



PRÉ-TRATAMENTO DE MATERIAL LIGNOCELULÓSICO EM BANCADA

Celson Pascoal Borges¹, Vitor Augusto Rosa², Marcelo Bacci da Silva³

1 Aluno do Programa de Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, Brasil.

2 Aluno de Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, Brasil.

3 Professor Doutor do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, Brasil.
(bacciuftm@gmail.com)

Recebido em: 15/11/2021 – Aprovado em: 15/12/2021 – Publicado em: 30/12/2021

DOI: 10.18677/EnciBio_2021D42

trabalho licenciado sob licença [Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

RESUMO

Atualmente, os biocombustíveis derivados da biomassa vêm ganhando muita atenção. No Brasil, a cana-de-açúcar é a principal fonte do etanol. As fibras da cana são lignocelulósicas, compostas de celulose, hemicelulose e lignina e têm uma estrutura complexa, que dificulta a separação de seus açúcares. A biomassa então, deve passar por três etapas para se produzir o etanol de segunda geração (2G): o pré-tratamento, a hidrólise enzimática e a fermentação. A hidrólise da celulose gera hexoses facilmente fermentáveis. No entanto, ela encontra-se protegida por uma barreira de lignina e hemicelulose que dificulta a fermentação microbiana. As etapas de pré-tratamento, conhecidas como hidrólise, visam desagregar a matriz lignina-carboidrato e tornar a celulose acessível à sacarificação. É neste contexto que o presente trabalho foi desenvolvido, estudando a influência de três variáveis na etapa de hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pela aplicação de um planejamento fatorial 2^3 , onde o catalisador (X_1), o solvente (X_2) e o tempo de reação (X_3) foram as variáveis investigadas. O objetivo do estudo foi replicar em bancada o pré-tratamento *Organosolv* e verificar a sua eficiência na quebra da estrutura lignocelulósica da biomassa. Os resultados mostraram uma influência significativa das variáveis estudadas na conversão de monômeros de glicose e indicaram uma possível rota para melhorias nos procedimentos experimentais para tratamento do bagaço de cana-de-açúcar. A melhor combinação das variáveis estudadas foi observada em relação a concentração de glicose, e isto ocorreu quando o solvente utilizado foi o etanol, o catalisador o ácido sulfúrico e no maior tempo da reação.

PALAVRAS-CHAVE: Etanol de segunda geração; Glicose; Pré-tratamento.

PRETREATMENT OF LIGNOCELLULOSIC MATERIAL ON A BENCH

ABSTRACT

Currently, biofuels, derived from biomass, are gaining a lot of attention. In Brazil, sugar cane is the main source of ethanol. Sugarcane fibers are lignocellulosic, that is, they are composed of cellulose, hemicellulose, and lignin, and have a complex structure that makes it difficult to separate their sugars. The biomass must then go through three stages to produce second-generation ethanol: pre-treatment, enzymatic hydrolysis, and fermentation. Cellulose hydrolysis generates easily

fermentable hexoses. However, it is protected by a barrier of lignin and hemicellulose that hinders microbial fermentation. The pre-treatment steps, known as hydrolysis, aim to disaggregate the lignin-carbohydrate matrix and make the cellulose accessible to saccharification. It is in this context that the present work was developed, studying the influence of three variables in the hydrolysis step of sugarcane bagasse by applying a factorial design 2³, where the catalyst (X1), the solvent (X2) and the reaction time (X3) were the investigated variables. The Organosolv pre-treatment was replicated on the bench, verifying its efficiency in breaking down the lignocellulosic structure of the biomass. The results found show a considerable influence of the variables studied on the conversion of glucose monomers and may indicate a possible route for improvements in experimental procedures for the treatment of sugarcane bagasse. The best combination of the variables studied was observed in relation to the concentration of glucose, and this occurred when the solvent used was ethanol, the catalyst sulfuric acid and the longest time of the reaction.

KEYWORDS: Second generation ethanol, glucose, pretreatment.

INTRODUÇÃO

Uma das alternativas para a crise energética é a produção de energia a partir de resíduos das indústrias, o que eleva o volume produzido de etanol. A produção de etanol utilizando resíduos de biomassa, como por exemplo bagaço de cana-de-açúcar, é conhecido na atualidade como etanol de segunda geração (2G) (PARDO *et al.*, 2019). A conversão de bagaço de cana-de-açúcar em etanol é, na realidade, a conversão de um resíduo lignocelulósico, sendo este um tema de grande interesse na atualidade. Com relação aos materiais lignocelulósicos, estes são formados principalmente por celulose, hemicelulose e lignina (Tabela 1).

TABELA 1. Composição da cana-de-açúcar.

