

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 80

ISSN 1679-6543
Dezembro, 2013

Biodegradabilidade Anaeróbia dos Resíduos Provenientes das Cadeias Produtivas dos Biocombustíveis: Bagaço de Cana-de-açúcar



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 80

Biodegradabilidade Anaeróbia dos Resíduos Provenientes das Cadeias Produtivas dos Biocombustíveis: Bagaço de Cana-de-açúcar

*Renato Carrhá Leitão
Adriana Guimarães Costa
Ana Ribeiro Cassales
Lílian Chayn Alexandre
Francisca Gleyciara Cavalcante Pinheiro
Gleycielle Cavalcante Pinheiro
Alexsandro Freitas Viana
Sandra Tédde Santaella
André Bezerra dos Santos
Morsyleide de Freitas Rosa*

Embrapa Agroindústria Tropical
Fortaleza, CE
2013

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici

CEP 60511-110 Fortaleza, CE

Fone: (85) 3391-7100

Fax: (85) 3391-7109

www.cnpat.embrapa.br

cnpat.sac@embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente: *Marlon Vagner Valentim Martins*

Secretário-Executivo: *Marcos Antônio Nakayama*

Membros: *José de Arimatéia Duarte de Freitas, Celli Rodrigues Muniz, Renato Manzini Bonfim, Rita de Cassia Costa Cid, Rubens Sonsol Gondim, Fábio Rodrigues de Miranda*

Revisão de texto: *Marcos Antônio Nakayama*

Normalização bibliográfica: *Rita de Cassia Costa Cid*

Foto da capa: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/29/Cut_sugarcane.jpg

Editoração eletrônica: *Arilo Nobre de Oliveira*

1ª edição (2013): versão eletrônica

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agroindústria Tropical

Biodegradabilidade anaeróbica dos resíduos provenientes das cadeias produtivas dos biocombustíveis: bagaço de cana-de-açúcar / Renato Carrhá Leitão... [et al.]. – Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013.

39 p. : il. color.; 14,8 cm x 21 cm. – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 1679-6543; 80).

1. Digestão anaeróbica. 2. Resíduos lignocelulósicos. 3. Biocombustível de segunda geração. 4. Metano. 5. PPM. I. Leitão, Renato Carrhá. II. Costa, Adriana Guimarães. III. Cassales, Ana Ribeiro. IV. Alexandre, Lílian Chayn. V. Pinheiro, Francisca Gleyciara Cavalcante. VI. Pinheiro, Gleycielle Cavalcante. VII. Viana, Alexsandro Freitas. VIII. Santaella, Sandra Tédde. IX. Santos, André Bezerra dos. X. Rosa, Morsyleide de Freitas. XI. Série.

CDD 633.61

© Embrapa 2013

Sumário

| | |
|---|-----------|
| Resumo | 4 |
| Abstract..... | 6 |
| Introdução..... | 7 |
| Material e Métodos..... | 9 |
| Substrato: bagaço de cana-de-açúcar | 9 |
| Preparação e determinações físico-químicas do bagaço de cana-de-açúcar | 9 |
| Procedimentos experimentais de hidrólise..... | 10 |
| Análise estatística | 12 |
| Cálculos das eficiências de hidrólise | 13 |
| Teste de biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano..... | 16 |
| Resultados e Discussão..... | 19 |
| Pré-tratamento hidrotérmico | 19 |
| Pré-tratamento usando hidrólise ácida..... | 21 |
| Pré-tratamento usando hidrólise alcalina..... | 25 |
| Biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano . | 28 |
| Conclusões..... | 32 |
| Agradecimentos | 33 |
| Referências | 34 |

Biodegradabilidade Anaeróbia dos Resíduos Provenientes das Cadeias Produtivas dos Biocombustíveis: Bagaço de Cana-de-açúcar

Renato Carrhá Leitão¹

Adriana Guimarães Costa²

Ana Ribeiro Cassales³

Lilian Chayn Alexandre⁴

Francisca Gleyciara Cavalcante Pinheiro⁵

Gleycielle Cavalcante Pinheiro⁶

Alexsandro Freitas Viana⁷

Sandra Tédde Santaella⁸

André Bezerra dos Santos⁹

Morsyleide de Freitas Rosa¹⁰

Resumo

Resíduos lignocelulósicos podem ser usados como biomassa para geração de energia por biogás, desde que um pré-tratamento seja aplicado ao material para solubilização dos açúcares ou para remoção da lignina. Neste trabalho, os pré-tratamentos ácido, alcalino e hidrotérmico aplicados ao bagaço de cana-de-açúcar foram avaliados visando a aumentar a biodegradabilidade anaeróbia e o potencial de produção de metano (PPM). Os resultados mostram que a maior produção de açúcar (31,14 g GRT/g de substrato) foi alcançada

¹ Engenheiro civil, D.Sc. em Ciências Ambientais, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, renato.leitao@embrapa.br

² Engenheira sanitária, doutoranda em Saneamento Ambiental na Universidade Federal do Ceará, professora do Centro Federal de Educação Tecnológica do Ceará, Fortaleza, CE, engedri@yahoo.com.br

³ Química industrial, M.Sc. em Ciências e Tecnologia dos Alimentos, analista da Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, ana.cassales@embrapa.br

⁴ Engenheira química, técnica da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, lilian.alexandre@embrapa.br

⁵ Tecnóloga em Processos Químicos, mestranda em Química na Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, gleyciaracavalcante@gmail.com

⁶ Graduada em Tecnologia em Gestão Ambiental no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), bolsista de Iniciação Científica do IFCE, Fortaleza, CE, gleyciellecavalcante@gmail.com

⁷ Graduando em Engenharia Química pela Universidade Federal do Ceará, bolsista de graduação UFC/Embrapa, Fortaleza, CE, alex_vfreitas@yahoo.com.br

⁸ Química, D.Sc. em Hidráulica e Saneamento, professora associada da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, sandra@ufc.br

⁹ Engenheiro civil, D.Sc. em Ciências Ambientais, professor-adjunto da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, andre23@ufc.br

¹⁰ Engenheira química, D.Sc. em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, morsyleide.rosa@embrapa.br

com o pré-tratamento ácido clorídrico usando tempo de reação de 6,4 minutos, temperatura de 138 °C e concentração de HCl de 0,63 M, enquanto a remoção máxima de lignina (23,24 g Lig/g de substrato) foi obtida com o pré-tratamento alcalino usando tempo de reação de 474 minutos, temperatura de 184 °C e concentração de NaOH de 0,8 M. No entanto, os melhores PPM (199 L CH₄/kg substrato) e biodegradabilidade anaeróbia (27,4%) foram obtidos com o pré-tratamento hidrotérmico com um tempo de reação de 10 minutos e temperatura de 200 °C, suficientes para gerar energia de 6,8 MJ/kg de substrato. A lignina recuperada, com elevado valor agregado, pode ser utilizada para melhorar a sustentabilidade e rentabilidade do processo. Nesse caso, o pré-tratamento alcalino pode ser usado para extrair 80,2% da lignina presente no bagaço, e o hidrolisado pode gerar 313 L CH₄/kg de substrato.

Termos para indexação: Digestão anaeróbia, resíduos lignocelulósicos, biocombustível de segunda geração, metano, PPM.

Anaerobic Biodegradability of the Waste from the Biofuels Industry: Sugarcane Bagasse

Abstract

Lignocellulosic wastes can be used as a biomass resource for power generation via biogas as far as a pretreatment is applied to the material either for sugars solubilisation or lignin removal. We evaluated the acid, alkaline and hydrothermal pretreatments on sugarcane bagasse in order to increase the anaerobic biodegradability and methane production potential (MPP). The results showed that the highest sugar production (31,14 g TRG/g substrate) was achieved with the acid pretreatment using reaction time of 6,4 minutes, temperature of 138 °C and HCl concentration of 0,63 M; whereas the highest lignin removal (23,24 g Lig/g substrate) was found with alkali pretreatment using 474 minutes, temperature of 184 °C and NaOH concentration of 0,8 M. However, the best MPP (199 L CH₄/kg substrate) and the best anaerobic biodegradability (27,4%) were achieved by using hydrothermal pretreatment with a reaction time of 10 minutes and temperature of 200 °C, which is enough to generate power of 6,8 MJ/kg substrate. However, the recovered lignin, with high added-value, may be used for improving sustainability and profitability. In this case, the alkaline pretreatment can help the extraction of 80,2% of the lignin present in the bagasse, and the hydrolysis pretreatment can generate 313 L CH₄/kg substrate.

Index terms: Anaerobic digestion, lignocellulosic waste, second-generation biofuel, methane, MPP.

Introdução

O bagaço de cana-de-açúcar é um resíduo lignocelulósico gerado na cadeia produtiva sucroalcooleira durante o processo de extração do caldo da cana. Esse material é comumente usado como combustível para as caldeiras destinadas à produção de vapor de baixa pressão (PROPRIEDADES..., 1998). No entanto, ainda existe um excesso que provoca problemas ambientais e de armazenagem (SUN et al., 2004). A produção total de cana-de-açúcar no Brasil para o período de colheita de 2012-2013 foi estimada em $596,6 \times 10^6$ t (CONAB, 2013). Considerando que a produção de bagaço é de aproximadamente 0,135 t/t de cana-de-açúcar (BRASIL, 2007), o Brasil gerou cerca de $80,5 \times 10^6$ t de bagaço.

A fibra do bagaço da cana-de-açúcar consiste de celulose (entre 25% e 47%), hemicelulose (entre 20% e 35%) e lignina (entre 15% e 35%) (SUN et al., 2004; CANILHA et al., 2007). O bagaço de cana-de-açúcar é normalmente queimado diretamente em caldeiras para aproveitamento da energia. No entanto, a eficiência desse processo é muito baixa e gera emissões que diminuem a eficiência ambiental. Uma alternativa mais amigável ambientalmente para o uso do resíduo é fazer sua digestão anaeróbia para produção de metano visando à geração de energia renovável. Celulose e hemicelulose podem ser convertidas em metano por fermentação anaeróbia, produzindo energia e aumentando o potencial energético do agronegócio sucroalcooleiro. Por exemplo, se todo o bagaço gerado durante o período de 2012-2013 fosse convertido em biogás, seria possível produzir até 32×10^9 m³ de biogás. Considerando-se que o biogás tem 60% de metano e poder calorífico inferior (PCI) de 34.450 kJ/m³ (SALOMON; LORA, 2005), o resíduo lignocelulósico poderia gerar $1,1 \times 10^9$ GJ de energia.

