

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Engenharia Química

MARIA CECILIA QUEIROGA BAZETTO

PRÉ-TRATAMENTO DE BAIXA SEVERIDADE PARA PRODUÇÃO DE XILOOLIGOSSACARÍDEOS A PARTIR DE DUAS VARIEDADES DE

CANA-ENERGIA

LOW SEVERITY PRETREATMENT FOR PRODUCTION OF XYLOOLIGOSACCHARIDES FROM TWO VARIETIES OF ENERGY CANE

> CAMPINAS 2018

MARIA CECILIA QUEIROGA BAZETTO

PRÉ-TRATAMENTO DE BAIXA SEVERIDADE PARA PRODUÇÃO DE XILOOLIGOSSACARÍDEOS A PARTIR DE DUAS VARIEDADES DE

CANA-ENERGIA

LOW SEVERITY PRETREATMENT FOR PRODUCTION OF XYLOOLIGOSACCHARIDES FROM TWO VARIETIES OF ENERGY CANE

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de MESTRA em ENGENHARIA QUÍMICA.

Orientadora: PROFA. DRA. TELMA TEIXEIRA FRANCO Coorientadora: DRA. SARITA CÂNDIDA RABELO

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA MARIA CECILIA QUEIROGA BAZETTO, E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. TELMA TEIXEIRA FRANCO.

> CAMPINAS 2018

Ficha catalográfica Universidade Estadual de Campinas Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura Luciana Pietrosanto Milla - CRB 8/8129

Bazetto, Maria Cecilia Queiroga, 1989-

B347p Pré-tratamento de baixa severidade para produção de xilooligossacarídeos a partir de duas variedades de cana-energia / Maria Cecilia Queiroga Bazetto. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

> Orientador: Telma Teixeira Franco. Coorientador: Sarita Cândida Rabelo. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Biomassa. 2. Pré-tratamento. 3. Hemicelulose. 4. Xilooligossacarídeos. I. Franco, Telma Teixeira, 1957-. II. Rabelo, Sarita Cândida. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Low severity pretreatment for production of xylooligosaccharides from two varieties of energy cane

Palavras-chave em inglês: Biomass Pretreatment Hemicellulose Xylooligosaccharides Área de concentração: Engenharia Química Titulação: Mestra em Engenharia Química Banca examinadora: Telma Teixeira Franco [Orientador] Adilson Roberto Gonçalves Bruna de Souza Moraes Data de defesa: 12-03-2018 Programa de Pós-Graduação: Engenharia Química Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em 12 de Março de 2018 pela banca examinadora constituída pelos doutores*:

Profa. Dra. Telma Teixeira Franco Faculdade de Engenharia Química (FEQ) / Unicamp

Prof. Dr. Adilson Roberto Gonçalves Instituto de Pesquisa em Bioenergia (IPBEN) / Unesp – Rio Claro

Dra. Bruna de Souza Moraes Núcleo Interdisciplinar de Planejamento Energético (NIPE) / Unicamp

* A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no processo de vida acadêmica da aluna.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Carlos Eduardo e Fátima, avó Fani, minha irmã Mimi e ao meu namorado Murillo pelo incentivo, apoio em todas as minhas escolhas, decisões e por tudo que fizeram, fazem e farão por mim ao longo de minha vida. Dedico também aos bichinhos de quatro patas, Peka, Mel, Sara e em especial a Nina, que não pôde estar comigo até o término dessa jornada, mas com certeza foi um cãozinho muito forte, que resistiu além do que poderia, lutando pela vida até o último segundo, e de onde quer que esteja, faz com que eu me inspire e não desista em qualquer momento de dificuldade, muito pelo contrário, me dá forças nos momentos mais difíceis. A vitória desta conquista dedico com todo meu amor e gratidão, unicamente, a vocês!

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer,

a Dra. Sarita Cândida Rabelo por ter aceitado me co-orientar, pela enorme paciência que teve, pelos conhecimentos e conselhos valiosos, além do imenso apoio na elaboração dessa dissertação;

a Lívia Brenelli pela paciência e imensa colaboração na elaboração dessa dissertação;

a Profa. Dra. Telma Teixeira Franco pela orientação e oportunidade a mim fornecida de ingresso na pós-graduação;

ao Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE), por ter cedido a estrutura e materiais para a realização desse trabalho e a todos os colegas dos laboratórios e Central Analítica, por me ajudarem imensamente na realização das etapas do meu projeto;

a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e a Faculdade de Engenharia Química (FEQ) pelo suporte dos funcionários, que de forma direta e indireta contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho;

aos amigos Bugs, pelas longas conversas, reflexões, conselhos e incentivos;

aos amigos Vinicius e Toshio, por compartilhar momentos de desespero e superá-los com conselhos, incentivo e principalmente piadas e Gustavo Vasconcelos, pelas longas conversas, reflexões, incentivo e paciência com os desabafos;

aos colegas do Laboratório de Engenharia Bioquímica, Biorrefino e Produtos de Origem Renovável (LEBBPOR) pelas conversas e risadas;

aos membros da banca examinadora pelos comentários, sugestões e contribuições, que ajudaram a melhorar a qualidade e a redação final dessa dissertação;

a colaboração das empresas GranBio e Vignis pelo fornecimento das biomassas;

a todos os docentes que contribuíram para minha formação, em especial ao Eduardo, Ézio, Márcio Martins e Gustavo Rigolin;

a todos por toda e qualquer ajuda, direta ou indireta na contribuição para que esse trabalho fosse realizado;

ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro;

a todos os momentos difíceis, que me colocaram a prova de aprendizado e contribuíram de alguma forma em meu progresso.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

A cana-energia é uma fonte de biomassa promissora para estudos de etapas de prétratamento, pois possui alto teor de fibras e baixo teor de sacarose, possibilitando a produção de produtos de alto valor agregado, além de etanol de segunda geração. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a produção de xilooligossacarídeos (XOS) a partir de duas variedades de cana-energia, empregando a otimização de um pré-tratamento sequencial (desacetilação seguida por prétratamento hidrotérmico). A primeira etapa teve como objetivo remover os grupos acetila ligados à cadeia hemicelulósica sendo estudados os parâmetros operacionais como tempo, temperatura e concentração de hidróxido de sódio. Os resultados mostraram que a condição mais branda avaliada (15 min, 40°C e 60 mg_{NaOH}/g_{biomassa}) promoveu uma solubilização de 74,3 ± 2,8% de grupos acetila para o bagaço de canaenergia da empresa Granbio e 82,2 ± 1,8% para a cana-energia integral da empresa Vignis. Na segunda etapa, as condições operacionais do pré-tratamento hidrotérmico foram otimizadas utilizando o material desacetilado otimizado, com o intuito de maximizar a solubilização das hemiceluloses e a obtenção de XOS, minimizando a formação dos produtos de degradação com menor severidade de processo. Para o bagaço de cana-energia da Granbio, as condições estudadas sem catalisador mostraram uma conversão de xilana em XOS variando de 67,1 a 75,6%. Para a biomassa da Vignis, a conversão de xilana em XOS variou de 5,0 a 88,9%. Os XOS presentes no hidrolisado foram quantificados e caracterizados quanto ao grau de polimerização. Os resultados obtidos mostraram que para o bagaço de cana-energia da Granbio, a condição otimizada (190°C, 15 min, 0[H₂SO₄]) gerou 8,6 g L⁻¹ de XOS, enquanto para a variedade de cana-energia da Vignis, a condição otimizada (210°C, 5 min, 0 [H₂SO₄]) gerou 11,6 g L⁻¹ de XOS. Devido à presença de inibidores no hidrolisado, etapas de purificação podem ser necessárias, dependendo da aplicação almejada para o produto. Com os dados obtidos neste estudo, é possível concluir que o pré-tratamento seguencial é uma opção viável para produção de XOS a partir da cana-energia.

Palavras-chave: cana-energia, desacetilação (alcalina), hidrotérmico, xilooligossacarídeos.

ABSTRACT

The energy cane is a promising biomass' source for studies of pretreatment stages, because it has high fiber content and low sucrose content, enabling the production of high added value products, as well as second generation ethanol. In this sense, the present work had as objective the evaluation of xylooligosaccharides (XOS) production from two energy cane varieties, using the optimization of a sequential pretreatment (deacetylation followed by hydrothermal pretreatment). The first step was to remove the acetyl groups attached to the hemicellulosic chain and the operational parameters such as time, temperature and sodium hydroxide concentration were studied. The results showed that the milder condition evaluated (15 min, 40°C and 60 mg_{NaOH}/g_{biomass}) promoted a solubilization of 74,3 ± 2,8% of acetyl groups for Granbio energy cane bagasse and 82,2 ± 1,8% for Vignis integral energy cane. In the second step, the hydrothermal pretreatment operating conditions were optimized using the optimized deacetylated material, in order to maximize the solubilization of the hemicelluloses and the XOS obtaining, minimizing the formation of degradation products with less process severity. For Granbio energy cane bagasse, the conditions studied without catalyst showed a conversion of xylan to XOS ranging from 67,1 to 75,6%. For the Vignis biomass, the conversion of xylan to XOS ranged from 5,0 to 88,9%. The XOS present in the hydrolyzate were quantified and characterized by the degree of polymerization. The results showed that for Granbio energy cane bagasse, the optimized condition (190°C, 15 min, 0 [H₂SO₄]) generated 8,6 g L⁻¹ of XOS, whereas for the energy cane variety of Vignis, the optimized condition (210°C, 5 min, 0 [H₂SO₄]) generated 11,6 g L⁻¹ of XOS. Due to the presence of inhibitors in the hydrolyzate, purification steps may be required, depending on the intended application of the product. With the data obtained in this study, it is possible to conclude that sequential pretreatment is a suitable option to produce XOS from energy cane.

Keywords: energy-cane, deacetylation (alkaline), hydrothermal, xylooligosaccharides.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Estrutura da cana-de-açúcar: a parte aérea é composta por folhas, pontas e colmos, enquanto a parte subterrânea é composta de rizomas e raízes. Fonte: adaptado de (STUBBS, 1900)......21

Figura 3.5 – Álcoois precursores das ligninas: (I) p-cumarílico, (II) coniferílico e (III) sinapílico e seus monômeros: (H) p-hidroxifenila, (G) guaiacila e (S) siringila.......26

Figura 3.6 – Ação do pré-tratamento em materiais lignocelulósicos. Fonte: adaptado de (MOSIER et al., 2005)......27

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Composição química do bagaço de cana-energia
Tabela 3.2 – Vantagens e desvantagens de algumas técnicas de obtenção de XOS. 32
Tabela 4.1 – Planejamento experimental para os estudos de desacetilação alcalina. 38
Tabela 4.2 – Estudo inicial de pré-tratamento para produção de XOS utilizando o bagaço de cana-energia G
Tabela 4.3 – Estudo das condições operacionais do pré-tratamento hidrotérmico paraprodução de XOS utilizando o bagaço de cana-energia V40
Tabela 5.1 – Composição da cana-energia da G e V, utilizada neste trabalho, e outras duas variedades de cana-energia descritas na literatura49
Tabela 5.2 – Composição química das biomassas G e V após etapa de desacetilação alcalina
Tabela A.1. 1 – Valores correspondentes da remoção de grupos acetila, solubilização de hemiceluloses e lignina do bagaço de cana-energia G (Vertix 2 – 121744) após o processo de desacetilação80
Tabela A.1. 2 – Valores correspondentes da remoção de grupos acetila, solubilização de hemiceluloses e lignina da variedade de cana-energia V (VG11-26) após o processo de desacetilação
Tabela A.2. 1 – Composição dos hidrolisados em relação à xilana quantificada via HPLC para a variedade de cana-energia G (Vertix 2 – 121744)84
Tabela A.2. 2 – Composição dos hidrolisados em relação à xilana quantificada via HPLC para a variedade de cana-energia V (VG11-26)85

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	17
2.	OBJETIVOS	20
	2.1 OBJETIVO GERAL	20
	2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
	3.1 A CANA-ENERGIA	21
4	3.2 ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DA PAREDE CELULAR VEGETAL	23
	3.2.1. Celulose	24
	3.2.2. Hemiceluloses	24
	3.2.3. Lignina	25
	3.2.4. Materiais não-estruturais: Extrativos e Cinzas	26
	3.3 PRÉ-TRATAMENTO DA BIOMASSA	27
	3.3.1 Fator de severidade	
	3.3.1.1 Fator de severidade combinado	
	3.4 BIORREFINARIAS	30
	3.5 PRODUÇÃO DE XOS A PARTIR DAS HEMICELULOSES	31
4.	METODOLOGIA EXPERIMENTAL	36
4	4.1. PREPARAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	
4	4.2. DESACETILAÇÃO ALCALINA	
4	4.3. PRÉ-TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DO MATERIAL DESACETILA	DO
I	PARA PRODUÇÃO DE XOS	
	4.3.1. Fator de severidade combinado	40
4	4.4. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA BIOMASSA	40
	4.4.1. Determinação do teor de umidade da biomassa	41
	4.4.2. Determinação de cinzas totais na biomassa	41
	4.4.3. Determinação de extrativos da biomassa	42
	4.4.4. Determinação de carboidratos, ácidos, lignina total, furfural e 5-	
	hidroximetilfurfural na biomassa	42
	4.4.4.1. Hidrólise do material com ácido sulfúrico	43

۷	1.4.4.2. Determinação de lignina solúvel	43			
4	1.4.4.3. Determinação de lignina insolúvel	44			
Z	1.4.4.4. Determinação de carboidratos e ácidos orgânicos	45			
4	1.4.4.5. Determinação de furfural e 5-hidroximetilfurfural	46			
4.5.	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO HIDROLISADO	47			
4.6.	IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS XOS POR HPLC-DAP	47			
5. RE	SULTADOS E DISCUSSÃO	49			
5.1.	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA CANA-ENERGIA G E V	49			
5.2.	DESACETILAÇÃO ALCALINA	50			
5.3.	PRÉ-TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DAS BIOMASSAS				
DESA	ACETILADAS	54			
5.4.	IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE XOS	60			
6. CC	NCLUSÃO	69			
SUGES	TÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	71			
7. RE	FERÊNCIAS	72			
8. AN	. ANEXOS				

1. INTRODUÇÃO

Energia é um elemento fundamental para o desenvolvimento e bem-estar da sociedade. Com a expansão urbana-industrial e o crescimento populacional, houve um aumento exponencial na demanda das matrizes energéticas disponíveis. Apesar dos avanços tecnológicos, o modelo energético de países industrializados e em desenvolvimento tem como principal recurso o petróleo, carvão e gás natural, todos considerados fontes poluentes e não renováveis (ÖZKALE et al., 2017).

Previsões recentes de agências internacionais apontam que os combustíveis fósseis permanecerão como fonte dominante de energia por, pelo menos, até 2035, garantindo o incremento de suprimento de energia para suportar metade do crescimento da demanda mundial (CHAMBRIARD, 2017). Entretanto, a crise energética mundial é a resposta à insuficiência progressiva dos recursos não renováveis e legislações cada vez mais rígidas para a redução das emissões de carbono (COMMONER, 1976).

Para enfrentar este novo cenário, a busca por fontes alternativas na matriz energética e por combustíveis mais limpos é cada vez maior (ELLABBAN; ABU-RUB; BLAABJERG, 2014). Países como Estados Unidos, China e Alemanha investem cada vez mais em pesquisas para tornar mais eficiente a captação e a distribuição de energia solar e eólica. Já o Brasil apresenta uma matriz energética diversificada, tendo quase metade dela proporcionada por fontes renováveis, como a hidrelétrica e os biocombustíveis (FERRAZ; CODICEIRA, 2017).

Os investimentos em produção de biocombustíveis a partir da cana-deaçúcar e na construção de usinas hidrelétricas trazem o Brasil para um patamar de um dos países com matriz energética mais limpa do mundo. Além disso, a integração do uso de biomassa vegetal pode fazer com que o país alcance em 2050 uma matriz energética 100% renovável (GREENPEACE, 2016).

