

# Desenvolvimento de uma rota tecnológica para produção de etanol celulósico de segunda geração a partir do bagaço de cana

PATROCÍNIO, Alexei Barban do  
SIQUEIRA, Eliana Maria G. R. de  
SOARES, Samara

## Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o pré-tratamento ácido no bagaço de cana-de-açúcar com planejamento fatorial  $2^3$  com os parâmetros: tempo, temperatura e razão sólido/líquido (bagaço/ácido) para determinar quais desses parâmetros são significativos e suas interações em relação ao rendimento em AR (açúcares redutores). O principal resultado desse estudo foi um valor de rendimento em atividade nas condições otimizadas de 3.780%. O rendimento previsto variou em função do experimental em 1,4%, estando o mesmo dentro dos valores esperados. O pré-tratamento separou a matriz da lignina, reduziu a cristalinidade da celulose, aumentou a amorfa da mesma e solubilizou a hemicelulose, como se esperava, apresentando um rendimento de conversão de 89,54 % de celulose.

Palavras chave: etanol, bagaço de cana-de-açúcar, renovável, Brasil.

## Abstract

The aim of this work is to evaluate the pre-sour treatment in the bagasse of cane-of-sugar with factorial planning  $2^3$  with the parameters: time, temperature and solid reason/liquid to determine which of these parameters are significant and his interactions in relation to the performance in AIR (sugars reductores). The main result of this study was a value of performance in activity in the conditions optimized of 3.780%. The planned performance varied in function of the experimental in 1,4%, being the same inside the values expected. And it pre-Treatment separated the matrix of the lignin, reduced to the cristalinidade of the cellulose, increased to the amorphous of the same and solubilizou the hemicelluloses, as it expected, presenting a performance of conversion of 89,54 % of cellulose.

Words key: ethanol, bagaço of cane-of-sugar, renewable, Brazil.

## Resúmen

El objetivo de este trabajo es evaluar el pre-tratamiento ácido en el bagazo de caña-de-azúcar con planificación factorial  $2^3$  con los parámetros: tiempo, temperatura y razón sólido/líquido para determinar cuáles de esos parámetros son significativos y sus interacciones en relación al rendimiento en AIRE (azúcares reductores). El principal resultado de ese estudio fue un valor de rendimiento en actividad en las

condiciones optimizadas del 3.780%. El rendimiento previsto varió en función del experimental en 1,4%, estando el mismo dentro de los valores esperados. Y lo pre-tratamiento separó la matriz de la lignina, redujo a la cristalinidad de la celulosa, aumentó a la amorfa de la misma y solubilizo la hemicelulose, como se esperaba, presentando un rendimiento de conversión de 89,54 % de celulosa.

Palabras llave: etanol, bagazo de caña-de-azúcar, renovable, Brasil.

## **INTRODUÇÃO**

Petróleo, gás natural e seus derivados representam 55% do consumo mundial de energia. São esses combustíveis que permitem a existência dos meios de transporte rápidos e eficientes que temos hoje, bem como boa parte das atividades industriais. Lamentavelmente, a previsão de durabilidade para as fontes de petróleo, que não são renováveis, não ultrapassam mais do que algumas décadas. Assim, as reservas dos combustíveis fósseis são finitas e a segurança de abastecimento é problemática para muitos países que os importam. Ainda, o seu uso é a principal fonte de gases que estão provocando mudanças climáticas e o aquecimento global.

Assim, é importante e necessário o desenvolvimento de tecnologias renováveis de geração de energia e biocombustíveis a partir da biomassa, que é constituída pelo material produzido por todos os seres vivos em seus diferentes processos, isto é, a matéria orgânica viva, desde quando fixa energia solar nas moléculas constituintes de suas células, passando por todas as etapas da cadeia alimentar, ou trófica (BRISTOTI *et al*, 1993; JOHANSSON *et al*, 1993; WEREKO, *et al*, 1996; e mais).

Neste contexto, a tendência atual das pesquisas é desenvolver processos biotecnológicos com eficiência para produção de etanol de 2ª geração, por meio da utilização de biomassas residuais de composição lignocelulósica, como bagaço de cana-de-açúcar.

As biomassas vegetais contêm grandes quantidades de celulose, além de outros polissacarídeos hidrolisáveis em glicose para fermentação a álcool combustível ou para a produção de produtos químicos de interesse. Na natureza a biodegradação é lenta, pois a lignina e a cristalinidade dos substratos restringem o acesso das enzimas hidrolíticas aos componentes dos polissacarídeos. Entretanto, a biomassa pode ser pré-tratada e fracionada, utilizando processos que envolvem altas temperaturas e pressão, combinadas a catálises ácidas ou básicas, liberando os materiais lignocelulósicos em condições mais acessíveis ao ataque das enzimas (PALONEN *et al*, 2004).

