

Trabalho de Formatura

Curso de Graduação em Engenharia Ambiental

Extração de xilana de folha de cana-de-açúcar em processo organosolv

Victor Seixas Castrillo

Prof. Dr. Michel Brienzo

Rio Claro (SP)

2019

VICTOR SEIXAS CASTRILLO

EXTRAÇÃO DE XILANA DE FOLHA DE CANA-DE- AÇÚCAR EM PROCESSO ORGANOSOLV

Projeto de Pesquisa apresentado à Comissão do Trabalho de Formatura do Curso de Graduação em Engenharia Ambiental, Instituto de Geociências e Ciências Exatas – Unesp, Campus de Rio Claro, como parte das exigências para o cumprimento da disciplina Trabalho de Formatura no ano letivo de 2019”

Orientador: Prof. Dr. Michel Brienzo

Rio Claro - SP

(2019)

C355e

Castrillo, Victor Seixas

Extração de xilana de folha de cana-de-açúcar em processo
organosolv / Victor Seixas Castrillo. -- Rio Claro, 2019
38 p. + 1 CD-ROM

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Engenharia
Ambiental) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de
Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro

Orientador: Michel Brienzo

1. Biomassa. 2. Cana-de-açúcar. 3. Organosolv. 4. Hemicelulose. 5.
Alcalino. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de
Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

RESUMO

A biomassa lignocelulósica é composta majoritariamente por celulose, hemicelulose e lignina e é uma fonte renovável para produção de biocombustíveis e produtos de valor agregado. Entretanto, essa biomassa necessita de uma etapa de pré-tratamento para modificar sua estrutura. Para separação/isolamento da lignina a estratégia definida foi o pré-tratamento em meio com solvente, caracterizando o processo organosolv. Outro objetivo foi promover a separação da xilana, introduzindo uma etapa de adição de etanol para precipitação da xilana. Os pré-tratamentos foram realizados em meio alcalino seguindo um planejamento experimental (concentração de NaOH variando de 3 a 10,5%, temperaturas de 90 a 210°C, concentração do solvente 30% a 90%, e tempo de reação de 5 a 85 min). A separação da hemicelulose e lignina foi efetuada através de mudanças na solução: a lignina foi precipitada com a acidificação do meio; a xilana foi precipitada através da adição de etanol. O ensaio que apresentou o melhor resultado para precipitação da xilana, teve como parâmetros as seguintes condições, temperatura de 90°C, tempo de reação de 45 minutos, concentração de solvente foi de 50% e a concentração do reagente alcalino foi igual a 5,5%. Esta condição resultou em um precipitado de 2,36 gramas. Associando os fatores mais determinantes, tempo de reação versus concentração de NaOH e concentração de solvente versus concentração de NaOH, foi possível estimar as melhores condições de pré-tratamento para maximizar a precipitação e recuperação da xilana. O mesmo não pode ser feito para a lignina, a fração líquida onde a mesma se encontrava solubilizada sofreu uma acidificação, porém não ocorreu precipitação. Possivelmente, o meio rico em etanol colaborou em manter a lignina solúvel mesmo em solução ácida, sendo necessário remover o etanol para precipitação da lignina.

Palavras-chave: Biomassa, cana-de-açúcar, meio alcalino, organosolv, lignina, hemicelulose.

ABSTRACT

The lignocellulosic biomass is mainly composed by cellulose, hemicellulose and lignin, and it is a renewable source for the production of biofuels and value-added products. However, this biomass requires a pretreatment stage in order to modify its structure. For lignin separation/isolation, the defined strategy was the pretreatment in medium with solvent, characterizing the organosolv process. Another goal, was to promote the xylan isolation, introducing an ethanol addition stage for the xylan precipitation. The pretreatments were performed in alkaline medium, following an experimental planning (NaOH concentration varying from 3% to 10,5%, temperatures from 90°C to 210°C, solvent concentration from 30% to 90% and reaction time from from 5 to 85 minutes). The hemicellulose and lignin separation was performed through changes in the solution: the lignin was precipitated with the medium's acidification; the xylan was precipitated through ethanol addition. The test that presented the best result for xylan precipitation, had the following conditions as parameters: 90°C temperature, 45 minutes of reaction time, solvent concentration of 50% and alkaline reagent concentration of 5,5%. These conditions resulted in 2,36 g of precipitate. Associating the most determining factors, reaction time versus NaOH concentration and solvent concentration versus NaOH concentration, it was possible to estimate the best pretreatment conditions in order to maximize xylan's precipitation and recovery. This could not be done for lignin, the liquid fraction at which it was solubilized suffered acidification; however, precipitation did not occur. Possibly, the ethanol rich medium collaborated in maintaining the lignin soluble even in acidic solution, therefore it is necessary to remove the ethanol in order to precipitate lignin.

Key words: Biomass, sugarcane, alkaline medium, organosolv, lignin, hemicellulose.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO.....	2
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
3.1. MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS	2
3.1.1. <i>CELULOSE</i>	4
3.1.2. <i>HEMICELULOSE</i>	5
3.1.3. <i>LIGNINA</i>	6
3.2. CANA-DE-AÇÚCAR	8
3.2.1. <i>PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR</i>	11
3.3. PRÉ-TRATAMENTO ORGANOSOLV	12
4. METODOLOGIA.....	13
4.1. PREPARO DA BIOMASSA	13
4.2. PRÉ TRATAMENTO ORGANOSOLV	14
4.2.1. <i>ETAPAS DO PRÉ TRATAMENTO</i>	14
4.2.2. <i>ALTERNATIVAS PARA RECUPERAÇÃO DA LIGNINA</i>	16
5. RESULTADOS	16
5.1. RECUPERAÇÃO DA LIGNINA	16
5.2 RECUPERAÇÃO DA XILANA	18
5.2.1. <i>GRÁFICO DE PARETO</i>	20
5.2.2 <i>TEMPO DE REAÇÃO VERSUS CONCENTRAÇÃO DE NAOH</i>	21
5.2.3 <i>CONCENTRAÇÃO DE SOLVENTE VERSUS CONCENTRAÇÃO DE NAOH</i> ..	23
5.2.4. <i>TEMPERATURA VERSUS CONCENTRAÇÃO DE SOLVENTE</i>	25
6. CONCLUSÃO.....	26
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, a cana-de-açúcar é o terceiro maior cultivo brasileiro em área plantada, atrás apenas da soja e do milho. Em 2016, os canaviais ocupavam 10,5 milhões de hectares, ou seja, 13,5% do total nacional de área plantada no país (IBGE, 2017). Pelo clima ideal e pela vasta área plantada, o país possui grande disponibilidade de matéria-prima para produção a baixo custo, o que torna viável o desenvolvimento de tecnologias para aprimorar processos produtivos ligados ao cultivo e uso comercial da cana-de-açúcar. Do processamento da cana-de-açúcar é gerado o bagaço e a palha, materiais lignocelulósicos (MELATI *et al.*, 2017;).

No Brasil a cana-de-açúcar é usada para produzir diversos insumos, utilizando o caldo da cana, através do processo de destilação é produzido o etanol (anidro, neutro, hidratado e de segunda geração), do bagaço é gerado vapor que em sequencia é transformado em energia elétrica para consumo da própria usina, além disso resíduos desses processos como a torta de filtro e a vinhaça, são utilizados para geração de biogás.

A conversão de biomassa em etanol ou produtos de alto valor agregado tem como dificuldade a recalcitrância do material, sendo necessário a aplicação de pré-tratamentos (BRIENZO *et al.*, 2015). O pré-tratamento ácido diluído não resulta em uma deslignificação significativa, ao contrário, estudos relatam aumento da porcentagem de lignina no material pré-tratado (FENGEL;WENGEL, 1984), o que ocorre devido a solubilização da hemicelulose. Neste pré-tratamento ocorre a formação de produtos indesejados, produtos de degradação de açúcares e lignina, os quais são inibidores do processo fermentativo (RASMUSSENA *et al.*, 2014). Por outro lado, o processo organosolv tem como propósito deslignificar a biomassa, utilizando solventes orgânicos, para obter lignina, celulose e hemicelulose. A primeira adaptação desta tecnologia, como auxílio na hidrólise, surgiu no Canadá, empregando acetona como solvente. Mais recentemente, processos que utilizam metanol e etanol são levados à prática. Os processos se baseiam no pré-tratamento da biomassa lignocelulósica com o solvente, à elevada temperatura e pressão, e posterior recuperação da celulose e da lignina (SOARES, 2011).

Tanto a lignina, quanto a hemicelulose, são caracterizadas como macromoléculas de interesse industrial, ou seja, são matérias primas para diversos produtos. Deste modo, o presente trabalho determinou as condições técnicas que levem a extração/separação tanto da hemicelulose, quanto da lignina. O processo organosolv, em meio alcalino, foi melhorado permitindo a obtenção de dois produtos de valor agregado.

2. OBJETIVO

Este projeto apresentou como objetivo extrair lignina e xilana utilizando o processo organosolv, além de determinar as condições que levem a extração de lignina e xilana em conjunto, e também sua separação do meio reacional.

