

## AVALIAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO DE BAGAÇO DE CANA POR PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO ALCALINO: I. RENDIMENTO MÁSSICO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA BIOMASSA

Maurício Melo Câmara, (UEM), mauriciomcamara@gmail.com

Flávio Faria de Moraes, (UEM), flavio@deq.uem.br

**RESUMO:** O pré-tratamento de bagaço de cana por peróxido de hidrogênio alcalino foi avaliado nas condições ótimas para liberação de açúcares após hidrólise enzimática previamente determinadas em 8% de sólidos (g sólido/mL solução), solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 11% v/v (15,65% m/m), pH 11,5 (corrigido com NaOH), temperatura de 25 °C e tempo reacional de 1 h em seis ensaios baseados em 1,5 L de solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. No presente trabalho, a técnica foi avaliada em termos do rendimento mássico do pré-tratamento e da variação na composição da biomassa, realizada com base nos procedimentos analíticos do *National Renewable Energy Laboratory* (NREL). O rendimento mássico médio foi de 55,4%, com remoção de 51,58% e 30,75% da lignina e hemicelulose presentes inicialmente, respectivamente, e aumento na fração de celulose em 48,2%, passando de 33% (m/m, base seca) no bagaço *in natura* para 48,9% (m/m, base seca) no bagaço pré-tratado.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Pré-tratamento; Peróxido de hidrogênio alcalino; Bagaço de cana.*

### INTRODUÇÃO

Há algum tempo, a problemática dos biocombustíveis e o uso de energias renováveis ocupam o centro das atenções nacionais e internacionais em razão do aumento excessivo do preço do petróleo, da natureza finita dos combustíveis fósseis e da discussão mundial sobre a redução nas emissões de CO<sub>2</sub> e a consequente diminuição do efeito estufa (KOHLHEPP, 2010). Atualmente, o foco está na produção de etanol a partir de culturas como milho, trigo e cana-de-açúcar, bem como a partir dos abundantes resíduos lignocelulósicos agrícolas (BALAT, 2011). Do ponto de vista tecnológico, os açúcares contidos nas frações celulósica e hemicelulósica da lignocelulose representam os substratos que podem ser utilizados na produção de etanol pela via fermentativa (CANILHA et al., 2009).

A conversão de biomassa lignocelulósica em etanol envolve basicamente quatro etapas: i) pré-tratamento, ii) hidrólise dos polissacarídeos contidos no material em açúcares, iii) fermentação destes açúcares a etanol, e iv) destilação para recuperação do etanol (CARDONA ALZATE e SÁNCHEZ TORO, 2006). A etapa de hidrólise é usualmente realizada por métodos enzimáticos ou químicos, em que a hidrólise enzimática é preferida por ser conduzida em condições brandas e por apresentar maiores rendimentos em açúcar e baixa formação de subprodutos (PAN et al., 2005; SUN e CHENG, 2005; TAHERZADEH e KARIMI, 2007). Além disso, as enzimas não são tóxicas e nem corrosivas (AL-ZUHAIR, 2008).

O pré-tratamento é uma importante etapa do processo de conversão da celulose, sendo necessário para alterar a estrutura da biomassa tornando as moléculas de celulose mais acessíveis às enzimas que convertem os polímeros em açúcares fermentescíveis. O objetivo do pré-tratamento é quebrar a barreira de lignina e romper a estrutura cristalina da celulose (MOSIER et al., 2005).

Os processos de pré-tratamento podem ser físicos, químicos, biológicos ou uma combinação desses métodos. Dentre as diversas técnicas, o pré-tratamento químico por peróxido de hidrogênio alcalino tem despertado interesse, pois é realizado com reagentes facilmente acessíveis e de baixa toxicidade e impacto ambiental, em condições brandas de temperatura e pressão sem o emprego de ácidos, além de ser compatível com operações de separação, formar praticamente nenhum produto secundário e apresentar quase 100% de recuperação da celulose na forma de glicose após hidrólise enzimática (BANERJEE et al., 2012; RABELO et al., 2011; RIVERA et al., 2010).