A conversão industrial sustentável de biomassa em biocombustíveis e produtos com alto valor agregado ainda necessita de uma reestruturação econômica baseando-se em novos métodos de pesquisa e desenvolvimento (PERVAIZ; CORREA, 2009). Novas tecnologias para biorrefinarias, que envolvem processos de conversão integrada de biomassas para a produção de combustíveis, energia e produtos químicos, vem sendo difundidas (MAITY, 2015).

As biomassas podem ser classificadas basicamente em vegetais lenhosos e não lenhosos, além dos resíduos orgânicos. A biomassa vegetal inclui resíduos agrícolas e florestais, gramíneas, culturas lenhosas, dentre outros. São compostas basicamente por celulose, hemiceluloses, lignina, além de outros compostos minoritários, sendo considerada a única, entre os recursos renováveis, com capacidade de ser convertida em combustíveis, produtos químicos e energia (U.S. DOE, 2012). Entretanto, muitas dessas biomassas são frequentemente eliminadas como resíduos e queimadas sem aproveitamento energético do material (DAWSON; BOOPATHY, 2007; SAHA; LIU; SLININGER, 2008; SUHARDI et al., 2013).

Em alguns países como Brasil e China, a cana-de-açúcar é uma das culturas mais eficientes na fixação da energia solar em energia química (açúcares) para obtenção de biocombustíveis (TEW; COBILL, 2008). Dispondo dessa característica, a cana-energia foi desenvolvida para contribuir com o sustento econômico da indústria canavieira (SUHARDI et al., 2013). Com um maior teor de fibras e menor teor de sacarose em relação a cana-de-açúcar convencional, a cana-energia é uma fonte promissora para a produção de etanol celulósico e co-geração de energia, pois gera grandes quantidades de biomassa que podem ser facilmente transportadas até as biorrefinarias. Além disso, o fato do seu cultivo poder ser realizado em solos de baixa fertilidade e com pouca disponibilidade de água, faz com que as áreas destinadas às culturas alimentares não sejam afetadas (COBILL, 2007).

A produção de biocombustíveis e outros produtos de valor agregado a partir de fontes lignocelulósicas como o bagaço de cana-de-açúcar ou cana-energia requer etapas de pré-tratamento para reduzir a cristalinidade e recalcitrância de polissacarídeos e separar a lignina e hemiceluloses da celulose (KUO; LEE, 2009; MARTÍNEZ et al., 2005). Entretanto, o produto de interesse é que definirá o tipo de pré-tratamento e estratégias que devem ser adotadas para o processo de conversão (FITZPATRICK et al., 2010).

O aproveitamento das hemiceluloses é um exemplo de processo que pode sofrer variações de acordo com a severidade do pré-tratamento escolhido. Tratamentos de baixa severidade são vantajosos para a produção de oligômeros de xilose (xilooligossacarídeos), moléculas com amplo potencial na indústria farmacêutica e alimentícia. Já os tratamentos de alta severidade (altas temperaturas, longos tempos e presença de catalisadores) apresentam baixos rendimentos para produção destes oligômeros e altos rendimentos para a xilose, monômero de açúcar que pode ser metabolizado por alguns microrganismos para produção de álcoois, ácidos carboxílicos e aldeídos (MOURE et al., 2006; NABARLATZ et al., 2007; TUOHY et al., 2003).

Os xilooligossacarídeos (XOS) são constituídos principalmente por unidades de xilose e podem apresentar atividades prebióticas, favorecendo a melhora nas funções intestinais, ação imunológica, antimicrobiana, antioxidante e outros benefícios à saúde (SAMANTA et al., 2015). Os XOS possuem um alto valor de mercado quando comparado aos outros produtos que podem ser obtidos dos materiais lignocelulósicos, tais como etanol, nanocelulose e até mesmo energia elétrica (CHEN et al., 2014a).

Desta forma, o presente trabalho explora pela primeira vez a estratégia de desacetilação seguida por pré-tratamento hidrotérmico de duas variedades de canaenergia, a fim de maximizar a conversão das hemiceluloses em XOS. Parâmetros de processos foram estudados, balanços de massa foram realizados e os oligômeros gerados foram caracterizados quanto ao grau de polimerização.

Esse trabalho está inserido no projeto de pesquisa temático da FAPESP (Processo: 15/50612-8): "An integrated approach to explore a novel paradigm for biofuel production from lignocellulosic feedstocks".

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar condições operacionais para maximizar a produção de xilooligossacarídeos (XOS) utilizando duas variedades de cana-energia por meio de pré-tratamentos combinados (desacetilação seguida por pré-tratamento hidrotérmico).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Como objetivos específicos temos:

- Estudar, em escala laboratorial, parâmetros de processo como tempo, temperatura e concentração de hidróxido de sódio visando maximizar a remoção de grupos acetila das hemiceluloses para as duas variedades de cana-energia;
- Utilizando o material desacetilado obtido na melhor condição operacional (referente ao objetivo específico i), estudar, em escala laboratorial, parâmetros de processo como tempo, temperatura e concentração de ácido sulfúrico visando maximizar a produção dos XOS, utilizando as duas variedades de cana-energia;
- iii. Avaliar as melhores condições de processo em termos de seletividade, rendimento e perdas dos produtos de interesse, considerando cada uma das etapas de processo e biomassas empregadas;
- iv. Caracterizar e quantificar os XOS obtidos após a etapa de pré-tratamento combinado por meio de técnicas cromatográficas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A CANA-ENERGIA

A cana-de-açúcar é uma gramínea da família *Poaceae*, pertencente ao gênero *Saccharum* utilizada principalmente para a produção de açúcar e etanol. A planta foi introduzida no Brasil no início do século XVI, sendo encontrada principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do país (ROSILLO-CALLE; BAJAY; ROTHMAN, 2005). A maior parte da cana-de-açúcar cultivada nos dias de hoje é resultado do cruzamento genético das espécies do gênero *Saccharum*, denominada por *Saccharum spp*. (ALMEIDA; ROCHELLE; CROCOMO, 1995). A cana é constituída por raízes e rizomas que compõem a parte subterrânea da planta, enquanto o colmo, as folhas e flores estão presentes na parte aérea (Figura 3.1).



Figura 3.1 – Estrutura da cana-de-açúcar: a parte aérea é composta por folhas, pontas e colmos, enquanto a parte subterrânea é composta de rizomas e raízes. Fonte: adaptado de (STUBBS, 1900).

O colmo da cana-de-açúcar constitui um sistema de duas fases: sólida e líquida. A parte sólida conhecida como fibra é composta basicamente por celulose, hemiceluloses e lignina, enquanto a parte líquida (caldo), geralmente contém uma

grande variedade de substâncias orgânicas, entre as quais, aproximadamente 90% de sacarose (AUDE, 1993).

A cana-energia é um híbrido da cana-de-açúcar comercial e a cana-deaçúcar selvagem, buscando alcançar altos teores de fibras e baixos teores de sacarose. Assim, a cana-energia se difere da cana-de-açúcar comercial por possuir aproximadamente o dobro de conteúdo de fibra e menores níveis de sólidos solúveis totais (°Brix) (CARVALHO-NETTO et al., 2014; DOS SANTOS et al., 2016; KIM; DAY, 2011; SHIELDS; BOOPATHY, 2011).

Com maior teor de fibra, maior vigor e rusticidade, a cana-energia apresenta vantagens econômicas e ambientais porque seu cultivo não exige um solo, clima, água e nutrientes ideais como as variedades comerciais. A cana-energia se apresenta mais resistente a pragas e doenças, bem como maior capacidade competitiva contra ervas daninhas. Todos estes fatores resultam em maior eficiência no cultivo, sendo este um parâmetro essencial para escolha das opções energéticas a serem consideradas com o objetivo de preservação e sustentabilidade ambiental (GONZALEZ-HERNANDEZ et al., 2011; HILL et al., 2006; JOHNSON M.D.; GESCH, R.; JARADAT, A., MITCHELL, R.; REICOSKY, D.; WILHELM, W.W., 2007).

A cana-energia também apresenta a vantagem de produzir mais talos, o que permite maior índice de multiplicação,1:30 ou mais, ou seja, a cada hectare de cana-energia, é possível gerar cana-energia suficiente para plantar em 30 hectares, contra a taxa comum de cultivares de cana-de-açúcar comerciais que é de 1:10 (CARVALHO-NETTO et al., 2014).

A composição química da fração sólida de algumas variedades de canaenergia (Tabela 3.1) é comparável com cultivares de cana-de-açúcar comercial, que apresentam entre 40-43% de celulose, 20-24% de hemiceluloses e 24-27% de lignina (AGUILAR et al., 2002; RABELO; FILHO; COSTA, 2009; RUDOLF et al., 2008; TYLER B. MARK, 2009; ZAPATA, 2007).

Componente	(QIU; AITA; WALKER, 2012)	(AITA; SALVI; WALKER, 2011)	(KIM; DAY, 2011)
Celulose	40,87±0,22%	45,53±0,39%	43,3%
Hemiceluloses	22,35±0,15%	27,40±0,52%	23,8%
Lignina	24,81±0,14%	24,95±0,43%	21,7%
Outros	2,93±0,05%	2,12±0,06%	0,8%

Tabela 3.1 – Composição química do bagaço de cana-energia.

3.2 ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DA PAREDE CELULAR VEGETAL

A parede celular vegetal é uma estrutura lignocelulósica constituída por três principais compostos orgânicos: celulose, hemiceluloses e lignina (Figura 3.2), que não são distribuídos uniformemente. A estrutura e quantidade desses componentes variam de acordo com a espécie, tecido e maturidade da parede celular vegetal (ISIKGOR; BECER, 2015).



Figura 3.2 – Estrutura da parede celular vegetal e seus principais componentes. Fonte: adaptado de (ISIKGOR; BECER, 2015).

3.2.1. Celulose

A celulose é um homopolissacarídeo linear composto por unidades de Dglicose unidas por ligações do tipo β -1,4-glicosídicas (Figura 3.3), através da eliminação de uma molécula de água, duas unidades adjacentes formam um dímero de glicose também conhecido por celobiose, que é a unidade mínima da celulose (FENGEL; WEGENER, 1989).



Figura 3.3 – Representação esquemática da estrutura de um fragmento de celulose. Fonte: adaptado de (KLEMM et al., 1998).

A celulose é representada pela fórmula química $(C_6H_{10}O_5)_n$; sendo n, o grau de polimerização (DP), que é o número de grupos de glicose, que pode variar de centenas a milhares (CHEN, 2014).

Esse polissacarídeo é o principal constituinte da parede celular vegetal, sendo disposto de forma variável, possuindo estruturas cristalinas, que são partes organizadas e impermeáveis, e estruturas amorfas, constituídas por partes não tão bem organizadas e permeáveis (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). Tais estruturas encontram-se entrelaçadas como resultado de ligações de hidrogênio entre moléculas de glicose, apresentando fibras compactas e resistentes à degradação (ARANTES; SADDLER, 2010; SANTOS et al., 2012; ZHANG, 2008).

3.2.2. Hemiceluloses

As hemiceluloses são heteropolissacarídeos complexos, compostos por monômeros como glicose, manose, galactose, ramnose e no caso das gramíneas, principalmente por xilose e arabinose (CASSALES et al., 2011; ZHENG; PAN; ZHANG, 2009).

Devido a sua natureza não cristalina, as hemiceluloses são mais susceptíveis à despolimerização do que a celulose (especialmente em condições

ácidas), podendo ser facilmente decompostas em monômeros, um aspecto de seu comportamento que é explorado por muitas estratégias de desconstrução (ASHTER, 2017; BRANDT et al., 2013).

A xilana é o principal polissacarídeo das hemiceluloses, sendo que em sua cadeia pode haver ramificações com diferentes grupos funcionais ligados. Além da xilose, pode-se encontrar ácidos urônicos, arabinose, grupos acetila, ácido ferúlico e p-cumárico (Figura 3.4).



Figura 3.4 – Representação estrutural geral da xilana da parede celular vegetal. (Dependendo da fonte, podem não possuir todas as ligações mostradas). Fonte: adaptado de (DODD; CANN, 2009).

As xilanas estão dispostas de forma linear e são unidas por ligações β-1,4glicosídicas. O grau de polimerização das hemiceluloses em gramíneas é inferior a 100, bem menor em relação à celulose (CHEN, 2014).

3.2.3. Lignina

A lignina é uma macromolécula fenólica de estrutura tridimensional que está presente na parede celular das plantas. Fornece rigidez à parede das células, auxiliando no transporte de líquidos, nutrientes e metabólitos, além de ser uma barreira contra o ataque de microrganismos (ASHTER, 2017; FENGEL; WEGENER, 1989).

Esse polímero tem uma natureza química altamente complexa e sua estrutura depende dos seus derivados, que diferentemente de outros polímeros são

álcoois aromáticos: coniferílico, sinapílico e p-cumarílico, (Figura 3.5) dando origem aos monômeros guaiacila (G), siringila (S) e p-hidroxifenila (H), respectivamente (ASHTER, 2017; CHEN, 2014).



Figura 3.5 – Álcoois precursores das ligninas: (I) p-cumarílico, (II) coniferílico e (III) sinapílico e seus monômeros: (H) p-hidroxifenila, (G) guaiacila e (S) siringila.

A composição da lignina varia dependendo da família a qual a planta pertence. Em gramíneas, a lignina incorpora proporções similares de G, S e H, enquanto em gimnospermas, predomina o tipo G e angiospermas predomina os tipos G e S (BAUCHER et al., 2003; HIGUCHI, 2006).

3.2.4. Materiais não-estruturais: Extrativos e Cinzas

Materiais não-estruturais compreendem uma variedade de substâncias químicas que não fazem parte da parede celular, porém estão presentes na biomassa lignocelulósica e são responsáveis por determinadas características das plantas como cor, cheiro, sabor, resistência natural ao apodrecimento e propriedades abrasivas. As frações extraíveis (compostos solúveis em solventes neutros) são representadas por terpenos, resinas e fenóis, podendo incluir carboidratos de baixo peso molecular, alcaloides e lignina solúvel (KLINKE; THOMSEN; AHRING, 2004). Já as frações não

extraíveis (cinzas), são resíduos inorgânicos resultantes da queima da biomassa a altas temperaturas, dentre eles, carbonatos alcalinos, alcalino-terrosos e oxalatos. Sua ocorrência varia de acordo com a espécie vegetal, idade, condições de crescimento, entre outros aspectos (KLASS, 1998).

3.3 PRÉ-TRATAMENTO DA BIOMASSA

O pré-tratamento é uma das etapas operacionais mais relevantes e custosas envolvidas na produção do etanol a partir da biomassa lignocelulósica (CAPOLUPO; FARACO, 2016). O principal objetivo desta etapa é promover uma modificação físico-química no material e solubilizar parte dos componentes da biomassa, diminuindo a sua recalcitrância. A redução da cristalinidade da celulose, solubilização das hemiceluloses e separação da matriz de lignina/carboidratos facilitam as etapas subsequentes dos processos (ALVIRA et al., 2010) (Figura 3.6).



Figura 3.6 – Ação do pré-tratamento em materiais lignocelulósicos. Fonte: adaptado de (MOSIER et al., 2005).

Diferentes tipos de pré-tratamento, incluindo biológicos, físicos e químicos ou ainda uma combinação entre eles, têm sido sugeridos nos últimos anos (GUPTA; VERMA, 2015). Entretanto, a escolha do pré-tratamento mais adequado para cada processo envolve muitas variáveis, tais como a natureza da biomassa, produtos desejados e aplicação dos mesmos, custos e impacto ambiental. Existem outros fatores que também precisam ser considerados: manutenção dos equipamentos, possibilidade de usar altas concentrações de sólidos, minimizar a degradação dos açúcares em compostos tóxicos, recuperação da lignina e consumo energético (ALVIRA et al., 2010; KUMAR et al., 2009).

Os pré-tratamentos químicos e físico-químicos são os mais utilizados por promoverem um aumento da área superficial da biomassa por meio da redução do tamanho de partícula e do grau de cristalinidade da celulose ou provocando desfibrilação da mesma. As tecnologias para esses tipos de pré-tratamento incluem explosão a vapor (catalisado ou não), hidrotérmico, ácidos diluídos, álcalis, liquídos iônicos ou solventes orgânicos, que promovem modificações químicas e estruturais na parede celular vegetal (ALVIRA et al., 2010; GUPTA; VERMA, 2015; PEDRAZA et al., 2014; DA SILVA et al., 2010).