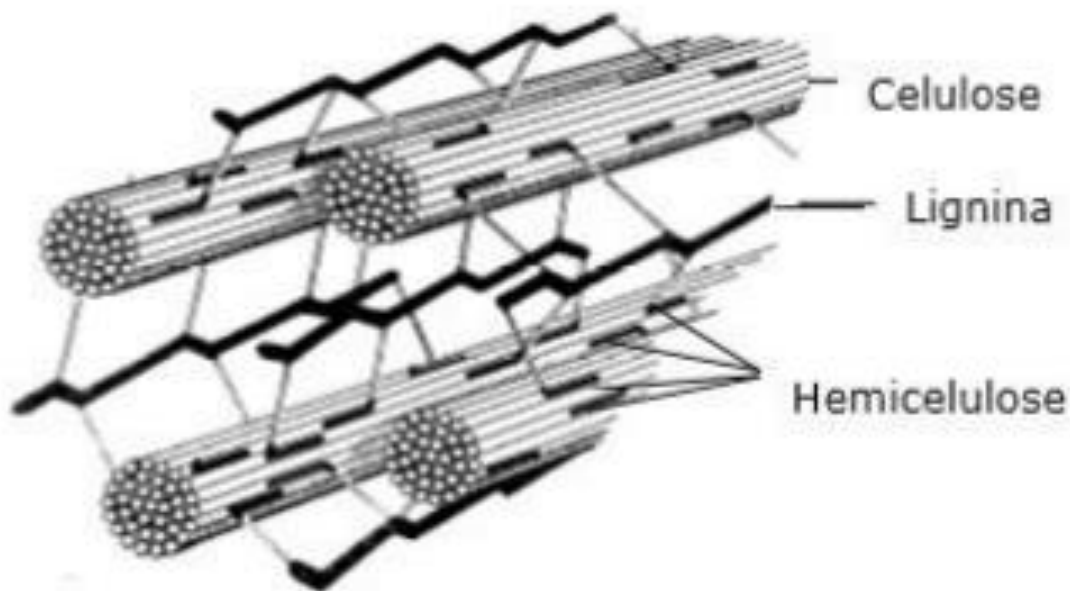
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

Os resíduos agrícolas (palha e bagaço de cana-de-açúcar, palha de trigo e resíduos de milho) e os resíduos florestais (restos de madeira e poda), são considerados materiais lignocelulósicos. Os mesmos constituem a principal fonte de matéria-prima para a produção de bioetanol, e outros diversos produtos utilizados nos segmentos industriais e corporativos. A alta demanda por materiais lignocelulósicos se deve a sua abundância, baixo custo e principalmente por seu caráter renovável (BINOD *et al.*, 2010; YAMASHITA *et al.*, 2008; DEMIRBAS, 2003).

Os materiais lignocelulósicos são estruturas compactas e fibrosas, compostas pelos polissacarídeos celulose e hemicelulose, envolvidos pela lignina, uma macromolécula caracterizada por alcoóis aromáticos, que se encontram unidos por ligações covalentes e ligações de hidrogênio. A proporção dos constituintes varia conforme a origem do material vegetal. A estrutura genérica do material lignocelulósico pode ser vista na Figura 1.

Figura 1 – Estrutura do material lignocelulósico



Fonte: Carvalho, 2009

A composição química do material lignocelulósico varia de acordo com o tipo de material. O bagaço da cana-de-açúcar por exemplo, possui em sua constituição cerca de 32% a 38% de celulose, 19% a 24% de hemicelulose e 23% a 32% de lignina, o restante da composição se resume a cinzas e extrativos. O bagaço é muito utilizado na área comercial como substrato para queima em sistemas de cogeração de energia (caldeiras), enquanto a palha é deixada no campo e na maioria das vezes não é aproveitada. Aproximadamente, para cada tonelada de cana-de-açúcar processada pelas usinas e indústrias, 140 kg de bagaço em base seca e 140 kg de palha são gerados simultaneamente (SANTOS *et al.*, 2012).

Cada composição química da biomassa recebe uma forma diferente de tratamento visando obter um melhor aproveitamento do material e consequentemente melhor rendimento, a hidrólise e a fermentação são comumente utilizadas para produção de bioetanol pois agem diretamente nos segmentos de celulose e hemicelulose, enquanto a fração de lignina é responsável por dificultar o acesso das enzimas (SILVA, 2010).

A Tabela 1 mostra, em porcentagem, a composição química de biomassas lignocelulósicas com potencial para produção de etanol de segunda geração.

Tabela 1 – Composição química de biomassas lignocelulósicas.

Biomassa	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Referência
Palha de cana	38,1	29,2	26,2	Silva 2010
Bagaço de cana	36,9-48,6	24,6-32,8	13,3-21,5	Brienzo et al. 2017
Madeira dura	43-47	25-35	16-24	Santos et al. 2012
Madeira mole	40-44	25-29	25-31	Santos et al. 2012
Talo de milho	35	25	35	Santos et al. 2012
Farelo de cevada	23	32,7	24,4	Silva 2010
Palha de cevada	31-45	27-38	14-19	Santos et al. 2012
Muda de grama	45	31,4	12	Sun; Cheng 2002
Algodão	95	2	0,3	Santos et al. 2012
Palha de trigo	30	50	15	Santos et al. 2012
Papel	85-99	0	0-15	Sun; Cheng 2002
Sisal	73,1	14,2	11	Santos et al. 2012
Palha de arroz	43,5	22	17,2	Silva 2010
Fibra de coco	36-43	0,15-0,25	41-45	Santos et al. 2012

Dentre as biomassas lignocelulósicas citadas na tabela acima, é possível notar o potencial da cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração, principalmente no Brasil, devido o amplo cultivo no país (MELATI *et al.*, 2017). A busca de empresas para viabilizar plantas de etanol de segunda geração em suas usinas e a proibição da queima da palha da cana-de-açúcar até 2021 no Estado de São Paulo (disposta pela Lei 11.241/02) são fatores que demonstram como esta biomassa será cada vez mais aproveitada.

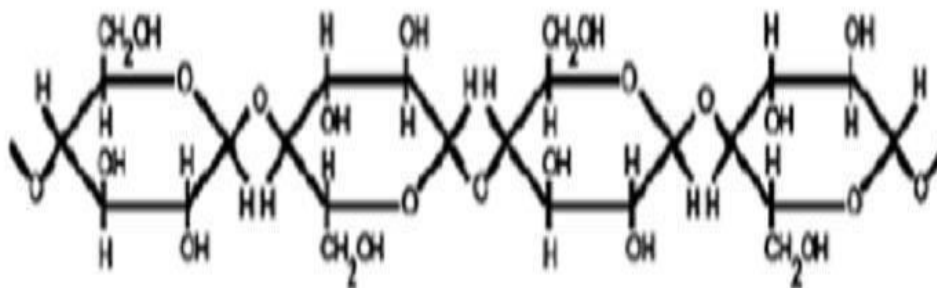
3.1.1. CELULOSE

A celulose está presente nas paredes celulares de plantas, e algumas bactérias, e é o polissacarídeo natural mais abundante na Terra. É o componente principal das plantas, servindo como material estrutural e de sustentação (TAIZ; ZEIGER, 2009). A celulose tem uma estrutura linear e fibrosa, na qual se estabelecem múltiplas ligações de hidrogênio

entre os grupos hidroxila das distintas cadeias de glicose, fazendo-as impenetráveis à água e, portanto, insolúveis, originando fibras compactas que constituem a parede celular dos vegetais e que são resistentes a ataques enzimáticos e, conseqüentemente, à degradação (TEERI, 1997; TAIZ; ZEIGER, 2009). O firme alinhamento e as ligações entre si das moléculas de glicose determinam a linearidade e cristalinidade das moléculas de celulose (OKAMURA, 1990; TAIZ; ZEIGER, 2009). A figura 2 demonstra como se organiza a cadeia central da molécula de celulose.

O desenvolvimento e a utilização efetiva da celulose é benéfico para uma sociedade mais sustentável, com matérias primas renováveis e processos de produção menos poluentes. A principal fonte é a fibra vegetal, onde a celulose atua como um elemento estrutural, proporcionando resistência física às plantas (JEDVERT, 2017).

Figura 2 - Estrutura da celulose, parte central da cadeia molecular



Fonte: FENGEL; WEGENER, 1989.

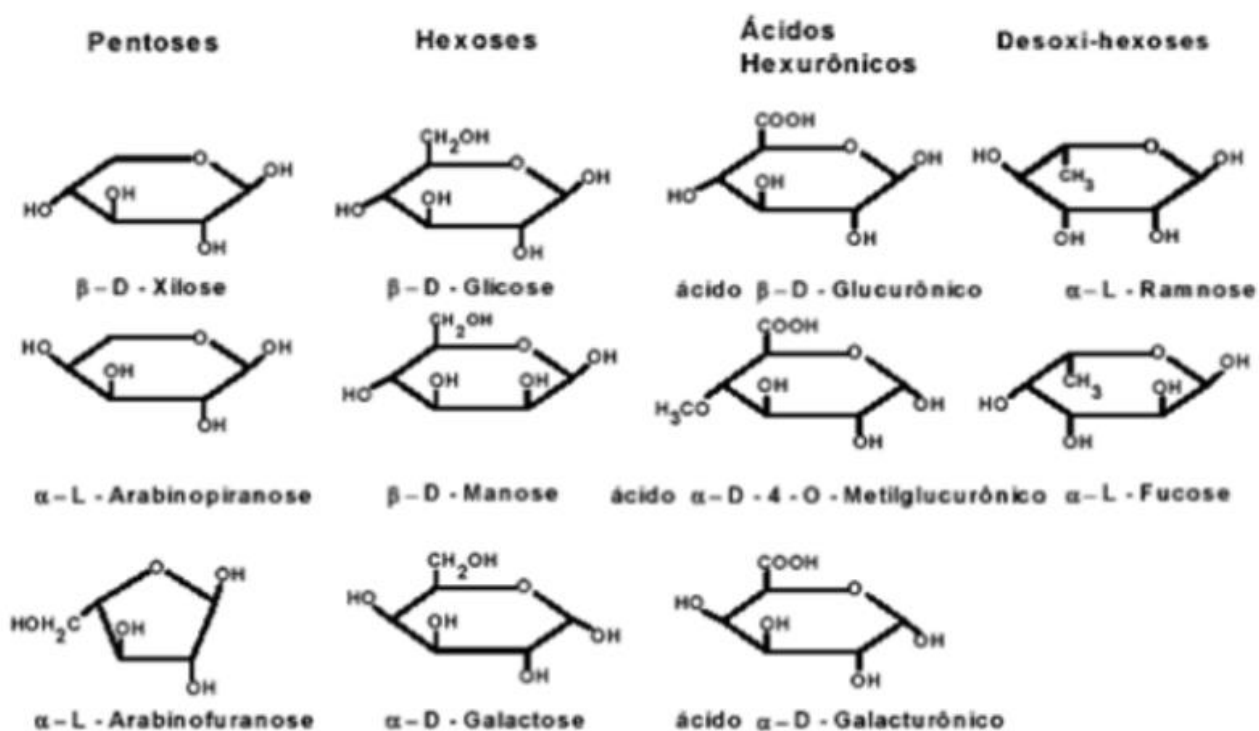
3.1.2. HEMICELULOSE

A hemicelulose é um heteropolissacarídeo, constituído principalmente por pentoses (D-xilose e L-arabinose) e hexoses (D-glicose, D-galactose e D-manose), e diferente da celulose, consiste em cadeias mais curtas de açúcares (GIBSON, 2012) conforme demonstrado na Figura 3. Apresenta cadeias laterais ou ramificações, que promovem maior interação com as moléculas de celulose e lignina, e confere flexibilidade e ao mesmo tempo estabilidade à parede vegetal (RAMOS, 2003). Na estrutura lignocelulósica, a hemicelulose

