



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**FRACIONAMENTO DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR
COMBINANDO TRATAMENTOS COM SOLVENTE EUTÉTICO
PROFUNDO E ÁCIDO DILUÍDO**

Layanny Samara da Silva Souza

**João Pessoa-PB
MARÇO/2023**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**FRACIONAMENTO DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR
COMBINANDO TRATAMENTOS COM SOLVENTE EUTÉTICO
PROFUNDO E ÁCIDO DILUÍDO**

Layanny Samara da Silva Souza

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração Química Analítica.

Orientadora: Profa. Dra. Liliana de Fátima Bezerra Lira de Pontes.

João Pessoa-PB

MARÇO/2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S719f Souza, Layanny Samara da Silva.

Fracionamento de bagaço de cana-de-açúcar combinando tratamentos com solvente eutético profundo e ácido diluído / Layanny Samara da Silva Souza. - João Pessoa, 2023.

69 f. : il.

Orientação: Líliliana de Fátima Bezerra L. de Pontes. Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Cana-de-açúcar - Etanol. 2. Biomassa lignocelulósica. 3. Biorrefinaria. I. Pontes, Líliliana de Fátima Bezerra Lira de. II. Título.

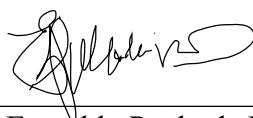
UFPB/BC

CDU 633.61(043)

Fracionamento de bagaço de cana-de-açúcar combinando traamentos com solvente eutético profundo e ácido diluído.

Dissertação de Mestrado apresentada pela aluna Layanny Samara da Silva Souza e aprovada pela banca examinadora em 27 de fevereiro de 2023.

Profa. Dra. Liliana de Fátima Bezerra Lira de Pontes
DQ/CCEN/UFPB
Orientadora/Presidente



Prof. Dr. Everaldo Paulo de Medeiros
EMBRAPA/CNPA-CG-PB
Examinador externo

Profa. Dra. Nataly Albuquerque dos Santos
CTDR/UFPB
Examinadora interna

Assinaturas da Banca realizadas em 27/02/2023, digitalizadas e certificadas pelo Profa. Dra. Liliana de Fátima Bezerra Lira de Pontes (SIAPE 1491615)

Emitido em 28/02/2023

ATA Nº 1/2023 - CCEN-DQ (11.01.14.05)
(Nº do Documento: 1)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 28/02/2023 17:06)
LILIANA DE FATIMA BEZERRA LIRA DE PONTES
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
1491615

(Assinado digitalmente em 28/02/2023 17:28)
NATALY ALBUQUERQUE DOS SANTOS
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
1964406

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufpb.br/documentos/> informando seu número: **1**,
ano: **2023**, documento (espécie): **ATA**, data de emissão: **28/02/2023** e o código de verificação: **c6350006c0**

DEDICATÓRIA

Aos meus alunos, passados e futuros. Aos filhos que ainda não tenho, mas que já são minha maior motivação para preservar este planeta.

“Tente outra vez”

Raul Seixas

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pela bela casa que deu a humanidade.

Aos meus pais, Anásio e Irani, que enfrentaram incontáveis dificuldades para cuidar dos meus irmãos e de mim, sempre preocupados em dar exemplo de coragem e honestidade. A Michael, meu marido, que não pensou duas vezes em largar tudo e me acompanhar, por zelar pela minha segurança, por me amar e por ser meu melhor amigo na Terra.

A todos os professores do mestrado, especialmente aqueles que ministraram disciplinas no meu curso, Márcio, Luciano, Wallace, Fauston, Marta, Nataly, Kátia e Sherlan, pela dedicação e esforço em se reinventar em tempos de pandemia, distanciamento social e ensino remoto para os quais não tinham sido preparados na formação. A professora Cláudia por ceder espaço no LEQA para a execução do presente projeto, laboratório que administra com maestria. A coordenadora do PPGQ, professora Antônia Lúcia, uma figura solícita e muito competente. Mas principalmente a Liliana, nossa Lili, cujo carisma se apresenta sempre, mas não a impede de exercer a autoridade necessária. Que esteve comigo todas as vezes que precisamos mudar os rumos da pesquisa.

A todos os colegas de mestrado, em especial a Vanessa e a Willyan, meus companheiros nas aflições e alegrias desta pesquisa. Sem o apoio de vocês eu não teria a menor chance. Obrigada pelas ideias, pela ajuda, pela companhia, pelas conversas e por enxergar a luz no fim do túnel. Principalmente Willyan, uma pessoa extremamente empática, que defende com garra aquilo que acredita e que se doa generosamente a todos que aceitam.

Também a Sanierly, Fernanda e Carlos, que dedicaram dias a liofilizar as amostras de papinha do primeiro projeto que tentei levar a frente e que fizeram das frustrações recorrentes momentos de descontração. Ao professor Cosme que cedeu o liofilizador e a seu Ivan, que nos providenciava o nitrogênio necessário. Ao professor Mário, que cedeu o LAQA, a Lucas que se dispôs a me ajudar nas análises e a professora Amália que me acompanhou em alguns experimentos. A Maria, da UFRPE, por se dispor a me ensinar a usar o analisador de mercúrio. O projeto das papinhas não deu certo, mas a ajuda de vocês não será esquecida.

A Laís, do LACOM, por realizar as análises de FTIR e DRX e a Debrinha do CT, por me ensinar a operar a autoclave e por ceder espaço para análise de açúcares redutores. Ao professor Everaldo por abrir as portas de seu laboratório na UFRN. A Vítor e a Daladier, também da UFRN por fornecerem a metodologia para análise de carboidratos e por analisarem as amostras por CLAE.

Ninguém faz nada sozinho. A todos minha mais sincera gratidão.

RESUMO

A indústria sucroalcooleira brasileira gera mais de 640 milhões de toneladas de cana-de-açúcar anualmente e aproximadamente 180 milhões de toneladas de bagaço-de-cana. O aproveitamento do bagaço para a produção de etanol de segunda geração pode aumentar a capacidade produtiva nacional de etanol. Para esse propósito, é necessário quebrar a estrutura recalcitrante da biomassa, preferencialmente aproveitando as frações de lignina e hemicelulose geradas, num contexto de biorrefinaria. Neste trabalho, tratamento com solvente eutético profundo a base de cloreto de colina e ureia foi combinado com hidrólise usando ácido sulfúrico diluído para a extração de lignina, conversão de hemicelulose em xilose fermentável e beneficiamento do bagaço pelo aumento do seu teor de celulose. O primeiro tratamento extraiu 50% da lignina presente e a biomassa deslignificada resultante, constituída de 34% de celulose 12% de lignina e 19% de hemicelulose foi utilizada para otimização da hidrólise ácida através de um Planejamento Experimental Composto Central, sendo otimizados os fatores concentração de ácido sulfúrico e tempo de reação. O modelo matemático quadrático proposto apresentou $R^2 = 0,94$ e explicou 93,8% da variação dos dados experimentais, sendo significativas as contribuições quadráticas do ácido e tempo, a contribuição linear do ácido e a combinação linear dos dois fatores, com 5% de incerteza. O ponto ótimo correspondeu a 1,1% de ácido sulfúrico e tempo de 59 min 24 s. O licor obtido nestas condições apresentou 18 g L⁻¹ de xilose sem a presença de inibidores da fermentação e o resíduo final de biomassa teve o teor de celulose aumentado para 51%, devido a remoção de lignina e hemicelulose, que passaram a representar 16% e 8% da composição, respectivamente. O aumento na proporção de celulose resultou em aumento do índice de cristalinidade, que passou de 55% na amostra *in natura* para 58% após extração de lignina e 64% após hidrólise ácida. Ao se aplicar as condições ótimas de hidrólise na biomassa *in natura* sem o tratamento com o solvente eutético, foram obtidas praticamente as mesmas concentrações de xilose no licor e de celulose no resíduo, no entanto a concentração de lignina, componente mais recalcitrante, permaneceu preservada em 24%, não tendo sido recuperada em separado. O tratamento combinado de extração de lignina usando DES com a hidrólise ácida foi bem-sucedido em separar as frações, com remoção de cerca de 50% da lignina do bagaço, 96% de eficiência de conversão de hemicelulose em xilose de e aproximadamente 40% de aumento no teor de celulose.

Palavras-chave: biorrefinaria; biomassa lignocelulósica; xilose;

ABSTRACT

The Brazilian sugar and alcohol industry generates more than 640 million tons of sugarcane annually and approximately 180 million tons of sugarcane bagasse. The use of bagasse to produce second-generation ethanol can increase the national production capacity of ethanol. For this purpose, it is necessary to break the recalcitrant structure of the biomass, preferably taking advantage of the generated lignin and hemicellulose fractions, in a biorefinery context. In this work, treatment with a deep eutectic solvent based on choline chloride and urea was followed by hydrolysis using dilute sulfuric acid for the removal of lignin, conversion of hemicellulose into fermentable xylose and beneficiation of bagasse by increasing its cellulose content. The first treatment extracted 50% of the lignin present and the resulting delignified biomass, chosen from 34% cellulose, 12% lignin and 19% hemicellulose, was used to optimize acid hydrolysis through a Central Composite Experimental Design, optimizing the sulfuric acid concentration and reaction time. The proposed quadratic mathematical model presented $R^2 = 0.94$ and explained 93.8% of the variation in the experimental data, with the quadratic contributions of acid and time, the linear contribution of acid and the linear combination of the two factors being manifested, with 5% of uncertain statistics. The optimum point corresponded to 1.1% sulfuric acid and a time of 59 min 24 s. The hydrolyzed liquor obtained under these conditions presented 18 g L⁻¹ of xylose without the presence of fermentation inhibitors and the final biomass residue had its cellulose content increased to 51%, due to the removal of lignin and hemicellulose, which now represents 16 % and 8% of the composition, respectively. The increase in the proportion of cellulose resulted in an increase in the crystallinity index, which went from 55% in the *in natura* sample to 58% after lignin removal and 64% after acid hydrolysis. When applying the optimal conditions of hydrolysis to the biomass *in natura*, concentrations of xylose and cellulose similar to those obtained in the hydrolysis of the biomass treated with the eutectic solvent were found, however the concentration of lignin, the most recalcitrant component, was preserved in 24%, not having been recovered separately. The combined treatment of lignin extraction by eutectic solvent with acid hydrolysis was successful in the separation of the fractions, with removal of about 50% of the lignin from the bagasse, 96% of efficiency of conversion of hemicellulose into xylose and approximately 40% of increase in the content of cellulose.

Keywords: biorefinery; lignocellulosic biomass; xylose.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Morfologia do colmo de cana-de-açúcar.	14
Figura 2 - Aparência de algumas variedades de cana-de-açúcar.	15
Figura 3 - Produção brasileira de cana-de-açúcar em 10 anos.	16
Figura 4 - Produção e exportação brasileira de açúcar em 10 anos.	16
Figura 5 - Produção, importações e exportações brasileiras de etanol em 10 anos.	17
Figura 6 - Estrutura da celulose.	19
Figura 7 - Estrutura recalcitrante da biomassa vegetal.	20
Figura 8 - Estrutura parcial da cadeia de uma hemicelulose.	21
Figura 9 - Estrutura parcial de uma macromolécula de lignina.	22
Figura 10 - Estruturas presentes na lignina da palha e bagaço de cana-de-açúcar.	23
Figura 11 - Estrutura dos principais álcoois monolignóis.	24
Figura 12 - Estrutura química do amido.	25
Figura 13 - Produção de EIG a partir da sacarose.	25
Figura 14 - Formação de furfural.	29
Figura 15 - Clivagem da celulose por radiação gama.	30
Figura 16 - Diagrama de fases do eutético ideal e do DES.	33
Figura 17 - Coordenadas de um planejamento composto central de dois fatores.	36
Figura 18 - Redução do ácido dinitrosalicílico provocada por glicose.	41
Figura 19 - Determinação de açúcares dos hidrolisados no planejamento experimental.	41
Figura 20 - Licores LDH e LH produzidos na hidrólise.	42
Figura 21 - Gradiente de acetonitrila na fase móvel.	43
Figura 22 - Infográfico com identificação dos tratamentos dados a cada amostra.	46
Figura 23 - Gráfico de Pareto.	48
Figura 24 - Superfície de resposta vista de dois ângulos.	49
Figura 25 - Espectros de FTIR das biomassas.	53
Figura 26 - Difractogramas de raios X das biomassas.	54
Figura 27 - Fotografias das biomassas produzidas.	57
Figura 28 - Proposta de etapas para o processo de biorrefinaria.	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Rendimento de etanol produzido de culturas alimentares.....	26
Tabela 2 - Matriz do planejamento composto central.	40
Tabela 3 - Fatores de conversão dos componentes da celulose e da hemicelulose.	44
Tabela 4 - Identificação das amostras de biomassa e licor.	46
Tabela 5 - Teores de açúcares do planejamento experimental.	47
Tabela 6 - Análise de variância da otimização da hidrólise ácida.	50
Tabela 7 - Composição lignocelulósica das biomassas.	51
Tabela 8 - Índices de cristalinidade das biomassas.	55
Tabela 9 - Eficiência de conversão de hemicelulose em xilose.....	57

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BCA	Bagaço de cana-de-açúcar
BIN	Biomassa <i>in natura</i>
BD	Biomassa deslignificada
BDH	Biomassa residual após deslignificação e hidrólise
BH	Biomassa residual após hidrólise
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DES	<i>Deep eutectic solvent</i> (Solvente Eutético Profundo)
DRX	Difração de Raios-X
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
E1G	Etanol de primeira geração
E2G	Etanol de segunda geração
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
LDH	Licor obtido na hidrólise da biomassa deslignificada
LH	Licor obtido na hidrólise da biomassa <i>in natura</i>
NREL	<i>National Renewable Energy Laboratory</i> (Laboratório Nacional de Energias Renováveis - EUA)
TRL	<i>Technology Readiness Level</i> (Nível de Maturação Tecnológica)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Cana-de-açúcar	14
2.2 Produção brasileira de cana-de-açúcar e seus derivados	16
2.3 Bagaço de cana-de-açúcar	18
2.4 Celulose	18
2.5 Hemicelulose	21
2.6 Lignina	22
2.7 Gerações dos biocombustíveis	24
2.7.1 Etanol de primeira geração	24
2.7.2 Etanol de segunda geração	27
2.8 Biorrefinaria	28
2.8.1 Tratamentos usados em biorrefinaria	29
2.8.5 Solventes Eutéticos Profundos	33
2.9 Planejamento experimental	35
3 OBJETIVOS	37
3.1 Objetivo Geral	37
3.2 Objetivos Específicos	37
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 Reagentes	38
4.2 Coleta e preparo da biomassa	38
4.3 Preparo do solvente eutético profundo	38
4.4 Remoção de lignina	39
4.5 Otimização da hidrólise ácida	39
4.6 Teor de Açúcares Redutores Totais	40
4.7 Tratamento de dados	41
4.8 Reprodução das condições de ponto ótimo do planejamento experimental	41
4.10 Composição lignocelulósica das biomassas e de açúcares e inibidores nos licores	42
4.12 Caracterizações estruturais da biomassa por espectroscopia do infravermelho com transformada de Fourier	45
4.13 Caracterização cristalográfica da biomassa por difração de raios X	45
4.14 Identificação das amostras	46

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
<i>5.1 Otimização da hidrólise ácida</i>	<i>47</i>
<i>5.2 Composição lignocelulósica das biomassas.....</i>	<i>51</i>
<i>5.3 Caracterização das biomassas por espectroscopia do infravermelho com transformada de Fourier.....</i>	<i>53</i>
<i>5.4. Caracterização da cristalinidade das biomassas por DRX.....</i>	<i>54</i>
<i>5.5 Composição dos licores obtidos na hidrólise</i>	<i>57</i>
<i>5.6 Aplicações das frações obtidas</i>	<i>59</i>
6 CONCLUSÃO.....	61
REFERÊNCIAS.....	62

1 INTRODUÇÃO

O Brasil tem a maior produção mundial de cana-de-açúcar, sendo seus principais subprodutos etanol, açúcar e energia, gerando em conjunto 180 milhões de toneladas de bagaço de cana-de-açúcar (BCA) (SOUZA *et al.*, 2022).

Com os avanços nas legislações ambientais, os biocombustíveis devem gradativamente substituir os combustíveis fósseis e o consumo de etanol pode aumentar (DUTTA *et al.*, 2012). A fim de aumentar produção de etanol, é necessário investir em formas de aproveitamento do BCA (LORENZI; ANDRADE, 2019). As biomassas vegetais em geral são constituídas de celulose, hemicelulose e lignina, que juntas correspondem a até 70% da composição (JESUS *et al.*, 2018; JÚNIOR *et al.*, 2020).

O método para a produção de etanol empregado em maior extensão no Brasil consiste na fermentação da sacarose presente no caldo de cana-de-açúcar. Por ser originado diretamente de uma fonte alimentícia, este é chamado etanol de primeira geração - E1G (PALACIOS-BERECHE *et al.*, 2022; SOUZA *et al.*, 2022). A celulose é um polímero de celobiose, dissacarídeo de glicose, que uma vez liberada pode ser fermentada para produzir etanol de segunda geração – E2G. Porém, a presença interconectada de lignina e hemiceluloses confere ao material alto grau de recalcitrância e dificulta a liberação das moléculas de celulose (LORENZI; ANDRADE, 2019; MELATI *et al.*, 2019).

São etapas cruciais na produção de E2G os tratamentos de diminuição da recalcitrância, como a moagem do material, a remoção da lignina e a quebra das cadeias de hemicelulose, seja por processos físicos, químicos ou biológicos. A lignina removida pode ser aproveitada para a fabricação de compostos aromáticos que hoje são obtidos principalmente de fontes não renováveis. Já a hemicelulose do BCA, ao ser hidrolisada, fornece xilose, passível de aproveitamento para produção de xilitol (MALIK *et al.*, 2022; MARTINS *et al.*, 2022).

O aproveitamento sistemático de cada uma dessas frações segue o princípio da biorrefinaria, definida como é uma unidade industrial que engloba um conjunto de operações unitárias e processos para recuperar e agregar valor à coprodutos e resíduos (MOSCOVIZ *et al.*, 2018). Os tratamentos empregados com este fim podem modificar a forma como as frações são obtidas. Enquanto tratamentos usando ácidos fracos diluídos por tempos curtos podem ser muito suaves e não tornar a celulose acessível, o uso de ácidos fortes concentrados por longo tempo podem resultar na degradação das frações. É necessário, portanto, otimizar as condições de tratamento da recalcitrância (SCHMATZ *et al.*, 2020).

Tratamentos usando ácidos fortes diluídos mostraram-se simultaneamente eficientes na

remoção de lignina e na hidrólise da hemicelulose (ULLAH et al., 2023). Já os tratamentos com solventes eutéticos profundos (DES) têm se destacado recentemente por serem seletivos para a remoção de lignina. Assim, o presente estudo pretende combinar a utilização de um DES para extração da lignina com a utilização de ácido forte diluído para a hidrólise da hemicelulose e liberação de xilose, beneficiando o BCA pelo aumento do teor de celulose disponível, o que deve facilitar sua posterior fermentação a E2G.

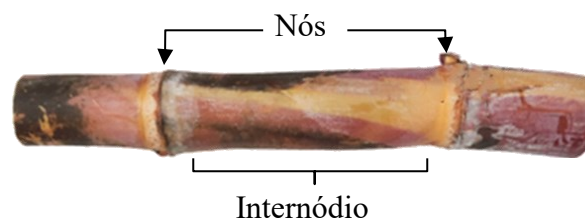
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta monocotiledônea perene pertencente à ordem *Gramineae*, família *Poaceae* e gênero *Saccharum*. Atribui-se que seja originária da Ásia, mas ela é bem adaptada aos climas tropicais e subtropicais, sendo uma das espécies mais eficientes na conversão de carbono e uma das mais produtivas. Quase dois terços da produção mundial de açúcar é oriundo da espécie, que também é a segunda principal matéria-prima para a produção de etanol, atrás apenas do milho (RIO et al., 2015).

As plantas se desenvolvem em forma de touceira, ou seja, nascem muito próximas entre si, formando uma moita. Sua parte aérea é formada por colmos, folhas, inflorescências e frutos, e sua parte subterrânea por raízes e rizomas. O colmo é o caule da planta, de forma cilíndrica ou semicilíndrica, caracterizado por nós e internódios regulares, conforme mostrado na **Figura 1**. É um material fibroso de onde se extrai o caldo utilizado na produção de açúcar e etanol (THOMAS et al., 2016).

Figura 1 - Morfologia do colmo de cana-de-açúcar.



Fonte: THOMAS et al. (2016).

Suas espécies estão classificadas como: *Saccharum officianarum*, *Saccharum*

spontaneum, *Saccharum sinensis*, *Saccharum robustum* e *Saccharum barbiri*. A espécie *Saccharum sin.*, que engloba as variedades de canas consideradas chinesas e japonesas, apresentam colmos finos, internódios fibrosos e alongados com baixo teor de sacarose. A espécie *Saccharum barb.*, conhecida como cana indiana, apresenta alta porcentagem de fibra, alto teor de sacarose e é resistente ao frio. A espécie *Saccharum rob.*, que engloba as canas selvagens, apresenta colmos duros e lenhosos, que crescem até 10 m de altura, mas que apresentam baixo teor de sacarose e elevada porcentagem de fibra. A *Saccharum sp.* contém quantidade de sacarose menor, caules mais estreitos e mais fibrosos. A espécie *Saccharum off.* inclui as variedades conhecidas no Brasil como caiana, preta, roxa, cristalina, manteiga e riscada, consideradas canas nobres por apresentar elevado teor de açúcar e pequena porcentagem de fibra, possuem sistema radicular reduzido e colmos grossos (SILVA; SILVA, 2012). Como citado, há grande variabilidade estrutural nas espécies de cana-de-açúcar, o que pode ser percebido na **Figura 2**.