A Figura 3.7 apresenta as principais rotas de decomposição dos macrocomponentes das biomassas lignocelulósicas.



Figura 3.7 – Principais rotas de formação de inibidores de processos de fermentação. Decomposição de lignina gerando compostos fenólicos, enquanto derivados furânicos e ácidos alifáticos são formados como resultado da degradação de carboidratos da hidrólise da celulose e hemiceluloses. Fonte: adaptado de (DOS SANTOS et al., 2016). Apenas alguns tipos de pré-tratamento são considerados eficientes e ao mesmo tempo economicamente viáveis, incluindo explosão a vapor, hidrotérmico e ácido diluído. Entretanto, os três métodos apresentam algumas desvantagens e limitações, tais como a baixa eficiência na remoção de lignina e diminuição da cristalinidade da celulose (GUPTA; VERMA, 2015). Desta forma, é necessário desenvolver novas tecnologias de pré-tratamentos robustas para gerar separadas correntes de interesse ricas em celulose, hemiceluloses e lignina que serão convertidas em produtos de valor agregado. Além disso, as novas tecnologias precisam proporcionar para as biorrefinarias uma redução dos custos de investimento e manutenção das unidades operacionais.

3.3.1 Fator de severidade

O fator de severidade é um parâmetro muito utilizado para comparar diferentes condições de pré-tratamentos, tendo como objetivo simplificar a interpretação dos dados através do efeito combinado entre os parâmetros temperatura e tempo como descrito por OVEREND; CHORNET; GASCOIGNE, (1987) pela equação 3.1:

$$R_0 = \int_a^b \exp^{\left(\frac{T(t)-100}{\omega}\right)} dt$$
(3.1)

Aplicando o logaritmo na função, temos a equação 3.2:

$$log(R_0) = t.\left(\frac{T(t) - 100}{14.75}\right)$$
(3.2)

onde t é o tempo de residência (min), T(t) é a temperatura do pré-tratamento (°C), 100 é o valor da temperatura de referência (temperatura considerada para iniciar a reação) e ω, uma constante arbitrária que equivale a 14,75.

3.3.1.1 Fator de severidade combinado

Para os pré-tratamentos realizados na presença de catalisador ácido, a equação utilizada para calcular o fator de severidade deve ser ajustada de acordo com o valor final do pH do hidrolisado. O resultado desse novo cálculo é denominado por fator de severidade combinado, e é determinado pela equação 3.3:

$$R'_0 = R_0 [H^+] = R_0 - pH$$
(3.3)

Aplicando o logaritmo na função, temos a equação 3.4:

$$\log(R'_0) = \log(R_0) - pH$$
(3.4)

Esse ajuste deve ser feito pois a reação não atinge toda a biomassa de forma igual (ABATZOGLOU et al., 1992; CHUM et al., 1990).

3.4 BIORREFINARIAS

O conceito de biorrefinarias, análogo às refinarias de petróleo, vem da capacidade de produzir diferentes produtos com base em diferentes biomassas (Figura 3.8).



Figura 3.8 – Diagrama do conceito de biorrefinaria e refinaria mostrando o potencial de valor agregado dos produtos.

Uma biorrefinaria pode ser considerada, de uma forma geral, uma planta industrial de processamento que, ao utilizar biomassa lignocelulósica como insumo e ter seus processos e equipamentos altamente integrados, produz uma gama de produtos de maior valor agregado, como combustíveis, energia e produtos químicos (CHERUBINI, 2010). As biorrefinarias podem ser classificadas de acordo com o tipo de plataforma utilizada, os tipos de produtos a serem produzidos, a matéria-prima e processos de conversão (ALVIM et al., 2014).

As matérias-primas que podem ser processadas em uma biorrefinaria são divididas em quatro categorias de acordo com a sua natureza química: fontes amiláceas e sacarinas (milho, trigo, aveia e cana-de-açúcar, sorgo, beterraba), fontes triglicerídicas (mamona, macaúba, óleo de microalgas), fontes lignocelulósicas (palhas e bagaços de diferentes biomassas vegetais e gramíneas) e biomassa aquática (microalgas) (ALVIM et al., 2014; MAITY, 2015). Fazer o uso dessas diferentes fontes alternativas para produção de energia e vários produtos de maneira sustentável é requisito obrigatório para conseguir manter as demandas atuais da humanidade e diminuir a emissão de gases do efeito estufa na atmosfera (AMIDON; LIU, 2009; PARIS; TAVARES CARDOSO; FONSECA, 2015).

3.5 PRODUÇÃO DE XOS A PARTIR DAS HEMICELULOSES

A fração hemicelulósica, que pode ser extraída de materiais lignocelulósicos, contém uma gama de moléculas que podem ser convertidas a diferentes produtos (RAMBO; SCHMIDT; FERREIRA, 2015). Destacam-se a obtenção de xilose, que pode ser utilizada para produção de etanol e xilitol, por exemplo; furfural que pode ser utilizado como intermediário químico para uma gama de produtos, ácido acético, xilooligossacarídeos (XOS), dentre outras moléculas (KAUR; NI, 2015; MANDELLI et al., 2014; VENKATESWAR RAO et al., 2015).

Industrialmente, os XOS são obtidos a partir de biomassas lignocelulósicas através da hidrólise ácida do material, seguida por etapas de purificação (QUIÑONES et al., 2015; SAMANTA et al., 2015). A Tabela 3.2 resume algumas técnicas de obtenção de XOS com suas principais vantagens e desvantagens.

Método	Matérias-primas	Vantagens	Desvantagens	Referência
Alcalino	Bagaço de cana- de-açúcar	Baixa degradação das hemiceluloses e celulose; alta remoção da lignina e grupos acetila presentes na xilana	Consumo de reagentes; requer etapa adicional para produzir XOS	(NASCIMENTO et al., 2016)
Autohidrólise/ hidrotérmico	Bagaço de cana- de-açúcar	Não requer adição de catalisador (ácido acético gerado durante a clivagem do grupo acetila atua como catalisador)	O hidrolisado contém alto teor de lignina solúvel, xilose, furfural e hidroximetilfurfural; XOS com alto grau de polimerização	(CARVALHEIRO et al., 2016; NAKASU et al., 2017)
Hidrólise ácida	Sabugo de milho	Alta solubilização das hemiceluloses, gerando altas concentrações de açúcares monoméricos; fração sólida com alto teor de celulose e lignina	Corrosão dos equipamentos; gasto de energia para recuperação dos ácidos empregados; clivagem aleatória dos XOS	(LIN et al., 2017)
Hidrólise enzimática	Sabugo de milho	Alto grau de especificidade; condições reacionais brandas; baixo consumo de energia; não gera produtos de degradação	Baixos rendimentos em materiais não tratados; custo elevado das enzimas; alto controle da reação para evitar formação de xilose	(CHANG et al., 2017)
Explosão a vapor	Palha de arroz	Transformação da lignina; solubilização das hemiceluloses	Geração de compostos inibitórios; degradação parcial das hemiceluloses; ruptura incompleta da matriz lignina- carboidrato	(ADITIYA et al., 2016; SHARMA et al., 2015)

Tabela 3.2 – Vantagens e desvantagens de algumas técnicas de obtenção de XOS.

Dentre os fatores que podem prejudicar os altos rendimentos de XOS a partir das hemiceluloses, empregando tratamentos não enzimáticos, está a presença de grupos acetila ligados às cadeias das xilanas.

Durante a etapa de pré-tratamento da biomassa, os grupos acetila podem ser liberados na forma de íon acetato (em solução aquosa, ácido acético). Dependendo da concentração no meio reacional, o ácido acético pode atuar como catalisador e degradar os polissacarídeos a produtos de degradação (CHANG; HOLTZAPPLE, 2000; GARROTE; DOMINGUEZ; PARAJO, 2001). Desta forma, realizar a desacetilação do material antes do pré-tratamento é essencial para alcançar altos rendimentos de açúcares e XOS (CASTRO et al., 2017).

Existem alguns trabalhos na literatura que relatam o emprego de tratamentos brandos para palha de trigo, árvore-das-tulipas (*Liriodendron tulipifera*), farelo de milho, capim (*Saccharum spontaneum*) antes do pré-tratamento com o objetivo de remover os grupos acetila e solubilizar parcialmente a lignina no licor alcalino (CHAUDHARY; SINGH; GHOSH, 2012; CHEN et al., 2014b; CHO et al., 2010; SHEKIRO et al., 2014). No entanto, esses trabalhos tinham como foco avaliar o efeito da desacetilação na solubilização das frações polissacarídeas ou na remoção deste ácido para minimizar os efeitos fermentativos.

Dentro do âmbito do conceito apresentado, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a produção de XOS (Figura 3.9) a partir de duas variedades de canaenergia, empregando processos de pré-tratamento sequencial: desacetilação seguida por pré-tratamento hidrotérmico.



Figura 3.9 – Estrutura representativa da xilana e XOS provenientes de materiais lignocelulósicos.

De acordo com o temático da FAPESP (Processo: 15/50612-8): "An integrated approach to explore a novel paradigm for biofuel production from lignocellulosic feedstocks", leveduras serão modificadas para ter capacidade de converter oligossacarídeos em bioprodutos. Assim, os XOS serão produzidos a partir de hidrolisados hemicelulósicos visando aumentar a eficiência energética das matérias-primas nas usinas de conversão de lignocelulose, com objetivo de alcançar relevante impacto econômico-ambiental em setores industriais onde as matérias-primas se originaram.

Em 1990 OKAZAKI; FUJIKAWA e MATSUMOTO realizaram testes (*in vivo*) para analisar os efeitos dos XOS no intestino de humanos e concluíram que quando ingerido 1g por dia, bactérias intestinais cresciam seletivamente. Em 1995, GIBSON e ROBERFROID definiram o termo prebiótico, como sendo "um ingrediente alimentar não digerível que afeta beneficamente o hospedeiro, estimulando seletivamente o crescimento e/ou atividade de um ou de um número limitado de bactérias no intestino e, assim, melhora a saúde do hospedeiro". Com essa definição, muitos trabalhos surgiram afirmando que XOS eram prebióticos.

Em 2004, GIBSON et al. concluíram que não existiam evidências suficientes para considerar XOS como prebióticos. Porém GULLÓN et al., (2008) apresentaram estudos de XOS com DP < 4 sendo particularmente interessantes para aplicações prebióticas. Estudos mais recentes indicam aumento da atenção direcionada aos XOS como potenciais prebióticos (RASTALL; GIBSON, 2015).

Em dezembro de 2016 um grupo de especialistas em microbiologia, nutrição e pesquisa clínica foi convocado pela Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos para revisar a definição e aplicação dos prebióticos. A definição atualizada diz que o prebiótico é um substrato utilizado seletivamente por microrganismos hospedeiros que oferecem um benefício para a saúde, com tal definição é possível expandir o conceito para incluir substâncias não-carboidratos, aplicações em locais do corpo diferentes do trato gastrointestinal e diversas categorias diferentes dos alimentos (GIBSON et al., 2017).

É importante destacar que para produção de XOS a etapa de purificação da xilana extraída torna-se fundamental, o que implica em uma cuidadosa seleção de tecnologias empregadas em sua produção (RASTALL, 2010). O hidrolisado deve passar por uma etapa de purificação para remover monossacarídeos e outros compostos indesejáveis com a finalidade de obter a maior quantidade de XOS com o grau de polimerização necessário e sua utilização é classificada comercialmente viável quando sua pureza está entre 75 e 95% (AACHARY; PRAPULLA, 2011).

Existem vários métodos de purificação como por exemplo: precipitação com etanol, carvão ativado, coluna cromatográfica, via enzimática, ultrafiltração, utilização de resinas poliméricas, dentre outros e a escolha de qual método utilizar é feita com a finalidade de se obter alta eficiência, baixo custo, economia de energia e ser ambientalmente favorável (BURUIANĂ; VIZIREANU, 2014).

4. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Neste capítulo são apresentadas as metodologias empregadas para o desenvolvimento deste trabalho. Os experimentos foram divididos em etapas conforme apresentado na Figura 4.1.



Figura 4.1 – Fluxograma simplificado das atividades do projeto.

4.1. PREPARAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Biomassas de cana-energia previamente extraídas e moídas utilizadas nos experimentos foram gentilmente cedidas pelas empresas GranBio e Vignis, ambas localizadas em Campinas, São Paulo.

O material fornecido pela empresa GranBio, variedade Vertix 2 – VX 121744 (Figura 4.2), foi coletado na cidade de Cerqueira César, São Paulo, composto
por aproximadamente 2,5 kg de bagaço de cana-energia e estava armazenado na forma congelada para evitar proliferação de microrganismos. O material foi descongelado, seco em temperatura ambiente até atingir umidade relativa em torno de 10% (m/m) e armazenado em sacos plásticos para posterior caracterização e pré-tratamento (Bagaço G).



Figura 4.2 – Bagaço G – Vertix 2–121744.

O material fornecido pela empresa Vignis, variedade VG11-26, foi coletado na cidade de São Pedro, São Paulo. O material, composto por aproximadamente 10 kg de bagaço de cana-energia integral (ponteiro, palha, colmo) úmido (Figura 4.3), foi seco em temperatura ambiente até atingir umidade relativa em torno de 10% (m/m) e armazenado em sacos plásticos para posterior caracterização química e pré-tratamento (Biomassa V).



Figura 4.3 – Biomassa V – VG11-26.

4.2. DESACETILAÇÃO ALCALINA

Com o objetivo de extrair os grupos acetila presentes nas hemiceluloses, uma etapa de desacetilação alcalina foi estudada utilizando as duas biomassas de cana-energia (G e V). Um estudo cinético foi realizado por meio de um planejamento experimental 2², com triplicata no ponto central, conforme apresentado na Tabela 4.1. Ensaios foram realizados nos tempos de 15, 30, 45 e 60 min, para cada uma das condições operacionais estabelecidas.

Fatores	Níveis			
	-1	0	+1	
Temperatura (°C)	40	60	80	
NaOH (mg/g _{bagaço})	60	80	100	

Tabela 4.1 – Planejamento experimental para os estudos de desacetilação alcalina.

Os tratamentos foram realizados em frascos Schott de 1 L contendo 30 g (massa seca) de bagaço e concentração sólido:líquido de 10% (m/m). As misturas foram homogeneizadas e os frascos contendo a solução, na concentração apropriada, fechados e colocados em banho-maria na temperatura do ensaio. Após os tempos estipulados, os frascos foram imediatamente imersos em um banho de gelo para cessar a reação.

Após o completo resfriamento, o pH da mistura foi medido e as frações sólidas e líquidas separadas utilizando filtros de tecido. Os sólidos recuperados em cada condição foram lavados com água corrente até atingir pH neutro, centrifugados e secos em temperatura ambiente até atingir cerca de 10% de umidade e armazenados em sacos plásticos para posterior caracterização química.

O licor resultante da etapa de desacetilação alcalina, para cada um dos ensaios, foi acidificado com ácido sulfúrico concentrado até pH 2 e centrifugado por 10 minutos a uma rotação de 8000 rpm. O sobrenadante foi armazenado em tubo falcon e mantido sob refrigeração para posterior análise de HPLC. O precipitado foi lavado exaustivamente com água destilada até atingir pH neutro e utilizado para determinar o conteúdo de lignina insolúvel.

Com os dados obtidos das análises gravimétricas e de composição, balanços de massa foram realizados para seleção da melhor condição de

desacetilação. A seleção foi realizada baseada na eficiência de remoção dos grupos acetila e menores perdas de hemiceluloses.

4.3. PRÉ-TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DO MATERIAL DESACETILADO PARA PRODUÇÃO DE XOS

Com as condições de desacetilação estabelecidas para o bagaço G e biomassa V, maiores quantidades de material desacetilado foram geradas para os estudos de produção de XOS. O procedimento utilizado foi o mesmo descrito no item 4.2.