representa uma proporção de 15-30% do total de matéria seca e age como estrutura de ligação entre as moléculas de celulose, conferindo estabilidade a molécula como um todo.

As hemiceluloses são classificadas com base nos resíduos de açúcar da cadeia principal da molécula, podendo ser xilanas, mananas, arabinoxilanas, arabinogalactanas e arabinana (SILVANIA, 2013).

Figura 3 - Estrutura dos monossacarídeos que formam as hemiceluloses.



Fonte: FENGEL; WEGENER, 1984.

3.1.3. LIGNINA

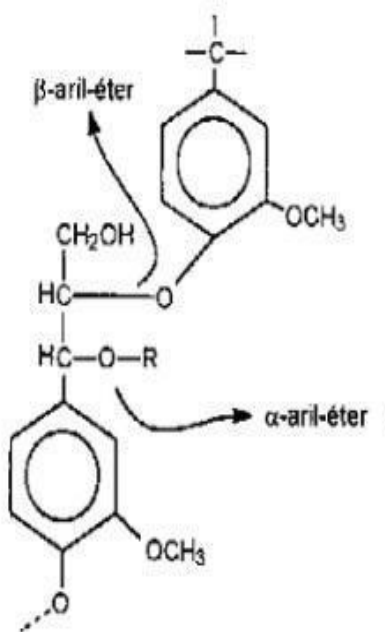
A lignina é a segunda macromolécula mais abundante da Terra, depois da celulose. Caracteriza-se pelo elevado número de grupos $-\text{CH}_3$ e de grupos $-\text{OH}$. Sua estrutura química difere dependendo da sua origem ser de madeira folhosa (dura) ou de coníferas (mole).

É essencialmente uma macromolécula tridimensional de unidades fenilpropano, amorfa, com as suas unidades ligadas entre si por ligações do tipo éter e ligações carbono-

carbono (FAN *et al.*, 1982), e com propriedades hidrofóbicas (BOWES; MAUSETH, 2008). As ligações entre as unidades básicas de fenilpropano não ocorrem de forma regular e repetitiva, mas sim através de acoplamento aleatório de radicais, a partir de três álcoois precursores: álcoois p-cumárico, coniferílico e sinapílico (BURANOV; MAZZA, 2008).

A lignina é o principal componente não polissacarídico da biomassa lignocelulósica, representando cerca de 17-33% em massa (base seca) de sua composição. A lignina serve como uma espécie de “cola” para as células das plantas, preenchendo espaços vazios entre as microfibrilas de celulose e as hemiceluloses (GELLERSTEDT, G.; EK, M.; HENRIKSSON, G., 2009), enquanto promove força e resistência à estrutura da planta e suas células vegetais. A figura 4 demonstra como as ligações α - e β -aril éter são responsáveis por ligar os álcoois aromáticos da molécula da lignina,

Figura 4 - Ligações α - e β -aril éter da macromolécula de lignina



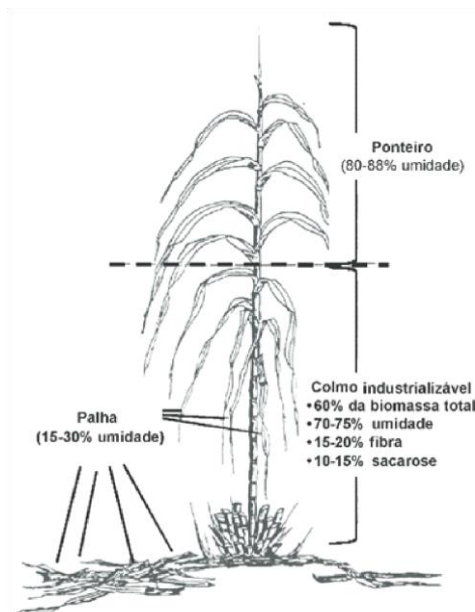
Fonte: FENGEL; WEGENER, 1984.

3.2. CANA-DE-AÇÚCAR

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) é uma gramínea que tem sua origem no sudeste asiático, e foi trazida ao Brasil pelos portugueses no século XVI, e hoje é muito cultivada nas regiões tropicais e subtropicais do país (ROSILLO-CALLE *et al.*, 2005). As plantações de cana-de-açúcar já estão tradicionalmente estabelecidas no Brasil, e as indústrias têm buscado novas tecnologias e formas de agregar valor aos coprodutos do açúcar e do álcool.

A estrutura física da cana-de-açúcar é composta basicamente por córtex (ou casca), tecido parenquimatoso e tecido fibrovasculares. A presença de fibras altamente lignificadas no córtex confere a este o papel de proteção e sustentação da planta, conferindo a característica da espessura da parede celular, a rigidez e o comprimento das fibras (SANT'ANNA *et al.*, 2014). A parte interna está dividida em: tecido parenquimatoso, o qual é caracterizado por um tecido não fibroso com a função de armazenar a sacarose produzida pela planta; e as tecido fibrovasculares, que estão mergulhadas no tecido parenquimatoso, atuando no sistema de sustentação e condução de seiva e outros produtos ao longo da planta (PATURAU, 1989). A Figura 5 esquematiza uma planta de cana-de-açúcar.

Figura 5 – Planta de cana-de-açúcar, suas componentes (colmo, ponteiro e palha) e as respectivas composições em termos de umidade e biomassa.



Fonte: MATSUOKA et al., 2015

Os dois principais carboidratos da cana-de-açúcar são a celulose e a sacarose, presentes na fibra e no caldo, respectivamente. A sacarose é um dissacarídeo, composto pelos monossacarídeos frutose e glicose (CLARKE; GODSHALL, 1988). A tabela 2 apresenta os valores de cada componente da cana-de-açúcar.

Tabela 2 - Composição da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e dos sólidos do caldo

Constituintes	Cana (%)
Água	73-76
Sólidos	24-27
Sólidos Solúveis	10-16
Fibra (base seca)	11-16
Constituintes do caldo	Sólidos Solúveis (%)
Açúcares	75-92
Sacarose	70-88
Glucose	2-4
Frutose	2-4
Ácidos	3,0-4,5
Ácidos Inorgânicos	1,5-4,5
Ácidos Orgânicos	1,0-3,0
Ácidos Carboxílicos	1,1-3,0
Aminoácidos	0,5-2,5
Outros compostos	
Proteínas	0,5-0,6
Amido	0,001-0,05
Gomas	0,3-0,6
Ceras, gorduras, fosfatos	0,05-0,15

Fonte: CLARKE; GODSHALL, 1988.

No contexto brasileiro, o bagaço de cana-de-açúcar é a fonte de biomassa lignocelulósica mais abundante. O teor dos componentes principais do bagaço de cana de 60 amostras de várias regiões do Brasil e também de várias variedades genéticas foi descrito por Rocha *et al.* (2015) como sendo, em média, 42,19% de celulose, 27,60% de

hemiceluloses, 21,56% de lignina, 5,63% de extrativos e 2,84% de inorgânicos (expressado como cinzas).

É possível analisar o potencial energético da cana-de-açúcar ao observar os seus três principais constituintes: para cada tonelada de cana, 1.700 milijoules (mJ) provêm do etanol, 2.100 mJ do bagaço e 2.150 mJ da palha (MOREIRA, 2000).

A Lei 11.241/02 regulamentada pelo Decreto 47.700/03 dispõe sobre a eliminação gradual da queima da palha da cana-de-açúcar até 2021 no Estado de São Paulo, essa proibição da prática da queimada em alguns locais aumentou significativamente a quantidade de subprodutos de cana-de-açúcar disponíveis para a indústria (SEABRA *et al.*, 2010). A tendência é que a mesma ação ocorra nos demais estados produtores de cana e conseqüentemente, o setor sucroalcooleiro irá se encontrar com um novo resíduo abundante, a palha, constituída das folhas e resíduos vegetais da própria cana-de-açúcar (JUSBRASIL, 2002; OLIVEIRA, 2010).

3.2.1. PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR

A palha é constituída basicamente das folhas secas, da cana-de-açúcar. Essa parte da cana é comumente utilizada para geração de produtos com alto valor agregado, pois aproximadamente 30% da energia da planta está contida nesse material (ALMEIDA, 2008).

O tecido vegetal da palha de cana-de-açúcar possui os mesmos componentes químicos do bagaço ou da madeira. Porém, as suas propriedades físico-mecânicas, geométricas, térmicas e energéticas são diferentes.

