

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU**

**ESTUDO DO PRÉ-TRATAMENTO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR  
E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA**

**ALAINE PATRÍCIA DA SILVA MORAIS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Energia na Agricultura)

**BOTUCATU - SP**

Agosto - 2010

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU**

**ESTUDO DO PRÉ-TRATAMENTO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR  
E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA**

**ALAINE PATRÍCIA DA SILVA MORAIS**

Orientador: Prof. DR. Fernando Broetto

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Energia na Agricultura)

**BOTUCATU - SP**

Agosto – 2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

M827e      Morais, Alaine Patrícia da Silva, 1980-  
Estudo do pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar e  
caracterização físico-química / Alaine Patrícia da Silva  
Morais. - Botucatu : [s.n.], 2010

xi, 47 f. : ils., tabs., gráfs., fots. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2010  
Orientador: Fernando Broetto  
Inclui bibliografia.

1. Bagaço de cana-de-açúcar - pré-tratamento. 2. Ácido sulfúrico. 3. Caracterização físico-química. I. Broetto, Fernando. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS**  
**CAMPUS DE BOTUCATU**

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO: "ESTUDO DO PRÉ-TRATAMENTO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR  
E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA".**

**ALUNA: ALAINE PATRÍCIA DA SILVA MORAIS**

**ORIENTADOR : PROF. DR. FERNANDO BROETTO**

Aprovado pela Comissão Examinadora

  
\_\_\_\_\_  
PROF. DR. FERNANDO BROETTO

  
\_\_\_\_\_  
PROF. DR. JOSÉ PEDRO SERRA VALENTE

  
\_\_\_\_\_  
PROFA. DRA. LUCIANA FRANCISCO FLEURI

Data da Realização: 27 de agosto de 2010.

*Dedico.*

*A Deus por estar sempre presente na minha vida.  
Aos meus pais, Reginaldo e Aldiva pelo apoio, carinho e confiança.  
Aos meus irmãos Makson, Elayne e Lucas pelo companheirismo.  
A minha tia Maria de Jesus pela dedicação.  
E a minha sobrinha Aiara pelo incentivo.*

*Ofereço.*

*Aos meus pais, aos meus irmãos e aos meus  
guías espirituais por estarem sempre ao meu lado  
orientando-me em minhas decisões.*

## ***AGRADECIMENTOS***

Em primeiro lugar a Deus por ter me capacitado e também por ter me impulsionado no trabalho e em tudo o que eu faço. Sem ele nada seria possível.

A Virgem Prudentíssima, Rainha do Céu, Mãe do nosso Salvador, que intercede por mim junto a Deus Pai.

Aos meus queridos pais, Reginaldo e Aldiva, que sempre me incentivaram e apoiaram em todas minhas escolhas. Meu muito obrigado pela confiança, amor e oportunidade! Amo vocês.

Aos meus irmãos Makson, Elayne e Lucas pelo apoio, amizade e amor!

A minha tia Maria de Jesus por sua dedicação.

A minha avó Maria Ferreira que se encontra na presença de Deus o meu obrigado pelos momentos que passamos juntas e por sua colaboração.

A minha tia Doracy que também se encontra na presença de Deus pelo apoio e incentivo.

As minhas sobrinhas Aiara e Ludimila, por toda a alegria que me proporcionaram.

A todos meus familiares que estiveram mesmo de longe presentes, em especial ao meu primo Phillip pela convivência familiar.

Aos meus amigos: Edegar e Adriana pelo acolhimento e colaboração na realização deste trabalho. Que Deus os abençoe.

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho e ao programa de pós-graduação em Agronomia (Energia na agricultura) pela chance de aperfeiçoamento dos meus estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos que tornou possível a realização deste trabalho;

Ao professor Fernando Broetto pela exemplar orientação e, sobretudo pela paciência.

Aos colegas de laboratório pela colaboração em especial a Sarah por sua dedicação.

As amigas que construí, o meu muito obrigado que desça sobre vocês as bênçãos do nosso Salvador, Jesus Cristo.

As minhas companheiras de República pela amizade e alegria durante nossa convivência.

A todos que de alguma forma participaram deste trabalho e de minha vida acadêmica, o meu muito obrigado, que Deus os abençoe e Maria os guarde.

“Não vos preocupeis não vos inquieteis com vossa vida,

Dizendo:“Que comerei!”

Dizendo:“Que beberei!”

Olhai as aves do céu, vede os lírios do campo:

Não semeiam, não ceifam, não tecem,

Minha mão os ampara.

Sei do que precisais, de tudo que necessitais, buscai-me primeiro.”

(MT 6, 25-34)

## SUMÁRIO

	Páginas
<b>LISTA DE QUADROS.....</b>	<b>VIII</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>IX</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>X</b>
<b>RESUMO: .....</b>	<b>1</b>
<b>SUMMARY: .....</b>	<b>2</b>
<b>1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>3</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1. Cana-de-açúcar.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2. Bagaço de cana-de-açúcar.....</b>	<b>7</b>
<b>2.2.1 Características do bagaço de cana-de-açúcar.....</b>	<b>7</b>
<b>2.2.2 Parede celular.....</b>	<b>8</b>
<b>2.2.2.1 Celulose.....</b>	<b>8</b>
<b>2.2.2.2 Hemicelulose.....</b>	<b>9</b>
<b>2.2.2.3 Lignina.....</b>	<b>10</b>
<b>2.3. Pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar.....</b>	<b>11</b>
<b>2.4. Processos para hidrólise de materiais lignocelulósicos.....</b>	<b>12</b>
<b>2.5. Produção de etanol de segunda geração a partir do bagaço de cana-de-açúcar.....</b>	<b>14</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1. Preparação do bagaço de cana-de-açúcar (BCA) para o estudo.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2. Pré-lavagem e separação do BCA.....</b>	<b>17</b>
<b>3.3. Pré-tratamento ácido do BCA.....</b>	<b>18</b>
<b>3.4. Análises físico-químicas.....</b>	<b>20</b>
<b>3.4.1. Determinação da concentração de açúcares redutores (AR).....</b>	<b>20</b>
<b>3.4.2. Características dos constituintes do BCA.....</b>	<b>20</b>
<b>3.5. Análise estatística.....</b>	<b>20</b>



<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>4.1. Pré-tratamento ácido do BCA .....</b>	<b>21</b>
<b>4.1.1. Açúcares redutores (AR) obtidos no pré-tratamento ácido.....</b>	<b>21</b>
<b>4.2. Análise da composição química do bagaço .....</b>	<b>27</b>
<b>4.2.1. Lignina.....</b>	<b>31</b>
<b>4.2.2. Hemicelulose .....</b>	<b>35</b>
<b>4.2.3. Celulose.....</b>	<b>39</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>43</b>
<b>6. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>44</b>

## LISTA DE QUADROS

	Páginas
<b>Quadro 1</b> - Composição média do bagaço de cana-de-açúcar .....	8
<b>Quadro 2</b> - Comparação das tecnologias para hidrólise de celulose de acordo com Hamelink et al. (2005).....	12
<b>Quadro 3</b> - Distribuição dos tratamentos a 121°C, 1 atm. ....	18
<b>Quadro 4</b> - Protocolo experimental das condições estabelecidas para hidrólise ácida do bagaço de cana-de-açúcar.....	18
<b>Quadro 5</b> - Protocolo experimental das condições estabelecidas para o pré-tratamento ácido do bagaço de cana-de-açúcar.....	26
<b>Quadro 6</b> - Comparação das metodologias do pré-tratamento ácido encontrado na literatura, em relação ao rendimento de AR.....	27
<b>Quadro 7</b> - Caracterização do bagaço de cana tratado e não tratado, segundo Filho (2008). .....	34
<b>Quadro 8</b> - Comparação de pré-tratamento com os rendimentos da porcentagem de lignina. .....	35
<b>Quadro 9</b> - Comparação do teor de hemicelulose em diferentes tratamentos (Filho, 2008). .....	38
<b>Quadro 10</b> - Comparação do teor de celulose em diferentes tratamentos a 121°C. ....	42

## LISTA DE TABELAS

	Páginas
Tabela 1 - Teores de açúcares redutores obtidos na determinação do melhor tempo e.....	24
Tabela 2 - Teor de lignina em função dos tempos de reações em diferentes concentrações ácidas para o pré-tratamento.....	28
Tabela 3 - Teor de hemicelulose em função dos tempos de reações em diferentes concentrações ácidas para o pré-tratamento .....	29
Tabela 4 - Teor de celulose em função dos tempos de reações em diferentes concentrações ácidas para o pré-tratamento do BCA.....	30

## LISTA DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1 - Morfologia da cana-de-açúcar (adaptado de SEABRA, 2008). .....	6
Figura 2 - Representação da cadeia linear de celulose (adaptado de RAVEN et al. 2001). ....	9
Figura 3 - Estrutura dos monossacarídeos que formam as hemiceluloses (adaptado de RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001). .....	10
Figura 4 - Separações granulométricas do bagaço de cana-de-açúcar: (I) 1,1 mm e (II) 2,5 mm. ....	17
Figura 5 - Fluxograma do processo.....	19
Figura 6 - Efeito do pré-tratamento ácido para análise da quantificação de AR à 121 °C, 1 atm no BCA; T <sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1 mm; T <sub>2</sub> = bagaço <i>in natura</i> com 1,1 mm; T <sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5 mm; T <sub>4</sub> = bagaço <i>in natura</i> com 2,5 mm.....	23
Figura 7 - Comparação dos teores de AR obtidos na determinação da melhor concentração de ácido sulfúrico no pré-tratamento do BCA à 121 °C, 1atm (letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância). T <sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1 mm; T <sub>2</sub> = bagaço <i>in natura</i> com 1,1 mm; T <sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5 mm; T <sub>4</sub> = bagaço <i>in natura</i> com 2,5 mm. ....	25
Figura 8 - Efeito do pré-tratamento ácido para análise da quantificação do teor de lignina à 121 °C, 1 atm no BCA; T <sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1 mm; T <sub>2</sub> = bagaço <i>in natura</i> com 1,1mm; T <sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5mm; T <sub>4</sub> = bagaço <i>in natura</i> com 2,5mm.....	32
Figura 9 - Comparação dos teores de lignina obtidos na determinação da melhor concentração de ácido sulfúrico no pré-tratamento do BCA a 121 °C, 1 atm (letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância). T <sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1 mm; T <sub>2</sub> = bagaço <i>in natura</i> com 1,1 mm; T <sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5 mm; T <sub>4</sub> = bagaço <i>in natura</i> com 2,5 mm. ....	33
Figura 10 - Efeito do pré-tratamento ácido para análise da quantificação do teor de hemicelulose à 121 °C, 1 atm no BCA; T <sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1 mm; T <sub>2</sub> = bagaço <i>in natura</i> com 1,1mm; T <sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5mm; T <sub>4</sub> = bagaço <i>in natura</i> com 2,5mm.....	36
Figura 11 - Comparação dos teores de hemicelulose obtidos na determinação da melhor concentração de ácido sulfúrico no pré-tratamento do BCA a 121 °C, 1 atm (letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância); T <sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1	

mm; T<sub>2</sub> = bagaço *in natura* com 1,1 mm; T<sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5 mm; T<sub>4</sub> = bagaço *in natura* com 2,5 mm. ....37

Figura 12 - Comparação dos teores de celulose obtidos na determinação da melhor concentração de ácido sulfúrico no pré-tratamento do BCA a 121 °C, 1 atm (letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância); T<sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1 mm; T<sub>2</sub> = bagaço *in natura* com 1,1 mm; T<sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5 mm; T<sub>4</sub> = bagaço *in natura* com 2,5 mm. ....39

Figura 13 - Efeito do pré-tratamento ácido para análise da quantificação do teor de celulose à 121 °C, 1 atm; T<sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1 mm; T<sub>2</sub> = bagaço *in natura* com 1,1mm; T<sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5mm; T<sub>4</sub> = bagaço *in natura* com 2,5mm.....41

## ESTUDO DO PRÉ-TRATAMENTO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

### RESUMO:

O bioetanol é um combustível produzido por meio da fermentação do açúcar do caldo da cana, que representa apenas um terço do carbono (energia), presente na planta. Atualmente, estão sendo feitos esforços para o aproveitamento do restante da biomassa, divididos entre as folhas e bagaço do colmo. Esta biomassa lignocelulósica poderia ser aproveitada para produção de etanol, desde que submetida a processos hidrolíticos químicos (ácidos e bases) e enzimáticos gerando açúcares fermentescíveis. Pela fermentação alcoólica é possível a produção de etanol a partir da mistura de açúcares liberados. Neste trabalho procurou-se a padronização de procedimentos para avaliar o pré-tratamento físico e químico do bagaço da cana-de-açúcar, aliado a diferentes tratamentos térmicos a partir de duas granulometrias de bagaço (1,1 e 2,5 mm). Para o delineamento experimental, utilizou-se tratamentos ajustados em fatorial 4 X 5, sendo que as variáveis foram a influência do tempo de pré-tratamento (0, 15, 30, 45 e 60 minutos) e concentração de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) a 7 e 9%. Estes fatores exerceram influência sobre o desempenho da pré-hidrólise, medido pela liberação açúcares redutores (AR) na solução e a % de espécies químicas no bagaço pré-tratado.