Componentes	Fração (% m/m)
Celulose	34,1 ± 1,2
Hemicelulose	29,6 ± 1,4
Lignina	19,4 ± 0,4
Cinzas	7,9 ± 1,1
Umidade	4,4 ± 0,1
Total	95,5 ± 4,3

Fonte: Rein,(2017)

Os passos para obtenção do etanol de segunda geração (2G), passam por um pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar para extração dos açúcares, seguido de um tratamento para a conversão da celulose em glicose. Dentre as tecnologias para o tratamento do bagaço de cana-de-açúcar, o processo *Organosolv* tem sido considerado um dos mais promissores pelos pesquisadores (MESA *et al.*, 2011). Este processo envolve o uso de organosolventes, um líquido orgânico (etanol, acetona), com adição de um agente catalisador (ácido ou base). Essa mistura hidrolisa parcialmente as ligações de lignina-carboidrato, resultando num

resíduo sólido, composto principalmente pela celulose e hemicelulose, promovendo a remoção da lignina.

O objetivo desse estudo foi avaliar o pré-tratamento do bagaço de cana pelo processo *Organosolv*, que utiliza solventes e catalisadores para a quebra da estrutura lignocelulósica do bagaço. Um planejamento fatorial 2^3 foi empregado para avaliar o rendimento de glicose e a lignina residual no sólido, analisando a influência do tempo de reação, do catalisador e do solvente no processo de hidrólise.

MATERIAIS E MÉTODOS

Processo Organosolv

O processo *Organosolv* apresenta variações dos parâmetros temperatura, tempo de reação, solvente e catalisador. A temperatura utilizada nos testes foi 90°C, recomendada para o estudo, conforme descrito em Mesa *et al.* (2011). Tempos de reação apresentaram bons resultados entre 20 e 90 minutos, conforme Mesa *et al.* (2011), e para os testes neste estudo foi adotado um planejamento experimental com tempos de reação nesse intervalo.

No processo *Organosolv* são comuns os seguintes solventes: etanol e acetona, cujas concentrações podem variar de 20% a 70% em solução aquosa. E catalisadores ácidos, como ácido sulfúrico e ácido oxálico, (MESA *et al.*, 2011). Esses mesmos solventes também foram utilizados no desenvolvimento desse trabalho.

Matéria Prima

Foi utilizada uma amostra de 100,0 gramas do bagaço de cana-de-açúcar, da variedade empregada nas usinas sucroalcooleiras localizadas na região do Triângulo Mineiro. Conforme Mussatto, (2016), o diâmetro médio do bagaço de cana para a realização da hidrólise correspondeu ao diâmetro da peneira mesh 20 na escala Tyler. Os resultados encontrados nos testes foram ajustados por um modelo de análise granulométrica para a determinação do diâmetro médio da amostra. Os materiais necessários para essa análise foram:

- a) Conjunto de peneiras Tyler com agitador mecânico;
- b) Balança analítica;
- c) Béquer;
- d) Moinho de facas.
- e) Soluções Ácidas

Para a realização do trabalho foram escolhidas soluções dos ácidos sulfúrico e oxálico, na concentração 0,5 mol/L. Este trabalho utilizou as soluções PA de acetona e etanol.

Método Experimental

Realizou-se um planejamento experimental fatorial 2^3 , para determinar quais variáveis exercem significativa influência no processo *Organosolv* (BARROS NETO *et al.*, 2010). As variáveis analisadas e os respectivos valores de máximo (+) e de mínimo (-) são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2. Variáveis usadas no planejamento 2³.

Variável	Valor Máximo (+)	Valor Mínimo (-)
X ₁ : Solvente	Álcool	Acetona
X ₂ : Catalisador	Ácido Oxálico	Ácido Sulfúrico
X ₃ : Tempo	90 min	30 min

Fonte: Autores (2020)

O planejamento 2³ efetuado é a etapa preliminar da análise experimental do processo *Organosolv*, cujos resultados permitem avaliar a influência das três variáveis no pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar. Para o desenvolvimento da parte experimental, o reator utilizado para os testes foi um béquer, com um bastão de vidro para agitação.

Como a temperatura escolhida para as análises foi 90°C, um banho térmico, com agitação, foi devidamente adaptado para permitir o aquecimento das soluções e a realização dos experimentos. As concentrações dos ácidos, que são os catalisadores, e os solventes álcool e acetona, seguiram as recomendações encontradas no trabalho de Mesa *et al.* (2011), sendo apropriada a diluição de 1/10 em massa. A matriz do planejamento 2³ é apresentada na Tabela 3.

TABELA 3. Matriz do Planejamento 2³.