Por muito tempo a palha da cana-de-açúcar foi queimada, visando facilitar a colheita e dar maior segurança aos trabalhadores, já que o fogo afugentava animais peçonhentos que se escondiam nas plantações e significavam um risco para os mesmos. Porém, a queimada do canavial causa sérios problemas de caráter ambiental, além de prejudicar a saúde pública por causa da grande poluição da atmosfera com fuligem e compostos tóxicos, comprometendo a qualidade do ar nas regiões de plantio (OLIVEIRA, 2010). No que tange a qualidade do solo, as queimadas prejudicavam as características químicas, físicas e biológicas do solo, prejudica a reciclagem dos nutrientes e diminui o percentual de açúcares redutores totais (ART) contidos na cana-de-açúcar (FERREIRA, 2014).

A deposição da palha de cana-de-açúcar no próprio solo da área plantada é uma prática utilizada para recuperar a qualidade do solo. Todavia, se houver excesso da cobertura do solo os resultados podem ser prejudiciais as plantas que estão se desenvolvendo, afetando a umidade, luminosidade e temperatura do solo, além de favorecer a propagação de parasitas das sementes (CORREIA; DURIGAN, 2004).

A safra média de cana-de-açúcar no Brasil é de 85 toneladas por hectare de área plantada por ano, onde são geradas cerca de 12 toneladas de palha por hectare de plantação. A palha da cana-de-açúcar, sendo um resíduo agrícola (fonte de material lignocelulósico) tem sua composição formada geralmente por 40-44% de celulose, 30-32% de hemicelulose e 22-25% de lignina (SANTOS *et al.*, 2012).

3.3. PRÉ-TRATAMENTO ORGANOSOLV

Devido à sua elevada recalcitrância, a biomassa lignocelulósica requer uma ou mais etapas de pré-tratamento (fracionamento) para garantir que a celulose se torne susceptível a hidrólise enzimática. As técnicas de pré-tratamento podem ser mecânicas, físicas, químicas, quimiomecânicas ou biológicas.

O pré-tratamento mecânico tem como resultado a divisão do material lignocelulósico em finas partículas, que estão suscetíveis à hidrólise ácida ou enzimática (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). Neste processo, o material apresenta tamanho reduzido, após combinação de moagem e trituração, dependendo do tamanho desejado de partícula (ALVIRA *et al.*, 2010; SUN; CHENG, 2002).

O pré-tratamento químico ocasiona deslignificação, diminuição de cristalinidade da celulose, redução do grau de polimerização e aumento da porosidade (CHANDRA *et al.*, 2007). Como exemplos, têm-se os métodos organosolv, ácido diluído, alcalino e ozonólise.

O pré-tratamento organosolv utiliza uma mistura de um solvente orgânico com água em temperaturas entre 170 a 250°C com o intuito de remover lignina da biomassa lignocelulósica (MUURINEN, 2000). O processo pode ser realizado sem a presença de um catalisador, ou na presença de um catalisador ácido ou básico. Em elevadas temperaturas, ácidos orgânicos como ácido acético são formados pela hidrólise de grupos acetila, gerando acidez suficiente no meio reacional para hidrolisar e remover parte da lignina, que é

solubilizada pelo solvente orgânico, bem como remover parcialmente ou completamente as hemiceluloses (AGBOR *et al.*, 2011).

A fragmentação da lignina consiste principalmente da clivagem solvolítica das ligações α - e β -aril éter. Estes fragmentos são pouco polares, e, portanto, são transportados para o meio reacional por meio do solvente orgânico (MCDONOUGH, 1992). No final do processo organossolv, a fração sólida é lavada com solvente orgânico para remover quaisquer fragmentos de lignina aderidos à superfície do sólido que seriam inibitórios para a hidrólise enzimática (uma alternativa usada em alguns trabalhos da literatura é lavar o sólido com solução aquosa diluída de NaOH) (NOVO, 2012).

Em resumo esse pré-tratamento está sendo considerado promissor para o conceito de biorrefinaria lignocelulósica devido a sua capacidade de produzir celulose com bons rendimentos na hidrólise enzimática, bem como de lignina de elevada pureza (ZHAO *et al.*, 2009).

Este projeto avançou melhorando o conceito de biorrefinaria do processo organossolv, recuperando também a fração de hemicelulose do material.

4. METODOLOGIA

4.1. PREPARO DA BIOMASSA

A biomassa selecionada para os experimentos foi a folha da cana-de-açúcar, a qual foi colhida na região de Rio Claro (SP), armazenada em sacos plásticos e transportada até o Instituto de Pesquisa em Bioenergia (IPBEN). O material foi espalhado e seco ao ar por um período de uma semana. Na sequência o material foi exposto ao sol, ganhando uma aparência que se assemelha a palha.

Posteriormente, a biomassa foi moída em moinho de facas tipo Wiley, diminuindo os fragmentos da folha da cana-de-açúcar até passar por uma peneira de 20 mesh. A figura 6 mostra a transformação física da biomassa durante o tratamento.

A redução no tamanho das partículas teve como objetivo aumentar a superfície para contato, que permite uma maior eficiência no processo de pré-tratamento. Durante todo o trabalho experimental foi utilizado o mesmo lote de matéria-prima.

Figura 6 – Biomassa antes e depois do preparo para os experimentos



Fonte: O autor.

4.2. PRÉ TRATAMENTO ORGANOSOLV

O pré-tratamento organsolv foi realizado em reator aço inox com volume operacional de 50 mL, avaliando condições operacionais como tempo de reação (5 a 85 minutos), temperatura (90 a 210°C), utilizando concentração de solvente variando entre 30 e 90% e concentração de hidróxido de sódio de 3 a 10,5% (% m/m massa de base por massa de material). Uma ampla faixa de trabalho definida pela metodologia de planejamento e otimização do experimento, empregando o modelo rotacional do tipo estrela .

4.2.1. ETAPAS DO PRÉ TRATAMENTO

Primeiramente, foi definido que o pré-tratamento teria caráter alcalino, essa decisão foi tomada devido ao efeito que o meio alcalino tem sobre a lignina, sendo efetivo em sua solubilização. Porém, apresentam baixa solubilização da celulose se comparados com os pré-tratamentos ácidos (ALVIRA *et al*, 2010; MOSIER *et al*, 2005; KUMAR *et al*, 2009).

O álcali é um agente de inchamento, onde a base age indiretamente, sendo a água o agente de quebra (KOSARIC; VARDAR-SUKAN, 2001). A migração da água para dentro

do material é proporcionada pela maior abertura da estrutura devido ao inchaço da biomassa, que aumenta a superfície de contato. Uma vez dentro da biomassa, a água rompe a ligação de hidrogênio entre a hemicelulose e a lignina-carboidrato (BALAT *et al*, 2008). O efeito é a diminuição da cristalinidade e a ruptura da lignina através da quebra das ligações aril-éter. Segundo Kong et al. (1992), a tecnologia alcalina remove grupos acetila da hemicelulose.

O pré-tratamento organosolv foi iniciado então com o preparo de uma solução medida em uma proveta graduada de 100 mL, na proveta foi inserido, etanol (em quantidade definida pelo planejamento experimental de acordo com cada ensaio) e água até atingir 50 mL. Em seguida foi adicionado NaOH (parâmetro de projeto), base escolhida para ser o reagente. Posteriormente foi pesado 5 g de biomassa em uma balança semi-analitica sendo a mesma colocada dentro de um reator de aço inox de 50 mL, onde adicionou-se a solução já preparada.

O reator foi aquecido em banho de óleo, onde a temperatura e o tempo seguiram o determinado no planejamento e otimização do projeto, após concluir esta etapa, o material foi filtrado se dividindo em fração sólida e líquida.

A fração sólida, rica em celulose, foi lavada com cerca de 500 mL de água filtrada, para a remoção de impurezas e em seguida foi seco em estufa (60°C) até atingir o peso constante.

A fração líquida, rica em hemicelulose e lignina, foi depositada em um frasco scott onde sofreu adição de 100 mL de etanol, após esta etapa a nova solução foi colocada para decantar por no mínimo 8 horas. Quando a solução apresentou o substrato decantado a separação das fases foi feita transferindo o líquido.

O precipitado foi seco em estufa a 60°C até apresentar peso constante, essa fração seca, constitui-se principalmente de hemicelulose. Já a nova fração líquida foi acidificada, com HCl 5 molar, até atingir o pH 2 e foi colocada para decantar por 8 horas. Após o período de decantação, ocorreu a separação dos meios e o material precipitado foi seco em estufa há 60°C até peso constante, finalizado essa etapa, a fração seca constitui-se principalmente de lignina.

4.2.2. ALTERNATIVAS PARA RECUPERAÇÃO DA LIGNINA

A lignina, segundo a metodologia para sua recuperação, deveria sofrer acidificação, aproximando o pH da amostra a 2, esta condição seria ideal para a precipitação e recuperação da mesma. Todavia, após a aplicação da metodologia citada acima, não ocorreu precipitação da lignina como o esperado, o que se observou foi a presença de um material sobrenadante. Para recuperação da lignina, como alternativa, as amostras foram secas em estufa de recirculação a 60°C (até atingir peso constante), com o objetivo de evaporar a fração líquida e recuperar o material que estava sobrenadante.

5. RESULTADOS

5.1. RECUPERAÇÃO DA LIGNINA

Este processo provocou evaporação da solução, resultando em um material sólido composto por todos os elementos que estavam solúveis. Com este procedimento, não somente a lignina foi obtida, mas também outros compostos, com predominância de sais, como o cloreto de sódio (NaCl), como pode ser observado na Figura 7.

Os sais alteraram de forma significativa a massa e o caráter da amostra, tornando a recuperação da lignina inconclusiva, devido à presença de impurezas. Possivelmente, o meio rico em etanol colaborou em manter a lignina solúvel mesmo em solução ácida. Posteriormente foi realizado teste de evaporação do etanol, e desta forma foi possível precipitar a lignina (dados não apresentados).