No entanto, a fim de maximizar a produção de energia pela digestão anaeróbia, é necessário considerar a hidrólise como a etapa limitante do processo (ANGELIDAKI; SANDERS, 2004). Em geral, durante a digestão anaeróbia de materiais lignocelulósicos, inicialmente o material orgânico é submetido à hidrólise dos polímeros complexos,

que são decompostos em monômeros, tais como açúcares e ácidos orgânicos, por enzimas produzidas pelo consórcio bacteriano. Contudo, as frações de celulose e hemicelulose em material lignocelulósico estão envoltos pela lignina, que atua como uma barreira física e impede a degradação anaeróbia. Nesse caso, deve-se considerar a utilização de um método de pré-tratamento para remover a fração de lignina. Além disso, a própria hemicelulose também atua como uma barreira física ao ataque enzimático da celulose. Nesse caso, o pré-tratamento deve ser dirigido para degradar hemicelulose e convertê-la em açúcares, permitindo a hidrólise da celulose e, conseqüentemente, aumentando a biodegradabilidade anaeróbia (TAHERZADEH; KARIMI, 2008).

A moagem é o pré-tratamento físico mais utilizado, com o objetivo de diminuir a cristalinidade e o grau de polimerização da celulose (BINOD et al., 2010). Entre os pré-tratamentos químicos mais usados, estão: a) hidrólise ácida (com ácido diluído ou concentrado), em que uma parte da celulose e da hemicelulose é convertida em açúcares fermentescíveis (MORAIS et al., 2010); b) hidrólise hidrotérmica, na qual a hemicelulose é convertida em açúcares e ácido acético, que atua como catalisador para a reação (MOSIER et al., 2005); c) hidrólise alcalina, que é tipicamente utilizada em materiais lignocelulósicos com elevado teor de lignina, já que promove a solubilização desta, além de provocar o inchamento do material, aumentando a porosidade e, conseqüentemente, a superfície acessível para exoenzimas (SUN; CHENG, 2002; SUN et al., 2004); d) hidrólise enzimática, catalisada por um complexo enzimático, composto por celulase, hemicelulase, β -licosidase, xilanase, arabinase e pectinase (PAN et al., 2005; VÁSQUEZ et al., 2007; SANTOS et al., 2010). Este último método é geralmente usado em conjunto com outros tipos de pré-tratamento, para reduzir as barreiras físicas promovidas pela lignina.

Este trabalho visou avaliar o efeito dos tratamentos termoquímicos (hidrotérmico, ácido e alcalino) na biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano do bagaço da cana-de-açúcar.

Material e Métodos

Substrato: bagaço de cana-de-açúcar

O bagaço de cana-de-açúcar (Figura 1) foi fornecido por uma usina de álcool localizada em Pernambuco. Devido ao alto teor de umidade, o bagaço foi congelado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e depois liofilizado em Liofilizador L202 LIO TOP no Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita da Embrapa Agroindústria Tropical, moído em moinho de facas (Tecnal-TE 058) no Laboratório Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical, peneirado por uma malha de 18 mesh (1 mm), homogeneizado e armazenado em temperatura ambiente (entre $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $30\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Fotos: Renato Carrhá Leitão

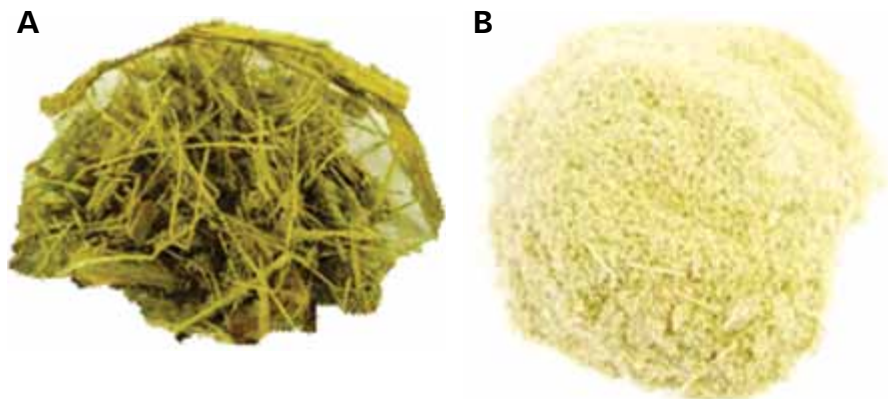


Figura 1. Bagaço de cana-de-açúcar bruto (A) e moído e peneirado (B).

Preparação e determinações físico-químicas do bagaço de cana-de-açúcar

As determinações físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da Embrapa Agroindústria Tropical. A série de sólidos (totais, fixos e voláteis), a demanda química de oxigênio (DQO) total e dissolvida e o pH foram determinados de acordo com os procedimentos descritos no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005).

Para as determinações dos teores de lignina solúvel extraída durante a hidrólise alcalina, adotou-se o método espectrofotométrico descrito por Rocha (2000), para determinação do ponto ótimo de cada pré-tratamento. Apesar de superestimar os resultados, esse método é eficaz para comparar pré-tratamentos diferentes.

Para determinação mais precisa da eficiência de extração da lignina, utilizou-se o método TAPPI T222 om-02 no hidrolisado empregado nos ensaios de biodegradabilidade e Potencial de Produção de Metano (PPM). Para a caracterização das fibras brutas e hidrolisadas, foram determinados os teores de cinzas, extrativos, celulose, hemicelulose e lignina de acordo com Morais et al. (2010), com base nas normas TAPPI T211 om-02 (TAPPI, 2002a), T413 om-93 (TAPPI, 1993), T204 cm-97 (TAPPI, 1997), T222 om-02 (TAPPI, 2002b), T203 cm-09 (TAPPI, 1999) e Yokoyama et al. (2002).

Os açúcares totais, em termos de Grupos Redutores Totais (GRT), foram determinados pelo método do DNS (ácido 3,5-dinitrossalicílico) descrito por Miller (1959).

As concentrações de furfural e 5-hidroximetilfurfural (HMF) no hidrolisado foram determinadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), sob as seguintes condições: coluna Agilent Zorbax SB C-18 mantida a 25 °C; detector ultravioleta/visível a 276 nm, tendo acetonitrila/água (2:8) com 1% de ácido acético como eluente em fluxo de 0,7 mL/min. Injetaram-se 20 µL de amostra. As amostras foram previamente filtradas em membrana de acetato de celulose ME25 com porosidade de 0,45 µL e diâmetro de 13 mm. As determinações de glicose, xilose, arabinose e ácido acético foram obtidas por CLAE.

Procedimentos experimentais de hidrólise

Os ensaios de hidrólise foram realizados em reatores de alta pressão, marca Berghof, modelo BR-300. No total, foram realizados 44 ensaios, sendo oito de hidrólise hidrotérmica, 18 de hidrólise ácida e 18 de hidrólise alcalina. O bagaço moído foi introduzido junto como catalisador (ácido ou base), ou mesmo sem catalisador, no caso da

hidrólise hidrotérmica, em um vaso de Teflon de 500 mL, instalado no reator de alta pressão. O reator foi controlado automaticamente por um dispositivo da marca Berghof, modelo BTC-3000, equipado com termostato PID. A temperatura, o tempo de reação e a concentração do catalisador foram pré-estabelecidos conforme planejamento experimental apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Fatores e níveis dos diversos pré-tratamentos usados nos experimentos de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar.

| Fator | Nível | | | | |
|--------------------|-------|------|------|------|-------|
| | -1,68 | -1 | 0 | +1 | +1,68 |
| Hidrotérmico | | | | | |
| Tempo (min) | - | 5 | 10 | 15 | - |
| Temperatura (°C) | - | 180 | 190 | 200 | - |
| Hidrólise ácida | | | | | |
| [HCl] (M) | 0,63 | 0,9 | 1,3 | 1,7 | 1,97 |
| Tempo (min) | 6,4 | 20 | 40 | 60 | 73,6 |
| Temperatura (°C) | 103 | 110 | 120 | 130 | 137 |
| Hidrólise alcalina | | | | | |
| [NaOH] (M) | 0,80 | 1,00 | 1,30 | 1,60 | 1,80 |
| Tempo (min) | 13 | 20 | 30 | 40 | 47 |
| Temperatura (°C) | 116 | 130 | 150 | 170 | 184 |

O pré-tratamento hidrotérmico foi avaliado em termos das variáveis independentes: temperatura (T entre 180 °C e 200 °C) e tempo de reação (t entre 5 min e 15 min) visando maximizar a hidrólise da fração holocelulósica sem a utilização de catalisadores.

O pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar usando hidrólise ácida com HCl diluído foi avaliado com base no efeito da temperatura (T entre 103 °C e 137 °C), concentração de ácido ([HCl] entre 0,63 M e 1,97 M) e tempo de reação (t entre 6,4 min e 73,6 min) sobre a hidrólise da celulose e hemicelulose, produzindo açúcares

fermentescíveis. Os ensaios de hidrólise ácida foram realizados utilizando misturas de 5 g do bagaço moído e peneirado e 50 mL de solução de HCl.

O pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar usando hidrólise alcalina com NaOH foi avaliado com base no efeito da temperatura (T entre 116 °C e 184 °C), concentração de álcali ([NaOH] entre 0,80 M e 1,80 M) e tempo de reação (t entre 13 min e 47 min) sobre a solubilização da lignina. A relação massa de substrato por volume de solução foi mantida em 1:10. As hidrólises alcalinas foram feitas com 10 g desse bagaço e 100 mL da solução de NaOH.