---

PALAVRAS-CHAVE: bagaço de cana-de-açúcar, ácido sulfúrico, pré-tratamento

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND ACID HYDROLYSIS OF SUGARCANE BAGASSE. Botucatu, 2010. 47 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Author: ALAINE PATRÍCIA DA SILVA MORAIS

Adviser: FERNANDO BROETTO

## **SUMMARY:**

Bioethanol fuel is produced through the fermentation of sugar cane juice, which represents only a third of the carbon (energy) present in the plant. Currently, efforts are being made to the use of the remaining biomass, divided among the leaves and seed stalk. This lignocellulosic biomass could be used for ethanol production, provided that undergo hydrolytic process chemicals (acids and bases) and enzymatic generating fermentable sugars. For fermentation is possible to produce ethanol from mixed sugars released. This research is the standardization of procedures to assess the pre-treatment physical and chemical properties of bagasse from sugar cane, coupled with different thermal treatments from two particle sizes of mulch (1,1 and 2,5 mm). For this experiment, we used adjusted treatments in a factorial 4 x 5, and the variables were the influence of time of pretreatment (0, 15, 30, 45 and 60 minutes) And concentration of sulfuric acid ( $H_2SO_4$ ) 7 and 9%. These factors have exerted influence on the performance of pre-hydrolysis, measured by the release sugars (RS) in the solution, and% of chemical species in the pretreated bagasse.

---

**KEYWORDS:** sugarcane bagasse, sugarcane, sulfuric acid pretreatment

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) seguido pela Índia e Austrália. A indústria sucroalcooleira esmagou em 2009 entre 622,03 a 633,72 milhões de toneladas de cana-de-açúcar. Este volume representa aumento de 8,6% a 10,7% comparado as 572,57 milhões de toneladas processadas em 2008, estes dados estão relacionados com o primeiro levantamento da safra realizado pela Companhia Nacional de Abastecimento (Conab) em 2009.

De cada tonelada de cana moída, obtêm-se cerca de 700 L de caldo e 300 kg de bagaço representando 30% de matéria seca. Desta forma, das cerca de 500 milhões de toneladas de cana moídas nas usinas e destilarias do Brasil, a cada ano, são obtidos por volta de 150 milhões de toneladas de bagaço (BURGI, 1995). O bagaço da cana-de-açúcar, resultado da extração do caldo após esmagamento nas moendas constitui resíduo no campo e na usina respectivamente sendo o maior resíduo da agroindústria brasileira. Segundo Filho, citado por Marques (2009), o alvo é aproveitar o bagaço e a palha da cana-de-açúcar, fontes de celulose que respondem por dois terços da energia da planta, mas não são convertidos em biocombustíveis.

Existem várias formas de converter o material celulósico a etanol. Resíduos como aparas de madeira, bagaço de cana ou sabugo de milho por se tratar de um material lignocelulósico é constituído por celulose, hemicelulose e lignina que podem variar contendo diferentes concentrações, dependendo do material analisado. A biomassa pode ser



transformada em biocombustíveis desde que sua estrutura seja hidrolisada por processos químicos (ácidos e bases) e/ou enzimáticos para a sua hidrólise gerando açúcares fermentescíveis. Pela fermentação alcoólica é possível a produção de etanol a partir da mistura de açúcares liberados da massa lignocelulósica.

Alguns autores vêm mostrando a eficiência da hidrólise enzimática em relação à hidrólise ácida. No caso da hidrólise enzimática, o pré-tratamento do bagaço foi essencial, mas altas pressões não foram requeridas. A produção de álcool foi mais elevada realizando a fermentação do hidrolisado enzimático do que do hidrolisado ácido. Embora os processos de hidrólise ácida estejam mais desenvolvidos tecnologicamente, espera-se que os processos enzimáticos tenham seus custos bastante reduzidos com o avanço da tecnologia envolvida e venham a ser a melhor opção no futuro (RABELO, 2007).

Microrganismos de fermentação que podem utilizar as pentoses vêm sendo projetados através de modificações genéticas, mas os rendimentos em etanol ainda não são suficientes para tornar o processo economicamente atrativo. Diversos produtos de degradação, tais como o ácido fórmico, acético, furfural, hidroximetilfurfural e fenóis, produzidos durante o pré-tratamento e a hidrólise, podem inibir o processo de fermentação e afetar rendimentos do etanol, devendo assim ser removidos ou suavizados (PALMQVIST e HAHN-HAGERDAL, 2000; KNAUF e MONIRUZZAMAN, 2004).

O objetivo deste trabalho foi estudar o aproveitamento do bagaço de cana-de-açúcar como biomassa para produção de energia, tendo em vista otimizar processos de pré-tratamento físico e químico para hidrólise ácida e/ou enzimática do material lignocelulósico.

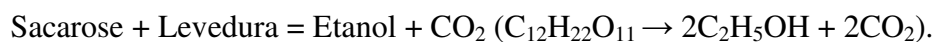
## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Cana-de-açúcar**

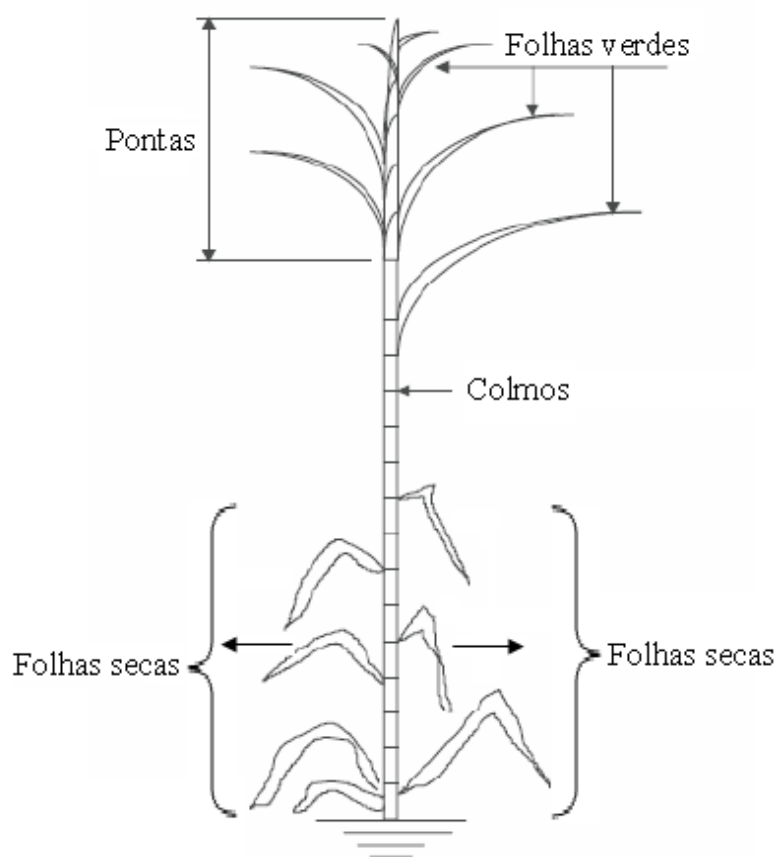
A cana-de-açúcar uma gramínea originária da Índia e introduzida no Brasil na época colonial, cujo nome científico é *Saccharum officinarum* L., se desenvolve bem em regiões de clima tropical e subtropical. Pertence à família das gramíneas, constituem uma grande família de plantas da classe das monocotiledôneas, de folhas envoltivas e caule em geral oco. Desde a sua origem até os dias atuais ela vem passando por modificações, o que resultou em várias espécies, as quais diferem entre si principalmente quanto ao conteúdo de fibras e açúcares. A maior parte da cana-de-açúcar cultivada é híbrida da planta original com outras espécies da mesma família (JOAQUIM, 1997).

Existem diferenças significativas entre as variedades de cana-de-açúcar, que são determinadas pela maneira como a planta é cultivada, englobando fatores como tipo de solo, duração do período vegetativo, tipo de sistema de colheita e condições climáticas. A dureza da cana, sua densidade e a composição da fibra variam de espécie para espécie, o que pode afetar o comportamento no processo de extração. A cana-de-açúcar apresenta também grande variedade por modificações genéticas, empregadas no processo de melhoria da qualidade desta planta e obtidas pelo cruzamento entre diferentes tipos (GARCIA, 2009).

Conforme detalhado por Seabra (2008) e Neto (2009) a planta de cana-de-açúcar é composta por colmos no quais se concentra a sacarose ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ), folhas que constituem a palha da cana e raízes (Figura 1). A obtenção de etanol através da fermentação da glicose obtida da cana é conduzida a partir da seguinte reação química:



Esse processo é conhecido como tecnologia de primeira geração de obtenção de etanol e possui rendimento energético de aproximadamente 30% do total contido na cana-de-açúcar.



**Figura 1** - Morfologia da cana-de-açúcar (adaptado de SEABRA, 2008).

## 2.2. Bagaço de cana-de-açúcar

### 2.2.1 Características do bagaço de cana-de-açúcar

O bagaço de cana-de-açúcar representa a principal forma de biomassa produzida em países tropicais, devido ao grande volume gerado em destilarias. Este material apresenta alto teor de carboidrato sendo assim, o bagaço se constitui como material promissor para produção de etanol e outros produtos (GARCIA, 2009).

A composição do bagaço está diretamente relacionada à morfologia da cana-de-açúcar, onde se encontram fibras exteriores do colmo ou da casca, feixes fibrovasculares e outras formas fibrosas que dão resistência ao colmo do vegetal. Além disso, a planta apresenta tecido parenquimatoso, comumente citado como *miolo* ou *medula* (ICIDCA, 1999).

As medulas são de forma e tamanho irregulares com razão diâmetro/comprimento por volta de 5. As cortiças têm elevada razão/comprimento e consiste de partículas retangulares (MACHADO, 2000).

A epiderme, camada fina que cobre o colmo e o protege, atua como impermeabilizante do suco, no qual abundam componentes não-fundamentais da cana-de-açúcar, que são quimicamente classificados no bagaço como extrativos (ICIDCA, 1999).

A casca, composta por fibras muito lignificadas, apresenta características principais como parede celular grossa, longitude e rigidez, que protegem o colmo dos efeitos mecânicos e exteriores. Estas fibras têm como função morfológica a sustentação da planta. Na área interna do colmo encontra-se o tecido parenquimatoso, cuja função é o armazenamento de compostos de reserva. Em meio a este tecido, aparecem os feixes fibrovasculares, que dividem a função de sustentação com a condução de fotoassimilados ao longo do colmo da planta (ICIDCA, 1999).

Do ponto de vista físico, o bagaço é constituído por quatro frações distintas, cuja porcentagem média é de 45% de fibra ou bagaço, 2 a 3% de sólidos insolúveis, 2 a 3% de sólidos solúveis e 50% água (ICIDCA, 1999).

## 2.2.2 Parede celular

A arquitetura da parede celular é bastante complexa e extremamente resistente, formado por um emaranhado super-compacto de fibras. Cada célula da cana, assim como de outros vegetais, é revestida por uma malha de fibras de celulose e outros polímeros de açúcar que, juntos funcionam como uma barreira, dando sustentação à planta e protegendo-a contra o ataque de insetos e microrganismos (ESCOBAR, 2010).

A composição da biomassa vegetal por se tratar de um material lignocelulósico é constituído por celulose, hemicelulose e lignina que podem variar contendo diferentes concentrações, dependendo do material analisado. O bagaço de cana-de-açúcar tem sido analisado e estudado apresentando em média os seguintes valores (Quadro 1):

**Quadro 1** - Composição média do bagaço de cana-de-açúcar

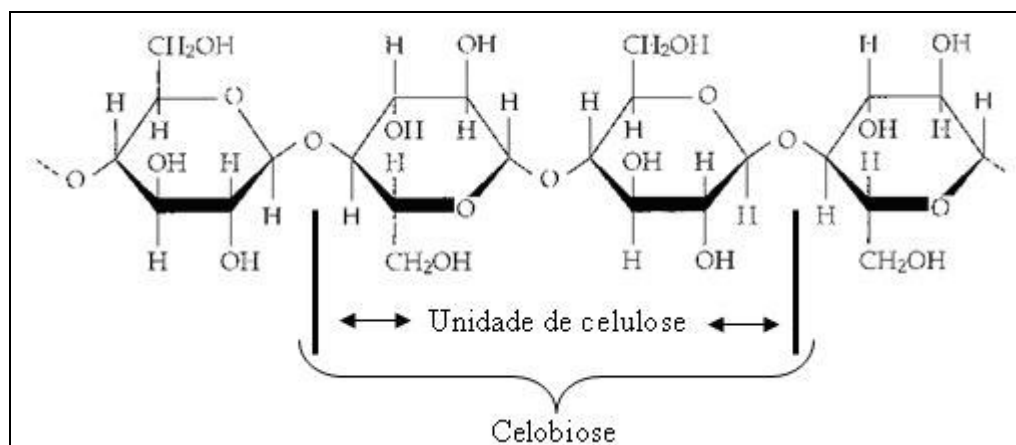
<b>Celulose (%)</b>	<b>Hemicelulose (%)</b>	<b>Lignina (%)</b>	<b>Referência</b>
40,0	25,0	ND*	Escobar, 2010
37,35 +/- 0,5	23,66 +/- 0,9	25,10 +/- 0,5	Garcia, 2009
54,55	26,75	10,44	Pietrobon, 2008
39,6 +/- 1,6	19,7 +/- 0,6	25,8 +/- 0,2	Rabelo, 2007
46,98	35,37	12,43	<b>Morais, 2010</b>

ND\* - não determinado.

### 2.2.2.1 Celulose

A celulose um carboidrato fibroso, resistente e insolúvel em água é encontrado na parede celular dos vegetais, particularmente em raízes, troncos, galhos e em todas as partes lenhosas dos tecidos vegetais. O carboidrato é um homopolissacarídeo linear e não-ramificado, composto por 10 a 15 mil unidades de D-glicose. Os resíduos de glicose na celulose estão unidos por ligações glicosídicas do tipo  $\beta$ -1,4 (Figura 2). A unidade de repetição da celulose é considerada a celobiose, um dissacarídeo de D-glicose com ligações  $\beta$ -1,4 (LEHNINGER, 1995).

As moléculas de celulose estão unidas em microfibrilas e possuem propriedades cristalinas devido ao arranjo ordenado de suas moléculas em certas partes, as micelas das microfibrilas. As microfibrilas de celulose se entrelaçam para formar finos filamentos que podem enrolar-se uns sobre os outros (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001).



