a inibição foi desenvolvido um método de sacarificação e fermentação simultânea, que vêm sendo extensivamente estudado (MARTÍN, 2006) (SUN, 2002) (RIVERS, 1988). Nesse processo, os açúcares redutores produzidos pela hidrólise da celulose são simultaneamente fermentados a etanol, o que reduz significativamente a inibição para a hidrólise. Os microrganismos comumente usados para sacarificação e fermentação simultânea são o fungo *Trichoderma reesei* e a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

## **2.15 Fermentação alcoólica**

A maior parte do etanol produzido no mundo provém da fermentação da glicose, que é uma hexose, por microrganismos como a *Saccharomyces cerevisiae* ou *Zymomonas mobilis* (ALTERTHUM, 1989). Na fermentação de hidrolisados de biomassa lignocelulósica, desde que sejam controladas as concentrações de substâncias inibidoras, a fermentação transcorre normalmente. Esse controle pode ser feito por detoxificação ou simplesmente por diluição do hidrolisado (ROSSELL, 2007).

Os hidrolisados de biomassa lignocelulósica não contêm apenas hexoses, já que as hemiceluloses são constituídas principalmente de pentoses. As hemiceluloses do bagaço de cana-de-açúcar são formadas principalmente de xiloses, e embora os hidrolisados de pentoses possam ter aplicações na indústria, é de grande interesse o desenvolvimento de microrganismos e processos que possam converter diferentes açúcares em etanol. Poucos microrganismos são capazes de fermentar a xilose,

dentre eles *Escherichia coli*, *Pichia stipitis*, *Cândida shehatae* e *Pachysolen tannophilus* (CHANDEL, 2007) (ROSSELL, 2007).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Materiais

##### 3.1.1 Bagaco de cana-de-açúcar

O bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) utilizado neste trabalho foi obtido de um quiosque de caldo-de-cana após a extração da garapa por prensagem, sendo composto principalmente do talo da planta, livre de folhas, raízes e sem a casca externa, que foi previamente raspada.

##### 3.1.2 Água

Água destilada foi usada em todos experimentos, assim como na preparação de soluções e lavagem do bagaço de cana-de-açúcar.

##### 3.1.3 Vidraria

A vidraria usada neste trabalho é a comumente encontrada em laboratórios de química orgânica e química analítica.

##### 3.1.4 Reagentes

- Peróxido de hidrogênio 32% P.A. Labsynth Produtos para Laboratório Ltda.
- Sulfato ferroso heptahidratado P.A. Vetec Química Fina Ltda.
- Hidróxido de sódio em micropérolas P.A. Vetec Química Fina Ltda.
- Ácido sulfúrico 98% Micro-química Produtos para Laboratórios Ltda.
- Etanol absoluto P.A. – A.C.S. Labsynth Produtos para Laboratório Ltda.
- Ácido dinitro-3,5-salicílico P.A. Vetec Química Fina Ltda.
- D(+) Glicose Anidra P.A. (dextrose). Vetec Química Fina Ltda.

- Tartarato de sódio e potássio P.A. Vetec Química Fina Ltda.

### **3.1.5 Equipamentos**

- Autoclave estacionária vertical para uso em laboratório. Fabricante: Sociedade Fabbe Ltda. Pressão máxima de trabalho: 1,50 Kgf/cm<sup>2</sup>, capacidade 250 L.
- Moinho de facas de pequena capacidade sem marca definida (planta piloto da Engenharia de Alimentos da Escola de Engenharia Mauá).
- Liquidificador Walita de uso doméstico.
- Separador granulométrico com peneiras 14 e 35 mesh.
- Funil de Büchner.
- Papel de filtro Whatman 40.
- pHmetro Quimis.
- papel indicador de pH 0-14 Merck
- Incubador do tipo *shaker*, fabricante New Brunswick Scientific
- Cadinho filtrante de vidro porosidade 4, capacidade 50 mL, marca FGG.
- Estufa para secagem e esterilização marca Tecnal.
- Banho-maria marca Tecnal.
- Termômetro.
- Dessecador com sílica gel.
- Bomba de vácuo.
- Balança analítica Shimadzu, modelo AY220.
- Extrator tipo Soxlet, marca Quimis.
- Agitadores magnéticos.
- Espectrofotômetro Spectronic 20 Genesys, fabricante Spectronic Instruments.
- Cubetas de vidro de 1 cm.

## 3.2 Métodos

### 3.2.1 Pré-tratamento com reagente Fenton e peróxido de hidrogênio seguido de hidrólise ácida.

Estes testes foram realizados com o objetivo de determinar a influência do pré-tratamento oxidativo no resultado da hidrólise ácida, onde esperava-se que a celulose e as hemiceluloses fossem quebradas, formando açúcares simples. Foram comparadas várias condições de pré-tratamento com soluções de peróxido de hidrogênio e reagente Fenton, variando pH e tempo de reação. Após o pré-tratamento, as amostras foram submetidas à hidrólise com ácido sulfúrico (OGATA, 2008) (MASCAL, 2008), e o rendimento foi avaliado através da determinação do teor de açúcares redutores totais (ART) no hidrolisado (BITTMAN, 1974).

#### 3.2.1.1 *Preparação do bagaço de cana-de-açúcar*

O bagaço foi moído em um moinho de facas da planta piloto da Engenharia de Alimentos da Escola de Engenharia Mauá e posteriormente acondicionado em sacos plásticos, contendo aproximadamente 300 g cada, que foram selados a vácuo e mantidos em freezer a -15°C. Na execução dos testes o bagaço foi retirado do freezer e utilizado na temperatura ambiente, sem qualquer outro tratamento, como lavagem ou secagem.

#### 3.2.1.2 *Determinação de umidade e dos teores de sólidos não voláteis e solúveis no bagaço de cana de açúcar*

Uma amostra do bagaço de cana-de-açúcar moído foi pesada e seca em estufa a 60 °C por 24 h para a determinação da umidade. Outra amostra de bagaço de cana de açúcar foi pesada e lavada com água antes que fosse seca em estufa a 60 °C por 24 h para determinar a quantidade de substâncias solúveis presentes na amostra. Considerou-se que o sólido não volátil fosse constituído principalmente pela fibra da cana-de-açúcar e açúcares e que a água lave, no segundo caso, principalmente os açúcares.

Os resultados foram calculados através das seguintes equações:

$$\text{Umidade} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (6)$$

$$\text{substâncias solúveis} = \frac{(m_i - \% \text{ umidade}) - m_f}{m_i} \quad (7)$$

Onde:  $m_f$  = massa final da amostra

$m_i$  = massa inicial da amostra

### **3.2.1.3 Pré-tratamento**

Os testes de oxidação do bagaço de cana-de-açúcar foram efetuados usando-se amostras de 40 g de bagaço moído sem que fosse previamente lavado ou seco.

Oito amostras do bagaço de cana-de-açúcar foram expostas ao reagente de Fenton. O reagente de Fenton foi preparado com 450 mL de solução de peróxido de hidrogênio aquoso a 3% e 50 mL de solução sulfato ferroso 1 g/L ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ). Em alguns testes o pH do meio, inicialmente igual a 3,0, foi corrigido com a adição de 1 mL de ácido sulfúrico, resultando em pH igual a 1,0.

Quatro amostras de bagaço de cana-de-açúcar foram expostas à mesma solução de peróxido de hidrogênio 3% sem a solução de sulfato ferroso. Nessas amostras foram adicionados 50 mL de água destilada, para que os resultados fossem comparados aos testes com reagente Fenton. As amostras foram expostas à solução oxidante por 6 ou 24 horas, sob agitação em incubador tipo shaker, em temperatura ambiente (aproximadamente 25°C).

A solução oxidante foi eliminada por filtração em metade das amostras. Nas demais amostras a solução oxidante foi mantida no Erlenmeyer e foi utilizada para preparação do meio de hidrólise.

Os testes 13 e 14 são brancos de reação e não foram submetidas a nenhum pré-tratamento.

A tabela 3 ilustra todas as condições descritas acima.

TABELA 3: CONDIÇÕES DE TESTE DO PRÉ-TRATAMENTO COM REAGENTE FENTON E H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Teste	Agente oxidante	pH	Tempo de exposição (h)	Filtração
1	Reagente de Fenton	3,0	24	sim
2		3,0	24	não
3		3,0	6	sim
4		3,0	6	não
5		1,0	24	sim
6		1,0	24	não
7		1,0	6	sim
8		1,0	6	não
9	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	6,0	24	sim
10		6,0	24	não
11		6,0	6	sim
12		6,0	6	não
13	branco			
14	branco			

### 3.2.1.4 Hidrólise

Dois métodos distintos foram usados no preparo do meio para a hidrólise:

- A solução oxidante foi eliminada por filtração. Ao bagaço foi adicionada uma solução contendo 90 g de ácido sulfúrico concentrado em 330 mL de água destilada.
- A solução oxidante foi mantida no Erlenmeyer (500 mL do reagente de Fenton ou 500 mL da solução de peróxido de hidrogênio) e adicionada de 135 g de ácido sulfúrico concentrado.