Em todas as hidrólises, as misturas ficavam em repouso por 5 minutos em temperatura ambiente (aproximadamente 27 °C) antes de serem inseridas em reatores de alta pressão. A contagem do tempo de reação era iniciada após a temperatura dentro da mistura atingir os valores pré-definidos na Tabela 1. Depois de atingido o tempo de reação, o reator foi desligado e resfriado com água e gelo para encerrar a reação de hidrólise. A fração líquida foi então retirada e analisada em termos de açúcares (GRT), ácido acético, HMF e furfural (nos casos de pré-tratamentos ácidos e hidrotérmicos) e concentração de lignina (nos casos de pré-tratamentos alcalinos). O pH da solução foi medido antes e após o procedimento de hidrólise. Após os diversos pré-tratamentos, o material hidrolisado foi preservado a -20 °C e, posteriormente, encaminhado para os ensaios de biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano.

Análise estatística

Utilizou-se delineamento composto central 2^3 (dois níveis e três variáveis independentes), com ponto central (nível 0) em triplicata e seis pontos estrela, aplicável à metodologia de superfície de resposta para todos os experimentos de hidrólise. As variáveis independentes foram o tempo de reação (t), a temperatura (T), a concentração de catalisador ([HCl] ou [NaOH]) e a proporção de massa de fibra por volume de água. As variáveis dependentes foram a produção específica de lignina (para a hidrólise alcalina) e a produção específica de açúcares

(para a hidrólise ácida e hidrotérmica). Para análise estatística, as variáveis foram codificadas, conforme apresentado na Tabela 1.

Cálculos das eficiências de hidrólise

O cálculo das eficiências de hidrólise em termos de produção de GRT foi realizado com base nos percentuais de celulose e hemicelulose, contidas na fibra bruta (antes da hidrólise), considerando-se que toda holocelulose seja convertida em GRT e adotando as equações de Irick et al. (1988), conforme descrito por Canettieri et al. (2007). As Equações 1 e 2 foram usadas para cálculo da massa de GRT no hidrolisado e da massa de GRT máxima obtida caso toda a holocelulose fosse hidrolisada.

$$M_{\text{GRT}} = [\text{GRT}] \times V_{\text{Hid}} \quad (\text{Eq. 1})$$

em que:

M_{GRT} é a massa de GRT contida no material hidrolisado (g).

$[\text{GRT}]$ é a concentração de GRT no material hidrolisado (g/L) .

V_{Hid} é o volume final do material hidrolisado após o experimento (L).

$$M_{\text{GRT_Max}} = \left(\frac{\% \text{Cel}}{\text{FCC} \times \text{FPC}} + \frac{\% \text{Hem}}{\text{FCH} \times \text{FPH}} \right) \times m_{\text{seca}} \quad (\text{Eq. 2})$$

em que:

$M_{\text{GRT_Max}}$ é a massa total de açúcares (em termos de GRT) (g) que constitui a fibra bruta.

$\% \text{Cel}$ é o percentual de celulose na fibra bruta.

$\% \text{Hem}$ é o percentual de hemicelulose na fibra bruta.

FCC é o fator de conversão da celulose (0,9).

FPC é o fator de perda por hidrólise da celulose (1,055).

FCH é o fator de conversão da hemicelulose (0,88).

FPH é o fator de perda por hidrólise da hemicelulose (1,155).

m_{seca} é a massa de fibra bruta usada no ensaio de hidrólise, em base seca (g).

O rendimento da hidrólise em termos de GRT foi calculado pela Equação 3. A produção específica de GRT, com base na massa seca de substrato, foi calculada pela Equação 4.

$$\eta_{\text{GRT}} = \frac{M_{\text{GRT}}}{M_{\text{GRT_Max}}} \quad (\text{Eq. 3})$$

em que:

η_{GRT} é a eficiência de conversão em GRT a partir da fração holocelulósica da fibra bruta (%).

$$P_{\text{GRT}} = \frac{M_{\text{GRT}}}{m_{\text{seca}}} \quad (\text{Eq. 4})$$

em que:

P_{GRT} é a produção específica de GRT, com base na massa seca de fibra bruta (g GRT/g fibra seca).

O cálculo das eficiências de hidrólise em termos de lignina foi realizado com base no percentual de lignina contida na fibra bruta, determinado pelo método descrito por Morais et al. (2010), Yokoyama et al. (2002) e nas normas TAPPI citadas anteriormente. As Equações 5 e 6 foram usadas para cálculo da massa de lignina no hidrolisado e a massa de lignina máxima que poderia ser obtida caso toda lignina contida na fibra fosse solubilizada.

$$M_{\text{Lig_Hid}} = [\text{Lig}] \times V_{\text{Hid}} \quad (\text{Eq. 5})$$

em que:

$M_{\text{Lig_Hid}}$ é a massa de lignina contida no material hidrolisado (g).

$[\text{Lig}]$ é a concentração de lignina no hidrolisado (g/L), medida pelo método espectrofotométrico descrito anteriormente.

V_{Hid} é o volume final do material hidrolisado após o experimento (L).

$$M_{\text{Lig_Amostra}} = \% \text{Lig} \times m_{\text{seca}} \quad (\text{Eq. 6})$$

em que:

$M_{\text{Lig_Amostra}}$ é a massa de lignina contida na fibra bruta (g).

$\% \text{Lig}$ é o percentual de lignina contida na fibra bruta.

m_{seca} é a massa de fibra bruta usada no ensaio de hidrólise, em base seca (g).

Para os testes de hidrólise com o método espectrofotométrico, o rendimento da hidrólise em termos de lignina foi calculado pela Equação 7. A produção específica de lignina, com base na massa seca de substrato, foi calculada pela Equação 8.

$$\eta_{\text{Lig}} = \frac{M_{\text{Lig_Hid}}}{M_{\text{Lig_Amostra}}} \quad (\text{Eq. 7})$$

em que:

η_{Lig} é a eficiência de solubilização da lignina contida na fibra bruta (%).

$$P_{\text{Lig}} = \frac{M_{\text{Lig_Hid}}}{m_{\text{seca}}} \quad (\text{Eq. 8})$$

em que:

P_{Lig} é a produção específica de lignina, com base na massa seca de fibra bruta (g Lig/g fibra seca).

Para os testes de hidrólise com o método descrito por Morais et al. (2010), baseado na norma TAPPI T222, o rendimento da hidrólise em termos de lignina foi calculado pelas Equações 9 e 10.

$$\% \text{Lig}_{\text{Hid_BFB}} = \frac{\% \text{Lig}_{\text{Hid}} \times \% \text{Hol}_{\text{FB}}}{(1 - \% \text{Lig}_{\text{Hid}})} \quad (\text{Eq. 9})$$

$$\eta_{\text{Lig}} = \frac{\% \text{Lig}_{\text{FB}} - \% \text{Lig}_{\text{Hid_BFB}}}{\% \text{Lig}_{\text{FB}}} \quad (\text{Eq. 10})$$

em que:

$\% \text{Lig}_{\text{Hid_BFB}}$ é o percentual de lignina no hidrolisado com base na massa de fibra bruta (%).

$\% \text{Lig}_{\text{Hid}}$ é o percentual de lignina no hidrolisado com base na massa de fibra hidrolisada (%).

$\% \text{Hol}_{\text{FB}}$ é o percentual de holocelulose na fibra bruta (%).

$\% \text{Lig}_{\text{FB}}$ é o percentual de lignina no hidrolisado com base na massa de fibra hidrolisada (%).

Teste de biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano

Os testes de biodegradabilidade foram realizados com base nos procedimentos para determinação da atividade metanogênica específica, descritos em Soto et al. (1993). Foram utilizados frascos com volume útil de 0,2 L, preenchidos com quantidade de inóculo necessária para atingir aproximadamente 1,5 g SV/L, substrato (1,5 g DQO/L), água destilada e solução tampão (1,0 g/L, de bicarbonato de sódio). Foram adicionados nutrientes utilizando-se as seguintes concentrações (mg/L): NH_4Cl (0,28), K_2HPO_4 (0,25), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,10), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,01) e CaCO_3 (0,60). Também foi adicionado 1 mL/L de uma solução contendo os micronutrientes (mg/L): $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2.000), H_3BO_3 (50), ZnCl_2 (50), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (38), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (500), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (50), $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (90) e $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2.000). Os testes foram realizados a 35 °C, com agitação orbital de 120 rpm e em triplicata. Utilizaram-se frascos “controle”, sem a adição de substrato, para subtração do volume de biogás produzido por endogenia (AQUINO et al., 2007). O inóculo usado foi composto por uma mistura em igual proporção de líquido ruminoso de caprinos e lodos anaeróbios provenientes de três reatores UASB tratando: esgoto doméstico, efluente de cervejaria e glicerol com

nutrientes. Os ensaios foram realizados em um respirômetro anaeróbio automático, Micro-Oximax, produzido pela Columbus Instruments, cuja produção de biogás foi monitorada automaticamente on-line por sensores de pressão, e o metano, analisado em um sensor de infravermelho não dispersivo.

A biodegradabilidade e o PPM foram calculados com base na produção acumulada de metano e na massa de substrato utilizada nos testes, conforme Equações 11 e 12.

$$\text{Bio} = \frac{(\text{DQO}_{\text{CH}_4}^{30} - \text{DQO}_{\text{CH}_4 \text{ Controle}}^{30})}{\text{DQO}_{\text{Subst}}^0} \times 100 \quad (\text{Eq. 11})$$

em que:

Bio é a biodegradabilidade da amostra (%).

$\text{DQO}_{\text{CH}_4}^{30}$ é o volume total de metano produzido após 30 dias em termos de DQO (g) no frasco contendo substrato, já que, em temperatura de 35 °C, 0,395 L CH_4 equivale a 1 g DQO.

$\text{DQO}_{\text{CH}_4 \text{ Controle}}^{30}$ é o volume total de metano produzido no frasco "controle", em termos de DQO (g).

$\text{DQO}_{\text{Subst}}^0$ é a massa inicial de substrato a ser testado (em termos de DQO) adicionada a cada reator.

A $\text{DQO}_{\text{CH}_4}^{30}$ foi calculada com base na lei de Henry. A massa de substrato (hidrolisado) testada foi calculada pela multiplicação entre a concentração de matéria orgânica em termos de DQO e o volume de substrato em cada reator.

Os testes de PPM foram realizados com base no método proposto por Pabón-Pereira (2009), que é uma variação dos testes de biodegradabilidade, com algumas modificações nos cálculos:

$$PPM = \frac{(V_{CH_4-Sub}^{30} - V_{CH_4-0}^{30})}{m_{seca}} \quad (\text{Eq. 12})$$

em que:

PPM é o potencial de produção de metano (L CH₄/kg SV).