Rabelo (2007) realizou estudo de otimização do pré-tratamento por peróxido de hidrogênio alcalino em bagaço de cana não moído, obtido de cana queimada e colheita manual, tendo como objetivo a maximização da concentração de glicose após a hidrólise enzimática, e determinou as condições ótimas do pré-tratamento em 1 h de reação, 25 °C, 4 g de bagaço de cana-de-açúcar não peneirado em 100 mL de solução de peróxido de hidrogênio 7,355% (v/v) em pH 11,5. Garcia (2009) realizou estudo semelhante, dessa vez utilizando bagaço proveniente de colheita mecanizada, moído e com granulometria menor que 0,5 mm, para determinar se as condições ótimas de Rabelo (2007) continuavam sendo válidas. As condições não permaneceram iguais e as condições ótimas determinadas por Garcia (2009) foram 1 h de reação, 25 °C, 8 g de bagaço em 100 mL de solução de peróxido 11% v/v e pH de 11,5.

Considerando as condições ótimas determinadas no trabalho de Garcia (2009) e o fato de que a necessidade de redução do tamanho das partículas de biomassa é uma característica de um pré-tratamento eficiente (MOSIER et al., 2005), o presente trabalho teve por objetivo avaliar o pré-tratamento de bagaço de cana não moído, obtido por colheita não mecanizada, por peróxido de hidrogênio alcalino em uma escala 15 vezes maior que a utilizada por Garcia (2009).

## **METODOLOGIA EXPERIMENTAL**

### **Materiais**

Todos os reagentes utilizados nesse trabalho foram de padrão analítico, a não ser que seja mencionado o contrário.

O bagaço de cana-de-açúcar utilizado nesse trabalho foi cedido pelo Grupo Santa Terezinha Ltda.

O reagente usado na preparação da solução de pré-tratamento é uma solução comercial de peróxido de hidrogênio 50% (m/m), fornecido pela Buschle & Lepper S.A. e adquirido na empresa Quibras Química Brasileira Ltda. em Maringá – PR.

### **Pré-tratamento por Peróxido de Hidrogênio Alcalino**

Utilizando o trabalho de Garcia (2009) como referência, definiu-se que as condições de pré-tratamento por peróxido de hidrogênio alcalino para esse estudo seriam 8% de sólidos (g sólido/mL solução), solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 11% v/v (15,65% m/m), pH 11,5 (corrigido com NaOH), temperatura de 25 °C e tempo reacional de 1 h. Os ensaios de pré-tratamento foram realizados em reator cilíndrico de aço inox com 30 cm de diâmetro por 43 cm de comprimento, provido de pás de agitação impulsionadas manualmente.

Foram realizados seis ensaios de pré-tratamento baseados em 1,5 L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 11% v/v (15,65% m/m). Inicialmente, foram calculadas as quantidades de água e reagente H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 50% necessárias para produzir 1,5 L de solução H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 11% v/v (15,65% m/m), bem como a quantidade de bagaço seco correspondente a 8% m/v solução (M<sub>bag</sub>). Em seguida adicionou-se ao reator o bagaço e 88% da massa da água, deixando em contato por 30 min para umidificação do bagaço. Após a umidificação, adicionou-se o reagente H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 50% e iniciou-se a correção do pH com uma solução de NaOH preparada a partir da massa de água restante, i.e., 12%. Dessa forma, a concentração final de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no reator foi de 11% v/v (15,65% m/m). Depois de atingido o pH 11,5 iniciou-se a contagem do tempo de reação. Foram utilizadas também pequenas quantidades (menor que 50 µL) de antiespumante Antifoam 204 (Sigma-Aldrich) para extinguir a espuma e evitar perda de material por transbordamento. Ao término da reação, o sobrenadante foi descartado e o bagaço remanescente lavado com água até que a água de lavagem estivesse límpida (aproximadamente 10 lavagens). Na sequência, o material pré-tratado foi seco em estufa a 105 °C por 24 h, resfriado em dessecador até temperatura ambiente e pesado em balança analítica (M<sub>bag-pt</sub>). Ao fim dos ensaios, o material produzido em todas as bateladas foi reunido, homogeneizado, acondicionado em recipiente hermético e armazenado em geladeira até o uso nos experimentos de caracterização. O rendimento mássico de pré-tratamento (R<sub>pt</sub>) foi calculado pela equação a seguir:

$$R_{pt}[\%] = \frac{m_{bag-pt}}{m_{bag}} \cdot 100 \quad (1)$$

### Análise da Composição Química da Biomassa

A caracterização química da biomassa antes e depois do pré-tratamento foi realizada com base nos procedimentos analíticos do *National Renewable Energy Laboratory* (NREL) e determinam a quantidade de cinzas, extrativos, carboidratos estruturais (celulose e hemicelulose) e lignina contidos na biomassa. Todos os resultados são calculados em base seca, i.e., por unidade de biomassa seca, e a determinação do teor de umidade foi realizada sempre antes de cada procedimento de acordo com Sluiter et al. (2008a).