Experimento	X ₁	X ₂	X ₃
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	-	+
8	+	+	+

Fonte: Autores (2020)

A amostra de 100,0 gramas do bagaço de cana-de-açúcar, pré-tratado com ácido diluído, foi submetido às diferentes condições operacionais no reator batelada de bancada. As variáveis listadas na Tabela 3, forneceram resultados que foram avaliados. Através das etapas de filtração e tratamento do material pré tratado, as determinações foram feitas usando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE, em inglês: *high performance liquid chromatography*, HPLC) e estufa para secagem. As diferentes condições do pré-tratamento resultaram em variações na composição química dos materiais pré-tratados e nas concentrações de glicose no filtrado.

Material de Partida

Uma amostra de 100,0 gramas do bagaço de cana *in natura* foi seco ao ar em temperatura ambiente, até que a umidade relativa atingisse cerca de 10%. Foi acondicionado em um local seco, em recipiente fechado, até o uso. Posteriormente foi triturado em moinho de facas. Para verificar o diâmetro médio das partículas do bagaço após a trituração, foi utilizado um conjunto de peneiras com abertura de malha entre 106 e 250µm. Todas as peneiras foram previamente pesadas e colocadas em ordem decrescente de abertura de malha. Após a montagem do conjunto foram adicionados 50,0 gramas de bagaço de cana seco. O equipamento foi ligado e permaneceu por 20 minutos no sistema de agitação. Após a agitação,

determinou-se a massa do bagaço que ficou retida em cada peneira. A análise granulométrica permitiu a determinação do diâmetro médio de *Sauter*.

Determinação do Teor de Umidade

As determinações da umidade do bagaço de cana-de-açúcar foram realizadas em uma balança medidora de umidade com aquecimento alógeno (SHIMADZU, Modelo MOC63u) a 105°C. Todas as determinações do teor de umidade, tanto do bagaço *in natura* quanto dos materiais pré-tratados, foram realizadas em triplicata, e as médias foram utilizadas posteriormente para o cálculo das massas.

Determinação dos Teores de Inorgânicos e Extrativos

Para os teores de extrativos presentes no bagaço, compostos fenólicos, taninos, ceras, flavonoides e cinzas, utilizou-se o equipamento *Shoxlet* e a murfla.

Pré-Tratamento Proposto

Os experimentos previstos para o pré-tratamento *Organosolv*, foram realizados de acordo com a seguinte descrição:

- a) Moagem das amostras de bagaço no moinho de facas até 20 *mesh*;
- b) Análise granulométrica das amostras de bagaço de cana-de-açúcar;
- c) Pesagem de 2,0 g de bagaço de cana-de-açúcar;
- d) Preparo das soluções: ácido sulfúrico (5mol/L) e ácido oxálico (5mol/L);
- e) Solventes: soluções de etanol e acetona.

Cada experimento foi realizado usando 2,0 g de bagaço de cana-de-açúcar *in natura*, 14,0 g de solvente na proporção 1/7 (m/v) e 20,0 g de catalisador na proporção 1/10 (m/v) em tempos de 30 e 90 minutos. O bagaço de cana-de-açúcar *in natura* (2,0g) foi colocado em um béquer no banho a 90°C, acrescentando o solvente (14,0g) e o catalisador (20,0g). O conteúdo foi levemente agitado com um bastão de vidro, e em seguida foram contabilizados os tempos (30 e 90 minutos). Após o término do tempo de reação, foi realizada uma filtração. Os materiais sólidos, retidos no papel filtro, foram armazenados em estufa a 80°C para secagem e posteriores determinações. Os licores filtrados foram armazenados a 4°C para conservação dos açúcares e determinações de glicose. A Tabela 4 apresenta as variáveis dos experimentos realizados.

TABELA 4. Planejamento fatorial 2³ utilizado no experimento *Organosolv*.

Experimentos	Variáveis codificadas			Variáveis reais		
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃
1	-1	-1	-1	Etanol	Sulfúrico	30
2	+1	-1	-1	Acetona	Sulfúrico	30
3	-1	+1	-1	Etanol	Oxálico	30
4	+1	+1	-1	Acetona	Oxálico	30
5	-1	-1	+1	Etanol	Sulfúrico	90
6	+1	-1	+1	Acetona	Sulfúrico	90
7	-1	+1	+1	Etanol	Oxálico	90
8	+1	+1	+1	Acetona	Oxálico	90

X₁: Catalisador; X₂: Solvente; X₃: Tempo.

Fonte: Autores (2020)

Determinação do Teor de Celulose

Os teores de celulose foram determinados pela soma da glucose, hidroximetilfurfural, ácido levulínico e ácido fórmico, quantidades obtidas através de cromatografia líquida, após hidrólise ácida dos materiais sólidos pré-tratados.