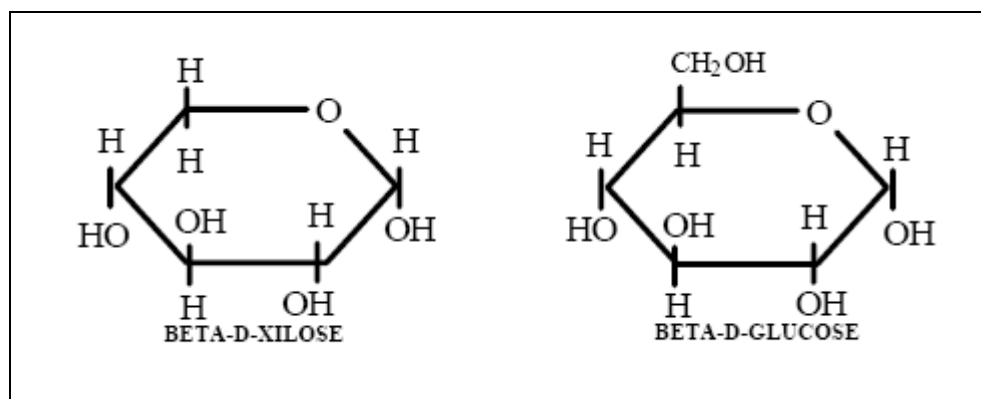
**Figura 2** - Representação da cadeia linear de celulose (adaptado de RAVEN et al. 2001).

### 2.2.2.2 Hemicelulose

As microfibrilas de celulose são embebidas em uma matriz de polissacarídeos não celulósica, composta principalmente de hemicelulose e substâncias pécticas. Esses polissacarídeos unem as microfibrilas, mantendo-as juntas lado a lado (CASTRO, 2005).

Hemicelulose é uma complexa mistura heterogênea de açúcares altamente ramificados. Os xilanos, arabinoxilanos, galactomananos, glucomanos e xiloglucanos são as classes mais frequentes de hemicelulose. Todas as hemiceluloses possuem uma espécie de eixo formado por uma cadeia plana de açúcares unidos quase sempre por ligações β-1,4 podendo sair ramificações curtas, as fórmulas de alguns dos principais açúcares componentes das polioses são apresentados na Figura 3. Possuem também algumas características estruturais que as impedem de formar agregados fibrilares, como ocorre nas cadeias de celulose (CASTRO, 2005).

A cana-de-açúcar, da família das gramíneas é uma monocotiledônea. As paredes celulares de gramíneas possuem apenas quantidades pequenas de xiloglucano e pectina, as quais são substituídas por glucuronoarabinosilano e  $\beta$ -(1,3 e 1,4) D – glucano (TAIZ, 2004).



**Figura 3** - Estrutura dos monossacarídeos que formam as hemiceluloses (adaptado de RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001).

### 2.2.2.3 Lignina

Depois da celulose, a substância orgânica mais abundante nas plantas é a lignina, um polímero de grupos fenilpropanóides altamente ramificado que representa funções primárias e secundárias. A estrutura precisa da lignina não é conhecida devido à dificuldade de extrair lignina das plantas, pois está covalentemente ligada à celulose e a outros polissacarídeos da parede celular. A lignina é encontrada nas paredes celulares de vários tipos de tecidos de sustentação e vascular. É depositada, sobretudo no espessamento da parede secundária, mas também pode ocorrer na parede primária e na lamela média em íntimo contato com a celulose e hemicelulose já presentes (TAIZ, 2004).

A lignina é em geral formada por três diferentes alcoóis de fenilpropanóides: coniferil, cumaril e sinapil, que são sintetizados a partir da fenilalanina através de vários derivados do ácido cinâmico (TAIZ, 2004).

### 2.3. Pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar

Considerando-se que o rendimento do processo de hidrólise é baixo (inferior a 20%), é possível aumentar sua eficiência adotando-se procedimentos de pré-tratamento (HAMELINCK et al. 2005). Primeiramente, a biomassa passa por um processo de limpeza e adequação mecânica para obtenção de uma boa eficiência nas próximas etapas, já que cada tecnologia possui uma caracterização geométrica específica. A matéria-prima deve ser processada de forma que ocorra redução de suas partículas, a fim de facilitar seu manuseio e aumentar a superfície de contato (NETO, 2009; GARCIA, 2009).

Segundo Neto (2009) e Hamelinck et al.(2005), a primeira etapa do processo se inicia com o rompimento de sua estrutura celular a fim de torná-las mais acessível aos tratamentos químicos ou biológicos posteriores. A próxima etapa consiste na remoção da lignina e na hidrólise da hemicelulose, desta etapa fazem parte diversos tipos de métodos de separação e podem ser divididos em processos físicos, químicos e biológicos. Os físicos baseiam-se em características físicas dos fluídos para o rompimento das cadeias, como explosão de vapor, onde a biomassa triturada é tratada com vapor saturado, 160 a 260 °C seguido de uma rápida descompressão e termo-hidrólise (LHW – *Liquid Hot Water*) que utiliza água quente com pressão acima do ponto de saturação para hidrolisar a hemicelulose.

Os processos biológicos utilizam fungos para solubilizar a lignina. Em algumas ocasiões tratamentos biológicos são utilizados em combinação com tratamentos químicos; Para os processos químicos, utilizam-se reagentes químicos (ácidos e bases), sendo divididos em: hidrólise ácida (por meio do uso de ácidos concentrados ou diluídos, sulfúrico, clorídrico ou nítrico), hidrólise alcalina (hidróxido de sódio ou cálcio) e organosolv que se baseia em uma mistura de solvente orgânico (metanol, bioetanol e acetona) com um catalisador ácido (sulfúrico e clorídrico) é usado para atingir as ligações internas da lignina e hemicelulose.

Dentre estes processos destacam-se outros meios como os combinados por explosão de vapor catalisada e o Afex (*ammonia fiber explosion*). A explosão de vapor catalisada é a adição de  $H_2SO_4$  ou  $SO_4$  ou  $CO_2$ , sendo que, na explosão de vapor pode aumentar a eficiência da hidrólise enzimática, reduzir a produção de compostos inibidores e promover uma remoção mais completa da hemicelulose e o Afex é por meio da exposição à



amônia líquida a alta temperatura e pressão por certo período de tempo, seguida de uma rápida descompressão.

#### 2.4. Processos para hidrólise de materiais lignocelulósicos

A hidrólise tem como objetivo converter a celulose em glicose, após a quebra das ligações glicosídicas, conforme fórmula:  $[(C_6H_{10}O_5)_n + H_2O \rightarrow n C_6H_{12}O_6]$ . Este processo pode ser catalisado pelo tratamento com diferentes tipos de ácidos diluídos ou concentrados, além da hidrólise enzimática (por celulase). O quadro 2 apresenta uma comparação entre os diferentes processos de hidrólise.

**Quadro 2** - Comparação das tecnologias para hidrólise de celulose de acordo com Hamelink et al. (2005).

Métodos	Consumo	Temperatura (°C)	Tempo	Rendimento de glicose (%)
Ácido diluído	< 1% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	215	3 min	50-70
Ácido concentrado	30-70% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	40	2-6 h	90
Enzimático	Celulase	70	36 h	75-95

Segundo Sousa (1984), a hidrólise ácida diluída é a tecnologia mais antiga para a conversão de celulose a etanol. Na Alemanha em 1931, Sholler foi o idealizador do primeiro processo em batelada de hidrólise com ácido diluído utilizando a madeira como matéria-prima. Para este fim, utilizou as seguintes condições de operação: 0,5 a 0,8% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; razão licor/madeira (1,25/1 a 4/1) e 170 °C no período de 16 a 20 horas. Ao final, a taxa de rendimento de hidrólise foi de 45-55% de açúcares. Neste processo, o pesquisador constatou que a hidrólise de materiais celulósicos e a decomposição dos açúcares formados eram duas reações independentes e consecutivas, sendo a última mais rápida e foi necessário remover os açúcares e resfriá-los rapidamente, após sua formação.

A hidrólise ácida diluída é interessante, pois a corrosão das partes metálicas durante o processo é menor que na hidrólise ácida concentrada, sendo adequada para a operação em larga escala. Entretanto, esse processo também tem vários problemas. A

desvantagem é que o processo do ácido diluído não induz ao inchamento da região cristalina da celulose (RODRIGUES, 2007), o que provavelmente seria a causa do baixo rendimento do método.

Duarte (1989) observou altas taxas de sacarificação de bagaço de cana-de-açúcar, quando o material foi submetido à hidrólise com 44,0% de ácido clorídrico concentrado (HCl), que foram efetuadas a 50 °C durante 20 minutos, obteve-se uma conversão de 315 para 571 mg g<sup>-1</sup> de açúcares redutores após a pós-hidrólise, correspondendo a um acréscimo de 81%. O autor relata que a desvantagem do processo é a formação do gel, originado pela descristalização da celulose nas regiões penetradas pelo ácido quando submetidos à baixa relação líquido-sólido, agitação insuficiente e grande tamanho da partícula de substrato.

Embora os processos de hidrólise ácida estejam mais desenvolvidos tecnologicamente e tenham maiores chances de se tornarem economicamente viáveis em um futuro próximo, espera-se que os processos enzimáticos tenham seus custos bastante reduzidos com o avanço da tecnologia envolvida e venham a ser a melhor opção no futuro. Alguns autores vêm mostrando a eficiência da hidrólise enzimática. Por exemplo, Rabelo (2007), constatou que na hidrólise enzimática, o pré-tratamento do bagaço foi essencial, mas altas pressões não foram requeridas. O hidrolisado enzimático apresentou uma máxima liberação de glicose pode ser obtida a 25 °C, com concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 7,355% por 1 h em pH 11,5. Os resultados de massa e açúcares redutores totais e glicose após 48 h de hidrólise a 50 °C e pH 4,8 foram 0,4899 g/g biomassa bruta seca e 0,3740 g/g biomassa bruta seca, respectivamente e obteve-se um rendimento da massa de glicose correspondente a 84,07%.

O processo de hidrólise destina-se a degradar as macromoléculas de celulose (polímero de glicose com seis carbonos) e/ou hemicelulose (polímero de xilose com cinco carbonos), por meio da adição de ácido sulfúrico aos resíduos, no caso da hidrólise ácida, ou pela ação de enzimas (catalisadores biológicos), no caso da hidrólise enzimática (BASTOS, 2007). A primeira delas, ácida, é bastante difundida, mas geradora de alguns resíduos poluentes e produtos que inibem a fermentação posterior, além de haver a possibilidade de degradação da glicose formada. A enzimática ainda é economicamente inviável e a engenharia deste processo necessita de aperfeiçoamento, o que reforça a necessidade de se fazer pesquisas sobre o assunto (GARCIA, 2009).

Segundo Rossell, citado por Marques (2010), na hidrólise ácida, é preciso melhorar a eficiência do processo, que não permite um controle tão preciso da quebra das ligações químicas. O ácido sulfúrico destrói parte do açúcar formado, o ácido clorídrico, mais eficiente, tem um problema ligado à corrosividade. No caso do processo de hidrólise enzimática, o entrave é o custo das enzimas, além da quantidade necessária para o desdobramento da celulose em glicose. O desafio é encontrar microrganismos capazes de produzir enzimas mais produtivas. Escobar (2010), relata que essa tecnologia já existe, considerando-se que a natureza está cheia de fungos e outros microrganismos (bactérias e leveduras) capazes de degradar biomassa vegetal. Comercialmente, há misturas enzimáticas (chamadas coquetéis) no mercado que já podem ser usados para produção de etanol celulósico em laboratório, mas o custo ainda é alto demais para aplicação em escala industrial e falta especificidade para o bagaço de cana, que é a principal fonte de biomassa disponível no Brasil.

## **2.5. Produção de etanol de segunda geração a partir do bagaço de cana-de-açúcar**

O etanol ( $C_2H_5OH$ ) é um composto que pode ser obtido por fermentação ou síntese, é produzido a partir da fermentação de carboidratos da biomassa de cana-de-açúcar, beterraba e cereal como o milho e outros grãos envolvendo tecnologias relativamente simples (BASTOS, 2007). O material, primeiramente, deve ser processado de forma que ocorra redução de suas partículas, a fim de facilitar seu manuseio. Em seguida, ácidos e/ou as enzimas são utilizadas como catalisadores para separar ou hidrolisar as cadeias de hemicelulose e celulose para formar seus respectivos açúcares (GARCIA, 2009).

O uso do bagaço apresenta uma série de vantagens: já vem processado das moendas; está disponível em grandes quantidades, tem custo mínimo e está pronto para uso no local, evitando aumento de custo devido ao transporte (OLIVÉRIO e HILST, 2005). O bagaço de cana-de-açúcar consiste em uma fonte em potencial para a produção de etanol a baixo custo, sendo considerada a maior fonte no Brasil, em função do volume dessa biomassa (RABELO, 2007).

Ainda que empresas de biotecnologia e institutos de pesquisa estejam avançando no domínio das tecnologias para a produção do etanol de segunda geração, isso não

deve mudar de imediato comenta Szwark citado por Costa (2010). É difícil prever em quanto tempo o etanol de celulose terá viabilidade econômica, dadas as dificuldades de conhecer em detalhes os avanços obtidos por empresas, protegidos por patentes ou segredo industrial. Porém, segundo Marques (2009) se houvesse um processo de fato competitivo para transformar bagaço de cana em etanol, ele já estaria disponibilizado para o mercado e as usinas o estariam utilizando.