Figura 2 - Aparência de algumas variedades de cana-de-açúcar.



Fonte: MARIN, 2022.

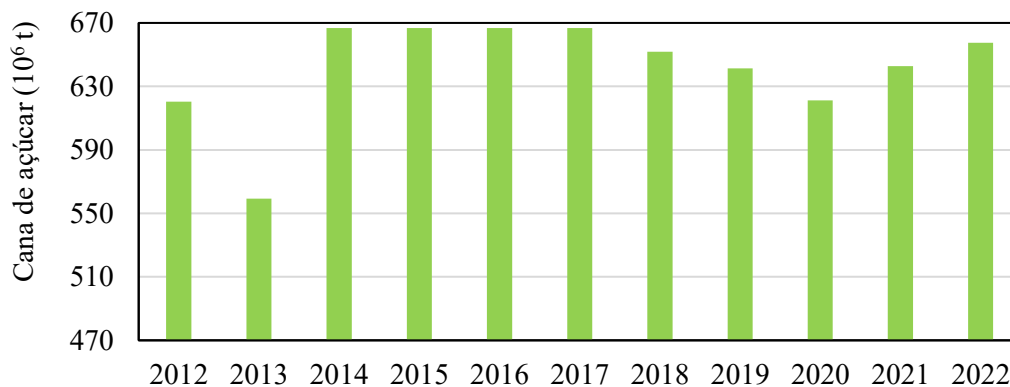
Variedades híbridas de cana de açúcar são produzidas através de melhoramento genético, pelo cruzamento entre genótipos de interesse, com o intuito de aumentar produtividade e resistência a pragas, para melhorar a adaptação aos diferentes solos, climas e épocas do ano. No Brasil, a Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA), criada em 1990, tornou-se líder internacional no desenvolvimento de novas variedades. As variedades híbridas produzidas são identificadas com as letras RB, que significam ‘República do Brasil’, seguida de dois dígitos referentes ao ano de cruzamento e números referentes à Universidade pela qual a variedade foi liberada e ao número específico do

clone (RIDESA, 2010; SOARES, 2021).

2.2 Produção brasileira de cana-de-açúcar e seus derivados

O Brasil tem a maior produção mundial de cana-de-açúcar e é o segundo maior produtor de açúcar e etanol. Conforme os dados apresentados graficamente na **Figura 3**, na última década o Brasil produziu uma média anual de 640 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, que renderam em média 35 milhões de toneladas de açúcar e 30 milhões de toneladas de etanol, dos quais 11 milhões foram de etanol anidro e 19 milhões de etanol hidratado (SOUZA *et al.*, 2022).

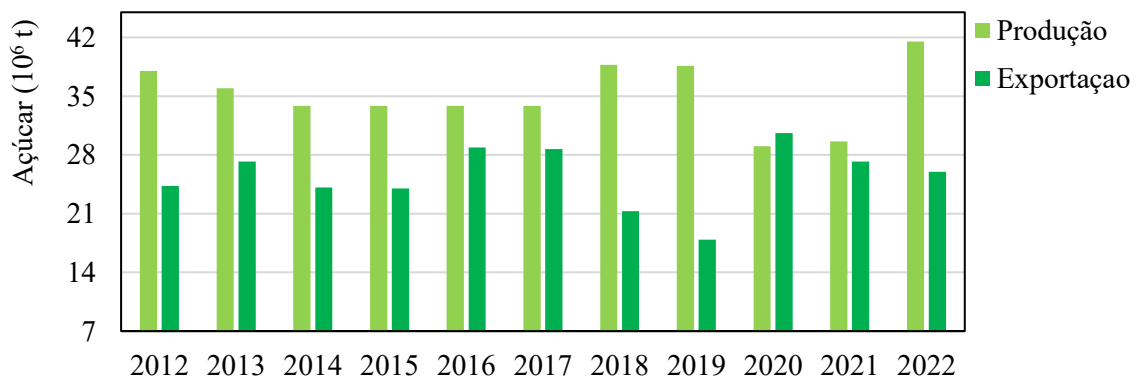
Figura 3 - Produção brasileira de cana-de-açúcar em 10 anos.



Fonte: Adaptado de UNICA (2022).

A **Figura 4** apresenta as quantidades de açúcar produzidas e exportadas pelo Brasil na última década, o que corresponde em média a 40% das exportações mundiais desse produto. O país é autossuficiente na produção de açúcar e não costuma importá-lo (SOUZA *et al.* 2022).

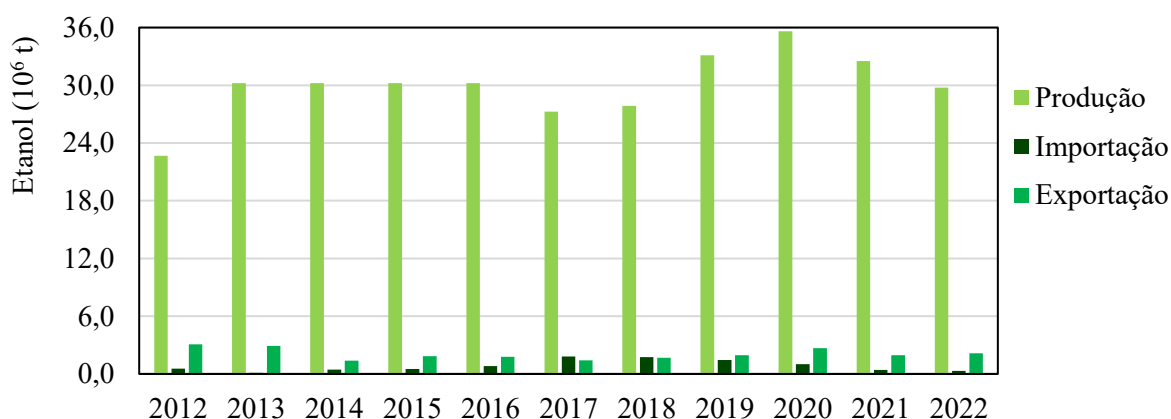
Figura 4 - Produção e exportação brasileira de açúcar em 10 anos.



Fonte: Adaptado de UNICA (2022).

A produção de etanol nacional, apresentada na **Figura 5**, é quase inteiramente destinada ao mercado interno e é elevada o suficiente para colocar o Brasil entre os países de destaque nesse setor, sendo o segundo maior produtor, representando 27% da produção mundial, atrás apenas dos EUA, que representam 55% (RFA, 2023). A **Figura 5** também apresenta o volume de importações e exportações nacionais. Depreende-se do gráfico que houve relativa estabilidade na produção, exportação e importação durante o período analisado.

Figura 5 - Produção, importações e exportações brasileiras de etanol em 10 anos.



Fonte: Adaptado de UNICA (2020).

Barboza *et al.* (2022) avaliaram que os próximos anos serão desafiadores para o setor sucroalcooleiro, devido ao crescente endividamento das empresas, somados aos efeitos da pandemia de covid-19 em 2020, e pela necessidade de estar preparado para mudanças de longo prazo, que incluem os avanços na eletromobilidade. Apontam que em 2035 o uso do etanol no motor de combustão interna de veículos leves deve começar a perder mercado para os modelos elétricos e que após 2040 a oferta de etanol precisa ser cada vez mais redirecionada para a produção de petroquímicos básicos.

Além de etanol anidro, etanol hidratado e açúcar, a indústria sucroalcooleira brasileira produz também o BCA, coproduto obtido depois que a cana é moída para extração do caldo. Uma tonelada de cana produz entre 140 e 280 kg de BCA, já excluídos os 140 kg de palha que também são gerados. No geral 90% desse coproduto é usado para a produção de energia térmica e elétrica na própria usina sucroalcooleira, através da combustão em caldeiras para geração de vapor, podendo a energia ser também apontada como um dos coprodutos dessa indústria (SILVA, 2022). O excedente de energia produzido é encaminhado para a rede de distribuição, em esquemas de cogeração de eletricidade. Dos aproximados 191 GW da capacidade energética

produtiva brasileira em março de 2023, a cogeração através de biomassas foi de quase 16,6 GW, dos quais o BCA é responsável por aproximadamente 77% (ANEEL, 2023; COGEN, 2022).

A indústria sucroalcooleira deve aumentar seu portfólio de produtos a fim de não perder espaço nos próximos anos. São alistados como promissores a implementação da produção de etanol de 2ª geração (E2G), de biogás e de biomateriais. E2G é um biocombustível obtido por meio da fermentação de açúcares liberados de biomassas lignocelulósicas, com potencial de aumentar a produção de energia a partir de fontes renováveis. O BCA é uma biomassa extremamente promissora para a produção de E2G, por ser abundante e pela possibilidade de integração entre tecnologias de primeira e segunda geração no mesmo local (DIONÍSIO *et al.*, 2021).

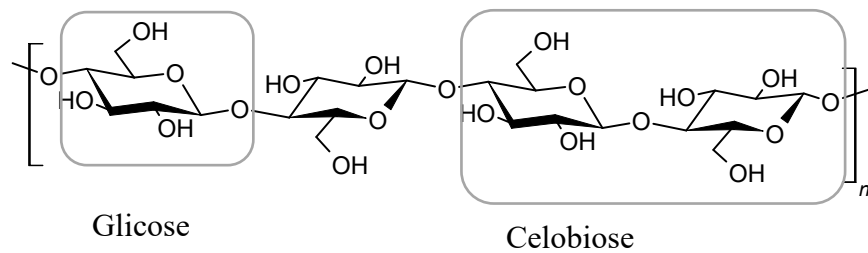
2.3 Bagaço de cana-de-açúcar

Considerando a produção média de cana-de-açúcar dos últimos dez anos, a quantidade de BCA gerado anualmente deve girar em torno de 90 a 180 milhões de toneladas, dos quais 90% são queimados nas usinas para gerar energia, restando ainda algo entre 9 e 18 milhões de toneladas por ano (SILVA, 2022).

As fibras de celulose, hemicelulose e lignina podem corresponder a mais de 70% da composição de biomassas em geral. Nos diferentes tipos de biomassa e a depender das condições a que tenham sido expostas durante seu crescimento e processamento, a concentração de celulose pode variar entre 35% e 50%, a de hemicelulose entre 20% e 35% e a de lignina entre 10% e 25%, após secagem. No BCA *in natura*, essas fibras juntas correspondem a aproximadamente 45% da composição em massa. O restante constitui umidade, cinzas e extrativos como ácidos graxos, fenóis, taninos, compostos nitrogenados e resinas, entre outros (JESUS *et al.*, 2018; JÚNIOR *et al.*, 2020; SILVA, 2022).

2.4 Celulose

A celulose é a molécula orgânica mais abundante do planeta, sendo o principal componente da parede celular de vegetais. Conforme representado na **Figura 6**, a celulose é um polímero constituído de monômeros de celobiose, resultantes da combinação de duas moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas β -(1,4). Suas cadeias formam camadas que permanecem unidas por forças de van der Waals e ligações de hidrogênio (JESUS *et al.*, 2018).

Figura 6 - Estrutura da celulose.

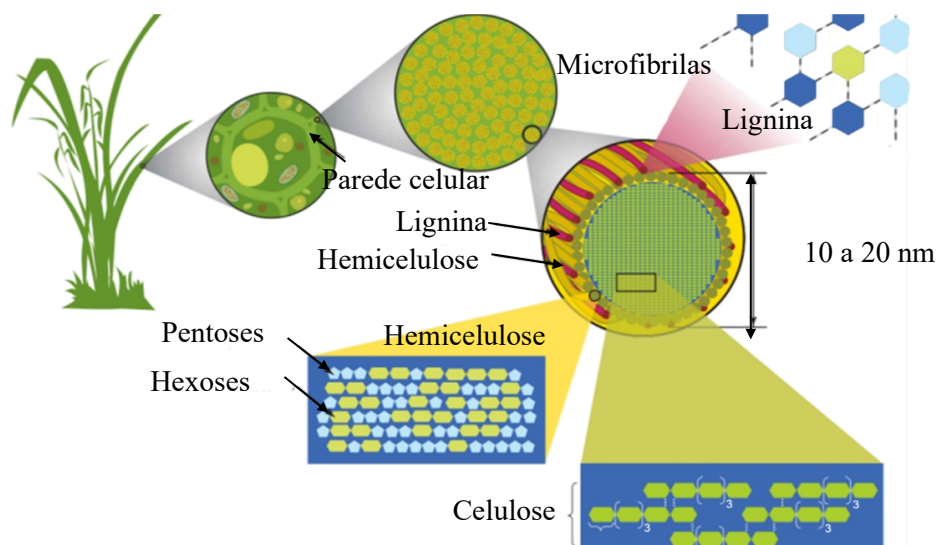
Fonte: Adaptado de SANTOS *et al.*, (2012).

Devido a abundância de grupos hidroxila, a celulose é capaz de estabelecer ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, mas apesar de as cadeias de celulose possuírem sítios de natureza polar e hidrofílica, ela é insolúvel em água. Essa insolubilidade é frequentemente justificada pelas fortes ligações de hidrogênio intermoleculares, no entanto, ao analisarem aspectos físico-químicos fundamentais do polímero, Medronho *et al.* (2012) concluíram que a celulose é significativamente anfifílica, isto é, contém regiões polares e não polares, e que as interações hidrofóbicas são importantes para entender seu padrão de solubilidade. Para polímeros de alto peso molecular, como é o caso da celulose, mesmo uma leve anfifilicidade pode ter um impacto significativo em suas propriedades.

No empacotamento dos cristais de celulose todos os três grupos hidroxila da glicose estão localizados nas posições equatoriais do anel da glicopirranose, o que confere à direção equatorial um caráter hidrofílico. É na direção axial do anel que estão localizados os átomos de hidrogênio das ligações C-H, conferindo hidrofobicidade as posições axiais do anel. Isto implica na anisotropia intrinsecamente estrutural da celulose que, devido à ligação de hidrogênio intra e intermolecular, forma fitas bastante planas, com lados que diferem acentuadamente em sua polaridade (MEDRONHO *ET AL.*, 2012).

Ao hidrolisar as ligações glicosídicas, moléculas de glicose e de celobiose são liberadas e podem ser fermentadas para produzir E2G (LORENZI; ANDRADE 2019). No entanto, como mostra a **Figura 7**, a celulose se apresenta como um núcleo com alto grau de cristalinidade envolto em uma casca amorfa de lignina e hemicelulose, podendo a hemicelulose ser localizada também no núcleo junto da celulose ou entre a celulose e a lignina. A lignina e as hemiceluloses encapsulam as microfibrilas de celulose restringindo sua acessibilidade aos micro-organismos e, portanto, atuam dificultando e até mesmo impedindo que a fermentação ocorra (RUBIN *et al.*, 2008).

Figura 7 - Estrutura recalcitrante da biomassa vegetal.



Fonte: Adaptado de RUBIN *et al.* (2008).

Ligações de hidrogênio e ligações covalentes (ligações éter) se estabelecem entre a celulose e a lignina, enquanto entre celulose e hemicelulose são estabelecidas apenas forças intermoleculares, principalmente ligações de hidrogênio. A abundância de ligações covalentes entre celulose e lignina varia nos diferentes tipos de biomassa, estando mais presentes em materiais vegetais que apresentam menor rigidez, mais comumente encontradas em materiais herbáceos, como a cana-de-açúcar, do que em materiais lenhosos (ZHANG *et al.*, 2014).

Dessa forma, lignina e hemicelulose formam uma estrutura recalcitrante para a celulose, isto é, atuam como escudo, protegendo o núcleo de celulose de ataques químicos e biológicos. A recalcitrância é o principal empecilho da conversão da biomassa em etanol, sendo necessário uma etapa de tratamento prévio que a diminua de modo expressivo. Formas de reduzi-la incluem a moagem do material ou outros processos físicos que diminuem o tamanho das fibras e aumentam a área superficial, e a deslignificação, seja por processos químicos, usando ácidos, bases, agentes oxidantes e solventes, seja por processos biológicos, envolvendo a ação de enzimas, bactérias, leveduras e fungos (MARTINS *et al.*, 2022).

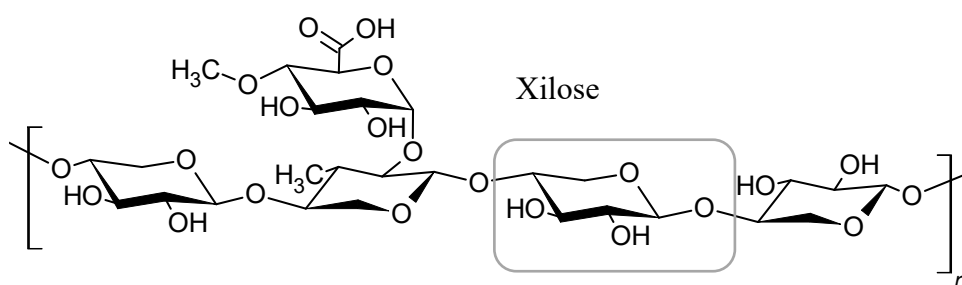
A digestibilidade enzimática da celulose também pode ser afetada por vários outros fatores, como a porosidade da biomassa, o tamanho de partícula e a área de superfície acessível e a cristalinidade da celulose. A cristalinidade da celulose influencia a digestibilidade enzimática da biomassa porque as regiões altamente ordenadas são muito compactas e as tornam resistentes a enzimas, ácidos e absorção de água. A celulose amorfa pode ser hidrolisada a uma taxa muito mais rápida em comparação com a celulose cristalina (KUMAR *et al.*, 2020)

2.5 Hemicelulose

As hemiceluloses são polissacarídeos compostos por pentoses (D-xilose, L-arabinose), hexoses (D-glicose, D-galactose, D-manose) e ácidos urônicos (ácido D-glucurônico e ácido 4-*O*-metil-glucurônico), sendo classificadas de acordo com o açúcar que é seu principal constituinte. As hemiceluloses podem ser homopoliméricas ou heteropoliméricas e são mais fáceis de ser hidrolisadas do que a celulose por terem estrutura molecular mais amorfa (MALIK *et al.*, 2022). A eficiência da hidrólise enzimática da celulose é aumentada pela remoção de hemiceluloses da biomassa (KUMAR *et al.*, 2020).

Na **Figura 8** é apresentada parte da estrutura de uma molécula de hemicelulose constituída majoritariamente de unidades de D-xilose, componente mais abundante nas hemiceluloses oriundas de BCA. A xilose pode ser química ou bioquimicamente convertida em xilitol, um edulcorante anticariogênico, cuja metabolização não requer insulina e que, portanto, pode ser consumido por diabéticos (PEREIRA *et al.*, 2020). Xilose também pode ser convertida em etanol, através de fermentação utilizando cepas naturalmente capazes de metabolizá-la ou modificando genes de cepas produtoras de etanol (MALIK *et al.*, 2022). Trabalhos recentes propuseram o uso de xilose para a conversão em ácido xilônico, passível de uso no próprio tratamento da biomassa para solubilização da hemicelulose (ZHU *et al.*, 2023).

Figura 8 - Estrutura parcial da cadeia de uma hemicelulose.



Fonte: Adaptado de SANTOS *et al.* (2012).

Entre os micro-organismos capazes de fermentar pentoses como a xilose incluem-se bactérias, leveduras e fungos. São gêneros bacterianos com esta capacidade *Klebsiella*, *Aerobacter*, *Bacillus*, *Thermo anerobacter* e *Aeromonas*. Podem ser citadas as leveduras *Spathaspora passalidarum*, *Pichia stipites*, *Pachysolen tanno philus* e *Candida shehatae* e os fungos *Mucor*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Neurospora* e *Monilia*. A levedura mais usada pela indústria sucroalcooleira para produção de etanol, *S. cerevisiae*, não é naturalmente capaz de

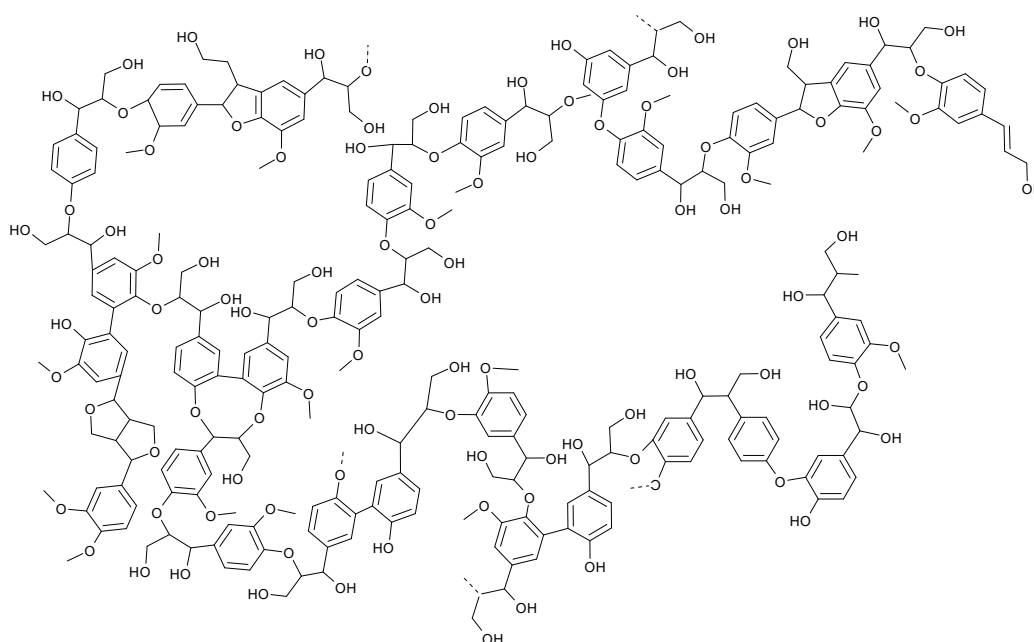
fermentar pentoses, no entanto cepas manipuladas com a via de assimilação de pentose e cepas geneticamente modificadas foram usadas para fermentação de E2G a partir hidrolisados hemicelulósicos, chegando a consumir 95% da xilose presente (MALIK *et al.*, 2022).