O material desacetilado foi então utilizado para os estudos de produção de XOS. Para avaliar a necessidade ou não da presença de ácido para produção dos XOS, um estudo inicial, utilizando o bagaço de cana-energia G foi realizado.

Para este estudo, um planejamento fatorial 2³, com triplicata no ponto central, foi elaborado considerando o tempo (min), a temperatura (°C) e a concentração de ácido sulfúrico (%, v/v) como variáveis de processo, conforme descrito na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Estudo inicial de pré-tratamento para produção de XOS utilizando o bagaço de cana-energia G.

Fatores	Níveis			
	-1	0	+1	
Tempo (min)	5	10	15	
Temperatura (°C)	170	180	190	
Ácido sulfúrico (%, v/v)	0	0,2	0,4	

Como o ácido não é tão atraente nesta etapa, por promover a hidrólise das hemiceluloses e também dos XOS produzidos, um novo planejamento foi realizado utilizando a biomassa V. Neste ensaio, foram explorados tempo e temperatura de processos mais elevados, conforme descrito na Tabela 4.3.

Temperatura (ºC)	Tempo (min)				
190	10	15	20	25	30
200	5	10	15	20	
210	5	10	15	20	

Tabela 4.3 – Estudo das condições operacionais do pré-tratamento hidrotérmico para produção de XOS utilizando o bagaço de cana-energia V.

Os pré-tratamentos hidrotérmicos foram realizados em reatores de aço inox com capacidade de 0,5 L. Cerca de 25 g de material pesado em balança analítica foi transferido para o reator juntamente com a solução (água deionizada ou água deionizada com ácido sulfúrico), considerando uma concentração de sólidos no meio de 10% (m/m). Os reatores foram emergidos em banho termostático de glicerina nas condições de cada ensaio. Ao término da reação, o reator foi transferido imediatamente para banho de gelo e, após o resfriamento, as frações obtidas foram separadas utilizando um filtro de tecido. As amostras sólidas obtidas foram lavadas até pH neutro e centrifugadas para retirada do excesso de água. Os materiais foram mantidos a temperatura ambiente até atingir umidade próxima de 10% e armazenados em sacos plásticos para posterior caracterização química. A fração líquida foi armazenada sob refrigeração para posterior quantificação química.

4.3.1. Fator de severidade combinado

O fator de severidade combinado foi utilizado como ferramenta para avaliar o quão severo foi o pré-tratamento empregado na biomassa vegetal de acordo com suas condições pré-definidas. Os cálculos foram baseados no trabalho de OVEREND; CHORNET; GASCOIGNE, (1987), como descrito no item 3.3.1.1. Através dos valores obtidos e análise dos resultados, foi possível delinear condições otimizadas dos pré-tratamentos de acordo com o produto de interesse desejado.

4.4. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA BIOMASSA

A composição química das biomassas in-natura e após cada etapa de prétratamento foi determinada utilizando os procedimentos descritos a seguir.

4.4.1. Determinação do teor de umidade da biomassa

Os teores de umidade das biomassas in-natura e pré-tratadas foram determinados no analisador de umidade por infravermelho GEHAKA[®] - IV2000 utilizando aproximadamente 0,5 g de material previamente homogeneizado e temperatura de 105°C. As análises foram realizadas em triplicata. Com o teor de umidade do material, a quantidade de massa úmida a ser usada nos ensaios experimentais foi determinada de acordo com a equação 4.1:

$$Massa_{\text{úmida (g)}} = \frac{Massa_{\text{seca (g)}} \times 100}{100 - \text{umidad (\%)}}$$
(4.1)

4.4.2. Determinação de cinzas totais na biomassa

O teor de cinzas (inorgânicos) presente na biomassa foi determinado de acordo com o procedimento do NREL (*National Renewable Energy Laboratory*) "Determination of Ash in Biomass" descrito em SLUITER et al., (2008a). Aproximadamente 2,0 g de amostra homogeneizada foram pesadas em cadinhos de porcelana com massa previamente determinada e submetidas à calcinação a 105°C por 18 minutos, 250 °C por 37 minutos e 575 °C por 3 horas e 20 minutos. Os cadinhos foram transferidos para uma estufa a 105°C por 3h e transferidos para um dessecador até atingir temperatura ambiente para serem pesados. O teor de cinzas foi calculado a partir da equação 4.2:

Teor de cinzas (%) =
$$\left(\frac{M_3 - M_1}{M_2}\right) x \ 100$$
 (4.2)

Onde:

M₁: Massa do cadinho de porcelana tarado, em gramas;

M₂: Massa da amostra inicial (base seca), em gramas;

M₃: Massa do cadinho de porcelana + cinzas totais, em gramas.

4.4.3. Determinação de extrativos da biomassa

A determinação de extrativos das amostras de cana-energia foi realizada empregando o sistema de extração acelerada por solvente ASE[®] Dionex 350 (Thermo Scientific, EUA) de acordo com o procedimento do NREL, "Determination of Extractives in Biomass" descrito em SLUITER et al., (2008b). O procedimento tem por finalidade remover material não estrutural da biomassa para quantificação da lignina e dos carboidratos sem a presença de interferentes e quantificar os extrativos para a análise composicional do material. Aproximadamente 3 gramas de material homogeneizado foi transferido para uma membrana de celulose e o conjunto foi colocado no porta-amostra do equipamento. A extração foi realizada com uma mistura de solventes ciclohexano:etanol na proporção de 1:1. A lavagem do material foi feita com água deionizada. Após o término de todo o processo, o material foi pesado, seco a 105°C e pesado novamente. Para o cálculo de extrativos é utilizada a equação 4.3:

$$E_{(\%)} = \frac{(M_1 - M_2)}{M_1} \times 100$$
 (4.3)

Onde:

E: Teor de extrativos da biomassa expresso em %;

M1: Massa da biomassa seca e moída, em gramas;

M₂: Massa da biomassa livre de extrativos (base seca), em gramas.

4.4.4. Determinação de carboidratos, ácidos, lignina total, furfural e 5hidroximetilfurfural na biomassa

As análises seguintes têm como objetivo a determinação de xilose, arabinose, glicose, celobiose, ácido acético, ácido fórmico, ácido levulínico, furfural, 5-hidroximetilfurfural, lignina solúvel e insolúvel. Os procedimentos utilizados seguem a literatura: "Preparation of Samples for Compositional Analysis" (HAMES et al., 2008), "Determination of Sugars, Byproducts and Degradation Products in Liquid Fraction Process Samples (SLUITER et al., 2008c), das normas ASTM (*American Society for Testing and Material*) "Standard Test Method for Determination of Carbohydrates in Biomass by High Performance Liquid Chromatography" (ASTM, 2007), e "Standard Test Method for Determination of Carbohydrates in Biomass by High Performance Liquid Chromatography" (ASTM, 2007), e "Standard Test Method for Determination of Carbohydrates in Biomass by High Performance Liquid Chromatography" (ASTM, 2007), e "Standard Test Method for Determination of Carbohydrates in Biomass by High Performance Liquid Chromatography" (ASTM, 2007), e "Standard Test Method for Determination of Carbohydrates in Biomass by High Performance Liquid Chromatography" (ASTM, 2007), e "Standard Test Method for Determination of Carbohydrates in Biomass" (FUELS, 2011).

4.4.4.1. Hidrólise do material com ácido sulfúrico

Primeiramente as biomassas in-natura ou pré-tratadas (com aproximadamente 10% de umidade) foram moídas no moinho de facas (modelo Pulverisette 19) e no moinho de impacto e cisalhamento (modelo Pulverisette 14) para obter um material com granulometria \leq 0,08 mm. Amostras de 0,3 g, isenta de extrativos moídas e secas, foram pesadas com precisão de 0,1 mg em tubos autoclaváveis de vidro com tampa rosqueável e tratados com 3,0 mL de ácido sulfúrico a 72% (m/m) em um banho termostático a 30°C por 1 h. Em seguida foram adicionados 84 mL de água deionizada e os tubos foram autoclavados a 121ºC por 1 hora. Os frascos foram retirados da autoclave, resfriados em banho de gelo até atingir temperatura ambiente. O conteúdo hidrolisado foi filtrado à vácuo em cadinho de filtração previamente seco e pesado. O conteúdo filtrado foi analisado quanto à lignina solúvel, furfural, 5-hidroximetilfurfural, ácidos (acético, fórmico e levulínico) e carboidratos (arabinose, celobiose, glicose e xilose) e o material retido no cadinho foi utilizado para determinar a quantidade de lignina insolúvel.

4.4.4.2. Determinação de lignina solúvel

A quantidade de lignina solúvel foi determinada de acordo com GOUVEIA et al., (2009). Foi medida a absorbância do hidrolisado em um espectrofotômetro Evolution[™] 300 UV-Vis – Thermo Scientific no comprimento de onda de 280 nm utilizando cubeta de quartzo. Para a leitura, o hidrolisado foi diluído em balões volumétricos de 50 mL com pH do meio ajustado para 12, para garantir que toda lignina fosse solubilizada. Para o cálculo de lignina solúvel, utilizou-se a equação 4.4:

$$C_{ls} = 4,187.10^{-2}(A_{T} - A_{PD}) - 3,279.10^{-4}$$
(4.4)

Onde:

Cls: Concentração de lignina solúvel, em g L⁻¹;

AT: Absorbância da solução, (lignina junto com os produtos de degradação);

 $A_{PD} = C_1 \epsilon_1 + C_2 \epsilon_2$: Absorbância dos produtos de decomposição dos açúcares (furfural e HMF), cujas concentrações $C_1 e C_2$ foram determinadas por HPLC e $\epsilon_1 e \epsilon_2$ são as absortividades do furfural e HMF que valem 146,85 e 114,00 Lg⁻¹cm⁻¹ respectivamente.

4.4.4.3. Determinação de lignina insolúvel

O material retido após a filtragem da etapa de hidrólise ácida, foi lavado com água deionizada. O cadinho com o material retido na placa porosa foi colocado em uma estufa a 105 °C até atingir massa constante. Em seguida, o mesmo foi removido da estufa e transferido para o dessecador até temperatura ambiente para pesagem. Como uma parte do material insolúvel é constituído por inorgânicos, o teor de cinzas foi previamente determinado e descontado do valor de lignina insolúvel obtida, evitando-se assim uma superestimação dos dados. O cálculo do teor de lignina insolúvel para a biomassa in-natura segue na equação 4.5:

Teor de lignina insolúvel
$$_{(\%)} = \left(\frac{M_{li} - M_c}{M_a}\right) \times \left[1 - \left(\frac{\% \ extrativos}{100}\right)\right]$$
 (4.5)

O cálculo do teor de lignina insolúvel para a biomassa pré-tratada segue na equação 4.6:

Teor de lignina insolúvel
$$_{(\%)} = \left(\frac{M_{li} - M_c}{M_a}\right) \times 100$$
 (4.6)

Onde:

M_{li}: Massa de lignina insolúvel seca, em gramas;

Mc: Massa das cinzas, em gramas;

M_a: Massa da amostra seca, em gramas.

4.4.4.4. Determinação de carboidratos e ácidos orgânicos

Os carboidratos celobiose, xilose, glicose e arabinose e os ácidos acético, fórmico e levulínico presentes no filtrado da hidrólise ácida do material foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). As análises foram realizadas empregando-se uma coluna Bio-Rad Aminex, HPX87H, equipada com précoluna e detector por índice de refração (IR). As condições de análise foram: volume de injeção de 50 μ L; H₂SO₄ 0,005 mol L⁻¹ como fase móvel, fluxo de 0,6 mL min⁻¹, temperatura do detector e do forno da coluna de 35 °C e tempo total de corrida de 30 minutos.

Amostras foram filtradas (1,5 mL) diretamente em vials utilizando membrana de fluoreto de polivinilideno (PVDF) com poro de 0,45 µm (Millex). As curvas de calibração foram construídas com padrões e reagentes comerciais com alto grau de pureza (padrão HPLC) em concentrações conhecidas. As concentrações dos analitos foram obtidas pela correlação entre a área do cromatograma e sua respectiva curva padrão. Para os cálculos de concentração de carboidratos e ácidos, foram utilizadas as equações 4.7 e 4.8 respectivamente:

$$Carboidratos_{(\%)} = \left(\frac{C_{C.}C_{a.}V}{M_{1}}\right) . 100$$
 (4.7)

$$\operatorname{\acute{A}cidos}_{(\%)} = \left(\frac{C_A \cdot F_c \cdot V}{M_1}\right) \cdot 100 \tag{4.8}$$

Onde:

C_c: Concentração dos carboidratos quantificados por HPLC, em g L⁻¹;

CA: Concentração do ácido quantificado por HPLC, em g L⁻¹;

C_a: Fator de conversão da concentração polimérica dos carboidratos. Para a glicose, celobiose, xilose e arabinose é 0,90; 0,95; 0,88 e 0,88, respectivamente;

F_c: Fator de conversão do ácido (acético=0,72; fórmico=3,52; levulínico=3,52);

V: Volume do hidrolisado filtrado, em L;

M₁: Massa de material utilizada na hidrólise descontado o teor de umidade, em gramas.

4.4.4.5. Determinação de furfural e 5-hidroximetilfurfural

Furfural e 5-hidroximetilfurfural (HMF) presentes no filtrado da hidrólise ácida do material foram quantificados por HPLC. As análises foram realizadas empregando-se uma coluna C18 Acclaim 120 equipada com pré-coluna e detector UV. As condições de análise foram: volume de injeção de 10 μL, acetonitrila em água (1:8 com 1% de ácido acético) como fase móvel, fluxo de 0,8 mL min⁻¹, temperatura do detector e do forno da coluna de 25 °C e tempo total de corrida de 40 minutos.

Amostras foram filtradas (1,5 mL) diretamente em vials utilizando membrana de fluoreto de polivinilideno (PVDF) com poro de 0,45 µm (Millex). As curvas de calibração foram construídas com padrões e reagentes comerciais com alto grau de pureza (padrão HPLC) em concentrações conhecidas. As concentrações dos analitos foram obtidas pela correlação entre a área do cromatograma e sua respectiva curva padrão. As áreas dos picos correspondentes ao furfural e HMF foram utilizadas para calcular suas concentrações na amostra com base nas suas respectivas curvas padrão. Para os cálculos das concentrações de furfural e HMF, foram utilizadas as equações 4.9 e 4.10 respectivamente:

$$\operatorname{Furfural}_{(\%)} = \left(\frac{C_{F} \cdot F_{c} \cdot V}{M_{1}}\right) \cdot 100 \tag{4.9}$$

$$\text{HMF}_{(\%)} = \left(\frac{C_{\text{HMF}} \cdot F_c \cdot V}{M_1}\right) . 100$$
 (4.10)

Onde:

C_F: Concentração de furfural quantificado por HPLC, em g L⁻¹;

CHMF: Concentração de HMF quantificado por HPLC, em g L⁻¹;

Fc: Fator de conversão do furfural, 1,37;

FHMF: Fator de conversão do HMF, 1,20;

V: Volume do hidrolisado filtrado, em L;

M₁: Massa de material utilizada na hidrólise descontado o teor de umidade, em gramas.

4.5. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO HIDROLISADO

A composição química dos hidrolisados foi determinada de acordo com o procedimento proposto pelo NREL: "Determination of Sugars, Byproducts and Degradation Products in Liquid Fraction Process Samples" (SLUITER et al., 2008c). O volume de 15 ml dos hidrolisados obtidos após o pré-tratamento hidrotérmico foram transferidos para tubos de vidro e adicionada uma quantidade de ácido sulfúrico para uma concentração de 4% (m/m), em seguida os tubos foram levados à autoclave, a 121°C durante 1 h. Os frascos foram retirados da autoclave, resfriados em banho de gelo até atingir temperatura ambiente e o conteúdo foi filtrado à vácuo em cadinhos de filtração previamente secos e pesados.

