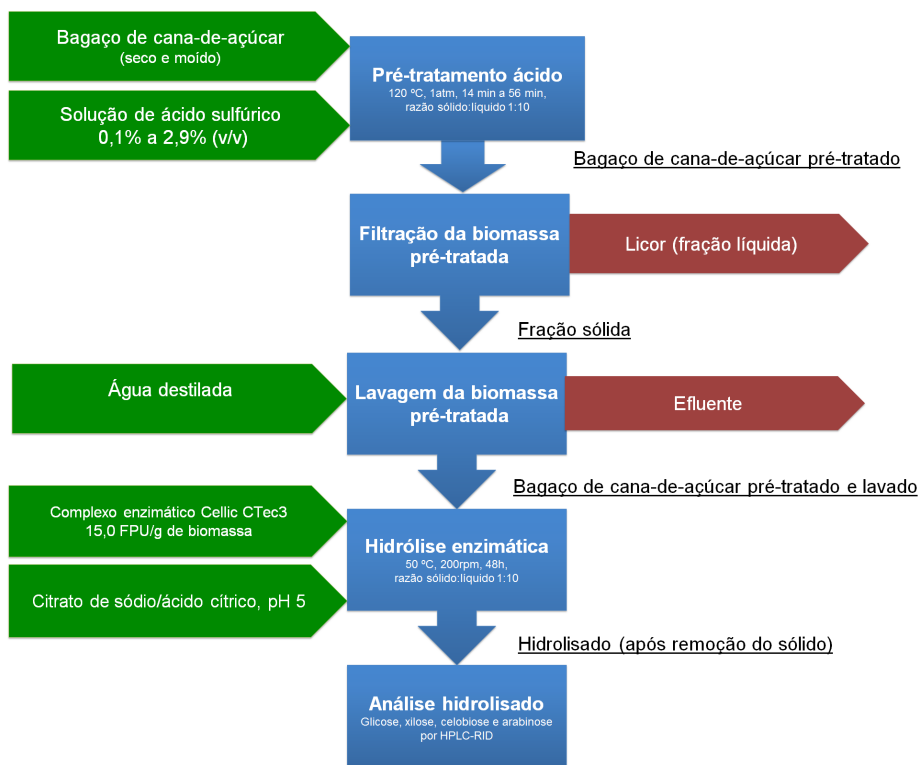


Otimização de Pré-Tratamento Ácido do Bagaço de Cana-de-Açúcar para Obtenção de Açúcares Fermentescíveis



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

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 06

Otimização de Pré-Tratamento Ácido do Bagaço de Cana- -de-Açúcar para Obtenção de Açúcares Fermentescíveis

Emerson Léo Schultz
Ariane de Almeida Rodrigues
Thaís Demarchi Mendes
Letícia Moraes de Carvalho Filardi
Raquel Bombarda Campanha
Thálya Fraga Pacheco
Dasciana de Sousa Rodrigues
Clenilson Martins Rodrigues
Mônica Caraméz Triches Damaso

Embrapa Agroenergia

Parque Estação Biológica (PqEB), s/nº.

Ed. Embrapa Agroenergia.

Caixa Postal 40315.

CEP 70770-901, Brasília, DF.

Fone: + 55 (61) 3448-158

Fax: + 55(61)3448-1589

www.embrapa.br

<https://www.embrapa.br/fale-conosco/sac/>

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Alexandre Alonso Alves*

Secretária-executiva: *Marcia Mitiko O. Esquiagola*

Membros: *André Pereira Leão*

Bruno Galvêas Laviola

Emerson Leo Schultz

Luciane Chedid Melo Borges

Maria Iara Pereira Machado

Rosana Falcão

Sílvia Belém Gonçalves

Supervisão editorial e revisão de texto

Luciane Chedid Melo Borges

Normalização bibliográfica

Maria Iara Pereira Machado

Editoração eletrônica e capa

Maria Goreti Braga dos Santos

Figura da capa: *Ariane de Almeida*

Rodrigues, Emerson Léo Schultz

1ª edição

Publicação digitalizada (2017)

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 Agroenergia

Otimização de pré-tratamento ácido do bagaço de cana-de-açúcar para obtenção de açúcares fermentescíveis / autores, Emerson Leo Schultz ... [et al.]. – Brasília, DF : Embrapa Agro Energia, 2017.