O processo de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar foi efetuado em autoclave estacionária, sob pressão relativa de 1 Kgf/cm<sup>2</sup>, a 120 °C, por 2 horas. O meio foi acidificado pela adição de ácido sulfúrico concentrado.

O teste nº 13, “branco de reação”, é uma amostra de 40 g, idêntica as demais, que não passou por nenhum pré-tratamento oxidante, e foi hidrolisada junto as demais, nas mesmas condições. No “branco de reação” foi empregada a solução contendo 90 g de ácido sulfúrico em 330 mL de água destilada.

O teste nº 14 também é uma amostra que não foi submetida ao pré-tratamento, mas foi hidrolisada em condições distintas. A quantidade de ácido sulfúrico foi diminuída

para 10% do valor inicial, para que fosse verificada a influência da concentração de ácido na hidrólise.

#### **3.2.1.5 Detoxificação**

Para a eliminação de furanos e outros compostos que possam contaminar os açúcares obtidos na etapa de sacarificação as amostras foram filtradas e tratadas com 115 g de hidróxido de cálcio. A torta de sulfato de cálcio resultante do tratamento foi filtrada e o pH da solução resultante corrigido com auxílio de hidróxido de sódio ou ácido clorídrico aquoso para a neutralidade. O volume das amostras foi então corrigido por evaporação para 200 mL.

#### **3.2.1.6 Preparação do reagente DNS**

Foram dissolvidos 10,0 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico em 200 mL de solução de hidróxido de sódio 2,0 M sob aquecimento e intensa agitação (agitador magnético). Em outro béquer contendo 500 mL de água destilada foram dissolvidos 300 g de tartarato de sódio e potássio. As duas soluções foram misturadas, transferidas para balão volumétrico e seu volume ajustado para 1 litro (BITTMAN, 1974).

#### **3.2.1.7 Determinação do teor de açúcares redutores totais**

Foram preparados 4 padrões de glicose com concentrações variando de 0,15 a 0,95 mg/mL. Uma alíquota de 5 mL foi pipetada de cada padrão e transferida para um tubo de ensaio previamente identificado. Em seguida adicionou-se 2 mL do reagente DNS e 1 mL de água destilada. Os tubos foram agitados, aquecidos em banho-maria durante 5 minutos e resfriados em seguida. As soluções foram então transferidas para balões volumétricos e avolumadas para 50 mL. A leitura das absorbâncias foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda 540 nm. O mesmo procedimento foi realizado nas amostras, mas utilizando alíquotas de 10 mL ao invés de 5 mL. Essa diluição foi considerada nos cálculos de concentração.

O gráfico 1 ilustra a curva de calibração obtida com padrões de concentração conhecida de D-Glicose, com a qual os resultados de ART amostras foram calculados.

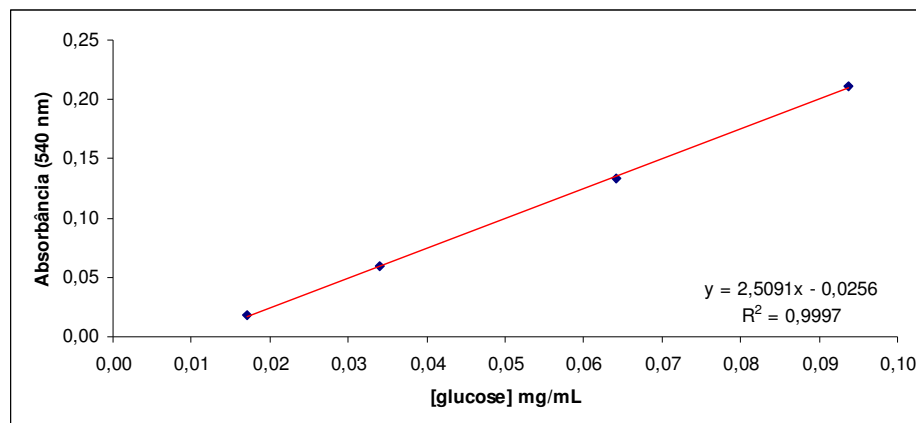


Gráfico 1: Curva de calibração construída com padrões de D-glicose.

### **3.2.2 Pré-tratamento com reagente Fenton e peróxido de hidrogênio seguido de determinação de lignina Klason.**

Para determinar a eficiência do pré-tratamento com reagente Fenton na remoção de lignina do bagaço de cana-de-açúcar, foram testadas concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de 15 e 60 mM, com concentração de íons  $\text{Fe}^{2+}$  fixada em 1 mM, como descrito por Araújo (2002). Os resultados foram comparados com amostras tratadas com as mesmas concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , mas sem adição de  $\text{Fe}^{2+}$ .

O método usado na determinação do teor de lignina Klason baseia-se no método descrito por Browning (1967), com algumas modificações na etapa de extração e na segunda etapa de hidrólise, com ácido diluído.

Canilha (2007) estudou a composição química de amostras de bagaço de cana extraídas com etanol e com a mistura ciclohexano/etanol e encontrou resultados muito semelhantes. Com base nessas informações, optou-se por efetuar a extração somente com etanol 95%.

Ao invés de manter as amostras com ácido diluído em ebulição por 4 horas sob refluxo, as amostras foram autoclavadas a 120 °C durante 1 hora (RABELO, 2008) (CANILHA, 2007) (MILNE, 1992).

#### **3.2.2.1 Preparação do bagaço de cana-de-açúcar**

O bagaço moído foi lavado com água destilada e filtrado a vácuo em funil de

Büchner para eliminação de açúcares residuais provenientes do caldo-de-cana. Para isso 300 g do bagaço, armazenado como descrito no item 3.2.1.1, foram transferidos para um béquer de capacidade quatro litros, onde foram adicionados 3 litros de água destilada e agitou-se a mistura por 5 minutos. A água sobrenadante foi removida por meio de filtração em funil de Büchner. A operação foi repetida mais duas vezes e ao final todo bagaço foi transferido para o funil. Após a eliminação do excesso de água, o bagaço foi espalhado em uma bandeja de alumínio e seco em estufa a 105 °C por 16 horas (LAVARACK, 2002).

O bagaço seco foi triturado em liquidificador doméstico e separado por peneiramento para obtenção de partículas com tamanho entre 14 e 35 mesh.

### ***3.2.2.2 Preparo das soluções oxidantes***

A partir do peróxido de hidrogênio 30% P.A. foram preparadas as seguintes soluções:

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15 mM** – 0,85 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% foram transferidos para balão volumétrico de 500 mL, completado até o menisco com água destilada.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 60 mM** – 3,40 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% foram transferidos para balão volumétrico de 500 mL, completado até o menisco com água destilada.

Uma solução de sulfato ferroso heptahidratado foi preparada dissolvendo-se 1,97 g do sal em 100 mL de água. A concentração da solução foi definida de modo que a adição de 1 mL ao meio reacional resultasse na concentração de 1 mM de íons Fe<sup>2+</sup>.

### ***3.2.2.3 Pré-Tratamento***

A partir do bagaço preparado como descrito no item anterior, foram pesadas dez amostras de cerca de 4,0 g, com precisão de 0,0001 g, e transferidas para Erlenmeyers de 250 mL.

A tabela 4 ilustra as condições de teste empregadas em cada amostra. Foram testadas as duas soluções de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, com e sem adição de Fe<sup>2+</sup>, e um branco, onde se adicionou apenas água destilada. O volume de solução foi fixado em 70 mL, que

foi o volume considerado ideal para cobrir toda a amostra e permitir agitação. Os testes tiveram duração de 2,5 horas, sob agitação constante em incubador tipo shaker a temperatura ambiente (25 °C). Todos os testes foram realizados em duplicata.

TABELA 4 – CONDIÇÕES DE TESTE DO PRÉ-TRATAMENTO COM SOLUÇÕES 15 E 60 mM

Amostra		massa (g)	Condições experimentais
Branco	I	4,0509	H <sub>2</sub> O destilada
	II	4,0269	
A	I	4,0648	[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] = 15 mM
	II	4,0681	
B	I	4,0923	[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] = 15 mM e [Fe <sup>2+</sup> ] = 1 mM
	II	4,0590	
C	I	4,0584	[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] = 60 mM
	II	4,0228	
D	I	4,0781	[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] = 60 mM e [Fe <sup>2+</sup> ] = 1 mM
	II	4,0606	

Ao final do tempo de reação, as amostras foram filtradas com papel de filtro e lavadas no próprio funil com aproximadamente 200 mL de água destilada para remoção de toda solução oxidante.

Os papéis de filtro com as amostras foram transferidos para placas de Petri e secos em estufa a 105 °C por 24 horas.

#### **3.2.2.4 Determinação do teor de lignina Klason**

As amostras foram retiradas da estufa e esfriadas em dessecador. Utilizando balança analítica, foram pesadas em duplicata amostras de 1,0 g em papel de filtro, que foi dobrado e inserido no extrator Soxlet. Todas as amostras foram extraídas durante 4 horas com etanol 95 % e por mais 4 horas com água destilada. Após a extração os papéis de filtro contendo as amostras foram transferidos para uma placa de petri e secos novamente em estufa. Depois de secas as amostras foram retiradas dos papéis de filtro e cuidadosamente transferidas para béqueres de 80 mL.

