Artigo

Pré-tratamento de Explosão a Vapor, Caracterização Química e Morfológica do Bagaço da Cana-de-Açúcar Usado para Produção de Etanol 2G

Barbosa, K. L.;* Silva, J. dos S.; dos Santos, T. V.; dos Santos-Rocha, M. S. R.; Malta, V. R. dos S.; Almeida, R. M. R. G.

Rev. Virtual Quim., 2020, 12 (1), 63-74. Data de publicação na Web: 28 de janeiro de 2020

<http://rvq.sbg.org.br>

Pre-treatment of Steam Explosion, Chemical and Morphological Characterization of Sugarcane Bagasse Used for 2G Ethanol Production

Abstract: Biofuels industries have made great efforts to establish the best pretreatment of lignocellulosic biomass for 2G-ethanol production. Therefore, this work, sugarcane bagasse (BCA), employed to the pre-treatment of steam explosion in an autoclave reactor at 120 °C. The chemical characterization performed by high performance liquid chromatography and morphological analyzes by spectroscopic techniques (FTIR and XRD). The evaluated pretreatment revealed changes in chemical and structural composition biomass with cellulose mass percentage of 37.51 and hemicellulose 21.32 in the untreated BCA for 30.82 cellulose and 17.14 of hemicellulose in the pre-treated BCA. The fractions cellulose and hemicelluloses decreased after pretreatment, suggesting generation other products as furfural, *hydroxymethylfurfural*, acetic acid and formic acid. The FTIR and XRD spectroscopy analyzes showed structural differences between the complexity of the untreated and pretreated biomass. Therefore, the results suggest that the pretreatment results in the breakdown of the biomass fibers.

Keywords: Auto-hydrolysis; sugarcane bagasse; pretreatment.

Resumo

As indústrias de biocombustíveis têm empenhado grande esforço para estabelecer o melhor pré-tratamento da biomassa lignocelulósica para produção de etanol de segunda geração. Portanto, neste trabalho, o bagaço da cana-de-açúcar (BCA), foi submetido ao pré-tratamento de explosão a vapor em reator autoclave a 120 °C por 45 min. A caracterização química foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência e as análises morfológicas por técnicas espectroscópicas (FTIR e DRX). O pré-tratamento avaliado revelou mudanças na composição química e estrutural da biomassa com porcentagem mássica de celulose de 37,51 e hemiceluloses 21,32 no BCA não tratado para 30,82 de celulose e 17,14 de hemiceluloses no BCA pré-tratado. As frações de celulose e hemiceluloses diminuíram após o pré-tratamento, produzindo outros produtos como furfural, hidroximetilfurfural, ácido acético e ácido fórmico. As análises por espectroscopia FTIR e DRX indicaram diferenças estruturais entre a complexidade da biomassa não tratada e pré-tratada. Portanto, os resultados indicam que o pré-tratamento resulta em desorganização das fibras que constituem a biomassa.

Palavras-chave: Auto-hidrólise; Bagaço da cana-de-açúcar; Pré-tratamento.

*Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Campus Maceió, Avenida Lourival de Melo Mota S/N, Tabuleiro do Martins, CEP 57072-970, Maceió-AL, Brasil.

kledsonlopesb@gmail.com

DOI: [10.21577/1984-6835.20200007](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200007)

Pré-tratamento de Explosão a Vapor, Caracterização Química e Morfológica do Bagaço da Cana-de-Açúcar Usado para Produção de Etanol 2G

Kledson L. Barbosa,^a Jumelice dos S. Silva,^a Thatiane V. dos Santos,^a Valéria R. dos S. Malta,^a Martha. S. R. dos Santos-Rocha,^b Renata M. R. G. Almeida^c

^a Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Campus Maceió, Avenida Lourival de Melo Mota S/N, Tabuleiro do Martins, CEP 57072-970, Maceió-AL, Brasil.

^b Instituto Federal de Alagoas, Campus Penedo, Rod. Eng. Joaquim Gonçalves, Dom Constantino, CEP 57200-000, Penedo-AL, Brasil.

^c Universidade Federal de Alagoas, Centro de Tecnologia, Campus Maceió, Avenida Lourival de Melo Mota S/N, Tabuleiro do Martins, CEP 57072-970, Maceió-AL, Brasil.
[*kledsonlopesb@gmail.com](mailto:kledsonlopesb@gmail.com)

Recebido em 08 de agosto de 2019. Aceito para publicação em 26 de novembro de 2019

1. Introdução

2. Materiais e Métodos

2.1. Caracterização química do bagaço da cana-de-açúcar

2.2. Pré-tratamento por explosão a vapor

2.3. Caracterização morfológica das amostras de bagaço da cana-de-açúcar não tratado e pré-tratado

3. Resultados e Discussões

3.1. Caracterização química do bagaço da cana-de-açúcar

3.2. Caracterização morfológica

4. Conclusão

1. Introdução

Nas últimas décadas têm aumentado substancialmente as preocupações com a dependência mundial dos combustíveis fósseis devido às flutuações políticas e econômicas, relacionadas as alterações no preço do petróleo no mercado internacional, bem como os riscos ambientais causados por sua combustão incompleta levando a liberação de gases que contribuem para o efeito estufa e poluição ambiental.^{1,2} Uma alternativa para minimizar os danos causados ao meio ambiente pelos combustíveis fósseis é o uso

de biomassa fotossintética para geração de energia, uma vez que essa matéria-prima se apresenta como um forte candidato para produção de biocombustíveis renováveis e outros bioprodutos valiosos, tais como: hidroximetilfurfural (HMF), furfural dentre outros.^{3,4}