Tanto o hidrolisado advindo do pré-tratamento quanto o hidrolisado obtido no processo de pós-hidrólise, foram analisados por HPLC quanto à HMF e furfural, ácidos e carboidratos, como descrito nos itens 4.4.4.4 e 4.4.4.5. O teor de oligômeros foi calculado como a diferença entre o teor de monômeros antes e após o processo de pós-hidrólise. A fração hemicelulósica foi definida como a soma dos teores de xilose, arabinose e furfural, enquanto a fração celulósica foi calculada como a soma dos teores de glicose, celobiose, ácido fórmico, ácido levulínico e HMF.

4.6. IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS XOS POR HPLC-DAP

Os xilooligossacarídeos foram identificados e quantificados por cromatografia de troca iônica de alta performance com detecção amperométrica pulsada (DAP) em um cromatógrafo Dionex ICS-5000+, equipado com coluna de separação CarboPac PA-100 (4 x 250mm) e pré-coluna. A taxa de fluxo foi constante de 1,0 mL min⁻¹, com um volume de injeção de 20 μ L e tempo de corrida de 38 minutos. Foi utilizado um sistema de gradiente de solvente como fase móvel, A (água), B (acetato de sódio 500 mM e NaOH 80 mM) e C (NaOH 500 mM). A etapa inicial (0-10 minutos) ocorreu isocraticamente, utilizando 2% da solução B e 15 % da solução C. A segunda etapa (10 - 20 minutos) ocorreu via gradiente linear crescente, variando de 2 - 20% da solução B e de 15 - 50% da solução C. A terceira etapa (20 - 28 minutos) ocorreu isocraticamente, utilizando 20% da solução B e 50 % da solução C. A penúltima etapa (28 - 28,1 minutos) ocorreu via gradiente linear decrescente, variando de 20 - 2% da solução B e de 50 - 15% da solução C. A etapa final (28,1 - 38 minutos)

ocorreu isocraticamente, utilizando 2% da solução B e 15% da solução C. A concentração de cada oligômero foi determinada utilizando uma curva de calibração previamente construída com padrões de xilobiose, xilotriose, xilotetraose, xilopentaose e xilohexaose.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA CANA-ENERGIA G E V

As duas variedades de cana-energia escolhidas para o presente trabalho tiveram primeiramente as composições determinadas antes de dar início aos planejamentos experimentais. Os dados de caracterização química da cana-energia G e V são apresentados na Tabela 5.1, e foram obtidos de experimentos em triplicata.

Componente	Variedade de cana-energia			
	G	V	L 79-1001(L) ^a	L 79-1002 ^b
Celulose	41,9 ± 0,1	37,6 ± 1,0	43,3	40,9 ± 0,2
Arabinoxilana	24,1 ± 0,4	25,1 ± 1,0	23,8	22,4 ± 0,2
Grupos Acetila	2,5 ± 0,1	2,8 ± 0,1	nd	nd
Lignina Solúvel	1,4 ± 0,2	$4,7 \pm 0,2$	nd	nd
Lignina Insolúvel	22,3 ± 0,0	$20,2 \pm 0,5$	nd	nd
Lignina Total	23,7 ± 0,2	$24,9 \pm 0,7$	21,7	24,8 ± 0,1
Cinzas	1,1 ± 0,1	5,5 ± 0,6	0,8	1,4 ± 0,0
Extrativos	7,3 ± 0,1	6,3 ± 0,2	nd	1,5 ± 0,0
Balanço de massa	100,7 ± 0,8	102,2 ± 0,7	89,6	91,0

Tabela 5.1 – Composição da cana-energia da G e V, utilizada neste trabalho, e outras duas variedades de cana-energia descritas na literatura.

nd: não determinado

^aCana-energia [L 79-1001(L)] cultivada em Lake Charles, LA e descrita em (KIM; DAY, 2011).

^bCana-energia (L79-1002) cultivada em "Louisiana State University Agricultural Center Sugar Research Station" localizada em St. Gabriel, LA (QIU; AITA; WALKER, 2012). Pode-se observar que os dois materiais utilizados neste estudo apresentam composição química similar à de outras variedades de cana-energia descritas em outros trabalhos (KIM; DAY, 2011; QIU; AITA; WALKER, 2012).

As variações de composição observadas entre as duas variedades deste trabalho podem estar relacionadas ao fato da biomassa de cana-energia G ser composta apenas por bagaço, enquanto a biomassa de cana-energia V é composta por uma mistura de ponteiro, palha e colmo. Além das variabilidades genéticas, as plantas provavelmente foram submetidas a diferentes condições de plantio, crescimento e colheita, o que contribui também para as variações nas composições observadas (DO AMARAL; TAVARES, 2013).

5.2. DESACETILAÇÃO ALCALINA

Diferentes temperaturas, tempo e concentração de hidróxido de sódio foram estudadas para a etapa de desacetilação, utilizando as duas variedades de cana-energia. A nomenclatura dos ensaios está descrita nas Tabela A.1. 1 e Tabela A.1. 2 – (ANEXO 1).

Os rendimentos de remoção dos grupos acetila presentes na fração hemicelulósica da cana-energia de cada uma das variedades, G e V, são reportados nas **Figura 5.1** e Figura 5.2, respectivamente.



Figura 5.1 – Eficiência de remoção (%) de grupos acetila do bagaço de cana-energia G em diferentes condições de temperatura, tempo e concentração de NaOH. Os valores marcados com (*) (Ensaios G-D17, 18, 19 e 20) representam os dados da triplicata do ponto central em cada um dos tempos, sendo apresentado o resultado da média dos ensaios.



Figura 5.2 – Eficiência de remoção (%) de grupos acetila da biomassa de cana-energia V em diferentes condições de temperatura, tempo e concentração de NaOH. Os valores marcados com (*) (Ensaios G-D17, 18, 19 e 20) representam os dados da triplicata do ponto central em cada um dos tempos, sendo apresentado o resultado da média dos ensaios.

Pode-se observar nas Figura 5.1 e Figura 5.2, que a condição mais severa (80°C, 60 min e 100 mg_{NaOH}/g_{biomassa}) (condição D16) foi a mais eficiente para a remoção dos grupos acetila, removendo 97,2 \pm 0,2% e 97,5 \pm 1,2% para o bagaço G e biomassa V, respectivamente.

Para ambos os materiais, não foi a condição mais branda (40°C, 15 min e 60 mg_{NaOH}/g_{biomassa}) (condição D1) que resultou nas menores remoções de grupos acetila. Entretanto, a eficiência da desacetilação na condição mais branda foi superior para a biomassa V ($82,2 \pm 1,8\%$) em comparação com o bagaço G ($74,3 \pm 2,8\%$). Como a biomassa V é composta pela mistura das frações de palha e ponteiro, um material que segundo MORETTI et al., (2016) é mais sensível aos tratamentos e mais susceptível a modificações, essas variações podem ser justificadas.

De acordo com alguns trabalhos da literatura, o impacto da desacetilação é altamente dependente do tipo da biomassa vegetal e não necessariamente das condições do ensaio. CASTRO et al., (2017) descreveram uma remoção de 99% de grupos acetila da palha de arroz nas condições de 70°C, 80 mg_{NaOH}/g_{biomassa} e 45 minutos de reação, valor ligeiramente maior quando comparado aos obtidos nos ensaios de cana-energia após tratamento mais severo.

Já CHEN et al., (2012) alcançaram 75% de remoção de grupos acetila durante o tratamento alcalino de farelo de milho a 80°C utilizando baixa carga de reagente (48 mg_{NaOH}/g_{biomassa}) por longo tempo de reação (180 minutos).

A diferença de remoção de grupos acetila entre a condição mais severa (D16) e mais branda (D1) foi menor do que 25% para ambos os materiais, esse valor é considerado satisfatório para seguir para dar continuidade ao processamento das biomassas. Os valores referentes as perdas por solubilização das hemiceluloses no hidrolisado em relação a quantidade inicial de hemiceluloses no material variaram de $5,8 \pm 0,3 \%$ a 22,4 $\pm 1,1\%$ para o bagaço G e 2,8 $\pm 0,2 \%$ a 14,7 $\pm 0,2 \%$ para a biomassa V, os valores estão nas Tabela A.1. 1 e Tabela A.1. 2 – (ANEXO 1).

Para a escolha da melhor condição de desacetilação, foi levado em consideração: eficiência de remoção, solubilização das hemiceluloses, combinação entre os parâmetros tempo e temperatura relacionados a gastos energéticos e consumo de reagentes. Além disso, levou-se em consideração a necessidade de uma quantidade residual de grupos acetila na biomassa visto que isso poderia favorecer a solubilização das hemiceluloses.

Desta forma, a condição mais branda (15 min, 40°C e 60 mg_{NaOH}/g_{biomassa}) (D1) foi escolhida para gerar o material para a próxima etapa do trabalho, visando a produção de XOS.

5.3. PRÉ-TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DAS BIOMASSAS DESACETILADAS

Após estabelecida a condição de desacetilação para as variedades de cana-energia G e V, as biomassas desacetiladas foram pré-tratadas para produção de XOS. A nomenclatura dos ensaios está descrita nas Tabela A.2. 1 e Tabela A.2. 2 – (ANEXO 2). Os dados de composição química dos materiais de entrada, após a etapa de desacetilação estão descritos na Tabela 5.2.

Tabela 5.2 – Composição química das biomassas G e V após etapa de desacetil	ação
alcalina.	

Componente (% m/m)	G	V
Celulose	46,2 ± 0,0	48,4 ± 0,0
Arabinoxilanas	27,9 ± 0,1	31,0 ± 0,2
Grupos Acetila	$0,4 \pm 0,0$	0,3 ± 0,0
Lignina Solúvel	1,8 ± 0,0	0,7 ± 0,4
Lignina Insolúvel	23,3 ± 0,2	18,8 ± 0,4
Lignina Total	25,1 ± 0,2	19,5 ± 0,8
Cinzas	1,3 ± 0,3	2,8 ± 0,2
Balanço de massa	100,9 ± 0,1	102,0 ± 0,4

O primeiro planejamento de experimentos foi realizado para avaliar a obtenção de XOS a partir do bagaço desacetilado G variando os parâmetros temperatura, tempo e concentração de ácido sulfúrico. O principal objetivo foi avaliar a necessidade da presença do ácido para produção de XOS de baixa massa molar.



A Figura 5.3, reporta a porcentagem de solubilização da xilana e lignina após os pré-tratamentos e os fatores de severidade combinados de cada condição.

Figura 5.3 – Solubilização da xilana e lignina após pré-tratamento hidrotérmico (catalisado ou não) do bagaço desacetilado G relacionada com o fator de severidade combinado do processo.

Pode-se observar que o aumento do fator de severidade combinado resultou no aumento da solubilização da xilana. Na ausência de catalisador, o máximo de solubilização da xilana alcançada foi de 50%. Resultados similares foram reportados por KABEL et al., 2007 ao avaliar o pré-tratamento hidrotérmico não catalisado e catalisado com ácido sulfúrico para a palha de trigo e os efeitos do fator de severidade combinado sob a solubilização da hemicelulose.

Na condição em que se observou a maior solubilização da xilana (98,4%) e maior fator de severidade combinado (2,4), houve a menor solubilização da lignina (7,4%), podendo este fator estar relacionado com questões de re-condensação de lignina devido ao pH e produtos de degradação possivelmente formados durante o tratamento. Alguns trabalhos na literatura reportaram aumento progressivo do teor de lignina no material pré-tratado com aumento do fator de severidade do pré-tratamento na presença de ácidos diluídos (DONOHOE et al., 2008; SAMUEL et al., 2010; SANNIGRAHI et al., 2011). Análises microscópicas e espectroscópicas revelaram que

dependendo das condições do pré-tratamento termoquímico, a lignina pode migrar de dentro da parede celular para fora da célula. Como consequência, um material com características distintas, combinado com produtos de degradação de carboidratos e da própria lignina, pode ser depositado na superfície da célula vegetal. Esta descompartimentação e realocação das ligninas na biomassa podem contribuir para o aumento da recalcitrância da mesma, dimuindo a sua digestibilidade (DONOHOE et al., 2008; SANNIGRAHI et al., 2011). Desta forma, é provável que na temperatura de 190°C na presença de ácido sulfúrico, a lignina deste material tenha sofrido maiores modificações físicas e químicas.

Embora algumas condições de pré-tratamento tenham proporcionado mais de 98% de solubilização das xilanas presentes no material, a proporção de XOS, que é o produto de interesse desse trabalho, e a quantidade de moléculas não desejadas (xilose e produtos de degradação) é o que realmente deve ser levado em conta para otimização do processo.

A Figura 5.4, reporta as porcentagens relativas de XOS, arabinose, oligômeros de arabinose, xilose e furfural obtidas em cada condição de ensaio. Os dados foram calculados em relação ao total de xilana quantificada no hidrolisado. A quantidade de cada produto é reportada na Tabela A.2. 1 – (ANEXO 2).



Figura 5.4 – Porcentagem relativa de XOS, arabinose, oligômeros de arabinose, xilose e furfural obtidas em cada condição de ensaio do pré-tratamento hidrotérmico do bagaço G desacetilado relacionada com o fator de severidade combinado do processo.

Em todos os ensaios de pré-tratamento hidrotérmico catalisado (ácido sulfúrico), a maior parte da xilana solubilizada foi recuperada na forma de xilose e furfural. Já nos ensaios de pré-tratamentos não catalisados, 67,1 a 75,6% do total de xilana quantificada no hidrolisado (solubilizada) foi recuperada, majoritariamente, na forma de XOS.

Para o bagaço G desacetilado, os dados de conversão das xilanas mostraram que apenas os pré-tratamentos com menores fatores de severidade combinado são adequados para a obtenção de XOS a partir da cana-energia desacetilada. Neste sentido, o segundo planejamento foi realizado sem a presença de ácido na solução.

Para o segundo planejamento experimental foi utilizada a biomassa V e consideradas, como condições mínimas, as previamente estudadas para o bagaço G.

A Figura 5.5 representa a porcentagem de solubilização da xilana e lignina após os pré-tratamentos hidrotérmicos e os fatores de severidade combinado de cada condição.



Figura 5.5 – Solubilização da xilana e lignina após pré-tratamento hidrotérmico da biomassa desacetilada V relacionada com o fator de severidade combinado do processo.

O mesmo comportamento do bagaço G também foi observado para essa variedade em relação à xilana: o aumento do fator de severidade combinado do processo resultou em maior solubilização do políssacarídeo. Na ausência de catalisador, em todas as condições experimentais, a porcentagem de solubilização da xilana variou entre 45,5 a 90,8 %. Com relação a lignina, em todas as temperaturas testadas ocorreu diminuição da solubilização nos tempos mais longos de reação, ou seja, nas condições com o maior fator de severidade combinado.

A Figura 5.6 representa as porcentagens relativas de XOS, arabinose, oligômeros de arabinose, xilose e furfural obtidas em cada condição de ensaio. Os dados foram calculados em relação ao total de xilana quantificada no hidrolisado (Tabela A.2. 2 – ANEXO 2).

58



Figura 5.6 – Porcentagem relativa de XOS, arabinose, oligômeros de arabinose, xilose e furfural obtidas em cada condição de ensaio do pré-tratamento hidrotérmico da biomassa desacetilada V relacionada com o fator de severidade combinado do processo.

Do total de xilana quantificada no hidrolisado, a conversão em XOS variou de 89% a 5%, sendo que os baixos rendimentos foram obtidos combinando altas temperaturas com longos períodos de reação. Pode-se observar que a 190°C, a conversão da xilana em XOS não variou significativamente ao longo do tempo. Já a partir de 200°C, a quantidade de XOS diminuiu levando ao aumento da concentração de xilose e furfural ao longo do tempo.

Considerando a biomassa V, maiores valores de conversão de XOS foram alcançados a 190°C por 10 minutos e 200°C por 5 minutos.

A quantidade de xilana e lignina solubilizadas, o fator de severidade e o fator de severidade combinado do pré-tratamento hidrotérmico das variedades de cana-energia G e V são apresentados respectivamente nas Tabela A.3. 1 e Tabela A.3. 2 – (ANEXO 3).

5.4. IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE XOS

A quantificação dos XOS foi obtida pela diferença entre as concentrações inicial e final de xilose após a hidrólise do material pré-tratado. Os valores de XOS em g L⁻¹ estão nas Tabela A.4. 1 e Tabela A.4. 2 - (ANEXO 4).