2.6 Lignina

A lignina é a segunda macromolécula de origem vegetal mais abundante na natureza e é o componente mais recalcitrante do BCA, atuando contra a hidrólise enzimática naturalmente. Ela dificulta o acesso das enzimas ao núcleo de celulose, adsorve algumas enzimas em sua superfície e desativa enzimas hidrolisantes, atrapalhando a sacarificação da hemicelulose e da celulose (KUMAR *et al.*, 2020).

Como se pode observar na **Figura 9**, a lignina é capaz de fornecer grupos aromáticos, passíveis de aproveitamento como matéria-prima precursora para a produção de vanilina, benzeno, tolueno, entre outros compostos aromáticos de interesse industrial, que atualmente são obtidos a partir de fontes não renováveis (VERÇOSA *et al.*, 2019). Sua composição é irregular e variada, constituindo-se como um material amorfo cuja estrutura química varia consideravelmente dependendo da espécie de planta e das condições a que tenha sido exposta durante o desenvolvimento. A eficiência do processo de deslignificação depende tanto do teor quanto da estrutura da lignina presente (RÍO *et al.*, 2015; REZANIA *et al.*, 2020).

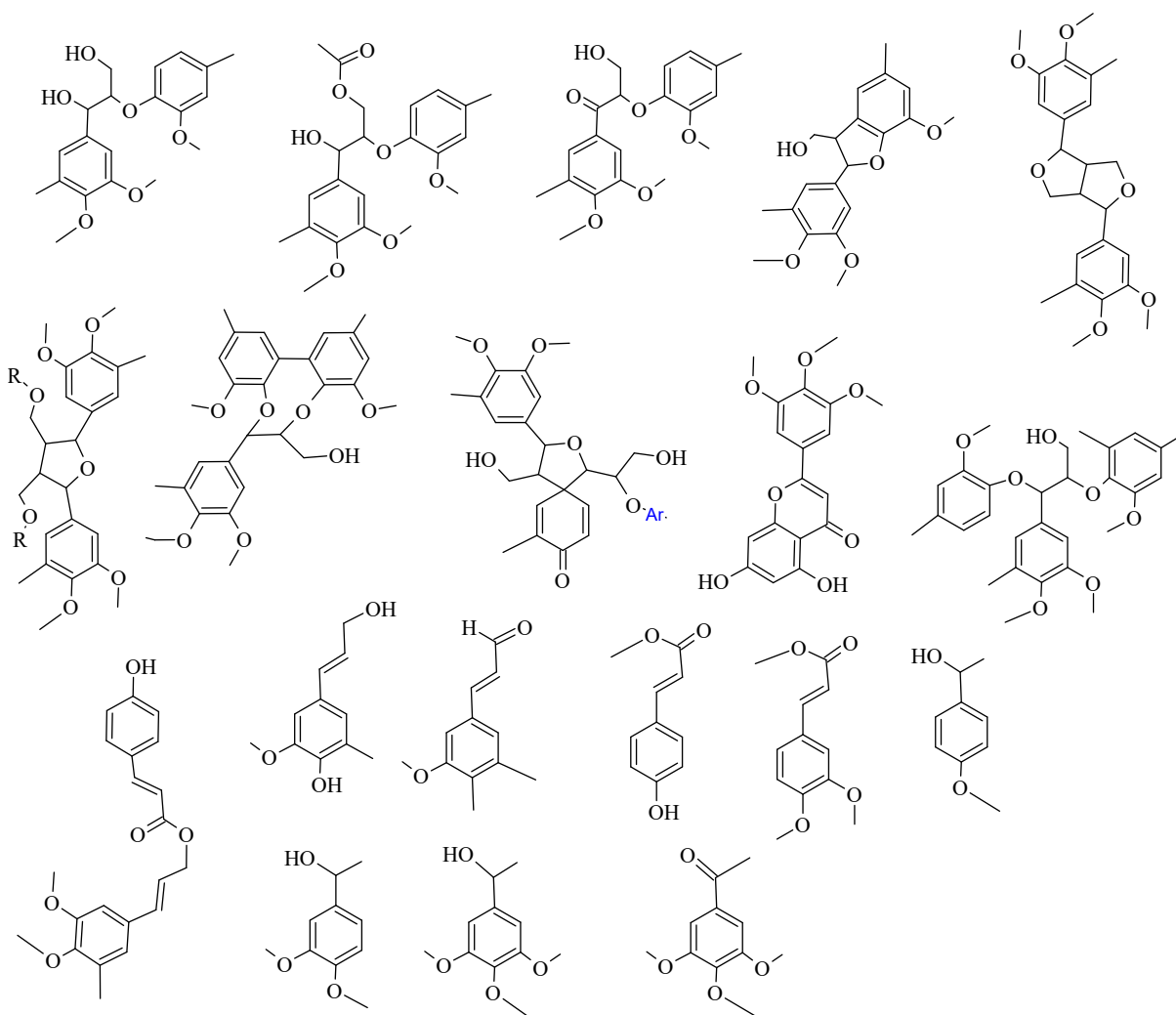
Figura 9 - Estrutura parcial de uma macromolécula de lignina.



Fonte: Adaptado de SOUTO; CALADO; PEREIRA JR. (2015).

Rio *et al.* (2015) identificaram as principais estruturas presentes nas ligninas do BCA e da palha da cana-de-açúcar, reproduzidas na **Figura 10**. Os autores concluíram que na lignina proveniente da palha é mais frequente a presença de guaiacila, com proporção molar de *p*-hidroxifenila, guaiacila e siringila igual a 4:68:28, enquanto no BCA a siringila se faz mais presente, com proporção molar 2:38:60.

Figura 10 - Estruturas presentes na lignina da palha e bagaço de cana-de-açúcar.



Fonte: Adaptado de RIO *et al.* (2015).

A lignina é produzida pela união de três monolignóis principais, os álcoois *p*-cumarílico, coniferílico e sinapílico, cujas estruturas são apresentadas na **Figura 11**. Quando incorporados ao polímero de lignina, essas moléculas produzem unidades de *p*-hidroxifenila, guaiacila e siringila, respectivamente, ligadas de formas diferentes, de modo a gerar uma variedade de estruturas que incluem éteres alquil-barílicos, fenilcumaranos, resinóis, espirodienonas e

dibenzodioxocinas, entre outros (RÍO *et al.*, 2015).

Figura 11 - Estrutura dos principais álcoois monolignóis.



2.7 Gerações dos biocombustíveis

Os biocombustíveis produzidos a partir da biomassa não processada são classificados como primários, os produzidos de biomassa processada são secundários. Os secundários são classificados em 4 gerações. Os de primeira geração são produzidos a partir de partes comestíveis de culturas alimentares, como amido, produtos açucarados e óleos vegetais. Os de segunda geração são produzidos a partir de culturas não alimentares, coprodutos agrícolas e resíduos florestais. Os de terceira geração são produzidos a partir de algas e os de quarta geração por plantas geneticamente modificadas e micro-organismos com alta capacidade de captura de carbono (KUMAR *et al.*, 2020).

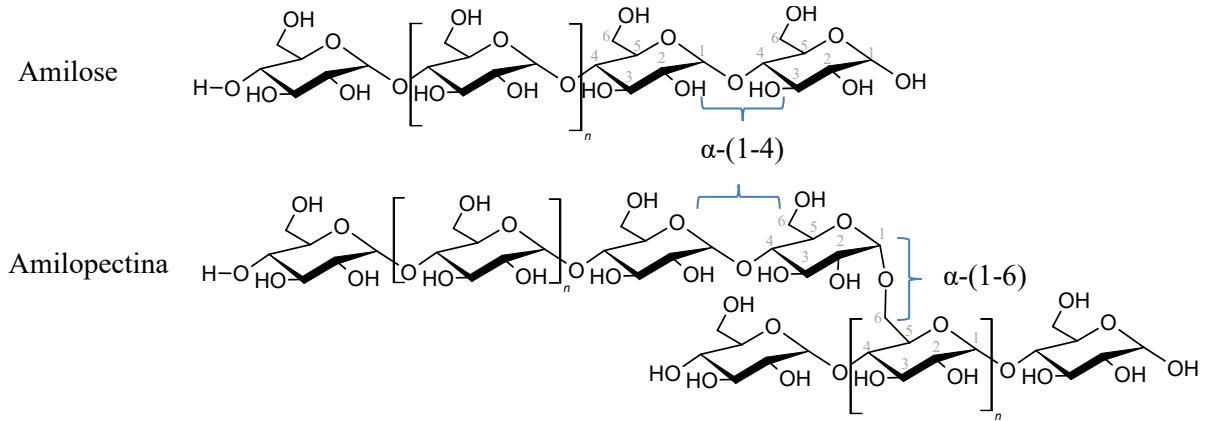
2.7.1 Etanol de primeira geração

As principais culturas utilizadas para a produção de E1G incluem partes de plantas que acumulam sacarose naturalmente (frutas e gramíneas como a cana-de-açúcar e o sorgo) e partes de plantas que acumulam amido como reserva energética (grãos como o milho e tubérculos como batata e beterraba) (MARTINS, 2015). E1G é produzido principalmente do milho e da cana-de-açúcar, nos EUA e Brasil, primeiro e segundo maiores produtores mundiais, respectivamente. Em seguida vêm o trigo, utilizado no Canadá, a beterraba e o sorgo, utilizados nos países que compõem a União Europeia. A China utiliza milho, mandioca e arroz, sendo o terceiro maior produtor de E1G (RAY; RAMACHANDRAN, 2018).

Nos EUA, o amido presente no milho é hidrolisado enzimaticamente para fornecer a glicose que será fermentada. O amido é formado por amilose e amilopectina, conforme mostrado na **Figura 12**, dois polissacarídeos de D-glicose. Amilose forma um polímero linear

unido por ligações glicosídicas α -(1,4). Amilopectina forma um polímero ramificado, com ligações α -(1,4) e ligações α -(1,6) (IRANI; ISMAIL; AHMAD, 2013; SOUZA *et al.* 2022).

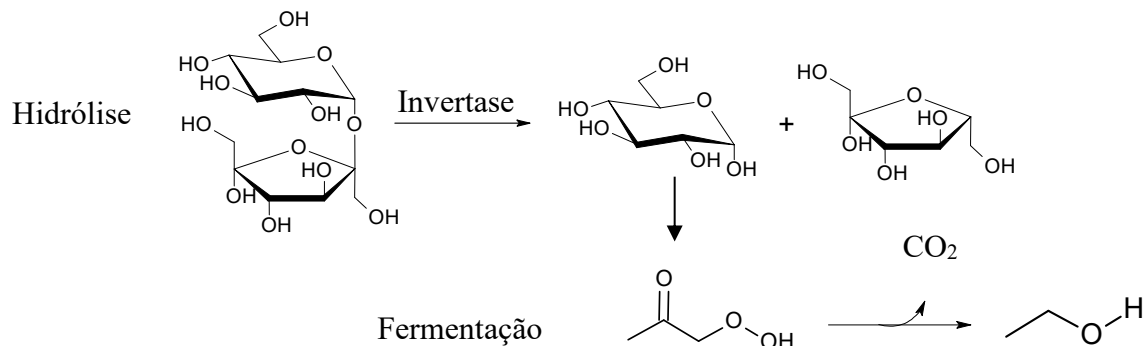
Figura 12 - Estrutura química do amido.



Fonte: Adaptado de IRANI; ISMAIL; AHMAD (2013).

A tecnologia para a produção de etanol a partir da fermentação da sacarose do caldo de cana-de açúcar (E1G) é bem estabelecida no Brasil. Nas destilarias autônomas é produzido apenas etanol, enquanto nas destilarias anexas se produz simultaneamente etanol e açúcar, (PALACIOS-BERECHE *et al.*, 2022). As usinas brasileiras utilizam *S. cerevisiae* para a produção de E1G a partir da sacarose extraída (DIONÍSIO *et al.* 2021). Essas leveduras produzem invertases, enzimas que atuam como catalisadores da hidrólise da sacarose. A **Figura 13** representa o processo, em que primeiro se promove a hidrólise da ligação glicosídica, liberando glicose e frutose, e depois a fermentação, tendo a *S. cerevisiae* preferência pela glicose, que é inicialmente convertida em ácido pirúvico e depois em etanol, com a liberação de CO_2 (MINAMI *et al.*, 2021).

Figura 13 – Produção de E1G a partir da sacarose.



Os métodos de produção de E1G a partir de cana-de-açúcar até aqui discutidos são competitivos do ponto de vista de custos, mas não em termos de volume, uma vez que uma tonelada de cana produz até 90 L de etanol a um custo de produção de R\$ 1,16/L, enquanto uma tonelada de milho pode produzir até 407 L a um custo de R\$ 1,85/L (SOUZA *et al.*, 2022). No entanto, o setor de etanol no Brasil apresenta baixas emissões de gases do efeito estufa, em comparação com o etanol de milho. As emissões calculadas entre os modelos variaram de 16 a 45 g CO_{2eq}/MJ para etanol de cana-de-açúcar, enquanto para o etanol de milho variaram entre 43 e 62 g CO_{2eq}/MJ (BARBOSA *et al.*, 2022). Portanto, dos pontos de vista ambiental e econômico a cana-de-açúcar é preferível ao milho na geração de etanol, mas é preciso melhorar a eficiência de produção, o que pode acontecer através do aproveitamento do BCA, dentre outras estratégias.

A **Tabela 1** apresenta os valores médios de rendimento de E1G para as seis principais fontes de produção. A cana-de-açúcar é a que apresenta menor rendimento, no entanto, ao comparar as culturas não se deve analisar o rendimento isolado de outros fatores importantes, como custos de produção, emissão indireta de gases e partículas poluentes, consumo de água e energia, tempo de crescimento e maturação, entre outros (TSE; WIENS; REANEY, 2021).

Tabela 1 - Rendimento de etanol produzido de culturas alimentares.

Cultura	Etanol produzido L t ⁻¹
Beterraba	110
Cana-de-açúcar	75
Mandioca	180
Milho	400
Arroz	430
Trigo	340

Fonte: Adaptado de TSE; WIENS; REANEY (2021).

E1G é oriundo de fontes renováveis e não colabora com a intensificação aquecimento global por não contribuir com o aumento do CO₂ atmosférico, ao contrário dos combustíveis fósseis (RAY; RAMACHANDRAN, 2018). Ademais, na fermentação o CO₂ liberado é relativamente puro, o que pode facilitar a sua captura, viabilizando a negatização de emissões negativas e contribuindo para a mitigação das mudanças climáticas (MOREIRA, 2016).

2.7.2 Etanol de segunda geração

Assim como a sacarose e o amido, a celulose presente na parede celular dos vegetais também é constituída de cadeias de glicose, que podem ser hidrolisadas para liberar os açúcares, que fermentados produzem E2G. Estudos de diversos materiais são relatados na literatura para a produção de E2G (LORENZI; ANDRADE, 2019).

González-Chavez *et al.* (2022) elaboraram um projeto de processo de aproveitamento da celulose presente no bagaço de sotol (*Dasyliirion sp.*), uma planta endêmica do norte do México e sul dos EUA, como uma nova matéria-prima para produção de etanol. Com o aumento da lavoura de sotol, motivada pela popularização da bebida de mesmo nome, a produção de resíduos cresce vertiginosamente, e o uso na alimentação animal não é suficiente para consumi-lo por completo. Como resultados, obtiveram produção de etanol de 5,18 g L⁻¹.

Cascas e outros resíduos de frutas podem ser aproveitados para produzir etanol. A utilização de casca e coroa de abacaxi produziu etanol a 30,77 g L⁻¹. Entre 75 e 80% do abacaxi processado na indústria constitui resíduo e a quantidade de carboidratos da parede celular presente na casca do abacaxi torna essa uma fonte relevante para produção de etanol (SALAFIA; FERRACANE; TROPEA, 2022). A utilização de casca da vagem de cacau também foi reportada na literatura, chegando a 30,9 g e 45,2 g de etanol para cada quilograma do resíduo, possibilitando em conjunto o aproveitamento de pectina. A casca é o principal resíduo de cacau, chegando a representar 80% do fruto, de modo que seis toneladas de resíduo são geradas para cada tonelada de amêndoas produzida. Grande parte deste resíduo é abandonado nas plantações, aproveitados apenas como fertilizantes, com consequência na degradação do solo e na propagação de pragas (DIESTRA; VANDENBERGHE; SOCCOL, 2022).

Vargas *et al.* (2015) conseguiram produzir etanol na concentração de 52 g L⁻¹ a partir de palha de cevada. A cevada é um cereal abundante com uma produção mundial que ultrapassa 140 milhões de toneladas anuais, das quais 53% correspondem a palha. Outro importante cereal passível de aproveitamento dos resíduos é o milho. O sabugo de milho é um coproduto industrial já muito estudado para a produção de E2G, assunto sobre o qual Gandan *et al.* (2022) fizeram uma extensiva revisão, chegando à conclusão de que para viabilizar realmente as biorrefinarias de sabugo de milho com etanol como um dos produtos, os derivados de hemicelulose devem ser direcionados para o aproveitamento de xilo-oligosacarídeos e de D-Xilitol, devido aos seus valores relativos de mercado.

Um estudo recente avaliou a viabilidade de cinco culturas indianas (ou seus resíduos) para a produção de E2G: vetiver, moringa, palha de arroz, palha de trigo e BCA. Dentre as

culturas, a grama vetiver apresentou o maior potencial para a produção de E2G e o BCA teve o pior desempenho. No entanto, os autores reconhecem que a metodologia que empregaram tem algumas limitações e pode ser tendenciosa devido a restrições como confiabilidade da biomassa, normas econômicas e governamentais etc., alertando para o fato de que o estudo foi feito no contexto indiano e sem modificação não pode ser aplicado diretamente a nenhuma outra indústria ou país (RAMESH; SELVAN; BABU, 2022).

A vantagem do BCA para a produção de E2G consiste na possibilidade de integração com os processos de produção de E1G, aproveitando o próprio resíduo gerado como matéria prima. Ademais, E2G pode ser produzido a partir do BCA que sobra após a extração do caldo, não competindo com a produção de açúcar ou aumentando o rendimento de etanol por tonelada de cana-de-açúcar, incorrendo em maior aproveitamento da biomassa vegetal e na diminuição do volume de resíduos gerados (LORENZI; ANDRADE, 2019). No entanto, conforme discutido anteriormente, a estrutura recalcitrante do BCA protege a celulose e conseqüentemente dificulta sua hidrólise a açúcares fermentáveis. O primeiro passo para a produção de E2G é o tratamento do BCA para superar a recalcitrância do material, pela desordem da lignina e pela quebra da hemicelulose em seus componentes, melhorando a acessibilidade das enzimas hidrolisantes à parte celulósica (DIONÍSIO *et al* 2021). Para isso, são empregados métodos de biorrefinaria, que promovem a separação e possibilitam o aproveitamento das frações da biomassa lignocelulósica.

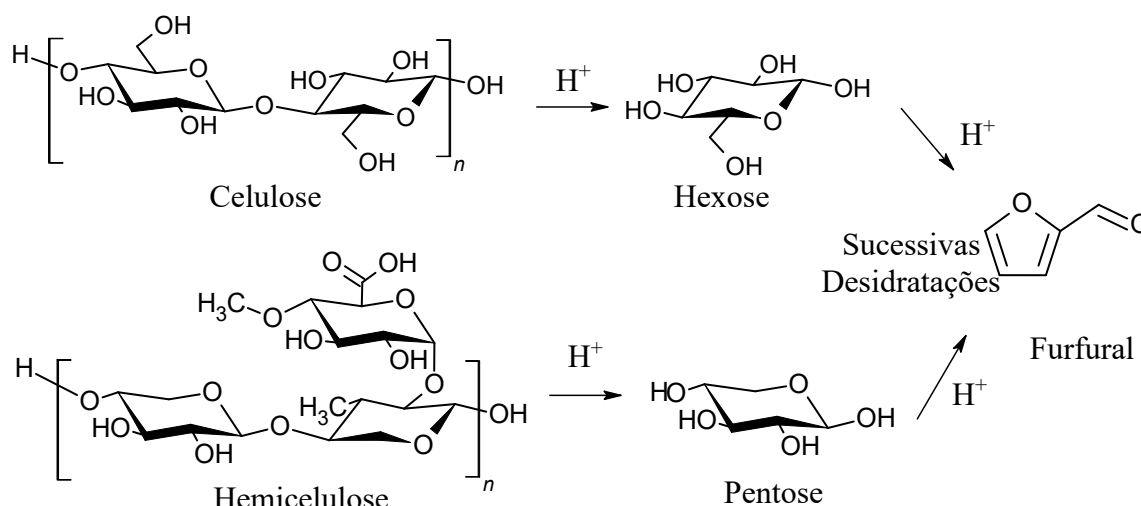
2.8 Biorrefinaria

Biorrefinaria consistem em unidades de processamento de materiais oriundos da biomassa, através de processos de separação das suas frações com foco na conversão em biocombustíveis, insumos químicos e outros materiais. Seu planejamento deve buscar a obtenção de frações de pureza adequada, com o maior aproveitamento e menor consumo de energia, bem como evitando a utilização ou liberação de substâncias perigosas ou tóxicas (TOLEDANO *et al.*, 2013).