A primeira etapa da hidrólise foi feita com 15 mL de ácido sulfúrico a 72%, durante 2

horas, com os béqueres tampados e utilizando agitadores magnéticos. Após 2 horas o conteúdo dos béqueres foi transferido para erlenmeyers e completados com água até 500 mL. A segunda etapa da hidrólise foi realizada em autoclave a 120 °C durante 1 hora. Depois de resfriadas, as amostras foram filtradas a vácuo em cadinhos de vidro com placa porosa, previamente secos a 105 °C e tarados, e lavadas com 500 mL de água destilada quente. Os cadinhos contendo a lignina foram secos em estufa a 105°C durante 24 horas, resfriados em dessecador e pesados novamente para cálculo do teor de lignina (equação 8).

$$\% \text{ lignina} = \frac{(m_f - m_i)}{m_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (8)$$

Onde:  $m_f$  = massa final (cadinho + lignina)

$m_i$  = massa inicial (cadinho vazio)

$m_{\text{amostra}}$  = massa inicial do bagaço de cana

### **3.2.3 Estudo comparativo entre pré-tratamentos com reagente Fenton, peróxido de hidrogênio e peróxido de hidrogênio alcalino.**

Os experimentos tiveram por finalidade comparar os pré-tratamentos estudados nos ensaios anteriores ( $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fenton) com o  $\text{H}_2\text{O}_2$  alcalino, que é um reagente conhecido da indústria de celulose e já foi utilizado com sucesso por Dawson (2008) e Rabelo (2008) para remoção de lignina em bagaço de cana-de-açúcar e outros materiais lignocelulósicos. Ao todo foram realizados 16 experimentos em diversas condições, variando pH, concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e tempo de reação, e um branco com água destilada.

As concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  escolhidas para esses ensaios foram de 2 e 4%, com tempos de reação fixados em 24 ou 48 horas, que são condições de pré-tratamento típicas para o peróxido de hidrogênio alcalino. Dawson (2008) e Rabelo (2008) estudaram soluções oxidantes com concentrações variando entre 1 e 5%, com tempos de reação variando entre 8 e 48 horas.

O pH para o reagente Fenton foi fixado entre 2,5 e 3,0, que é considerado o valor de pH ótimo para esse oxidante (SILVA, 1981). A concentração de íons  $\text{Fe}^{2+}$  foi

calculada para que a proporção em massa entre  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  fosse 1:500 na solução 2% e 1:1000 na solução 4%.

Para o peróxido de hidrogênio alcalino, o pH ótimo determinado por Dawson e Boopathy (2008) foi 11,5.

O resultado foi avaliado primeiramente pela determinação da perda de massa durante o pré-tratamento. Dawson e Boopathy (2008) indicam que a perda de massa está diretamente relacionada com a remoção de lignina do bagaço de cana-de-açúcar.

Os dois melhores resultados foram repetidos, juntamente com o branco, com massa inicial maior, para que pudessem ser determinados os teores de lignina Klason no bagaço tratado, açúcares redutores totais e lignina solúvel na solução oxidante.

### **3.2.3.1 Preparo das soluções**

A partir do peróxido de hidrogênio 30% P.A. foram preparadas as seguintes soluções:

**$\text{H}_2\text{O}_2$  2%** (0,6 M) – 67 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% foram transferidos para balão volumétrico de 1000 mL, completado até o menisco com água destilada.

**$\text{H}_2\text{O}_2$  4%** (1,2 M) – 133 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% foram transferidos para balão volumétrico de 1000 mL, completado até o menisco com água destilada.

O pH inicial das soluções foi determinado em 4,5 usando um pHmetro de bancada. Em seguida 400 mL de cada solução foram transferidos para outros béqueres para ajuste do pH entre 2,5 e 3,0 pela adição de ácido sulfúrico diluído. Para os experimentos com peróxido de hidrogênio alcalino, 200 mL de cada solução foram transferidos para outros béqueres para ajuste do pH em 11,5 com adição de hidróxido de sódio em micropérolas sob agitação.

Uma solução de sulfato ferroso heptahidratado foi preparada dissolvendo-se 5,53 g do sal em 250 mL de água. A concentração da solução foi definida de modo que a adição de 0,5 mL ao meio reacional resultasse na concentração 0,044 g/L de íons  $\text{Fe}^{2+}$ .

### 3.2.3.2 Pré-Tratamento

O bagaço de cana-de-açúcar foi lavado, seco e triturado como descrito no item 3.2.2.1. Foram pesadas, com precisão de 0,0001 g, 17 amostras de 1,0 g cada e transferidas para erlenmeyers de 250 mL numerados. Em cada erlenmeyer foram adicionados 50 mL da solução oxidante, e no branco foi adicionado 50 mL de água. Os erlenmeyers foram colocados no incubador tipo shaker, onde ficaram sob agitação constante por 24 ou 48 horas, em temperatura ambiente (aproximadamente 24 °C). A tabela 5 ilustra as condições experimentais de todos os testes.

TABELA 5 – CONDIÇÕES DE TESTE: COMPARATIVO ENTRE PRÉ-TRATAMENTOS COM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ALCALINO E REAGENTE FENTON

Teste	[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ]	Tipo de oxidante	Tempo de reação
1	2%	Fenton	24 h
2	2%	Fenton	48 h
3	2%	pH 3,0	24 h
4	2%	pH 3,0	48 h
5	2%	pH 4,5	24 h
6	2%	pH 4,5	48 h
7	2%	pH 11,5	24 h
8	2%	pH 11,5	48 h
9	4%	Fenton	24 h
10	4%	Fenton	48 h
11	4%	pH 3,0	24 h
12	4%	pH 3,0	48 h
13	4%	pH 4,5	24 h
14	4%	pH 4,5	48 h
15	4%	pH 11,5	24 h
16	4%	pH 11,5	48 h
17	água		24 h

Decorrido o tempo de reação, foram determinadas as perdas de massa sofrida por cada amostra. Após análise desses resultados, foram escolhidos para repetição os ensaios 10, 16 e 17, dessa vez com massa inicial de 4,0 g e quantidades de reagente proporcionais. Ao invés de filtração em cadinho à vácuo, as repetições foram filtradas com papel de filtro em funil analítico, coletando-se o filtrado em balões volumétricos de 250 mL. O resíduo no papel foi lavado com 200 mL de água

destilada e seco em estufa a 105 °C para determinação do teor de lignina Klason pelo método descrito no item 3.2.2.4. No filtrado foram determinados os teores de açúcares redutores totais pelo método descrito 3.2.1.7. Determinação de perda de massa

Após o término no tempo de reação as amostras foram filtradas à vácuo em cadinhos de vidro com porosidade 4, previamente secos em estufa à 105 °C, resfriados em dessecador e tarados em balança analítica.

Após transferir todo conteúdo do erlenmeyer para o cadinho, o resíduo foi lavado com 200 mL de água destilada para eliminação de todo oxidante. Os cadinhos foram secos em estufa a 105 °C por 24 horas, resfriados em dessecador e pesados novamente em balança analítica para determinação da perda de massa.

$$\% \text{ perda de massa} = \left[ 1 - \frac{(m_f - m_i)}{m_{\text{amostra}}} \right] \times 100 \quad (9)$$

Onde:  $m_f$  = massa final (cadinho + resíduo)

$m_i$  = massa inicial (cadinho vazio)

$m_{\text{amostra}}$  = massa inicial do bagaço de cana

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Pré-tratamento com reagente Fenton e peróxido de hidrogênio seguido de hidrólise ácida

#### 4.1.1 Determinação de umidade e substâncias solúveis no bagaço moído

Os resultados a seguir referem-se aos ensaios descritos no item 3.2.1.

O bagaço de cana-de-açúcar amostrado nos primeiros experimentos não foi previamente lavado ou seco, portanto foi efetuada a determinação de umidade e teor de substâncias solúveis e não voláteis, como os açúcares residuais provenientes do caldo de cana.

A tabela 6 resume os resultados obtidos após a secagem do bagaço da cana de açúcar moído.

TABELA 6 - RESULTADOS DE UMIDADE E SOLÚVEIS NO BAGAÇO MOÍDO

Amostra	massa inicial	massa final	umidade	solúveis
sem lavar	7,04	3,28	53,41 %	
lavada	7,03	2,09		16,92 %

A partir dos altos teores de umidade e substâncias solúveis, decidiu-se, para os próximos experimentos, efetuar a lavagem do bagaço com água destilada e secagem em estufa antes da amostragem. Imagina-se que o alto teor de não voláteis no bagaço de cana-de-açúcar seja devido ao açúcar residual do caldo-de-cana.

#### 4.1.2 Resultados da hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar tratado com reagente Fenton e peróxido de hidrogênio

Após a etapa de sacarificação e de detoxificação procedeu-se a análise de açúcares redutores totais (ART) por meio do método DNS descrito no item 3.2.1.7. Na tabela 7 estão listados os valores obtidos em cada um dos testes descritos no texto.