As razões para estimular a produção de energia sustentável por meio dos combustíveis renováveis e reduzir as emissões dos gases de efeito estufa, justifica-se pela diminuição da qualidade do ar nos ambientes urbanos, que têm progressivamente afetado a saúde da população e causado mortes prematuras pelo desenvolvimento de doenças como asma, doenças cardiovasculares, doenças

pulmonares obstrutiva crônica e câncer de pulmão associados aos gases emitidos ou produzidos na combustão.⁵

Por questões ambientais e econômicas, houve um grande despertar para o desenvolvimento de processos visando à produção dos biocombustíveis oriundos de fontes alternativas.^{6,7} Um exemplo desses biocombustíveis são os obtidos a partir de biomassa lignocelulósica cuja exploração e produção em escala industrial pode futuramente competir economicamente com o preço do combustível de origem fóssil e, por conseguinte, minimizar os impactos ambientais que estão associados à liberação de gases poluentes na atmosfera.^{8,9} Tais como monóxido de carbono, óxido de nitrogênio, dióxido de carbono, metano e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos.¹⁰

No escopo da indústria açucareira, grandes quantidades de resíduos lignocelulósicos são gerados, o que inclui bagaço e palha de cana-de-açúcar. O uso desses resíduos lignocelulósicos constituiu um potencial para a produção de etanol 2G, pois são constituídos de polissacarídeos (celulose e hemiceluloses) que podem ser convertidos em açúcares fermentáveis, além de ser uma fonte renovável de baixo custo. Dessa forma, o bagaço de cana é um material com alto potencial para a produção do bioetanol.^{11,12} Visto que tem a possibilidade de aumentar a matriz energética. No entanto, para esse evento, torna-se necessário que o processo seja ampliado a fim de alcançar o nível de comércio.¹³ Além disso, a conversão do caldo da cana-de-açúcar, do bagaço e de sua palha em formas de energia tal como o etanol 1G e 2G e eletricidade, é um esforço contínuo e necessário para expandir as políticas de energia limpa.¹⁴

As características complexas das fibras da biomassa lignocelulósica necessitam de pré-tratamentos para desassimilação dos açúcares fermentáveis para torná-los disponíveis. São vários os pré-tratamentos empregados, sendo os principais o pré-tratamento químico por meio de ácidos e bases diluídos, pré-tratamento de explosão a vapor, e pré-tratamento enzimático. Estas etapas empregadas em qualquer fonte de biomassa lignocelulósica conferem a produção de etanol 2G, diferentemente dos processos estabelecidos para a produção do etanol 1G, onde se utiliza o caldo da cana-de-açúcar. Ademais, essas condições para geração de combustível líquido fazem da matéria-prima e do produto, fontes sustentáveis.¹⁵⁻¹⁷

As indústrias de biocombustíveis têm empenhado grande esforço para estabelecer o melhor pré-tratamento da biomassa lignocelulósica para produção de etanol 2G. Exemplos de resíduos de biomassa utilizados para produção desse biocombustível são o bagaço e a palha da cana-de-açúcar, estudados por meio de diferentes pré-tratamentos para aumentar a oferta de celulose na obtenção do etanol 2G por meio dos seus açúcares fermentescíveis.¹² O primeiro passo para a produção de etanol 2G é compreendido pelo pré-tratamento da biomassa, que tem como finalidade liberar os açúcares fermentáveis e aumentar a superfície de contato entre as fibras da biomassa e as enzimas celulolíticas.¹⁸

Desse modo, vale salientar que a produção de combustíveis obtidos a partir de biomassa lignocelulósica vem crescendo devido ao fato de vários tipos dessas biomassas estarem presentes, em grande quantidade, em quase todas as regiões do planeta, sendo a maioria representada por resíduos agroindustriais.¹⁹ Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar por explosão a vapor em reator autoclave por meio de caracterização química e análise morfológica.

2. Material e Métodos

O bagaço da cana-de-açúcar foi adquirido da Usina Coruripe – Fazenda Triunfo – Zona Rural, situada no município de Coruripe-AL. A matéria-prima com e sem pré-tratamento foram caracterizadas quanto à sua composição química e morfologia conforme procedimentos analíticos descritos a seguir.

2.1. Caracterização química do bagaço da cana-de-açúcar

Amostras de 2,000 g de bagaço não tratado e pré-tratado moídas em liquidificador industrial (20 mesh) foram transferidas para béqueres de 100 mL e tratadas com 10 mL de H_2SO_4 72 %v/v, sob vigorosa agitação, em um banho termostatzado a 45 °C por 7 min. Em seguida as amostras foram transferidas para frascos erlenmeyers de 500 mL, adicionando-se o volume de 275 mL de água destilada. Os erlenmeyers foram vedados e autoclavados por 30 min a 121 °C. Após a descompressão da autoclave,

a reação foi resfriada e a fração sólida separada da fração líquida por filtração em papel de filtro qualitativo. A fração líquida foi transferida para balão volumétrico de 500 mL, o qual teve o seu volume posteriormente completado com água destilada e armazenada para análises posteriores de carboidratos, ácidos orgânicos, furfural, HMF e lignina solúvel.²⁰⁻²²

2.1.1. Determinação de lignina insolúvel na fração sólida

Lignina insolúvel foi determinada de acordo com o método Klason modificado por Rocha *et al.*²¹ O material retido no papel de filtro foi lavado com 1500 mL de água destilada e seco em estufa a 100 °C até massa constante. A percentagem de lignina insolúvel foi calculada em relação às diferenças de massa.