A sequência de procedimentos adotada deve levar em conta as estruturas presentes na biomassa, a fim de recuperar uma fração sem comprometer as demais, se possível tornando as próximas frações até mais acessíveis. Os métodos empregados em cada etapa podem modificar a forma como estas frações são obtidas, podendo influenciar o tamanho das moléculas, seu grau de hidrólise e oxidação. Um tratamento adequado oferece eficiência energética, menor formação de inibidores, preservação de celulose e menor consumo de tempo (MALIK *et al.*,

2022). Enquanto um tratamento suave (eletrólitos ou oxidantes fracos, temperaturas amenas, tempo curto) pode não ser suficiente para tornar a celulose acessível. Condições drásticas (eletrólitos ou oxidantes fortes, temperaturas elevadas e longo tempo) podem degradar as frações celulósicas e hemicelulósicas gerando, entre outras coisas, inibidores de fermentação, como furfural e 5-hidroxitilfurfural, fazendo-se necessária a otimização das condições de tratamento (SCHMATZ *et al.*, 2020). A **Figura 14** apresenta a formação de furfural após sucessivas desidratações causadas por agente ácido aos açúcares hidrolisados (Bizzi *et al.*, 2019).

Figura 14 - Formação de furfural.



Fonte: Adaptado de BIZZI *et al.*, 2019.

Com parâmetros de tratamento ideais, a fibra vegetal sofre modificações morfológicas que gradualmente aumentam o tamanho dos poros e a eficácia da hidrólise enzimática da celulose. A hidrólise da hemicelulose ocorre mais prontamente e libera principalmente xilose como produto fermentável, enquanto a hidrólise da celulose é mais difícil e libera principalmente glicose (SHANGDIAR *et al.*, 2022). O tratamento mais empregado em biorrefinaria é a explosão a vapor, mas outras formas de tratamento baseados em processos físicos, químicos e biológicos foram reportados, de forma isolada e em diferentes combinações.

2.8.1 Tratamentos usados em biorrefinaria

São físicos os tratamentos mecânicos e os tratamentos que usam radiação. Os tratamentos mecânicos são usados a fim de diminuir o tamanho de partícula e aumentar a área

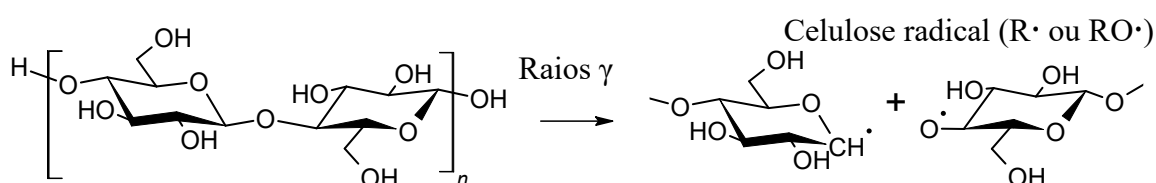
superficial da biomassa. Como não são capazes de remover lignina, dificilmente são usados de forma isolada. São exemplos a britagem, a moagem, a compressão e a extrusão. Entre os tratamentos físicos baseados no uso de radiação destacam-se o uso de micro-ondas, ultrassom, raios gama e irradiação de feixe de elétrons. Outras formas de tratamento físico ainda incluem a pirólise e o tratamento com energia elétrica pulsada (KUMAR *et al.*, 2020). Dentre as opções citadas, aquela de mais fácil aplicação em escala industrial é a moagem, dado que as usinas sucroalcooleiras já possuem moinhos e para implementação em esquemas de biorrefinaria bastariam adaptações na sequência de produção.

Shangdiar *et al.* (2022) aplicaram como tratamento mecânico o corte e pulverização do BCA, seguidos de tratamento ácido assistido por micro-ondas nas partículas iguais ou inferiores a 1 mm. Os melhores resultados, isto é, os que tornaram a celulose mais acessível, permitindo maior taxa de sacarificação e fermentação posteriores, foram encontrados em temperatura de 100 °C e potência de 600 W. No entanto, a temperatura mostrou-se mais importante para o resultando do que da potência do micro-ondas.

Bizzi *et al.* (2019) fizeram uso de energia ultrassônica na hidrólise de diversas biomassas lignocelulósicas, incluindo resíduos de cana-de-açúcar, obtendo altas taxas de produção de furfural, um inibidor da fermentação. Eles afirmam que a onda acústica contribui para intensificar a protonação de glicose para a produção de um aldeído intermediário que foi então convertido em furfural.

Após triturar o BCA, Chanklinhorm *et al.* (2022) utilizaram radiação nas partículas inferiores a 300 µm para extração da celulose, seguido de tratamento alcalino para remoção de lignina e hemicelulose. Eles observaram que a cristalinidade da celulose obtida dependeu principalmente da dose de radiação gama aplicada. Kapoor *et al.* (2020) revelaram que a irradiação do BCA deslignificado, seguida de hidrólise, aumentou em três vezes o rendimento do açúcar redutor total. Uma vez absorvida pelo material, a radiação gama altera a estrutura e composição do BCA, causando clivagem da hemicelulose e da celulose, exemplificada na **Figura 15**, aumentando a digestibilidade ácida e enzimática do material.

Figura 15 - Clivagem da celulose por radiação gama.



Fonte: Adaptado de Chanklinhorm *et al.* (2022).

Os tratamentos biológicos podem usar micro-organismos ou suas enzimas na biorrefinaria. As enzimas mais usadas são as ligninolíticas (peroxidases e lacases) e as hidrolíticas, que degradam lignina e hemiceluloses. Entre os micro-organismos adequados estão várias espécies de fungos e bactérias, incluindo as geneticamente modificadas. Teor de umidade, pH, temperatura de incubação, nutrientes e tamanho de partícula são importantes parâmetros a ser controlados em tratamentos biológicos. O tratamento fúngico utiliza carboidratos da biomassa para o crescimento, afetando o rendimento geral do processo. O uso de micro-organismos pressupõe altos tempos de incubação, limitando a aplicação em larga escala. A desvantagem associada ao uso de enzimas, no entanto, se deve ao seu custo de produção, estabilidade, prazo de validade e reutilização (KUMAR *et al.*, 2020; MALIK *et al.*, 2022).

Entre os tratamentos que envolvem apenas a utilização de água e calor, é possível citar o tratamento hidrotérmico e a explosão a vapor. A diferença consiste no estado físico da água durante o processo. No primeiro, a utilização de altas pressões impede que a água se vaporize mesmo em altas temperaturas (KUMAR *et al.*, 2020). Entre os métodos de alta pressão, ainda estão incluídos a carbonização hidrotérmica, a explosão de CO₂ supercrítico, a explosão de fibra de amônia e a percolação de reciclagem de amônia (DIONÍSIO *et al.*, 2022; MALIK *et al.*, 2022).

O tratamento químico mais frequente envolve o uso de ácidos diluídos em alta temperatura (120 °C a 200 °C) ou ácidos concentrados em temperaturas mais baixas, sendo os principais ácido sulfúrico e ácido clorídrico. Eles atuam principalmente na quebra das cadeias de hemicelulose e no aumento da porosidade da celulose. Nesse processo, compostos inibitórios da fermentação podem ser gerados, podendo ser evitados por combinações otimizadas de concentração do ácido, tempo e temperatura da reação. São também extensivamente usados hidróxidos, mas estes são menos eficientes em biomassas com teor elevado de lignina (KUMAR *et al.*, 2020).

Tratamento com ácido inorgânico diluído foi reportado por Fernandes *et al.* (2020) na remoção de lignina e hemicelulose, expondo a celulose e tornando-a acessível aos agentes utilizados na hidrólise para produzir açúcares fermentáveis. Na indústria de papel, o método Kraft é o mais empregado para esse fim. Nele, a degradação química é efetivada pela utilização de Na₂S e NaOH e a precipitação da lignina ocorre com a subsequente acidificação do meio (HAZ *et al.*, 2019). Bariani *et al.* (2022) aplicou ácido sulfúrico 0,3% a 210 °C, após tratamento hidrotérmico em resíduos de eucalipto, tendo recuperado glicose em conjunto com furfural, um dos produtos da degradação da glicose.

Ácidos orgânicos também são encontrados em trabalhos da Literatura para a finalidade de tratar a biomassa vegetal. Ácido xilônico foi utilizado no tratamento do BCA para a solubilização da hemicelulose e liberação de xilose, que por sua vez fora recuperada para a produção de mais ácido xilônico, em processo cíclico de aproveitamento de componentes da biomassa para seu próprio tratamento (ZHUG *et al.*, 2023).

Risanto *et al.* (2023) estudaram o comportamento de seis ácidos orgânicos no tratamento da farinha de BCA isenta de extraíveis, os ácidos cítrico, maleico, láctico, succínico, acético ou málico, e comparam com ácido sulfúrico. Avaliaram a atuação dos ácidos nas concentrações de 0,5 a 3%, em temperaturas operacionais de 140 a 200 °C e por tempos de tratamento de 15 a 75 min. No seu estudo, ácido maleico teve resultados equiparáveis ao ácido sulfúrico, sendo superior a todos os demais.

No tratamento oxidativo são usados principalmente oxigênio, ozônio e peróxido de hidrogênio, que ocasionam completa ou parcialmente a clivagem da lignina, a desconstrução da hemicelulose e a degradação da celulose. Porém, compostos aromáticos originados na oxidação da lignina podem atuar como inibidores da fermentação (KUMAR *et al.*, 2020). Lima *et al.* (2021) tiveram sua produção de E2G maximizada sob condições de ozonização moderada (7,5 mgO, 3 gBCA), gerando 30 L de etanol a cada tonelada de BCA processados.

Nos tratamentos à base de solvente podem ser usados os solventes orgânicos, os líquidos iônicos e os solventes eutéticos profundos (DES). Metanol, acetona, etilenoglicol e o próprio etanol são usados como solventes no processo organosolv. Eles são usados isolados ou combinados, em altas temperaturas, na ausência ou presença de água ou catalisador, sendo possível o uso de gás carbônico supercrítico para aumentar sua difusibilidade. Atuam clivando as ligações éter e éster na lignina e hemicelulose e aumentando a porosidade da celulose (HERMSDORFF *et al.*, 2023).

A utilização de catalizadores pode aumentar a velocidade de um tratamento. Han *et al.* (2023) avaliaram os efeitos do processo organosolv catalisado por CuCl₂. A maioria da hemicelulose e lignina foi degradada quando 25 mmol L⁻¹ de CuCl₂ foram usados no tratamento com uma mistura de etanol e água como solvente a 160 °C.

Os Líquidos iônicos são compostos de ponto de fusão inferior a 100 °C, constituídos de cátions grandes e ânions pequenos, capazes de estabelecer ligações íon-dipolo que competem com as ligações de hidrogênio que mantêm unidas as cadeias de celulose, hemicelulose e lignina. A principal limitação associada ao uso dos líquidos iônicos em biorrefinaria é seu alto custo e sua toxicidade para leveduras (KUMAR *et al.*, 2020).

Por fim, uma forma promissora de pré-tratamento é o uso de DES, que se destaca pela

capacidade de solubilização de biomassa, fácil síntese, baixa volatilidade, não inflamabilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade (ULLAH *et al.*, 2023).

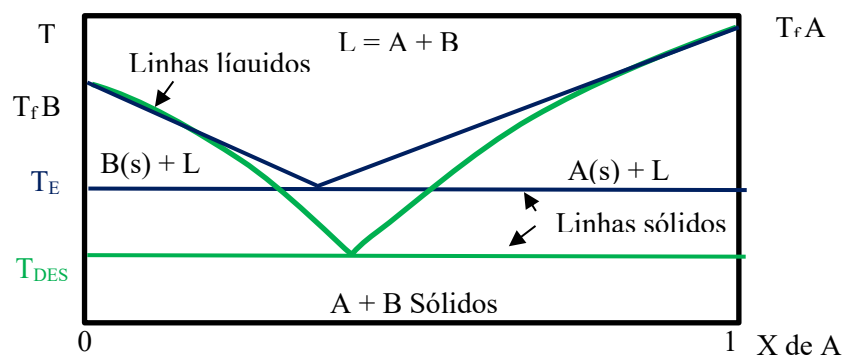
2.8.5 Solventes Eutéticos Profundos

DES são preparadas pela mistura de um ou mais doadores de ligação de hidrogênio com um ou mais aceitadores de ligação de hidrogênio em temperatura moderada (60 °C a 80 °C). Doadores de ligação de hidrogênio são as espécies que possuem hidrogênio ligado a oxigênio ou nitrogênio, como os álcoois, as amidas e os ácidos carboxílicos. Como aceitador de ligação de hidrogênio são usados com frequência sais de amônio quaternário, especialmente cloretos e fluoretos (KUMAR *et al.*, 2020).

Eles foram reportados pela primeira vez na literatura em 2003. Tratavam-se a princípio de misturas de ureia com sais de amônio quaternário substituídos, como cloreto de hidroxietiltrimetilamônio (colina). A mistura na proporção de 1 mol de cloreto de colina e 2 mols de ureia gera um líquido com ponto de congelamento igual a 12 °C, que é consideravelmente mais baixo do que o do cloreto de colina (302 °C) e o da ureia (133 °C) separados e permite que a mistura seja utilizada como solvente à temperatura ambiente (ABBOTT *et al.*, 2003).

As linhas azuis na **Figura 16** representam o diagrama de fases previsto idealmente para uma mistura eutética de dois componentes, A e B, cujas temperaturas de fusão, T_fB e T_fA , são maiores que a temperatura de fusão prevista para uma mistura eutética, T_E . O eixo horizontal apresenta a fração molar do componente A. Como se trata de uma mistura binária, a fração do componente B pode ser facilmente deduzida, uma vez que a soma das duas se iguala a unidade (BEZERRA; COSTA; KOBLITZ, 2020).

Figura 16 - Diagrama de fases do eutético ideal e do DES.



Fonte: Adaptado de BEZERRA; COSTA; KOBLITZ (2020).

Uma mistura eutética tem comportamento similar a de uma substância pura ao sofrer aquecimento, de modo que os dois componentes misturados na proporção eutética se fundem e se solidificam juntos. A mistura permanecerá no estado líquido em qualquer composição se sua temperatura estiver acima da linha líquidos do diagrama. De forma análoga, em temperaturas inferiores à linha sólidos, a mistura se apresenta em fase sólida qualquer que seja a composição. Nas regiões entre as linhas, a mistura apresenta um dos componentes dissolvido no eutético, até o limite de solubilidade, e o excedente forma um sólido, conferindo heterogeneidade ao sistema (BEZERRA; COSTA; KOBLITZ, 2020).

Nos DES, o abaixamento da temperatura da mistura foge da idealidade. São as linhas verdes na **Figura 16** que representam o DES formado por A e B. Os DES mais importantes são aqueles que se encontram líquidos em temperatura ambiente ou em temperaturas facilmente atingíveis, inferiores a 100 °C, o que possibilita sua aplicação como solvente em diversas atividades. No caso da mistura de cloreto de colina e ureia, o abaixamento na temperatura é atribuído à forte interação entre as moléculas de ureia e o íon cloreto (BEZERRA; COSTA; KOBLITZ, 2020; ABBOTT *et al.*, 2004).

O DES é capaz de formar ligações de hidrogênio devido à presença de um forte doador e receptor de elétrons, e pode aprimorar a solubilização dos polímeros das biomassas. Combinações de precursores podem conduzir a maior seletividade da dissolução de lignina ou hemicelulose, sem afetar a celulose. DES produzidos a partir de substâncias naturais são considerados solventes “verdes” devido a sua baixa toxicidade e biodegradabilidade (KUMAR *et al.*, 2020).

DES produzido a partir de cloreto de colina e ácido láctico foi usado no tratamento de palha de milho e mostrou-se superior ao tratamento com etanol, sendo responsável pela redução de 86% da lignina presente, no entanto, acarretou a perda conjunta de 24% da celulose presente no material. A hidrólise enzimática feita em seguida foi melhorada devido ao tratamento com DES (YAO *et al.*, 2022).

Chourasia *et al.* (2022) utilizaram DES produzidos a partir de cloreto de colina e ácido láctico, na proporção molar 1:5, para remover lignina de 5 variedades BCA, com remoções máximas de lignina encontradas, variando entre 42% e 73% ao utilizar a proporção de 5% de BCA e aquecimento em banho de óleo a 80 °C, com agitação constante por 12 h. Observaram também um aumento no índice de cristalinidade do BCA após o tratamento com DES. Wang *et al.* (2022) aplicaram DES produzido a partir de cloreto de colina e ácido láctico, desta vez na proporção molar de 1:9, para tratar o BCA que passou por tratamento alcalino e hidrotérmico, ao se utilizar a proporção de 4% do BCA a 110 °C por 12 h. No processo que combinou

tratamento alcalino e tratamento com DES as taxas de remoção de hemicelulose e lignina foram de 66,84% e 86,7%, respectivamente. Já no processo que combinou tratamento hidrotérmico e tratamento com DES as taxas foram de 32,57% e 79,6%, também respectivamente.

Varilla-Mazaba *et al.* (2022) utilizaram DES a base de cloreto de colina e ureia no tratamento de BCA previamente hidrolisado com H_2SO_4 a 0,86% (v/v) por 22,7 min a 121 °C para remoção de hemicelulose, e obtiveram mais de 80% da lignina removida do BCA, tendo sido maiores quando se aumentou o tempo de reação para 12 h e a temperatura para 150 °C. Yon *et al.* (2022) estudaram a viabilidade do DES sintetizados por combinações de cloreto de colina com ácido cítrico (1:1), glicerol (1:2), ureia (1:2) e ácido malônico (1:1) para tratamento do BCA. Utilizaram o BCA na proporção de 5% (m/v) e aqueceram as misturas em estufa a 100 °C por 3 h. O BCA tratado com o DES de cloreto de colina e ácido malônico forneceu a maior quantidade de açúcar redutor após a hidrólise, aproximadamente 3,7 g L⁻¹. Concluíram que DES de cloreto de colina e glicerol registrou a maior perda de açúcar redutor no tratamento com DES, enquanto o solvente preparado com ureia resultou na menor perda registrada nessa etapa, o que atribuem à sua natureza quase neutra.

Fica evidente que muitas combinações de precursores podem ser utilizadas no tratamento do BCA. As possibilidades aumentam ainda mais se o tratamento com DES for combinado com tratamentos já consagrados, sejam físicos, químicos ou biológicos. DES baseados em cloreto de colina e ureia se mostraram seletivos para a extração de lignina, possibilitando o seu aproveitamento. A hidrólise pode ser executada após tratamento com DES. Desse modo, a hidrólise das ligações glicosídicas não competirá com a remoção da lignina. No entanto, é necessário otimizar os fatores que influenciam no processo.

2.9 Planejamento experimental

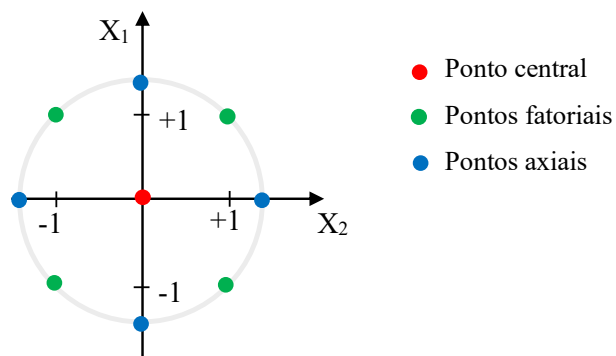
É para avaliar quantitativamente a influência de fatores experimentais e de suas interações sobre uma variável usando um mínimo de experimentos que se empregam as ferramentas quimiométricas de otimização (NOVAES *et al.*, 2017).

O Planejamento Composto Central é usado no estudo das inter-relações entre uma ou mais respostas com dois ou mais fatores. Ele se baseia no emprego de planejamentos fatoriais em busca do ponto ótimo. No planejamento composto central com $k = 2$ de fatores, devidamente codificados como X_1 e X_2 , cada um variando em $n = 2$ níveis, $X_i = -1$ e $X_i = +1$, é formado de três partes: uma parte fatorial, uma parte axial e uma parte central (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001). A adição dos pontos axiais tem o objetivo de avaliar a parte

curvilínea existente, de forma a chegar à solução ótima, que maximiza os resultados e a adição de repetições do ponto central melhora as estimativas dos efeitos quadráticos e permite obter informação extra quanto ao centro da região estudada, além de fornecer uma medida do erro experimental (MATEUS; BARBIN; CONAGIN, 2001). A adição dos pontos axiais tem o objetivo de avaliar a parte curvilínea existente, de forma a chegar à solução ótima, que maximiza os resultados e a adição de repetições do ponto central melhora as estimativas dos efeitos quadráticos e permite obter informação extra quanto ao centro da região estudada, além de fornecer uma medida do erro experimental (MATEUS; BARBIN; CONAGIN, 2001).

A parte fatorial contém um total de $k^n = 4$ pontos, que contemplam todas as possíveis combinações dos fatores em seus diferentes níveis. A parte axial é formada por $2k = 4$ pontos axiais, em que uma coordenada é nula e a outra é igual a um certo valor α (ou $-\alpha$), com α entre 1 e \sqrt{k} . A parte central é constituída por repetições do ponto em que X_1 e X_2 tem valores nulos. Nesse caso, quando α é igual a \sqrt{k} , os pontos axiais e os pontos fatoriais ficam sobre uma circunferência, equidistantes do ponto central, conforme observado na **Figura 17** (MATEUS; BARBIN; CONAGIN, 2001).

Figura 17 - Coordenadas de um planejamento composto central de dois fatores.



A adição dos pontos axiais tem o objetivo de avaliar a parte curvilínea existente, de forma a chegar à solução ótima, que maximiza os resultados e a adição de repetições do ponto central melhora as estimativas dos efeitos quadráticos e permite obter informação extra quanto ao centro da região estudada, além de fornecer uma medida do erro experimental (MATEUS; BARBIN; CONAGIN, 2001).

Sharma *et al.* (2021) utilizaram Planejamento Composto Central para otimizar a hidrólise assistida por ultrassom de BCA tratado previamente com DES a base de cloreto de colina e glicerol. Os fatores otimizados foram proporção de biomassa no DES, amplitude de sonicação e tempo e a variável de resposta foi o teor de açúcar produzido. A proporção de

biomassa e o tempo ótimo foram 5,72%, e 7,79 min, respectivamente, resultando em rendimento de açúcar igual a 312 mg para cada 1 g de biomassa.