TABELA 7: RESULTADO DA HIDRÓLISE DAS AMOSTRAS SUBMETIDAS AO PRÉ-TRATAMENTO COM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> E REAGENTE FENTON

Teste	Agente oxidante	pH	Tempo de exposição (h)	Filtração	ART (g/L)
1	Reagente de Fenton	3,0	24	sim	1,8
2		3,0	24	não	4,9
3		3,0	6	sim	1,7
4		3,0	6	não	4,4
5		1,0	24	sim	2,5
6		1,0	24	não	3,8
7		1,0	6	sim	0,6
8		1,0	6	não	4,6
9	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	6,0	24	sim	1,6
10		6,0	24	não	2,3
11		6,0	6	sim	1,6
12		6,0	6	não	0,6
13	Branco de reação (mesma concentração de ácido dos testes 1 - 12)				1,3
14	Branco de reação (concentração de ácido dez vezes menor)				16,7

Comparando-se o “branco de reação” em que foi empregado bagaço não tratado com alguns ensaios em que foi efetuada a oxidação notou-se aumento na concentração de açúcares obtidos. Isto é mais evidente quando empregamos o reagente de Fenton do que quando empregamos somente o peróxido de hidrogênio (ensaios 9 a 12 comparados com os ensaios 1 a 8). Os melhores resultados após o tratamento com o reagente de Fenton foram obtidos quando não foi descartada a solução oxidante por filtração, provavelmente por haver, nessa solução, hidrolisados provenientes da hemicelulose.

Comparando-se os ensaios 2 e 4 (pH da mistura oxidante igual a 3,0) nota-se que o aumento do tempo de ação do agente oxidante aumenta a quantidade de açúcares obtidos no processo. O mesmo não é observado em pH mais baixo (ensaios 6 e 8, pH = 1,0).

Embora algumas diferenças possam ser observadas entre os testes, ao comparar o teste 14, cuja hidrólise foi feita com ácido diluído, com os demais testes, fica evidente que o emprego de grande concentração de ácido sulfúrico é deletério para a etapa de sacarificação. É provável que os açúcares hidrolisados tenham sido também oxidados pelo ácido sulfúrico, e por isso não puderam ser mensurados.

Diante desses resultados, optou-se por não mais hidrolisar as amostras, já que o

escopo do trabalho não era desenvolver uma metodologia de hidrólise, mas sim investigar e comparar pré-tratamentos.

#### 4.2 Determinação de lignina Klason em amostras tratadas com reagente Fenton e peróxido de hidrogênio alcalino

Após o pré-tratamento com reagente Fenton e peróxido de hidrogênio 15 mM e 60 mM, na presença e ausência de íons  $\text{Fe}^{2+}$ , o teor de lignina Klason foi determinado em duplicata em todas as amostras. Os resultados estão dispostos na tabela 8.

TABELA 8: DETERMINAÇÃO DA LIGNINA KLASON NAS AMOSTRAS TRATADAS COM REAGENTE FENTON E  $\text{H}_2\text{O}_2$  COM SOLUÇÕES 15 E 60 mM

Amostra		$[\text{H}_2\text{O}_2]$	$[\text{Fe}^{2+}]$	$m_{\text{amostra}}$	$m_{\text{inicial}}$	$m_{\text{final}}$	lignina	média
Branco I	.1	0	0	1,0829	45,8771	46,0658	17,43%	<b>17,54%</b>
	.2			1,0538	44,6563	44,8424	17,66%	
Branco II	.1	0	0	1,0261	43,8774	44,0569	17,49%	<b>17,32%</b>
	.2			1,0695	46,6659	46,8493	17,15%	
A I	.1	15 mM	0	1,1061	44,4108	44,6036	17,43%	<b>17,31%</b>
	.2			1,0455	44,1492	44,3290	17,20%	
A II	.1	15 mM	0	1,0396	45,6138	45,7971	17,63%	<b>17,34%</b>
	.2			1,0769	44,9602	45,1437	17,04%	
B I	.1	15 mM	1 mM	1,0983	44,6018	44,7869	16,85%	<b>17,10%</b>
	.2			1,0628	44,1705	44,3548	17,34%	
B II	.1	15 mM	1mM	1,0098	44,1679	44,3353	16,58%	<b>16,75%</b>
	.2			1,0238	45,6128	45,7860	16,92%	
C I	.1	60 mM	0	1,0253	43,8758	44,0512	17,11%	<b>16,88%</b>
	.2			1,0095	45,8740	46,0422	16,66%	
C II	.1	60 mM	0	1,0198	44,6554	44,8300	17,12%	<b>17,15%</b>
	.2			1,0155	43,8075	43,9819	17,17%	
D I	.1	60 mM	1mM	1,0293	44,6082	44,7856	17,24%	<b>17,21%</b>
	.2			1,0210	43,0244	43,1998	17,18%	
D II	.1	60 mM	1mM	1,0127	44,1476	44,3208	17,10%	<b>17,15%</b>
	.2			1,0383	44,9562	45,1348	17,20%	

Observou-se que os pré-tratamentos não diminuíram o teor de lignina do bagaço de cana-de-açúcar, o que pode ser constatado comparando-se os resultados com os brancos, onde ao invés da solução oxidante foi adicionada somente água destilada. O gráfico 2 ilustra os valores médios de lignina Klason encontrados após os testes com oxidante e os brancos.

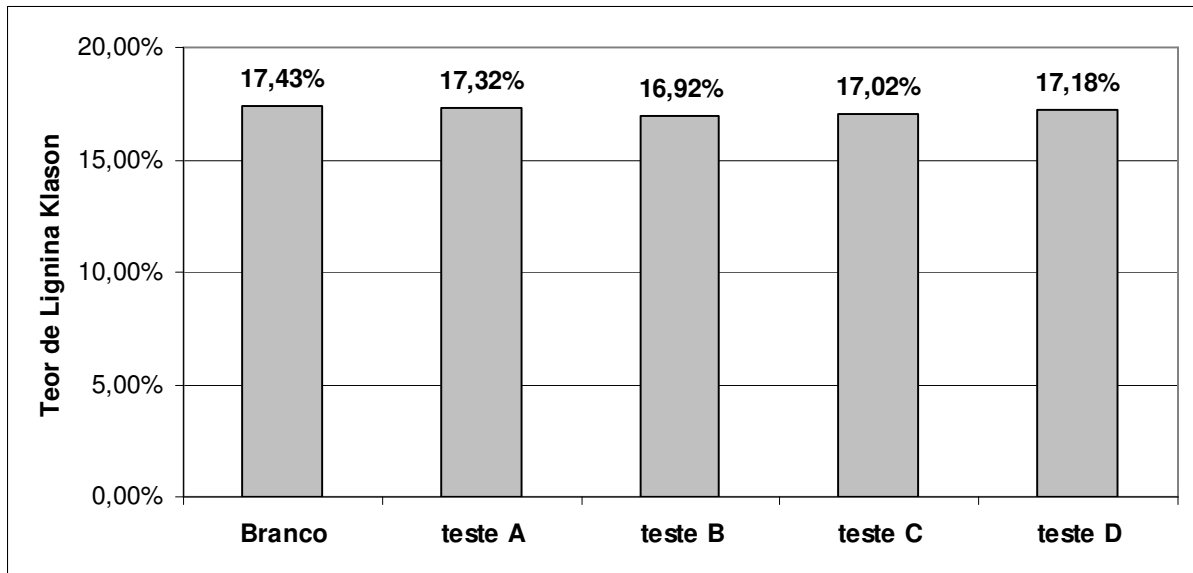


Gráfico 2: Resultados médios do teor de lignina Klason após o pré-tratamento com reagente Fenton e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> com soluções 15 e 60 mM.

Araújo (2002) obteve resultados que indicam a degradação quase total da lignina presente em amostras de licor negro usando os mesmos tratamentos, e esperava-se resultado semelhante nas amostras de bagaço de cana, mas os resultados mostram que houve pouco ou nenhum ataque à lignina. É provável que no licor negro a oxidação da lignina seja facilitada por estar solúvel. A oxidação de material lignocelulósico sólido talvez demande concentrações mais altas de oxidante e tempos maiores de exposição.

O teor de lignina encontrado no “Branco” está abaixo do valor citado na literatura, que é da ordem de 23 % (RODRIGUES, 2008). Esse fato pode ser explicado por diferenças no método de análise e também pelo processo de preparação a que o bagaço foi submetido antes dos ensaios, já que o material coletado no quiosque de caldo-de-cana já não continha a casca, que é a parte mais dura e tem que ser raspada para produção da garapa. Além da raspagem, o bagaço foi submetido à lavagem com água destilada, onde foram retirados açúcares e outros extrativos.

### 4.3 Comparativo entre amostras tratadas com reagente Fenton, peróxido de hidrogênio e peróxido de hidrogênio alcalino.