2.1.2. Determinação de lignina solúvel na fração líquida

A quantidade de lignina solúvel foi mensurada em espectrofotômetro com absorvância a 215 e 280 nm.²¹ Conforme equação 1:

$$\text{Em que: } C_{\text{Lig-sol}} = \frac{4,53 \times A_{215} - A_{280}}{300}$$

$C_{\text{Lig-sol}}$ = concentração de lignina Klason solúvel em meio ácido em gramas por litro;

A_{215} = valor da absorvância a 215 nm

A_{280} = valor da absorvância a 280 nm

2.1.3 Determinação de carboidratos, ácidos orgânicos, furfural e HMF na fração líquida

A determinação dos carboidratos e dos ácidos orgânicos foi realizada em cromatógrafo líquido de alta eficiência. As condições das análises foram: coluna Aminex HPC 87H (300 X 7,8 mm, Bio-Rad); fase móvel: H₂SO₄ 0,005 mol.L⁻¹, vazão de 0,6 mL. min⁻¹; temperatura de forno: 45 °C; em cromatógrafo Shimadzu modelo LC-10AD, empregando o detector de índice de refração Shimadzu modelo RID-6A. A determinação de HMF e furfural ocorreu sobre as seguintes condições: coluna C-18 (Waters, 3,9 x 300 mm), fase móvel de acetonitrila e água (1:8) com 1 % de ácido acético, vazão de 0,8 mL por min, temperatura de forno

25 °C e detector UV/VIS (SPD-10A) a 270 nm.²⁰⁻²²

2.1.4. Determinação de cinzas

Na determinação das cinzas, pesaram-se 2,000 g do bagaço da cana-de-açúcar não tratado e pré-tratado em cadinho de porcelana previamente tarado. Em seguida, as amostras foram calcinadas lentamente até 300 °C e posteriormente por 2 h a 800 °C, em mufla. Por diferença de massa, determinou-se o teor de cinzas da lignina insolúvel e das cinzas do bagaço não tratado e tratado.²⁰⁻²²

2.2. Pré-tratamento por explosão a vapor

O pré-tratamento do bagaço da cana-de-açúcar foi realizado de acordo com o método de explosão a vapor em reator autoclave.²³ Foram pesadas 10,000 gramas da biomassa, que foi suspensa em 90 mL de água destilada dentro de frasco de erlenmeyer de 250 mL e posteriormente vedados com papel alumínio. Em seguida, os frascos foram colocados no reator autoclave por 45 min a 120 °C em 1 atm. Transcorridos os 45 min de reação, desligou-se o reator e depressurizou-se imediatamente a válvula para retirada dos frascos. Por último, o material pré-tratado teve suas frações líquidas e sólidas separadas por filtração em papel de filtro qualitativo. A fração sólida foi lavada com água destilada até que a água de lavagem atingisse pH neutro, posteriormente acondicionado em estufa e mantidos sob 60 °C por 24 horas.

Ressalta-se que o emprego de um pré-tratamento em que se utiliza apenas água quente sob pressão pode ser considerado como promissor, tendo em vista que não se agregou a essa metodologia reagentes químicos como ácidos ou bases, o que traz grande vantagem para a proteção do meio ambiente. Além disso, a escolha da condição utilizada justifica-se nas limitações do reator (autoclave).

2.3. Caracterização morfológica das amostras de bagaço da cana-de-açúcar não tratado e pré-tratado

- **Espectroscopia na região do infravermelho médio por Transformada de Fourier**

Os espectros de adsorção das amostras na região do infravermelho médio foram obtidos

em um espectrômetro varian FTIR 660-IR usando pastilhas de KBr como agente dispersante.

- **Difração de Raios-X (DRX)**

A técnica de difração de raios-X foi utilizada com o intuito de determinar os planos cristalográficos característicos de cada material. Nesse contexto, por meio dessa técnica foi possível realizar o cálculo do índice de cristalinidade (ICr). A difração de raios-X foi realizada utilizando o equipamento modelo XRD-6000 da Shimadzu com uma fonte de radiação de CuK α com voltagem de 30 KV e corrente de 30 mA, com filtro de Ni. Foi utilizado o método de pó para realização desse procedimento. Os dados foram selecionados na faixa de 2 θ de 15° a 45° com velocidade de goniômetro de 2°/min com um passo de 0,02°. ^{24, 25}

O ICr das três amostras foi calculado pelo método Segal e cols.²⁵ e Park e cols.²⁶ onde é determinado usando a equação 2:

$$CrI (\%) = \left(1 - \frac{h_{am}}{h_{cr}} \right) \times 100$$

Onde h_{cr} é a altura do sinal mais intenso (intensidade do sinal em 2 θ = 22°–23°, atribuído às regiões cristalinas), e h_{am} a intensidade da difração atribuída à celulose amorfa. A altura de intensidade do material amorfo é tomada perto de 18° para celulose I e em torno de 16° para celulose II.²⁷