Determinação do Teor de Hemicelulose

Os teores de hemicelulose foram determinados pela soma da xilose, arabinose, furfural e ácido acético (grupo acetila) levulínico e ácido fórmico, quantidades obtidas através de cromatografia líquida, após hidrólise ácida dos materiais sólidos pré-tratados.

Teor de Lignina

Os teores de lignina foram determinados através da soma da lignina solúvel e insolúvel, quantidades obtidas através de cromatografia líquida, após hidrólise ácida dos materiais sólidos pré-tratados e da absorvância. A determinação da lignina solúvel foi realizada no hidrolisado coletado na etapa anterior com o uso de um espectrofotômetro UV/VIS (Cary 100 scan) em comprimento de onda de 360 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Análise do bagaço de cana-de-açúcar *in natura*

O bagaço de cana-de-açúcar *in natura* analisado nesse estudo apresentou, na composição, valores de hemicelulose, celulose e lignina, bem próximos aos valores publicados por diversos autores. Provavelmente, as variações que foram encontradas na composição, podem ter ocorrido devido às diferenças morfológicas de corte e processos industriais da cana-de-açúcar utilizada em cada trabalho (MESA *et al.*, 2011; SANTIAGO; RODRIGUES, 2017). A comparação das composições do bagaço de cana-de-açúcar *in natura*, em termos das quantidades de celulose, hemicelulose, lignina total, extrativos, umidade e cinzas, que foram encontradas nesse estudo, com resultados publicados anteriormente na literatura, pode ser observada na Tabela 5.

TABELA 5. Comparação da composição do bagaço de cana-de-açúcar *in natura*.

Celulose	Hemicelulose	Lignina total	Extrativos	Umidade	Cinzas	Referências
32,68 ±1,10	28,23 ±0,50	26,98 ±2,91	10,32 ±1,76	7,37 ±0,60	1,94 ±0,20	Asadi; Zilouei (2017)
39,90 ±0,58	28,34 ±0,01	20,39 ±0,12	-	-	3,39 ±0,40	Mesa <i>et al.</i> (2011)
41,40 ±0,50	28,26 ±0,10	22,50 ±0,43	4,01 ±0,06	-	4,62 ±0,50	Cheah <i>et al.</i> (2020)
46,40 ±0,30	27,20 ±0,20	24,80 ±1,00	-	-	1,60 ±0,20	Rein (2017)
37,61 ±0,22	28,09 ±0,12	24,70 ±0,72	6,64 ±0,57	9,00 ±0,82	2,03 ±0,06	Este trabalho

Fonte: Autores (2020)

Análise Granulométrica

Os resultados obtidos na análise granulométricas foram ajustados ao modelo GGS, e o diâmetro médio das partículas de bagaço da cana-de-açúcar foi 1,29 mm.

Análise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado

Aplicando o planejamento experimental proposto no estudo, os resultados

encontrados entre os pré-tratamentos são apresentados na Tabela 6. O rendimento e a perda de massa são relativos à quantidade de material *in natura* utilizada.

TABELA 6. Perda de massa e rendimentos do bagaço

ENSAIO	PERDA DE MASSA (%)	RENDIMENTO (%)	SOLVENTE	CATALISADOR	TEMPO (min)
RR1	21,0	79,0	Ac	Sul	30
RR2	25,5	74,5	Et	Sul	30
RR3	19,5	80,5	Ac	Ox	30
RR4	10,5	89,5	Et	Ox	30
RR5	34,5	65,5	Ac	Sul	90
RR6	29,5	70,5	Et	Sul	90
RR7	25,0	75,0	Ac	Ox	90
RR8	27,0	73,0	Et	Ox	90

SOLVENTES – Ac: Acetona; Et: Etanol

CATALISADORES – Sul: Ac. Sulfúrico; Ox: Ac. Oxálico

Fonte: Autores (2020)

Os resultados apresentados na Tabela 6 mostram que os rendimentos variaram entre 65,5%, obtido no pré-tratamento RR5, até 89,5%, obtido no pré-tratamento RR4. A média de todos os rendimentos foi de 76%, enquanto o desvio padrão foi de $\pm 7,21\%$. Através desses resultados foi possível verificar que o maior tempo de residência (90 minutos) provocou maiores perdas de massa nos ensaios, RR5, RR6 e RR8. Os ensaios com o ácido sulfúrico também apresentaram significativa perda de massa, mesmo nos testes com o menor tempo de residência (30 minutos). Os resultados comparativos da hidrólise do material pré-tratado e do bagaço de cana-de-açúcar *in natura*, nas frações celulose, hemicelulose e lignina, são apresentados na Tabela 7.

TABELA 7. Resultados comparativos do bagaço de cana-de-açúcar *in natura* e após os pré-tratamentos.