#### 4.3.1 Determinação de perda de massa no pré-tratamento

A tabela 9 ilustra os resultados de determinação de perda de massa após o pré-tratamento.

TABELA 9: PERDA DE MASSA NAS AMOSTRAS TRATADAS COM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ALCALINO E REAGENTE FENTON

Teste	[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ]	Reagente	tempo	m <sub>amostra</sub>	m <sub>i cadinho</sub>	m <sub>f cadinho</sub>	perda de massa (%)
1	2%	Fenton	24 h	1,0278	43,8702	44,8033	9,21
2	2%	Fenton	48 h	1,0219	44,4079	45,3227	10,48
3	2%	pH 3,0	24 h	1,0282	44,6048	45,5892	4,26
4	2%	pH 3,0	48 h	1,0479	46,6561	47,6577	4,42
5	2%	pH 4,5	24 h	1,0435	43,0224	44,0232	4,09
6	2%	pH 4,5	48 h	1,0339	44,1589	45,1432	4,80
7	2%	pH 11,5	24 h	1,0769	45,6043	46,4644	20,13
8	2%	pH 11,5	48 h	1,0848	44,5938	45,4529	20,81
9	4%	Fenton	24 h	1,0526	44,6478	45,5638	12,98
10	4%	Fenton	48 h	1,0598	49,3685	50,2645	15,46
11	4%	pH 3,0	24 h	1,0439	43,8048	44,7993	4,73
12	4%	pH 3,0	48 h	1,0065	50,1035	51,0590	5,07
13	4%	pH 4,5	24 h	1,0239	45,8702	46,8447	4,82
14	4%	pH 4,5	48 h	1,0183	49,2116	50,1754	5,35
15	4%	pH 11,5	24 h	1,0705	44,9494	45,6948	30,37
16	4%	pH 11,5	48 h	1,0348	49,8074	50,4838	34,63
17	água	-	24 h	1,0874	44,1416	45,1818	4,34

O peróxido de hidrogênio alcalino (pH 11,5) foi o que provocou maior perda massa nas amostras em todas as condições de tratamento testadas, sendo o melhor resultado foi alcançado com a exposição à solução de peróxido de hidrogênio alcalino 4% durante 48 horas, que levou à perda de 34,63 % da massa inicial de bagaço (teste 16). O segundo tratamento mais eficiente foi o reagente Fenton, que também alcançou melhor resultado quando exposto à solução de peróxido de hidrogênio 4% por 48 horas, causando perda de 15,46% da massa inicial da amostra (teste 10). As amostras tratadas com peróxido de hidrogênio em pH 3,0 e 4,5 não apresentaram resultados significativos, e os valores obtidos ficaram próximos do resultado do teste 17, onde não foi utilizado nenhum oxidante, somente água.

Na amostra tratada com água houve perda de 4,34% da massa inicial, perda que pode ser explicada pela dissolução de açúcares e outras substâncias solúveis presentes no bagaço de cana-de-açúcar. Apesar de ter sido lavado com água destilada após a moagem, o bagaço foi novamente triturado, aumentando consideravelmente a área de contato e permitindo a solubilização de mais açúcares e outras substâncias.

No gráfico 3 pode-se comparar os resultados de perda de massa de todas as amostras tratadas com solução de peróxido de hidrogênio a 2% com a amostra tratada com água.

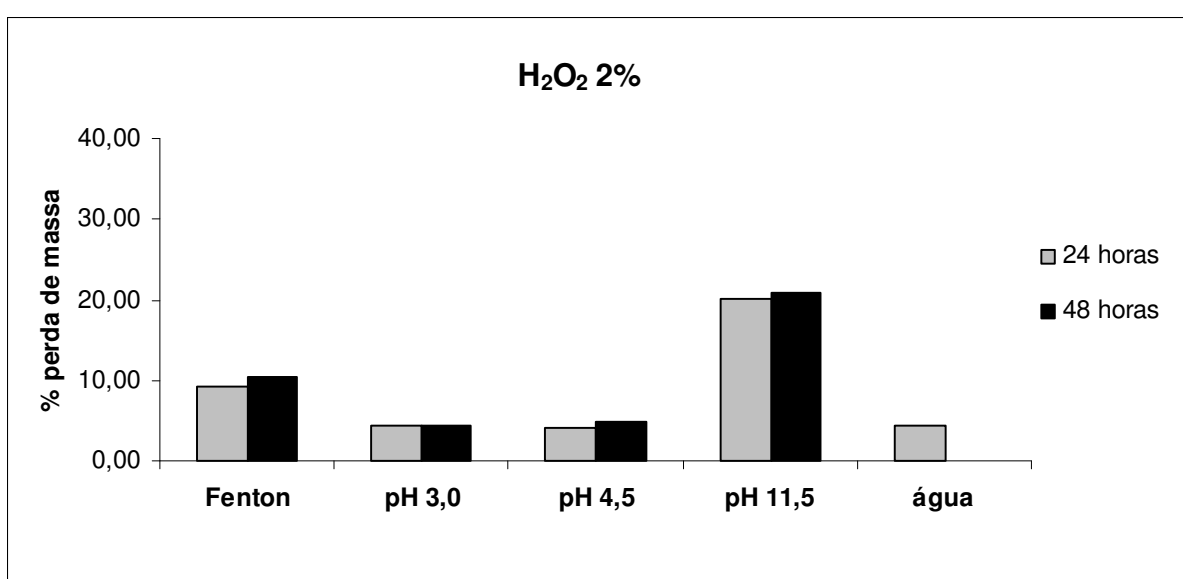


Gráfico 3: Comparativo de perda de massa em amostras tratadas com soluções de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2% em diversas condições e amostra tratada com água.

Da mesma maneira, no gráfico 4, as amostras tratadas com solução de peróxido de hidrogênio a 4%.

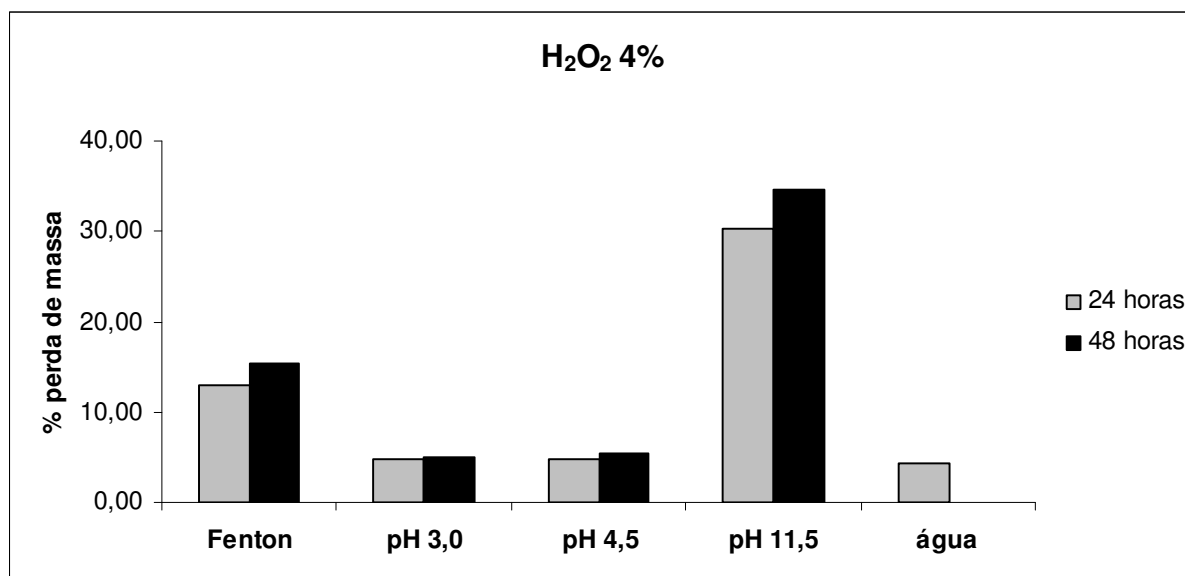


Gráfico 4: Comparativo de perda de massa entre amostras tratadas com soluções de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 4% em diversas condições e amostra tratada com água.

O gráfico 5 ilustra o desempenho do peróxido de hidrogênio alcalino. Observa-se que o aumento da concentração de peróxido de hidrogênio causa significativo aumento na perda de massa, mas o mesmo não ocorre quando aumentado o tempo de exposição. Com concentração 2%, os resultados foram praticamente iguais em 24 e 48 horas, provavelmente porque após 24 horas o peróxido de hidrogênio já tivesse sido degradado quase que totalmente. Já com solução 4%, a perda de massa variou de 30,37 para 34,63%.

Os resultados obtidos com o reagente Fenton estão ilustrados no gráfico 6. O comportamento foi semelhante ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> alcalino, pois o aumento de concentração provocou aumento considerável de perda de massa (em 48 horas, variou de 10,48 para 15,36%), mas o aumento de tempo de exposição fez pouca diferença.