21 p. ; (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Agroenergia, ISSN 2177-0395 , 6)

Disponível no endereço eletrônico: <http://www.embrapa.br/agroenergia/publicacoes>

1. Cana-de-açúcar – bagaço – pré-tratamento ácido. I. Schultz, Emerson Leo. II. Série.

662.88 – CDD 22.

Sumário

Resumo	5
Abstract.....	7
Introdução.....	9
Materiais e Métodos	10
Resultados	13
Conclusões.....	18
Referências	20

Otimização de Pré-tratamento Ácido do Bagaço de Cana-de-Açúcar para Obtenção de Açúcares Fermentescíveis

*Emerson Léo Schultz*¹

*Ariane de Almeida Rodrigues*²

*Thaís Demarchi Mendes*³

*Letícia Moraes de Carvalho Filardi*⁴

*Raquel Bombarda Campanha*⁵

*Thályta Fraga Pacheco*⁶

*Dasciana de Sousa Rodrigues*⁷

*Clenilson Martins Rodrigues*⁸

*Mônica Caraméz Triches Damaso*⁹

Resumo

Materiais lignocelulósicos contêm polissacarídeos que podem ser convertidos em açúcares fermentescíveis para obtenção de etanol de segunda geração (etanol 2G) e outros bioprodutos. Para essa conversão, são necessários processos de pré-tratamento e hidrólise enzimática eficientes e eficazes. O objetivo deste trabalho foi otimizar as condições de pré-tratamento ácido de bagaço de cana-de-açúcar visando obter maiores quantidades desses açúcares. As condições experimentais

¹ Engenheiro químico, doutor em Engenharia Química, pesquisador da Embrapa Agroenergia, Brasília, DF.

² Cientista ambiental, mestre em Ciências Ambientais, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

³ Bióloga, mestre em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada), analista da Embrapa Agroenergia, Brasília, DF.

⁴ Graduanda em Engenharia Química, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

⁵ Química, mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, analista da Embrapa Agroenergia, Brasília, DF.

⁶ Engenheira química, mestre em Engenharia Química, analista da Embrapa Agroenergia, Brasília, DF.

⁷ Química industrial, doutora em Engenharia Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, Brasília, DF.

⁸ Químico, doutor em Química, pesquisador da Embrapa Agroenergia, Brasília, DF.

⁹ Engenheira química, doutora em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, Brasília, DF.

do pré-tratamento foram estabelecidas por um planejamento do tipo Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR) 2², variando as concentrações de ácido sulfúrico (0,1% a 2,9%) e os tempos de reação (14 min a 56 min), a 120 °C e com razão sólido/líquido constante de 1:10. Com essa mesma razão, a celulignina foi hidrolisada com Cellic® CTec 3 (Novozymes), considerando 15 FPU/g de biomassa, a 50 °C por 48 h. Amostras foram retiradas durante esse intervalo e os açúcares quantificados por HPLC-RID. O melhor resultado de pré-tratamento, em termos de glicose gerada, foi alcançado com 1,5% de ácido e 56 min, e foram gerados 24,7 g/L e 29,0 g/L após 24 h e 48 h, respectivamente. Após 24 h de hidrólise, foram obtidos resultados de conversão da celulose disponível entre 26,9% e 42,1%. A análise estatística dos dados mostrou que todas as variáveis, inclusive as interações entre elas, são significativas para a obtenção de glicose. Esse mesmo perfil foi verificado para o modelo predito, sendo possível identificar a região de ótimo de conversão.

Termos para indexação: pré-tratamento, bagaço de cana-de-açúcar, açúcares fermentescíveis, etanol 2G.

Optimization of Acid Pretreatment of Sugarcane Bagasse to Obtain Fermentable Sugars

Abstract

Lignocellulosic materials have polysaccharides which can be converted into fermentable sugars to obtain second generation ethanol (2G ethanol) and other bioproducts. However, efficient pretreatment and enzymatic hydrolysis processes are needed to perform this conversion. The objective of this work was to optimize the acid pretreatment of sugarcane bagasse to obtain higher quantities of these sugars. The experimental conditions of the pretreatment were established by a Central Composite Rotatable Design (CCRD) ²², with sulfuric acid concentration in the range of 0.1% to 2.9% and time of reaction in the range of 14 min to 56 min, at 120 °C and liquid/solid ratio of 1:10. At this same ratio, the cellulignin was hydrolyzed with Cellic[®] CTec 3 (Novozymes) at enzyme loading of 15 FPU/g of biomass and temperature of 50 °C during 48h. Samples were taken during this time and the sugars were quantified by HPLC-RID. The best result of the pretreatment for glucose generation was obtained with 1.5% of sulfuric acid and 56 min. At this condition, 24.7 g/L and 29.0 g/L of glucose were generated after 24 h and 48 h, respectively. The conversion of cellulose after 24 h of enzymatic hydrolysis was in the range of 26.9% to 42.1%. Statistical analysis of the data showed that all variables including interactions among them are significant to obtain glucose.