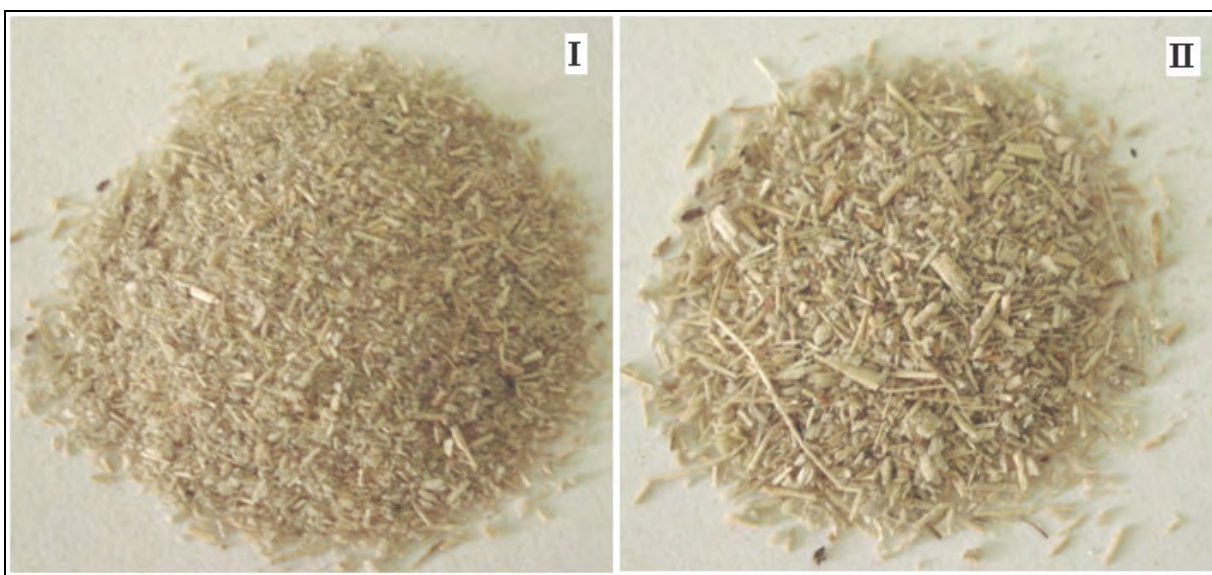
Essas novas tecnologias de processamento do etanol celulósico de segunda geração são fundamentais principalmente nos países desenvolvidos, em que as matérias-primas hoje utilizadas competem com a produção de alimentos e os custos de produção são ainda elevados em comparação com o petróleo ou o etanol da cana. Sua importância decorre, também, do fato de o etanol celulósico ter potencial de extrair pelo menos duas vezes mais combustível da mesma área plantada (Technology Review, 2006). A produção de etanol lignocelulósico emerge, assim, como um novo paradigma mundial. Segundo Filho, citado por Marques (2009), o alvo é aproveitar o bagaço e a palha da cana-de-açúcar, fontes de celulose que respondem por dois terços da energia da planta, mas não são convertidos em biocombustíveis.

Para o futuro tecnológico, de modo a quantificar o potencial da produção de etanol de segunda geração com pré-tratamento e hidrólise ácida diluída com aproveitamento das hexoses, pode-se produzir 69,1 litros de bioetanol por tonelada de bagaço *in natura*, já no processo economicamente atrativo de desenvolvimento tecnológico, com pré-tratamento e hidrólise enzimática, aproveitamento das hexoses e pentoses, com a tecnologia otimizada, estima-se produzir 149,3 litros de bioetanol (CGEE, 2009).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Preparação do bagaço de cana-de-açúcar (BCA) para o estudo**

O BCA utilizado nos ensaios foi proveniente da usina Comanche Biocombustíveis de Canitar Ltda - Ourinhos, SP. O material (100 kg) recebido em uma lona de plástico foi homogeneizado, quarteado e embalado em sacos de papéis de 2 kg para secagem. Os sacos, fechados e contendo bagaço com umidade média de 50% foram levados para estufa com circulação de ar a 60 °C durante 72 h. Em seguida o bagaço foi processado em moinho de facas, foi peneirado até passar por peneiras com malhas de 1,1 e 2,5 mm, onde foram feitas separações granulométricas (Figura 4) e denominado bagaço *in natura*. Este BCA teve seu pH medido apresentando uma faixa de pH 4,0 armazenados em embalagens de sacos plásticos de 2 kg em local arejado e utilizado na condução dos experimentos.



**Figura 4** - Separações granulométricas do bagaço de cana-de-açúcar: (I) 1,1 mm e (II) 2,5 mm.

### 3.2. Pré-lavagem e separação do BCA

Após as separações granulométricas foi feita uma pré-lavagem do BCA, como descrito a seguir: 50 g de bagaço foram misturados a 1 L de água destilada em um recipiente de vidro. A mistura foi aquecida em banho-maria a 70 °C e mantida nesta temperatura por uma hora sendo agitado a intervalos de 10 minutos. Em seguida, o material foi filtrado em Nylon e lavado com 250 mL de água destilada. Este método de aquecimento e posterior lavagem foram repetidos por duas vezes com o mesmo bagaço. O bagaço mecanizado é mais escuro, fruto da retenção de resíduos nas fibras, oriundo da queima da palhada da cana, antes da colheita (PITARELO, 2007). Este procedimento teve a finalidade de remover resíduos de terra, cinzas e principalmente açúcar residual e outros glicídios hidrossolúveis de baixa massa molar. Após a operação de lavagem, a massa do BCA foi filtrada e seca em estufa a 60 °C por 24 h e denominado bagaço lavado. Este BCA teve seu pH medido apresentando uma faixa de pH 6,0 sendo armazenados em sacos plásticos de 2 kg e guardados em local arejado e utilizado na condução dos experimentos.

### 3.3. Pré-tratamento ácido do BCA

Para o pré-tratamento ácido do BCA foram avaliados os seguintes parâmetros em quadruplicata: tempo de hidrólise a 15, 30, 45 e 60 minutos e concentração do ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) a 7,0 e 9,0%, submetidos à mesma temperatura/pressão de 1 atmosfera a 121 °C, onde nestas condições estabelecidas, as amostras foram autoclavadas. O delineamento utilizado para o pré-tratamento ácido gerou os seguintes tratamentos (Quadro 3):

**Quadro 3** - Distribuição dos tratamentos a 121°C, 1 atm.

Tratamentos	Granulometria	BCA
$T_1$	1,1 mm	lavado
$T_2$	1,1 mm	<i>in natura</i>
$T_3$	2,5 mm	lavado
$T_4$	2,5 mm	<i>in natura</i>

Utilizando-se tubos de ensaio com capacidade de 50 mL, as amostras de bagaço seco (1,0 g ) foram tratadas com as duas concentrações de ácido sulfúrico já estabelecida, utilizando-se água destilada para o tratamento controle. Todos os tratamentos foram conduzidos na razão BCA/ $H_2SO_4$  (1:40 m/m). O material foi agitado e autoclavado no período e temperatura determinado. Os tempos de autoclavagem e a temperatura foram idênticos aos quatro tratamentos, conforme descritos no Quadro 4.

**Quadro 4** - Protocolo experimental das condições estabelecidas para hidrólise ácida do bagaço de cana-de-açúcar.

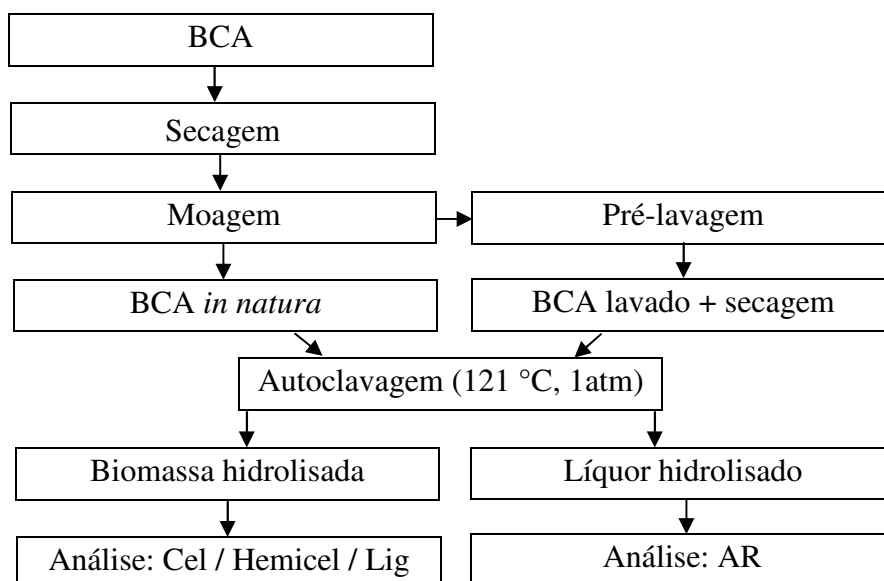
Experimento	$H_2SO_4$ (%)	Bagaço (g)	$H_2SO_4$ (g)	Água destilada (g)	Tempo (minutos)
Controle	0,0	1	-	40	0/15/30/45/60
1	7,0%	1	40	-	0/15/30/45/60
2	9,0%	1	40	-	0/15/30/45/60

Após o pré-tratamento ácido, os tubos de ensaio foram retirados da autoclave e o bagaço foi transferido para um erlenmeyer de 500 mL, passando por filtragem em papel de filtro qualitativo, seguida de lavagem com 230 mL de água destilada. Os resíduos

sólidos separados foram secos em estufa e utilizados para as determinações dos teores de **celulose (CEL)**, **hemicelulose (HEMICEL)** e **lignina (LIG)**.

O volume líquido, alíquota de 250 mL (do líquido total desta solução) foi transferido para béquer, o qual teve seu pH ajustado para 4,0 bagaço *in natura* e 6,0 para o bagaço pré-lavado com uma solução de hidróxido de sódio a 50%, estes valores foram ajustados de acordo com o pH do BCA ambos medido antes de ser submetido ao processo de pré-tratamento. Deste volume retirou-se uma alíquota de 4 mL a qual foi transferida para balão volumétrico (100 mL), completado-se o volume com água destilada e utilizado para a determinação da percentagem de açúcares redutores (AR).

O item a seguir descreve a seqüência experimental (Figura 5).



**Figura 5 - Fluxograma do processo**



### **3.4. Análises físico-químicas**

#### **3.4.1. Determinação da concentração de açúcares redutores (AR)**

Os açúcares redutores foram determinados conforme método descrito por SOMOGYI, adaptado por NELSON (1944).

Utilizando-se tubos de ensaio, pipetou-se 1,0 mL do hidrolisado e adicionou-se 1,0 mL do reativo de Somogyi. Os tubos foram mantidos em banho-maria fervente por 10 minutos. Após o resfriamento, foram acrescentados 1,0 mL de reativo de Nelson, completando-se o volume com 7,0 mL de água destilada. Após homogeneização em agitador vortex, foi efetuada a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 535 nm. Para o cálculo da percentagem de açúcares redutores (% AR), foi utilizado uma reta padrão de referência, obtida com glicose P.A. (0.2 – 100 µg).

#### **3.4.2. Características dos constituintes do BCA**

Com o intuito de verificar a eficiência do pré-tratamento ácido do BCA, foram determinados os teores dos seguintes parâmetros: percentagem de **CEL**, **HEMICEL** e **LIG**. As análises foram realizadas em cooperação com o Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Ciências Agrônômicas, FCA-UNESP, Campus de Botucatu. A metodologia empregada foi proposta por Van Soest (1965) e descrito por Silva e Queiroz (2002).

### **3.5. Análise estatística**

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ( $F \leq 0,05$ ) e os diferentes tempos de avaliação foram submetidos às análises de regressão.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

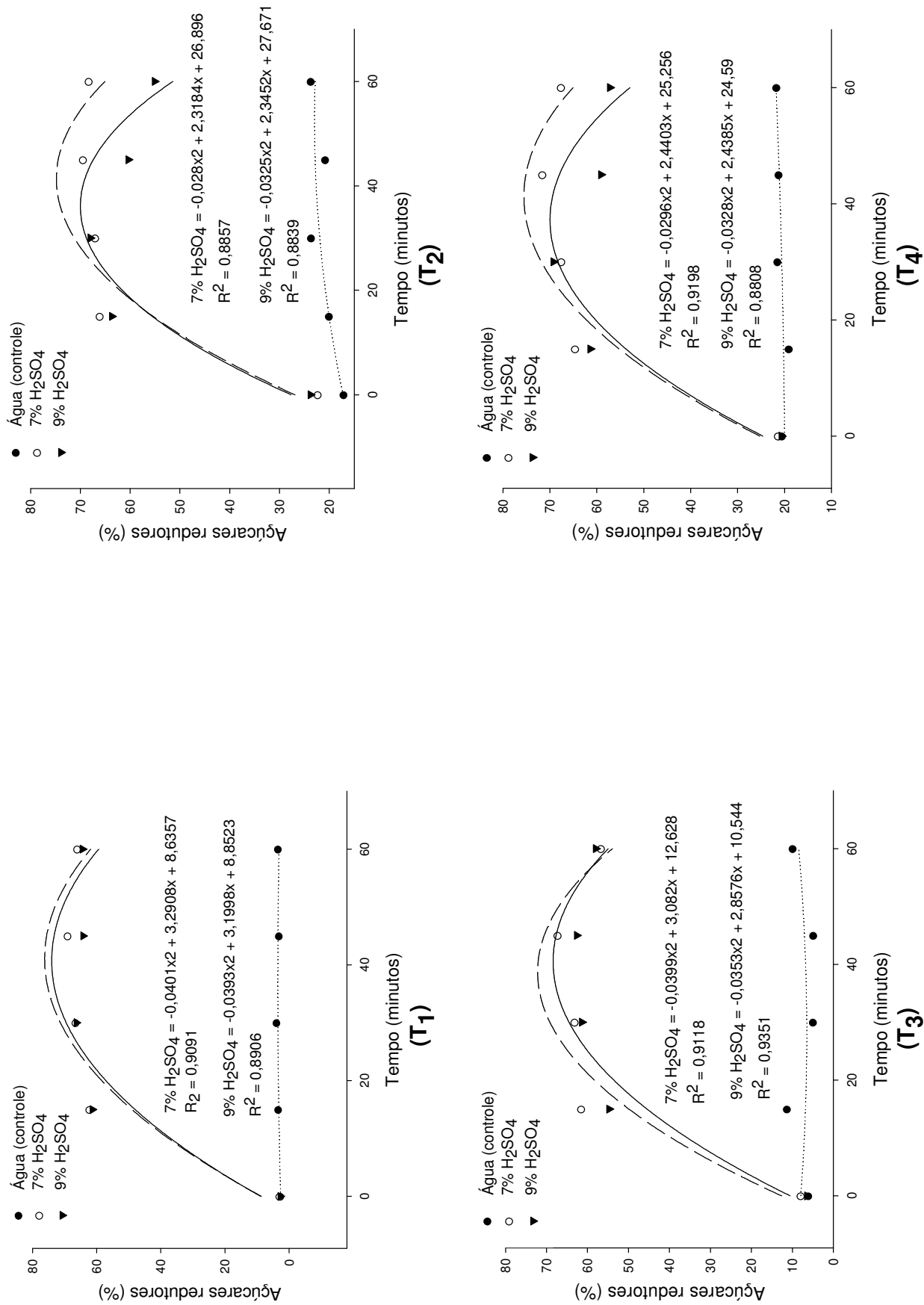
### **4.1. Pré-tratamento ácido do BCA**

#### **4.1.1. Açúcares redutores (AR) obtidos no pré-tratamento ácido**

Neste estudo, observou-se que houve diferença significativa das variáveis relacionadas às concentrações de ácido em amostras do BCA em relação ao tempo do pré-tratamento ácido (Tabela 1). Os dados foram ajustados em curva quadrática para o acúmulo de AR nas diferentes amostras (Figura 6: T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>).