O interesse por celulasas aumentou na década de 70. Tal fato foi intensificado devido à instabilidade na obtenção de combustíveis fósseis e até hoje só vem crescendo a busca pelas fontes de energias renováveis. Com isso, diversos microrganismos produtores de celulasas foram identificados (WILSON, 2009).

Fungos filamentosos atuam com eficiência na degradação de compostos celulósicos devido à produção de enzimas - celulasas - que reduzem as estruturas dos substratos

através da hidrólise. As principais celulases atuantes na degradação de material lignocelulósico, a partir da hidrólise, são as endoglucanases, exoglucanases e betaglucosidades (SUN; CHENG, 2002).

No Brasil, o etanol produzido da cana-de-açúcar já substitui hoje metade da gasolina que seria consumida e seu custo é competitivo sem os subsídios que o viabilizaram no programa Proálcool em seu início. Com a crescente demanda do mercado nacional e internacional de álcool, faz-se necessário expandir as áreas de cultivo de cana-de-açúcar para que a mesma seja atendida. No entanto, para evitar a expansão desmedida das áreas de cultivo, têm se desenvolvido processos biotecnológicos que permitam a utilização dos resíduos industriais lignocelulósicos já existentes para a produção de etanol de segunda geração. Dentre estes resíduos, os resíduos celulósicos encontrados no bagaço da cana-de-açúcar constituem uma das fontes mais promissoras de carboidratos para a produção de etanol de segunda geração, com o excedente proveniente da geração de energia a partir do mesmo.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### ***Bagaço de cana-de-açúcar***

As amostras de bagaço de cana-de-açúcar, utilizadas nas análises, vieram de uma usina próxima da cidade de Piracicaba, no interior de São Paulo. Foram colocados 2 kg de bagaço de cana-de-açúcar na estufa por 48 horas a 45°C—(RABELO, 2010) e depois armazenado em temperatura ambiente, para evitar contaminação por microrganismos. Para o pré-tratamento ácido o bagaço foi lavado, filtrado e seco em uma estufa Biopar a 60°C por 24 h, desfibrado em um desintegrador modelo D-2500-II da marca Dedini separado em peneiras da série de Taylor de 14 e 60 mesh e armazenado em local fresco (MORAIS *et al*, 2012).

### ***Pré-tratamento ácido***

O bagaço de cana-de-açúcar foi pesado 50 g em Erlenmeyer, onde se adicionou ácido clorídrico comercial P. A. concentrado de acordo com os valores determinados no planejamento fatorial (Tabela 1). Sendo agitado a 150 rpm, o tempo e a temperatura foram determinados também por planejamento fatorial. Em seguida, o bagaço foi lavado, neutralizado e analisado quanto aos açúcares redutores (AR), compostos fenólicos, hemicelulose, lignina e celulose.

### ***Açúcares redutores (AR)***

Pesou-se  $01,0 \pm 0,01$  g da amostra e diluiu-se para 25 mL de água destilada. Agitou-se e filtrou-se com gaze e algodão. Em um tubo de ensaio foi colocado 0,5 mL da amostra, 0,5 mL de DNS (ácido 3,5 – dinitro salicílico). Colocou-se o tubo em banho “Maria” contendo água fervente por 5 minutos e em seguida esfriou em banho frio. Acrescentou-se 4 mL de água destilada e agitou-se. Leu-se em espectrofotômetro a absorvância, em um comprimento de onda 540 nm. O valor obtido foi expresso em gramas de açúcar redutores por mililitros ( $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) de solução da amostra (MILLER, 1959).

### ***Determinação de compostos fenólicos***

O conteúdo de compostos fenólicos no bagaço de cana-de-açúcar foi realizado baseado no método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (KUJALA *et al.*, 2000; Wu *et al.*, 2005; MEDA *et al.*, 2005), com algumas modificações, pesou-se  $01,0 \pm 0,01$  g da amostra e diluiu-se para 25 mL de água destilada. Agitou-se e filtrou-se com gaze e algodão, 0,5 mL de cada amostra foram adicionados 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu 2 N e 1,0 mL de água. Após um período de 2 a 5 minutos no escuro, foi acrescentado aos tubos 0,5 mL de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) a 10%.

Após 1 hora de incubação à temperatura ambiente e no escuro, a absorvância foi mensurada em espectrofotômetro a 760 nm, usando água destilada como branco.