The same profile was verified with the predict model and the optimum region of conversion was identified.

Index terms: *pretreatment, sugarcane bagasse, fermentable sugars, 2G ethanol.*

Introdução

O desenvolvimento de produtos a partir de biomassa lignocelulósica é uma das áreas de pesquisa tecnológica que tem atraído amplo interesse. Diversos materiais lignocelulósicos podem ser usados para produção de etanol, sendo o bagaço de cana-de-açúcar um dos mais promissores (CARDONA et al., 2010; BETANCUR; PEREIRA JUNIOR, 2010). Os processos empregados para produção de etanol a partir desses materiais incluem: trituração, pré-tratamento, hidrólise enzimática, fermentação e separação/purificação (MUSSATO et al., 2010).

A biomassa lignocelulósica possui excelentes mecanismos para proteger seus carboidratos estruturais da degradação por microrganismos e enzimas. Os processos de pré-tratamento da biomassa alteram seus fatores estruturais (volume e tamanho dos poros, tamanho da partícula e área superficial específica), sua composição química (lignina, hemiceluloses e grupo acetil) e fatores da estrutura da celulose (cristalinidade e grau de polimerização). Além disso, o pré-tratamento aumenta a área superficial, melhorando a acessibilidade da celulose pelas enzimas na etapa de hidrólise enzimática (ZHAO et al., 2012).

Entre os processos de pré-tratamento, a hidrólise com ácido diluído é um dos mais estudados. Esse pré-tratamento pode ser realizado com diferentes ácidos, como ácido sulfúrico, ácido clorídrico, ácido acético e ácido fosfórico. A hidrólise com ácido diluído resulta na solubilização da hemicelulose, separando a biomassa em uma fração líquida contendo, predominantemente, pentoses e uma fração sólida composta, majoritariamente, por celulose e lignina (MUSSATO et al., 2010). Dependendo das condições operacionais, a fração líquida será constituída de açúcares (xilose, glicose e arabinose) e produtos da decomposição das hemiceluloses (como oligômeros dos polímeros e ácido acético gerado pela hidrólise de grupos acetil ligados aos açúcares) e/ou produtos da decomposição de monossacarídeos (como furfural, produto da desidratação de pentoses, e 5-hidroximetilfurfural (HMF), produto da desidratação de hexoses) (GÁMEZ et al., 2006).

Entre as condições operacionais que afetam o pré-tratamento ácido estão concentração do ácido, tempo e temperatura. A variação nessas condições afeta a severidade do pré-tratamento e a composição da biomassa de modo diferente durante o processo. Além disso, a razão sólido/líquido também exerce influência no processo, tendo relação com a concentração de xilose e ácido acético na fração líquida (PEDERSEN; MEYER, 2010; BETANCUR; PEREIRA JUNIOR, 2010). Em geral, a avaliação do pré-tratamento tem sido baseada no subsequente rendimento de monossacarídeos após a hidrólise enzimática (PEDERSEN; MEYER, 2010; ALVIRA et al., 2010).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi otimizar as condições de pré-tratamento ácido de bagaço de cana-de-açúcar visando obter maiores quantidades de açúcares fermentescíveis após hidrólise enzimática. Este trabalho foi publicado nos anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química – COBEQ 2014 (SCHULTZ et al., 2014) e esta publicação visa divulgar e tornar amplo o conhecimento sobre o pré-tratamento ácido do bagaço de cana-de-açúcar.

Materiais e Métodos

A metodologia adotada incluiu o pré-tratamento ácido do bagaço de cana-de-açúcar, bem como sua caracterização, hidrólise enzimática e análise do hidrolisado.