Ensaio	Celulose	Hemicelulose	Lignina
<i>in natura</i>	37,6	28,5	24,7
RR1	47,4	12,8	31,3
RR2	33,8	8,0	38,6
RR3	38,5	23,2	28,9
RR4	39,1	24,0	29,0
RR5	49,7	11,7	30,8
RR6	53,3	14,8	29,6
RR7	43,4	20,8	31,0
RR8	44,6	23,8	30,5

Fonte: Autores (2020)

Os resultados da hidrólise do material pré-tratado são apresentados na Tabela 8, nas frações açúcares, produtos de degradação, extraíveis e cinzas.

TABELA 8. Resultados comparativos do bagaço de cana-de-açúcar *in natura* e pré-tratamentos (açúcares, produtos de degradação, extraíveis e cinzas).

Componentes	<i>in natura</i>	RR1	RR2	RR3	RR4	RR5	RR6	RR7	RR8
Anidrogucose	37,2	47,0	33,4	38,1	38,6	49,3	52,8	42,8	44,2
Anidroxilose	13,3	8,2	2,8	11,1	11,4	6,0	6,2	9,4	10,3
Anidroarabinose	1,4	0,6	0,2	1,0	1,0	0,3	2,6	0,6	0,7
Grupo acetila	6,5	1,2	2,7	5,0	5,9	1,5	1,6	4,7	5,8
HMF	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,6	0,4
Furfural	6,9	2,4	1,9	5,7	5,2	3,4	3,9	5,6	6,5
Lignina Total	24,7	31,3	38,6	28,9	29,0	30,8	29,6	31,0	30,5
Lignina solúvel	1,3	1,2	0,9	1,3	1,6	1,3	1,4	1,6	1,8
Lignina Insolúvel	23,4	30,2	37,7	27,6	27,4	29,5	28,2	29,4	28,7
Cinzas	2,0								
Extraíveis	6,6								
Água	5,1								
Etanol	1,5								
Total	99,1	91,2	80,0	90,2	91,6	91,8	97,2	94,6	98,5

Fonte: Autores (2020)

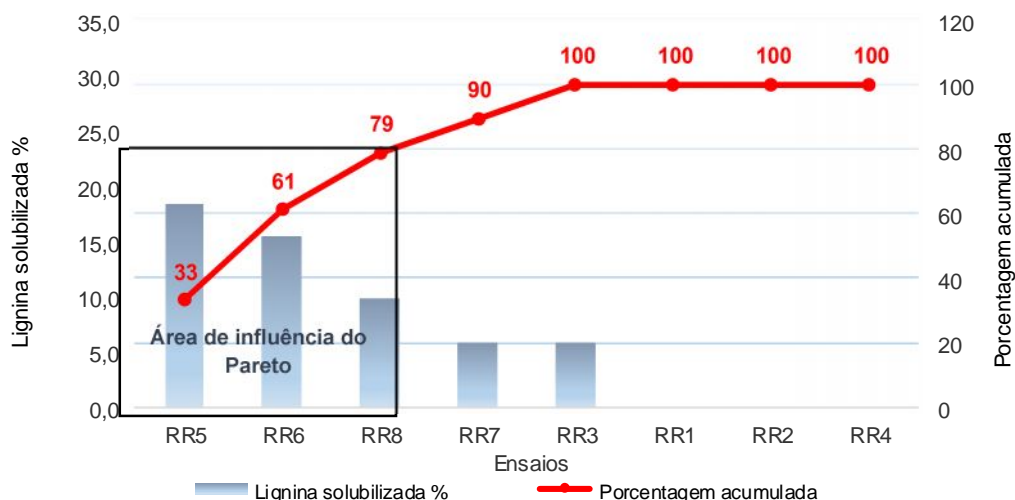
Trabalhos anteriores descrevem a deslignificação como o parâmetro mais importante dos pré-tratamentos (ASADI; ZILOUEI, 2017; KIM, 2018). Os resultados encontrados neste estudo indicam a quantidade de lignina que foi solubilizada em cada pré-tratamento (Tabela 9). A Figura 1 é um diagrama de Pareto referente aos resultados encontrados nesse estudo, e apresenta as diferenças observadas entre os ensaios que foram realizados de acordo com o planejamento de experimentos da Tabela 4.

TABELA 9. Deslignificação do material sólido pré-tratado

Ensaio	Rendimento (%)	Deslignificação (%)
RR1	79,0	-0,1
RR2	74,5	-16,4
RR3	80,5	5,8
RR4	89,5	-5,1
RR5	65,5	18,3
RR6	70,5	15,5
RR7	75,0	5,9
RR8	73,0	9,9

Fonte: Autores (2020)

FIGURA 1. Diagrama de Pareto da deslignificação.