$V_{CH_4-Sub}^{30}$ é o volume total de metano (L CH₄) produzido após 30 dias no reator contendo substrato.

$V_{CH_4-0}^{30}$ é o volume total de metano produzido após 30 dias (L CH₄) no reator de controle (sem substrato).

m_{seca} é a massa de substrato (kg), em base seca, adicionada ao reator.

A taxa de hidrólise na digestão anaeróbia foi medida a partir da produção de metano e da DQO dissolvida no início e no final do ensaio, sendo calculada pela Equação 13, de acordo com Fernandes et al. (2009).

$$H(\%) = \frac{(DQO_{CH_4-Subst}^{30} - DQO_{CH_4-Ctr}^{30}) + (DQO_{Diss-Subst}^{30} - DQO_{Diss-Ctr}^{30}) - DQO_{Diss-Subst}^0}{DQO_{Total}^0} \quad (\text{Eq. 13})$$

em que:

H(%) é a eficiência de hidrólise (%).

$DQO_{CH_4-Subst}^{30}$ é a massa acumulada de metano produzido no frasco contendo o substrato após 30 dias de teste, em termos de DQO (g DQO).

$DQO_{CH_4-Ctr}^{30}$ é a massa acumulada de metano produzido no frasco controle após 30 dias de teste, em termos de DQO (g DQO).

$DQO_{Diss-Subst}^{30}$ é a massa de DQO dissolvida (g DQO) no frasco contendo o substrato após 30 dias de teste.

$DQO_{Diss-Subst}^0$ é a massa de DQO dissolvida (g DQO) no frasco controle após 30 dias de teste.

$DQO_{Diss-Subst}^0$ é a massa inicial de DQO dissolvida (g DQO) no frasco contendo o substrato.

DQO_{Total}^0 é a massa inicial de substrato em termos de DQO (g DQO).

Resultados e Discussão

Pré-tratamento hidrotérmico

Os resultados das hidrólises foram obtidos com base na produção específica de GRT (P_{GRT}). Os valores das variáveis dependente (P_{GRT}) e independentes (T, t e m:v), bem como os resultados de [GRT], η_{GRT} , HMF e furfural dos diversos experimentos de hidrólise hidrotérmica estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados dos testes de hidrólise hidrotérmica do bagaço de cana-de-açúcar.

| Ensaio | t (min) | T (°C) | [GRT] (g/L) | P_{GRT} (g GRT/g Subst*) | η_{GRT} (%) | HMF (mM) | Furfural (mM) |
|--------|---------|--------|-------------|----------------------------|------------------|----------|---------------|
| 1 | 10 | 150 | 0,89 | 0,009 | 1,48 | 0,0041 | 0,00 |
| 2 | 10 | 200 | 12,51 | 0,135 | 21,97 | 0,0016 | 0,01 |
| 3 | 30 | 150 | 1,94 | 0,020 | 3,26 | 0,0010 | 0,00 |
| 4 | 30 | 200 | 12,15 | 0,127 | 20,68 | 0,0040 | 0,58 |
| 5 | 20 | 175 | 6,02 | 0,065 | 10,65 | 0,0022 | 0,00 |
| 6 | 20 | 175 | 5,40 | 0,057 | 9,35 | 0,0014 | 0,00 |
| 7 | 20 | 175 | 4,90 | 0,051 | 8,38 | 0,0053 | 0,00 |
| CO | 10 | 200 | 12,25 | 0,129 | 20,99 | 0,0013 | 0,01 |

CO: Condição ótima estabelecida pelo modelo.

Os resultados sobre os efeitos estimados, erro padrão e nível de significância para o modelo representando a solubilização de açúcares a partir da fração holocelulósica contida no bagaço da cana-de-açúcar são apresentados na Tabela 3. A variável independente T mostrou um efeito linear positivo significativo ($p < 0,05$), o qual é um indicativo de que a produção de açúcar aumenta com o aumento da temperatura. No entanto, a variável t e a interação entre as variáveis T e t não tiveram efeito significativo ($p > 0,05$). Assim, pode-se inferir que, para aumentar a solubilidade de açúcar, basta aumentar a temperatura mantendo o tempo de reação mais curto. Isso é consistente com os resultados mostrados na Tabela 2, em que os melhores resultados em termos de GRT, η_{GRT} e P_{GRT} foram obtidos no ensaio 2, quando foram testadas as temperaturas mais altas e o menor tempo de reação.

A solubilização elevada de açúcar sob essas condições pode estar associada ao aumento da concentração de ácido acético proveniente do grupo acetil, resultante das condições impostas por um processo mais severo quando foi usada temperatura de 200 °C (CANETTIERI, 2004).

Tabela 3. Estimativas dos parâmetros do modelo, seus respectivos erros padrões e níveis de significância (p), o qual representa a solubilização de GRT por meio de pré-tratamento hidrotérmico.

| Fator | Efeito estimado | Erro estimado | p |
|-------------------|-----------------|---------------|--------|
| Constante | 0,0663 | 0,003 | 0,000 |
| A:Temperatura | 0,1165 | 0,007 | 0,000 |
| B:tempo de reação | 0,0015 | 0,007 | 0,8303 |
| AB | -0,0095 | 0,007 | 0,1747 |

Um novo ensaio foi realizado usando as condições que maximizam a produção de açúcares ($T = 200\text{ °C}$ e $t = 10\text{ min}$). O resultado de P_{GRT} foi de 0,129 g/g de bagaço, o que confirma o primeiro ensaio. A eficiência da hidrólise foi de 21%, o que corresponde, provavelmente, à fração de hemicelulose, porque o pré-tratamento hidrotérmico solubiliza principalmente esse componente de material lignocelulósico (TAHERZADEH; KARIMI, 2008; BOUSSARSAR et al., 2009). As concentrações de furfural e HMF foram 0,0013 g/L e 0,01 g/L, respectivamente. Estudos recentes têm mostrado que as archaeas metanogênicas, por exemplo, *Methanococcus* sp., são inibidas apenas quando submetidas a concentrações de furfural superiores a 1,44 g/L (BOOPATHY, 2009) e que bactérias produtoras de hidrogênio, por exemplo, *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16, não são afetadas em concentrações de 0,5 g/L de furfural e 0,5 g/L de HMF (CAO et al., 2010). É possível que esses subprodutos da degradação dos açúcares não inibam permanentemente o metabolismo anaeróbio, em vez disso, provoquem apenas uma fase “lag” no processo. Em concentração de até 1 g/L de furfural e HMF, poderá haver um aumento da produção de metano (BARAKAT et al., 2012).

Esses resultados são consistentes com os de outros estudos nos quais as condições que maximizaram a produção de açúcares foram de 200 °C durante 2 minutos (LASER et al., 2002) e 193 °C durante 27 minutos (DÍAZ et al., 2010). Estudos com o bagaço de cana pré-tratado com o método hidrotérmico em temperatura que variou entre 150°C e 190 °C e tempo de reação entre 15 e 240 minutos mostraram que as temperaturas mais elevadas (190 °C) e m/v de 5% resultaram em aumento da produção de açúcares a partir da fração de hemicelulose (53% w/w) com o tempo de reação de 2 horas (BOUSSARSAR et al., 2009). No entanto, os autores descobriram que os tempos de reação mais elevados causaram degradação de açúcares em furfural e HMF.

Pré-tratamentos hidrotérmicos utilizando temperaturas inferiores a 230 °C geralmente não hidrolisam a celulose, embora causem efeito na sua estrutura, melhorando a acessibilidade pelas enzimas (GARROTE et al., 1999). Assim, considerando que nesta pesquisa todo o açúcar foi produzido a partir da hidrólise da hemicelulose, pode-se calcular que o processo atingiu eficiência de 61% da fração de hemicelulose. Esse resultado é ligeiramente mais elevado do que o encontrado por Boussarsar et al. (2009), principalmente por ser maior a razão massa por volume (10%), que promoveu maior formação de ácido acético a partir da ligação acetil. O ácido acético é um catalisador para a hidrólise.

Pré-tratamento usando hidrólise ácida

Os resultados das hidrólises foram verificados com base em P_{GRT} . Os valores das variáveis dependente (P_{GRT}) e independentes (T , t e $[HCl]$), bem como os resultados de $[GRT]$, η_{GRT} , HMF e furfural dos diversos experimentos de hidrólise estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados dos testes de hidrólise ácido do bagaço da cana-de-açúcar.

| Ensaio | t (min) | T (°C) | [HCl] (M) | [GRT] (g/L) | P_{GRT} (g GRT/g Subst) | η_{GRT} (%) | HMF (mM) | Furfural (mM) |
|--------------------------|---------|--------|-----------|-------------|---------------------------|------------------|----------|---------------|
| 1 | 20 | 110 | 0,9 | 23,04 | 0,253 | 38,24 | 0,004 | 0,58 |
| 2 | 60 | 130 | 0,9 | 21,79 | 0,235 | 34,76 | 0,001 | 0,00 |
| 3 | 20 | 130 | 0,9 | 19,57 | 0,213 | 25,82 | 0,003 | 0,99 |
| 4 | 60 | 110 | 1,7 | 14,63 | 0,158 | 34,62 | 0,001 | 0,80 |
| 5 | 20 | 110 | 1,7 | 19,62 | 0,212 | 27,17 | 0,001 | 1,32 |
| 6 | 60 | 130 | 1,7 | 15,24 | 0,167 | 19,09 | 0,003 | 1,71 |
| 7 | 20 | 130 | 1,7 | 10,47 | 0,117 | 13,68 | 0,002 | 1,82 |
| 8 | 60 | 120 | 1,3 | 7,93 | 0,084 | 23,75 | 0,001 | 0,55 |
| 9 | 40 | 120 | 1,3 | 13,40 | 0,146 | 24,01 | 0,002 | 0,00 |
| 10 | 40 | 120 | 1,3 | 13,30 | 0,147 | 22,59 | 0,001 | 0,00 |
| 11 | 40 | 120 | 1,3 | 12,44 | 0,139 | 37,87 | 0,001 | 0,00 |
| 12 | 6,4 | 120 | 1,3 | 21,17 | 0,232 | 24,38 | 0,003 | 0,00 |
| 13 | 73,6 | 103 | 1,3 | 13,89 | 0,150 | 20,76 | 0,001 | 0,00 |
| 14 | 40 | 138 | 1,3 | 11,75 | 0,127 | 41,43 | 0,006 | 0,78 |
| 15 | 40 | 120 | 0,63 | 24,19 | 0,254 | 44,39 | 0,003 | 1,12 |
| 16 | 40 | 120 | 1,97 | 26,27 | 0,272 | 27,10 | 0,001 | 0,80 |
| 17 | 40 | 136 | 0,63 | 15,17 | 0,166 | 27,10 | 0,001 | 0,80 |
| Ponto ótimo para modelo | 6,4 | 136 | 0,63 | | 0,377 | | | |
| Ponto ótimo experimental | 6,4 | 136 | 0,63 | 31,14 | 0,344 | 55,99 | 0,31 | 0,33 |