Matéria-prima e reagentes

O bagaço de cana-de-açúcar utilizado neste trabalho foi gentilmente cedido pela Usina Jalles Machado, localizada em Goianésia, GO, Brasil. A biomassa foi seca ao sol e previamente moída em moinho de martelos. O sólido obtido após o processo de pré-tratamento ácido, denominado celulignina, foi utilizado como matéria-prima para hidrólise

enzimática. A celulignina é composta basicamente por celulose e lignina. O ácido utilizado no pré-tratamento foi o ácido sulfúrico (H_2SO_4) P. A. (Vetec, pureza 95%-99%). Na hidrólise enzimática, foi empregada a enzima comercial Cellic® CTec 3 (Novozymes).

Pré-tratamento

Diferentes condições de pré-tratamento ácido foram testadas, variando-se o tempo de reação e a concentração de ácido sulfúrico, visando obter o maior rendimento na obtenção de glicose. As condições experimentais foram estabelecidas por meio de um planejamento experimental do tipo Delineamento Central Composto Rotacional - DCCR, incluindo 4 ensaios nas condições axiais e 3 repetições no ponto central. Os valores dos níveis e fatores utilizados no planejamento estão especificados na Tabela 1.

A cada 20 g de bagaço de cana-de-açúcar, foram adicionadas soluções de ácido sulfúrico nas concentrações especificadas na Tabela 1, observando-se a razão sólido/líquido de 1:10. O pré-tratamento foi realizado em autoclave a 120 °C, nos diferentes tempos de reação. Após o pré-tratamento, a celulignina (fração sólida) foi filtrada, sendo separada da fração líquida (licor), rica em pentoses. O licor teve o seu pH determinado para o cálculo do fator de severidade combinado, com utilização do método descrito por Schell et al. (2003). A fração sólida foi lavada por 3 vezes, com 200 mL de água destilada em cada lavagem, e encaminhada para a hidrólise enzimática.

Tabela 1. Valores utilizados no DCCR para o pré-tratamento ácido de bagaço de cana-de-açúcar.

	Níveis				
Fatores	- α	-1	0	+1	+ α
Conc. Ácido (%)	0,1	0,5	1,5	2,5	2,9
Tempo (min)	14	20	35	50	56

Caracterização da celulignina e do licor

Para a caracterização do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado, foram utilizados protocolos propostos pelo National Renewable Energy Laboratory (NREL). A separação das frações sólidas e líquidas da biomassa pré-tratada foi feita de acordo com NREL/TP-510-42627 (SLUITER et al., 2008b); o teor de matéria-seca foi quantificado conforme NREL/TP-510-42621 (SLUITER et al., 2008a) e teor de glucanas e xilanas segundo NREL/TP-510-42618 (SLUITER et al., 2012). O licor gerado no pré-tratamento foi analisado em relação à presença de açúcares, ácido acético, hidroximetilfurfural e furfural por cromatografia líquida (HPLC-RID), com emprego de coluna de troca iônica (HPX-87H). Os valores de pH do licor foram medidos, de forma a possibilitar o cálculo do fator de severidade combinado (FSC) dos ensaios de pré-tratamento (SCHELL et al., 2003).

Hidrólise enzimática

A biomassa pré-tratada, ainda úmida, foi suspensa (na proporção 1:10, em base seca) em tampão citrato de sódio/ácido cítrico 0,1 M, pH 5. Para cada grama de celulignina (massa seca), foi adicionado o correspondente a 15 FPU do complexo enzimático Cellic® CTec3 (Novozymes). A hidrólise foi realizada em frascos Erlenmeyers de 250 mL, em agitador orbital, sob agitação constante de 200 rpm, na temperatura de 50 °C por 48 horas. Alíquotas foram retiradas após os tempos de reação de 0 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 24 h e 48 h. As quantidades de glicose, xilose, celobiose e arabinose geradas após hidrólise foram avaliadas por HPLC-RID. As alíquotas referentes aos tempos 24 h e 48 h foram avaliadas, a partir do mesmo método, em relação à presença de inibidores.

Resultados

Após pré-tratamento e hidrólise enzimática, foram determinados os valores de concentração de glicose gerada e conversão de celulose (glucanas) em glicose, nos tempos de hidrólise enzimática de 24 h e 48 h. Os resultados obtidos podem ser visualizados na Tabela 2.

Tabela 2. Matriz do delineamento e respostas de glicose gerada e conversão de celulose em glicose após 24 h e 48 h de hidrólise enzimática.