Analisando-se o comportamento das amostras em relação ao tempo (Figura 6: T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>), verificou-se que o melhor resultado de rendimento para a liberação de AR após o pré-tratamento do bagaço foi aos 30 e 45 min., independentemente da granulometria do bagaço. Além disso, as concentrações de 7,0 e 9,0 % de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> resultaram na liberação de 6,89 e 6,60 g/L de AR, respectivamente não diferindo significativamente entre si. Estes dados apontam que o tratamento induziu ao aumento de 22,4 e 17,1 vezes a concentração de AR, quando comparado à amostra considerada como controle (tratada apenas com água destilada). No T<sub>3</sub> (Figura 6), os rendimentos atingiram valores próximos, menores que os apresentados para o T<sub>1</sub> (Figura 6), na ordem de 6,71 e 6,26 g/L de AR, com um aumento de 13,938 e 12,99 vezes, respectivamente. Estes resultados demonstraram que, quanto menor a granulometria e concentração do ácido, maior será o rendimento de AR obtido

após o pré-tratamento do bagaço. Constatou-se também que, no pré-tratamento com duração de 60 min., as concentrações de AR obtidas não aumentaram quando comparados com os resultados observados na hidrólise por 45 min., indicando que um aumento de 15 min. no tempo de autoclavagem não incrementou o rendimento de açúcar obtido (Tabela 1 e Figura 6: T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>). Entretanto, o teor de AR das amostras apresentados na figura 7 com 7% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 121°C, 1 atm resultaram num rendimento superior, exceto a amostra com granulometria 2,5 mm (lavado), demonstrando que a faixa de concentração ácida utilizada neste experimento tem influência na reação do pré-tratamento ácido.

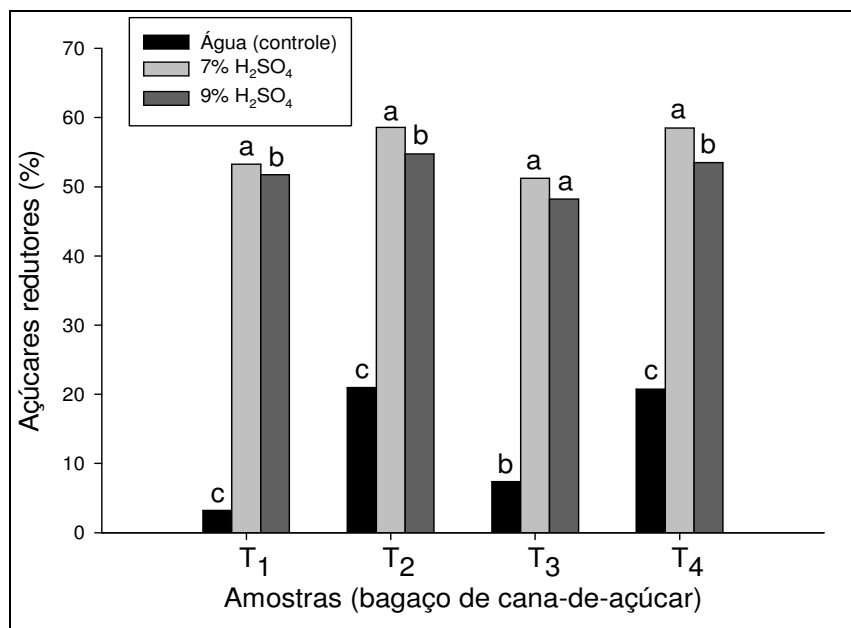


**Figura 6** - Efeito do pré-tratamento ácido para análise da quantificação de AR à 121 °C, 1 atm no BCA; T<sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1 mm; T<sub>2</sub> = bagaço *in natura* com 2,5 mm; T<sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5 mm; T<sub>4</sub> = bagaço *in natura* com 2,5 mm.

**Tabela 1** - Teores de açúcares redutores obtidos na determinação do melhor tempo e concentração ácida para o pré-tratamento do BCA à 121 °C, 1 atm.

Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	AR (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>1</sub>	3,22 C	água (controle)	2,60**	3,29**	3,84**	3,07**	3,36**
	53,25 A	7,0	2,88**	62,11**	66,44**	68,91**	65,95**
	51,73 B	9,0	2,75**	61,27**	66,03**	64,23**	64,40**
C.V.(%) <sup>1</sup> 4,65							
Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	AR (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>2</sub>	20,99 C	água (controle)	17,04**	19,96**	23,57**	20,75**	23,64**
	58,59 A	7,0	22,26**	66,05**	66,96**	69,41**	68,26**
	54,76 B	9,0	23,75**	63,65**	67,97**	60,38**	55,06**
C.V.(%) <sup>1</sup> 9,71							
Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	AR (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>3</sub>	7,37 B	água (controle)	6,02**	11,24**	4,87**	4,82**	9,85**
	51,22 A	7,0	7,88**	61,43**	63,02**	67,18**	56,6**
	48,22 A	9,0	6,45**	54,7**	61,36**	62,61**	57,97**
C.V. (%) <sup>1</sup> 9,64							
Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	AR (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>4</sub>	20,75 C	água (controle)	20,47**	19,02**	21,44**	21,18**	21,65**
	58,47 A	7,0	21,31**	64,53**	67,48**	71,52**	67,54**
	53,51 B	9,0	20,64**	61,37**	69,23**	59,1**	57,22**
C.V. (%) <sup>1</sup> 5,26							

<sup>1</sup>Coeficiente de variação\*\* Significativo a 5% de probabilidade. As médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. T<sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1 mm; T<sub>2</sub> = bagaço *in natura* com 1,1 mm; T<sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5 mm; T<sub>4</sub> = bagaço *in natura* com 2,5 mm.



**Figura 7** - Comparação dos teores de AR obtidos na determinação da melhor concentração de ácido sulfúrico no pré-tratamento do BCA à 121 °C, 1atm (letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância). T<sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1 mm; T<sub>2</sub> = bagaço *in natura* com 1,1 mm; T<sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5 mm; T<sub>4</sub> = bagaço *in natura* com 2,5 mm.

Kiipper (2009) demonstrou uma deslignificação feita através do pré-tratamento do bagaço de cana a 120°C e solvente organosolv (água, acetona e etanol, 2:1:1, v/v/v), concentração ácida de 1,0% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e tempo de reação de 60 minutos. Considerando-se que a concentração ácida deverá ser neutralizada para fermentação, esta foi a melhor condição de pré-tratamento para a hidrólise ácida do bagaço. Após este pré-tratamento ácido, o autor acrescentou 500 mL de etanol (96°), água e o ácido sulfúrico (1,0; 5,0; e 10,0% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) com o tempo de reação (90; 120 e 150 minutos) a 121°C e 1 atm. Com estes tratamentos, observou aumento gradual no teor de AR das amostras após 90 minutos, conforme a concentração ácida foi aumentada. Embora tenha sido encontrado um aumento de AR com o aumento da concentração ácida (reação de 90 minutos), este não foi expressivo, demonstrando que a faixa de concentração ácida utilizada teve pouca influência na reação da hidrólise. No entanto, foi observado na hidrólise de maior concentração ácida (10,0% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/150min.) um teor alto em relação aos outros hidrolisados, de 9,75 g L<sup>-1</sup> de AR.

Os resultados de Kiiiper (2009) indicam a necessidade do aumento do tempo de reação sob as mesmas condições de acidez já trabalhadas, uma vez que o aumento da concentração ácida impede a utilização desta tecnologia no meio industrial pelos problemas como, dificuldade para neutralizar a solução ácida resultante, aumento da degradação dos carboidratos e formação de resíduos inibidores da fermentação.

Machado (2009) realizou experimento de hidrólise de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor (BEV) e bagaço moído pré-tratado com ácido (BMA) com posterior inoculação de fungos (*Aspergillus Níger IZ-9*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus. eryngii*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju* e *Trichoderma reesei*), em ambos os bagaços pré-tratados. Neste pré-tratamento o autor submeteu o bagaço à autoclavagem a 121°C, 1 atm (Quadro 5).

**Quadro 5** - Protocolo experimental das condições estabelecidas para o pré-tratamento ácido do bagaço de cana-de-açúcar.

<b>Experimento</b>	<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (%)</b>	<b>Bagaço (g)</b>	<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (mL)</b>	<b>Água destilada (mL)</b>	<b>Tempo (minutos)</b>
BEV	-	5	-	10	20
BMA	0,5%	10	50	-	20

Após resfriamento, o BMA e BEV foram inoculados com 3 mL e 1,5 mL, respectivamente, de uma suspensão de esporos/micélios e incubados a 28 °C, conduzidos de forma a analisar os períodos de incubação: 5, 10, 15 e 20 dias. Em seguida, a concentração de açúcares redutores nos hidrolisados foi determinada. Verificou que após 5 dias de cultivo do fungo *T. reesei* em bagaço BMA, foi liberado 18,60 g AR L<sup>-1</sup>. As quantidades de açúcares redutores liberados durante o cultivo do bagaço pré-tratado por explosão a vapor foram 5 a 10 vezes menores que os obtidos na hidrólise do bagaço BMA. E para que o processo de hidrólise pudesse se tornar industrialmente viável não poderá levar 20 dias para a liberação de AR.

Duarte (1989), primeiramente realizou uma pré-hidrólise ácida (31% HCl) em proporção de 20 g de bagaço e 200 mL de ácido a 30 °C, com agitação por 10 min. Ao final da reação, adicionou 200 mL de água destilada gelada ao bagaço pré-hidrolisado. Pesou 3,0 g de bagaço pré-hidrolisado e acrescentou 30 mL do ácido nas concentrações entre

36,0 e 44,0 % HCl. Para as reações efetuadas a 50 °C em tempos de 10, 20 e 30min. e utilizando-se HCl a 44%, foi possível obter melhor rendimento, ou seja, 6,19 g L<sup>-1</sup> AR aos 30min. após o pré-tratamento.

Comparativamente, no presente experimento e com base no tempo do pré-tratamento e concentração ácida (7,0 % de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), atingiu-se melhor rendimento aos 45 minutos que foi (6,89g L<sup>-1</sup> AR). Após este tempo, a eficiência na liberação de açúcares redutores permanece estável (Quadro 6).

**Quadro 6** - Comparação das metodologias do pré-tratamento ácido encontrado na literatura, em relação ao rendimento de AR.

Temperatura (°C)	Concentração ácida	Tempo	AR g/L	Referência
<b>121</b>	<b>7,0% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	<b>45 min.</b>	<b>6,89</b>	<b>Morais, 2010</b>
121	10% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	150 min.	9,75	Kiipper, 2009
121	0,5% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	120 horas	18,60	Machado, 2009
50	44% HCl	30 min.	6,19	Duarte, 1989

#### 4.2. Análise da composição química do bagaço

No início das análises químicas do bagaço, determinou-se o teor de umidade que foi utilizado nos cálculos para que os resultados fossem mais precisos.

A composição química do bagaço foi determinada em todos os tratamentos com aplicação de duas concentrações de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (7,0 e 9,0 %), além do controle, onde a amostra recebeu água destilada a 121 °C, 1 atm em autoclave. As tabelas 2, 3 e 4 indicam a composição química do bagaço.



**Tabela 2** - Teor de lignina em função dos tempos de reações em diferentes concentrações ácidas para o pré-tratamento do BCA à 121 °C, 1 atm.

Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	LIGNINA (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>1</sub>	12,43 C	água (controle)	14,94**	11,89**	12,34**	11,84**	11,14**
	21,86 B	7,0	10,75**	21,25**	24,88**	26,26**	26,19**
	22,78 A	9,0	14,04**	23,86**	25,29**	25,09**	25,61**
C.V.(%) <sup>1</sup> 5,87							
Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	LIGNINA (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>2</sub>	11,89 B	água (controle)	11,25**	11,51**	12,76**	10,94**	12,97**
	22,21 A	7,0	15,91**	22,67**	24,52**	25,73**	22,21**
	23,31 A	9,0	12,03**	25,55**	26,29**	27,50**	25,17**
C.V.(%) <sup>1</sup> 10,53							
Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	LIGNINA (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>3</sub>	13,22 C	água (controle)	12,92**	14,1**	16,83**	10,18**	12,09**
	21,82 B	7,0	10,91**	24,04**	24,35**	25,54**	24,27**
	24,74 A	9,0	13**	27,37**	29,66**	25,68**	27,97**
C.V. (%) <sup>1</sup> 17,10							
Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	LIGNINA (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>4</sub>	11,40 C	água (controle)	10,91**	12,14**	11,25**	10,97**	11,75**
	20,98 A	7,0	9,88**	23,78**	20,95**	25,10**	25,19**
	24,81 B	9,0	13,84**	28,30**	25,39**	29,82**	26,69**
C.V. (%) <sup>1</sup> 18,04							

<sup>1</sup>Coefficiente de variação\*\* Significativo a 5% de probabilidade. As médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. T<sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1 mm; T<sub>2</sub> = bagaço *in natura* com 1,1 mm; T<sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5 mm; T<sub>4</sub> = bagaço *in natura* com 2,5 mm.