- **Determinação de proteína**

Aplicou-se a digestão da matéria orgânica em 2,000 g das amostras do BCA não tratado e pré-tratado em tubos de Kjeldahl contendo 2,000 g de mistura catalítica, 10 mL de ácido sulfúrico concentrado, 25 mL de ácido bórico 4 %, 2 gotas

de indicador vermelho de metila (0,25 %) e 2 gotas de indicador verde de bromocresol (0,2 %), conforme os procedimentos operacionais descritos em AOAC.²⁸ A determinação de proteína é calculada pela seguinte equação 3:

$$\text{Proteína (g/100g)} = \frac{V_{HCl} * f_{HCl} * N_{HCl} * F * 1,4}{P}$$

3. Resultados e Discussão

3.1. Caracterização química do bagaço da cana-de-açúcar

Os resultados da composição química do BCA não tratado e pré-tratado, bem como os componentes inibitórios (ácido acético, ácido fórmico, furfural e HMF) responsáveis por causar efeitos negativos no rendimento e produtividade do etanol 2G, são mostrados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente. Esses componentes podem apresentar efeitos inibitório e tóxico em celulasas e leveduras fermentadoras. Deste modo, esses ácidos orgânicos podem competir com os carboidratos no sítio de ligação do substrato na enzima e até mesmo alterar a osmolaridade das leveduras, diminuindo a conversão de açúcares à etanol. O que justifica a perda do rendimento etanólico em fermentações com altas taxas dos subprodutos formados durante o pré-tratamento da biomassa. Sob essa perspectiva, Pinto e cols.²⁹ afirmam que os principais desafios da produção de etanol 2G sejam as altas concentrações de compostos fenólicos e derivados de furano gerados no pré-tratamento da biomassa lignocelulósica, os quais agem suprimindo a eficiência da hidrólise enzimática e fermentação.

Tabela 1. Composição química do BCA não tratado e pré-tratado por explosão a vapor

%, base seca	BCA não tratado	BCA pré-tratado
Celulose	37,51±2,03	30,82±1,11
Hemiceluloses	21,32±0,93	17,14±0,46
Lignina Klason	30,30±3,91	24,30±0,64
Lignina solúvel	8,98±0,29	9,06±1,03
Lignina total	39,27±3,98	33,23±1,58
Proteína	1,47±0,01	---
Cinzas	5,4±0,54	4,03±0,81
Total	98,12	91,26

Tabela 2. Componentes liberados na fração líquida da caracterização química do BCA não-tratado e pré-tratado

Biomassa	Análise de açúcares (g.L ⁻¹)				Análise de ácidos orgânicos e derivados das pentosanas (g.L ⁻¹)			
	Glicose	Xilose	Arabinose	Celobiose	Ácido Acético	Ácido Fórmico	Furfural	HMF
BCA Não- tratado	1,409 ±0,04	0,826 ±0,02	0,004 ±0,0	0,005 ±0,0	0,084 ±0,01	0,050 ±0,0	0,023 ±0,0	0,010 ±0,0
BCA Pré-tratado	1,190 ±0,04	0,658 ±0,02	0,003±0,0	0,004 ±0,0	0,063 ±0,0	0,031 ±0,0	0,021 ±0,0	0,008 ±0,0

Para a determinação dos componentes celulose, hemicelulose, lignina e cinzas do bagaço pré-tratado, levou-se em conta o rendimento mássico do pré-tratamento, para que, dessa forma, se estivesse trabalhando na mesma base, que foi justamente associada ao material inicial. A diferença de 100 – 91,26 % pode estar associada a outros componentes estruturais presentes na biomassa ou outros açúcares não quantificados nesse estudo ou até mesmo ao erro intrínseco ao experimento.

Conforme mostra a Tabela 1, o teor de lignina diminuiu no BCA pré-tratado em comparação ao BCA não-tratado, indicando que houve ruptura na estrutura do bagaço da cana-de-açúcar, degradação das hemiceluloses e transformação da lignina. A lignina é uma macromolécula tridimensional, amorfa e ramificada constituída por unidade básica fenilpropânica (C6-C3 ou C9), ou seja, construção aleatória de monômeros aromáticos, no qual os produtos de degradação são geralmente muito complexos de origem aromática, tais como: fenóis, aldeídos, ácidos carboxílicos, alcanos e arenos.³⁰ Sendo assim, Chin e cols.³¹ discutem que altos teores de lignina dificultam o processo de hidrólise da biomassa vegetal, isso por que se trata de um polímero amorfo que serve de suporte ao vegetal e recobre as moléculas de celulose.

Os teores de celulose e hemiceluloses diminuíram após o pré-tratamento (Tabela 1), devido a decomposição em parte dos carboidratos com formação de outros produtos como furfural, HMF, ácido acético e ácido fórmico. A respeito disto, Farhat e cols.³² discutiram que nos materiais lignocelulósicos, as hemiceluloses é o segundo carboidrato renovável mais abundante após a celulose. Os autores também realizaram um estudo de extração e caracterização de hemiceluloses e observaram comportamento similar ao deste estudo com perda de celulose e hemiceluloses, uma vez que no pré-tratamento quando a temperatura foi elevada de 160 a 200 °C, os rendimentos sólidos correspondentes diminuíram de 86,16 a 62,60 %.

Contudo, observa-se que a fração hemicelulósica do BCA pré-tratado teve diminuição de 19,60 % em relação ao BCA não tratado. Estes resultados vão de encontro com Hongdan e cols.³³ que relatam que a água quente pode ser empregada para remover determinados tipos de hemiceluloses e romper a estrutura intacta da biomassa lignocelulósica.

Conforme pode ser visto na Tabela 1, a realização do pré-tratamento diminuiu o rendimento sólido do BCA de 98,12 para 91,26 %. Quanto à celulose, os resultados mostram maior perda de celulose no BCA pré-tratado. Este efeito é desvantajoso ao processo, pois, a quantidade de celulose significa o potencial de conversão em glicose dos resíduos lignocelulósicos. Por outro lado, o BCA não-tratado produziu uma quantidade maior de açúcares como D-glicose e D-xilose. Além disso, esses resultados mostram que para o BCA pré-tratado houve degradação da celulose por meio da liberação de celobiose, assim como sugere degradação das hemiceluloses pela liberação de L-arabinose, conforme se observa na Tabela 2.