As estimativas dos parâmetros do modelo e respectivos erros-padrão e níveis de significância (p), representando a solubilização de açúcares a partir da fração holocelulósica contida no bagaço da cana-de-açúcar, estão mostradas no diagrama de Pareto da Figura 2, onde todas as variáveis apresentaram efeito significativo e negativo sobre P_{GRT} . Esse é um indicativo de que, quanto menor os valores das variáveis independentes, maior será a produção de açúcares. Por outro lado, o efeito quadrático de todas as variáveis foi positivo, o que significa que existem pontos de P_{GRT} mínimo dentro das faixas de valores das variáveis. O efeito da interação entre T e t é significativamente

negativo, indicando que, para maximizar P_{GRT} , o valor de uma variável deve ser reduzido, enquanto se aumenta o valor de outra. Portanto, infere-se que o aumento da temperatura e a redução simultânea do tempo de reação pode maximizar a produção de açúcares.

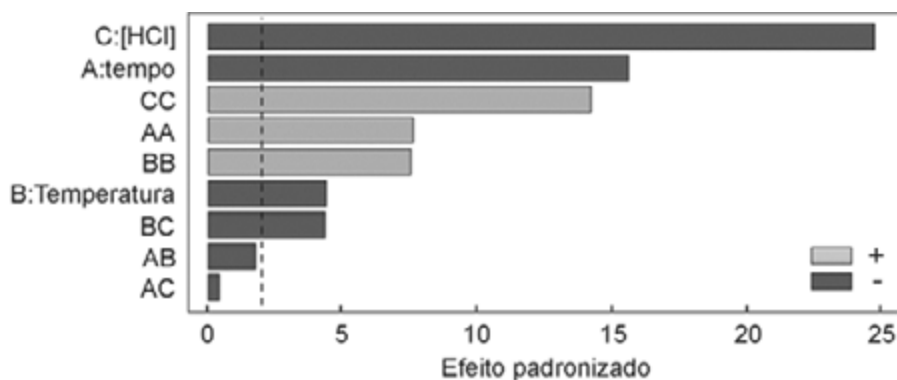


Figura 2. Diagrama de Pareto dos testes de hidrólise ácida do bagaço da cana-de-açúcar, dos efeitos de t , T e $[HCl]$ sobre P_{GRT} .

Apesar de o coeficiente de determinação obtido na análise de regressão ter sido bastante baixo ($R^2 = 0,58$), as variáveis e suas interações apresentaram forte efeito sobre P_{GRT} . Portanto, a Equação 14 pode representar o comportamento de P_{GRT} como uma função de t , T e $[HCl]$, tal como mostrado pela superfície de resposta apresentada na Figura 3. As condições ideais para a hidrólise ácida podem ser calculadas com base nas derivadas dessa equação, resultando em um tempo de reação de 6,4 min, a 136 °C e $[HCl]$ de 0,63 M. Nessas condições, o resultado do modelo para P_{GRT} foi de 0,38 g/g bagaço. Um novo ensaio usando essas condições foi realizado a fim de comparar os resultados experimentais e calculados.

$$P_{TRG} = 1,87 - 0,00135xt - 0,024 \times T - 0,197 \times [HCl] + 0,000028 \times t^2 + 0,0001 \times T^2 - 0,0019 \times T \times [HCl] + [HCl]^2 \quad (\text{Eq. 14})$$

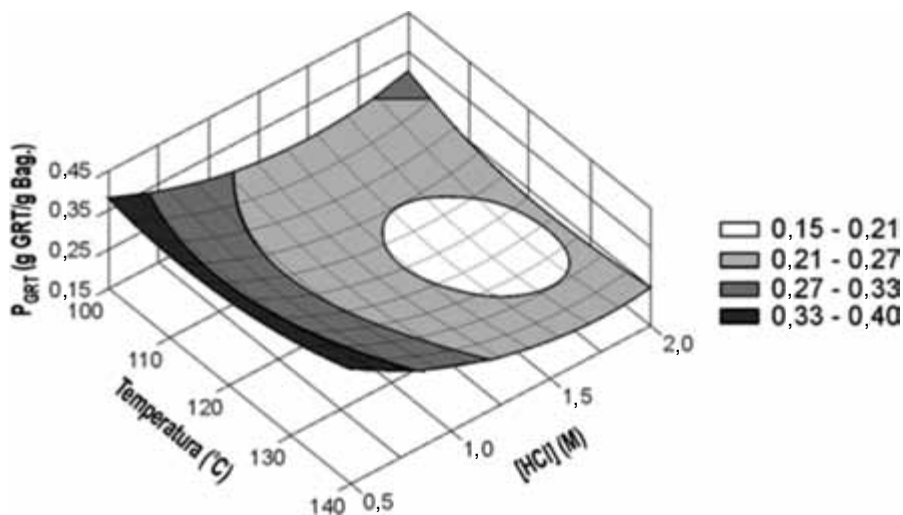


Figura 3. Superfície de resposta descrita pelo modelo da Equação 14 representando P_{GRT} a partir da fração holocelulósica do bagaço da cana-de-açúcar ($t = 6,4$ min).

O valor encontrado para P_{GRT} experimental foi de 0,344 g/g de bagaço, como está mostrado na Tabela 4, que é similar ao previsto pelo modelo com um intervalo de confiança de 95%. A eficiência de hidrólise da fração holocelulósica foi de aproximadamente 56%. Os resultados obtidos neste estudo são semelhantes aos obtidos por Bustos et al. (2003). Esses autores realizaram estudos sobre pré-tratamento ácido de bagaço de cana-de-açúcar moído, e descobriram que a máxima eficiência de hidrólise foi alcançada com a concentração de ácido mais baixa (0,9 M de HCl), temperatura mais alta (128 °C) e tempo de reação de 51,1 min.

Quando uma temperatura ou tempo de reação mais elevado é imposto, os monossacarídeos produzidos a partir dessa reação são subsequentemente hidrolisados, acelerando a formação de furfural e HMF. Portanto, deve-se evitar a degradação desses monossacarídeos, a fim de melhorar o rendimento de GRT (SUN; CHENG, 2002; HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). Nesta pesquisa, os resultados das

concentrações de HMF e furfural obtidos na condição ótima foram menores do que os relatados na literatura que causam inibição nas bactérias metanogênicas (BOOPATHY, 2009; CAO et al., 2010; BARAKAT et al., 2012).

A produção de açúcares a partir do bagaço de cana-de-açúcar por meio de hidrólise ácida utilizando outros ácidos também foi investigada por vários pesquisadores (LAVARACK et al., 2002; AGUILAR et al., 2002; RODRÍGUEZ-CHONG et al., 2004; GÁMEZ et al., 2006; ZHAO et al., 2007; ZHAO et al., 2008; ZHAO et al., 2009 ; ZHAO et al., 2011), e resultados semelhantes aos desta pesquisa também foram encontrados. No entanto, as condições experimentais que maximizaram a solubilização dos açúcares foram diferentes, já que o potencial reativo de cada ácido é diferente. Por exemplo, Aguilar et al. (2002) observaram eficiência da hidrólise da fração de hemicelulose de 90%, utilizando 2% de H_2SO_4 a 122 °C durante 24 minutos. Observa-se que é necessário um tempo de reação mais curto quando se utiliza H_2SO_4 em vez de HCl. Isso ocorre possivelmente porque o ácido sulfúrico é forte. O tipo de ácido é também um dos fatores cruciais que influenciam a hidrólise do material lignocelulósico (CANETTIERI et al., 2007). No entanto, se o objetivo da hidrólise é a produção de metano, H_2SO_4 tem que ser evitado, pois o SO_4^{2-} liberado no processo é primeiramente usado pelas bactérias redutoras de sulfato, produzindo H_2S em vez de metano (ABRAM; NEDWELL, 1978).

Pré-tratamento usando hidrólise alcalina

Os resultados das hidrólises alcalinas foram baseados na produção específica de Lignina (P_{Lig}). Os valores das variáveis dependente (P_{Lig}) e independentes (T, t e [NaOH]), bem como os resultados de concentração de lignina [Lig] e η_{Lig} dos diversos experimentos de hidrólise do bagaço da cana-de-açúcar estão apresentados na Tabela 5. A Figura 4 mostra o diagrama de Pareto, representando a produção específica de lignina de acordo com o nível de significância. Pode-se observar que a variável independente T teve um efeito positivo e linear em P_{LIG} , e as variáveis t e [NaOH] apresentaram um efeito negativo e linear, indicando que o aumento da temperatura e a redução do

tempo de reação e da concentração do álcali favorecem a extração de lignina. A variável T apresentou efeito quadrático negativo, indicando que existe um P_{LIG} máximo e, conseqüentemente, uma temperatura de reação ótima dentro da faixa de valores estudados. A redução na eficiência de extração de lignina quando se aplicam temperaturas levadas (impondo um fator de severidade elevado) ocorre devido à sua degradação em compostos fenólicos, tais como: ácido 4-hidroxibenzoico, originado na ruptura das ligações éster, que unem os grupos hidroxilas dos álcoois cinâmicos da lignina; o siringaldeído e o ácido siríngico, procedentes da degradação das unidades siringilpropano da lignina (JONSSON et al., 1998).