**Tabela 3** - Teor de hemicelulose em função dos tempos de reações em diferentes concentrações ácidas para o pré-tratamento do BCA à 121 °C, 1 atm.

Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	HEMICELULOSE (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>1</sub>	35,37A	água (controle)	35,43**	37,16**	34,00**	34,53**	35,72**
	6,85 C	7,0	21,76**	5,02**	1,98**	1,99**	3,50**
	9,23 B	9,0	33,89**	2,85**	4,34**	2,84**	2,24**
C.V.(%) <sup>1</sup> 5,72							
Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	HEMICELULOSE (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>2</sub>	35,49 A	água (controle)	34,90**	35,24**	37,19**	35,13**	35,02**
	10,36 B	7,0	37,55**	3,89**	3,28**	3,90**	3,16**
	9,38 C	9,0	34,25**	3,26**	2,41**	3,91**	3,06**
C.V.(%) <sup>1</sup> 6,36							
Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	HEMICELULOSE (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>3</sub>	35,69 A	água (controle)	36,77**	36,83**	34,18**	36,75**	33,91**
	10,17 B	7,0	36,65**	4,30**	3,29**	3,15**	3,46**
	9,71 B	9,0	38,15**	3,06**	2,84**	1,08**	3,40**
C.V. (%) <sup>1</sup> 5,60							
Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	HEMICELULOSE (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>4</sub>	35,76 A	água (controle)	36,68**	36,81**	33,50**	36,93**	34,87**
	9,73 B	7,0	38,43**	3,62**	2,44**	2,30**	1,88**
	9,87 B	9,0	33,64**	3,60**	3,98**	4,65**	3,49**
C.V. (%) <sup>1</sup> 6,12							

<sup>1</sup>Coefficiente de variação

\*\* Significativo a 5% de probabilidade. As médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. T<sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1 mm; T<sub>2</sub> = bagaço *in natura* com 1,1 mm; T<sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5 mm; T<sub>4</sub> = bagaço *in natura* com 2,5 mm.

**Tabela 4** - Teor de celulose em função dos tempos de reações em diferentes concentrações ácidas para o pré-tratamento do BCA à 121 °C, 1 atm.

Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	CELULOSE (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>1</sub>	46,98 C	água (controle)	43,52**	45,44**	48,50**	48,86**	48,15**
	62,76 A	7,0	58,23**	63,75*	64,64**	63,64**	63,52**
	60,06 B	9,0	43,71**	62,58**	64,55**	66,02**	63,44**
C.V.(%) <sup>1</sup> 3,45							
Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	CELULOSE (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>2</sub>	45,23 B	água (controle)	44,50**	45,75**	45,74**	46,53**	43,63**
	57,80 A	7,0	39,58**	62,98**	63,04**	62,72**	60,68**
	57,79 A	9,0	40,42**	62,44**	62,91**	60,97**	62,22**
C.V.(%) <sup>1</sup> 6,20							
Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	CELULOSE (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>3</sub>	47,79 B	água (controle)	44,34**	45,00**	50,61**	48,79**	50,22**
	61,25 A	7,0	48,21**	64,24**	64,81**	63,91**	65,11**
	59,87 A	9,0	45,61**	66,01**	58,40**	65,56**	63,74**
C.V. (%) <sup>1</sup> 4,45							
Amostra	Média	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	CELULOSE (%)				
			Tempo (minutos)				
			0	15	30	45	60
T <sub>4</sub>	46,61 B	água (controle)	45,14**	46,30**	46,58**	47,96**	47,05**
	59,81 A	7,0	47,29**	63,43**	61,46**	64,43**	61,42**
	58,93 A	9,0	43,93**	61,17**	64,51**	64,35**	60,68**
C.V. (%) <sup>1</sup> 4,86							

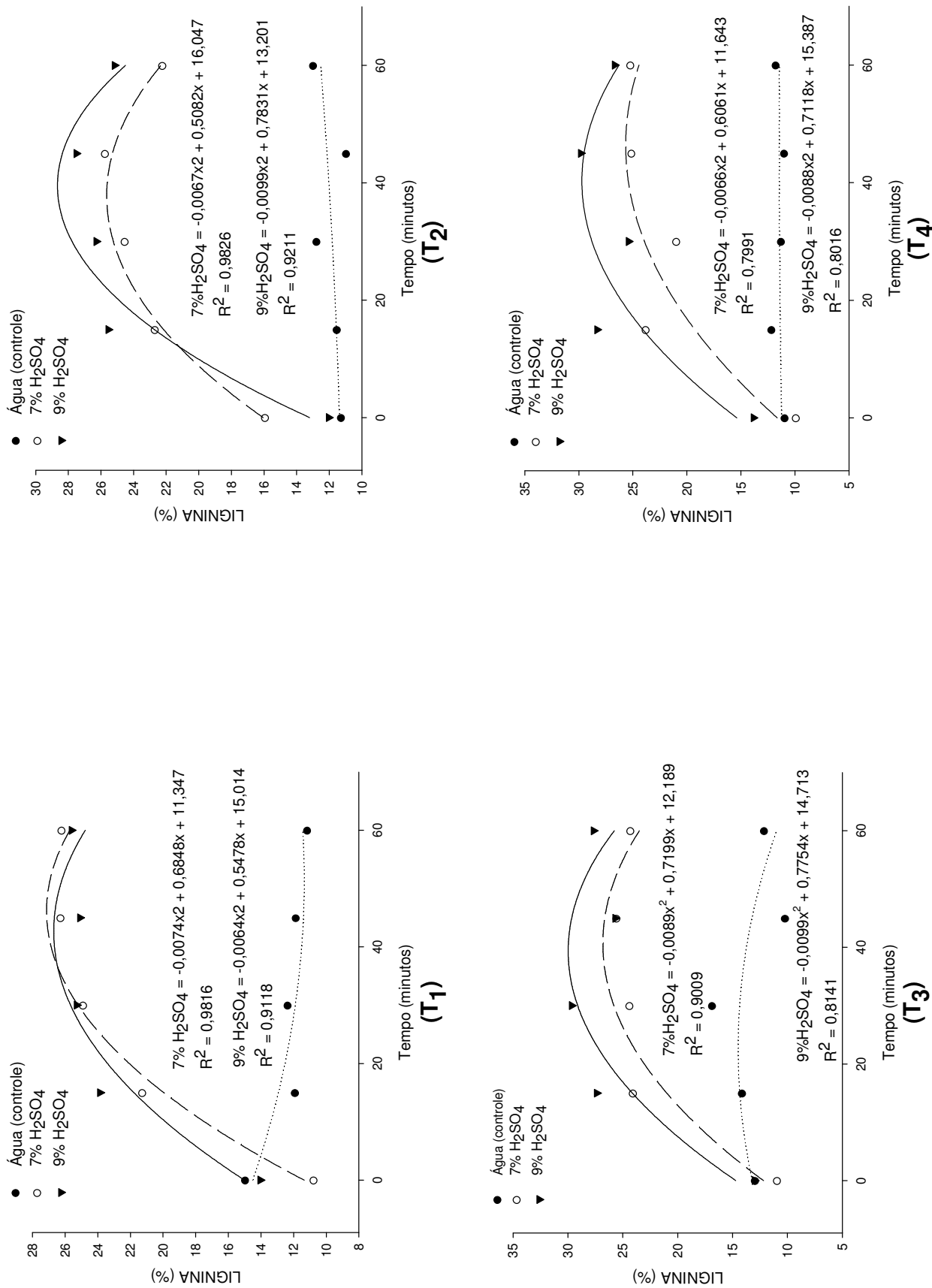
<sup>1</sup>Coefficiente de variação\*\* Significativo a 5% de probabilidade. As médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. T<sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1 mm; T<sub>2</sub> = bagaço *in natura* com 1,1 mm; T<sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5 mm; T<sub>4</sub> = bagaço *in natura* com 2,5 mm.

#### 4.2.1. Lignina

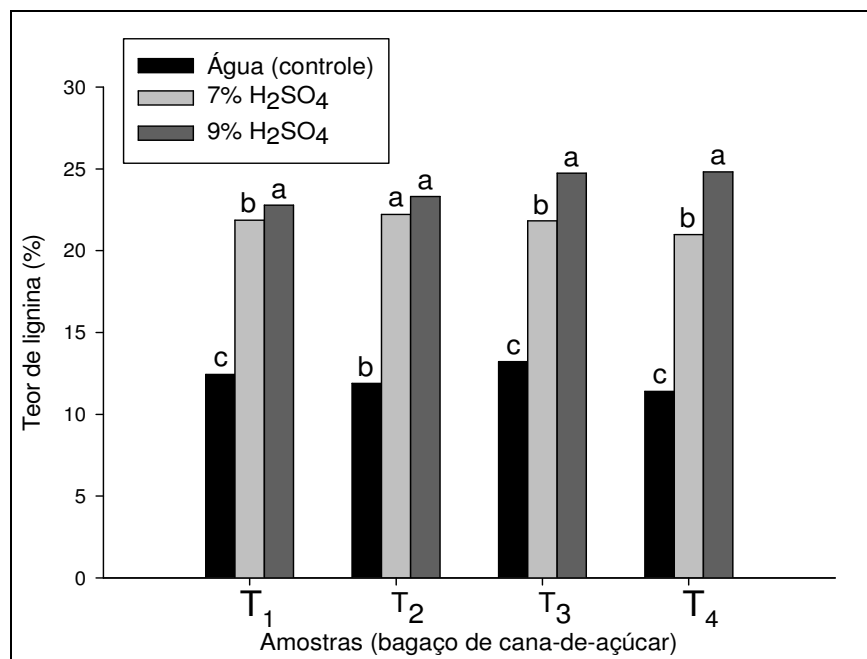
Neste estudo, comparando-se os resultados obtidos para o bagaço com aplicação das duas concentrações ácidas, em relação à amostra considerada como controle, nota-se que após o pré-tratamento houve uma redução no teor de lignina dos tratamentos T<sub>1</sub>(7,0 e 9,0 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> (7,0% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) no tempo zero, onde o intervalo de valor encontrado foi entre 1,1 a 1,39 vezes (Tabela 2).

Ainda, os resultados mostrados na Figura 8: T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> considerando-se o teor de lignina em função do tempo indicam que houve um acréscimo no teor de lignina para todos os tempos de reação e respectivas concentrações ácidas. Os valores foram semelhantes obtendo-se entre 1,1 a 2,72 vezes de aumento.

A partir dos resultados apresentados é possível verificar que o ácido sulfúrico é responsável por um pequeno aumento no teor da fração de lignina e que as diferentes concentrações ácidas em função do tempo utilizadas neste estudo são significativas nos tratamentos T<sub>1</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> (Figura 9).



**Figura 8** - Efeito do pré-tratamento ácido para análise da quantificação do teor de lignina à 121 °C, 1 atm no BCA; **T<sub>1</sub>** = bagaço lavado com 1,1 mm; **T<sub>2</sub>** = bagaço *in natura* com 1,1mm; **T<sub>3</sub>** = bagaço lavado com 2,5mm; **T<sub>4</sub>** = bagaço lavado *in natura* com 2,5mm.



**Figura 9** - Comparação dos teores de lignina obtidos na determinação da melhor concentração de ácido sulfúrico no pré-tratamento do BCA a 121 °C, 1 atm (letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância). **T<sub>1</sub>** = bagaço lavado com 1,1 mm; **T<sub>2</sub>** = bagaço *in natura* com 1,1 mm; **T<sub>3</sub>** = bagaço lavado com 2,5 mm; **T<sub>4</sub>** = bagaço *in natura* com 2,5 mm.

A lignina total engloba as frações solúveis e insolúveis. Este termo (lignina) é usado para designar um grupo de substâncias com unidades químicas semelhantes. Sua estrutura é complexa e não muito bem definida. O tratamento poderá elevar o teor aparente da lignina, devido à formação do complexo hemicelulose e proteína com a lignina (SILVA e QUEIROZ, 2002).

Filho (2008) descreve a eficiência da hidrólise do bagaço em diferentes tratamentos: *in natura* (controle), 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1,5 NaOH, 2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 1,5% NaOH na proporção de 1:10 (m/v) em autoclave a 121°C por 15 min. (Quadro 7).

**Quadro 7** - Caracterização do bagaço de cana tratado e não tratado, segundo Filho (2008).

<b>Tratamento</b>	<b>Lignina (%)</b>
Bagaço <i>in natura</i> (controle)	11,21
2% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	12,22
1,5% NaOH	9,75
2% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	13,37
2% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 1,5% NaOH	15,87

Segundo o autor o acréscimo no teor de lignina em alguns tratamentos é por promoverem o rompimento das fibras de lignina e celulose presentes na parte interna do bagaço. Porém, sendo liberadas ou solubilizadas não fazem mais parte das fibras do bagaço.

Fasanella (2008) em seu estudo submeteu alíquotas de bagaço ao tratamento químico alcalino. Preparou soluções de hidróxido de sódio (4%) e hidróxido de cálcio (4%), na proporção de 1:5, m/v submetidos à autoclavagem (121°C, 1 atm por 20min.). O teor de lignina encontrado em seu bagaço *in natura* foi de 10,44%.