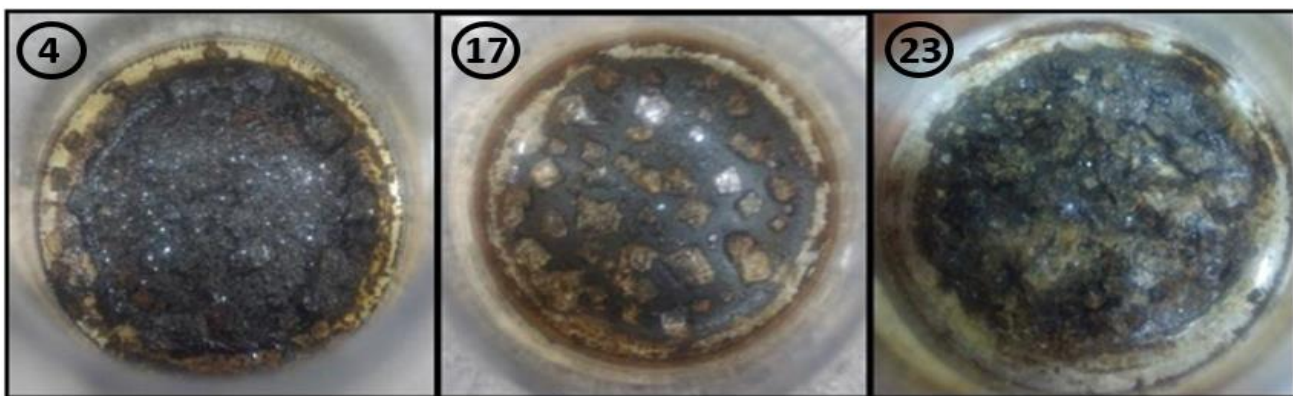
Tabela 3 - Tabela 3 – Massa de material recuperado após acidificação, atribuído a lignina e sal.

ENSAIO	SOLVENTE (%)	NaOH (% m/m)	TEMPERATURA (°C)	TEMPO (min)	Material recuperado após acidificação (g)
1	30	3,0	120	25	3,07
2	70	3,0	120	25	5,13
3	30	8,0	120	25	4,51
4	70	8,0	120	25	5,74
5	30	3,0	180	25	4,08
6	70	3,0	180	25	4,71
7	30	8,0	180	25	2,87
8	70	8,0	180	25	5,33
9	30	3,0	120	65	3,12
10	70	3,0	120	65	2,32
11	30	8,0	120	65	3,94
12	70	8,0	120	65	4,73
13	30	3,0	180	65	5,39
14	70	3,0	180	65	3,56
15	30	8,0	180	65	4,89
16	70	8,0	180	65	3,78
17	10	5,5	150	45	1,27
18	90	5,5	150	45	4,82
19	50	0,5	150	45	1,79
20	50	10,5	150	45	4,32
21	50	5,5	90	45	3,23
22	50	5,5	210	45	4,97
23	50	5,5	150	5	4,21
24	50	5,5	150	85	4,95
25	50	5,5	150	45	5,21
26	50	5,5	150	45	5,37
27	50	5,5	150	45	4,53

Fonte: O autor.

A massa de material recuperado, contendo lignina e sais variou de 1,27 a 5,74 gramas (Tabela 3). Esta variação de massa não seguiu padrão ou tendência, possivelmente não sendo influenciada pelas condições do processo, mas sim pela etapa de neutralização/acidificação. Na figura 7 é possível observar cristais de sais no material precipitado, junto com a lignina.

Figura 7 – Material obtido após a acidificação e secagem das soluções dos ensaios 4, 17 e 23.



Fonte: O autor.

5.2 RECUPERAÇÃO DA XILANA

No caso da xilana, após realizar todas as etapas citadas na metodologia foi possível recuperar o material na forma sólida. A Tabela 5 apresenta a massa em gramas da xilana recuperada através do pré-tratamento, variando as condições experimentais.

A massa de xilana variou de 0,78 a 2,36 gramas (Tabela 4). O ensaio com menor massa recuperada de xilana foi com condições de temperatura de 120°C, tempo de reação igual a 25 minutos, a concentração de etanol (solvente) utilizado foi de 70% e a concentração do reagente alcalino foi igual a 3%. Enquanto o ensaio que levou a recuperação da maior massa de xilana foi realizado nas condições de temperatura igual a 90°C, tempo de reação de 45 minutos, concentração de etanol (solvente) utilizada foi de 50% e a concentração do álcali foi igual a 5,5%.

Tabela 4 - Massa de xilana recuperada através do pré-tratamento organosolv.

ENSAIO	SOLVENTE (%)	NaOH (% m/m)	TEMPERATURA (°C)	TEMPO (min)	XILANA (g)
1	30	3,0	120	25	0,92
2	70	3,0	120	25	0,78
3	30	8,0	120	25	1,50
4	70	8,0	120	25	0,89
5	30	3,0	180	25	1,25
6	70	3,0	180	25	1,34
7	30	8,0	180	25	1,75
8	70	8,0	180	25	1,34
9	30	3,0	120	65	1,72
10	70	3,0	120	65	1,88
11	30	8,0	120	65	1,62
12	70	8,0	120	65	1,12
13	30	3,0	180	65	0,89
14	70	3,0	180	65	1,84
15	30	8,0	180	65	1,33
16	70	8,0	180	65	1,80
17	10	5,5	150	45	1,00
18	90	5,5	150	45	1,66
19	50	0,5	150	45	1,28
20	50	10,5	150	45	1,86
21	50	5,5	90	45	2,36
22	50	5,5	210	45	1,80
23	50	5,5	150	5	1,76
24	50	5,5	150	85	1,39
25	50	5,5	150	45	1,53
26	50	5,5	150	45	1,46
27	50	5,5	150	45	1,60

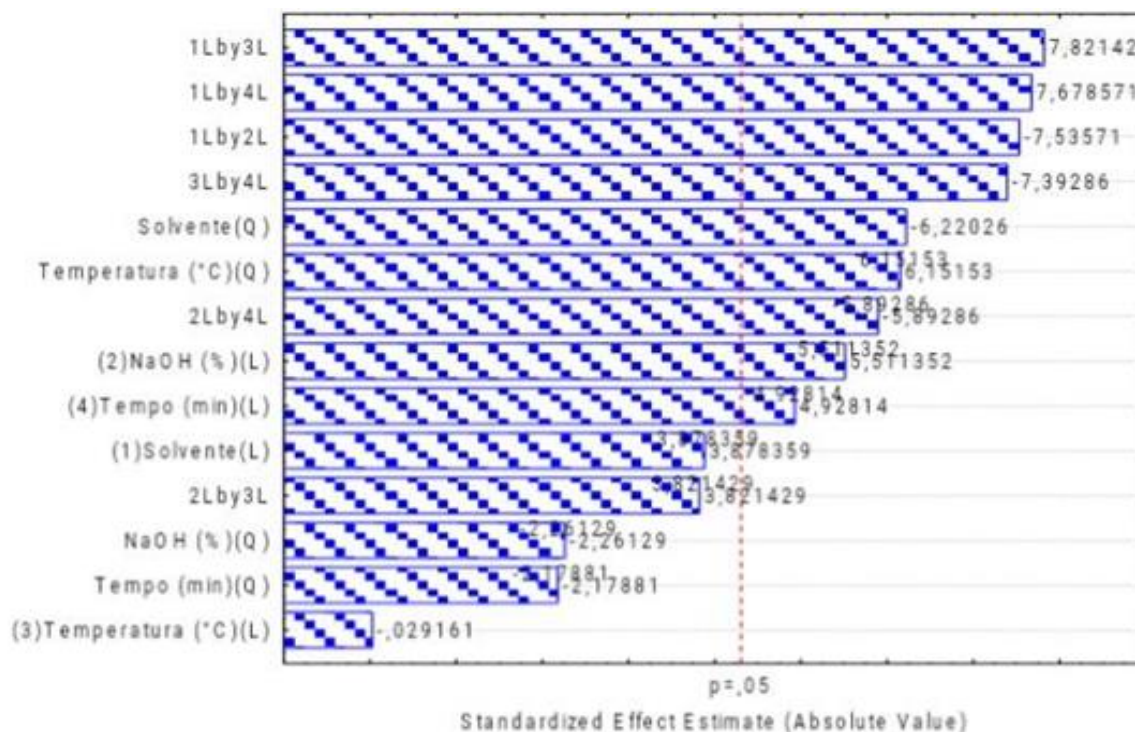
Fonte: O autor.

Desta forma, para analisar a influência dos parâmetros de pré-tratamento nos ensaios, foi utilizado o software Statistica, através dele foi possível criar o Gráfico de Pareto, Gráfico de Superfície de Resposta e o Gráfico de contorno. Deste modo, verificou-se que forma as variáveis influenciaram na recuperação da xilana.

5.2.1. GRÁFICO DE PARETO

O Gráfico de Pareto (figura 8) gerado pelo software, demonstrou que as principais relações entre os parâmetros de pré-tratamento que influenciaram na recuperação da xilana, foram o tempo associado a concentração de NaOH, novamente a concentração do álcali associada ao solvente e a temperatura associada ao etanol . Baseado nessas relações foram gerados três gráficos de superfície de resposta para uma comparação do efeito destas variáveis na solubilização de xilana.

Figura 8 – Gráfico de Pareto - Influência das condições de pré-tratamento organosolv com reagente alcalino.



Fonte: O autor.