Ensaio	Tempo (min)	[H ₂ SO ₄] (% em vol.)	[Glicose] g/L 24 h	[Glicose] g/L 48 h	Conversão (%) 24 h	Conversão (%) 48 h
1	20	0,5	12,8	13,8	27,4	29,5
2	20	2,5	19,5	22,0	36,3	41,0
3	50	0,5	19,8	22,2	39,0	43,8
4	50	2,5	23,5	27,5	39,9	46,7
5	35	1,5	21,6	23,8	39,9	44,0
6	35	1,5	21,7	23,7	40,0	43,8
7	35	1,5	23,2	27,6	41,0	48,9
8	35	0,1	11,3	13,3	26,9	31,8
9	35	2,9	21,7	25,4	37,5	43,8
10	14	1,5	17,1	20,9	32,8	40,2
11	56	1,5	24,7	29,0	42,1	49,6

Nas condições de ensaio realizadas, os maiores valores obtidos, tanto para concentração de glicose gerada como para conversão de celulose em glicose, foram obtidos no ensaio 11, com a condição de processo de 1,5% de ácido sulfúrico e 56 min de reação, correspondentes à condição de maior tempo de reação e à condição central da concentração de ácido. Os menores valores para as variáveis de resposta foram obtidos nas condições de menor concentração do ácido sulfúrico, tanto para tempos menores de reação (ensaio 1) como para a condição central (ensaio 8). Não foi detectada a presença dos inibidores: ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural nos

hidrolisados enzimáticos obtidos após 24 h e 48 h de hidrólise (dados não apresentados). O hidrolisado obtido na melhor condição de pré-tratamento continha 2,5 g/L de xilose e não foi detectada presença de arabinose e de celobiose, provavelmente, pela alta eficiência da conversão de celobiose em glicose.

Os licores obtidos em todos os ensaios de pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar foram analisados em relação à formação de possíveis inibidores. A presença de ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural foi avaliada (dados não apresentados). Paralelamente, foi medido o valor do pH do licor gerado em cada ensaio. Com base nesse resultado, foi possível calcular o fator de severidade combinado (FSC) para todas as condições de pré-tratamento, os quais variaram de 0,40 a 1,77. Schell et al. (2003) encontraram valores de FSC entre 0,57 e 2,02 para o pré-tratamento ácido de resíduos de milho. Fatores de severidade mais elevados podem indicar maior grau de solubilização da hemicelulose da biomassa utilizada (PEDERSEN; MEYER, 2010), o que foi constatado nos resultados obtidos no presente trabalho para os licores oriundos dos diferentes ensaios.

A presença de furfural e de hidroximetilfurfural nos licores foi praticamente desprezível, enquanto ácido acético foi detectado em concentrações que variaram entre 0,27 g/L e 3,66 g/L. Betancur e Pereira Junior (2010) também encontraram maiores concentrações de ácido acético (4,42 g/L a 11,00 g/L) do que de furfural (0,31 g/L a 2,25 g/L) e hidroximetilfurfural (0,05 g/L a 0,12 g/L) no licor obtido no pré-tratamento com ácido sulfúrico de bagaço de cana-de-açúcar. Os maiores valores encontrados por esses autores para concentração de ácido acético podem estar relacionados com a maior razão sólido/líquido empregada no pré-tratamento. Analisando-se os resultados do presente trabalho, foi possível detectar uma tendência de aumento da quantidade de ácido acético formado com o aumento do fator de severidade. Porém essa concentração não parece ter afetado a hidrólise enzimática, pois o ensaio 11 (Tabela 2), que apresentou o melhor

resultado em termos das variáveis resposta possui um dos maiores fatores de severidade (1,56).

Para avaliar o efeito do pré-tratamento, a análise estatística dos resultados foi realizada somente para a variável resposta conversão de celulose em glicose, após 24 h de hidrólise. Essa escolha ocorreu em virtude de os melhores resultados terem sido obtidos nesse tempo de reação, levando-se em consideração questões de produtividade. A Figura 1 mostra o Gráfico de Pareto, que ilustra de forma simplificada o efeito das variáveis: tempo de reação e concentração de ácido sulfúrico durante o pré-tratamento, sob a conversão de celulose em glicose, na hidrólise enzimática. Com base nos resultados apresentados, foi possível verificar que, tanto os termos lineares quanto os quadráticos e a interação entre as variáveis tempo de reação e concentração de ácido, foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$), na faixa avaliada (Teste t). Os efeitos lineares das variáveis: tempo de reação e concentração de ácido indicaram que o aumento dessas variáveis acarretou um aumento na variável resposta. Os efeitos quadráticos e a interação entre os fatores indicou um comportamento oposto (Figura 1).