### ***Holocelulose***

As análises aqui descritas foram realizadas seguindo as normas TAPPI (Professional Organization Dedicated to Pulp and Paper Industries), e os procedimentos de análises para materiais lignocelulósicos do LATECQ - Laboratório Avançado de Tecnologia Química da Embrapa algodão de Campina Grande-PB.

Foram pesados 3 g de amostras e colocadas em Erlenmeyer de 500 mL, com agitadores magnéticos, 120 mL de água destilada, 2,5 g de clorito de sódio e 1 mL ácido acético. O conjunto foi levado para uma capela onde foram mantidos em banho maria sobre agitação e aquecimento de  $65\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5$ , por cinco horas. Depois de decorrida 1 hora do início da análise uma nova adição de clorito de sódio e ácido acético foi efetuada, e após mais 1 hora uma última adição foi realizada. Decorrido às 5 horas, as amostras foram colocadas para esfriar e em seguida filtradas em Funil de Buchner sintetizado, com placa porosa, já seca e com peso conhecido, com 1,5 L de água destilada e depois foram levadas para uma estufa a  $105 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Decorrido esse tempo as amostras foram colocadas em um dessecador e depois suas massas foram pesadas e por diferença de massa a percentagem de holocelulose foi determinada.

### ***Celulose***

Foi utilizado 1 g do material residual de holocelulose, previamente seco em estufa, ao qual foi adicionado 15 mL de NaOH (17,5 % m/v), deixado em repouso por 2 minutos em almofariz e em seguida triturado por 8 minutos. Após esse procedimento as amostras foram colocadas em Funil de Buchner e lavadas com 1,5 L de água destilada. Logo após as amostras foram deixadas em estufa a  $105 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Passado esse tempo foram colocadas em dessecadores até ficar com temperatura ambiente, quando tiveram suas massas determinadas e por diferença foi conhecida o percentual de celulose. Já a hemicelulose foi obtida por diferença entre a holocelulose e a celulose.

### ***Lignina***

A amostra (1 g) para determinação de lignina foi triturada durante 15 minutos em um almofariz com 17 mL de ácido sulfúrico a 72 % m/m e deixada em repouso por 24 horas. Decorrido esse tempo as amostras foram transferidas para balões com 306 mL de água destilada, deixando a sim o ácido a 4 %, e levadas para mantas aquecedoras onde passaram 4 horas. Em seguida foram transferidas para cadinhos de 50 mL com placa porosa, seco e com peso conhecido, a onde foram filtradas com mais água destilada até o pH da água ficar perto de 7. Em seguida foram levadas para estufa a  $105 \pm 2$  °C mantidas por 24 horas. Logo após foram colocadas em dissecadores até ficarem com temperatura ambiente, então suas massas foram determinadas e por diferença o teor de lignina foi conhecido.

### ***Delineamento Experimental do Pré-Tratamento do Bagaço de Cana-de-açúcar em meio Ácido***

Os parâmetros aqui estudados foram: tempo (A), temperatura (B) e razão sólido-líquido (bagaço/ácido) (C).

O delineamento experimental para verificação dos parâmetros sobre o pré-tratamento ácido foi realizado segundo um esquema fatorial completo do tipo  $2^3$  com 4 ensaios no ponto central e em duplicata. Os níveis dos parâmetros utilizados são mostrados na Tabela 1, onde (-1), (0) e (+1) significam o menor nível, nível médio e maior nível, respectivamente.

**Tabela 1.** Valores dos níveis dos parâmetros avaliados no planejamento fatorial completo  $2^3$  com 4 ensaios no ponto central utilizado no pré-tratamento ácido.

Parâmetros	Níveis		
	(-1)	0	(+1)
A = Tempo de hidrólise (min.)	20	40	60
B = Temperatura (°C)	30	45	60
C= Razão sólido/líquido (g/mL)	1:10	1:15	1:20

### ***Análise Estatística***

Os dados experimentais foram analisados estatisticamente, de acordo com planejamentos pré-determinados, para verificar o nível dos efeitos dos parâmetros em estudo.

A análise estatística dos resultados foi realizada através do software STATISTICA™, versão 8.0, onde foram feitas estimativas dos efeitos dos parâmetros e suas interações, considerando um nível de significância de 95%. Os resultados foram expressos em tabelas

de estimativa de efeitos, erros-padrão, teste “t” de “Student” e ainda em tabelas de análise de variância.