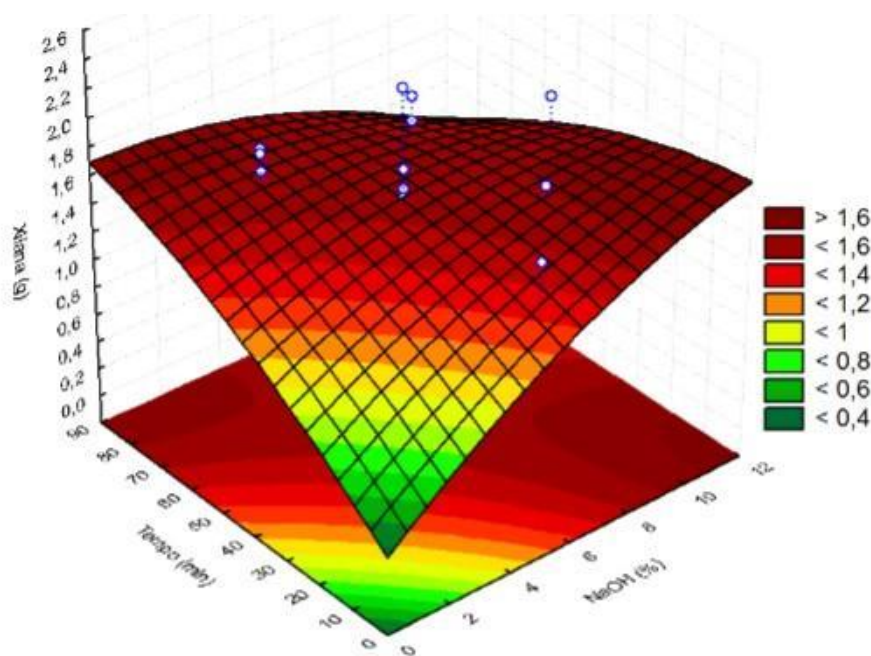
O fato de a concentração do álcali ser um fator de influência em dois dos três gráficos, está de acordo com a literatura. CHEN *et al*, 2009 afirmou que o pré-tratamento alcalino permite a maior deslignificação efetiva e remoção da hemicelulose, deixando as fibras de celulose altamente suscetíveis à digestão enzimática.

5.2.2 TEMPO DE REAÇÃO VERSUS CONCENTRAÇÃO DE NAOH

Para gerar o primeiro gráfico de superfície de resposta, o parâmetro da temperatura e o da concentração de solvente foram fixados nas condições do ponto central, ou seja, a temperatura utilizada foi igual a 150°C enquanto a concentração de solvente usada foi de 50%.

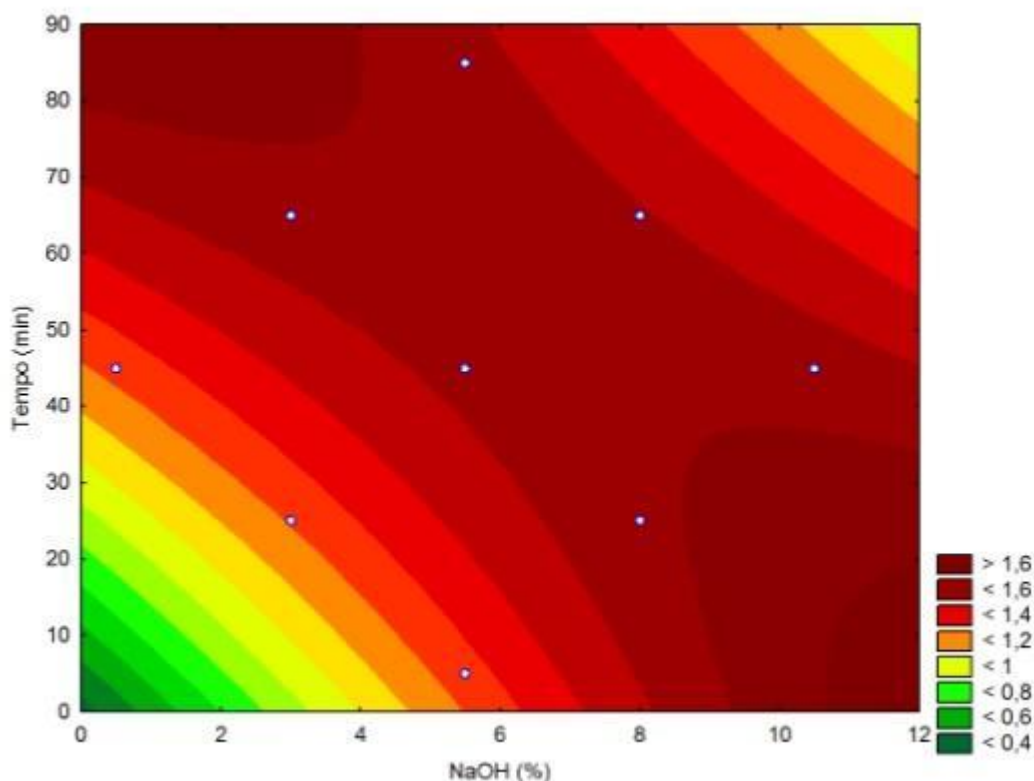
Analisando a variação do tempo de reação e da concentração de NaOH foi possível gerar os dois gráficos 9 e 10, superfície de resposta e contorno, respectivamente (Figura 9 e 10).

Figura 9 – Superfície de Resposta da massa de Xilana recuperada de acordo com a concentração de NaOH e o tempo de reação.



Fonte: O autor.

Figura 10 – Gráfico de Contorno da massa de xilana recuperada de acordo com a concentração de NaOH e o tempo de reação



Fonte: O autor

No gráfico de contorno os melhores resultados na recuperação da xilana ocorreram a partir dos 45 minutos de reação e com concentração de 5,5% de NaOH, o que pode ser comprovado observando o resultado da amostra 21, onde a biomassa inicial foi submetida às condições de pré-tratamento iguais a citada acima e foi possível recuperar 2,36 g de xilana.

Vale ressaltar que o aumento da concentração de NaOH e do tempo de reação de forma linear não significaram melhores resultados. Em condições extremas de pré-tratamento a massa recuperada começou a decrescer como pode ser observado nas figuras 9 e 10.

Comparativamente, a menor concentração do álcali (0,5%) rendeu uma quantidade de massa de 1,28 gramas, enquanto a maior concentração do álcali (10,5%) rendeu aproximadamente 1,86 gramas, mostrando um resultado que vai de encontro à literatura, já

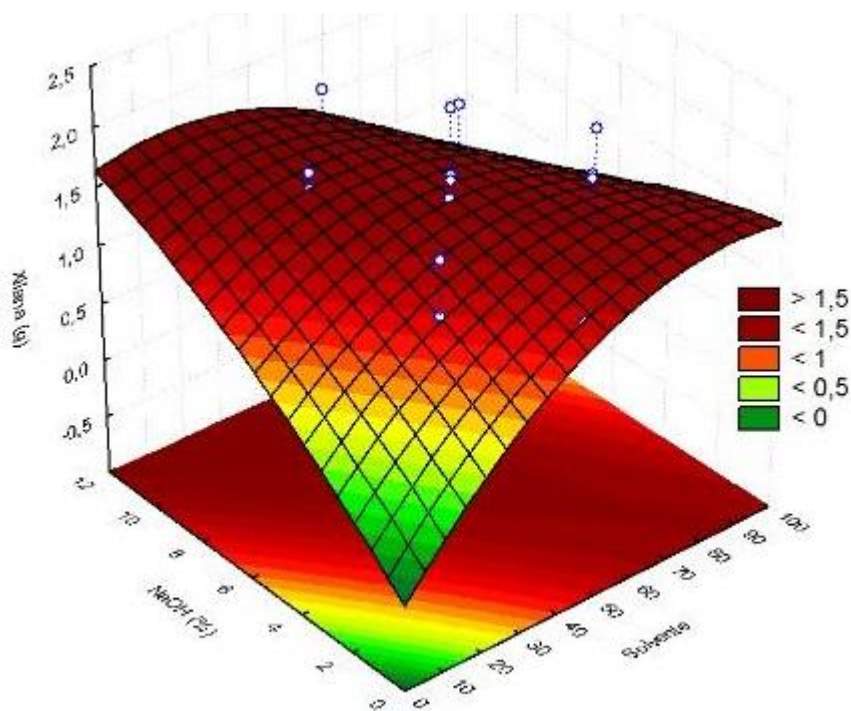
que a principal função do hidróxido de sódio é a remoção da hemicelulose do material (CHANG *et al.*, 1998).

5.2.3 CONCENTRAÇÃO DE SOLVENTE VERSUS CONCENTRAÇÃO DE NAOH

Para a segunda análise, os parâmetros da temperatura e o do tempo de reação foram fixados em seus pontos centrais, ou seja, a temperatura utilizada foi 150°C enquanto o tempo de reação utilizado foi correspondente a 45 minutos.