Os açúcares D-glicose e D-xilose foram os principais produtos da fração líquida da caracterização química, com rendimentos de 84,45 e 79,66 %, respectivamente. Além disto, na Tabela 2, é possível observar que os rendimentos de L-arabinose e celobiose para os dois tipos de BCA não tiveram diferenças importantes, o que pode indicar ser possível obter L-arabinose da hemicelulose arabinoglicouronoxilanas por meio do pré-tratamento empregado, e que este açúcar se encontra em menores quantidades nas hemiceluloses.

A diminuição de glicose no bagaço pré-tratado pode estar relacionada com a degradação da glicose em HMF, assim como da xilose em ácidos acético, fórmico e furfural como uma condição de pré-tratamento severo assim como relataram Hondgan e cols.³³ Segundo um estudo sobre inibidores e mecanismos inibitórios de Palmqvist

e Hann-Hagerdal,³⁴ durante o pré-tratamento os açúcares se degradam em furfural e HMF, enquanto o grupo acetil das hemiceluloses se degrada em ácido acético. Conforme mostra a Tabela 2, o ácido acético esteve presente em maior concentração em comparação aos demais inibidores. Segundo Hondgan e cols.³³ os derivados de furanos, assim como furfural e HMF são obtidos pela desidratação das pentoses e hexoses, respectivamente. O resultado deste estudo revelou que os inibidores - ácidos orgânicos e derivados das pentosanas (Tabela 2) estiveram praticamente nas mesmas concentrações para as duas formas do BCA caracterizado.

3.2. Caracterização morfológica

• FTIR

Para entender as mudanças na estrutura química após o pré-tratamento do bagaço da cana-de-açúcar, foram obtidos espectros infravermelhos (Figura 1) da amostra não tratada e amostra pré-tratada. As intensidades relativas das bandas de absorção foram atribuídas na Tabela 3.

Por meio da análise comparativa dos espectros, observa-se a existência de bandas atribuídas aos grupos C=O em 1660 cm⁻¹, também foi observada a vibração do anel aromático da lignina em aproximadamente 1510 cm⁻¹ e em 1396 cm⁻¹ a deformação angular dos grupos C-H, deformação angular de ligações C-O de álcoois primários em 1160 cm⁻¹, banda de absorção das ligações C-O-C, que representa a vibração do anel de piranose em 1039 cm⁻¹ e ligações β-glicosídicas entre unidades de glicana em 898 cm⁻¹, características de celulose.³⁵ Pode-se observar a semelhança entre os espectros dos BCA não tratado e pré-tratado, evidenciando, qualitativamente, que o pré-tratamento foi eficiente na extração das hemiceluloses e lignina (Figura 1).

Os espectros são separados em diferentes regiões, e deste modo, supõe-se que a banda 1660 cm⁻¹ esteja relacionada com a água adsorvida em celulose e hemiceluloses.³⁶

A mudança ocasionada na estrutura cristalina da celulose altera as vibrações das ligações por meio de uma redução de intensidade ou mesmo do desaparecimento das bandas características

Figura 1. Espectros FTIR do BCA não tratado e BCA pré-tratado por explosão a vapor

Tabela 3. Intensidade relativa das bandas no espectro infravermelho de diferentes grupos nas amostras de BCA não tratado e pré-tratado

Atribuições da absorção FTIR do bagaço da cana-de-açúcar	Absorção relativa de diferentes grupos em amostras de bagaço (n° de ondas)
Vs O-H	3435
Vs O-H	3153
C-H (deformação axial)	2930
C-H (deformação angular)	1396
C-O (deformação angular)	1160
β-glicosídicas-glicana	898

dos domínios cristalinos no intervalo de 898 a 3435 cm^{-1} .³⁷ Por essa razão, na Figura 1, o BCA pré-tratado reporta menos energia absorvida. Portanto, esta diminuição de intensidade reflete em alteração do grau de cristalinidade da celulose no BCA pré-tratado em explosão a vapor. Por outro lado, os espectros do BCA pré-tratado e não tratado não mostraram diferenças importantes, o que sugere pouca mudança na biomassa, uma vez que reportou pequenas diferenças nas bandas espectrais nas duas frações do BCA.

Para Zhao e cols.³⁸ a celulose cristalina é mais recalcitrante a digestão microbiana e enzimática em comparação com a celulose amorfa. E para aferir a recalcitrância de um determinado material lignocelulósico, frequentemente se utiliza o índice de cristalinidade, o qual pode ser obtido por meio de várias técnicas que incluem DRX, FTIR e Raman.²⁶ Por intermédio da recalcitrância observa-se diminuição de sinais referente às hemiceluloses e a celulose após os tratamentos, sugestivos de um processo de deslignificação.

• DRX

No difratograma do BCA pré-tratado apresentado na Figura 2, observa-se dois picos na região dos ângulos de Bragg de intensidade do sinal em 2θ igual a 15,6 e 15,7 ° atribuído as regiões amorfas, e outro pico em 2θ igual a 22,1 e 21,3° atribuído as regiões cristalinas. No difratograma da celulose do BCA o pico na região de intensidade do sinal em $2\theta=21,3^\circ$ é atribuído a regiões cristalinas.³⁹ Apresenta-se também um pico em 2θ igual a 37,7° e outro em 38,1° mostrados no difratograma, onde tais eventos são atribuídos a fração da celulose. De forma similar, o pico de difração em 21,3° é mais evidente e estreito na celulose do BCA não tratado em relação ao BCA pré-tratado (pouco perceptível). Este efeito pode ser explicado pela diminuição da lignina amorfa e das hemiceluloses que provoca aumento da cristalinidade.