### ***Análise de Resultados***

Após cada pré-tratamento foi determinada a quantidade de açúcar redutor (AR) no bagaço de cana-de-açúcar. Valores estes que foram comparados com o valor inicial. O rendimento em açúcar redutor ( $\eta$  AR) foi definido como:

$$\eta = \frac{(AR_{final} - AR_{inicial})}{AR_{inicial}} \times 100$$

Onde:

$AR_{final}$  = Açúcar redutor do bagaço com pré-tratamento

$AR_{inicial}$  = Açúcar redutor do bagaço sem pré-tratamento

### ***Pré-tratamento ácido do bagaço de cana-de-açúcar***

O pré-tratamento ácido tem por objetivo romper a estrutura lignocelulósica por meio da solubilização da hemicelulose no meio ácido, o que promoverá um aumento da hidrólise da celulose nas etapas posteriores (RABELO, 2010). Geralmente os ácidos utilizados são o sulfúrico, clorídrico e o fosfórico.

De acordo com Dipardo (2000) os processos com ácidos fortes são conduzidos em condições mais brandas (pressão atmosférica e temperaturas até 60°C).

A hemicelulose é um heteropolímero curto e muito ramificado formado principalmente por pentoses (D-xilose e L-arabinose), hexoses (D-glicose, D-manose, D-galactose) e ácido glucurônico e manurônico (SARKAR *et. al.*, 2012; OGEDA *et. al.* 2010; BRODEUR *et. al.*, 2011). A hemicelulose atua fazendo ligações entre a lignina e as fibras de celulose.

Os ácidos empregados como catalisadores rompem as ligações glicosídicas entre os monômeros de açúcares liberando uma série de açúcares como, xilose, glicose e arabinose (SCHUCHARDT & RIBEIRO, 2001).

Durante a hidrólise ácida, a xilose é rapidamente degradada a furfural, fenol e outros co-produtos de condensação, os quais são inibitórios as enzimas e leveduras. Visando o pré-tratamento ácido, um planejamento experimental foi realizado, através do estudo dos parâmetros: tempo de hidrólise, temperatura, razão sólido/líquido e suas interações e foram determinados rendimento em AR (açúcar redutor), determinação de fenol (mg/L) e AR (mg/mL) e os resultados são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Esquema Matriz do planejamento fatorial  $2^3$  com 4 ensaios no ponto central, rendimento em AR (açúcar redutor), determinação de fenol (mg/L) e AR (mg/mL).

Ensaio	A	B	C	Rendimento em		
				AR (%)	Fenol (mg/L)	AR (mg/mL)
1	-1	-1	-1	635,8	93,4	9,6
2	1	-1	-1	2157,7	78,4	29,4
3	-1	1	-1	4476,9	35,9	59,5
4	1	1	-1	1376,9	79,7	19,2
5	-1	-1	1	613,8	94,7	9,3
6	1	-1	1	1489,2	48,4	20,6
7	-1	1	1	3256,2	44,7	43,6
8	1	1	1	2847,7	40,9	38,3
9	0	0	0	2608,5	72,3	35,2
10	0	0	0	3139,2	82,4	42,1
11	0	0	0	2412,3	94,0	32,6
12	0	0	0	3053,8	87,4	41,0

A = Tempo de hidrólise (min.) (-1 = 20; 0 = 40; 1 = 60)

B = Temperatura (°C) (-1 = 30; 0 = 45; 1 = 60)

C = Razão sólido/líquido (g/mL) (-1 = 1:10; 0 = 1:15; 1 = 1:20)

Os resultados determinados estão de acordo com o que se esperava na literatura, ou seja, o ensaio onde se obteve maior quantidade de açúcar foi o qual se obteve menor valor em fenol e vice versa. Isso pode ser observado ao analisar a Tabela 2 constatando-se que o ensaio 3 obteve-se a maior quantidade de AR (mg/mL) e o menor valor de fenol (mg/L) e o ensaio 5 ao contrário.

Ainda, ao analisar a Tabela 2, constata-se que o ensaio 3 foi o que se obteve-se o maior rendimento em AR, com os parâmetros razão sólido/líquido e tempo em seu menor nível (-) e temperatura no seu maior nível (+) e o ensaio 5 obteve o menor rendimento em AR, com os parâmetros tempo e temperatura no menor nível (-) e razão sólido/líquido no seu maior nível (+).

Estas observações podem ser comprovadas pela análise estatística dos resultados, apresentadas na Tabela 3. Os resultados comprovam as observações anteriores, ou seja, o parâmetro temperatura apresenta efeitos significativos. O mesmo não acontece com o tempo e razão sólido/ líquido. Sendo assim, esses resultados são muito importantes, pois o que interessa é obter o maior rendimento em açúcares redutores com o menor consumo de ácido e menor quantidade de fenol.

**Tabela 3.** Efeitos estimados, valores do teste t de “Student” e erros-padrão obtidos no planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup> com 4 ensaios no ponto central.