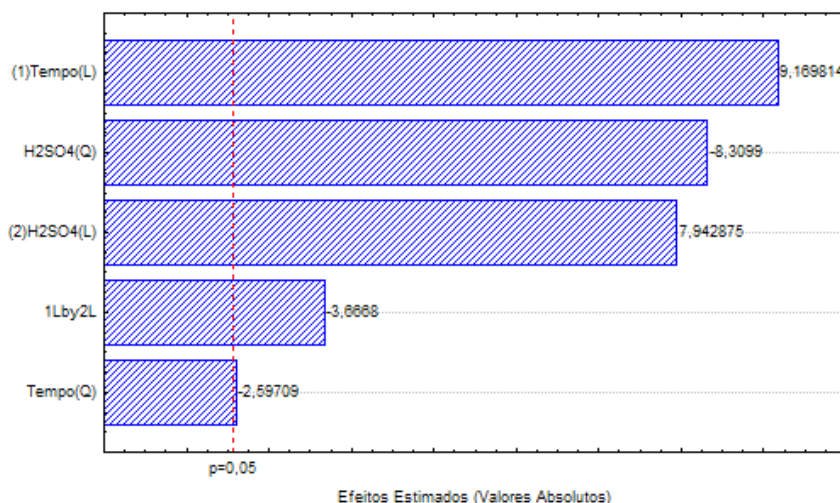


Figura 1. Gráfico de Pareto dos efeitos estimados (valores absolutos) do tempo de reação e concentração de ácido sobre a conversão da celulose (%) em 24 horas de reação.

Com os resultados gerados, foi possível determinar os coeficientes de regressão, e, como todos os fatores, inclusive a interação entre eles, foram significativos para a variável resposta, todos os coeficientes podem ser inseridos para elaborar um modelo com as variáveis codificadas, conforme apresentado na Equação 1. A letra “t” indica o tempo de reação e a letra “c”, a concentração do ácido.

$$\text{Convers\~ao(\%)} = 39,874 + 3,526 t - 1,192 t^2 + 3,054 c - 3,813 c^2 - 1,991 t c \quad (1)$$

Com base no resultado do teste de análise de variância (ANOVA) apresentado na Tabela 3, observa-se que o modelo que descreve a conversão de celulose em glicose, após 24 horas de hidrólise, é adequado, visto que a percentagem de variação explicada é de 98% e o teste F de Snedecor mostrou que o modelo é altamente significativo ($F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$, sendo $F_{\text{tab}} = F_{5,5} = 5,05$ para o intervalo de confiança de 95%), satisfazendo os requisitos para a construção das superfícies de resposta (Figura 2) e validação do modelo predito (Equação 1) com variáveis decodificadas.

Tabela 3. ANOVA para a resposta conversão de celulose em glicose após 24h de hidrólise enzimática.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F_{calc}
Regressão	278,80	5	55,76	47,3
Resíduos	5,90	5	1,18	
Total	276,75			

% variação explicada ($R^2 = 97,9$); $F_{5,5} = 5,05$

Com base na superfície de resposta (Figura 2), pode ser definida a região de interesse de maior conversão, dentro da faixa estudada. Verificou-se que a região de ótimo se encontra nos tempos de reação maiores e nas concentrações de ácido próximas do ponto central. Para validação dos resultados obtidos, foram escolhidas três condições de processo, dentro da região de ótimo, a saber: 39,5 min e 1,9% H_2SO_4 ; 53 min e 1,6% H_2SO_4 ; 56 min e 1,1% H_2SO_4 .