Novo *et al.* (2011) utilizaram Planejamento Composto Central para otimizar temperatura, tempo e teor de glicerol no tratamento organossolv aplicado ao BCA, avaliando como respostas a quantidade de lignina residual, o grau de deslignificação e o teor residual de celulose. Já Canilha, Santos e Rocha (2011) utilizaram este planejamento para otimizar temperatura, tempo e concentração de ácido sulfúrico. Os três fatores influenciaram significativamente na resposta, mas a concentração de ácido foi a variável mais importante que afetou o rendimento de xilose, já que a temperatura tem uma forte influência na degradação da xilose a furfural.

Na otimização do tratamento hidrotérmico dado ao BCA e à palha da cana para produzir o máximo de xilo-oligossacarídeos, Dias *et al.* (2022) também optaram pelo Planejamento Composto Central. Nas condições mais amenas houve maior resposta, com 32% do BCA convertido no produto de interesse. Nesse ponto, furfural e ácido fórmico representaram 1,3% e 4,1%, respectivamente.

Nenhum dos trabalhos encontrados na Literatura, estudou a otimização do tempo e concentração de ácido na hidrólise ácida de BCA tratado com DES de cloreto de colina e ureia.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Combinar a extração da lignina utilizando DES a base de cloreto de colina e ureia com a hidrólise ácida, para produzir uma biomassa rica em celulose e um licor fermentável dos derivados da hemicelulose.

3.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar DES baseado em cloreto de colina e ureia;
- Extrair lignina do BCA utilizando DES;
- Otimizar a hidrólise do BCA deslignificado utilizando ácido diluído;
- Produzir licor hidrolisado rico em xilose e na ausência de inibidores da fermentação;
- Aumentar o teor de celulose disponível na biomassa;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes

Cloreto de Colina (Sigma®-Aldrich® $\geq 98\%$), Ureia (Sigma®-Aldrich® $\geq 98\%$) e Ácido Sulfúrico (Proquímios® $\geq 98,08\%$).

4.2 Coleta e preparo da biomassa

A biomassa usada no presente trabalho foi o BCA da variedade RB855A56, coletado na usina Japungu Agroindustrial, no município de Santa Rita-PB, em julho de 2021. Seu cultivo se destina principalmente a colheita no início de safra, devido a sua produtividade agrícola alta, velocidade de crescimento rápida e maturação precoce. Ela resultou de um cruzamento da variedade RB72454 fecundada com pólen da variedade Tuc71-7, realizado na Serra do Ouro, no município de Murici - AL, em 1985, tendo sido posteriormente liberada pela UFPR. Ela apresenta teores medianos de sacarose e de fibra, mas é muito utilizada devido ao crescimento e maturação acelerados (RIDESA, 2010).

Esse material foi lavado com água corrente, acondicionado em bandejas de plástico e mantido em estufa de circulação de ar (Slabor®) a 45 °C por 6 dias, para secagem. Em seguida foi processado em um moinho de facas e peneirado, reservando para os experimentos a fração com diâmetros de 0,25 mm a 1,70 mm, que foi acondicionada em pote plástico e armazenada em temperatura ambiente, sendo a amostra identificada como BIN (biomassa *in natura*).

4.3 Preparo do solvente eutéctico profundo

O DES utilizado nos experimentos foi preparado pela mistura de dois precursores sólidos, cloreto de colina e ureia, na proporção molar de 1:2. A mistura foi acondicionada em tubos Falcon de 50 mL e levada a banho-maria a 80 °C por cerca de 2 h, sendo agitada na velocidade máxima do Vortex (Genie® 2) a cada 30 min, até completa fusão dos constituintes (ABBOTT *et al.*, 2003). Uma vez formado, o DES permaneceu líquido e translúcido mesmo após retornar a temperatura ambiente. A ele foram adicionados 6% (m/v) de água destilada, a fim de diminuir sua viscosidade.

4.4 Remoção de lignina

Para a remoção de lignina seguiu-se uma metodologia desenvolvida e otimizada anteriormente pelo grupo de pesquisa utilizando o DES. Em um erlenmeyer de vidro de 125 mL foram adicionados 30 mL do DES e 3 g de biomassa, coberto com folhas de alumínio. A mistura foi levada a autoclave (Phoenix Luferco[®]) e mantida por 2 h à temperatura de 120 °C e pressão de 1 kgf/cm². Após resfriamento, o material foi filtrado em tela de polietileno, resultando em duas frações, uma líquida e uma sólida. A lignina contida na fase líquida foi tratada com ácido até precipitação e depois filtrada em papel de filtro, sendo destinada a experimentos de outro trabalho do grupo de pesquisa. A fração sólida obtida da filtração em tela de polietileno, contendo biomassa parcialmente deslignificada, foi seca em estufa de circulação de ar a 105 °C por 24 horas. O procedimento foi realizado em quadruplicata e todo o material resultante foi reunido em um único recipiente, fornecendo a biomassa deslignificada necessária para todos os ensaios de otimização da hidrólise ácida. Uma parcela dessa amostra, identificada como BD, foi separada para caracterizações quanto a composição lignocelulósica, bem como caracterizações estruturais de grupos funcionais por FTIR e outra foi destinada para otimização do tratamento de hidrólise ácida.

4.5 Otimização da hidrólise ácida

A biomassa cuja lignina fora extraída através de tratamento com DES foi utilizada nos ensaios de otimização da hidrólise ácida. Para isto, Planejamento Composto Central foi a ferramenta quimiométrica escolhida e os fatores foram concentração de ácido sulfúrico e tempo de reação. Em cada ensaio do planejamento foram adicionados $0,5024 \pm 0,018$ g da biomassa a 5 mL de solução de ácido sulfúrico na respectiva concentração em frasco de vidro coberto com tampa de algodão e gaze, sendo autoclavados a 120 °C e 1 kgf cm⁻² pelo respectivo tempo de reação.

Temperatura e pressão foram mantidas fixas ao longo do processo por questões logísticas relacionadas com a dificuldade associadas ao seu controle. Sabe-se que o aumento da temperatura está relacionado com o aumento da velocidade das reações e que em pressões elevadas a capacidade de dissolução aumenta.

A matriz do planejamento é apresentada na **Tabela 2** tendo sido realizados um total de 12 ensaios, sendo 4 pontos fatoriais, 4 pontos axiais e 4 repetições do ponto central.

Tabela 2 - Matriz do planejamento composto central.

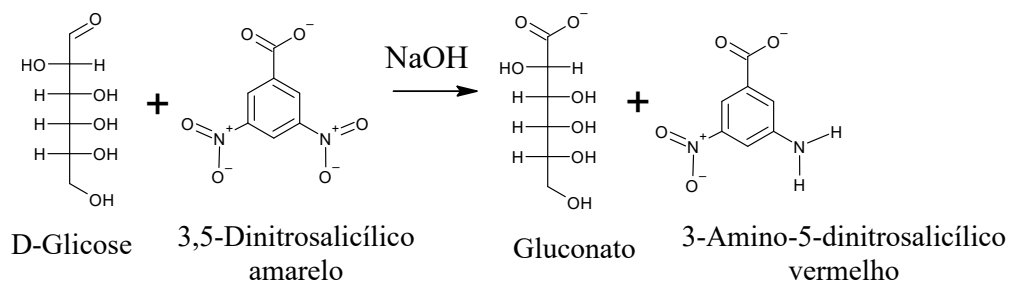
Experimento	Tipo	H ₂ SO ₄ (%)	Tempo (h)
1	Fatorial	1,00	1,00
2	Fatorial	1,00	2,00
3	Fatorial	2,00	1,00
4	Fatorial	2,00	2,00
5	Axial	0,79	1,50
6	Axial	2,21	1,50
7	Axial	1,50	0,79
8	Axial	1,50	2,21
9	Central	1,50	1,50
10	Central	1,50	1,50
11	Central	1,50	1,50
12	Central	1,50	1,50

Após hidrólise, as amostras foram resfriadas e filtradas em tela de polietileno, sendo as frações sólidas restantes descartadas e as frações de líquido hidrolisado (licor) acondicionadas em Tubo Falcon de 15 mL e refrigeradas a -4 °C para posterior análise de açúcares redutores totais, variável de resposta, sendo o objetivo aumentar a concentração de açúcares redutores totais.

4.6 Teor de Açúcares Redutores Totais

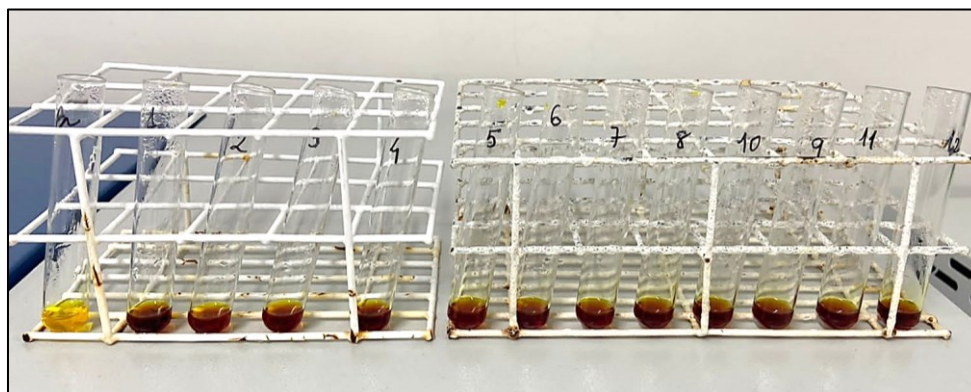
A análise do teor de açúcares redutores totais nos hidrolisados, variável de resposta do Planejamento Experimental Composto Central, foi realizada por espectrofotometria de absorção molecular, através do método do ácido dinitrosalicílico, conforme protocolo descrito no Comunicado Técnico N 85 da EMBRAPA. O método baseia-se na redução do ácido 3,5-dinitrosalicílico a ácido 3-amino-5-nitrosalicílico, causado pelos monossacarídeos, conforme exemplificado na reação presente na **Figura 18**. Ao ser reduzido, o ácido passa da coloração amarela para vermelha. A **Figura 19** ilustra os tubos com os pontos do planejamento experimental após a reação descrita. As leituras da absorbância da radiação de comprimento de onda igual a 540 nm foram feitas em espectrofotômetro UV-Vis (MALDONADE *et al.*, 2013).

Figura 18 - Redução do ácido dinitrosalicílico provocada por glicose.



Fonte: Adaptado de MALDONADE *et al.* (2013).

Figura 19 - Determinação de açúcares dos hidrolisados no planejamento experimental.



4.7 Tratamento de dados

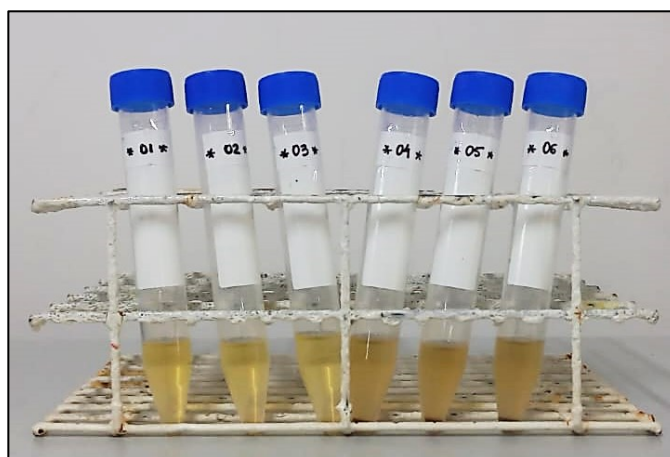
O software Statistica® 10.0 foi utilizado para ajustar um modelo matemático, gerar a superfície de resposta, as coordenadas do ponto ótimo, o gráfico de Pareto e a análise de variância que avaliou a significância estatística do modelo a 95% de confiança. O Teste F foi aplicado através do software Microsoft Excel® 365.

4.8 Reprodução das condições de ponto ótimo do planejamento experimental

A preditividade do modelo matemático proposto a partir das coordenadas geradas no Planejamento Experimental, foi avaliada pela reprodução das condições de hidrólise ácida apontadas como ponto ótimo, para comparar o teor de açúcares redutores totais encontrado no experimento com teor predito pelo modelo. No intuito de estudar o efeito da hidrólise ácida sobre a biomassa *in natura*, BCA sem prévia deslignificação foi submetida às condições de estudo apontadas pelo modelo como ponto ótimo da otimização.

Após filtração em tela de polietileno, os licores hidrolisados obtidos, LDH e LH, visualizados na **Figura 20**, foram reservados para análise discriminatória dos açúcares presentes, e os resíduos sólidos de biomassa obtidos em conjunto (BDH, BH) destinados a determinação da composição lignocelulósica. Ambas as frações foram refrigerados a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises.

Figura 20 - Licores LDH e LH produzidos na hidrólise.



4.10 Composição lignocelulósica das biomassas e de açúcares e inibidores nos licores

Para a determinação da composição lignocelulósica na amostra de biomassa *in natura*, BIN, na amostra de biomassa deslignificada, BD e nas amostras obtidas após hidrólise da biomassa *in natura* (BH) e deslignificada (BDH) foi adotado o protocolo de determinação de carboidratos estruturais e lignina em biomassas da NREL - *National Renewable Energy Laboratory* (SLUITER *et al.*, 2012). O método baseia-se na hidrólise ácida do material, e gera duas fases, uma sólida constituída de lignina, cujo teor é medido gravimetricamente, e uma aquosa, que se destina a determinação cromatográfica dos constituintes que formam celulose e hemicelulose.

Uma massa igual a $0,2917 \pm 0,0167$ g de cada amostra foram acondicionados em Erlenmeyer de 125 mL, em que se adicionou 3,0 mL de H_2SO_4 72% (v,v). As misturas obtidas foram aquecidas em banho-maria a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 1 hora, com agitações periódicas a cada 10 minutos, usando bastão de vidro. Foram então adicionados 84 mL de água deionizada, com agitação cuidadosa. Os Erlenmeyers foram cobertos com folhas de alumínio para serem levados a aquecimento em autoclave a $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 1 kgf/cm^2 durante 1 hora. Após retirados da autoclave, as amostras foram mergulhadas em água fria para arrefecimento. O hidrolisado foi filtrado,

sendo a fração sólida retida no papel de filtro correspondente a lignina Klason presente na amostra. Esta foi lavada com 100,0 mL de água deionizada, seca a 105 °C por 24 horas e pesada, sendo o teor de lignina Klason determinado utilizando a Equação 1.

$$P_l = \frac{s}{m} \cdot 100 \quad \text{Equação 1}$$

Sendo:

P_l (%): percentual de lignina Klason.

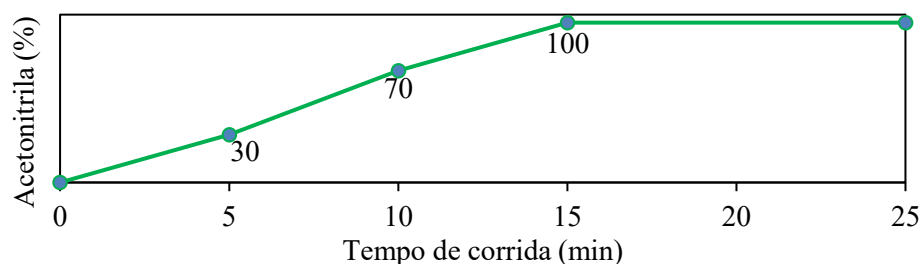
s (g): massa retida no papel de filtro após tratamento com H₂SO₄ 72%.

m (g): massa inicial da amostra (0,3 g) submetida ao tratamento com H₂SO₄ 72%.

As fases aquosas obtidas para cada amostra foram acondicionadas em tubos Eppendorfs e armazenadas em congelador a -4 °C. Para a análise dos carboidratos e ácidos orgânicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), as fases aquosas foram filtrados em membranas de 0,22 µm e então 20 µL de cada uma foi injetada no cromatógrafo, acoplado a um detector UV-Visível. A coluna Shim-Pack SCR-101H (Shimadzu® Co. Japan) foi utilizada para determinação de celobiose, glicose, xilose, arabinose e ácido acético. A análise foi feita de forma isotérmica, a 50 °C, e isocrática, cuja fase móvel foi uma solução de ácido sulfúrico 5 mmol L⁻¹ sob fluxo de 0,6 mL min⁻¹.

CLAE também foi usada para determinação de hidroximetilfurfural e furfural, mantendo o cromatógrafo e o detector, mas desta vez usando a coluna Shim-pack CLC-ODS (Shimadzu® Co. Japan), a 25 °C, com fluxo de 0,6 mL min⁻¹ da fase móvel de ácido acético 1% (v/v) e acetonitrila em gradiente, cuja variação da composição é apresentada na **Figura 21**.

Figura 21 - Gradiente de acetonitrila na fase móvel



Os licores obtidos na reprodução do ponto ótimo da hidrólise ácida foram analisados

segundo os mesmos parâmetros cromatográficos que a biomassa, para a determinação direta da composição de açúcares e inibidores da fermentação presentes. As concentrações dos componentes das amostras foram calculadas a partir das áreas dos picos de cada constituinte obtidos nos cromatogramas e utilizando as equações obtidas na calibração externa feita com os respectivos padrões.

Seguindo o protocolo NREL, os teores de celulose e de hemicelulose foram calculados a partir das concentrações de carboidratos e de ácidos orgânicos presentes após hidrólise com H₂SO₄ 72% (v/v), devidamente corrigidos pelos fatores de conversão apresentados na **Tabela 3** (SLUITER *et al.*, 2012). A Equação 2 foi utilizada para obter a concentração de celulose a partir de celobiose, glicose e hidroximetilfurfural, e a concentração de hemicelulose, somando xilose, arabinose, ácido acético e furfural, para as amostras das biomassas BIN, BD, BDH e BH.

Tabela 3 - Fatores de conversão dos componentes da celulose e da hemicelulose.

Celulose		Hemicelulose	
Componente	Fator de conversão	Componente	Fator de conversão
Celobiose	0,95	Xilose	0,88
Glicose	0,90	Arabinose	0,90
Hidroximetilfurfural	1,20	Ácido acético	0,72
		Furfural	1,37

$$C = \sum_i f_i \cdot C_i$$

Equação 2

Sendo:

C (g mL⁻¹): concentração de celulose ou hemicelulose.

f_i : fator de conversão do componente i .

C_i (g mL⁻¹): concentração do componente i .

As concentrações de celulose e hemicelulose assim calculadas foram usadas para obter o teor percentual em massa de celulose e hemicelulose nas amostras de biomassa através da Equação 3.

$$Pi = \frac{C \cdot v}{m} \cdot 100$$

Equação 3

Sendo:

P_i (%): percentual em massa de celulose ou hemicelulose.

C (g mL⁻¹): concentração de celulose ou hemicelulose.

V (mL): volume final da FA após tratamento com H₂SO₄ 72%.

m (g): massa inicial da amostra (0,3 g) submetida ao tratamento com H₂SO₄ 72%.

4.12 Caracterizações estruturais da biomassa por espectroscopia do infravermelho com transformada de Fourier

As análises de infravermelho foram realizadas em um espectrofotômetro de bancada FTIR de marca Shimadzu®, modelo IRPrestige-21, disponível no Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), campus João Pessoa- PB, através da técnica ATR, na faixa de 4000 a 600 cm⁻¹. Foram caracterizados por este método as amostras de biomassa BIN, BD, BDH e BH.

4.13 Caracterização cristalográfica da biomassa por difração de raios X

As mudanças no grau de cristalinidade das amostras de biomassa BIN, BD, BDH e BH, foram observadas por difração de raios X, através do difratômetro Shimadzu® Lab X/XRD-6000, com potência de 2 kVA, voltagem de 30 kV, corrente de 30 mA e utilizando a radiação K α do cobre como fonte de radiação monocromática. Foram feitas varreduras no intervalo 2 θ entre 10° e 90°, com um passo de 0,02° e velocidade de 1° min⁻¹. Os difratogramas foram gerados utilizando o software Origin® 19 e o índice de cristalinidade foi calculado como a razão percentual da área do pico de celulose cristalina pela área total do difratograma, através da correção de Lorentz, conforme mostrado na Equação 4 (SINDHU *et al.*, 2010; PRAMASARI *et al.*, 2023).

$$Ic = \frac{A_c}{A_c + A_A} \cdot 100 \quad \text{Equação 4}$$

Sendo:

Ic (%): percentual de índice de cristalinidade

A_C : área da região cristalina no difratograma

A_A : área da região amorfa do difratograma

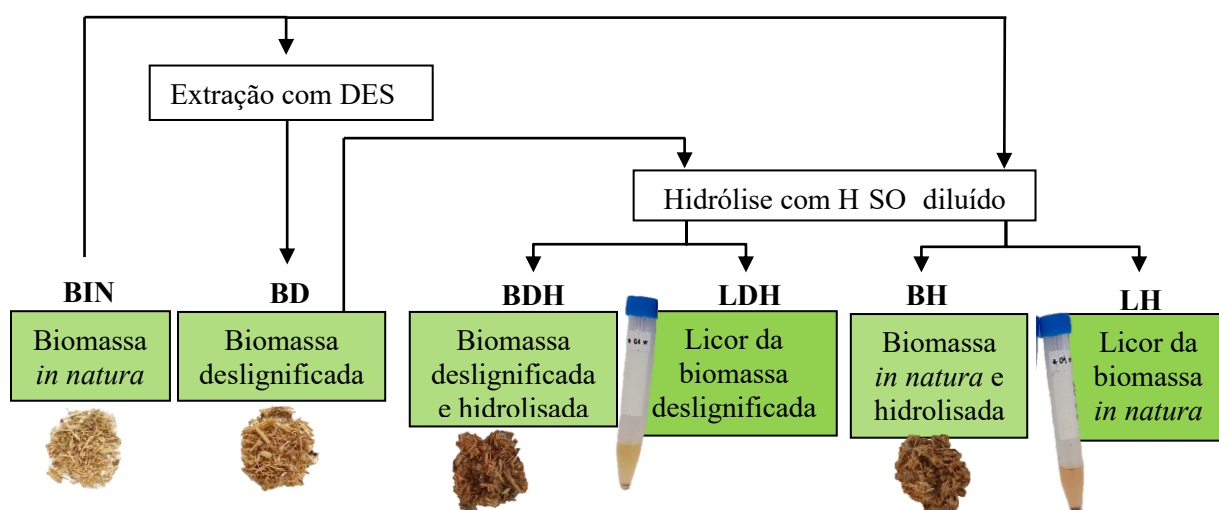
4.14 Identificação das amostras

As amostras de biomassa produzidas ao longo do trabalho foram identificadas como, BIN, BD, BDH e BH e os licores produzidos como LDH e LH, conforme descrição apresentada na **Tabela 4**. Os tratamentos pelas quais cada uma passou são esquematizadas na **Figura 22**.