Efeitos e interações	Estimativas	Erros-Padrão	T
Média	2106,72	234,4889	8,98433
A	-277,7	468,9778	-0,59214
<b>B</b>	<b>1765,4</b>	<b>468,9778</b>	<b>3,76436*</b>
C	-110	468,9778	-0,23455
<b>AB</b>	<b>-1476,55</b>	<b>468,9778</b>	<b>-3,14844*</b>
AC	511,15	468,9778	1,08992
BC	235,05	468,9778	0,5012

A = Tempo de hidrólise (min.); B = Temperatura (°C) C = Razão sólido/líquido (g/mL);

\*Significativos ( $t_{4,0,95} = 2,77$ )

**bioenergia em revista: diálogos, ano 4, n. 2, p. 68-86, jul./dez. 2014.**

PATROCÍNIO, Alexei Barban do; SIQUEIRA, Eliana Maria G. R. de; SOARES, Samara

*Desenvolvimento de uma rota tecnológica para produção de etanol celulósico de segunda geração a partir do bagaço de cana*

Ao analisar os parâmetros significativos, constata-se que o parâmetro B apresenta um sinal positivo, o que indica que, para haver aumento do rendimento em atividade, será preciso aumentar os valores deste parâmetro. Os parâmetros A e C não apresentaram efeito significativo juntamente com suas interações, apresentando um valor ( $p < 0,05$ ). Estas observações podem ser comprovadas através da Tabela 4 onde se pode também notar através da análise da variância que a curvatura não é significativa ( $p < 0,05$ ), o que indica que o modelo é melhor representado por uma equação linear.

**Tabela 4.** Análise da variância para o estudo do pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar em meio ácido no planejamento fatorial completo  $2^3$  com 4 ensaios no ponto central.

Efeitos	QM	F	P
A	154235	0,35063	0,585607
<b>B</b>	<b>6233274</b>	<b>14,17039</b>	<b>0,019700*</b>
C	24200	0,05501	0,826073
<b>AB</b>	<b>4360400</b>	<b>9,91270</b>	<b>0,034566*</b>
AC	522549	1,18793	0,337008
BC	110497	0,25120	0,642559
CURVATURA	1294469	2,94277	0,161407

$R^2 = 0,8783$  A = Tempo de hidrólise (min.); B= Temperatura (°C); C = Razão sólido/líquido (g/mL); QM = Média Quadrática; \*Significativos ao nível de 95% de confiança

Como os resultados das análises demonstraram que o modelo é linear, então podemos representar o processo de pré-tratamento ácido do bagaço de cana-de-açúcar considerando os termos que realmente influenciam no rendimento em atividade, pela Equação 1:

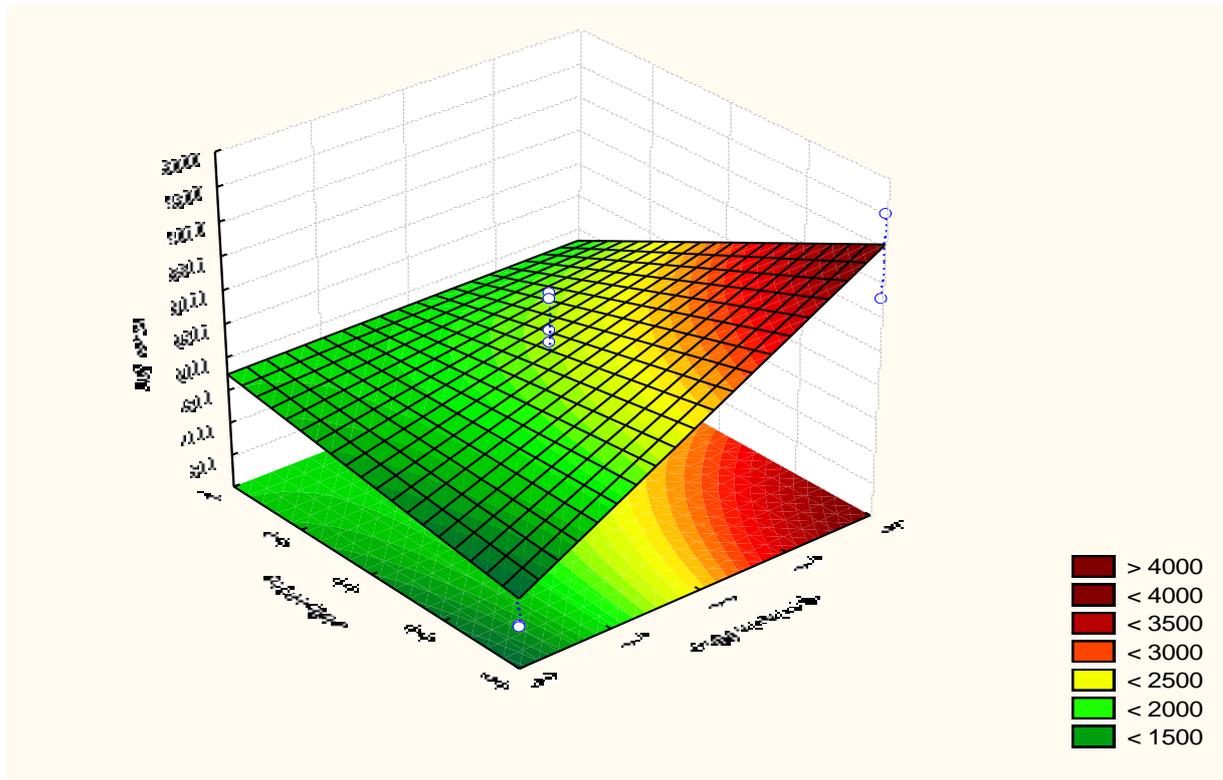
$$Y = 2.106,725 + 882,700B - 738,275AB, \text{ onde} \quad (1)$$