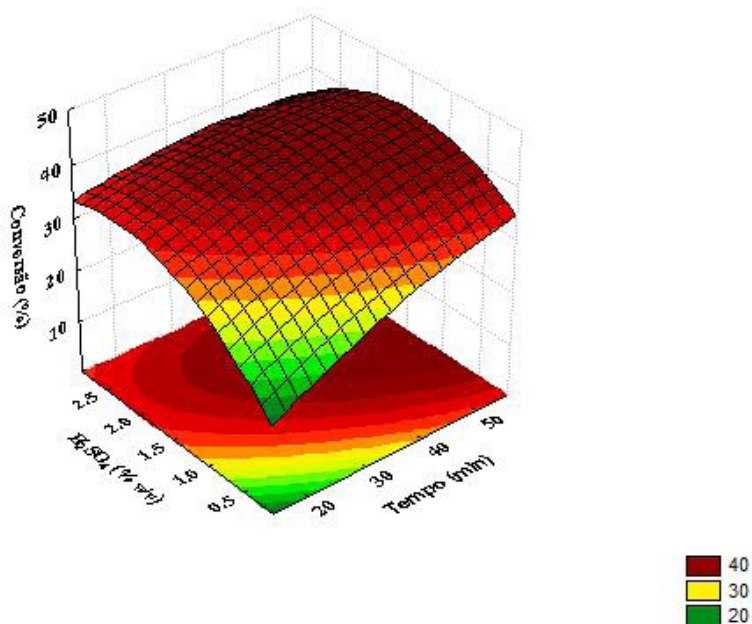


Figura 2. Superfície de resposta da conversão de celulose em glicose após 24 h de hidrólise enzimática, em função do tempo de reação e da concentração de ácido.

Na Figura 3, estão apresentados os perfis cinéticos da hidrólise enzimática das três condições selecionadas. Verificou-se que houve um incremento na taxa de conversão de no máximo 12% entre 24 h e 48 h de hidrólise, indicando que, se fosse realizada uma análise técnica e econômica do processo, provavelmente, o tempo de 24 h seria o escolhido para hidrólise enzimática.

Os dados utilizados para construção do gráfico são as médias de triplicatas, com seus desvios padrão. Baixos valores de desvio padrão foram encontrados, o que indicou uma ótima reprodutibilidade dos dados. Além disso, os valores de conversão foram idênticos nas três condições testadas, corroborando os resultados encontrados pela análise estatística dos dados, que previu alta significância do modelo predito.

No entanto, os resultados de conversão, após 24 h de hidrólise, obtidos nesses três pontos selecionados foram, no máximo, 15% superiores aos esperados pelo modelo. Como o cálculo da conversão depende tanto da caracterização da celulignina quanto da glicose quantificada após hidrólise, acredita-se que esse aumento tenha ocorrido por questões inerentes às metodologias utilizadas em ambos os processos.

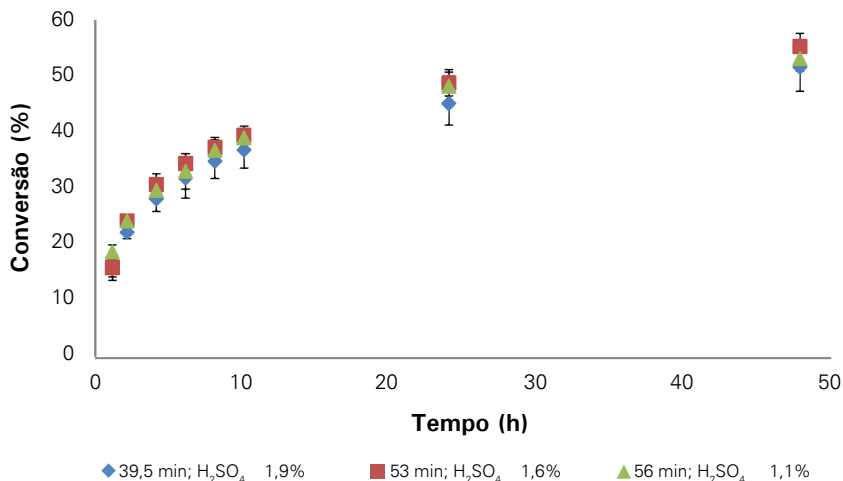


Figura 3. Perfil cinético da hidrólise enzimática de três condições de processo selecionadas da região de ótimo de conversão.

Conclusões

O melhor resultado, em termos de glicose, foi alcançado com 1,5% de ácido e 56 min: 24,7 g/L e 29,0 g/L após 24 h e 48 h, respectivamente. Após 24 h de hidrólise, foram obtidos resultados de conversão da celulose disponível entre 26,9% e 42,1%. As variáveis estudadas, inclusive a interação entre elas, foram estatisticamente significativas. O modelo predito foi estatisticamente significativo, sendo possível identificar a região de ótimo de conversão, a qual se encontra

nos tempos de reação maiores e nas concentrações de ácido próximas do ponto central.