Tabela 5. Resultados dos testes de hidrólise alcalinado bagaço da cana-de-açúcar.

| Ensaio | t (min) | T (°C) | [NaOH] (M) | [Lig] (g/L) | P_{Lig} (g Lig/g Subst) |
|--------------------------|---------|--------|------------|-------------|---------------------------|
| 1 | 130 | 20 | 1,00 | 23,24 | 0,26 |
| 2 | 170 | 20 | 1,00 | 24,50 | 0,27 |
| 3 | 130 | 40 | 1,00 | 22,28 | 0,24 |
| 4 | 170 | 40 | 1,00 | 25,13 | 0,28 |
| 5 | 130 | 20 | 1,60 | 24,38 | 0,27 |
| 6 | 170 | 20 | 1,60 | 24,79 | 0,28 |
| 7 | 130 | 40 | 1,60 | 20,82 | 0,24 |
| 8 | 170 | 40 | 1,60 | 23,54 | 0,27 |
| 9 | 150 | 30 | 1,30 | 22,70 | 0,25 |
| 10 | 150 | 30 | 1,30 | 23,50 | 0,26 |
| 11 | 150 | 30 | 1,30 | 23,20 | 0,25 |
| 12 | 116 | 30 | 1,30 | 19,81 | 0,22 |
| 13 | 184 | 30 | 1,30 | 22,49 | 0,24 |
| 14 | 150 | 13 | 1,30 | 21,44 | 0,24 |
| 15 | 150 | 47 | 1,30 | 23,12 | 0,25 |
| 16 | 150 | 30 | 0,80 | 25,88 | 0,28 |
| 17 | 150 | 30 | 1,80 | 22,70 | 0,25 |
| Ponto ótimo para modelo | 184 | 47 | 0,80 | | 0,3 |
| Ponto ótimo experimental | 184 | 47 | 0,80 | 23,24 | 0,26 |

A partir dos dados da Tabela 5 e por meio de uma análise de regressão, foi deduzida a Equação 15, que é o modelo matemático da superfície resposta que melhor representa a distribuição dos conjuntos de valores de (t, T, [NaOH] e P_{Lig}) no espaço. Com base nessa equação, foram estimadas as condições experimentais que maximizam a extração da lignina por meio das derivadas da equação em função de t, T e [NaOH]. Os resultados nessa análise foram: t = 47 min, T = 184 °C e [NaOH] = 0,80 M. Nessas condições, o resultado do modelo para produção específica de lignina (P_{Lig}) foi de 0,3 g Lig/g fibra.

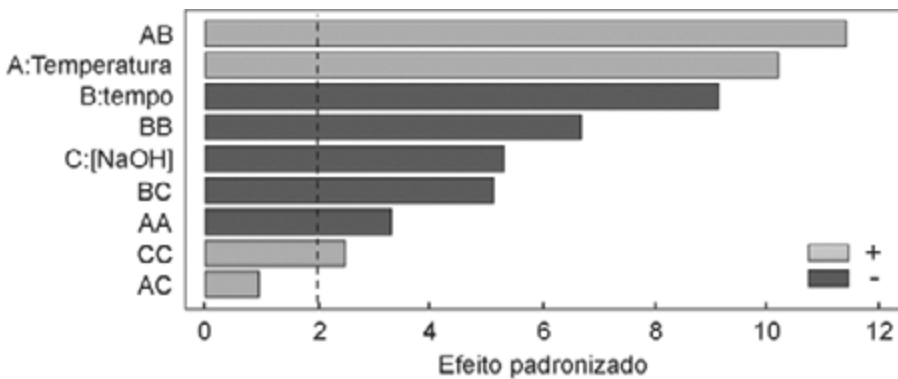


Figura 4. Diagrama de Pareto dos testes de hidrólise alcalina do bagaço da cana-de-açúcar, dos efeitos de t, T e [NaOH] sobre P_{Lig} .

$$P_{Lig} = 0,288 + 0,0006 \times T - 0,004 \times t - 0,049 \times [\text{NaOH}] - 0,000008 \times T^2 + 0,00006 \times T \times t - 0,00006 \times t^2 - 0,002 \times t \times [\text{NaOH}] + 0,0225 \times [\text{NaOH}]^2 \quad (\text{Eq. 15})$$

A Figura 5 mostra a superfície de resposta que melhor representa a distribuição do conjunto de valores de t, T, [NaOH] e P_{Lig} no espaço. O valor encontrado para P_{Lig} experimental foi de 0,26 g/g bagaço, o que equivale a 80,2% do total de lignina presente na fibra, de acordo com a Equação 10. Houve uma perda de massa de 55,7% em relação ao total inicial de fibra, o que corresponde principalmente à hemicelulose e lignina, que foram removidas. Kim e Han (2012) utilizaram o pré-tratamento alcalino (0,53 M a 2,13 M de NaOH, 60 min a 90 min,

60 °C a 100 °C) para dissolver a fração de glicose de palha de arroz. O rendimento máximo de glicose (254,6 g/kg biomassa) foi obtido utilizando 1,33 M de NaOH durante 60 minutos a 80 °C. Os autores conseguiram remover 48,3% da lignina e relataram que houve 59,1% de perda de massa. Comparando os resultados desta pesquisa com os resultados apresentados por Kim e Han (2012), pode-se observar que a temperatura foi a principal responsável pelo aumento da eficiência de remoção de lignina.

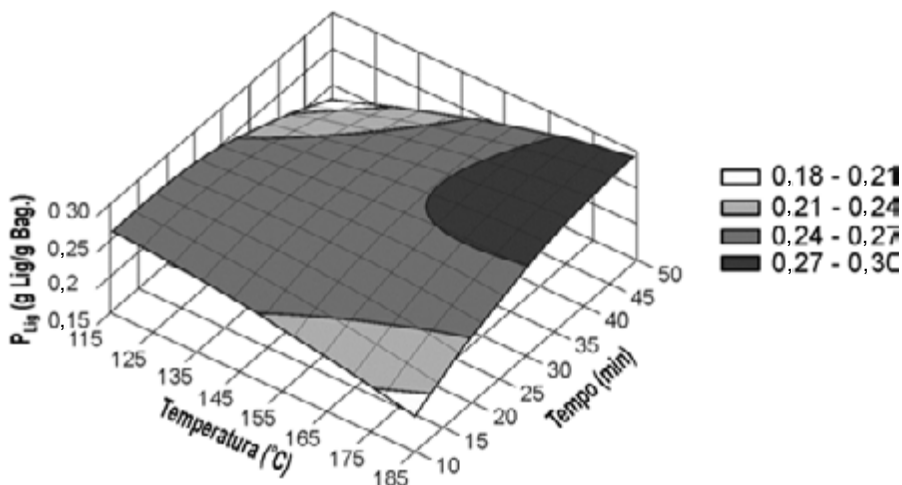


Figura 5. Superfície de resposta descrita pelo modelo da Equação 15 representando a produção específica de lignina a partir do bagaço da cana-de-açúcar ($[NaOH] = 0,8 M$).

Biodegradabilidade anaeróbia e potencial de produção de metano

O monitoramento da biodegradabilidade anaeróbia dos hidrolisados produzidos por meio dos diversos pré-tratamentos (hidrotérmico, ácido e alcalino) está apresentado na Figura 6, em conjunto com os resultados relativos à fibra que não foi submetida a pré-tratamento físico-químico.

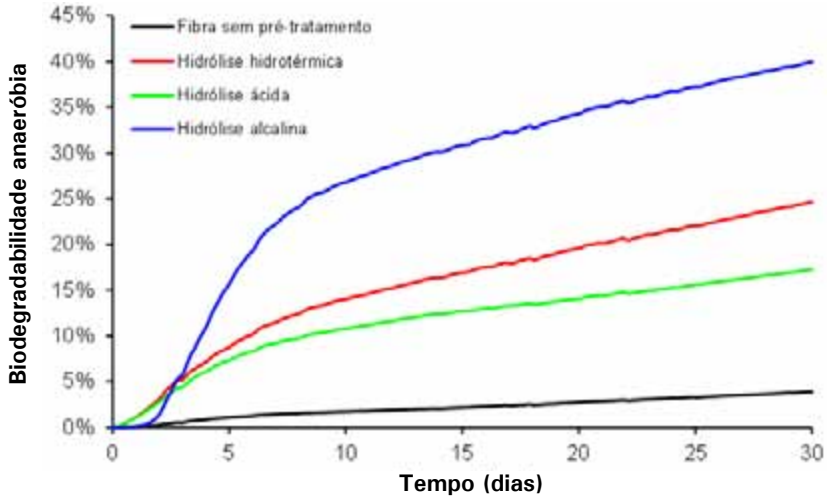


Figura 6. Biodegradabilidade anaeróbia do bagaço da cana-de-açúcar após diversos tipos de pré-tratamentos.

Dentre os pré-tratamentos aplicados ao bagaço da cana-de-açúcar, o que promoveu maior biodegradabilidade da biomassa foi o pré-tratamento alcalino. A hidrólise alcalina promoveu uma redução de aproximadamente 80% da concentração de lignina da fibra. Isso porque a lignina atua como uma barreira mecânica, sendo responsável pela integridade, rigidez estrutural, impermeabilidade, aderência da celulose e hemicelulose, o que aumenta sua resistência ao ataque microbiano (TAHERZADEH; KARIMI, 2008). Segundo Gallert e Winter (2005), o processo de deslignificação melhora a taxa e extensão da hidrólise enzimática e, por consequência, a etapa de hidrólise da digestão anaeróbia.

No entanto, a hidrólise alcalina também hidrolisa parte da hemicelulose, fazendo com que os açúcares que constituem a hemicelulose fiquem dissolvidos na fase líquida do hidrolisado. Assim, o processo de lavagem da fibra para remoção da lignina também remove os açúcares que poderiam ser digeridos anaerobiamente, o que diminui o potencial de produção de metano.

O pré-tratamento alcalino produziu uma fibra mais facilmente hidrolisável anaerobiamente ($H\% = 40\%$) e, conseqüentemente, mais biodegradável ($Bio = 44,4\%$) e com o maior PPM ($313,4 \text{ L CH}_4/\text{kg Subst}$). No entanto, apenas parte do material lignocelulósico ($\%r_{\text{Hid}} = 44,3\%$) foi utilizado para a digestão anaeróbia.