O resultado mais eficiente de seu estudo foi 6,06% de lignina, pois quanto menor o teor da fração de lignina mais eficiente será o tratamento. Segundo Triana et al. (2002) citado por Fasanella (2008), as soluções alcalinas conseguem extrair lignina provocando modificações na composição química das fibras.

Outra forma de pesquisa da hidrólise do bagaço de cana foi feito por Pietrobron (2008), na qual o bagaço foi submetido ao pré-tratamento com ácido sulfúrico 0,5% e hidróxido de cálcio 3% submetidos à autoclavagem a 121°C por 30min. O resultado obtido em seu trabalho no bagaço sem pré-tratamento foi de 10,44% de lignina.

Apesar de não ter ocorrido redução na porcentagem de lignina em seu trabalho o autor afirma que é necessária uma etapa de pré-tratamento para que haja hidrólise eficiente quando se trabalha com materiais lignocelulósicos, pois tem como vantagem um maior acesso às fibras de celulose promovendo modificações em sua cristalinidade (PIETROBON, 2008 e HAHN-HAGERDAL et al. 2006).

De acordo com Fasanella (2008) e Pietrobron (2008) o bagaço de cana-de-açúcar tem sido analisado e estudado em relação ao teor de lignina apresentando em média os seguintes valores (Quadro 8) em seus diferentes tratamentos:

**Quadro 8** - Comparação de pré-tratamento com os rendimentos da porcentagem de lignina.

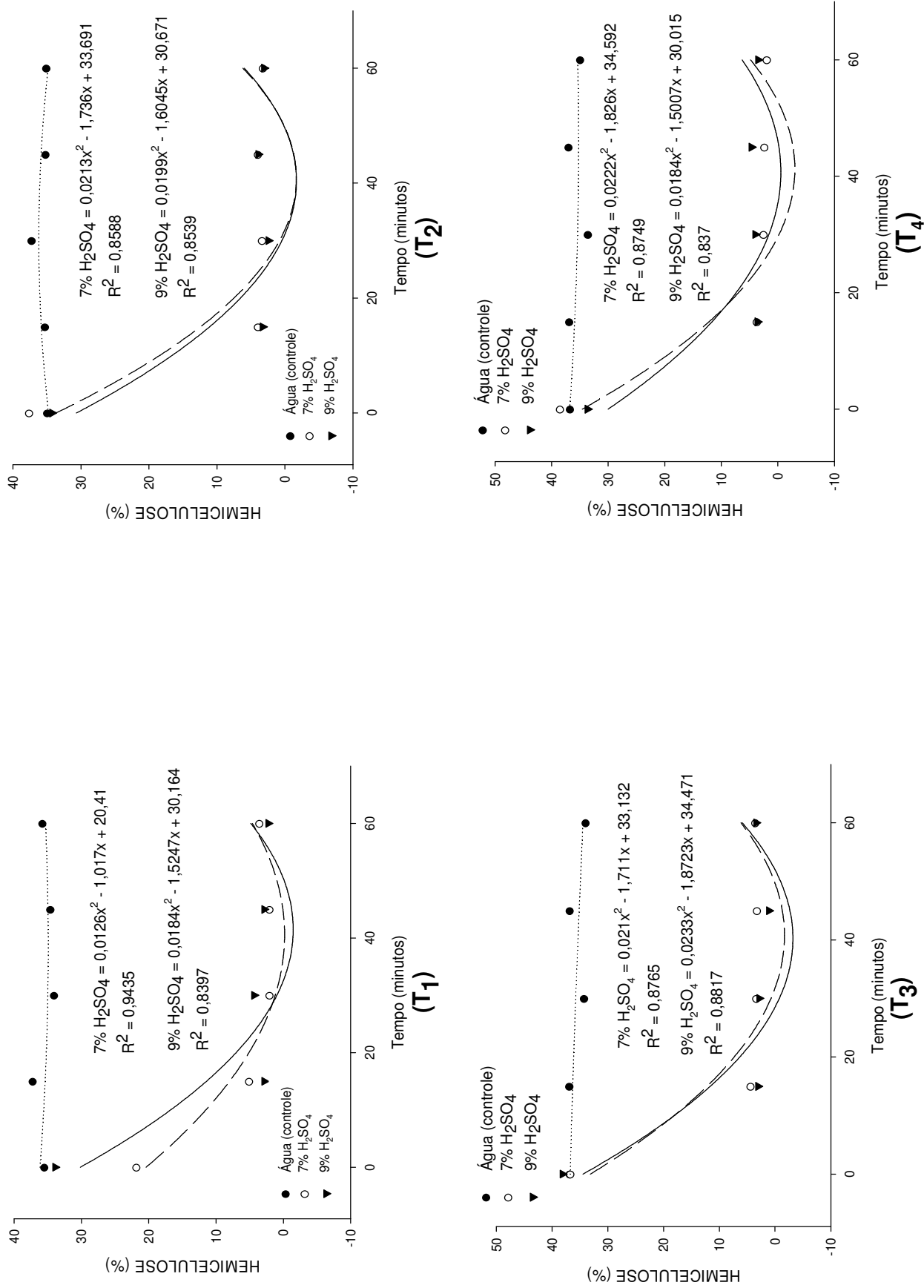
Tratamento	Tempo	Lignina (%)	Referência
4% Ca(OH) <sub>2</sub>		10,68	
4% NaOH	20 min	8,26	Fasanella, 2008
4% Ca(OH) <sub>2</sub> + 4% NaOH		6,06	
3% Ca(OH) <sub>2</sub>	30 min	9,96	Pietrobon, 2008
0,5% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		17,61	

No presente trabalho, pode-se concluir que com base no tempo de pré-tratamento e concentração ácida, a porcentagem no teor de lignina apresentados na reação permaneceu praticamente a mesma em todos os tratamentos, atingindo o maior aumento na fração lignina de 2,72 vezes em relação ao controle.

#### 4.2.2. Hemicelulose

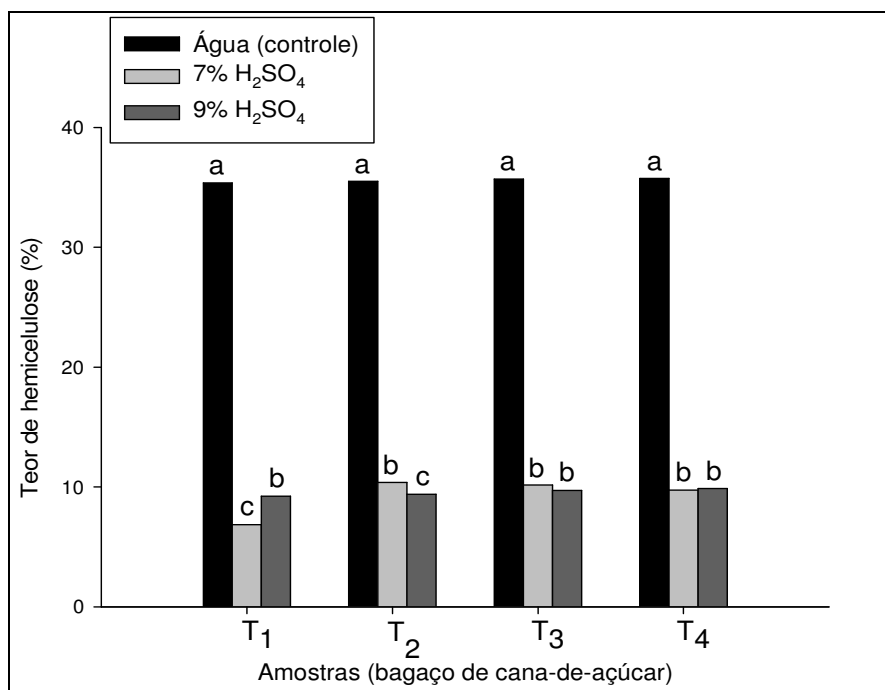
Neste trabalho pode-se notar que após o pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com aplicação das duas concentrações ácidas, em relação à amostra considerada como controle houve uma redução no teor de hemicelulose em todos os tratamentos em relação ao controle (Tabela 3, Figura 10: T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>).





**Figura 10** - Efeito do pré-tratamento ácido para análise da quantificação do teor de hemicelulose à 121 °C, 1 atm no BCA; T<sub>1</sub> = bagoço lavado com 1,1 mm; T<sub>2</sub> = bagoço lavado com 2,5mm; T<sub>3</sub> = bagoço lavado com 1,1mm; T<sub>4</sub> = bagoço lavado com 2,5mm.

Também foi observado que a concentração de ácido utilizado em função do tempo em relação à redução no teor de hemicelulose foi significativa nos tratamentos  $T_1$  e  $T_2$ . Sendo que no  $T_1$  a melhor concentração de ácido sulfúrico na porcentagem de redução da hemicelulose foi 7% e o  $T_2$  foi 9% (Figura 11).



**Figura 11** - Comparação dos teores de hemicelulose obtidos na determinação da melhor concentração de ácido sulfúrico no pré-tratamento do BCA a 121 °C, 1 atm (letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância);  $T_1$  = bagaço lavado com 1,1 mm;  $T_2$  = bagaço *in natura* com 1,1 mm;  $T_3$  = bagaço lavado com 2,5 mm;  $T_4$  = bagaço *in natura* com 2,5 mm.

Os resultados mostrados na figura 10:  $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$  e  $T_4$ , considerando-se o teor de hemicelulose em função do tempo indicam que houve uma diminuição no teor de hemicelulose no  $T_3$  (9% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) de até 34,04 vezes quando comparado ao controle sendo este o menor rendimento encontrado e o valor foi 1,08% hemicelulose.

Ainda analisando a figura 10: T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>, constatou-se que em 15 minutos a % de hemicelulose reduziu para próximo de zero (aproximadamente 3%) e manteve-se praticamente constante em todos os tratamentos.

Filho (2008) descreve a eficiência do pré-tratamento do bagaço em diferentes tratamentos: *in natura* (controle), 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1,5 NaOH, 2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 1,5% NaOH na proporção de 1:10 (v/p) em autoclave a 121°C por 15 min (Quadro 9).

**Quadro 9** - Comparação do teor de hemicelulose em diferentes tratamentos (Filho, 2008).

<b>Tratamento</b>	<b>Hemicelulose (%)</b>
2% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5,87
1,5% NaOH	11,98
2% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	8,46
2% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 1,5% NaOH	2,98

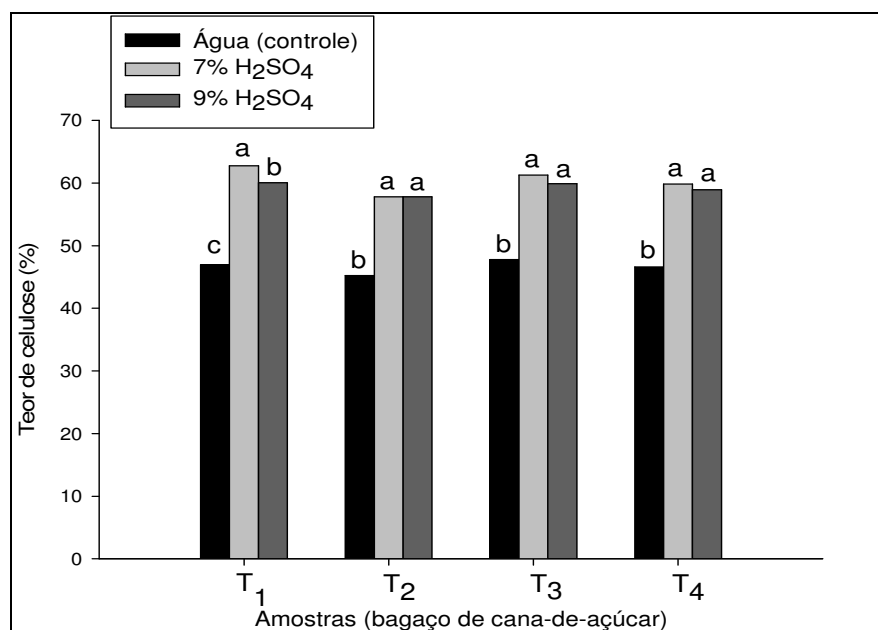
Segundo Filho (2008) e Pietrobon (2008) a alteração no teor de hemicelulose ocorre pelo tratamento ácido. Este tratamento age rompendo as fibras de hemicelulose e gerando outros tipos de açúcares (como a xilose e arabinose em maiores quantidades). O pré-tratamento utilizando ácido diluído possibilita a remoção seletiva das hemiceluloses e produz soluções sacarídeas, pré-hidrolisados, elevando-se o teor de pentose e reduzindo o teor de lignina (FASANELLA, 2008).

De acordo com Pietebon (2008), na qual o bagaço foi submetido ao pré-tratamento com ácido sulfúrico 0,5% e hidróxido de cálcio 3% submetidos à autoclavagem a 121°C por 30min. O resultado obtido em seu trabalho foi: 12,50% de hemicelulose [bagaço + Ca(OH)<sub>2</sub>] e 2,24% de hemicelulose (bagaço + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). O autor também observou redução no teor de hemicelulose em seus tratamentos.

O presente trabalho, com base no tempo de pré-tratamento e concentração ácida, pode-se concluir que a redução no teor das hemiceluloses foi obtida em todos os tratamentos.

### 4.2.3. Celulose

Com a análise da figura 12 é possível notar que após o pré-tratamento não houve diferença significativa em relação à concentração ácida utilizada nos tratamentos T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>. Por outro lado, no T<sub>1</sub> nota-se diferença significativa em relação à concentração ácida utilizada neste estudo, sendo 7% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a mais eficiente.