Em um estudo de caracterização das fibras de *Sisal*, Lima e cols.⁴⁰ reportam picos de planos cristalinos característicos de celulose de materiais lignocelulósicos em 23 e 34 2θ , resultados estes próximos dos encontrados nesse estudo. Kapor e cols.⁴¹ estudaram o efeito do pré-tratamento da radiação gama sob o bagaço da cana-de-açúcar

em relação as suas propriedades morfológicas e estruturais. Os autores descreveram padrões de DRX de celulose amorfa entre 16-20° e celulose cristalina em torno de 20-25°. Enquanto os deste estudo foram 15,6-15-7, 21,3-22,1, 37,7-38-1 2θ atribuídos aos planos de difração 101, 002 e 004, respectivamente. Esses resultados são típicos de DRX de celulose do tipo I. Deste modo, a proximidade dos difratogramas leva a considerar a acurácia do método empregado sob o pré-tratamento adotado. Outros estudos também apontam picos em torno de 22 2θ correspondente a intensidade cristalina típica de celulose.⁴²⁻⁴⁶

Após o pré-tratamento do bagaço da cana-de-açúcar, Leão e cols.⁴⁷ observaram aumento do índice de cristalinidade. Isto pode estar relacionado com a clivagem e a perda de hemiceluloses e de lignina por dissolução, aumentando assim a cristalinidade conforme apontam Zaini e cols.⁴³ Os valores dos índices de cristalinidade (ICr) mostrados na Tabela 4, revelaram que na condição estudada também houve tendência de aumento na cristalinidade para BCA pré-tratado (38,4 %), contra 31,9 % para o BCA não tratado. Diante desses resultados, é possível observar que o pré-tratamento de explosão a vapor na autoclave a 120 °C produz efeito positivo para o aumento da cristalinidade do BCA pré-tratado. Deste modo, o comportamento evidenciado pelo pré-tratamento sugere que o BCA na condição estudada torna-se mais cristalino. Carvalho e cols.⁴⁸ ressaltam que o ICr é um parâmetro muito empregado para o estudo de materiais lignocelulósicos que se pretende submeter a processos de hidrólise, uma vez que por meio da cristalinidade é possível verificar a organização das moléculas estruturais da celulose.

Corrales e cols.⁴⁹ defendem que o aumento do ICr de amostras pré-tratadas esteja relacionado com a remoção parcial da fração de hemiceluloses. Os autores ainda discutem que a quantidade de glicose liberada a partir da celulose da região amorfa, não se faz relevante para o pré-tratamento. Quanto ao efeito do pré-tratamento, Ramos⁵⁰ retrata que o vapor da alta pressão é responsável por modificar a estrutura da parede celular vegetal produzindo celulose e hemiceluloses parcialmente hidrolisadas e lignina quimicamente modificada.

Figura 2. Difratomogramas das amostras do BCA não tratado e pré-tratado com H₂O a 120

Tabela 4. Índice Cristalino do BCA não tratado e pré-tratado

Amostras	Índice Cristalinidade (%)
BCA não tratado	31,9
BCA pré-tratado	38,4

4. Conclusão

A caracterização química revelou diferenças na composição do BCA pré-tratado, que podem ser verificadas com a diminuição do percentual de celulose, hemiceluloses e lignina. Esse comportamento indica que o pré-tratamento resulta em desestruturação destas fibras com remoção de suas regiões amorfas e aumento de cristalinidade. As análises por espectroscopia FTIR e DRX do BCA submetido ao pré-tratamento explosão a vapor mostrou diferenças entre a complexidade da biomassa não tratada e pré-tratada, apresentando uma tendência de remoção parcial de celulose e hemiceluloses para o BCA pré-tratado. Quanto ao índice de cristalinidade, as amostras não tratadas e pré-tratadas por explosão a vapor mostram que o índice de cristalinidade foi maior para o BCA pré-tratado. Faz-se necessário, portanto, ampliar esse estudo para investigar o comportamento provocado pelo pré-tratamento da biomassa por meio de outras técnicas espectroscópicas complementares.

Propusemos um processo de pré-tratamento em uma única etapa para melhorar a eficiência da sacarificação em resíduos lignocelulósicos

empregados na produção de etanol 2G. Esse primeiro passo consiste em destruir a estrutura do bagaço da cana-de-açúcar para melhorar posteriormente a hidrólise enzimática, onde se observou baixas concentrações de inibidores de celulasas. Portanto, esse processo mostra uma vantagem atraente para se utilizar na etapa de pré-tratamento para a produção de etanol 2G.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Referências Bibliográficas

- ¹ Kuloyo, O. O.; Preez, J. C.; Garcia-Aparicio, M. del P.; Kilian, S. G.; Steyn, L.; Gorgens, J. *Opuntia ficus-indica* cladodes as feedstock for ethanol production by *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces cerevisiae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **2014**, *30*, 12. [CrossRef] [PubMed]