Considerando-se todo o material utilizado para a hidrólise, o novo cálculo da biodegradabilidade e do PPM resulta em valores de biodegradabilidade e de PPM mais baixos, $19,7\%$ e $138,8 \text{ L CH}_4/\text{kg Subst}$, respectivamente. Os valores de biodegradabilidade e PPM de todos os testes estão apresentados na Tabela 6.

Os resultados de hidrólise anaeróbia do material pré-tratado com NaOH comprovam que a lignina representa um impedimento para hidrólise do material lignocelulósico, visto que a fibra sem pré-tratamento físico-químico atingiu valores de apenas $4,4\%$ de hidrólise anaeróbia. Segundo Soto et al. (1993), a hidrólise alcalina também promove o aumento da superfície acessível, o que também pode ter aumentado a hidrólise anaeróbia.

Tabela 6. Resultados do teste de biodegradabilidade anaeróbia e PPM para todos os pré-tratamentos do bagaço da cana-de-açúcar.

| Tipo de pré-tratamento | $\%r_{\text{Hid}}$ (%) | Hidrólise anaeróbia (%) | Biodeg Hid ⁽¹⁾ (%) | Biodeg total ⁽²⁾ (%) | PPM Hid ⁽¹⁾ (L CH ₄ /kg Subst) | PPM total ⁽²⁾ (L CH ₄ /kg Subst) |
|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--|--|
| Sem ⁽³⁾ | 100,0 | 4,0 | 4,4 | 4,4 | 35,6 | 35,6 |
| NaOH | 44,3 | 40,0 | 44,4 | 19,7 | 313,4 | 138,8 |
| HCl | 85,6 | 0,2 | 19,2 | 16,4 | 142,7 | 122,2 |
| Hidrotérmico | 99,5 | 14,8 | 27,6 | 27,4 | 198,5 | 197,5 |

⁽¹⁾ Biodegradabilidade e PPM baseados na massa seca da fibra após a hidrólise.

⁽²⁾ Biodegradabilidade e PPM baseados na massa seca da fibra antes da hidrólise.

⁽³⁾ Utilizou-se fibra seca e moída, sem pré-tratamento físico-químico para hidrólise.

Analisando-se os resultados do pré-tratamento ácido e do hidrotérmico apresentados na Tabela 6, observa-se que o percentual de hidrólise na digestão anaeróbia em ambos os casos foi muito baixo. Isso ocorreu porque a grande parte da fração holocelulósica foi dissolvida

previamente nos pré-tratamentos, restando apenas material mais recalcitrante. Isso pode ser em função da lignina remanescente, que dificultou o acesso enzimático à fração holocelulósica (FERNANDES et al., 2009) e/ou da cristalinidade da fração celulósica remanescente na fibra (WYMAN, 1996; HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). De acordo com Pedersen e Meyer (2010), a hidrólise ácida solubiliza parcialmente a lignina, que pode ser adsorvida na superfície da fibra, proporcionando um aumento da barreira contra o ataque enzimático. Além disso, os compostos fenólicos liberados durante a degradação da lignina são potenciais inibidores (ácidos aromáticos, catecol, 4-hidroxibenzaldeído e vanilina) (GARCÍA-APARICIO et al., 2006; PANAGIOTOU; OLSSON, 2006; BARAKAT et al., 2012). O hidrolisado obtido a partir de pré-tratamento hidrotérmico apresentou maior eficiência de hidrólise anaeróbia (14,8%), pois esse método não solubiliza completamente a fração hemicelulósica, que foi subsequentemente degradada por meio de digestão anaeróbia.

As maiores biodegradabilidades e potenciais de produção de metano foram obtidos com hidrólise hidrotérmica e alcalina. O PPM do bagaço de cana-de-açúcar pode atingir até 197,5 L CH₄/kg Subst, que é comparável com PPM de outros subprodutos da cadeia produtiva do biocombustível – a fibra do mesocarpo do dendê oriundo da produção de óleo de dendê para biodiesel tem PPM de 198,9 L CH₄/kg Subst (COSTA et al., 2013). Considerando que o metano tem poder calorífico inferior (PCI) de 34.450 kJ/m³ (SALOMON; LORA, 2005), o melhor rendimento energético pela via anaeróbia é de 6,8 MJ/kg fibra seca. Já a fibra fresca do bagaço de cana-de-açúcar (umidade de 9,9%) tem PCI entre 7,2 MJ/kg (PEDROSO; AIELLO, 2005), indicando que realizar pré-tratamentos no bagaço da cana-de-açúcar não é viável economicamente, caso o único objetivo seja a produção de energia.

Por outro lado, a lignina extraída na hidrólise alcalina pode ser usada na indústria química em geral, na fabricação de pesticidas, aditivos para tintas e vernizes, como agente para melhorar a viscosidade dos lodos na perfuração de poços petrolíferos e artesianos. Pode ainda ser usado como agente aglomerante ou de flutuação no tratamento de

efluentes, aditivo para melhoramento e acondicionamento de solos e como agente de liberação lenta de nitrogênio no solo, entre outras aplicações (HERNÁNDEZ, 2007; FERNÁNDEZ-BOLAÑOS et al., 1999). Nesse caso, além do valor agregado pelo aproveitamento da lignina (0,26 g Lig/g substrato), o material hidrolisado gerará 313,4 L CH₄/kg Subst, o que possibilitará a produção de energia de 11,2 MJ/kg Subst.

Conclusões

- O pré-tratamento hidrotérmico com tempo de reação de 10 minutos, temperatura de 200 °C e relação m:v de 10 resultou em um hidrolisado com 12,3 g GRT/L, P_{GRT} de 0,129 g GRT/g Subst, η_{GRT} de 20,99%. Esse material possui biodegradabilidade anaeróbia de 27,4% e PPM de 197,5 L CH₄/kg Subst.
- O pré-tratamento ácido com tempo de reação de 6,4 minutos, temperatura de 136 °C e concentração de HCl de 0,63 M resultou em um hidrolisado com 31,14 g GRT/L, P_{GRT} de 0,344 g GRT/g Subst, η_{GRT} de 55,99%. Esse material possui biodegradabilidade anaeróbia de 16,4% e PPM de 122,2 L CH₄/kg Subst.
- O pré-tratamento alcalino com tempo de reação de 47 minutos, temperatura de 183 °C e concentração de NaOH de 0,80 M extraiu 80,2% da lignina presente no material lignocelulósico, resultando em P_{Lig} de 0,26 g Lig/g Subst. Esse material possui biodegradabilidade anaeróbia de 19,7% e PPM de 138,8 L CH₄/kg Subst.
- Os pré-tratamentos hidrotérmicos e ácidos geraram HMF e furfural em concentrações menores do que aquelas que causam efeito tóxico para o consórcio metanogênico.
- O pré-tratamento hidrotérmico foi o mais eficiente para aumentar o PPM do bagaço da cana-de-açúcar, caso o objetivo seja apenas produzir energia a partir do metano.

- Caso haja aproveitamento da lignina extraída, o bagaço da cana-de-açúcar hidrolisada com álcali gerará 313,4 L CH₄/kg Subst, o que possibilitará a produção de energia de 11,2 MJ/kg Subst.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Embrapa, Edital 01/2009 PAC-Embrapa – Macroprograma 2, e à Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Funcap), pelas bolsas de iniciação científica.

Referências

ABRAM, J. W.; NEDWELL, D. B. Inhibition of Methanogenesis by sulphate reducing bacteria competing for transferred hydrogen. **Archives of Microbiology**, v.117, p. 89-92, 1978.

AGUILAR, R.; RAMÍREZ, J. A.; GARROTE, G.; VÁZQUEZ, M. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. **Journal of Food Engineering**, v. 55, n. 4, p. 309-318, 2002.

ANGELIDAKI, I; SANDERS, W. Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 3, n. 2, p.117-129, 2004.

APHA. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 19. ed. Washington, DC: American Public Health Association: American Water Works Association: Water Pollution Control Federation, 2005. 1.200 p.

AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. D. L.; FORESTI, E.; SANTOS, M. L. F.; MONTEGGIA, L. O. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 192-201, 2007.

BARAKAT, A.; MONLAU, F.; STEYER, J.-P.; CARRERE, H. Effect of lignin-derived and furan compounds found in lignocellulosic hydrolysates on biomethane production. **Bioresource Technology**, v.104, p. 90-99, 2012.

BINOD, P.; SINDHU, R.; SINGHANIA, R. R.; VIKRAM, S.; DEVI, L.; NAGALAKSHMI, S.; KURIEN, N.; SUKUMARAN, R. K.; PANDEY, A. Bioethanol production from rice straw: An overview, **Bioresource Technology**, v.101, p. 4767-4774, 2010.

BOOPATHY, R. Anaerobic biotransformation of furfural to furfuryl alcohol by a methanogenic archaeobacterium. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 63, n. 8, p.1070-1072, 2009.

BOUSSARSAR, H.; ROGÉ, B.; MATHLOUTHI, M. Optimization of sugarcane bagasse conversion by hydrothermal treatment for the recovery of xylose. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 6537-6542, 2009.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. **Plano Nacional de Energia 2030**. Brasília, DF: MME: Empresa de Pesquisa Energética, 2007.

BUSTOS, G.; RAMÍREZ, J. A.; GARROTE, G.; VÁZQUEZ, M. Modeling of the hydrolysis of sugar cane bagasse with hydrochloric acid. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 104, p. 51-68, 2003.

CANETTIERI, E. V. **Obtenção dos parâmetros e estudo cinético da hidrólise ácida dos resíduos florestais de eucalipto**. 2004. 145 f.Tese (Doutorado em Ciências Agrárias - Energia de Biomassa Florestal) - Universidade Estadual de São Paulo"Júlio de Mesquita Filho", Guaratinguetá.

CANETTIERI, E. V.; ROCHA, G. J. de M.; CARVALHO JUNIOR, J. A.; SILVA, J. B. de A. Optimization of acid hydrolysis from the hemicellulosic fraction of Eucalyptus grandis residue using response surface methodology. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 2, p. 422-428, 2007.

CANILHA, L.; CARVALHO, W.; ROCHA, G. J. M.; ALMEIDA e SILVA, J. B.; GIULIETTI, M. Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar in natura, extraído com etanol ou ciclohexano/etanol. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 47. 2007, Natal. **Anais...** Natal: ABQ, 2007. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2007/trabalhos/11/11-570-713.htm>. Acesso em: 03 jan. 2013.