As Figura 5.7 e Figura 5.8 relacionam as concentrações totais de XOS presentes nos hidrolisados, com o fator de severidade combinado do pré-tratamento das biomassas G e V respectivamente.



Figura 5.7 – Concentração de XOS totais no hidrolisado e fator de severidade combinado do pré-tratamento hidrotérmico do bagaço G.



Figura 5.8 – Concentração de XOS totais no hidrolisado e fator de severidade combinado do pré-tratamento hidrotérmico da biomassa V.

61

Os resultados apresentados na Figura 5.7 mostram um aumento significativo na concentração de XOS quando a temperatura foi elevada de 170°C para 190°C, aumentando de 1,2 para 6,5 g L⁻¹ (5 min) e 2,0 para 8,6 g L⁻¹ (15 min), este sendo o máximo valor atingido.

No estudo com a biomassa V, explorando condições de pré-tratamento mais severas, a maioria dos valores foram superiores em relação a outra variedade de cana-energia (Figura 5.8).

Comparando os dois materiais, para uma mesma temperatura e tempo (190°C, 15 min) (condições G-H4 e V-H2), a concentração de XOS obtidos para o bagaço G foi menor que da biomassa V, sendo 8,6 g L⁻¹ e 11,1 g L⁻¹, respectivamente.

Para a biomassa V, uma baixa variação nas concentrações de XOS foram observadas nas temperaturas de 190 e 200°C em função do tempo. Para temperaturas mais elevadas, os valores decaíram de acordo com o aumento do tempo.

O conteúdo de xilobiose (X2), xilotriose (X3), xilotetraose (X4), xilopentaose (X5) e xilohexaose (X6) presente nos hidrolisados do pré-tratamento hidrotérmico das variedades de cana-energia G e V, foram quantificados por HPLC-DAP e os valores reportados em g L⁻¹ estão nas Tabela A.5. 1 e Tabela A.5. 2 - (ANEXO 5).

As Figura 5.9 e Figura 5.10 trazem os valores das concentrações totais de XOS com grau de polimerização (DP) entre 2 e 6 presentes nos hidrolisados relacionadas com o fator de severidade combinado do pré-tratamento das biomassas de cana-energia G e V respectivamente.



Figura 5.9 – Concentração de XOS com $2 \le DP \le 6$ no hidrolisado e fator de severidade combinado do pré-tratamento hidrotérmico do bagaço G.





Na Figura 5.9 os resultados mostram que há um aumento significativo na concentração de XOS com $2 \le DP \le 6$ nos hidrolisados com o aumento do fator de severidade combinado, ou seja, com o aumento da temperatura de 170°C para 190°C,

63

a concentração de XOS aumentou de 0,0 para 0,6 g L⁻¹ (5 min) e 0,0 para 2,6 g L⁻¹ (15 min).

De acordo com a Figura 5.10 as concentrações de XOS com $2 \le DP \le 6$ obtidos da biomassa V foram maiores. Para a temperatura de 190°C foi observado o aumento na concentração de XOS (1,3 a 6,9 g L⁻¹) ao longo do tempo de reação (10-30 min), e a 200°C foi observado o mesmo comportamento (1,9 a 8,9 g L⁻¹), ao longo do tempo de reação (5-20 min), indicando um crescimento progressivo de acordo com o tempo e fator de severidade combinado. Para ensaios realizados a 210°C, o comportamento foi o inverso, a concentração de XOS variou de 9,6 a 0,4 g L⁻¹, ou seja, quanto maior o fator de severidade combinado, menor foi a obtenção de XOS. Em condições de altas temperaturas combinadas com longos tempos de reação, XOS de baixo DP são mais propensos a formar xilose e produtos de degradação em relação a XOS com maior DP (GARROTE; DOMÍNGUEZ; PARAJÓ, 2001; TOLIENG et al., 2017).

Os valores obtidos de XOS com 2 \leq DP \leq 6, para as condições de prétratamento com os mesmos valores de variáveis (190°C, 15 min) foram iguais (2,6 g L⁻¹) entre as duas variedades de cana-energia.

As Figura 5.11 e Figura 5.12, mostram uma estimativa da quantidade de cada xilooligômero (X2 a X6) obtido em relação ao total de XOS com $2 \le DP \le 6$ presentes no hidrolisado das variedades de cana-energia G e V respectivamente.



Figura 5.11 – Estimativa de xilobiose (%X2), xilotriose (%X3), xilotetraose (%X4), xilopentaose (%X5) e xilohexaose (%X6) referente ao total de XOS presente nos hidrolisados do pré-tratamento hidrotérmico do bagaço G.



Figura 5.12 – Estimativa de xilobiose (%X2), xilotriose (%X3), xilotetraose (%X4), xilopentaose (%X5) e xilohexaose (%X6) referente ao total de XOS presente nos hidrolisados do pré-tratamento hidrotérmico da biomassa V.

Os resultados obtidos para o bagaço de cana-energia G (Figura 5.11) nos ensaios sem catalisador, à temperatura de 170°C, a maioria dos XOS foram X3, enquanto à 190°C, a maioria foi de X6. Segundo LIN et al., (2017) com o aumento da temperatura de reação, XOS de cadeias maiores continuam sendo hidrolisados em XOS de cadeias menores, diferentemente do observado para essa variedade de cana-energia. Isso, provavelmente se deve a menores temperaturas utilizadas neste estudo.

Para os dados com a biomassa V (Figura 5.12), foi observado que na temperatura de 190°C e variando tempo, os valores de X2 (13,0 a 18,4 %) aumentaram, X3 (19,2 a 20,5%) e X4 (19,6 a 22,2%) não sofrendo grandes alterações e X5 (20,6 a 16,9%) e X6 (26,3 a 22,5%) diminuíram. Para a temperatura de 200°C, os valores de X2 (12,6 a 28,7%), X3 (17,9 a 22,5%) e X4 (20,9 a 22,7%) aumentaram enquanto X5 (20,8 a 13,2%) e X6 (27,8 a 13,4) diminuíram. Para temperatura de 210°C, os valores de X2 (21,4 a 52,1%) aumentaram, porém houve uma queda com 20 minutos (27,8%), X3 aumentou de 5 para 10 minutos (20,3 a 23,5%) e depois decaiu com 20 minutos (8,3%), X4 (22,8 a 18,2%) diminuíu de 5 para 10 minutos e depois aumentou novamente com 20 minutos (63,9%), X5 (16,2 a 0,0%) e X6 (19,2 a 0,0) diminuíram.

De acordo com a literatura o comportamento se deu com o aumento da temperatura de reação, X5 e X6 são hidrolisados em X2, X3 e X4 (LIN et al., 2017). O mesmo pode-se atribuir com o aumento do tempo da reação. Durante a auto-hidrólise, o DP dos XOS é progressivamente reduzido, levando-os à baixos graus de polimerização quanto maior o tempo de reação (GARROTE; DOMÍNGUEZ; PARAJÓ, 2001; LIN et al., 2017), sendo assim, quantidades maiores de X2 e X3 e menores de X5 e X6 foram obtidas.

As Figura 5.13 e Figura 5.14 representam as concentrações das frações de XOS com $2 \le DP \le 6$, ou seja, todos os xilooligômeros quantificados nos hidrolisados da cana-energia G e V respectivamente.



Figura 5.13 – Concentração de xilobiose (X2), xilotriose (X3), xilotetraose (X4), xilopentaose (X5), xilohexaose (X6) e XOS com DP > 6 presentes no hidrolisado do pré-tratamento hidrotérmico do bagaço G.



Figura 5.14 – Concentração de xilobiose (X2), xilotriose (X3), xilotetraose (X4), xilopentaose (X5), xilohexaose (X6) e XOS com DP > 6 presentes no hidrolisado do pré-tratamento hidrotérmico da biomassa V.

Com o aumento da temperatura combinado com o tempo, observou-se um aumento de XOS com DP > 6 para o bagaço G. Em 170°C, as concentrações aumentaram de 1,13 (5 min) para 1,99 (15 min) g L⁻¹, e quando a temperatura foi elevada para 190°C, os valores aumentaram de 5,86 (5 min) para 6,01 (15 min) g L⁻¹.

Os resultados da biomassa V mostraram um comportamento diferente ao do bagaço G. Para a temperatura de 190°C, a quantidade de XOS com DP > 6 diminuiu de 9,20 para 4,61 g L⁻¹ com o aumento do tempo. Já a 200°C esses valores diminuíram ao longo do tempo, variando de 9,42 a 3,05 g L⁻¹, sendo que para o maior tempo (20 min) não houve detecção de XOS com DP > 6. Para a maior temperatura testada, 210°C, apenas a condição com menor tempo de reação apresentou XOS com DP > 6 com concentração de 1,99 g L⁻¹. Para este material, na condição de 200°C, 20 min e nas condições a 210°C, exceto 5 min, não houve detecção de XOS com DP > 6.

O grau de polimerização maior que 6 dos XOS obtidos mostram a influência da combinação entre temperatura e tempo de reação. Com o aumento da temperatura e do tempo de reação, a concentração de XOS com DP > 6 para o bagaço G aumentou, enquanto para a biomassa V o valor diminuiu.

Os XOS presentes nos hidrolisados que foram identificados com grau de polimerização maior que 6, ainda podem passar por outra etapa de pré-tratamento químico ou enzimático e serem hidrolisados para produzir XOS de cadeias menores, aumentando o rendimento do processo quanto à obtenção de produtos de interesse.

Alterando as condições dos experimentos, pode-se obter concentrações maiores ou menores de XOS com determinados graus de polimerização, dependendo da aplicação do produto a ser obtido (VEJDOVSZKY et al., 2015).

6. CONCLUSÃO

A caracterização química da cana-energia é uma etapa importante pois é utilizada como parâmetro para cálculos de balanço de massa durante os estudos de condições de pré-tratamento. Diferenças composicionais, especialmente para celulose, foram observadas nas duas variedades estudadas, o que já era esperado visto que a biomassa G era composta apenas por bagaço e a biomassa V, por uma mistura de bagaço:palha:ponteiro.

A condição selecionada de desacetilação para ambas biomassas, foi a 15 min, 40°C e 60 mg_{NaOH}/g_{biomassa}, considerando como fatores decisivos na escolha da condição, a eficiência de remoção (74,3 \pm 2,8% e 82,2 \pm 1,8%), perda de hemiceluloses, parâmetros relacionados com gastos energéticos (menor tempo e temperatura) e consumo de reagentes.

A melhor condição do pré-tratamento hidrotérmico para as duas variedades de cana-energia, ocorreu na ausência de catalisador, para o bagaço G a melhor temperatura e tempo de reação foram 190°C e 15 min e para a biomassa V foi 210°C e 5 min.

Sob a presença de catalisador, não houve obtenção de XOS, enquanto nas condições sem catalisador, o comportamento foi progressivo de acordo com o aumento do fator de severidade combinado, para ambas variedades de cana-energia em temperaturas até 200°C. Para temperaturas maiores, observou-se o comportamento inverso.

Durante a reação de hidrólise, houve liberação de XOS com baixo grau de polimerização, principalmente X2 e X3, o que demonstra um potencial biotecnológico no futuro. Os XOS identificados com grau de polimerização maior, ainda podem passar por outro pré-tratamento e serem hidrolisados para obter XOS de cadeias menores.

Os dados obtidos nesse trabalho são importantes pois a fração líquida será utilizada para produção de etanol 2G utilizando microrganismos que serão desenvolvidos no projeto de pesquisa temático da FAPESP (Processo: 15/50612-8): "An integrated approach to explore a novel paradigm for biofuel production from lignocellulosic feedstocks". Enquanto a fração sólida resultante após os processos,

pode ser utilizada como insumo para produção de etanol 2G e também como combustível para geração de energia em caldeiras.

Uma etapa de purificação é necessária para remover monossacarídeos e outros compostos indesejáveis, além da necessidade de estudos para avaliar a atividade dos XOS como prebióticos; se os resultados forem promissores tais oligômeros terão uma ampla aplicabiliade.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para trabalhos futuros, sugere-se:

- Desenvolver estudo semelhante para a celulose;
- Verificar a possibilidade de acoplar tratamento enzimático ao térmico.
- Estudar a atividade prebiótica dos XOS obtidos.
- Estudar o transporte e metabolização dos XOS por microrganismos nativos e/ou recombinantes.
- Estudar etapas de separação para recuperação de XOS.

7. REFERÊNCIAS

AACHARY, A. A.; PRAPULLA, S. G. Xylooligosaccharides (XOS) as an Emerging Prebiotic: Microbial Synthesis, Utilization, Structural Characterization, Bioactive Properties, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n. 1, p. 2–16, 2011.

ABATZOGLOU, N. et al. Phenomenological kinetics of complex systems: the development of a generalized severity parameter and its application to lignocellulosics fractionation. **Chemical Engineering Science**, v. 47, n. 5, p. 1109–1122, 1992.

ADITIYA, H. B. et al. Second generation bioethanol production: A critical reviewRenewable and Sustainable Energy ReviewsPergamon, , 1 dez. 2016. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032116303434>. Acesso em: 16 fev. 2018

AGUILAR, R. et al. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. **Journal** of Food Engineering, v. 55, n. 4, p. 309–318, 2002.

AITA, G. A.; SALVI, D. A.; WALKER, M. S. Enzyme hydrolysis and ethanol fermentation of dilute ammonia pretreated energy cane. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 6, p. 4444–4448, 2011.

ALMEIDA, M. D.; ROCHELLE, L. A.; CROCOMO, O. J. Chave analítica para determinação de dez variedades de cana-de-açúcar (Saccharum spp.). **Scientia Agricola**, v. 52, n. 1, p. 16–19, abr. 1995.

ALVIM, J. C. et al. Biorrefinarias: Conceitos, classificação, matérias primas e produtos Como referenciar esse documento (ABNT). J. Bioen. Food Sci. Journal of Bioenergy and Food Science. Macapá, v. 13, n. 3, p. 61–7761, 2014.

ALVIRA, P. et al. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4851–4861, 2010.

AMIDON, T. E.; LIU, S. Water-based woody biorefinery. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 5, p. 542–550, 2009.

ARANTES, V.; SADDLER, J. N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: The role of amorphogenesis. **Biotechnology for Biofuels**, v. 3, n. 1, p. 1–11, 23 fev. 2010.

ASHTER, S. A. Technology and Applications of Polymers Derived from Biomass 1st Edition. [s.l: s.n.].

ASTM. Standard test method for determination of carbohydrates in biomass by high performance liquid chromatography E1758-01. **ASTM International**, v. i, n. Reapproved, p. 1–5, 2007.

AUDE, M. I. DA S. Estádios De Desenvolvimento Da Cana-De-Açúcar E Suas Relações Com a Produtividade. **Ciência Rural**, v. 23, n. 2, p. 241–248, ago. 1993.

BAUCHER, M. et al. Lignin: Genetic Engineering and Impact on Pulping. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 38, n. 4, p. 305–350, 2003.
BRANDT, A. et al. Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids. **Green Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 550, 1 mar. 2013.

BURUIANĂ, C.-T.; VIZIREANU, C. Xylooligosaccharides (XOS) production from xylan-containing lignocellulosic materials (LCM) by hydrothermal pretreatment. **The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI – Food Technology**, v. 38, n. 2, p. 18–31, 2014.

CAPOLUPO, L.; FARACO, V. Green methods of lignocellulose pretreatment for biorefinery development. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 22, p. 9451–9467, 2016.

CARVALHEIRO, F. et al. Hydrothermal/Liquid Hot Water Pretreatment (Autohydrolysis): A Multipurpose Process for Biomass Upgrading. In: **Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 315–347.

CARVALHO-NETTO, O. V. et al. The potential of the energy cane as the main biomass crop for the cellulosic industry. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 1–8, 2014.

CASSALES, A. et al. Optimization of soybean hull acid hydrolysis and its characterization as a potential substrate for bioprocessing. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 11, p. 4675–4683, 1 nov. 2011.