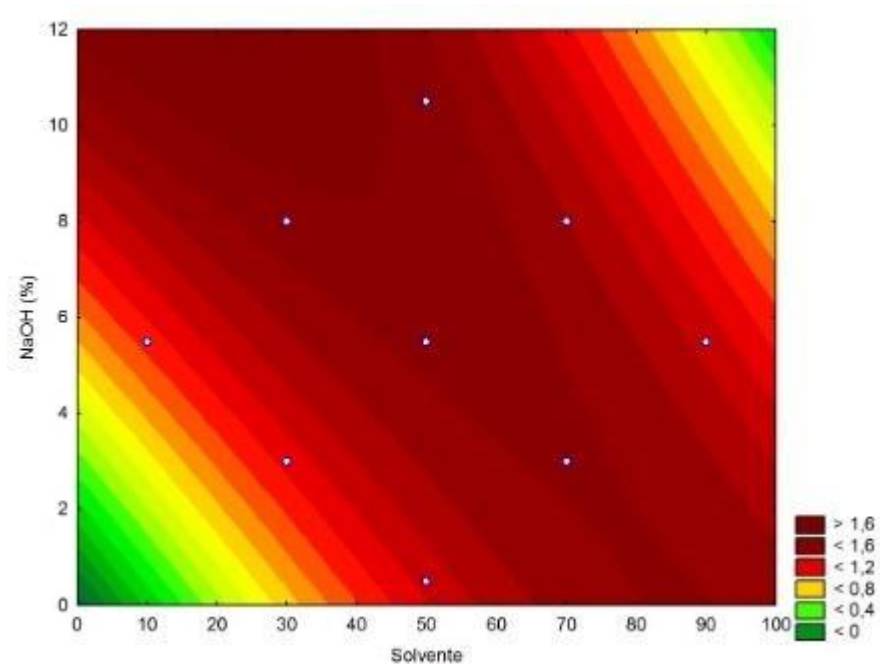
Analizando a variação da concentração de solvente e da concentração de NaOH foi possível gerar as figuras 11 e 12, de superfície de resposta e de contorno:

Figura 11 – Superfície de Resposta da massa de xilana recuperada de acordo com a concentração de solvente e a concentração de NaOH.



Fonte: O autor.

Figura 12 – Gráfico de Contorno da massa de xilana recuperada de acordo com a concentração de solvente e a concentração de NaOH.



Fonte: O autor.

Os gráficos de superfície de resposta e contorno permitem avaliar o comportamento dos ensaios quando dois parâmetros estão associados. Através do gráfico de contorno é possível visualizar a melhora na recuperação da xilana quando a concentração de solvente atinge 35% e a de NaOH atinge 5,5% e a piora quando as concentrações ultrapassam 90% e 10% respectivamente, demonstrando mais uma vez que condições extremas de pré-tratamento não são efetivas para o objetivo deste projeto.

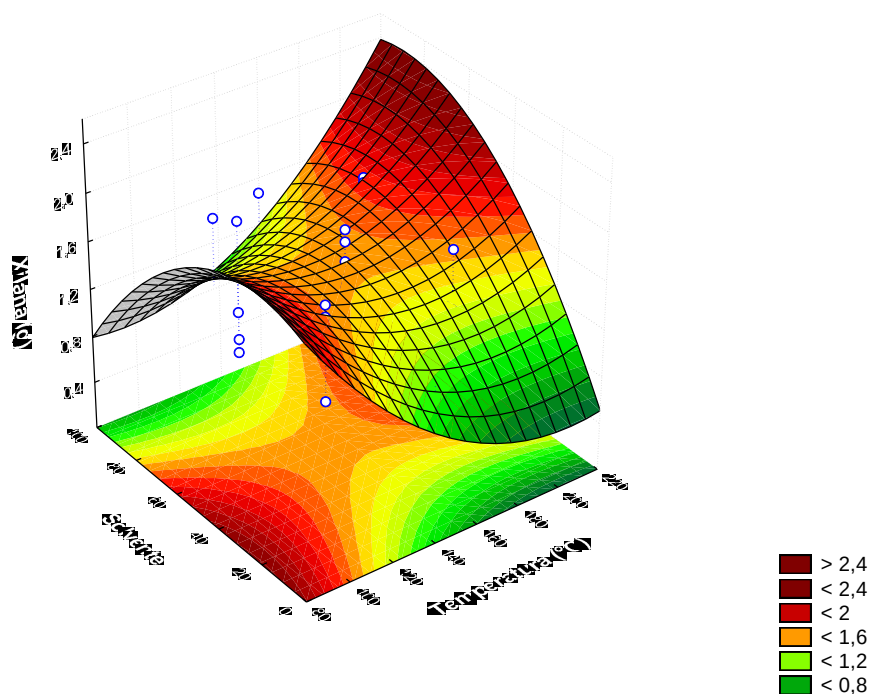
Os resultados estão de acordo com a literatura, segundo o Núcleo de Análise Interdisciplinar de Políticas e Estratégias da Universidade de São Paulo, uma solução que utiliza a concentração de 75 % de etanol e 25% de água, quando sujeita a uma combinação adequada de altas temperaturas em um curto tempo de reação, se torna a combinação mais efetiva para que o pré-tratamento organosolv dissolva a lignina, favorecendo a recuperação da celulose e da hemicelulose. Observando a concentração de 75% de solvente (etanol) no gráfico, observamos que todos os pontos estão classificados acima de 1,2 gramas de massa

recuperada de xilana, ou seja, um resultado positivo que corrobora a literatura (SOARES, 2011).

5.2.4. TEMPERATURA VERSUS CONCENTRAÇÃO DE SOLVENTE

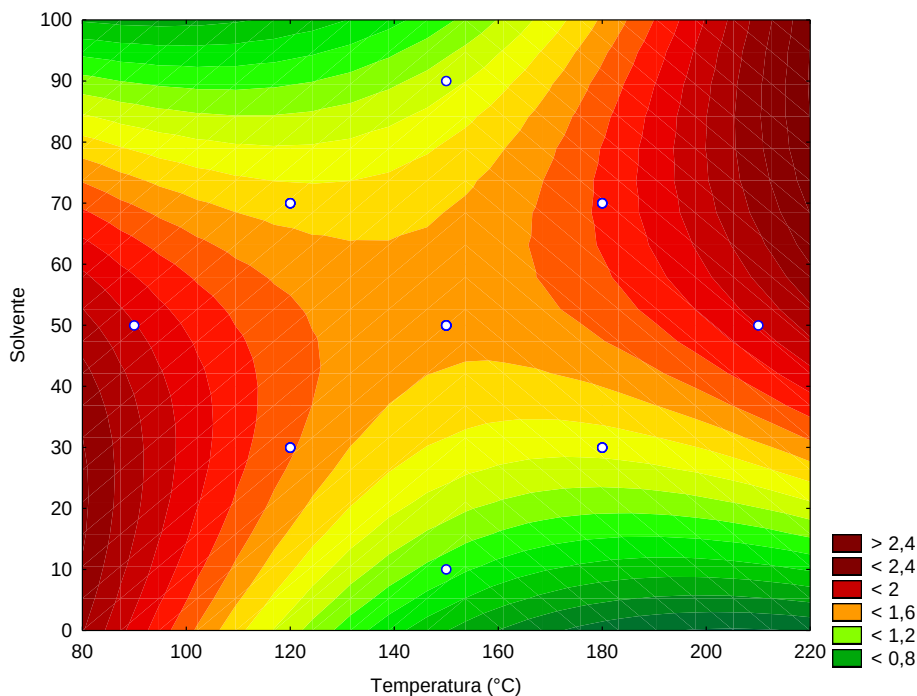
Os gráficos de superfície de resposta (representado pela figura 13) e o gráfico de contorno (representado pela figura 14) demonstram o comportamento da xilana quando os parâmetros temperatura e concentração de etanol estão associados. Através do gráfico de contorno é possível visualizar a melhora na recuperação do material quando a concentração de solvente está no intervalo de 0% a 70% e a temperatura está no intervalo 0°C a 120°C ou de 180°C a 220°C. Fazendo com que nessa associação as condições extremas se tornem efetivas para o objetivo deste projeto.

Figura 13 – Superfície de Resposta da massa de xilana recuperada de acordo com a temperatura e a concentração de solvente.



Fonte: O autor.

Figura 14 – Gráfico de Contorno da massa de xilana recuperada de acordo com a temperatura e a concentração de solvente.



Fonte: O autor.

6. CONCLUSÃO

No que tange a escolha das condições experimentais para o pré-tratamento organosolv em meio alcalino observou-se que todos os parâmetros utilizados para influenciar a biomassa estudada (folha da planta de cana-de-açúcar) se mostraram efetivos e importantes no processo de recuperação da xilana. Quando utilizadas as condições experimentais de menor e maior severidade, a massa recuperada não atinge valores significativos, através dessa observação é possível indicar uma faixa ótima, para o aumento da eficiência de recuperação da xilana. Essa faixa se inicia quando a concentração do álcali é igual a 6,5%, a concentração de solvente é igual a 40% e o tempo de reação igual a 50 minutos, e a faixa se encerra quando a concentração de NaOH atinge 12%, a de etanol 75% e o tempo de reação 65 minutos. Através deste estudo observou-se a existência de uma relação direta entre a concentração de NaOH utilizada no pré-tratamento e a recuperação da xilana da folha da planta de cana-de-açúcar.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBOR, V. B. et al. **Biomass pretreatment: Fundamentals toward application** *Biotechnology Advances*, 2011.

ALVIRA, P., TOMÁS-PEJO, M., NEGRO, M.J. **Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review.** *Bioresource Technology*, v.101, p.4851-4861, 2010.

BALAT, M.; BALAT, H., O'ZB, C. Progress in bioethanol processing. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 34, p.551-573, 2008.

BINOD, P., SINDHU, R., SINGHANIA, R. R., VIKRAM, S., DEVI, L., NAGALAKSHMI, S., PANDEY, A.. **Bioethanol production from rice straw: An overview**, 2010.

BOWES, B.G., MAUSETH, J.D. **Plant Structure – a Color Guide.** Jones and Bartlett Publishers, 2a edição, 2008.

BRIENZO, Michel et al. **Comparison Study on the Biomass Recalcitrance of Different Tissue Fractions of Sugarcane Culm.** *BioEnergy Research*, v. 7, n. 4, p. 1454-1465, 2014.

BRIENZO M, ABUD Y, FERREIRA S, CORRALES RCNR, FERREIRA-LEITÃO VS, DE SOUZA W, SANT'ANNA C. **Characterization of anatomy, lignin distribution, and response to pretreatments of sugarcane culm node and internode.** *Industrial Crops and Products*, 2016.

BURANOV, A.U., MAZZA, G. **Lignin in Straw of Herbaceous Crops.** *Ind. Crops and Prod.*, n. 28, p. 237-259, 2008.