Fonte: Autores (2020)

A partir da avaliação do diagrama de Pareto da Figura 1, ficou evidenciada a resposta do sistema às modificações efetuadas nos valores das variáveis. Os pré-tratamentos RR5 e RR6, que utilizaram o ácido sulfúrico diluído a 5mol/L e tempos de residência de 90 minutos, tiveram um papel importante na solubilização da lignina. O ensaio RR8, quando foi utilizado o ácido oxálico a 5mol/L e tempo de residência de 90 minutos, também apresentou, em menor proporção que os ensaios RR5 e RR6, importante influência na solubilização da lignina.

Estes três ensaios representam 80% de toda a lignina que foi solubilizada pelo total dos experimentos. Os ensaios RR7 e RR3, solubilizaram o restante dos 20% de toda lignina solubilizada pelo total de experimentos. Não reduzindo as concentrações, os ensaios RR4, RR2 e RR1 não solubilizaram a lignina. Estes resultados podem significar menores quantidades de produtos de degradação (KIM, 2018).

Solubilização da hemicelulose

A solubilização da hemicelulose, é a porcentagem de hemicelulose que é verificada após o pré-tratamento do material lignocelulósico corrigida pelo rendimento. Através da Tabela 10, pode se observar a quantidade de hemicelulose que foi solubilizada em cada pré-tratamento.

TABELA 10. Solubilização da hemicelulose do material sólido pré-tratado.

Ensaio	Rendimento (%)	Hemicelulose Solubilizada (%)
RR1	79,0	65,1
RR2	74,5	78,3
RR3	80,5	35,0
RR4	89,5	25,2
RR5	65,5	73,8
RR6	70,5	64,1
RR7	75,0	46,1
RR8	73,0	39,2

Fonte: Autores (2020)

Os pré-tratamentos RR2, RR5, RR1 e RR6, realizados com o ácido sulfúrico diluído a 5mol/L, apresentaram eficiência maior em solubilizar a hemicelulose. Destes, os ensaios RR2 e RR1 foram realizados com tempos de residência de 30 minutos, enquanto RR5 e RR6 usaram tempos de residência de 90 minutos. Foi verificado que ácido sulfúrico diluído foi efetivo na solubilização da hemicelulose, conforme a literatura (KIM, 2018).

O tempo de experimento não foi significativo para esta variável, nem o solvente. O ensaio RR7 realizado com ácido oxálico (5mol/L) e tempo de residência de 90 minutos, também apresentou importante influência na solubilização da hemicelulose, porém menor que os ensaios RR2, RR5, RR1 e RR6, respectivamente. Esses cinco ensaios representam 80% de toda a hemicelulose solubilizada pelo total dos experimentos. Os ensaios RR8, RR3 e RR4, solubilizaram o restante dos 20% de toda a hemicelulose solubilizada pelo total de experimentos.

Solubilização da celulose

A solubilização da celulose é o % de celulose verificada após o pré-tratamento do material lignocelulósico. A Tabela 11 apresenta a quantidade de celulose solubilizada em cada pré-tratamento.

TABELA 11. Solubilização da celulose do material sólido pré-tratado

Ensaio	Rendimento (%)	Celulose solubilizada (%)
RR1	79,0	1,1
RR2	74,5	33,0
RR3	80,5	17,6
RR4	89,5	7,0
RR5	65,5	13,4
RR6	70,5	0,1
RR7	75,0	13,5
RR8	73,0	13,4

Fonte: Autores (2020)

Determinação da Concentração de Glicose no Filtrado

As amostras do material filtrado foram submetidas à análise de espectrometria e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 12.

TABELA 12. Resultados da espectrometria.

Experimento	X ₁	X ₂	X ₃	C _[g Glicose/L solução]
RR1	-	-	-	3,0
RR2	+	-	-	1,4
RR3	-	+	-	0,7
RR4	+	+	-	0,5
RR5	-	-	+	5,7
RR6	+	-	+	6,0
RR7	-	+	+	4,2
RR8	+	+	+	1,8

Os resultados apresentados na Tabela 12 mostram a resposta do sistema às modificações efetuadas nas variáveis. Uma análise pode ser feita com base apenas nas respostas obtidas diretamente dos experimentos. Analisando a variável

solvente, X_1 , verificou-se que um aumento nessa variável provoca diminuição na concentração de glicose. Isto pode ser observado quando X_1 passa do nível (-) para o nível (+), mantendo todas as outras variáveis constantes: com todas as variáveis mantidas no nível (-), quando X_1 passa do nível (-) para (+), a concentração de glicose passa de 3,0 para 1,4 conforme os experimentos RR1 e RR2. Com todas as variáveis mantidas no nível (+), quando X_1 passa do nível (-) para (+), a concentração de glicose passa de 4,2 para 1,8 conforme os experimentos RR7 e RR8. Esses resultados apontam o etanol como o solvente mais indicado para obtenção de maior concentração de glicose nos experimentos. O processo *Organosolv* envolve a adição do solvente orgânico sob condições específicas de temperatura e pressão (KUMAR; SHARMA, 2017). A natureza menos tóxica do etanol torna seu uso mais viável quando comparado a outros solventes (MANKAR *et al.*, 2021). O alto custo do solvente no processo pode ainda ser compensado através de um processo de recuperação e reciclo (CHEN *et al.*, 2018).