CASTRO, R. C. DE A. et al. Alkaline deacetylation as a strategy to improve sugars recovery and ethanol production from rice straw hemicellulose and cellulose. **Industrial Crops and Products**, v. 106, p. 65–73, 1 nov. 2017.

CHAMBRIARD, M. M. DE R. **Tendências de E&P no Brasil e no mundo e o excedente da cessão onerosa**. [s.l.] FGV Energia, 24 ago. 2017. Disponível em: http://bibliotecadigital.fgv.br/dspace/handle/10438/19275. Acesso em: 1 fev. 2018.

CHANG, S. et al. An efficient production of high-pure xylooligosaccharides from corncob with affinity adsorption-enzymatic reaction integrated approach. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 1043–1049, 1 out. 2017.

CHANG, V. S.; HOLTZAPPLE, M. T. Fundamental Factors Affecting Biomass Enzymatic Reactivity. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 84–86, n. 1–9, p. 5–38, 2000.

CHAUDHARY, G.; SINGH, L. K.; GHOSH, S. Alkaline pretreatment methods followed by acid hydrolysis of Saccharum spontaneum for bioethanol production. **Bioresource Technology**, v. 124, p. 111–118, 1 nov. 2012.

CHEN, H. Chemical Composition and Structure of Natural Lignocellulose. In: **Biotechnology of Lignocellulose**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2014. p. 25–71.

CHEN, M. H. et al. Autohydrolysis of Miscanthus x giganteus for the production of xylooligosaccharides (XOS): Kinetics, characterization and recovery. **Bioresource Technology**, v. 155, p. 359–365, 1 mar. 2014a.

CHEN, X. et al. The impacts of deacetylation prior to dilute acid pretreatment on the bioethanol process. **Biotechnology for Biofuels**, v. 5, n. 1, p. 8, 27 fev. 2012.

CHEN, X. et al. A highly efficient dilute alkali deacetylation and mechanical (disc) refining process for the conversion of renewable biomass to lower cost sugars. **Biotechnology for Biofuels**, v. 7, n. 1, p. 98, 2014b.

CHERUBINI, F. The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. **Energy Conversion and Management**, v. 51, n. 7, p. 1412–1421, 1 jul. 2010.

CHO, D. H. et al. Enhanced ethanol production from deacetylated yellow poplar acid hydrolysate by Pichia stipitis. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4947–4951, 2010.

CHUM, H. L. et al. Pretreatment-Catalyst effects and the combined severity parameter. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 24–25, n. 1, p. 1–14, 1990.

COBILL, R. Development of Energy Canes for an Expanding Biofuels Industry. Disponível em:

<https://www.ars.usda.gov/research/publications/publication/?seqNo115=216121>. Acesso em: 5 dez. 2017.

COMMONER, B. The poverty of power - energy and economic crisis. [s.l: s.n.].

DA SILVA, A. S. A. et al. Milling pretreatment of sugarcane bagasse and straw for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 19, p. 7402–7409, 1 out. 2010.

DAWSON, L.; BOOPATHY, R. Use of post-harvest sugarcane residue for ethanol production. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 9, p. 1695–1699, 2007.

DO AMARAL, F. C. S.; TAVARES, S. D. L. Diferença do teor de fibra da cana-deaçúcar para fins energéticos motivada pelo bioma. **Embrapa Solos-Documentos** (INFOTECA-E), 18 fev. 2013.

DODD, D.; CANN, I. K. O. Enzymatic deconstruction of xylan for biofuel production. **GCB Bioenergy**, v. 1, n. 1, p. 2–17, 2009.

DONOHOE, B. S. et al. Visualizing lignin coalescence and migration through maize cell walls following thermochemical pretreatment. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 101, n. 5, p. 913–925, 2008.

DOS SANTOS, L. V. et al. Second-Generation Ethanol: The Need is Becoming a Reality. **Industrial Biotechnology**, v. 12, n. 1, p. 40–57, 2016.

ELLABBAN, O.; ABU-RUB, H.; BLAABJERG, F. Renewable energy resources: Current status, future prospects and their enabling technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 39, p. 748–764, 1 nov. 2014.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood : chemistry, ultrastructure, reactions**. [s.l.] Walter de Gruyter, 1989.

FERRAZ, R. T.; CODICEIRA, A. Diversificação da Matriz de Energias Renováveis no Brasil: O Desenvolvimento das Novas Fontes de 2010 a 2016. **Revista de Engenharia e Pesquisa Aplicada**, v. 2, n. 4, 30 dez. 2017.

FITZPATRICK, M. et al. A biorefinery processing perspective: Treatment of lignocellulosic materials for the production of value-added products. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 23, p. 8915–8922, 1 dez. 2010.

FUELS, W. Standard Test Method for Determination of Total Solids in Biomass 1. **Annual Book of ASTM Standards**, v. i, n. Reapproved 2015, p. 1–3, 2011.

GARROTE, G.; DOMINGUEZ, H.; PARAJO, J. C. Study on the deacetylation of hemicelluloses during the hydrothermal processing of Eucalyptus wood. **Holz als Roh-und Werkstoff**, v. 59, n. 1–2, p. 53–59, 27 abr. 2001.

GARROTE, G.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. C. Kinetic modelling of corncob autohydrolysis. **Process Biochemistry**, v. 36, n. 6, p. 571–578, 1 jan. 2001.

GIBSON, G. R. et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Reviews**, v. 17, n. 2, p. 259, 2004.

GIBSON, G. R. et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, n. 8, p. 491–502, 2017.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Critical Review Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. **Journal of nutrition**, v. 125, n. June 1995, p. 1401–1412, 1 jun. 1995.

GONZALEZ-HERNANDEZ, J. L. et al. A multiple species approach to biomass production from native herbaceous perennial feedstocks. In: **Biofuels: Global Impact on Renewable Energy, Production Agriculture, and Technological Advancements**. [s.l: s.n.]. p. 71–96.

GOUVEIA, E. R. et al. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1500–1503, 2009.

GREENPEACE. **E[R] Energy [R]evolution For a Brazil with 100% clean and renewable energy**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.greenpeace.org.br/revolucao>. Acesso em: 1 fev. 2018.

GULLÓN, P. et al. Assessment on the fermentability of xylooligosaccharides from rice husks. **BioResources**, v. 6, n. 3, p. 3096–3114, ago. 2008.

GUPTA, A.; VERMA, J. P. Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 41, p. 550–567, 1 jan. 2015.

HAMES, B. et al. Preparation of Samples for Compositional Analysis Laboratory Analytical Procedure (LAP) Issue Date: 8 / 06 / 2008 Preparation of Samples for Compositional Analysis Laboratory Analytical Procedure (LAP). **National Renewable Energy Laboratory**, n. August, p. 1–9, 2008.

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomassBioresource Technology, 2009. Disponível em: https://ac.els-cdn.com/S0960852408004574/1-s2.0-S0960852408004574-

main.pdf?_tid=9ef9a16a-c633-11e7-a033-

00000aab0f6b&acdnat=1510331247_a23f9554576208c741d163a4f8d6a219>. Acesso em: 10 nov. 2017

HIGUCHI, T. Look back over the studies of lignin biochemistry. **Journal of Wood Science**, v. 52, n. 1, p. 2–8, fev. 2006.

HILL, J. et al. Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 30, p. 11206–11210, 2006.

ISIKGOR, F. H.; BECER, C. R. Lignocellulosic biomass: a sustainable platform for the production of bio-based chemicals and polymers. **Polym. Chem.**, v. 6, n. 25, p. 4497–4559, 16 jun. 2015.

JOHNSON M.D.; GESCH, R.; JARADAT, A., MITCHELL, R.; REICOSKY, D.; WILHELM, W.W., J. M. F. C. Biomass, bioenergy crops in the United States: A changing paradigm. **The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 1–28, 2007.

KABEL, M. A. et al. Effect of pretreatment severity on xylan solubility and enzymatic breakdown of the remaining cellulose from wheat straw. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 10, p. 2034–2042, 2007.

KAUR, I.; NI, Y. A process to produce furfural and acetic acid from pre-hydrolysis liquor of kraft based dissolving pulp process. **Separation and Purification Technology**, v. 146, p. 121–126, 26 maio 2015.

KIM, M.; DAY, D. F. Composition of sugar cane, energy cane, and sweet sorghum suitable for ethanol production at Louisiana sugar mills. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 7, p. 803–807, 2011.

KLASS, D. L. Chapter 7 – Thermal Conversion: Combustion. In: **Biomass for Renewable Energy, Fuels, and Chemicals**. [s.l: s.n.]. p. 191–224.

KLEMM, D. et al. **Comprehensive Cellulose Chemistry**. Weinheim, FRG: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 1998. v. 2

KLINKE, H. B.; THOMSEN, A. B.; AHRING, B. K. Inhibition of ethanol-producing yeast and bacteria by degradation products produced during pre-treatment of biomass. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 66, n. 1, p. 10–26, 6 nov. 2004.

KUMAR, P. et al. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 48, n. 8, p. 3713–3729, 15 abr. 2009.

KUO, C. H.; LEE, C. K. Enhanced enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse by Nmethylmorpholine-N-oxide pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 2, p. 866–871, 1 jan. 2009.

LIN, Q. et al. Production of xylooligosaccharides by microwave-induced, organic acidcatalyzed hydrolysis of different xylan-type hemicelluloses: Optimization by response surface methodology. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 214–225, 10 fev. 2017.

MAITY, S. K. Opportunities, recent trends and challenges of integrated biorefinery: Part II. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 43, p. 1446–1466, 2015.

MANDELLI, F. et al. Simultaneous production of xylooligosaccharides and antioxidant compounds from sugarcane bagasse via enzymatic hydrolysis. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 770–775, 2014.

MARTÍNEZ, Á. T. et al. Biodegradation of lignocellulosics: Microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. **International Microbiology**, v. 8, n. 3, p. 195–204, 2005.

MORETTI, M. M. DE S. et al. Effect of pretreatment and enzymatic hydrolysis on the physical-chemical composition and morphologic structure of sugarcane bagasse and sugarcane straw. **Bioresource Technology**, v. 219, p. 773–777, 1 nov. 2016.

MOSIER, N. et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomassBioresource Technology, 2005. Disponível em: https://ac.els-cdn.com/S0960852404002536/1-s2.0-S0960852404002536-

main.pdf?_tid=6b8e246e-c637-11e7-b2b7-

00000aacb35e&acdnat=1510332879_f30cd4b7c3100ef511f6fc6633ef2bea>. Acesso em: 10 nov. 2017

MOURE, A. et al. Advances in the manufacture, purification and applications of xylooligosaccharides as food additives and nutraceuticals. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 9, p. 1913–1923, 2006.

NABARLATZ, D. et al. Almond shell xylo-oligosaccharides exhibiting immunostimulatory activity. **Carbohydrate Research**, v. 342, n. 8, p. 1122–1128, 2007.

NAKASU, P. Y. S. et al. Kinetic Study of the Acid Post-hydrolysis of Xylooligosaccharides from Hydrothermal Pretreatment. **Bioenergy Research**, v. 10, n. 4, p. 1045–1056, 12 dez. 2017.

NASCIMENTO, V. M. et al. Alkaline pretreatment for practicable production of ethanol and xylooligosaccharides. **Bioethanol**, v. 2, n. 1, p. 112–125, 2016.

OKAZAKI, M.; FUJIKAWA, S.; MATSUMOTO, N. Effect of Xylooligosaccharide on the Growth of Bifidobacteria. **Bifidobacteria and Microflora**, v. 9, n. 2, p. 77–86, 1990.

OVEREND, R. P.; CHORNET, E.; GASCOIGNE, J. A. Fractionation of Lignocellulosics by Steam-Aqueous Pretreatments [and Discussion]. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 321, n. 1561, p. 523–536, 1987.

ÖZKALE, C. et al. Decision analysis application intended for selection of a power plant running on renewable energy sources. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 70, p. 1011–1021, 1 abr. 2017.

PARIS, M. J.; TAVARES CARDOSO, M. A.; FONSECA, L. P. Towards bioethanol: an overview of whole lignocellulose processing. **Research and Reviews in Materials Science and Chemistry**, v. 4, n. 55, p. 118, 2015.

PEDRAZA, L. et al. Prebiotic Activity of Xylooligosaccharides from Corncob. **Journal** of Chemical , Biological and Physical Sciences, v. 4, n. 5, p. 1–5, 2014.

PERVAIZ, M.; CORREA, C. A. Matérias-Primas Basebio e Tecnologias de Conversão. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, n. 1, 2009.

QIU, Z.; AITA, G. M.; WALKER, M. S. Effect of ionic liquid pretreatment on the chemical composition, structure and enzymatic hydrolysis of energy cane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 117, p. 251–256, 2012.

QUIÑONES, T. S. et al. Production of xylooligosaccharides from renewable agricultural lignocellulose biomass. **Biofuels**, v. 6, n. 3–4, p. 147–155, 4 jul. 2015.

RABELO, S. C.; FILHO, R. M. I.; COSTA, A. C. Lime pretreatment of sugarcane bagasse for bioethanol production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 153, n. 1–3, p. 139–150, 3 maio 2009.

RAMBO, M. K. D.; SCHMIDT, F. L.; FERREIRA, M. M. C. Analysis of the lignocellulosic components of biomass residues for biorefinery opportunities. **Talanta**, v. 144, n. 11, p. 696–703, 2015.

RASTALL, R. A. Functional Oligosaccharides: Application and Manufacture. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 1, n. 1, p. 305–339, abr. 2010.

RASTALL, R. A.; GIBSON, G. R. Recent developments in prebiotics to selectively impact beneficial microbes and promote intestinal health. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 32, p. 42–46, 2015.

ROSILLO-CALLE, F.; BAJAY, S. V.; ROTHMAN, H. Uso da biomassa para produção de energia na indústria brasileira. [s.l.] UNICAMP, 2005.

RUDOLF, A. et al. Simultaneous saccharification and fermentation of steam-pretreated bagasse using Saccharomyces cerevisiae TMB3400 and Pichia stipitis CBS6054. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 99, n. 4, p. 783–790, 1 mar. 2008.

SAHA, B. C.; LIU, Z. L.; SLININGER, P. J. Lignocellulosic Biomass Conversion to Ethanol by Saccharomyces. In: **Bioenergy**. [s.l.] American Society of Microbiology, 2008. p. 17–36.

SAMANTA, A. K. et al. Xylooligosaccharides as prebiotics from agricultural byproducts: Production and applications. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 5, n. 1, p. 62–71, 2015.

SAMUEL, R. et al. Structural characterization and comparison of switchgrass ballmilled lignin before and after dilute acid pretreatment. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, n. 1, p. 62–74, 2010.

SANNIGRAHI, P. et al. Pseudo-lignin and pretreatment chemistry. **Energy Environ. Sci.**, v. 4, n. 4, p. 1306–1310, 2011.

SANTOS, F. A. et al. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Quimica Nova**, v. 35, n. 5, p. 1004–1010, 2012.

SHARMA, S. et al. Pilot scale study on steam explosion and mass balance for higher sugar recovery from rice straw. **Bioresource Technology**, v. 175, p. 350–357, 2015.

SHEKIRO, J. et al. Characterization of pilot-scale dilute acid pretreatment performance using deacetylated corn stover. **Biotechnology for Biofuels**, v. 7, n. 1, p. 23, 2014.

SHIELDS, S.; BOOPATHY, R. Ethanol production from lignocellulosic biomass of energy cane. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 65, n. 1, p. 142–146, 2011.

SLUITER, A. et al. Determination of ash in biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP). **Nrel/Tp-510-42622**, n. April 2005, p. 18, 2008a.

SLUITER, A. et al. Determination of Extractives in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP); Issue Date 7/17/2005 - 42619.pdf. **Technical Report NREL/TP-510-42619**, n. January, p. 1–9, 2008b.

SLUITER, A et al. Determination of Sugars , Byproducts , and Degradation Products in Liquid Fraction Process Samples Laboratory Analytical Procedure (LAP) Issue Date : 12 / 08 / 2006 Determination of Sugars , Byproducts , and Degradation Products in Liquid Fraction Proce. Laboratory Analytical Procedure (LAP) NREL/TP-510-42623, n. January, p. 1–14, 2008c.