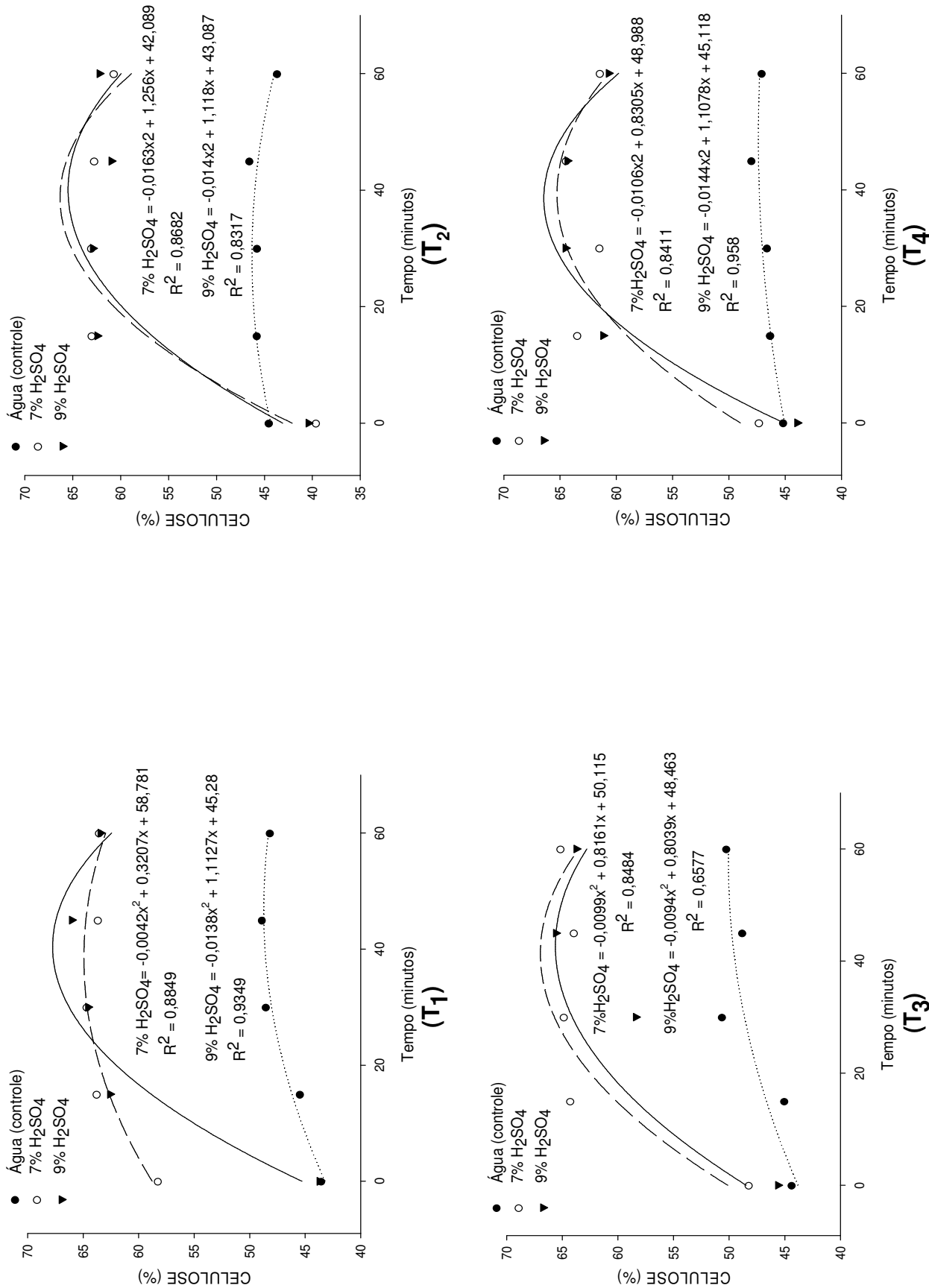


**Figura 12** - Comparação dos teores de celulose obtidos na determinação da melhor concentração de ácido sulfúrico no pré-tratamento do BCA a 121 °C, 1 atm (letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância); T<sub>1</sub> = bagaço lavado com 1,1 mm; T<sub>2</sub> = bagaço *in natura* com 1,1 mm; T<sub>3</sub> = bagaço lavado com 2,5 mm; T<sub>4</sub> = bagaço *in natura* com 2,5 mm.

Pode-se notar, avaliando a Tabela 4 e Figura 13: T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> um aumento semelhante em todos os tratamentos em relação ao teor da fração de celulose. O T<sub>3</sub> (9% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 15min.) se destacou como sendo o melhor tratamento que aumentou a sua fração de celulose não se distanciando muito dos outros e seu aumento foi de 1,48 vezes em relação

ao controle. Este resultado demonstra que as concentrações ácidas em função do tempo trabalhadas nesta pesquisa não incrementaram a hidrólise da fração celulose.

Ainda analisando a figura 13 no T<sub>1</sub> (15, 30 e 60 min.) observa-se que, apesar da diferença de concentração ácida utilizada (7,0 e 9,0% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), obteve-se o mesmo valor de aumento neste intervalo de tempo após o pré-tratamento. Este aumento da fração de celulose foi de 1,4 vezes (para o T<sub>1</sub>, 15min.), 1,33 vezes (para o T<sub>1</sub>, 30min.) e 1,32 vezes (para o T<sub>1</sub>, 60min.).



**Figura 13** - Efeito do pré-tratamento ácido para análise da quantificação do teor de celulose à 121 °C, 1 atm; **T<sub>1</sub>** = bagaço lavado com 1,1 mm; **T<sub>2</sub>** = bagaço *in natura* com 2,5mm; **T<sub>3</sub>** = bagaço lavado com 2,5mm; **T<sub>4</sub>** = bagaço *in natura* com 2,5mm.

Segundo Garcia (2009), quanto maior o teor de celulose melhor o resultado, significando que parte da celulose não foi degradada, sendo um bom resultado para que, conseqüentemente, o teor de glicose após a hidrólise seja mais elevado, o que pode gerar, na fermentação subsequente, maior rendimento de etanol.

De acordo com alguns autores o bagaço de cana-de-açúcar tem sido analisado e estudado em relação ao teor de celulose apresentando em média os seguintes valores (Quadro 10):

**Quadro 10** - Comparação do teor de celulose em diferentes tratamentos a 121°C.

<b>Tratamento</b>	<b>Tempo</b>	<b>Celulose (%)</b>	<b>Referência</b>
2,0% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		70,08	
1,5% NaOH	15 min.	53,44	Filho, 2008
2% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		59,50	
2% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 1,5% NaOH		67,31	
4% Ca(OH) <sub>2</sub>		42,06	
4% NaOH	20min	48,57	Fasanella, 2008
4% Ca(OH) <sub>2</sub> + 4% NaOH		50,28	
3% Ca(OH) <sub>2</sub>	30min	62,38	Pietrobon, 2008
0,5% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		69,77	

O presente trabalho, com base no tempo de pré-tratamento e concentração ácida, pode-se concluir que o aumento no teor da fração celulose foi obtido em todos os tratamentos, demonstrando um bom resultado como pré-tratamento para a posterior hidrólise.

## 5. CONCLUSÕES

Os valores dos açúcares redutores e da composição química do bagaço de cana-de-açúcar estão de acordo com os valores apresentados na literatura.

De maneira geral, o pré-tratamento ácido contribui para uma eficiência na liberação de açúcares redutores.

O pré-tratamento ácido diluído mostrou-se bastante eficiente na separação dos três principais componentes do bagaço de cana. Pode-se concluir que a porcentagem no teor de lignina permaneceu praticamente a mesma em todos os tratamentos, atingindo um aumento nesta fração com a aplicação do ácido sulfúrico em relação ao controle.

Ainda, o pré-tratamento químico realizado no bagaço, apresentou uma quebra nas fibras do substrato: a celulose aumentou em comparação ao controle e fez o teor de hemicelulose baixar em todos os tratamentos, demonstrando um bom resultado como pré-tratamento para a posterior hidrólise.



## 6. REFERÊNCIAS

AGUIAR FILHO, JOSÉ MARIO MAMEDE. **Análise enzimática de fungos lignocelulolíticos cultivados em vinhaça e bagaço de cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2008.

BASTOS, V.D. **Etanol, alcoolquímica e biorrefinarias**. Rio de Janeiro: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social Setorial, 2007. n. 25, p. 5-38.

BERNARDO NETO, O. **Integração das principais tecnologias de obtenção de etanol através do processamento de celulose (2ª geração) nas atuais usinas de processamento de cana-de-açúcar (1ª geração)**. 2009. 138f. Dissertação (Mestrado) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

BURGI, RICARDO. **Utilização de resíduos culturais e de beneficiamento na alimentação de bovinos**. Anais do 6º simpósio sobre nutrição de bovinos da FEALQ, 1995. Piracicaba-SP, p. 153-169.

CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R.A.; PERES, L.E.P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 2005.

CGEE. **Bioetanol combustível: uma oportunidade para o Brasil**: Centro de gestão e estudos estratégicos. Brasília, DF: Ed. Corporate Financial Center, 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Brasil bate mais um recorde na produção de cana**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/>>. Acesso em: 23 nov. 2009.

COSTA, L. Cada vez mais perto do etanol celulósico. **O Estado de S. Paulo**, São Paulo, 31 mar./6 abr 2010. Jornal Agrícola, p.6-7.

DUARTE, HUMBERTO CONRADO. **Hidrólise de bagaço de cana com ácido clorídrico concentrado**. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 1989.

ESCOBAR, H. Na busca por mais etanol, ciência tenta reinventar a cana. **O Estado de S. Paulo**, São Paulo, 18 abr. 2010. Vida, p.A26-7.

FASANELLA, C.C. **A ação das enzimas ligninolíticas produzidas por *Aspergillus Níger* e *Penicillium* SP. Em bagaço de cana-de-açúcar tratado quimicamente**. 2008. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

GARCIA, D.R. **Determinação de dados cinéticos do Pré-tratamento de bagaço de cana-de-açúcar com peróxido de hidrogênio alcalino e da hidrólise enzimática posterior**. 2009. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

HAHN-HAGERDAL, B.; GALBE, M.; GORWA-GRAUSLUND, M.F.; LIDÉN, G.; ZACCHI, G. Bio-ethanol-the fuel of tomorrow from the residues of today. **Trends in Biotechnology**, v.24, n.12, 2006. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science>.> Acesso em: 15 janeiro 2010.

HAMENLICK, C.; VAN HOOIJDONK, G.; FAAIJ, A. **Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short, middle and long-term**. *Biomass and Bioenergy*, v. 28, 2005, p. 384-410.

INSTITUTO CUBANO DE PESQUISA DOS DERIVADOS DA CANA-DE-AÇÚCAR (ICIDCA). **Manual dos derivados da cana-de-açúcar: diversificação, matérias-primas, derivados do bagaço, derivados do melaço, outros derivados, resíduos, energia**. Brasília: ABIPTI, 1999.

JOAQUIM, A.P. **Estudo das etapas de ativação no processo de benzilação da polpa de medula de bagaço de cana-de-açúcar**. 1997. 78f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

KIIPPER, PABLO GOMES. **Estudo da pré-hidrólise ácida do bagaço de cana-de-açúcar e fermentação alcoólica do mosto de xilose por *Pachysolen tannophilus***. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, Rio Claro, 2009.

KNAUF, M.; MONIRUZZAMAN, M. Lignocellulosic biomass processing: **A perspective**. **International Sugar Journal, Glamorgan**, v. 106, n. 1263, p. 147-150, 2004. Disponível em: [www.genencor.com/international%20sugar%20journal%20\(april%\).pdf](http://www.genencor.com/international%20sugar%20journal%20(april%).pdf). Acesso em: 13 junho 2010.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 1995.

MACHADO, DENISE DE SOUZA. **Seleção de fungos capazes de hidrolisar bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado**. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2009.

MACHADO, G.O. **Preparação e caracterização de CMC e CMC grafitizada**. 2000. 101f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

MARQUES, F. O alvo é o bagaço. **Pesquisa FAPESP**, n.163, p.17-25, set. 2009.

NELSON, N.A. Photometric adaptation of Somogyi method for determination of glicose. **Journal Biological Chemistry**, v.31, n.2, p.159-161, 1944.

NETO, OLVALDO BERNADO. **Integração das principais tecnologias de obtenção de etanol através do processamento de celulose (2ª geração) nas atuais usinas de processamento de cana-de-açúcar (1ª geração)**. Dissertação (Mestrado) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

OLIVÉRIO, J.L.; HILST, A.G.P. DHR - Dedini Hidrólise Rápida – revolutionary process for producing alcohol from sugar cane bagasse. **International Sugar Journal**, v. 106, p.168-172, 2004.

PALMQVIST, E.; HAHN-HAGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. **Bioresource Technology**, v.74, n.1, p.25–33, 2000.

PIETROBON, VIVIAN CRISTINA. **Hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com ácido e álcali utilizando enzima microbianas comerciais**. Dissertação (Mestrado) - . Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2008.

PITARELO, ANA PAULA. **Avaliação da susceptibilidade do bagaço e da palha de cana-de-açúcar à bioconversão via pré-tratamento a vapor e hidrólise enzimática**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

RABELO, S.C. **Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar**. 2007. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade de Campinas, Campinas, 2007.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia vegetal**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

RODRIGUES, F.Á. **Avaliação da tecnologia de hidrólise ácida de bagaço de cana**. 2007. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

SEABRA, JOAQUIM EUGÊNIO ABEL. **Avaliação técnico-econômica de opções para o aproveitamento integral da biomassa de cana no Brasil**. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica, Campinas, SP., 2008.

SILVA, DIRCEU JORGE.; QUEIROZ, AUGUSTO CÉZAR. **Análise de alimentos**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002.

SOUSA, MARIA DE FÁTIMA BRITO. **Separação e identificação dos constituintes do bagaço de cana e sua conversão em insumos químicos pelo processo “Organosolv”**. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campina, 1984.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TECHNOLOGY REVIEW. **“Redesigning life to make ethanol”**. Technology Review – an MIT Enterprise. Disponível em: <[http://www.technologyreview.com/printer\\_friendly\\_article.aspx?id=17052](http://www.technologyreview.com/printer_friendly_article.aspx?id=17052)>. Acesso em: 29.9.2010.