A presença de furfural e de hidroximetilfurfural nos licores foi praticamente desprezível, enquanto ácido acético foi detectado em concentrações que variaram entre 0,27 g/L e 3,66 g/L. Foi verificada uma tendência de aumento da quantidade de ácido acético formado com o aumento do fator de severidade combinado nas condições de pré-tratamento testadas, no entanto, não houve a indicação de que a presença do ácido acético tenha influenciado a hidrólise enzimática.

Referências

ALVIRA, P.; TOMÀS-PEJÓ, E.; BALLESTEROS, M.; NEGRO, M. J. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Technology**, Oxon, v. 101, n. 3, p. 4851-4861, 2010.

BETANCUR, G. J. V.; PEREIRA JUNIOR, N. Sugar cane bagasse as feedstock for second generation ethanol production. Part I: diluted acid pretreatment optimization. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaíso, v. 13, n. 3, artigo 3, 2010.

CARDONA, C. A.; QUINTERO, J. A.; PAZ, I. C. Production of bioethanol from sugarcane bagasse: status and perspectives. **Bioresource Technology**, Oxon, v. 101, n. 13, p. 4754-4766, 2010.

GÁMEZ, S.; GONZÁLEZ-CABRIALES, J. J.; RAMÍREZ, J. A.; GARROTE, G.; VÁZQUEZ, M. Study of the hydrolysis of sugar cane bagasse using phosphoric acid. **Journal of Food Engineering**, Oxon, v. 74, n. 1, p. 78-88, 2006.

MUSSATO, S. I.; DRAGONE, G.; GUIMARÃES, P. M. R.; SILVA, J. P. A.; CARNEIRO, L. M.; ROBERTO, I. C.; VICENTE, A.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J. A. Technological trends, global Market, and challenges of bio-ethanol production. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 28, n. 6, p. 817-830, 2010.

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

SCHELL, D. J.; FARMER, J.; NEWMAN, M.; McMILLAN, J. D. Dilute-sulfuric acid pretreatment of corn stover in pilot-scale reactor. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Totowa, v. 105-108, p. 69-85, 2003.

SCHULTZ, E. L.; RODRIGUES, A.; MENDES, T. D.; FILARDI, L. M. C.; CAMPANHA, R. B.; PACHECO, T. F.; RODRIGUES, D. de S.; RODRIGUES, C. M.; DAMASO, M. C. T. Otimização de pré-tratamento ácido do bagaço de cana-de-açúcar para obtenção de açúcares fermentescíveis. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA - COBEQ, 20.; ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE O ENSINO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 15., 2014, Florianópolis - SC. [Anais...]. Florianópolis: UFSC, 2014.

SLUITER, A.; HAMES, B.; HYMAN, D.; PAYNE, C.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; WOLFE, J. **Determination of total solids in biomass and total dissolved solids in liquid process samples**: laboratory analytical procedure (LAP). Golden: NREL, 2008a. Technical Report NREL/TP-510-42621. Revised March 2008. Disponível em: <<https://www.nrel.gov/docs/gen/fy08/42621.pdf>>. Acesso em: 15 abr. 2013.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; CROCKER, D. **Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass**: laboratory analytical procedure (LAP). Golden: NREL, 2012. Technical Report NREL/TP-510-42618. Revised August 2012. Disponível em: <<https://www.nrel.gov/docs/gen/fy13/42618.pdf>>. Acesso em: 15 abr. 2013.

SLUITER, A.; HYMAN, D.; PAYNE, C.; WOLFE, J. **Determination of insoluble solids in pretreated biomass material**: laboratory analytical procedure (LAP). Golden: NREL, 2008b. Technical Report. NREL/TP-510-42627. March 2008. Disponível em: <<https://www.nrel.gov/docs/gen/fy08/42627.pdf>>. Acesso em: 15 abr. 2013.

ZHAO, X.; ZHANG, L.; LIU, D. Biomass recalcitrance. Part I: the chemical compositions and physical structures affecting the enzymatic hydrolysis of lignocellulose. **Biofuels Bioproducts & Biorefining-Biofpr**, Hoboken v. 6, n. 4, p. 465-482, 2012.

Embrapa

Agroenergia

MINISTÉRIO DA
**AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO**



CGPE 14025