Com a variável catalisador, X_2 , verifica-se que um aumento nessa variável provoca diminuição na concentração de glicose. Isto pode ser observado quando a variável X_2 passa do nível (-) para o nível (+), mantendo todas as outras variáveis constantes: com todas as variáveis mantidas no nível (-), quando X_2 passa do nível (-) para (+), a concentração de glicose passa de 3,0 para 0,7 conforme os experimentos RR1 e RR3. Com todas as variáveis mantidas no nível (+), quando X_2 passa do nível (-) para (+), a concentração de glicose passa de 6,0 para 1,8 conforme os experimentos RR6 e RR8. Esses resultados apontam o ácido sulfúrico como o catalisador mais apropriado para a realização dos experimentos, uma vez que há aumento da concentração de glicose. Isto está de acordo com o trabalho de Rezania *et al.*, (2020), que comprovam que o ácido sulfúrico é o catalisador mais comumente utilizado em processos industriais para remoção de hemicelulose. O uso de ácido sulfúrico muito diluído no processo pode requerer altas temperaturas, enquanto o uso do ácido sulfúrico concentrado reduz a temperatura, mas pode resultar na produção de inibidores na fermentação (LALUCE *et al.*, 2019).

Analisando a variável tempo de reação, X_3 , verificou-se que um aumento nessa variável provocou aumento na concentração de glicose. Quando a variável X_3 passa do nível (-) para o nível (+), mantendo todas as outras variáveis constantes ocorre o seguinte: com todas as variáveis mantidas no nível (-), quando X_3 passa do nível (-) para (+), a concentração de glicose passa de 3,0 para 5,7 conforme os experimentos RR1 e RR5. Com todas as variáveis mantidas no nível (+), quando X_3 passa do nível (-) para (+), a concentração de glicose passa de 0,5 para 1,8 conforme os experimentos RR4 e RR8. Com isso é possível afirmar que um aumento no tempo de reação permite obter maior concentração de glicose nos experimentos. Resultados recentes indicam que o tempo de reação precisa, de fato, ser bem estabelecido nos processos (CHEAH *et al.*, 2020). Um rígido controle do tempo é essencial aos pré-tratamentos para extração de celulose do bagaço de cana-de-açúcar (TANG *et al.*, 2017).

Esses resultados mostram que todas as variáveis estudadas exercem influência na resposta do sistema, que nesse caso é a concentração de glicose, pois o aumento nas variáveis X_1 e X_2 significa mudar o solvente e o catalisador, enquanto a variável X_3 refere-se ao tempo de reação. Um aumento no tempo de reação provoca maior conversão de glicose, resultado esperado. Já as variáveis solvente e catalisador dependem de outros fatores não analisados no trabalho, como a influência da concentração de cada um. Entretanto é possível verificar na Tabela 12 que a maior concentração de glicose foi obtida no experimento RR6, quando foi

usado o solvente etanol, o catalisador ácido sulfúrico e no maior tempo de reação, nesse caso 90 minutos. Essa combinação precisa ser mais bem explorada para que se possa compreender melhor a influência dessas variáveis. Alguma forma de análise mais rigorosa deve ser realizada com todos os resultados experimentais apresentados, para melhor compreender a interação entre as variáveis.

CONCLUSÃO

Avaliando os resultados obtidos, verificou-se que foi possível replicar, em bancada, o pré-tratamento *Organosolv*, analisando a influência do solvente, do catalisador e do tempo de reação na obtenção da glicose.

O melhor resultado, em termos de concentração de glicose, foi alcançado usando etanol como solvente, ácido sulfúrico como catalisador e tempo de reação de 90 minutos. No caso da solubilização da celulose, não houve destaque de nenhuma das variáveis de forma isolada, assim constatando que existe a necessidade de um modelo mais robusto de planejamento experimental para verificar as interações.

Quanto ao tempo de reação, era esperado que um maior tempo proporcionasse um melhor rendimento de glicose. Mas somente a interação complexa entre tantas variáveis pode mostrar este resultado. Para reduzir esse tempo e economizar energia, uma temperatura mais elevada deve ser investigada em trabalhos futuros.