CARVALHO, W., CANILHA, L., FERRAZ, A., & MILAGRES, A.M.F. **Uma visão sobre a estrutura, composição e biodegradação da madeira.** Química Nova, (2009).

CHANDRA, R.P., BURA, R., MABEE, W.E., BERLIN, A., PAN, X., SADLEIR, J.N. **Substrate pretreatment: the key to effective enzymatic hydrolysis of lignocelulosics?** Adv. Biochem. Engin. Biotechnol., n.108, p.67–93, 2007.

CHANG, V. S., NAGWANI, M., & HOLTZAPPLE, M. T. (1998). **Lime pretreatment of crop residues bagasse and wheat straw.** Applied Biochemistry and Biotechnology, 74(3), 135-159.

CHEN, M., ZHAO, J., XIA, L. **Comparison of four different chemicals pretreatment of corn stover for enhancing enzymatic digestibility.** Biomass and energy, n.33, p. 1381-1385, 2009.

CLARKE, M.A., GODSHAL, M.A. **Chemistry and Processing of Sugarbet and Sugarcane.** Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam; 1988.

DEMİRBAŞ, A. **Fuel Conversional Aspects of Palm Oil and Sunflower Oil.** Energy Sources, (2003).

FAN, L.T., LEE, Y.H., GHARPURAY, M.M. **The nature of lignocelulosics and their pretreatments for enzymatic hydrolysis.** Adv. Biochem. Eng., n.23, p. 157-187, 1982.

FENGEL, D. e WEGENER, G. **Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions,** Berlin and New York, 1984.

FERREIRA, F. N. A., FERREIRA, W. M., MOTA, K. C. D. N., SILVA NETA, C. S., LARA, L.B.; SANTOS, E. A. D. **Avaliação nutricional do bagaço de cana-de-açúcar**

enriquecido com vinhaça em dietas para coelhos em crescimento. Revista Caatinga, (2015).

GELLERSTEDT, G.; EK, M.; HENRIKSSON, G. **Wood chemistry and biotechnology.** [s.l.] Walter de Gruyter GmbH and Co. KG, 2009.

GIBSON, L. J. **The hierarchical structure and mechanics of plant materials.** *Journal of the Royal Society Interface*, v. 9, p. 2749–2766, 2012.

GOUVEIA, E. R., NASCIMENTO R. T., SOUTO-MAIOR, A.M., ROCHA, G. J M. **Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar.** *Química Nova*. 32:1-4, 2009.

HENDRIKS, A.T.W.M., ZEEMAN, G. **Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass.** *Bioresource Technology*, n.100, p.10–18, 2009.

HU, F. et al. **Impact of Pseudolignin Versus Dilute Acid-Pretreated Lignin on Enzymatic Hydrolysis of Cellulose.** *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2012.

HU, F. e RAGAUSKAS, A. **Suppression of Pseudo-Lignin Formation Under Dilute Acid Pretreatment Conditions.** *Rsc Adv*. 4:4317, 2014.

IBGE. **A geografia da cana-de-açúcar: Dinâmica Territorial Agropecuaria** 8p. 2017

JEDVERT, Kerstin; HEINZE, Thomas. **Cellulose modification and shaping - a review** . [S.l.: s.n.], 2017. 845-860 p.

JUSBRASIL - **Lei 11241/02 | Lei nº 11.241, de 19 de setembro de 2002.**
Disponível em: <https://www.al.sp.gov.br/repositorio/legislacao/lei/2002/lei-11241-19.09.2002.html> Acesso em 14/09/2018.

KONG, F., ENGLER, C.R., SOLTES, E.J. **Effects of cell-wall acetate, xylan backbone and lignin on enzymatic hydrolysis of aspen Wood.** Applied Biochemistry and Biotechnology, n.34/35, p. 23-35, 1992.

KOSARIC, N.; VARDAR-SUKAN, F. Potential Source of Energy and Chemical Products. **The Biotechnology of Ethanol.** M. Roehr. Weinheim, WILEY-VCH. 2001

KUMAR, P. et al. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 28, n.8, p. 3713- 3729, 2009.

LEE, J. **Biological Conversion of Lignocellulosic Biomass to Ethanol.** Journal of Biotechnology, v. 56, 1997.

LORENCINI, P. **Otimização do Pré-tratamento Ácido de Bagaço de Cana para a sua Utilização como Substrato na Produção Biológica de Hidrogênio.** Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Programa de Pós-Graduação em Química, 2013.

MARTINS, L. F. **Caracterização do complexo celulásico de *Penicillium echinulatum*.** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2005. 121 p.

MATSUOKA, S.; BRESSIANI, J.; MACCHERONI, W.; FOUTO, I. **Sugarcane: Agricultural Production, Bioenergy and Ethanol.** pp. 383-405 Published by Elsevier Inc, 2015.

MCDONOUGH, T. **The chemistry of organosolv delignification IPST Technical Paper Series**. Disponível em: <<http://smartech.gatech.edu/handle/1853/2069>> (1992).

MELATI, R. B. ; SHMATZ, A. ; PAGNOCCA, F. C. ; CONTIERO, J. ; Brienzo, M.. **Sugarcane Bagasse: Production, Composition, Properties, and Feedstock Potential**. In: Rachel Murphy. (Org.). Sugarcane: Production Systems, Uses and Economic Importance. 1ed.Nova York: Nova Science Publishers, 2017, v. 1, p. 1-38

MOREIRA, J. R. **Sugarcane for energy – recent results and progress in Brazil**. Energy for Sustainable Development, (2000).

MOSIER, N. S. et al. **Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass**. Bioresource Technology, v. 96, p. 673–686, 2005.

MUURINEN, E. **Organosolv pulping. A review and distillation study related to peroxyacid pulping**, 2000.

NOVO, L. P. **Determinação da relação dos parâmetros de solubilidade de Hansen de solventes orgânicos com a deslignificação organossolve de bagaço de cana**. 139 f. Dissertação (Mestrado em Química, área de concentração Físico-Química) – Instituto de Química de São. [s.l: s.n.], (2012).

OKAMURA, K. **Structure of Cellulose**. In: Wood and Wood Cellulosic Chemistry. 10a. Marcel Decker Inc, 977p, 1990.

OLIVEIRA, F. M. V., **Avaliação de Diferentes Pré-Tratamentos e Deslignificação Alcalina na Sacarificação da Celulose de Palha de Cana**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de Lorena, 2010.

PANDEY, A. **Handbook of plant-based biofuels**. Boca Raton: CRC Press. ISBN, 1560221755, 2009

PATURAU, J.M. **By-product of the Cane Sugar Industry – an Introduction to their Industrial Utilization**. 3a. Ed. Amsterdam, Elsevier, 435p, 1989.

RAMOS, L.P. **The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials**. Quimica Nova. v. 26, n. 6, p. 863–871, 2003.

RASMUSSEN, H. et al., **Formation of Degradation Compounds From Lignocellulosic Biomass in the Biorefinery: Sugar Reaction Mechanisms**. Carbohydrate Research. 385(19):45-57, 2014.

RASMUSSEN, H. et al., **Formation of Degradation Compounds From Lignocellulosic Biomass in the Biorefinery: Sugar Reaction Mechanisms**. Carbohydrate Research. 385(19):45-57, 2014.

ROCHA, G. J. DE M. et al. **Influence of mixed sugarcane bagasse samples evaluated by elemental and physical–chemical composition**. Industrial Crops and Products, v. 64, p. 52–58, fev. 2015.

ROSILLO-CALLE, F. ; BAJAY, S. V.; ROTHMAN, H. **Uso da biomassa para produção de energia na indústria brasileira**. UNICAMP. 447 p. Campinas, 2005.

SANT'ANNA, C., et al., **The Influence of the Heterogeneity, Physicochemical and Structural Properties on the Recalcitrance and Conversion of Sugarcane Bagasse**. In: **Sugarcane: Production, Consumption and Agricultural Management Systems**. 1 ed.: Nova Science Publishers, p. 1-33, 2014.

SANTOS, D. S. **Produção de Etanol de Segunda Geração por Zymomonas mobilis Naturalmente Ocorrente e Recombinante, Empregando Biomassa Lignocelulósica**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, 2012.

SEABRA, J.E.A.; TAO, L.; CHUM, H.L.; MACEDO, I.C. **A techno-economic evaluation of the effects of centralized cellulosic ethanol and co-products refinery options with sugarcane mill clustering.** Biomass Bioenerg. 34, 1065–1078, 2010

SILVA, N.L.C. **Produção de Bioetanol de Segunda Geração a Partir de Biomassa Residual da Indústria de Celulose.** 123 p. Tese (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, RJ, 2010.

SILVANIA, A. L. **Aproveitamento de resíduos agroindustriais para a produção de celulasas e xilanases por espécies de Bacillus sp.** 2013. 139p. Tese. (Doutorado em Produção Vegetal) Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE, Rio de Janeiro, 2013.

SOARES, P. **Conversão da Celulose pela tecnologia Organosolv.** v. 3, NAIPPE/USP, São Paulo, SP, 2011.

SUN, Y., CHENG, J. **Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production: a Review.** Biosource Technology, n.83(1), p.1-11, 2002.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** Editora Armed, 4a edição, 2009.

TEERI, T. **Crystalline cellulose degradation: new insight into the function of cellobiohydrolases.** Trends in Biotechnology, n.15, p.160-167,1997.

YAMASHITA, M., MIZUSAWA, N., HOJO, M., & YABU, T. **Extensive apoptosis and abnormal morphogenesis in pro-caspase-3 transgenic zebrafish during development.** Journal of Experimental Biology, (2008).

ZHAO, X.; CHENG, K.; LIU, D. **Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis.** Applied Microbiology and Biotechnology, v. 82, n. 5, p. 815–827, 2009.