Tabela 4 - Identificação das amostras de biomassa e licor.

Descrição	Código
Bagaço de cana-de-açúcar seco <i>in natura</i>	BIN
Biomassa deslignificada	BD
Biomassa deslignificada e hidrolisada	BDH
Biomassa hidrolisada	BH
Licor hidrolisado da amostra deslignificada	LDH
Licor hidrolisado da amostra não deslignificada	LH

Figura 22 - Infográfico com identificação dos tratamentos dados a cada amostra.



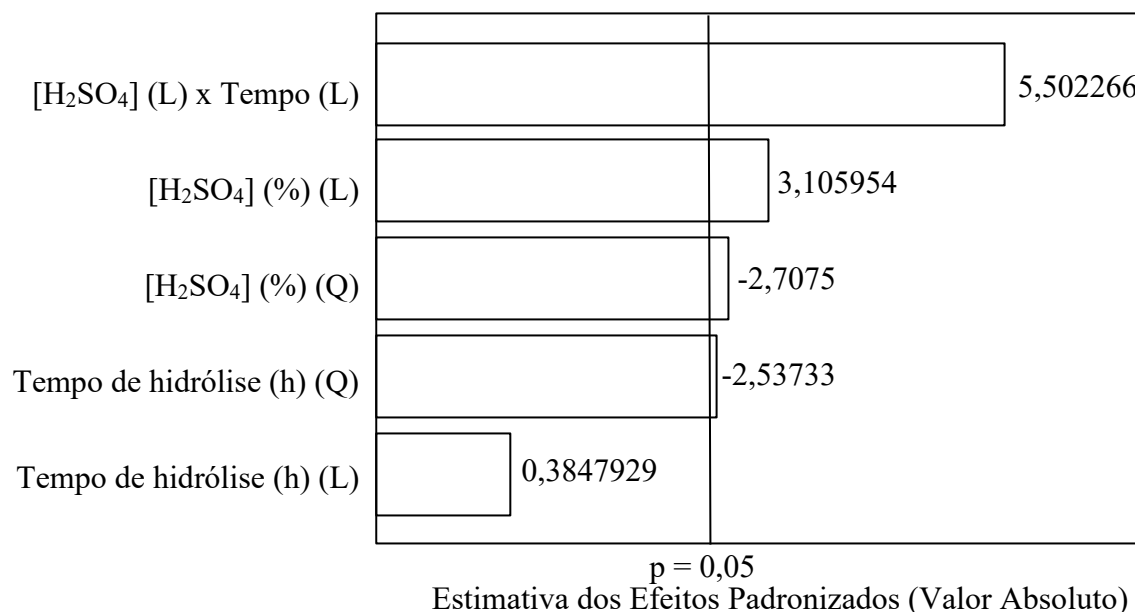
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Otimização da hidrólise ácida

A **Tabela 5** apresenta os teores de açúcares obtidos em cada um dos ensaios do experimento de otimização da hidrólise ácida da biomassa, utilizando Planejamento Experimental Composto Central. Na **Figura 23** é apresentado o Gráfico de Pareto obtido no planejamento, onde se nota que a combinação linear do tempo de hidrólise e da concentração do ácido sulfúrico tem o mais intenso efeito positivo sobre a concentração de açúcares totais. Por gerar coordenadas que admitem elaborar um modelo quadrático, o Planejamento Composto Central permite avaliar os efeitos quadráticos das variáveis isoladas sobre o teor de açúcar e para ambas as variáveis os efeitos foram negativos. Percebe-se que a concentração de ácido sulfúrico tem contribuição dual para a resposta, dado que sua contribuição linear atua aumentando a concentração de açúcares, mas sua contribuição quadrática a diminui. O ácido atua promovendo a reação de hidrólise, com consequência na quebra das ligações glicosídicas nas cadeias poliméricas e liberação dos açúcares que as constituem, aumentando sua concentração no meio. No entanto, o ácido também age promovendo reações de degradação dos açúcares, reduzindo sua disponibilidade no meio.

Tabela 5 - Teores de açúcares do planejamento experimental.

Experimento	H ₂ SO ₄ (%)	Tempo (h)	Açúcares redutores totais (mg g ⁻¹ biomassa)
1	1,00	1,00	289,9
2	1,00	2,00	209,6
3	2,00	1,00	255,7
4	2,00	2,00	318,5
5	0,79	1,50	260,9
6	2,21	1,50	288,8
7	1,50	0,79	265,4
8	1,50	2,21	287,8
9	1,50	1,50	302,4
10	1,50	1,50	281,5
11	1,50	1,50	302,1
12	1,50	1,50	310,1

Figura 23 - Gráfico de Pareto.

Nota-se no gráfico que o efeito da interação dos fatores é maior que os efeitos principais. Fica evidente o sinergismo intrínseco dos fatores tempo e concentração de ácido no sistema de hidrólise feita nas condições experimentadas, com temperatura e pressão mantidas constantes. O efeito da contribuição linear do tempo de hidrólise não foi significativo, com 5% de incerteza, embora tenham sido significativos sua contribuição quadrática e sua contribuição combinada com o ácido.

Canilha, Santos e Rocha (2011) também encontraram a concentração do ácido como o fator que mais influenciou a concentração de açúcares, ao otimizarem otimizaram temperatura, tempo de reação e concentração de ácido sulfúrico na hidrólise ácida do BCA.

O modelo matemático ajustado aos dados experimentais é apresentado na Equação 5. Somente os termos estatisticamente significativos foram apresentados, de modo que a contribuição linear do tempo de hidrólise não é exibida. Para a concentração de ácido o termo linear e o termo quadrático apresentam magnitudes semelhantes, com sinais opostos. Isso é condizente com o esperado, uma vez que o ácido atua tanto na quebra das ligações glicosídicas quanto na degradação das moléculas liberadas, convertendo pentoses e hexoses em furfural e hidroximetilfurfural.

$$AR = 0,299(\pm 0,007) + 0,014(\pm 0,005) \cdot Ac - 0,014(\pm 0,005) \cdot Ac^2 - 0,013(\pm 0,005) \cdot t^2 + 0,036(\pm 0,007) \cdot Ac \cdot t$$

Equação 5

Sendo:

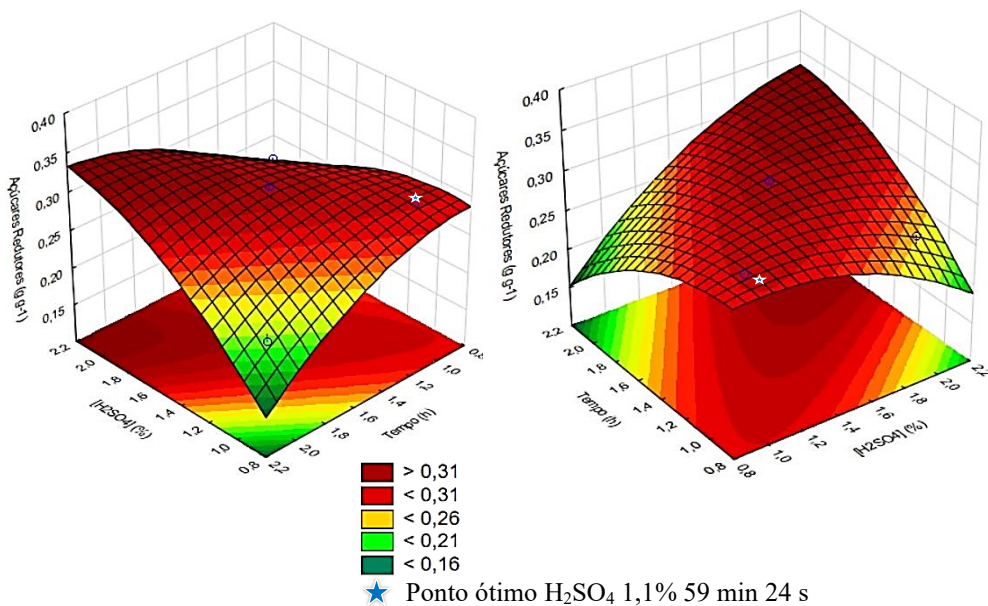
AR ($\text{g g}_{\text{biomassa}}^{-1}$): concentração de açúcares redutores totais

Ac (%): concentração da solução aquosa de ácido sulfúrico

t (h): tempo de hidrólise

Figura 24 a superfície de resposta gerada na otimização através do Planejamento Composto Central é apresentada sob duas perspectivas. Ao percorrer o eixo referente à concentração de ácido, mantendo-se mínima o tempo de hidrólise, percebe-se a diminuição do teor de açúcares totais. O mesmo fenômeno se dá quando se percorre o eixo referente ao tempo de hidrólise mantendo mínima a concentração de ácido, há uma diminuição da concentração de açúcares com o aumento do tempo. É evidente a existência de curvatura na superfície e é na região em vermelho que são encontradas as maiores concentrações de açúcares redutores totais no intervalo estudado. Essa região corresponde à combinação linear de tempo e concentração de ácido sulfúrico e evidencia o sinergismo dos dois fatores à temperatura e pressão constantes. Nota-se ainda a formação de um platô na região em vermelho, onde a taxa de aumento de açúcares em função do aumento nos níveis dos fatores diminui.

Figura 24 - Superfície de resposta vista de dois ângulos



Constam na **Tabela 6**, os resultados da análise de variância realizada para avaliar estatisticamente o modelo quadrático proposto a partir das coordenadas obtidas na otimização.

O coeficiente de correlação (R^2) obtido indica um ajuste de 94% do modelo aos dados experimentais. A razão entre a soma quadrática da regressão e a soma quadrática total revelam que 93,8% da variação nos dados experimentais é corretamente explicada pelo modelo, sendo que 94,8% é a máxima variação explicável. A razão entre as médias quadráticas da regressão e do resíduo (F calculado) encontrada é maior que o valor de $F_{5,6}$ a 95% de confiança, o que resulta no Teste F da Regressão ser maior que 1 e demonstra que o modelo é estatisticamente significativo. Já o valor da razão entre as médias quadráticas da falta de ajuste e do erro puro é menor que o valor de $F_{3,3}$, fazendo com que o Teste F para a falta de ajuste seja menor que 1, revelando que o modelo é capaz de prever o teor de glicose com precisão aceitável na faixa utilizada no experimento.

Tabela 6 - Análise de variância da otimização da hidrólise ácida.

Fontes de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	Teste F
Regressão	0,0091	5	0,0018	4,10
Resíduo	0,0006	6	0,0001	-
Falta de ajuste	0,0005	3	0,0002	0,11
Erro puro	0,0005	3	0,0002	-
Total	0,0097	11	-	-

$$F_{0,95;(5,6)} = 4,39; F_{0,95;(3,3)} = 9,28; R^2 = 0,94$$

O modelo proposto previu no ponto ótimo a obtenção de 280 mg de açúcares redutores totais para cada 1 g de biomassa hidrolisada, nas condições em que se utilizasse ácido sulfúrico a 1,1% (v/v) por um tempo de reação de 59 min 24 s. Ao reproduzir estas condições, foram obtidos 300 ± 38 mg de açúcar para cada 1 g de biomassa utilizada, valor muito próximo ao que fora previsto pelo modelo.

Usando Planejamento Composto Central na otimização da hidrólise assistida por ultrassom de BCA tratado com DES a base de cloreto de colina e glicerol, Sharma *et al.* (2021) obtiveram 312 mg de açúcares para cada 1 g de biomassa empregada, nas condições em que a proporção de biomassa foi de 5,72% (m/v), a amplitude de sonicação de 60% e tempo de 7,79 min. Os autores perceberam o efeito sinérgico positivo da combinação entre o tratamento com DES e a sonicação. O trabalho de mestrado aqui apresentado obteve resultado similar ao reportado na literatura com a vantagem de empregar tecnologias de aquecimento mais difundidas na indústria e, portanto, mais fáceis de implementação.

5.2 Composição lignocelulósica das biomassas

A **Tabela 7** fornece a composição das biomassas. Neste trabalho, a composição do BCA *in natura* (BIN) foi semelhante a encontrada por Huang *et al.* (2022) (37% de celulose, 23,38% de hemicelulose e 24,14% de lignina) e por Sharma *et al.* (2021) (38,6%, 20% e 24,7% respectivamente) para o BCA não tratado. Variações na composição lignocelulósica são esperadas, dado que amostras de origem vegetal de mesma espécie possuem variabilidade natural característica ainda que se trate de subamostras, em virtude de fatores genéticos e das condições a que são expostas durante o crescimento e processamento.

Tabela 7 - Composição lignocelulósica das biomassas.

Composição (%)	BIN	BD	BDH	BH
Celulose	36,13 ± 0,34	33,86 ± 0,39	51,11 ± 0,95	49,20 ± 1,93
Hemicelulose	20,29 ± 0,17	18,74 ± 0,32	8,10 ± 0,08	6,24 ± 0,31
Lignina	22,86 ± 0,43	11,92 ± 0,75	16,12 ± 1,94	23,67 ± 3,57

BIN – *in natura*; BD – deslignificada; BDH – deslignificada e hidrolisada;

BH – *in natura* hidrolisada;

Ao comparar a composição centesimal da amostra BD com a composição centesimal da amostra *in natura*, BIN, nota-se que há um decréscimo no teor de todos os constituintes lignocelulósicos, sendo a quantidade de lignina reduzida a quase metade da que havia originalmente. Fica evidente que o tratamento com DES removeu majoritariamente lignina, embora tenha arrastado também uma pequena parcela de celulose e de hemicelulose, representando uma diminuição de 6,3% e 4,7%, respectivamente, em relação à composição da biomassa original. A lignina removida permanece em solução no extrato eutético e pode facilmente ser separada por precipitação ácida, seguida de filtração.

Alguns trabalhos reportados na Literatura também tiveram sucesso na diminuição da recalcitrância da biomassa utilizando DES, apesar de usarem formas de tratamento de maior consumo energético. É o caso de Huang *et al.* (2022), que utilizaram DES a base de cloreto de colina, polietileno e ácido hidroxietilssulfônico para tratar BCA, sob temperaturas de até 170 °C, obtivendo concentração de celulose final de até 75%, com a hemicelulose e lignina praticamente removidas em sua totalidade. Ao utilizarem temperaturas mais elevadas que as propostas no presente trabalho, os autores não promoveram a separação das frações em etapas sequenciais, o que facilitaria seu aproveitamento.

Novo *et al.* (2011) otimizaram temperatura, tempo e teor de glicerol no tratamento organossolv aplicado ao BCA para melhorar a quantidade residual de lignina, seu teor extraído e a concentração final de celulose, obtendo nas condições ótimas respectivamente 8%, 80% e 80%, valores maiores que os obtidos no presente trabalho. No entanto, o tempo de reação e a temperatura utilizadas também foram superiores, 150 min e 198,3 °C. Do mesmo modo, Varilla-Mazaba *et al.* (2022) removeram 30% mais lignina do BCA do que o presente estudo utilizando DES a base de cloreto de colina e ureia e a 180 °C por 14 h, valores muito superiores aos utilizados no presente trabalho e que evidentemente implicam em maior consumo energético.

As amostras BDH e BH, ambas hidrolisadas em meio ácido, apresentaram maiores teores de celulose, tendo em torno de 40% mais celulose que a biomassa *in natura*. Fica claro pela análise da composição que a fração mais removida na hidrólise foi a hemicelulose, cujas concentrações passaram a ser aproximadamente 60% e 70% menores nas amostras BDH e BH respectivamente, quando comparadas a biomassa *in natura*.

A amostra BDH apresenta teor de lignina maior que a BD, uma vez que a remoção de outros constituintes fez a lignina aumentar em termos percentuais, no entanto, é ainda cerca de 30% menor que o da amostra *in natura*. Fica claro que esta amostra teve a lignina removida na primeira etapa, pela utilização do DES, e a hemicelulose removida na etapa seguinte, que envolveu a hidrólise ácida. Tendo sido os dois constituintes retirados em etapas sequenciais, há possibilidade de aproveitamento de cada uma dessas frações, bem como da biomassa que permaneceu ao final do processo, rica em celulose.

A amostra BH, que passou apenas pela hidrólise, sem prévia deslignificação, teve o teor de lignina aumentado em torno de 4%, quando comparada a biomassa BD (*in natura*), uma vez que apresentou remoção de outros componentes. Tal amostra apresentou aumento no teor de celulose, no entanto, ainda manteve elevada concentração de lignina. Esses dados confirmam que a hemicelulose é mais suscetível ao ataque ácido do que a celulose, tal qual previsto por Malik (*et al.*, 2022).

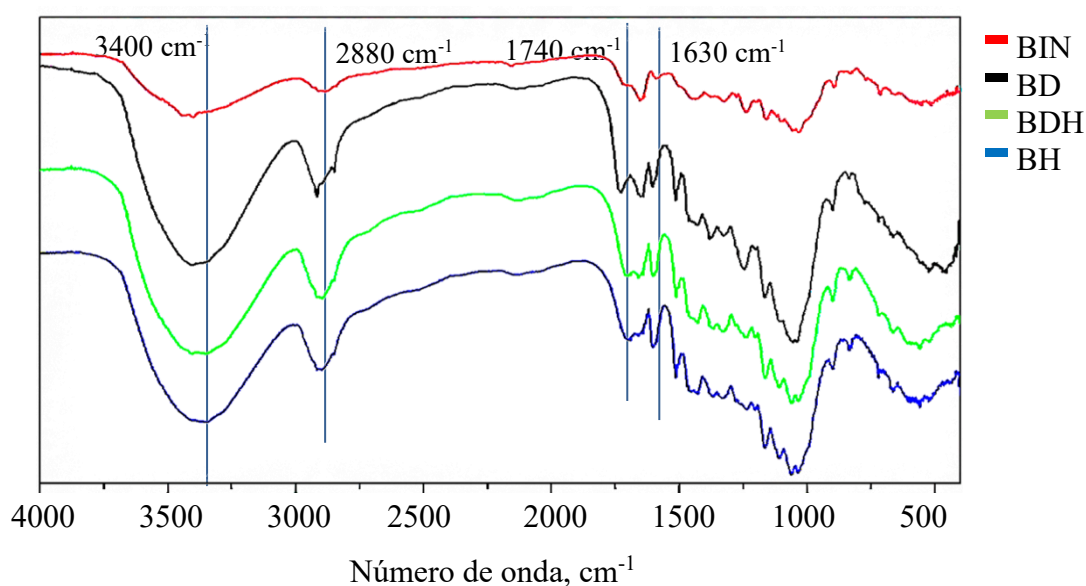
A redução percentual de hemicelulose obtida no presente trabalho foi menor que a encontrada por Canilha, Santos e Rocha. (2011) que ao otimizarem a hidrólise do BCA *in natura*, obtiveram redução de 25,8% para 3,7%. Mais uma vez, temperaturas superiores (150 °C) foram utilizadas e concentração de ácido foi igual a 2,5%. Eles também observaram o aumento do teor de lignina após a hidrólise, que passou de 19,1% para 33,8%. Dado que a lignina é o componente que mais contribui para a recalcitrância do BCA, fica evidente a importância do tratamento com DES para aproveitamento da fração de lignina e viabilizar a

produção de E2G a partir do BCA, possibilitando ainda o aproveitamento da lignina como possível matéria-prima.

5.3 Caracterização das biomassas por espectroscopia do infravermelho com transformada de Fourier

A **Figura 25** fornece os espectros de FTIR das biomassas nos diferentes tratamentos. O aspecto geral de todos mostraram-se similares em relação às bandas presentes, variando apenas em intensidade. A banda larga em torno de 3400 cm^{-1} , que aparece em todos os espectros, tem origem em muitos modos vibracionais, sendo atribuída ao OH livre na água adsorvida, aos estiramentos O-H e às ligações de hidrogênio intramoleculares na celulose. As bandas na região próxima a 2880 cm^{-1} podem corresponder aos estiramentos de ligações C-H de grupos CH, CH₂ e CH₃ e a vibrações simétricas e assimétricas dos grupos CH₂ e CH₂OH da celulose. As bandas próximas à 1740 são atribuídas aos estiramentos de grupos hidroxilas e de grupos cetona C=O. As bandas estreitas existentes entre 1680 e 1650 cm^{-1} , referentes ao estiramento C=O e as próximas a 1630 cm^{-1} , causadas por deformações axiais do grupo C=O, e a vibrações de alongamento C-C do anel benzênico, mais evidentes na biomassa *in natura* (BIN) são atribuídas à lignina (LENGOWSKI *et al.*, 2013; CHANDEL *et al.*, 2014).

Figura 25 - Espectros de FTIR das biomassas.