O estudo mostrou que a escolha de um pré-tratamento é de fundamental importância no processo de produção de etanol de segunda geração, visto que é nesta etapa que ocorre efetivamente a produção de açúcares fermentescíveis, os quais serão convertidos em etanol em etapas posteriores. Uma determinação em escala de bancada, como a que foi realizada no estudo, pode mostrar caminhos inovadores na busca da otimização de tais processos. Um planejamento experimental, quando bem elaborado, pode ajudar na escolha de etapas que realmente influenciam processos mais complexos.

REFERÊNCIAS

ASADI, N.; ZILOUEI, H. Optimization of organosolv pretreatment of rice straw for enhanced biohydrogen production using *Enterobacter aerogenes*. **BioresourceTechnology**, v. 227, p. 335-344, March. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.073>

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: aplicações na ciência e na indústria**. 4ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2010. 414p. ISBN: 9788577806522

CHEAH, W. Y.; SANKARAN, R.; SHOW, P. L.; TG. IBRAHIM, T. N. B.; CHEW, K. W.; CULABA, A.; CHANG, J-S. Pretreatment Methods for lignocellulosic biofuels production: current Advances, challenges and future prospects. **Biofuel Research Journal** 25, p. 1115-1127, 2020. DOI: 10.18331/BRJ2020.7.14

CHEN, D.; GAO, A.; CEN, K.; ZHANG, J.; CAO, X.; MA, Z. Investigation of biomass torrefaction based on three major components: hemicellulose, cellulose, and lignin. **Energy Conversion and Management** 169, p. 228-237, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2018.05.063>

CHRISTOPHER, M.; MATHEW, A. K.; KUMAR, M. K.; PANDEY, A.; SUKUMARAN, R. K. A biorefinery-based approach for the production of ethanol from enzymatically hydrolysed cotton stalks. **Bioresource Technology**, 242, p. 178-183, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.190>.

KIM, D. Physico-Chemical Conversion of Lignocellulose: Inhibitor Effects and Detoxification Strategies. **Molecules**, [s.l.], v. 23, n. 2, p.309-309, 1 fev. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules23020309>

KUMAR, A. K.; SHARMA, S. Recent updates on different methods of pretreatment of lignocellulosic feedstocks: a review. **Bioresources and Bioprocessing** 4, p. 1-19, 2017. <https://doi.org/10.1186/s40643-017-0137-9>.

LALUCE, C.; ROLDAN, I. U.; PECORARO, E.; IGBOJIONU, L. I.; RIBEIRO, C. A. Effects of pretreatment applied to sugarcane bagasse on composition and morphology of cellulosic fractions. **Biomass and Bioenergy** 126, p. 231-238, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.biombiol.2019.03.002>

MANKAR, A. R.; PANDEY, A.; MODAK, A.; PANT, K. K. Pretreatment of lignocellulosic biomass: a review on recent advances. **Bioresource Technology** 334, 125235, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125235>

MESA, L.; GONZÁLEZ, E.; CARA, C.; GONZÁLEZ, M.; CASTRO, E.; MUSSATTO, S. I. The effect of organosolv pretreatment variables on enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse. **Chemical Engineering Journal** 168, p. 1157-1162, 2011. DOI: 10.1016/j.cej.2011.02.003

MUSSATTO, S. I. **Biomass fractionation technologies for a lignocellulosic feedstock based biorefinery**. Amsterdam: Elsevier, 2016. 648 p.

PARDO, L. M. F.; MENDOZA, J. G. S.; GALÁN, J. E. L. Influence of pretreatments on crystallinity and enzymatic hydrolysis in sugar cane residues. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 36, n. 01, pp. 131 – 141, january-march. 2019. <dx.doi.org/10.1590/0104-6632.20190361s20180093>

REIN, P. **Cane Sugar Engineering**, Verlag Dr. Albert Bartens KG. Berlim, 2017.

REZANIA, S.; ORYANI, B.; CHO, J.; TALAIEKHOZANI, A.; SABBAGH, F.; HASHEMI, B.; RUPANI, P. F.; MOHAMMADI, A. A. Different pretreatment technologies of lignocellulosic biomass for bioethanol production: an overview. **Energy** 199, 117457, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2020.117457>

SANTIAGO, B. L. S.; RODRIGUES, F. A. Processamento de biomassa lignocelulósica para produção de etanol: uma revisão. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 03, n. 07, p. 1011-1022, 2017. Doi: 10.18540/jcecv13iss7pp1011-1022

TANG, C.; SHAN, J.; CHEN, Y.; ZHONG, L.; SHEN, T.; ZHU, C.; YING, H. Organic amine catalytic organosolv pretreatment of corn stover for enzymatic saccharification and high-quality lignin. **Bioresource Technology**, 232, p. 222-228, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.041>