- ² Gaur, R.; Tiwari, S. Isolation, production, purification and characterization of an organic-solvent-thermostable alkalophilic cellulase from *Bacillus vallismortis* **RG-07**. *BMC Biotechnology* **2015**, *15*, 19. [CrossRef]
- ³ Limayem, A.; Ricke, S. C. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. *Progress in Energy and Combustion Science* **2012**, *38*, 4. [CrossRef]
- ⁴ Mamo, G.; Faryar, R.; Karlsson, E. N. Microbial Glycoside Hydrolases for Biomass Utilization in Biofuels Applications. *Biofuel Technologies* **2013**. [CrossRef]
- ⁵ Erickon, L. E. Reducing greenhouse gas emissions and improving air quality: Two global challenges. *Environmental Progress & Sustainable Energy* **2017**, *36*, 4. [CrossRef]
- ⁶ Anwar, Z.; Gulfray, M.; Irshad, M. Agro-industrial lignocellulosic biomass a key to unlock the future bio-energy: A brief review. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* **2014**, *7*, 2. [CrossRef]
- ⁷ Shim, G. B. A study on bio-ethanol extraction from fruit waste by simultaneous saccharification and fermentation. *APEC Youth Scientist Journal* **2015**, *7*, 2. [Link]
- ⁸ El-Mashad, H. Biomethane and Ethanol Production Potential of *Spirulina platensis* Algae and Enzymatically Saccharified Switchgrass. *Biochemical Engineering Journal* **2015**, 93. [CrossRef]
- ⁹ Sarkar, N.; Ghosh, S. K.; Bannerjee, S.; Aikat, K. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy* **2012**, *37*, 1. [CrossRef]
- ¹⁰ Andreae, M. O. Emission of trace gases and aerosols from biomass burning – an updated assessment. *Atmospheric Chemistry and Physics* **2019**, *19*, 1. [CrossRef]
- ¹¹ Amores, I.; Ballesteros, I.; Manzanares, P.; Sáez, F.; Michelena, G.; Ballesteros, M. Ethanol Production from Sugarcane Bagasse Pretreated by Steam Explosion. *Electronic Journal of Energy & Environment* **2013**, *1*, 1. [Link]
- ¹² Pereira, S. C.; Maehara, L.; Machado, C. M. M.; Farinas, C. S. 2G ethanol from the whole sugarcane lignocellulosic biomass. *Biotechnology for Biofuels* **2015**, *8*, 44 [CrossRef]
- ¹³ Bonatto, C.; Venturin, B.; Mayer, D. A.; Bazoti, S. F.; Oliveira, D.; Jr Alves, S. L.; Treichel, H. Experimental data and modelling of 2G ethanol production by *Wickerhamomyces* sp. UFFS-CE-3.1.2. *Renewable Energy* **2019**. [CrossRef]
- ¹⁴ Bechara, R.; Gomez, A.; Saint-Antonin, V.; Schweitzer, Jean-Marc.; Maréchal, F.; Ensinas, A. Review of design works for the conversion of sugarcane to first and second-generation ethanol and electricity. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2018**, *91*, 1. [CrossRef]
- ¹⁵ Gupta, A.; Verma, J. P. Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2015**, *41*. [CrossRef]
- ¹⁶ Silva, J. dos S.; Malta, V. R. dos S.; Santos-Rocha, M. S. R. dos.; Almeida, R. M. R. G.; Gomes, M. A.; Vicente, C. D.; Barbosa, L. B. Hidrólise enzimática, Fermentação e Produção de Biocombustíveis Através da Coroa de *Ananas comosus*. *Química Nova* **2018**, *41*, 10. [CrossRef]
- ¹⁷ Liu, Chen-Guang.; Xiao, Y.; Xia, Xiao-Xia.; Zhao, Xin-Qing.; Peng, L.; Srinophakun, P.; Bai, Feng-Wu. Cellulosic ethanol production: Progress, challenges and strategies for solutions. *Biotechnology Advances* **2019**, *37*, 3. [CrossRef]
- ¹⁸ Sritrakul, N.; Nitisinprasert, S.; Keawsompong, S. Evaluation of dilute acid pretreatment for bioethanol fermentation from sugarcane bagasse pith. *Agriculture and Natural Resources* **2018**, *51*, 6. [CrossRef]
- ¹⁹ Kumar, A.; Gautam, A.; Dutt, D. Biotechnological Transformation of Lignocellulosic Biomass in to Industrial Products: An Overview. *Advances in Bioscience and Biotechnology* **2016**, *7*, 3. [CrossRef]
- ²⁰ Sluiter, A.; Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D.; Crocker, D. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. *Technical Report NREL/TP-510-42618* **2008**. [Link]
- ²¹ Rocha, G.; Silva, F.; Curvelo, A.; Araújo, G. A Fast and Accurate Method for Determination of Cellulose and Polyoses by HPLC. Chem. lignins other wood components, *Fifth brazilian Symp*, 1998.
- ²² Gouveia, E. R.; Nascimento, R. T.; Souto-Maior, A. M.; Rocha, G. J. M. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. *Química Nova* **2009**, *32*, 6. [CrossRef]
- ²³ Sharma, N.; Kalra, K. L.; Oberoi, H. S.; Bansal, S. Optimization of fermentation parameters for production of ethanol from kinnow waste and banana peels by simultaneous saccharification and fermentation. *Indian Journal of Microbiology* **2007**, *47*, 310. [CrossRef] [PubMed]