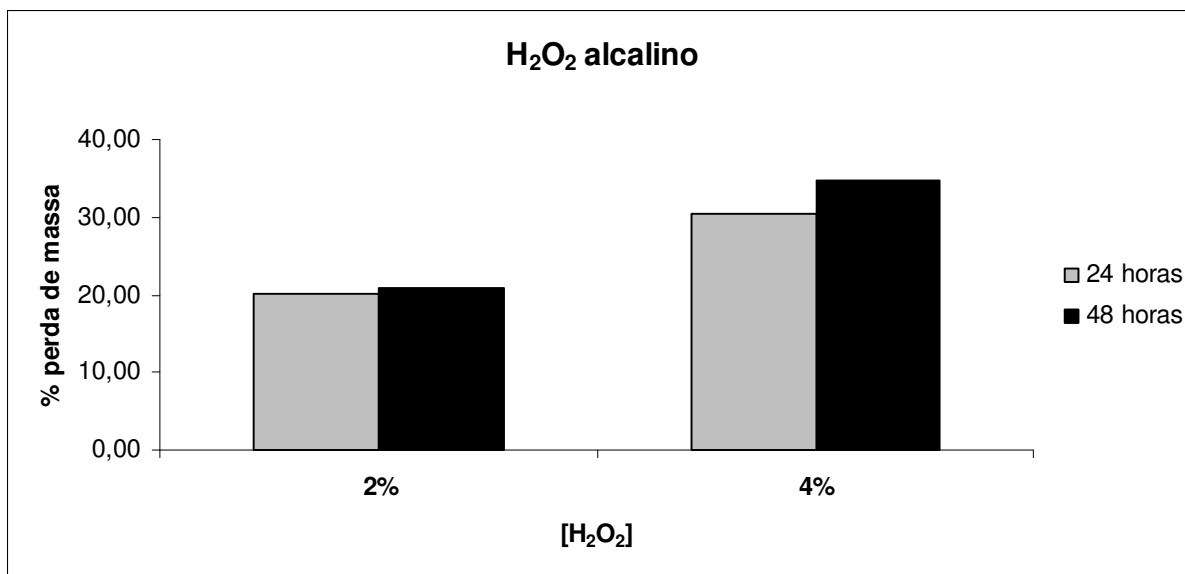


Gráfico 5 – Perda de massa provocada pelo peróxido de hidrogênio alcalino

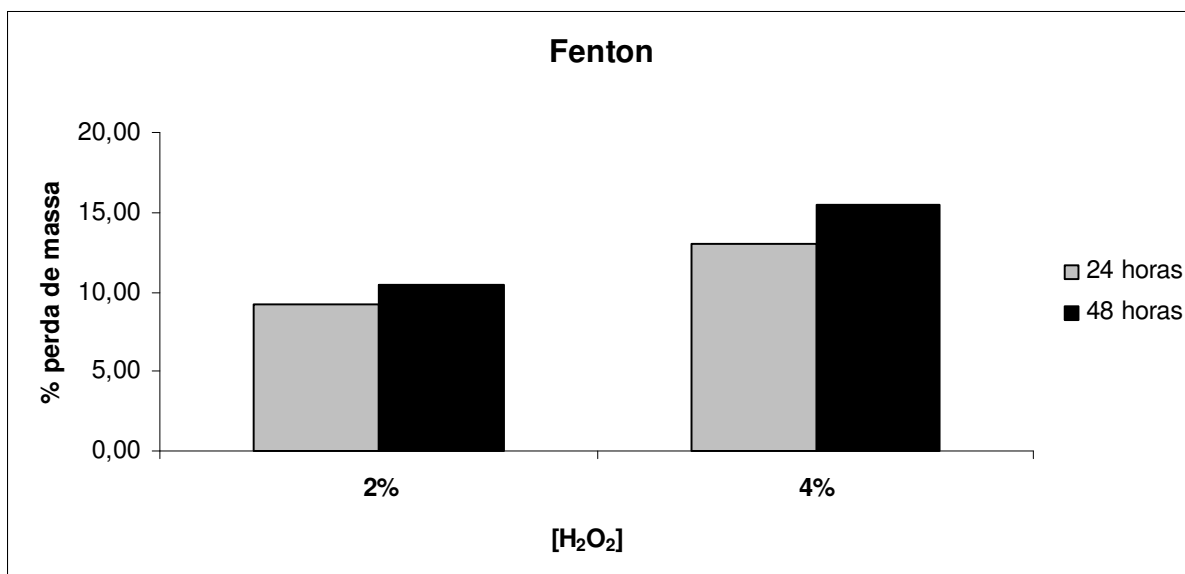


Gráfico 6: Perda de massa provocada pelo reagente Fenton

#### 4.3.2 Determinação de lignina Klason nas amostras repetidas

Os melhores resultados obtidos com reagente Fenton e peróxido de hidrogênio alcalino, respectivamente testes 10 e 16, foram repetidos, juntamente com o “branco” (teste 17). Nas repetições a massa inicial e a quantidade de solução oxidante foram quatro vezes maiores do que nos primeiros ensaios, para que ao final do tratamento a amostra tivesse massa suficiente para as determinações de lignina.

Na tabela 10 estão os resultados da determinação de lignina Klason nas amostras repetidas. Na amostra tratada com reagente Fenton, em comparação com o branco, observa-se que houve ligeira diminuição do teor de lignina, de menos de 1%. Já na amostra tratada com peróxido de hidrogênio alcalino, o teor de lignina caiu 14,8% em relação ao branco.

TABELA 10: DETERMINAÇÃO DE LIGNINA EM AMOSTRAS TRATADAS POR 48 HORAS COM REAGENTE FENTON, PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO ALCALINO E ÁGUA

	Teste	$m_{\text{amostra}}$	$m_{\text{i cadinho}}$	$m_{\text{f cadinho}}$	<b>lignina (%)</b>
1	água	1,0240	44,6370	44,8148	17,36%
2		1,0177	46,6542	46,8277	17,05%
3	Fenton	1,0548	44,9503	45,1268	16,73%
4		1,0147	43,8692	44,0358	16,42%
5	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> alcalino	1,0354	44,1570	44,1823	2,44%
6		1,0714	43,0196	43,0450	2,37%

O gráfico 7 ilustra as médias dos resultados para as três amostras. Considerando que o total de lignina na amostra inicial é o valor médio do “branco”, é possível calcular que no tratamento com reagente Fenton apenas 3,7 % da lignina foi removida, enquanto que no tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino 86,0 % da lignina foi removida.

Apesar do reagente Fenton solubilizar cerca de 15 % da massa total da amostra, o ataque não foi seletivo à lignina, tendo hidrolisado também parte da celulose e principalmente hemiceluloses.

Em contrapartida, o peróxido de hidrogênio alcalino foi muito eficiente na remoção de lignina, mas também hidrolisou grande parte das hemiceluloses e da celulose, oxidando os açúcares formados.

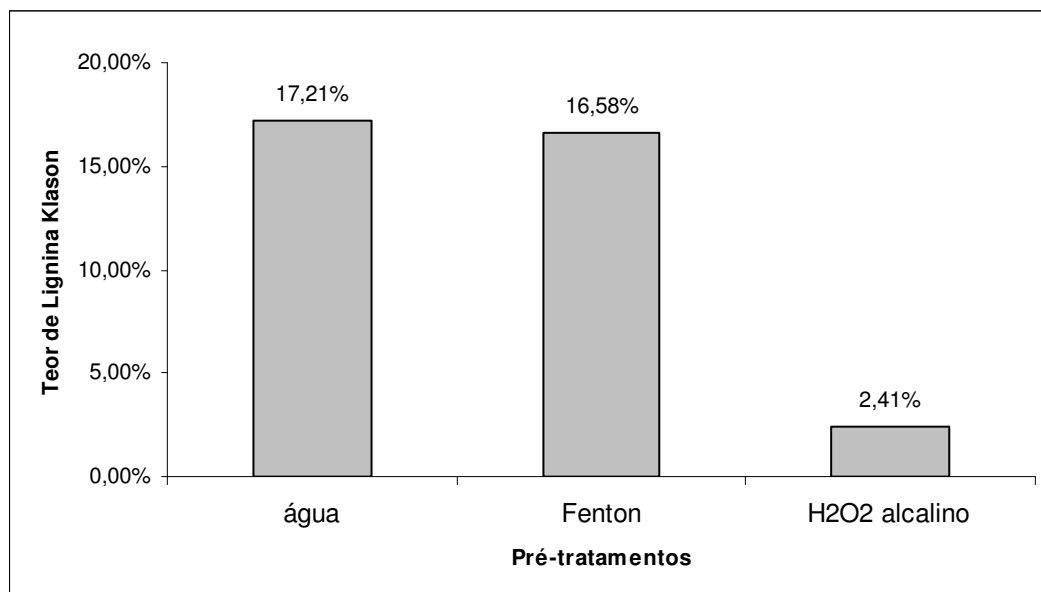


Gráfico 7: Teor de lignina Klason em amostras tratadas por 48 horas com água, reagente Fenton e peróxido de hidrogênio alcalino.