Y representa o rendimento em atividade, A o tempo da reação e B a temperatura.

A partir deste modelo, obteve-se melhores resultados de recuperação em atividade quando se utilizou os valores de 20 minutos para tempo de reação e 60°C para temperatura. Nessas condições o rendimento máximo estimado pelo modelo foi de 3.727%.

A metodologia da superfície de resposta foi utilizada para otimizar as condições do pré-tratamento ácido sobre o bagaço de cana-de-açúcar, fornecendo um modelo matemático adequado para a resposta em rendimento em atividade (BARROS NETO *et al.*, 2010).

A superfície de resposta do modelo e as linhas de contorno estão apresentadas na Figura 1. É possível observar que o rendimento máximo obtido para este modelo pode ser de 4.000%.



**Figura 1.** Superfície de resposta e curvas de nível descrito pelo modelo da equação 1, que representa o pré-tratamento ácido do bagaço de cana-de-açúcar.

Com o objetivo de se avaliar o modelo, foi realizado um novo experimento nas condições otimizadas. Para isto, utilizou-se temperatura a 60°C que foi o parâmetro significativo no maior nível (+) e tempo de 20 minutos no menor nível (-). Uma vez que a razão sólido/líquido não foi significativa, optou-se em trabalhar no valor inicial, 1:10, o que equivale ao menor nível (-1). Foi obtido um valor de rendimento em atividade de 3.780%. O rendimento previsto variou em função do experimental em 1,4%, estando o mesmo dentro dos valores esperados.

### Determinação de holocelulose (celulose+hemicelulose) e lignina

O pré-tratamento tem por objetivo a solubilização e a separação dos principais componentes da biomassa – celulose, hemicelulose, lignina e extrativos, deixando o material remanescente mais disponível à hidrólise, através da quebra da proteção vinda da lignina, solubilização da hemicelulose e da desestruturação da celulose cristalina. A Tabela 9 mostra o que acontece com a fibra ao passar por um processo de pré-tratamento, através da determinação da holocelulose, celulose, lignina e hemicelulose do bagaço de cana-de-açúcar sem tratamento e do bagaço tratado com HCl 37%.

Na composição da biomassa da cana, existe um predomínio da holocelulose, (celulose + hemicelulose), seguido pela lignina. A outra fração significativa é a dos extraíveis em solventes orgânicos (éter etílico e benzeno), constituída fundamentalmente pela película protetora de ceras que impermeabiliza o caule da cana (NOVA CANA, 2013).

Com a separação das principais estruturas morfológicas das fibras e a redução da cristalinidade da celulose, espera-se que os diferentes tipos de pré-tratamentos, pelo que ressaltou o trabalho de (KUMAR *et al.* 2009), atinjam aos seguintes requisitos: melhorem o rendimento da sacarificação da celulose; evitem a perda ou degradação dos carboidratos; evitem a formação de subprodutos inibidores dos processos subsequentes (hidrólise e/ou fermentação, etc.) e, apresentem um custo-benefício compensatório.

**Tabela 5.** Determinação de holocelulose, celulose, lignina e hemicelulose do bagaço de cana-de-açúcar sem tratamento e do bagaço tratado com HCl 37%.