- ²⁴ Pereira, S. C.; Maehara, L.; Machado, C. M. M.; Farinas, C. S.; Physical-chemical-morphological characterization of the whole sugarcane lignocellulosic biomass used for 2G ethanol production by spectroscopy and microscopy techniques. *Renewable Energy* **2016**, *87*, 1. [CrossRef]
- ²⁵ Segal, L.; Creely, J. J.; Martin, A. E.; Conrad, C. M. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. *Textile Research Journal* **1959**, *29*, 10. [CrossRef]
- ²⁶ Park, S.; Baker, J. O.; Himmel, M. E.; Parilla, P. A.; Johnson, D. K. Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnology for Biofuels* **2010**, *3*, 10. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁷ Azubuike, C. P.; Rodríguez, H.; Okhamafe A. O.; Rogers, R. D. Physicochemical properties of maize cob cellulose powders reconstituted from ionic liquid solution. *Cellulose* **2012**, *19*, 2. [CrossRef]
- ²⁸ Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 21 st Edition **2019** [Link]
- ²⁹ Pinto, A. S. S.; Ribeiro, M. P. A.; Farinas, C. S. Fast spectroscopic monitoring of inhibitors in the 2G ethanol process. *Bioresource Technology* **2018**, *250* [CrossRef]
- ³⁰ Badger, P. C. Ethanol from cellulose: A general review. In: J. Janick and A. Whipkey (eds.), Trends in new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, 2002. [Link]
- ³¹ Chin, K. L.; H'ng, P. S.; Wong, L. J.; Tey, B. T.; Paridah, M. T. Production of glucose from oil palm trunk and sawdust of rubberwood and mixed hardwood. *Applied Energy* **2011**, *88*, 11. [CrossRef]
- ³² Farhat, W.; Venditti, R.; Quick, A.; Taha, M.; Mignard, N.; Becquart, F.; Ayoub, A. Hemicellulose extraction and characterization for applications in paper coatings and adhesives. *Industrial Crops and Products* **2017**, *107*. [CrossRef]
- ³³ Hongdan, Z.; Shaohua, X.; Shubin, W. Enhancement of enzymatic saccharification of sugarcane bagasse by liquid hot water pretreatment. *Bioresource Technology*, **2013**, *143*. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁴ Palmqvist, E. A.; Hahn-Hagerdal, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: Inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology* **2000**, *74*, 1. [CrossRef]
- ³⁵ Phinichka, N.; Kaenthong, S.; Regenerated cellulose from high alpha cellulose pulp of steam-exploded sugarcane bagasse. *Journal of Materials Research Technology* **2018**, *7*, 1. [CrossRef]
- ³⁶ Poletto, M.; Pistor, V.; Zattera, A. J. Structural Characteristics and Thermal Properties of Native Cellulose. *Cellulose – Fundamental Aspects* **2013** [CrossRef]
- ³⁷ De Figueredo, L. P.; Ferreira, F. F. The Rietveld method as a tool to quantify the amorphous amount of microcrystalline cellulose. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **2014**, *103*, 5. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁸ 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* **2012**, *6*, 4. [CrossRef]
- ³⁹ Li, Q.; Renneckar, S. Supramolecular structure characterization of molecularly thin cellulose I nanoparticles. *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 3. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁰ Lima, C. S. S.; Conceição, M. M.; Silva, F. L. H.; Lima, E. E.; Conrado, L. S.; Leão, D. A. S. Characterization of acid hydrolysis of sisal. *Applied Energy* **2013**, *102*. [CrossRef]
- ⁴¹ Kapoor, K.; Garg, N.; Diwan, R. K.; Varshney, L.; Tyagi, A. K. Study the effect of gamma radiation pretreatment of sugarcane bagasse on its physico-chemical morphological and structural properties. *Radiation Physics and Chemistry* **2017**, *141*. [CrossRef]
- ⁴² Santos, R. M.; Neto, W. P. F.; Silvério, H. A.; Martins, D. F.; Dantas, N. O.; Pasquini, D. Cellulose nanocrystals from pineapple leaf, a new approach for the reuse of this agro-waste. *Industrial Crops and Products* **2013**, *50*. [CrossRef]
- ⁴³ Zaini, L. H.; Jonoobi, M.; Tahir, P. M.; Karimi, S. Isolation and Characterization of Cellulose Whiskers from Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) Bast Fibers. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology* **2013**, *4*, 1. [CrossRef]
- ⁴⁴ Kargarzadeh, H.; Ahmad, I.; Abdullah, I.; Dufresne, A.; Zainudin, S. Y.; Sheltami, R. M. Effects of hydrolysis conditions on the morphology, crystallinity, and thermal stability of cellulose nanocrystals extracted from kenaf bast fibers. *Cellulose* **2012**, *19*, 3. [CrossRef]
- ⁴⁵ Rosa, S. M. L.; Rehman, N.; Miranda, M. I. G.; Nachtigall, S. M. B.; Bica, C. I. D. Chlorine-free extraction of cellulose from rice husk and whisker isolation. *Carbohydrate Polymers* **2012**, *87*, 2. [CrossRef]
- ⁴⁶ Yu, m.; Yang, R.; Huang, L.; Cao, X.; Yang, F.; Liu, D. Preparation and characterization of bamboo nanocrystalline cellulose. *Bioresources* **2012**, *7*, 2. [Link]

⁴⁷ Leão, R. M.; Miléo, P. C.; Maia, J. M. L. L.; Luz, S. M. Environmental and technical feasibility of cellulose nanocrystal manufacturing from sugarcane bagasse. *Carbohydrate Polymers* **2017**, 175. [[CrossRef](#)]

⁴⁸ Carvalho, J. A.; Borges, W. M. S.; Carvalho, M. Z.; Arantes, A. C. C.; Bianchi, M. L. Bagaço de Cana-de-Açúcar como Fonte de Glicose: Pré-tratamento Corona. *Revista Virtual de Química* **2017**, 9, 1 [[CrossRef](#)]

⁴⁹ Corrales, R. C. N. R.; Mendes, F. M.; Perrone, C.; Sant'Anna, C.; Souza, W.; Abud, Y.; Bon, E. P. D. S.; Ferreira-Leitão, V. Structural evaluation of sugar cane bagasse steam pretreated in the presence of CO₂ and SO₂. *Biotechnology for Biofuels* **2012**, 5, 36. [[CrossRef](#)] [[Pubmed](#)]

⁵⁰ Ramos, L. P.; The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Química Nova* **2003**, 26, 6. [[CrossRef](#)]