A região abaixo de 1550 cm^{-1} é conhecida como região de "impressão digital" do

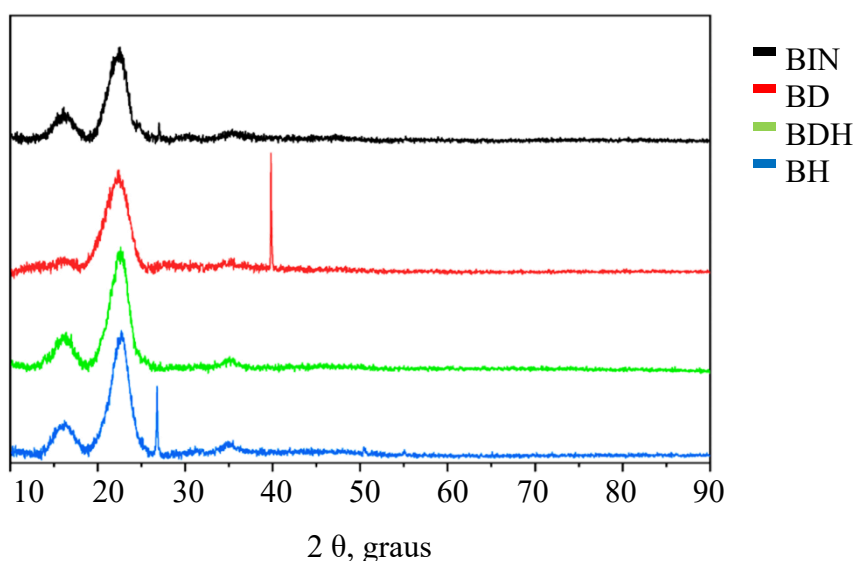
espectro. Ela inclui várias bandas acopladas devido à interação complexa de seus sistemas de vibração, não sendo atribuídas claramente a grupos específicos (SILVA, 2022). No entanto, Lengowski (2013) e Chandel *et al* (2014) reconheceram bandas nessa região e deram as seguintes atribuições:

- 1282 cm^{-1} - deformação C-H;
- 1235 - 1205 cm^{-1} - deformação C-OH no plano;
- 1162 cm^{-1} - vibração assimétrica C-O-C;
- 1120 - 1103 cm^{-1} - estiramentos C-C e C-O assimétricos do anel pirano;
- 1086 cm^{-1} - deformação C-O em álcoois secundários;
- 1060 cm^{-1} - estiramento C-O-C (β -1,4) na celulose e hemicelulose;
- 1047 - 1004 cm^{-1} - vibração de metoxila e da ligação C-O-C (β -1,4);
- 1035 cm^{-1} - deformação CO de álcoois primários e estiramento C=O conjugados;
- 1015 cm^{-1} - vibração ligação C-OH;
- 930 - 925 cm^{-1} - vibrações do anel pirano.

5.4. Caracterização da cristalinidade das biomassas por DRX

Nos difratogramas de raios X das amostras, apresentados na **Figura 26**, os picos largos que aparecem entre $2\theta = 10^\circ$ e $2\theta = 30^\circ$, correspondem à região cristalina e são atribuídos à celulose cristalina.

Figura 26 - Difratogramas de raios X das biomassas.



A área que vai de $2\theta = 30^\circ$ até $2\theta = 90^\circ$ corresponde à região amorfa, atribuídas à

lignina, hemicelulose, mas também à celulose, que apresenta regiões amorfas (PRAMASARI et al., 2023). Os picos estreitos que aparecem próximos a $2\theta = 30^\circ$ nos difratogramas das amostras BIN e BH e em $2\theta = 40^\circ$ no difratograma da amostra BD podem ter se originado de compostos inorgânicos presentes no material.

Conforme se nota na **Tabela 8**, os índices de cristalinidade calculados diferiram entre os tratamentos. O índice de cristalinidade é uma medida empírica da proporção relativa dos componentes cristalinos versus amorfos da biomassa, e não é uma medida da cristalinidade da celulose (PETTI et al., 2013).

Tabela 8 - Índices de cristalinidade das biomassas.

Amostra	Índice de Cristalinidade (%)
BIN	55,26
BD	58,35
BDH	64,12
BH	61,29

Depreende-se que a amostra *in natura* (BIN) apresentou menor índice de cristalinidade, uma vez que dela não foram removidas hemicelulose e lignina, fibras responsáveis pelo caráter amorfo do BCA.

O índice encontrado foi superior ao obtido por Huang et al. (2022), que avaliaram a cristalinidade do BCA e obtiveram apenas 35% de cristalinidade no material não tratado, de composição semelhante à encontrada no presente estudo. Em contraste, Sharma et al. (2021) obtiveram índice de cristalinidade de 65% para o BCA não tratado. Estas diferenças nos índices de cristalinidade podem estar relacionadas com o processamento a que as biomassas foram submetidas na usina ou mesmo às variedades utilizadas, não informadas em seus estudos. Índice de cristalinidade muito semelhante ao do presente estudo foi obtido por Chourasia et al. (2022) para o BCA não tratado, correspondendo a 56,2%.

O tratamento feito com DES a base de cloreto de colina e ureia removeu significativamente lignina do material, o que refletiu num pequeno aumento da cristalinidade da amostra BD. Não foram encontrados trabalhos que calcularam o índice de cristalinidade para BCA tratado com DES a base de cloreto de colina e ureia, mas Chourasia et al. (2022) aplicaram DES produzido com cloreto de colina e ácido láctico e perceberam aumento do índice de cristalinidade de 5 variedades de BCA, que passaram em média de 56,2% para 71,3%, tendo removido 81,6% de lignina. Ao utilizarem essa biomassa tratada na hidrólise enzimática,

obtiveram uma eficiência de recuperação de glicose de 88,2%. No entanto, o tempo de tratamento com DES foi muito superior ao utilizado no presente estudo, correspondendo a 12 h em banho de óleo a 80 °C.

Tratamento com DES a base de cloreto de colina e glicerol foi reportado por Sharma *et al.* (2021). No seu caso, o índice de cristalinidade das biomassas diminuiu de 64,8% para 52,78%. Para eles, o cisalhamento causado à celulose durante as cavitações ultrassônicas utilizadas no experimento foi o principal responsável pelo aumento da desordem na estrutura cristalina da celulose e consequente diminuição da cristalinidade do BCA.

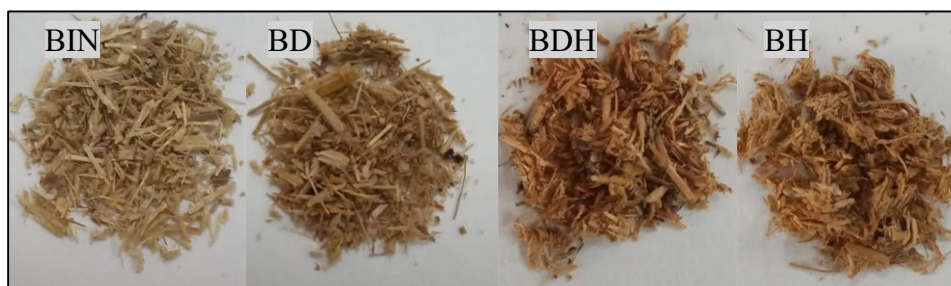
No presente trabalho, a hidrólise ácida foi a maior responsável pelo aumento da cristalinidade, dado que as amostras BDH e BH, tiveram os maiores índices. A justificativa para esse aumento é a remoção da hemicelulose dessas amostras, que fora convertida na xilose presente nos licores produzidos. Uma vez que a hemicelulose é separada das cadeias de celulose e rompe as interações que mantinha com ela, deve haver uma intensificação das ligações de hidrogênio entre as cadeias de celulose e como resultado, o grau de cristalinidade da biomassa hidrolisada aumenta à medida que aumenta a proporção da celulose com suas cadeias cristalinas. A hidrólise contribuiu com uma remoção adicional de lignina, que pode também estar relacionada com o aumento da cristalinidade dos materiais, corroborando com as previsões de Pramasari (*et al.*,2023).

Dentre todas as amostras, BDH é a que apresenta maior cristalinidade. É também a amostra em que mais se removeu lignina e hemicelulose, apresentando a maior concentração de celulose. Em comparação com a hemicelulose amorfa e a lignina, a celulose tem um maior caráter cristalino em sua estrutura devido às maior quantidade e efetividade das fortes forças de Van der Waals e das ligações de hidrogênio. As ligações de hidrogênio na celulose cristalina não são necessariamente fixadas em um único padrão, mas pode ser propensa a flutuações, o que pode levar a mudanças em sua estrutura cristalina (WOHLERT *et al.*, 2022). A amostra BDH passou pela extração de lignina com DES seguida da hidrólise ácida e os resultados condizem com a remoção das fibras amorfas, promovida pela sequência de tratamentos. Há o indicativo de que os tratamentos não foram capazes de diminuir a cristalinidade da celulose, em vez disso a mantiveram preservada.

As fotografias exibidas na **Figura 27** revelam como o aspecto visual das biomassas secas foi alterado pelos tratamentos aplicados. Ao mergulhar em água, percebeu-se que todas as amostras tratadas apresentaram maior intumescimento que a amostra *in natura*. O que pode indicar uma diminuição da hidrofobicidade do material, seja pelo aumento da porosidade ou pela modificação dos grupos funcionais de superfície (não avaliados no presente trabalho) seja

pela diminuição da recalcitrância. As fotografias foram tiradas a mesma distância.

Figura 27 - Fotografias das biomassas produzidas.



5.5 Composição dos licores obtidos na hidrólise

Na análise cromatográfica de carboidratos e ácidos orgânicos dos licores LDH e LH, produzidos na hidrólise com ácido sulfúrico 1,1% (v/v) em autoclave a 120 °C por 59 min 24 s das biomassas deslignificada (BD) e *in natura* (BIN), respectivamente, não foram encontrados celobiose, glicose, arabinose, ácido acético, hidroximetilfurfural ou furfural. O único componente presente identificado foi xilose, nas concentrações de $18,26 \pm 3,14 \text{ g L}^{-1}$ no licor LDH e $18,61 \pm 0,01 \text{ g L}^{-1}$ no licor LH. O tratamento com DES notadamente não interferiu na composição de açúcares obtidas na hidrólise. Esse resultado é coerente com o apresentado na **Tabela 7**, em que se percebeu que o componente mais removido das biomassas BDH e BH foi a hemicelulose, que ao ser hidrolisada forneceu xilose.

A **Tabela 9** apresenta a quantidade de hemicelulose presente em cada uma das biomassas utilizadas na hidrólise que forneceram os respectivos licores. As massas de xilose produzidas são também informadas. Nota-se que houve grande semelhança na eficiência da conversão da hemicelulose, demonstrando que a lignina presente na biomassa *in natura* não atuou atrapalhando sua hidrólise.

Tabela 9 - Eficiência de conversão de hemicelulose em xilose.

Biomassa	Hemicelulose, mg g ⁻¹	Licor	Xilose, mg g ⁻¹	Eficiência, %
BIN	200	LH	186,1	93
BD	190	LDH	182,6	96

Canilha, Santos e Rocha (2011) ao utilizarem ácido sulfúrico 2,5% (v/v) a 150 °C para a hidrólise de BCA *in natura* e obtiveram uma redução percentual de hemicelulose maior que

o presente trabalho, mas a eficiência de conversão em xilose máxima foi de apenas 57%. Embora não tenham informado as concentrações de furfural e ácido acético encontrados no estudo, os autores avaliam que estes e outros produtos de degradação tenham sido formados, tendo em vista que temperaturas elevadas têm forte influência na geração de furfural. O licor produzido por eles precisou passar por desintoxicação antes da fermentação, de modo que obtiveram sucesso na produção de E2G.

Resultados equiparáveis aos obtidos no presente trabalho foram encontrados por Pramasari *et al.* (2023) ao utilizarem ácido oxálico a 2% (m/v) na hidrólise ácida da palha de cana-de-açúcar em autoclave a 120 °C, obtendo a concentração de xilose de 14,6 g L⁻¹. Procederam então com um segundo tratamento sobre o material resultante da primeira hidrólise em digestor de micro-ondas a 180 °C por 7,5 min, gerando 35,2 g L⁻¹ de xilose. Produtos de degradação inibidores da fermentação foram gerados nas duas etapas de seu trabalho e o aumento obtido na segunda etapa foi acompanhado de elevação na concentração de inibidores da fermentação, que nas condições mencionadas chegaram a aproximadamente 1,4 g L⁻¹ de ácido fórmico, 3,5 g L⁻¹ de ácido acético, 2,2 g L⁻¹ de furfural e 2,8 g L⁻¹ de hidroximetilfurfural. Mesmo assim, conseguiram fermentar o hidrolisado produzido utilizando a levedura *Meyerozyma caribbica* InaCC Y67, resultando em 6,49 g L⁻¹ de xilitol. Ao estudarem a influência do tempo e temperatura adotadas na segunda etapa, concluíram que para ambos, seu incremento resulta no aumento da produção dos inibidores da fermentação mencionados.

Ao hidrolisar enzimaticamente o BCA obtido após tratamento com ácido xilônico a 1% (m/v) em temperaturas superiores a 180 °C, ZHU *et al.* (2023) produziram licor rico em xilose, com rendimento de 178 mg de xilose para cada 1 g de biomassa. No entanto, em todos os seus ensaios, ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural foram produzidos, e sua concentração se elevou tanto mais quanto se aumentou temperatura e tempo reacionais. Uma pequena quantidade de glicose e arabinose também foram liberadas.

Risanto *et al.* (2023) obtiveram um licor de xilose a 14,69 g L⁻¹ ao hidrolisar a biomassa com ácido maleico 1%. Além da xilose, obtiveram alguma glicose, que acreditam ter origem na quebra da hemicelulose e das regiões amorfas da celulose. Ácido maléico 1% (m/v) teve resultados equiparáveis ao ácido sulfúrico 1% (v/v), quando submetidos às mesmas condições, no entanto apresentou menor produção de furfural e hidroximetilfurfural. No tratamento hidrotérmico do BCA, Dias *et al.* (2022) obtiveram 32% do BCA convertido em xilo-oligossacarídeos. Nesse ponto, furfural e ácido fórmico representaram 1,3% e 4,1%, respectivamente.

Sharma *et al.* (2021) avaliaram o tratamento com DES de diferentes composições, incluindo um DES formado de cloreto de colina e ureia. Ao aplicarem sacarificação enzimática nos produtos desse tratamento, obtiveram teor de açúcares totais igual a 150 mg para cada 1 g de biomassa. O tratamento foi realizado com 0,3 g de BCA, 10 g de DES a 121°C por 15 min. O tempo reduzido pode explicar a baixa concentração de açúcares encontrada. Por terem encontrado resultados maiores na utilização de DES a base de cloreto de colina e glicerol, o utilizaram na otimização conjunta com a aplicação de ultrassom (tomando biomassa a 5,72%, amplitude de ultrassom em 60% por 7,79 min) e obtiveram na hidrólise 312 mg de açúcares totais a cada 1 g de biomassa. Os autores não mencionam a análise de inibidores da fermentação, mas tendo aplicado à fermentação com *S. cerevisiae* e *P. stipitis* obtiveram 89,39 g de etanol para cada 1 g de açúcar presente.

Thunfclin, Sittijunda e Reungsang (2018) utilizaram explosão a vapor, método mais empregado na biorrefinaria em escala industrial, para tratar o BCA. O tratamento foi aplicado após hidrólise usando ácido sulfúrico 0,5% (v/v) que durou 2 h. A explosão a vapor foi feita a 195 °C, 1400 kPa durante 1,5 min e a concentração de xilose obtida foi de 90 mg para cada 1 g de BCA utilizado, mas apresentando em conjunto ácido acético e furfural, além de glicose e arabinose.

Os resultados do estudo aqui apresentado mostram que a utilização de DES para remover lignina combinada com a hidrólise utilizando ácido sulfúrico 1,1% (v/v) em autoclave a 120 °C por 59 min 24 s, fornece um licor hidrolisado rico em xilose. Com o destaque para a ausência de inibidores da fermentação (ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural) no licor obtido, fato atribuído à combinação de tratamentos usando DES e ácido diluído na extração de lignina e hidrólise, respectivamente. A ausência de glicose, celobiose e hidroximetilfurfural nos licores aponta que nenhuma celulose fora removida na hidrólise, o que condiz com o aumento de sua proporção e com o aumento da cristalinidade nas biomassas resultantes após a o processo (BDH e BH).

5.6 Aplicações das frações obtidas

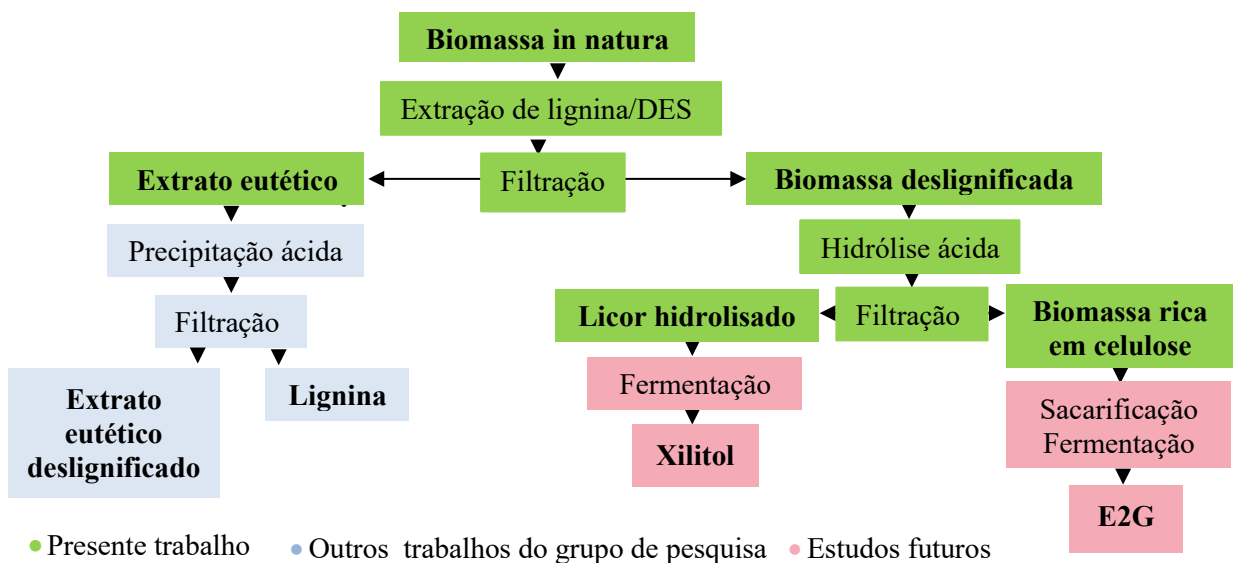
O licor produzido no trabalho pode fornecer xilitol, modificando a xilose por processos químicos ou bioquímicos. Xilose pode também ser convertida em etanol por fermentação com cepas apropriadas e fazer aumentar a conversão da biomassa vegetal em álcool (PEREIRA *et al.*, 2020; MALIK *et al.*, 2022). Carpio *et al.* (2022) usaram ferramentas de engenharia de sistemas de processos para avaliar os aspectos técnicos e econômicos de uma usina de etanol

de segunda geração anexa a uma destilaria autônoma padrão já existente. Concluíram que as configurações que exploram o licor de xilose para produzir etanol adicional via fermentação de xiloses atingem os maiores valores de produção de etanol, permitindo aumentar o rendimento de BCA para etanol em aproximadamente 27%, mas consideraram que o processo é inviável do ponto de vista econômico no atual estágio tecnológico.

Tendo sido discutidas as perspectivas para os avanços na eletromobilidade e tendo em vista o valor comercial do xilitol e os benefícios do consumo dele como edulcorante sobre o uso de sacarose, é possível destacar a vantagem da conversão em xilitol. É necessário, no entanto, uma avaliação técnica e econômica mais acurada dos processos de formação dos dois produtos a fim de elucidar totalmente a questão.

O fluxograma na **Figura 28** fornece uma proposta de processo de biorrefinaria, para fracionamento do BCA e aproveitamento de lignina, xilose e celulose baseada nos resultados encontrados no presente trabalho. No fluxograma são destacados em caixas verdes as etapas realizadas e as frações obtidas, deixando em caixas brancas as etapas sugeridas para seu aproveitamento, que não foram ainda executadas. Partindo-se da biomassa, sugere-se efetuar tratamento com o DES. Nesse ponto a lignina é transferida para o DES, sendo separada da biomassa deslignificada por filtração para, em seguida, ser precipitada pela acidificação do meio. Uma nova filtração é suficiente para separar a lignina precipitada do extrato eutético deslignificado, que ainda poderá conter componentes de hemicelulose e celulose.

Figura 28 - Proposta de etapas para o processo de biorrefinaria.



Já o resíduo sólido final deslignificado obtido após separação do licor é rico em celulose,

carboidrato constituído glicose, que ao passar por processo de sacarificação e fermentação, pode produzir etanol de 2^a geração.

No processo sugerido fica evidente que do BCA podem ser gerados diferentes insumos comercializáveis: etanol, xilose ou xilitol e lignina. Por fim, o extrato eutético deslignificado conterà parte dos extraíveis da biomassa, especialmente aqueles solúveis em solventes polares. Tais extraíveis podem incluir ácidos graxos de cadeias pequenas, fenóis, taninos e compostos nitrogenados, no entanto, estes não foram identificados no presente trabalho.

Apesar da simplicidade dos equipamentos e materiais utilizados, dificuldades de aplicação em uma planta industrial podem advir do fato de o DES ainda não ser produzida em larga escala comercialmente. No entanto, dada a grande disponibilidade de seus precursores e a facilidade de produção, esta barreira pode prontamente ser superada. Há também a necessidade de cuidado com o ataque do ácido às superfícies dos equipamentos em que se fará a hidrólise (LIU *et al.*, 2022).

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho, dois processos foram combinados sequencialmente para o fracionamento do bagaço de cana-de-açúcar. O primeiro foi a extração da lignina utilizando DES e o segundo a hidrólise usando ácido diluído.

A produção de DES a base de cloreto de colina e ureia foi bem-sucedida, gerando uma mistura homogênea líquida que se mostrou adequada para a utilização como solvente na extração de lignina, tendo sido extraída quase metade da lignina presente no BCA.