Tipo de bagaço	Frações do bagaço de cana (g)			
	<i>Holocelulose</i>	<i>Celulose</i>	<i>Hemicelulose</i>	<i>Lignina</i>
Sem tratamento	1,0975	0,1768	0,9207	0,3925
HCl 37%	0,3429	0,3351	0,0078	0,0179
Rendimento	68,76 %	89,54 %	99,15 %	95,44 %

\*Tipo de bagaço: *sem tratamento*- bagaço lavado, triturado e peneirado; *HCl 37%*- bagaço pré-tratado a 60 °C, 20 min. e razão sólido/líquido 1:10 determinada como condições otimizadas pelo planejamento fatorial.

Com respeito aos teores de celulose, o bagaço com o pré-tratamento foi, em geral, superiores ao bagaço sem tratamento, apresentou um rendimento de 89,54 %. O tratamento com HCl 37% apresentou maior teor de celulose, sugerindo maior extração de frações como a lignina e reduzindo a cristalinidade da celulose e aumentando a amorfa da mesma.

Também na Tabela 5 constata-se que o bagaço sem tratamento apresentou maiores teores de hemicelulose do que o bagaço pré-tratado, que comprova o que mostra na literatura que o objetivo do pré-tratamento é reduzir a cristalinidade da celulose, separar a matriz da lignina, solubilizar a hemicelulose para que a celulose fique mais acessível à hidrólise enzimática.

## **CONCLUSÕES**

No pré-tratamento ácido do bagaço de cana-de-açúcar utilizando um planejamento fatorial  $2^3$  foram analisados os parâmetros: tempo, temperatura e a razão sólido/líquido, sendo que as que apresentaram elevada significância foram temperatura (60°C) e a interação entre temperatura (60°C) e o tempo (20 min.). Com a análise de variância constatou-se que a curvatura não foi significativa, sendo o modelo melhor representado como linear.

Com o objetivo de evitar a formação de fenol no pré-tratamento ácido, pois prejudicaria as etapas posteriores, comprovou-se que as condições físico-químicas do processo são muito importantes para evitar a formação desses compostos fenólicos e dependendo dessas condições, quanto mais açúcares gerados no pré-tratamento, menos fenol é produzido nas amostras e vice versa.

A determinação de celulose, hemicelulose e lignina do bagaço de cana-de-açúcar que foi submetido a um pré-tratamento ácido nas condições otimizadas dada pelo planejamento fatorial  $2^3$  na etapa anterior em comparação com o bagaço que não foi tratado, comprovou que o pré-tratamento tem por objetivo separar a matriz da lignina, reduzir à cristalinidade da celulose e aumentar à amorfa da mesma e solubilizar a

bioenergia em revista: diálogos, ano 4, n. 2, p. 68-86, jul./dez. 2014.

PATROCÍNIO, Alexei Barban do; SIQUEIRA, Eliana Maria G. R. de; SOARES, Samara  
*Desenvolvimento de uma rota tecnológica para produção de etanol celulósico de segunda geração a partir do bagaço de cana*

hemicelulose, deixando a celulose mais acessível à hidrólise enzimática, apresentando 89,54 % em rendimento de celulose.

## REFERÊNCIAS

BARROS N. B., *et al.* *Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria.* Campinas, SP: Unicamp, 2003.

BRISTOTI, *et al.* Diagnóstico da utilização e da oferta da biomassa vegetal no Rio Grande do Sul. **Núcleo de Energia**, PROMEC, UFRGS, Porto Alegre, 1993.

BRODEUR, G. *et al.* Chemical and Physicochemical Pretreatment of Lignocellulosic Biomass: *A Review.* *Enzyme Research*, Tallahassee, p. 1-17, 2011.

DIPARDO, J. Outlook for biomass ethanol production and demand. Washington, D. C.: U. S. *Department of Energy - Energy Information Administration*, 2000. 12 p.

JOHANSSON, T. B. *et al.* Renewable energy: sources for fuels and electricity. **Island Press**, Washington, DC, 1993.

KUMAR, P.; BARRETT D, M.; DELWICHE, M. J.; STROEVE P. - **Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production.** Industrial & Engineering Chemistry Research is published by the American Chemical Society. 1155 Sixteenth Street N.W., Washington. Article ASAP • DOI:10.1021/ie801542g. 1999.

KUJALA T. STS. Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. *J Agric Food Chem* 48: 5338-5342, V 2000.

MEDA A, *et al.* . Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem* 91: 571-577, 2005.

MILLER. G., Use of dintrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugars. *Analytical Chemistry*. V. 31, p. 426-428, 1959.

MORAIS, A. P. S., *et al.* *Pré-hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar e sua caracterização físico-química.* Disponível em: <[energia.fca.unesp.br/index.php/energia/article/download/784/324](http://energia.fca.unesp.br/index.php/energia/article/download/784/324)>. Acesso em: 01/10/2013.