#### 4.3.3 Análise de açúcares redutores totais na solução oxidante

A solução oxidante das amostras repetidas foi coletada em balão volumétrico de 250 mL para análise de teor de açúcares redutores totais (ART) de acordo com método descrito em 3.2.1.7. Na tabela 11 os resultados da concentração de ART em mg/mL na solução oxidante e o valor da massa total de açúcares redutores contidos na solução.

TABELA 11: DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES TOTAIS NAS AMOSTRAS REPETIDAS

Amostras	[ART] mg/mL	Massa total (g)
Água	0,1507	0,038 g
Fenton	0,4974	0,124 g
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> alcalino	0,0909	0,023 g

Os resultados sugerem que o reagente Fenton provocou hidrólise das hemiceluloses, pois a quantidade de açúcares redutores totais é três vezes maior que na amostra tratada somente com água. É provável que o peróxido de hidrogênio alcalino tenha provocado a degradação dos açúcares hidrolisados, já que a quantidade de açúcares encontrada é menor que na amostra tratada somente com água.

## 5 CONCLUSÃO

Os resultados iniciais demonstram que o método utilizado para hidrolisar as amostras tratadas com oxidante foi ineficiente devido à elevada quantidade de ácido sulfúrico empregada, que provavelmente provocou a degradação dos açúcares resultantes da hidrólise. O efeito da diminuição da concentração de ácido sulfúrico pode ser observado no teste 14, onde foi empregada quantidade dez vezes menor de ácido e se obteve maior quantidade de açúcares. O controle da quantidade de ácido sulfúrico empregado na hidrólise é importante do ponto de vista econômico tanto quanto com relação ao rendimento dos açúcares obtidos.

O emprego do reagente de Fenton com concentrações de peróxido de hidrogênio de 15 e 60 mM não foi efetivo na remoção de lignina nas amostras de bagaço de cana-de-açúcar, embora tenha se mostrado eficiente na oxidação de lignina em amostras de licor negro. É bastante provável que esse resultado seja devido à menor área de contato da lignina em fase sólida, na fibra celulósica, em relação ao licor negro.

O emprego do reagente Fenton com concentrações de peróxido de hidrogênio de 2 e 4% não foi eficiente na remoção de lignina, mas provocou considerável perda de massa nas amostras tratadas, provavelmente pela hidrólise das hemiceluloses. A quantidade de açúcares hidrolisados no pré-tratamento com reagente Fenton é cerca de cinco vezes maior que no tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino.

O emprego de peróxido de hidrogênio alcalino provocou maior perda de massa e se mostrou mais eficaz na remoção da lignina que os demais métodos estudados, mas é provável que tenha oxidado grande parte dos açúcares resultantes do pré-tratamento.

## REFERÊNCIAS

- ADSUL, M. G.; GHULE, J. E.; SHAIKH, H.; SINGH, R.; BASTAWDE, K. B.; GOKHALE, D. V.; VARMA, A. J. **Enzymatic Hydrolysis of Delignified Bagasse Polysaccharides**. *Carbohydrate Polymers*, vol. 62, p. 6-10, 2005.
- AGUILAR, R.; RAMÍREZ, J. A.; GARROTE, G.; VÁZQUEZ, M. **Kinetic Study of the Acid Hydrolysis of Sugar Cane Bagasse**. *Journal of Food Engineering*, vol. 55, p. 309-318, 2002.
- ALTERTHUM, F. INGRAM, L. O. **Efficient Ethanol Production from Glucose, Lactose, and Xylose by Recombinant *Escherichia coli***. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 55, nº 8, p. 1943-1948, 1989.
- ANDREOLI, C.; SOUZA, S. P. **Cana-de-Açúcar: a Melhor Alternativa para Conversão da Energia Solar e Fóssil em Etanol**. Disponível em <[http://ecen.com/eee59/eee59p/cana\\_melhor\\_conversorl.htm](http://ecen.com/eee59/eee59p/cana_melhor_conversorl.htm)>. Acesso em 20 de outubro de 2008.
- ARAUJO, E.; MALAVER, A. J. R.; GONZÁLEZ, A. M.; ROJAS, O. J.; PEÑALOZA, N.; BULLÓN, J.; LARA, M. A.; DMITRIEVA, N. **Fenton's Reagent-Mediated Degradation of Residual Kraft Black Liquor**. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 97, p. 91-103, 2002.
- BASTOS, V. D. **Etanol, Alcoolquímica e Biorrefinarias**. BNDS setorial, nº 25, p. 5-38, Rio de Janeiro, 2007.
- BITTMAN, R. **Analysis of Reducing Sugars in Breakfast Cereal and Other Foods**. *Journal of Chemical Education*, vol. 51, nº 1, p. 46-47, 1974.
- BJERRE, A. B.; OLESEN, A. B.; FERNQVIST, T.; PLÖGER, A.; SCHMIDT, A. S. **Pretreatment of wheat straw using combined wet oxidation and alkaline hydrolysis resulting in convertible cellulose and hemicellulose**. *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 49-5, p. 568-577, 1996.
- BONOMI, A.; POÇO, J. G. R.; TRIELLI, M. A. **Biocombustíveis – A Solução**

**Brasileira para uma Matriz Energética Sustentável.** *Revista Brasileira de Engenharia Química*. Outubro/2006. p. 16-21. 2006.

BOSCO, F. Tecnologia verde e amarela. *Revista Petro&Química*, ed. 304, 2008. Disponível em <[http://www.editoravalete.com.br/site\\_petroquimica/edicoes/ed\\_304/304.html](http://www.editoravalete.com.br/site_petroquimica/edicoes/ed_304/304.html)>. Acessado em 22/05/2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Conselho Interministerial do Açúcar e do Alcool. *Resolução nº 37, de 27 de Junho de 2007*. Regulamento técnico sobre a adição de álcool etílico anidro combustível à gasolina. Disponível em <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do>>. Acesso em 08 de outubro de 2008.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Desenvolvimento da Produção. Biocombustíveis. Disponível em <<http://www.desenvolvimento.gov.br/sitio/interna/interna.php?area=2&menu=999>>. Acesso em 08 de outubro de 2008.

BROWNING, B. L. **Methods of Wood Chemistry**. Vol. II. Interscience Publishers, New York. 1967.

CANILHA, L.; CARVALHO, W.; ROCHA, G. J. M.; ALMEIDA E SILVA, J. B.; GIULIETTI, M. **Caracterização do Bagaço de Cana-de-Açúcar in natura, extraído com etanol ou ciclohexanoetanol**. 47º Congresso Brasileiro de Química. 2007. Disponível em <<http://www.abq.org.br/cbq/2007/trabalhos/11/11-570-713.htm>>. Acessado em 09 de março de 2009.

CHANDEL, A. K.; KAPOOR, R. K.; SINGH, A.; KUHAD, R. C. **Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production by *Candida shehatae* NCIM 3501**. *Bioresource Technology*, vol. 98, p. 1947-1950, 2007.

CHENG, K.; ZHANG, J.; PING, W.; GE, J.; ZHOU, Y.; LING, H.; XU, J. **Sugarcane Bagasse Mild Alkaline/Oxidative Pretreatment for Ethanol Production by Alkaline Recycle Process**. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 151, p. 43-50, 2008.

CUZENS, J. C.; MILLER, J. R. **Acid Hydrolysis of Bagasse for Ethanol**

**Production.** *Renewable Energy*, vol. 10, nº 2/3, p. 285-290, 1997.

D'ALMEIDA, M. L. O. **Composição Química dos Materiais Lignocelulósicos.** In: *Celulose e Papel*, vol. I, 2ª ed., São Paulo, 1988.

DAWSON, L.; BOOPATHY, R. **Cellulosic Ethanol Production from Sugarcane Bagasse without Enzymatic Saccharification.** *BioResources*, 3(2), p. 452-460, 2008.

DOE JOINT GENOME INSTITUTE – U.S. DEPARTMENT OF ENERGY. **Phanerochaete chrysosporium v2.0.** Disponível em <<http://genome.jgi-psf.org/Phchr1/Phchr1.home.html>>. Acessado em 22/05/2009.

GÁMEZ, S.; GONZÁLEZ-CABRIALES, J. J.; RAMÍREZ, J. R.; GARROTE, G.; VÁZQUEZ, M. **Study of the Hydrolysis of Sugar Cane Bagasse using Phosphoric Acid.** *Journal of Food and Engineering*, vol. 74, p. 78-88, 2006.

GUSSE, A. C.; MILLER, P. D.; VOLK, T. J. **White-Rot Fungi Demonstrate First Biodegradation of Phenolic Resin.** *Environmental Science and Technology*, vol. 40, p. 4196-4199, 2006.

HOWARD, R. L.; ABOTSI, E.; RENSBERG, J.; HOWARD, S. **Lignocellulose Biotechnology: Issues of Bioconversion and Enzyme Production.** *African Journal of Biotechnology*, vol. 2, nº 12, p. 602-619, 2003.

JEFFRIES, T. W. **Biodegradation of lignin and hemicelluloses.** In: RATLEDGE, C. *Biochemistry of Microbial Degradation*, p. 233-277, Dordrecht, 1994.