STUBBS, W. C. Cultivation of Sugar Cane, in Two Parts. New Orleans, L.A.: [s.n.], 1900.

SUHARDI, V. S. H. et al. Evaluation of pretreatment methods for lignocellulosic ethanol production from energy cane variety L 79-1002. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 85, p. 683–687, 2013.

TEW, T. L.; COBILL, R. M. Genetic improvement of sugarcane (Saccharum spp.) as an energy crop. In: **Genetic Improvement of Bioenergy Crops**. [s.l: s.n.]. p. 273–294.

TOLIENG, V. et al. Identification and lactic acid production of bacteria isolated from soils and tree barks. **Malaysian Journal of Microbiology**, v. 13, n. 2, p. 100–108, 2017.

TUOHY, K. M. et al. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. **Drug Discovery Today**, v. 8, n. 15, p. 692–700, 2003.

TYLER B. MARK, M. E. S. AND M. A. D. T. Developing a Cellulosic Industry Ethanol in Louisiana Tyler. **Department of Agricultural Economics and Agribusiness, LSU AgCenter, La**, v. 53, n. 4, p. 1–36, 2009.

U.S. DOE. **Biomass: Multi-year Program Plan**, 2012. Disponível em: https://www1.eere.energy.gov/bioenergy/pdfs/mypp_april_2012.pdf>. Acesso em: 5 dez. 2017

VEJDOVSZKY, P. et al. Preparation and analysis of cello- and xylooligosaccharides. In: **Advances in Polymer Science**. [s.l.] Springer, Cham, 2015. v. 271p. 53–92.

VENKATESWAR RAO, L. et al. Bioconversion of lignocellulosic biomass to xylitol: An overview. **Bioresource Technology**, v. 213, p. 299–310, 1 ago. 2015.

ZAPATA, N. Aconitic Acid From Sugarcane : Production and Industrial Application. **Dissertação**, p. 182, 2007.

ZHANG, Y. H. P. Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocellulose biorefineries. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 5, p. 367–375, 8 maio 2008.

ZHENG, Y.; PAN, Z.; ZHANG, R. Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 2, n. 3, p. 51–68, 2009.

8. ANEXOS

ANEXO 1 - % Remoção de grupos acetila e solubilização das hemiceluloses e lignina dos bagaços desacetilados

Tabela A.1. 1 – Valores correspondentes da remoção de grupos acetila, solubilização de hemiceluloses e lignina do bagaço de cana-energia G (Vertix 2 – 121744) após o processo de desacetilação.

Ensaio	(t, T, [NaOH])	% Remoção Grupos Acetila	% Solubilização Hemiceluloses	% Solubilização Lignina
G-D1	(15,40,60)	74,3 ± 2,8	$5,8 \pm 0,3$	4,7 ± 0,3
G-D2	(30,40,60)	76,6 ± 1,8	6,4 ± 1,1	4,0 ± 1,8
G-D3	(45,40,60)	77,1 ± 0,4	$8,2 \pm 0,4$	$3,2 \pm 0,7$
G-D4	(60,40,60)	78,1 ± 0,2	9,7 ± 1,1	$6,0 \pm 3,7$
G-D5	(15,80,60)	80,1 ± 2,8	$9,5 \pm 0,3$	11,7 ± 0,3
G-D6	(30,80,60)	81,6 ± 1,8	12,2 ± 1,1	8,1 ± 1,8
G-D7	(45,80,60)	83,0 ± 0,4	$8,8 \pm 0,4$	15,2 ± 0,7
G-D8	(60,80,60)	85,1 ± 0,2	22,4 ± 1,1	33,2 ± 3,7
G-D9	(15,40,100)	79,5 ± 2,8	11,3 ± 0,3	7,1 ± 0,3
G-D10	(30,40,100)	88,5 ± 1,8	≅0,0 ± 1,1	5,2 ± 1,8
G-D11	(45,40,100)	91,8 ± 0,4	$14,6 \pm 0,4$	21,4 ± 0,7
G-D12	(60,40,100)	95,7 ± 0,2	19,5 ± 1,1	≅0,0 ± 3,7
G-D13	(15,80,100)	89,6 ± 2,8	11,3 ± 0,3	16,0 ± 0,3
G-D14	(30,80,100)	91,0 ± 1,8	11,9 ± 1,1	27,2 ± 1,8
G-D15	(45,80,100)	96,1 ± 0,4	18,4 ± 0,4	38,6 ± 0,7
G-D16	(60,80,100)	97,2 ± 0,2	17,6 ± 1,1	42,1 ± 3,7

Tabela A.1.1 (continuação) – Valores correspondentes da remoção de grupos acetila, solubilização de hemiceluloses e lignina do bagaço de cana-energia G (Vertix 2 – 121744) após o processo de desacetilação.

Ensaio	(t, T, [NaOH])	% Remoção Grupos Acetila	% Solubilização Hemiceluloses	% Solubilização Lignina
G-D17*	(15,60,80)	77,1 ± 2,8	9,2 ± 0,3	$6,9 \pm 0,3$
G-D18*	(30,60,80)	82,9 ± 1,8	9,9 ± 1,1	15,8 ± 1,8
G-D19*	(45,60,80)	85,1 ± 0,4	9,7 ± 0,4	17,7 ± 0,7
G-D20*	(60,60,80)	87,7 ± 0,2	11,2 ± 1,1	19,2 ± 3,7

* Os valores representam os dados da triplicata do ponto central em cada um dos tempos, sendo apresentado o resultado da média dos ensaios.

Ensaio	(t, T, [NaOH])	% Remoção Grupos acetila	% Solubilização Hemiceluloses	% Solubilização Lignina
V-D1	(15,40,60)	82,2 ± 1,8	3,0 ± 0,3	23,4 ± 1,0
V-D2	(30,40,60)	84,0 ± 0,2	$3,0 \pm 0,7$	19,2 ± 1,0
V-D3	(45,40,60)	$74,0 \pm 0,4$	≅0,0 ± 0,3	$19,6 \pm 0,4$
V-D4	(60,40,60)	75,8 ± 1,2	$2,8 \pm 0,2$	13,0 ± 3,2
V-D5	(15,80,60)	80,5 ± 1,8	9,2 ± 0,3	17,6 ± 1,0
V-D6	(30,80,60)	83,7 ± 0,2	$10,2 \pm 0,7$	27,0 ± 1,0
V-D7	(45,80,60)	87,9 ± 0,4	8,6 ± 0,3	26,9 ± 0,4
V-D8	(60,80,60)	89,5 ± 1,2	8,0 ± 0,2	35,5 ± 3,2
V-D9	(15,40,100)	95,3 ± 1,8	$2,6 \pm 0,3$	23,3 ± 1,0
V-D10	(30,40,100)	94,0 ± 0,2	$8,4 \pm 0,7$	17,6 ± 1,0
V-D11	(45,40,100)	89,7 ± 0,4	$5,0 \pm 0,3$	30,1 ± 0,4
V-D12	(60,40,100)	92,9 ± 1,2	13,1 ± 0,2	16,3 ± 3,2
V-D13*	(15,80,100)	96,2 ± 1,8	$6,6 \pm 0,3$	33,8 ± 1,0
V-D14*	(30,80,100)	96,7 ± 0,2	$11,9 \pm 0,7$	46,7 ± 1,0
V-D15*	(45,80,100)	95,6 ± 0,4	12,0 ± 0,3	50,8 ± 0,4
V-D16*	(60,80,100)	97,5 ± 1,2	14,7 ± 0,2	56,7 ± 3,2
V-D17**	(15,60,80)	82,0 ± 1,8	$7,4 \pm 0,3$	23,4 ± 1,0
V-D18**	(30,60,80)	89,1 ± 0,2	$5,6 \pm 0,7$	29,1 ± 1,0
V-D19**	(45,60,80)	91,9 ± 0,4	$5,8 \pm 0,3$	30,5 ± 0,4
V-D20**	(60,60,80)	90,8 ± 1,2	$6,3 \pm 0,2$	34,0 ± 3,2

Tabela A.1. 2 – Valores correspondentes da remoção de grupos acetila, solubilização de hemiceluloses e lignina da variedade de cana-energia V (VG11-26) após o processo de desacetilação.

* Condições em que o balanço de massa não fechou.

** Os valores representam os dados da triplicata do ponto central em cada um dos tempos, sendo apresentado o resultado da média dos ensaios.

ANEXO 2 – Composição dos hidrolisados após pré-tratamento hidrotérmico

Tabela A.2. 1 – Composição dos hidrolisados em relação à xilana quantifica	ada via
HPLC para a variedade de cana-energia G (Vertix 2 – 121744).	

Ensaio	(t,T,[H2SO4])	XOS (%)	Arabinose+ Olig Arabinose (%)	Xilose (%)	Furfural (%)
G-H1	(5,170,0)	67,1	23,9	1,5	0,0
G-H2	(15,170,0)	67,7	23,7	0,5	0,0
G-H3	(5,190,0)	73,7	13,6	2,5	0,7
G-H4	(15,190,0)	75,6	9,0	4,3	2,5
G-H5	(5,170,0.4)	0,0	8,4	80,4	10,8
G-H6	(15,170,0.4)	0,0	8,0	69,8	26,5
G-H7	(5,190,0.4)	0,0	5,2	34,8	77,6
G-H8	(15,190,0.4)	0,0	3,3	20,3	99,0
G-H9	(10,180,0.2)	0,0	8,0	92,5	13,0
G-H10	(10,180,0.2)	0,0	7,8	85,3	14,1
G-H11	(10,180,0.2)	0,0	7,9	89,0	12,5

Ensaio	(t,T,[H2SO4])	XOS (%)	Arabinose+ Olig Arabinose (%)	Xilose (%)	Furfural (%)
V-H1	(10,190,0)	88,9	12,7	2,4	0,7
V-H2	(15,190,0)	88,5	10,9	3,6	0,1
V-H3	(20,190,0)	87,6	9,4	4,6	0,2
V-H4	(25,190,0)	86,2	7,0	6,7	0,4
V-H5	(30,190,0)	84,0	6,1	8,2	0,5
V-H6	(5,200,0)	88,9	11,4	2,9	0,8
V-H7	(10,200,0)	88,4	7,3	5,5	2,4
V-H8	(15,200,0)	82,4	5,1	10,5	4,6
V-H9	(20,200,0)	67,4	3,8	19,9	10,2
V-H10	(5,210,0)	78,9	4,5	12,8	5,1
V-H11	(10,210,0)	40,9	3,5	34,8	20,2
V-H12	(15,210,0)	12,6	3,2	35,2	49,1
V-H13	(20,210,0)	5,0	2,7	22,5	66,4

Tabela A.2. 2 – Composição dos hidrolisados em relação à xilana quantificada via HPLC para a variedade de cana-energia V (VG11-26).

Tabela A.3. 1 – Fator de severidade combinado referente ao pré-tratamento hidrotérmico e solubilização de xilana e lignina presentes no hidrolisado do bagaço de cana-energia da G (Vertix 2 – 121744).

(t,T,[H2SO4])	Xilana (%)	Lignina (%)	log R₀ -pH
(5,170,0)	13,6	12,1	-4,3
(15,170,0)	14,3	12,2	-3,6
(5,190,0)	38,0	21,2	-1,9
(15,190,0)	50,3	25,9	-0,8
(5,170,0.4)	90,9	22,3	1,4
(15,170,0.4)	90,1	17,4	1,9
(5,190,0.4)	97,3	12,3	2,0
(15,190,0.4)	98,4	7,4	2,4
(10,180,0.2)	91,0	21,8	1,6
(10,180,0.2)	89,6	21,5	1,6
(10,180,0.2)	89,3	20,7	1,6

(t,T,[H ₂ SO ₄])	Xilana (%)	Lignina (%)	log R₀ -pH
(10,190,0)	45,5	16,8	-1,5
(15,190,0)	53,9	19,4	-0,9
(20,190,0)	57,8	17,3	-0,6
(25,190,0)	62,0	22,2	-0,3
(30,190,0)	67,3	14,2	-0,1
(5,200,0)	51,3	13,3	-1,3
(10,200,0)	68,2	19,9	-0,5
(15,200,0)	73,5	16,1	0,0
(20,200,0)	79,8	16,1	0,3
(5,210,0)	81,0	20,2	-0,1
(10,210,0)	83,5	24,1	0,5
(15,210,0)	89,0	11,6	0,8
(20,210,0)	90,8	6,7	1,0

Tabela A.3. 2 – Fator de severidade combinado referente ao pré-tratamento hidrotérmico e solubilização de xilana e lignina presentes no hidrolisado da biomassa de cana-energia V (VG11-26).

ANEXO 4 – Concentração total de xilooligômeros nos hidrolisados - (HPLC)

(t,T,[H2SO4])	XOS totais (g L ⁻¹)
(5,170,0)	1,2
(15,170,0)	2,0
(5,190,0)	6,5
(15,190,0)	8,6

Tabela A.4. 1 – Concentração total de XOS nos hidrolisados obtidos no prétratamento hidrotérmico do bagaço de cana-energia G (Vertix 2-121744).

(t,T,[H ₂ SO ₄])	XOS totais (g L ⁻¹)
(10,190,0)	10,5
(15,190,0)	11,1
(20,190,0)	11,6
(25,190,0)	11,8
(30,190,0)	11,5
(5,200,0)	11,3
(10,200,0)	12,7
(15,200,0)	12,0
(20,200,0)	8,7
(5,210,0)	11,6
(10,210,0)	4,0
(15,210,0)	0,7
(20,210,0)	0,2

Tabela A.4. 2 – Concentração total de XOS nos hidrolisados obtidos no prétratamento hidrotérmico da biomassa de cana-energia V (VG11-26).

ANEXO 5 – Concentração de XOS nos hidrolisados - (HPLC-DAP)

Tabela A.5. 1 – Concentração (g L⁻¹) dos XOS, xilobiose (X2), xilotriose (X3), xilotetraose (X4), xilopentaose (X5), xilohexaose (X6) e XOS totais nos hidrolisados obtidos no pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-energia G (Vertix 2-121744).

(t,T,[H2SO4])	X2	X3	X4	X5	X6	XOS totais
(170-5-0)	nd	0,0228	nd	0,0082	nd	0,0310
(170-15-0)	0,0032	0,0241	0,0031	0,0172	nd	0,0476
(190-5-0)	nd	0,1064	0,1432	0,1693	0,1872	0,6061
(190-15-0)	0,4411	0,4050	0,5638	0,5309	0,6665	2,6073

* nd = não detectado

Tabela A.5. 2 – Concentração (g L⁻¹) dos XOS, xilobiose (X2), xilotriose (X3), xilotetraose (X4), xilopentaose (X5), xilohexaose (X6) e XOS totais nos hidrolisados obtidos no pré-tratamento hidrotérmico da biomassa V (VG11-26).

(t,T,[H2SO4])	X2	X3	X4	X5	X6	XOS totais
(190-10-0)	0,1712	0,2696	0,2572	0,2713	0,3461	1,3154
(190-15-0)	0,3587	0,5041	0,5315	0,4859	0,6718	2,5520
(190-20-0)	0,5591	0,7384	0,7996	0,6865	0,9792	3,7628
(190-25-0)	0,9912	1,1360	1,2949	1,0420	1,4424	5,9065
(190-30-0)	1,2782	1,3815	1,5392	1,1697	1,5598	6,9284
(200-5-0)	0,2352	0,3357	0,3919	0,3888	0,5196	1,8712
(200-10-0)	0,8449	1,0305	1,2595	1,0828	1,4967	5,7144
(200-15-0)	1,7409	1,7565	2,0289	1,5126	1,8928	8,9317
(200-20-0)	2,5466	1,9966	1,9636	1,1703	1,1901	8,8672
(210-5-0)	2,0590	1,9501	2,1927	1,5587	1,8486	9,6091
(210-10-0)	2,3871	1,2474	0,9650	0,4059	0,3112	5,3166
(210-15-0)	0,4665	0,1145	0,2502	0,0649	nd	0,8961
(210-20-0)	0,0992	0,0296	0,2275	nd	nd	0,3563

* nd = não detectado