A hidrólise ácida do BCA deslignificado foi otimizada através de Planejamento Composto Central, sendo o ponto ótimo encontrado ao se utilizar ácido sulfúrico a 1,1% (v/v) durante 59min 24s. O resultado foi a quebra das cadeias da hemicelulose e a sua conversão em um licor com 18,6 g L⁻¹ de xilose e isento dos inibidores de fermentação, que poderá ser posteriormente convertido em xilitol por hidrogenação química ou bioquímica.

A hidrólise enriqueceu o teor de celulose do BCA, que passou de 36% para 51% e diminui sua recalcitrância, já que as concentrações de lignina e hemicelulose foram reduzidas a 8% e 16%, respectivamente. Nessas condições, a celulose presente na biomassa se torna acessível à hidrólise ácida ou enzimática e terá a sacarificação e fermentação viabilizadas. O procedimento adotado, no entanto, foi capaz de preservar a estrutura cristalina da celulose, uma vez que os dados de DRX apontam que a cristalinidade do bagaço aumentou entre os tratamentos, o que pode ser atribuído à remoção dos polímeros responsáveis pelo caráter amorfo.

A análise composicional das biomassas revelou que o tratamento com DES foi seletivo para extração de lignina, enquanto a hidrólise removeu principalmente hemicelulose do material. A amostra que passou pelos dois processos sequenciais resultou em um material com teores de lignina e hemicelulose reduzidos, enquanto a que passou apenas pela hidrólise permaneceu com teor de lignina similar à do material *in natura*.

Por fim se propôs um fluxograma de processamento, visando o aproveitamento de cada uma das frações. Os ensaios em escala laboratorial realizados no presente trabalho foram utilizados para abertura de processo de depósito de patente junto a Agência UFPB de Inovação Tecnológica, que tramita entre os setores da Universidade até ser registrada no INPI, com estimativa de nível de maturação tecnológica (*Technology Readiness Level*) entre TRL 3 e 4.

Estudos futuros devem ser feitos a fim de avaliar as melhores condições de hidrogenação da xilose presente no licor e de sacarificação e fermentação da biomassa rica em celulose, produzidos no presente trabalho. Também deve ser analisada a composição do extrato eutéctico deslignificado, a fim de estudar a sua reciclagem e aplicações dos possíveis extraíveis que forem identificados.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, A. P.; CAPPER, G.; DAVIES, D. L.; RASHEEDA, R. K.; TAMBYRAJAH, V. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. **Chemical Communications**. v. 1, p. 70-71, 2003.
- ABOOT, A. P.; BOOTHBY, D.; CAPPER, G.; DAVIES, D. L.; RASHEED, R. K. Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: versatile alternatives to ionic liquids. **Journal American Chemical Society**, v. 126, p. 9142-9147, 2004.
- ANEEL. Superintendência de Concessões e Autorizações de Geração. **Matriz elétrica brasileira**. Brasília, 2023. Disponível em: <<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrljoiNjc4OGYyYjQtYWZmM2ZC00YjllLWJlYmEtYzdkNTQ1MTc1NjM2IiwidCI6IjQwZDZmOWI4LWVjYTctNDZhMi05MmQ0LWVhNGU5YzAxNzBlMSIsImMiOiR9>>. Acesso em: 8 mar 2023.
- BARIANI, M.; CEBREIROS, F.; GUIGOU, M.; CABRERA, M. N. Integrated production of furfural and second-generation bioethanol from Eucalyptus wood residues: experimental results and process simulation. **Wood Science and Technology**, v.56, p.1149–1173, 2022.
- BEZERRA, F. S.; COSTA, D. C. F.; KOBLITZ, M. G. B. Aproveitamento integral de matérias-primas oleaginosas com “solventes verdes”: revisão e oportunidades. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, 2020.
- BIZZI, C. A.; SANTOS, D.; SIEBEN, T. C.; MOTTA, C. V.; MELLO, P. M.; FLORES, E. M. M. Furfural production from lignocellulosic biomass by ultrasound-assisted acid

hydrolysis. **Ultrasonics – Sonochemistry**, n. 51, p. 332-339, 2019.

CANILHA, L., SANTOS, V.T.O., ROCHA, G.J.M. A study on the pretreatment of a sugarcane bagasse sample with dilute sulfuric acid. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, n. 38, p. 1467–1475, 2011.

CARPIO, R.R.; SECCHI, S.G.; BARROS, R.O.; OLIVEIRA, R.A.; QUEIROZ, S.; TEIXEIRA, R.S.S.; BON, E.P.S.; SECCHI, A.R. Techno-economic evaluation of second-generation ethanol from sugarcane bagasse: commercial versus on-site produced enzymes and use of the xylose liquor. **Journal of Cleaner Production**, n. 369, 2022.

CHANDEL, A. K.; ANTUNES, F. A. F.; ANJOS, V.; BELL, M. J. V.; RODRIGUES, L. N.; POLIKARPOV, I.; DE AZEVEDO, E. R.; BERNARDINELLI, O. D; ROSA, C. A.; PAGNOCCA, F. C.; DA SILVA, S. S. Multi-scale structural and chemical analysis of sugarcane bagasse in the process of sequential acid-base pretreatment and ethanol production by *Scheffersomyces shehatae* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology for Biofuels**, v. 7, p. 63, 2014.

CHOURASIA, V. R.; PANDEY, A.; PANT, K. K.; HENRY, R. Improving enzymatic digestibility of sugarcane bagasse from different varieties of sugarcane using deep eutectic solvent pretreatment. **Bioresource Technology**, V. 337, 2021.

COGEN. **Associação da Indústria de Cogeração de Energia**. Evolução da capacidade instalada de biomassas. São Paulo, 2022. Disponível em: <<https://www.cogen.com.br/cogeracao/cogeracao-no-brasil/biomassa>> Acesso em: 30 dez 2022.

DIESTRA, K.K.V.; VANDENBERGHE, L. P. S.; SOCCOL, C. R. A biorefinery approach for pectin extraction and second-generation bioethanol production from cocoa pod husk. **Bioresource Technology**, v. 346, 2022.

DIONÍSIO, S.R.; SANTORO, D.C.J.; BONAN, C.I.D.G.; SOARES, L.B.; BIAZI, L.E.; RABELO, S.C.; IENCZAK, J. L. Second-generation ethanol process for integral use of hemicellulosic and cellulosic hydrolysates from diluted sulfuric acid pretreatment of sugarcane bagasse. **Fuel**, n. 324, 2021.

DUTTA, S.; DE, S.; ALAM, I.; ABU-OMAR, M.M.; SAHA, B. Direct conversion of cellulose and lignocellulosic biomass into chemicals and biofuel with metal chloride catalysts. **Journal of Catalysis**, v. 288, p. 8-15, 2010.

FERNANDES, E. S.; BUENO, D.; PAGNOCCA, F.C.; BRIENZO, M. Minor biomass particle size for an efficient cellulose accessibility and enzymatic hydrolysis. **Chemistry Select**, v. 5, p. 7627–7631, 2020.

HAN, X.; ZHANG, X.; DAI, T.; XIE, J.; ZHANG, H. Enhancing the co-production of sugars from sugarcane bagasse via CuCl₂-catalyzed organosolv pretreatment and additives. **Fuel**, v. 241, 2023.

JESUS, L. F. M.; FERREIRA L. A.; DECHANDT, C. R. P. Degradação lignocelulósica por hidrólise enzimática visando a produção de etanol. **Revista Técnico-Científica do IFSC**, v. 2, n. 7, 2018.

- KUMAR, B.; BHARDWAJ, N.; AGRAWAL, K.; CHATURVEDI, V.; VERMA, P. Current perspective on pretreatment technologies using lignocellulosic biomass: an emerging biorefinery concept. **Fuel Processing Technology**, n. 199, 2020.
- LENGOWSKI, E. C.; MUNIZ, G. I. B.; NISGOSKI, S.; MAGALHAES, W. L. E. Avaliação de métodos de obtenção de celulose com diferentes graus de cristalinidade. **Scientia Forestalis (IPEF)**, v. 41, p. 185-194, 2013.
- LIMA, D. R. S.; PARANHOS, A. G. O.; ADARME, O. F. H.; BAÊTA, B. E. L.; GURGEL, L. V. A.; SANTOS, A. S.; SILVA, S. Q.; AQUINO, S. F. Integrated production of second-generation ethanol and biogas from sugarcane bagasse pretreated with ozone. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 12, p. 809–825, 2022.
- LIU, B.; LIU, L.; DENG, B.; HUANG, C.; ZHU, J.; LIANG, L.; HE, X.; WEI, Y.; QIN, C.; LIANG, C.; LIU, S.; YAO, S. Application and prospect of organic acid pretreatment in lignocellulosic biomass separation: a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 222, p. 1400-1413, 2022.
- LORENZI, B. R.; ANDRADE, T. N. O etanol de segunda geração no Brasil: políticas e redes sociotécnicas. **Revista Brasileira de Ciências Sociais**, v. 34, n. 100, p. 1-32, 2019.
- MALDONADE, I. R.; CARVALHO, P. G. B.; FERREIRA N. A. Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS. Comunicado técnico n 85. **Embrapa**, 2013.
- MARIN, F. R. Cana: variedades. **Embrapa**, 2022. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/pre-producao/caracteristicas/variedades>> Acesso em: 24 jan 2023.
- MARTINS, J. R.; SCHMATZ, A. A; SALAZAR-BRYAN, A. M.; BRIENZO, M. Effect of Dilute Acid Pretreatment on the Sugarcane Leaf for Fermentable Sugars Production. **Sugar Tech**, v. 24, p. 1540–1550, 2022.
- MARTINS, R, V. Etanol de beterraba. **Revista Intraciência**, n. 10, 2015.
- MATEUS, N. B.; BARBIN, D.; CONAGIN, A. Viabilidade de uso do delineamento composto central. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 6, p. 1507 - 1546, 2001.
- MEDRONHO, B.; ROMANO, A.; MIGUEL, A. G.; STIGSSON, L.; LINDMAN, B. Rationalizing cellulose (in)solubility: reviewing basic physicochemical aspects and role of hydrophobic interactions. **Cellulose**, n. 19, p. 581–587, 2012.
- MELATI, R. B.; SHIMIZU, F. L.; OLIVEIRA, G.; PAGNOCCA, F. C.; SOUZA, W.; SANT'ANNA, C. key factors affecting the recalcitrance and conversion process of biomass. **BioEnergy Research**, n.12, p. 1-20, 2019.
- MINAMI, A.; KANG, X.; CARTER, C. J. A cell wall invertase controls nectar volume and sugar composition. **The Plant Journal**, n. 107, p. 1016-1028, 2021.
- MOSCOVIZ, R.; TRABLY, E.; BERNET, N.; CARRÈNE, H. The environmental biorefinery: state-of-the-art on the production of hydrogen and value-added biomolecules in mixed-culture fermentation. **Green Chemistry**, n.14, 2018.

MOREIRA, J. R.; ROMEIRO, V.; FUSS, S.; KRAXNER, F.; PACCA, S. A. BECCS potential in Brazil: Achieving negative emissions in ethanol and electricity production based on sugar cane bagasse and other residues. **Applied Energy**, n 179, p. 55-63, 2016.

BARROS NETO, B. B.; SCARMINIO, I. D.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 2. Ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2001.

NOVO, L. P.; GURGEL, L.V. A. MARABEZI, K. CURVELO, A. A. S. Delignification of sugarcane bagasse using glycerol–water mixtures to produce pulps for saccharification. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 21, p. 10040-10046, 2011.

PALACIOS-BERECHE, M.C.; PALACIOS-BERECHE, R.; ENSINAS A.V.; GALLEGO A. G.; MODESTO, M.; NEBRA, S.A. Brazilian sugar cane industry – A survey on future improvements in the process energy management. **Energy**, v. 259, 2022.

PEREIRA, T. N.; AGUIAR, A. A.; GERRE, E. B. Obtenção biotecnológica de xilitol a partir da casca de mandioca (*Manihot esculenta*). **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, n. 3, v. 8, p.187-191, 2020.

PETTI, C., A.; SHEARER, A.; TATENO, M.; RUWAYA, M.; NOKES, P.; BRUTNELL, T.; DEBOLT, S. Comparative feedstock analysis in *Setaria viridis* L. as a model for C4 bioenergy grasses and panicoid crop species. **Frontiers in Plant Science**., v. 4, 2013.

PRAMASARI, D. A.; OKTAVIANIM.; THONTOWIA.; PURNAWANA.; ERMAWARR. A.; SONDARI D.; NINGRUM, R. S.; LAKSANA, R. P. D.; LIANAWATI, A.; FAHREZI, M. Z. M.; SALSABILA, Q.; HERMIATI, E. The use of hemicellulose acid hydrolysate for hydrolysis of sugarcane trash and its fermentation for producing xylitol. **Industrial Crops & Products**, n. 193, 2023.

RAMESH, P.; SELVAN, V. A. M.; BABU, D. Selection of sustainable lignocellulose biomass for second-generation bioethanol production for automobile vehicles using lifecycle indicators through fuzzy hybrid PyMCDM approach. **Fuel**, v. 322, 2022.

RAY, R; RAMACHANDRAN, S. **Bioethanol production from food crops: sustainable sources, interventions, and challenges**. 1 ed. Londres: Academic Press, 2018.

REZANIA, S.; ORYANI, B.; CHO, J.; TALAIEKHOZANI, A.; SABBAGH, F.; HASHEMI, B.; RUPANI, P. F. MOHAMMADI, A. A. Different pretreatment technologies of lignocellulosic biomass for bioethanol production: an overview. **Energy**, n. 199, 2020.

RFA. **Renewable Fuels Association**. Markets & Statistics Annual Ethanol Production. U. S. & World ethanol production. Disponível em: <<https://ethanolrfa.org/statistics/annual-ethanol-production/>> Acesso em: 02 jan 2023.

RIDESA. **Rede Interuniversitária do Setor Sucroalcooleiro**. Catálogo nacional de variedades “RB” de cana-de-açúcar. Curitiba: 2010.

RÍO, J.C.; LINO, A. G.; COLODETTE, J. L.; LIMA, C. F.; GUTIÉRREZ, A.; MARTÍNEZ, A. T.; LU, F.; RALPH, J.; RENCORET, J. Differences in the chemical structure of the lignins from sugarcane bagasse and straw. **Biomass and Bioenergy**. n.81, p. 322-338, 2015.

RISANTO, L.; TRIYONO, D.; ADIA, N.; FAJRIUTAMI, T.; TERAMURA, H.; FATRIASARI, W.; HERMIATI, E.; KAHAR, P.; KONDO, A.; OGINO, C.; Pretreatment with dilute maleic acid enhances the enzymatic digestibility of sugarcane bagasse and oil palm empty fruit bunch fiber. **Bioresource Technology**, v. 369, 2023.

RUBIN, E. M. Genomics of cellulosic biofuels. **Nature**, v. 454, p. 841-845, 2008.

SALAFIA, F.; FERRACANE, A.; TROPEA, A. Pineapple Waste Cell Wall Sugar Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for Second Generation Bioethanol Production. **Fermentation**, v. 20 n. 3, 2022.

SANTOS, F. A.; QUEIRÓZ, J. H.; COLODETTE, J. L.; FERNANDES, S. A.; GUIMARÃES V. M.; REZENDE, S. T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 1004-1010, 2012.

SCHMATZ, A. A.; TYHODA, L.; BRIENZO, M. Sugarcane biomass conversion influenced by lignin. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 14, p. 469–480, 2020.

SHANGDIAR, S.; LIN, Y.; PONNUSAMY, V. K. Pretreatment of lignocellulosic biomass from sugar bagasse under microwave assisted dilute acid hydrolysis for biobutanol production. **Bioresource Technology**, 2022.

SHARMA, V. PARUSHI, V. S.; SHARMA, S.; BAJAJ, B. K. Efficacy and functional mechanisms of a novel combinatorial pretreatment approach based on deep eutectic solvent and ultrasonic waves for bioconversion of sugarcane. **Renewable Energy**, v. 163, p. 1910-1922, 2021.

SILVA, C. **Bagaço de cana-de-açúcar combinado com sais de ferro: novos adsorventes com potencial para emprego na adsorção de corante**. São Paulo: Editora Dialética, 2022.

SINDHU, R.; BINOD, P.; SATYANAGALAKSHMI, K.; JANU, K.U., SAJNA, K.V.; KURIEN, N.; SUKUMARAN, R.K.; PANDEY, A. Formic acid as a potential pretreatment agent for the conversion of sugarcane bagasse to bioethanol. **Appl. Biochem. Biotechnol**, n. 162, p. 2313-2323, 2010.

SLAVÍČ, M. S.; MARGETIC, A.; DOJNOV, B.; VUJCIC, M.; MISIC, M.; BOZIC, N.; VUJCIC, Z. Modified simultaneous saccharification and fermentation for the production of bioethanol from highly concentrated raw corn starch. **Fuel**, v. 338, 2023.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; CROCKER D. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. **Laboratory analytical procedure**, v. 1617, n. 1, p. 1-16, 2012.

SOARES, M. Variedades de cana-de-açúcar da Ufal têm alta produtividade agrícola. 2021. Disponível em: <<https://ufal.br/ufal/noticias/2021/7/variedades-de-cana-de-acucar-da-ufal-tem-alta-produtividade-agricola>> Acesso em: 24 jan 2023.

SOUTO, F.; CALADO, V.; PEREIRA JR., N. Fibras de carbono a partir de lingina: uma revisão de literatura. **Revista Matéria**, v. 20, n. 1, 2015.

SOUZA, C. C.; CARNEIRO JK, J. B. A.; CRISTALDO, M. F.; CASTELÃO, R. A.; FRAINER, D. M.; VIGANÓ, H. H. G. Previsão de produção de cana-de-açúcar e seus

derivados, através de ARIMA, no período de 2020 a 2025, na macrorregião Centro-Sul do Brasil. **Research, Society and Development**. v. 11, n. 4, 2022.

THOMAS, A. L. Desenvolvimento da planta de cana-de-açúcar. In: _____ . (org.). **Desenvolvimento das plantas de Batata, Mandioca, Fumo e Cana-de-açúcar**. 1ed. Porto Alegre, RS: UFRGS, 2016, v. 1, p. 55-75.

THUNFKLIN, P.; SITTIJUNDA, S.; REUNGSANG, A. Sequential fermentation of hydrogen and methane from steam-exploded sugarcane bagasse hydrolysate. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 43, n. 21, p. 9924-9934, 2018.

TOLEDANO, A.; SERRANO, L.; LABIDI, J. Extraction and revalorization of olive tree (*Olea europea*) pruning lignin. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 44, n. 4, p. 552-559, 2013.

TSE, T. J.; WIENS, D.; REANEY, M. J. T. Production of bioethanol - a review of Factors affecting ethanol yield. **Fermentation**, v. 7, n. 4, p. 268, 2021.

ULLAH, A.; ZHANG, Y.; LIU, P.; QIAO, Q.; SHAO, Q.; SHI, J. Process intensification strategies for green solvent mediated biomass pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 369, 2023.

UNICA. Painel dinâmico de exportações e importações. **Observatório da Cana**. Disponível em <https://observatoriodacana.com.br/>. Acesso em: 30 dez. 2022.

VARGAS, F.; DOMÍNGUEZ, E.; VILA, C.; RODRÍGUEZA, A.; GARROTE, G. Agricultural residue valorization using a hydrothermal process for second generation bioethanol and oligosaccharides production. **Bioresource Technology**, v. 191, p. 263-270, 2015.

VARILLA-MAZABA, A.; RAGGAZO-SANCHEZ, J.A.; CALDERON-SANTOYO, M.; GOMEZ-RODRÍGUEZ, J.; AGUILAR-USCANGA, M.G. Optimization of lignin extraction by response surface methodology from sugarcane bagasse using deep eutectic solvents (DES). **Industrial Crops & Products**, n. 184, 2022.

VERÇOSA, F. G. SOUZA FILHO, M. S. M.; PEREIRA, V. A.; AZEREDO, A. M. C. Extração de lignina do tegumento de mangas. Comunicado Técnico 259. **Embrapa**, 2019.

WANG, N.; XU, B.; WANG, X.; LANG, J.; ZHANG, H. Chemical and Structural Elucidation of Lignin and Cellulose Isolated Using DES from Bagasse Based on Alkaline and Hydrothermal Pretreatment. **Polymers**, v. 14, n.14, 2022.

WOHLERT, M.; BENSELFELT, T.; WAGBERG, L.; FURÓ, I.; BERGLUND, L. A.; WOHLERT, J. Cellulose and the role of hydrogen bonds: not in charge of everything. **Cellulose**, n. 29, p. 1-23, 2022.

YAO, L.; CUI, P.; CHEN, X.; YOO, C. G.; LIU, Q.; MENG, X.; XIONG, L.; RAGAUSKAS, A. J.; YANG, H. A combination of deep eutectic solvent and ethanol pretreatment for synergistic delignification and enhanced enzymatic hydrolysis for biorefinery process. **Bioresource Technology**, v. 350, 2022.

YOON, L.W.; RAFIB, I. S.; NGOHC, G. C. Feasibility of eliminating washing step in

bioethanol production using deep eutectic solvent pretreated lignocellulosic substrate. **Chemical Engineering Research and Design**, n. 179, p. 257–264, 2022.

ZHANG, J.; CHOI, Y. S.; YOO, C. G.; KIM, T. H.; BROWN, R. C.; SHANKS, B. Cellulose-hemicellulose and cellulose-lignin interactions during fast pyrolysis. **Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 3, p. 293-301, 2015.

ZHU, Z.; HUANG, R.; YAO, S.; LIU, Y.; ZHANG, Q.; ZHOU, X.; JIANG, K. An integrated process for co-producing fermentable sugars and xylonate from sugarcane bagasse based on xylonic acid assisted pretreatment. **Bioresource Technology**, n. 369, 2023.