NOVA CANA, 2013. Disponível em: <<http://www.novacana.com/estudos/etanol-celulosico-bagaco-cana-de-acucar-como-materia-prima-para-hidrolise-241013/>>. Acesso em: 02/06/2014.

**bioenergia em revista: diálogos, ano 4, n. 2, p. 68-86, jul./dez. 2014.**

PATROCÍNIO, Alexei Barban do; SIQUEIRA, Eliana Maria G. R. de; SOARES, Samara  
*Desenvolvimento de uma rota tecnológica para produção de etanol celulósico de segunda geração a partir do bagaço de cana*

OGEDA, T. L., *et al.* Hidrólise Enzimática de Biomassa. *Quim. Nova*, Vol. 36, n. 7, 1549-1558, 2010.

PALONEN, H., *et al.* Adsorption of Trichoderma reesei CBH I and EG II and their catalytic domains on steam pre-treated softwood and isolated lignin. *Journal of Biotechnology*, v. 107, p. 65–72, 2004.

RABELO, S. C. *Avaliação e Otimização de pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a Produção de Etanol de Segunda Geração*. Campinas, SP, 2010.

SARKAR, N., *et al.* Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy*, Índia, p. 19-27, 2012.

SCHUCHARDT, U.; RIBEIRO, M. L. – A indústria petroquímica no próximo século: como substituir o petróleo como matéria-prima? *Química Nova*, vol. 24, n. 2, 2001.

SUN, *et al.*, Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, Raleigh, p. 1-11, 2002.

TAPPI. (Professional Organization dedicated to pulp and paper industries). Disponível em: <www.tappi.org>. Acesso em 02/07/2014.

WEREKO, *et al.* *Biomass conversion and technology*. UNESCO energy engineering series, John Wiley & Sons Ltd., England, 203 p., 1996.

WILSON, D. B. Cellulases and biofuels. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 20, p. 295– 299, 2009.

WU, J. H; *et al.* Phenolic antioxidants from the heartwood of *Acacia confusa*. *J Agric Food Chem* 53: 5917-5921, 2005.

**bioenergia em revista: diálogos, ano 4, n. 2, p. 68-86, jul./dez. 2014.**

PATROCÍNIO, Alexei Barban do; SIQUEIRA, Eliana Maria G. R. de; SOARES, Samara

*Desenvolvimento de uma rota tecnológica para produção de etanol celulósico de segunda geração a partir do bagaço de cana*

1 Alexei Barban do PATROCÍNIO possui graduação em Engenharia Química pela Universidade Federal de São Carlos (1998), Mestrado em Engenharia Química pela Universidade Federal de São Carlos (2001) e doutorado em Engenharia Química pela Universidade Federal de São Carlos (2005). Trabalhou na Pará Pigmentos S.A com projetos Bioetanol (CTBE), na EET Brasil – Parafinas e Alumínio e na Raízen como engenheiro de projetos e de processos. Tem experiência na área de Engenharia Química com ênfase em cálculo e dimensionamento de equipamentos (reator, centrífuga, trocadores de calor, filtro, dentre outros). É engenheiro de Segurança do Trabalho, Engenheiro de Petróleo e Gás. Atua como professor na FATEC Piracicaba Dep. “Roque Trevisan” lecionando disciplinas como Operações Unitárias, Físico-Química, Produção de Bioeletricidade e Responsabilidade e Segurança do Trabalho.

2 Eliana Maria G. R. de Siqueira é possui graduação em Engenharia Industrial Química pela Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Mestrado em Biotecnologia Industrial pela Faculdade de Engenharia Química de Lorena na área de Microbiologia Aplicada e Genética de Microrganismos, Doutorado em Engenharia Química na área de Processos Biotecnológicos pela Universidade Estadual de Campinas e Pós-Doutorado pela USP. Atualmente é Professora Associada da Faculdade de Tecnologia de Piracicaba-FATEC. Tem experiência na área de Engenharia Química, com ênfase em Purificação de Enzimas, atuando principalmente nos seguintes temas: microrganismos, enzimas, fermentação e extração líquido-líquido.

3 Samara SOARES é Tecnóloga em Biocombustíveis pela Fatec Piracicaba Dep. “Roque Trevisan”.

**bioenergia em revista: diálogos, ano 4, n. 2, p. 68-86, jul./dez. 2014.**

PATROCÍNIO, Alexei Barban do; SIQUEIRA, Eliana Maria G. R. de; SOARES, Samara

*Desenvolvimento de uma rota tecnológica para produção de etanol celulósico de segunda geração a partir do bagaço de cana*