KAAR, W. E.; GUTIERREZ, C. V.; KINOSHITA, C. M. **Steam Explosion of Sugarcane Bagasse as a Pretreatment for Conversion to Ethanol.** *Biomass and Bioenergy*, vol. 14, nº 3, p. 277-287, 1998.

KAVITHA, V.; PALANIVELU, K. **The role of ferrous ion in Fenton and photo-Fenton processes for the degradation of phenol.** *Chemosphere*, vol. 55, p. 1235-1243, 2004.

LAVARACK, B. P.; GRIFFIN, G. J.; RODMAN, D. **Acid Hydrolysis of Sugarcane Bagasse Hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and others.**

*Biomass and Bioenergy*, vol. 23, p. 367–380, 2002.

LEE, Y.-J.; CHUNG, C.; DAY, D. F. **Sugarcane Bagasse Oxidation using a Combination of Hypochlorite and Peroxide.** *Bioresource Technology*, doi:10.1016/j.biortech. 2008.06.043, 2008.

LEE, Y.-J. **Oxidation of Sugarcane Bagasse using a Combination of Hypochlorite and Peroxide.** Dissertação de Mestrado. Louisiana State University, Baton Rouge, 2005.

MARTÍN, C.; ALRIKSSON, B.; SJÖDE, A.; NILVEBRANT, N.; JÖNSSON, L. J. **Dilute Sulfuric Acid Pretreatment of Agricultural and Agro-Industrial Residues for Ethanol Production.** *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 136-140, p. 339-352, 2007.

MARTÍN, C.; GALBE, M.; WAHLBOM, C. F.; HAHN-HÄGERDAL, B.; JÖNSSON, L. J. **Ethanol Production from Enzymatic Hydrolysates of Sugarcane Bagasse using Recombinant Xylose-utilising *Saccharomyces cerevisiae*.** *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 31, p. 274-282, 2002.

MARTÍN, C.; GONZÁLEZ, Y.; FERNANDÉZ, T.; THOMSEN, A. B. **Investigation of cellulose convertibility and ethanolic fermentation of sugarcane bagasse pretreated by wet oxidation and steam explosion.** *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, vol. 81, issue 10, p. 1669-1677. 2006.

MARTÍN, C.; KLINKE, H. B.; THOMSEN, A. B. **Wet Oxidation as a Pretreatment for Enhancing the Enzymatic Convertibility of Sugarcane Bagasse.** *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 40, p. 426-432, 2007.

MASCAL, M.; SCOWN, R. **Converting Municipal Waste into Automobile Fuel: Ethanol from Newspaper.** *Journal of Chemical Education*, vol. 85, nº 4, p. 546-548, 2008.

MILLER, G.L. **Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar.** *Analytical Chemistry*, vol. 31, nº 3, p. 426-428, 1959.

MILNE, T. A.; CHUM, H. L.; AGBLEVOR, F.; JOHNSON, D. K. **Standardized**

**Analytical Methods.** *Biomass and Bioenergy*, vol. 2, nº 1-6, p. 341-366, 1992.

MORJANOFF, P. J.; GRAY, P. P. **Optimization of Steam Explosion as a Method for Increasing Susceptibility of Sugarcane Bagasse to Enzymatic Saccharification.** *Biotechnology and Bioengineering*, vol. XXIX, p. 733-741, 1987.

OGATA, B. Y.; LIRA, D.G.; KURITA, G.J.; CANCELLA, P. S. **Estudo da Produção de Etanol a Partir de Fontes Lignocelulósicas.** Trabalho de Graduação. Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, 2008.

OHKUMA, M.; MAEDA, Y.; JOHJIMA, T.; KUDO, T. **Lignin Degradation and Roles of White-rot Fungi: Study on an efficient symbiotic system in fungus-growing termites and its application to bioremediation.** RIKEN Review nº 42, 2001. Disponível em: <[http://www.riken.go.jp/lab-www/library/publication/review/pdf/No\\_42/42\\_039.pdf](http://www.riken.go.jp/lab-www/library/publication/review/pdf/No_42/42_039.pdf)>. Acesso em 22 de outubro de 2008.

OTERO, J. M.; PANAGIOTOU, G.; OLSSON, L. **Fueling Industrial Biotechnology Growth with Bioethanol.** In: SCHEPER, T.; OLSSON, L. *Biofuels*. Kongens Lyngby: Springer, 2007. p. 11-40.

PÈREZ, M.; TORRADES, F.; GARCÍA-HORTAL, J. A.; DOMÈNECH, X.; PERAL, J. **Removal of Organic Contaminants in Papel Pulp Treatment Effluents under Fenton and Photo-Fenton Conditions.** *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 36, p. 63-74. 2002.

PURWADI, R. **Continuous Ethanol Production from Dilute-acid Hydrolyzates: Detoxification and Fermentation Strategy.** Tese de Doutorado, Chalmers University of Technology, Göteborg, Suécia, 2006.

RABELO, S. C.; MACIEL FILHO, R.; COSTA, A. C. **A Comparison Between Lime and Alkaline Hydrogen Peroxide Pretreatments os Sugarcane Bagasse for Ethanol Production.** *Applied Biochemical Biotechnology*, 148, p. 45-58, 2008.

RHODIA. **Rota Alcoolquímica é um dos caminhos de crescimento da Rhodia.** Sala de Imprensa – Releases, novembro de 2008. Disponível em:

<[http://www.rhodia.com.br/pt/news\\_center/news\\_releases/alcohol\\_chemical\\_route\\_171108.tcm](http://www.rhodia.com.br/pt/news_center/news_releases/alcohol_chemical_route_171108.tcm)> Acessado em 05/05/2009.

RIVERS, D. B. **Factors Affecting the Enzymatic Hydrolysis of Bagasse and Rice Straw**. *Biological Wastes*, vol. 26, p. 85-95, 1988.

RODRIGUES, F. A.; GUIRARDELLO, R. **Evaluation of a Sugarcane Bagasse Acid Hydrolysis Technology**. *Chemical Engineering Technology*, vol. 31, nº 6, p. 883-892, 2008.

ROSSEL, C. E. V.; MANTELATTO, P. E.; AGNELLI, J. A. M.; NASCIMENTO, J. **Sugar-Based Biorefinery – Technology for Integrated Production of Poly(3-hydroxybutyrate), Sugar and Ethanol**. In: KAMM, B.; GRUBER, P. R.; KAMM, M. **Biorefineries - Industrial Processes and Products**. Vol. 1, p. 209-226, Wiley-VCH, Weinheim, 2006.

ROSSEL, C. E. V. **Hidrólise de Bagaço e Palha de Cana para Produção de Etanol**. Seção 3. Disponível em <<http://www.inovacao.unicamp.br/etanol/report/Hidrolise%20Rossell%20Apresenta%E7%E3o.pdf2007>>. Acessado em 05/11/2008.

SÁNCHEZ, Ó. J.; CARDONA, C. A. **Trends in Biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks**. *Bioresource Technology*, nº 99, p. 5270-5295, 2008.

SILVA, T. C. F. **Processos Oxidativos Avançados para Tratamento de Efluentes de Indústria de Celulose Kraft Branqueada**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2007.

SOARES, P. A.; ROSSELL, C. E. V. **Conversão da Celulose pela Tecnologia Organosolv**. Publicação NAIPPE/USP – Núcleo de Análise Interdisciplinar de Políticas e Estratégias da Universidade de São Paulo. 2007. Disponível em <[http://www.naippe.fm.usp.br/trabalhos/livro\\_naippe\\_vol3-2.pdf](http://www.naippe.fm.usp.br/trabalhos/livro_naippe_vol3-2.pdf)>. Acesso em 07 de maior de 2009.

SUN, Y.; CHENG, J. **Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production: a Review**. *Bioresource Technology*, vol. 83, issue 1, p. 1-11, 2002.

SUN, R.; TOMKINSON, J.; WANG, S.; ZHU, W. **Characterization of lignins from wheat straw by alkaline peroxide treatment.** *Polymer Degradation and Stability*, vol. 67, p. 101-109, 2000.

TANG, W. Z. ***Physicochemical Treatment of Hazardous Wastes.*** 1<sup>a</sup> ed. CRC Press LLC, Boca Raton, 2004.

TEIXEIRA, L. C.; LINDEN, J. C.; SCHROEDER, H. A. **Alcaline and Peracetic Acid Pretreatments of Biomass for Ethanol Production.** *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 77-79, p. 19-34, 1999.

TWUMASI, EBENEZER. **Environmental Study of the Lignocellulose Ethanol Production at the Sekab Pilot Plant (ETEC).** Dissertação de Mestrado. Luleå University of Technology, Luleå, 2007.

ZHAO, X.; PENG, F.; CHENG, K.; LIU, D. **Enhancement of the enzymatic digestibility of sugarcane bagasse by alkali-peracetic acid pretreatment.** *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 44, p. 17-23, 2009.

ZHAO, X.; CHENG, K.; LIU, D. **Organosolv Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Enzymatic Hydrolysis.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 82, p. 815-827, 2009.