CAO, G.-L.; REN, N.-Q.; WANG, A.-J.; GUO, W.-Q.; XU, J.-F.; LIU, B.-F. Effect of lignocellulose-derived inhibitors on growth and hydrogen production by *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 24, p. 13475-13480, 2010.

CONAB.**Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar**, julho/2012 a junho/2013. Brasília, DF,2013.

COSTA, A. G.; PINHEIRO, G. C.; PINHEIRO, F. G. C.; SANTOS, A. B. dos; SANTAELLA, S. T.; LEITÃO, R. C. Pretreatment strategies to improve anaerobic biodegradability and methane production potential of the palm oil mesocarp fibre. **Chemical Engineering Journal**, v. 230, p. 158-165, 2013.

DÍAZ, M. J.; CARA, C.; RUIZ, E.; ROMERO, I.; MOYA, M.; CASTRO, E. Hydrothermal pre-treatment of rapeseed straw. **Bioresource Technology**, v.101, n. 7, p. 2428-2435, 2010.

FERNANDES, T. V.; KLAASSE BOS, G. J.; ZEEMAN, G.; SANDERS, J. P. M., VAN LIER, J. B. Effects of thermo-chemical pre-treatment on anaerobic biodegradability and hydrolysis of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v.100, p. 2575-2579, 2009.

FERNÁNDEZ-BOLÁNOS, J.; FELIZÓN, B.; HEREDIA, A.; GUILLÉN, R.; JIMÉNEZ, A. Characterization of the lignin obtained by alkaline delignification and of the cellulose residue from steam-exploded olive stones. **Bioresource Technology**. v. 68, n. 2, p.121-132, 1999.

GALLERT, C.; WINTER, J. Bacterial metabolism in wastewater treatment systems. In: JÖRDENING, H-J; WINTER, J. (Ed.). **Environmental Biotechnology: concepts and applications**. Weinheim: John Wiley-VCH, 2005. p.1-48.

GÁMEZ, S.; GONZÁLEZ-CABRIALES, J. J.; RAMIRÉZ, J. A.; GARROTE, G.; VÁZQUEZ, M. Study of the hydrolysis of sugar cane bagasse using phosphoric acid. **Journal of Food Engineering**, v. 74, p. 78-88, 2006.

GARROTE, G.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, C. Hydrothermal processing of lignocellulosic materials. **Holz als Roh- und Werkstoff**, v. 57, p.191-202, 1999.

GARCÍA-APARICIO, M. P.; BALLESTEROS, I.; GONZÁLEZ, A.; OLIVA, J. M.; BALLESTEROS, M.; NEGRO, M. J. Effect of inhibitors released during steam explosion pretreatment of barley straw on enzymatic hydrolysis. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v.129, p. 278-288, 2006.

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v.100, n.1, p.10-18, 2009.

HERNÁNDEZ, J. A. **Lignina organosolv de Eucalyptus dunnii maiden, alternativa para a síntese de adesivos de poliuretano para madeira**. 2007. 83 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

IRICK, T. J.; WEST, K.; BROWNELL, H. H.; SCHWALD, W.; SADDLER, J. N. Comparison of colorimetric and HPLC techniques for quantitating the carbohydrate components of steam-treated wood. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.17, n.1-3, p.137-149, 1988.

JÖNSSON, L. J.; PALMQVIST, E.; NILVEBRANT, N. O.; HAHN-HÅGERDAL, B. Detoxification of wood hydrolysates with laccase and peroxidase from white-rot fungus *Trametes versicolor*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 49, p. 691-697, 1998.

KIM, I.; HAN, J-I. Optimization of alkaline pretreatment conditions for enhancing glucose

yield of rice straw by response surface methodology. **Biomass & Bioenergy**, v. 4, n. 6, p. 210-217, 2012.

LASER, M.; SCHULMAN, D.; ALLEN, S. G.; LICHWA, J.; ANTALJUNIOR., M. J.; LYND, L. R. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol. **Bioresource Technology**, v. 81, n.1, p. 33-44, 2002.

LAVARACK, B. P.; GRIFFIN, G. J.; RODMAN, D. The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products. **Biomass & Bioenergy**, v. 23, p. 367-380, 2002.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. de F.; MARCONCINI, J. M. **Procedimentos para análise lignocelulósica**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2010. 54 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 236).

MOSIER, N.; WYMAN, C.; DALE, B.; ELANDER, R.; LEE, Y. Y.; HOLTZAPPLE, M.; LADISCH, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 673-686, 2005.

PABÓN-PEREIRA, C. P. **Anaerobic digestion in sustainable biomass chains**. Wageningen. 2009. 262f. Ph.D. Thesis (Degree of Doctor) - Universidade de Wageningen, Wageningen.

PAN, X.; XIE, D.; GILKES, N.; GREGG, D. J.; SADDLER, N. J. Strategies to enhance the enzymatic hydrolysis of pretreated softwood with high residual lignin content. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.121/124, p.1069-1079, 2005.

PANAGIOTOU, G.; OLSSON, L. Effect of compounds released during pretreatment of wheat straw on microbial growth and enzymatic hydrolysis rates. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 96, p. 250-258, 2006.

PEDERSEN, M.; MEYER, A. S. Lignocellulose pretreatment severity–relating pH to biomatrix opening: review. **New Biotechnology**, v. 27, n. 6, p. 739-750, 2010.

PEDROSO, D. T.; AIELLO, R. C. Gasification of biomass for electricity generation in the Cuban context. **Revista de Ciências Exatas**, Taubaté, v.11, n.1, p. 55-57, 2005.

PROPRIEDADES do bagaço da cana-de-açúcar. **Revista Pesquisa FAPESP**, v. 30, abr. 1998. Disponível em: <<http://revistapesquisa.fapesp.br/1998/04/01/propriedades-do-bagaco-da-cana-de-acucar/>>. Acesso em: 02 jan. 2013.

ROCHA, G. J. M. **Deslignificação de bagaço de cana de açúcar assistida por oxigênio**. 2000.136f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos.

RODRÍGUEZ-CHONG, A.; RAMÍREZ J. A., GARROTE, G.; VÁZQUEZ, M. Hydrolysis of sugar cane bagasse using nitric acid: a kinetic assessment. **Journal of Food Engineering**, v. 61, p.143-152, 2004.

SALOMON, K. R.; LORA, E. E. S. Estimativa do potencial de geração de energia elétrica para diferentes fontes de biogás no Brasil. **Biomassa & Energia**, v. 2, n.1, p. 57-67, 2005.

SANTOS, D. S.; CAMELO, A. C.; RODRIGUES, K. C.; CARLOS, L. C.; PEREIRA-JUNIOR, N. Ethanol production from sugarcane bagasse by *Zymomonas mobilis* using Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) process. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.161, p. 93-105, 2010.

SOTO, M.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J. M. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. **Water Research**, v. 27, n. 8, p.1361-1376, 1993.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**, v. 83, n.1, p.1-11, 2002.

SUN, J. X.; SUN, X. F.; ZHAO, H.; SUN, R. C. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. **Polymer Degradation and Stability**, v. 84, n. 2, p. 331-339, 2004.

TAHERZADEH, M. J.; KARIMI, K. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 9, n. 9, p.1621-1651, 2008

TAPPI. **T 203 cm-09. Alpha-, beta- and gamma-cellulose in pulp**. 1999. 7 p. Disponível em: <<http://cnr.ncsu.edu/wpsanalytical/documents/T203.PDF>>. Acesso em: 01. jan. 2013.

TAPPI. **T 204 cm-97. Solvent extractives of wood and pulp**. 1997. 4 p. Disponível em: <<http://www.tappi.org/Bookstore/Standards--TIPs/Standards/Fibrous-Materials/Solvent-Extractives-of-Wood-and-Pulp-Test-Method-T-204-cm-07.aspx>>. Acesso em: 01 jan. 2013.

TAPPI. **T 211 om-02. Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 525 °C**. 2002a. 5p. Disponível em: <<http://cnr.ncsu.edu/wpsanalytical/documents/T211.PDF>>. Acesso em: 01 jan. 2013

TAPPI. **T222 om-02. Acid-insolub lignin in wood and pulp**. 2002b. 5 p. Disponível em: <<http://www.tappi.org/content/SARG/T222.pdf>>. Acesso em: 01 jan. 2013

TAPPI. **T 413 om-93. Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 900 °C**. 4 p. 1993.

VÁZQUEZ, M.; OLIVA, M.; TÉLLEZ-LUIS, S. J.; RAMÍREZ, J. A. Hydrolysis of sorghum straw using phosphoric acid: evaluation of furfural production. **Bioresource Technology**, v. 98, n.16, p. 3053-3060, 2007.

YOKOYAMA, T.; KADLA, J. F.; CHANG, H. M. Microanalytical method for the characterization of fiber components and morphology of woody plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 5, p.1040-1044, 2002.

WYMAN, C. E. Ethanol production from lignocellulosic biomass: overview. In: WYMAN, C. E. (Ed.). **Handbook on bioethanol, production and utilization**. Washington, DC: Taylor & Francis, 1996. cap. 1, p. 1-18. (Applied energy technology series).

ZHAO, H.; KWA, J. A.; CONRAD ZHANG, Z.; BROWN, H. M.; AREY, B. W.; HOLLADAY, J. E. Studying cellulose fiber structure by SEM, XRD, NMR and acid hydrolysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, n. 2, p. 235-241, 2007.

ZHAO, X. B.; WANG, L.; LIU, D. H. Peracetic acid pretreatment of sugarcane bagasse for enzymatic hydrolysis: a continued work. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 83, p. 950-956, 2008.

ZHAO, X. B.; PENG, F.; CHENG, K. K.; LIU, D. H. Enhancement of the enzymatic digestibility of sugarcane bagasse by alkali peracetic acid pretreatment. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 44, p.156-164, 2009.

ZHAO, X. B.; WUA, R.; LIU, D. Production of pulp, ethanol and lignin from sugar cane bagasse by alkali-peracetic acid delignification. **Biomass Bioenergy**, v. 35, n. 7, p. 2874-2882, 2011.



Agroindústria Tropical

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