Inicialmente, o bagaço foi moído em moinho de facas e peneirado. As partículas correspondentes à fração -20/+80 mesh foram separadas e utilizadas na análise de composição (HAMES et al., 2008). O teor de cinzas foi determinado pela carbonização em mufla a  $575 \pm 25$  °C durante 24 h de amostras homogêneas de bagaço (SLUITER et al., 2008b). Aproximadamente 3 g de amostra foram utilizadas na determinação dos extrativos na biomassa, realizada em duas extrações consecutivas em aparelho Soxhlet, uma com água e outra com álcool etílico comercial 96 °GL, ambas por 24 h (SLUITER et al., 2008c). A determinação dos carboidratos estruturais e lignina, realizada após a etapa de extração, seguiu o procedimento padrão descrito em Sluiter et al. (2011). As amostras de bagaço extraídas, i.e., resultantes da etapa de extração em Soxhlet, foram submetidas à hidrólise ácida com ácido sulfúrico 72% (m/m) a 30 °C por 1 h (300 mg de amostra e 3,0 ml de ácido sulfúrico). Após o período de 1 h, o ácido foi diluído à concentração final de 4% (adição de 84,0 mL de água) e a mistura aquecida a 121 °C (1,1 bar) em autoclave, também por 1 h. O material resultante foi resfriado e filtrado com papel de filtro. Os sólidos insolúveis foram secos a 105 °C, carbonizados a 575 °C e a fração carbonizada foi denominada como lignina insolúvel em ácido (lignina de Klason). A concentração de lignina solúvel em ácido presente no filtrado foi determinada pela medida da absorbância da amostra em 240 nm usando o valor de absorvidade de  $25 \text{ L g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . As concentrações de açúcares monoméricos na fração solúvel foram determinadas após a neutralização do filtrado com carbonato de cálcio por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), conforme descrito adiante. Assim, as concentrações de celulose e hemicelulose foram calculadas por:

$$\text{celulose}[\%] = \text{celobiose}[\%] + \text{glicose}[\%] \quad (2)$$

$$\text{hemicelulose}[\%] = \text{xilose}[\%] + \text{arabinose}[\%] + \text{acetil}[\%] \quad (3)$$

### Determinação de Açúcares em Solução

Para quantificação dos açúcares em solução, as amostras foram filtradas em filtros de 0,45 µm e transferidas em *vials* para análise em CLAE. A determinação de açúcares foi feita em cromatógrafo

Varian 920-LC equipado com coluna Biorad Aminex HPX-87H na temperatura de 65 °C, utilizando como fase móvel H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 mM filtrado e desgaseificado na vazão 0,6 mL/min. O volume de injeção de amostra foi 20 µL e os açúcares foram detectados por detector de índice de refração na temperatura de 55 °C em corrida de 35 min. Celobiose, glicose, xilose e ácido acético foram usados como padrões de calibração externa e foram utilizadas correções para as reações de degradação dos açúcares durante a hidrólise ácida. Os fatores de conversão de açúcares monoméricos em anidromônômeros foram 0,95 (celobiose), 0,90 (glicose), 0,88 (xilose e arabinose) e 0,70 (acetil), calculados com base na adição de água às unidade monoméricas dos polissacarídeos durante a hidrólise ácida.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizados seis ensaios de pré-tratamento baseados em 1,5 L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 11% v/v (15,65% m/m), i.e., em cada batelada foram tratados 120 g (base seca) de bagaço. Na Tabela 1 estão apresentados os rendimentos em massa dos ensaios de pré-tratamento, correspondendo a um rendimento médio de 55,4%.

A perda de massa média de 44,6% observada no pré-tratamento foi semelhante aos resultados apresentados por Wei e Cheng (1985), que estudaram o efeito do pré-tratamento por peróxido de hidrogênio nas características estruturais e na hidrólise enzimática de palha de arroz. Em um estudo da viabilidade do aumento de escala do pré-tratamento por peróxido de hidrogênio alcalino, Banerjee et al. (2012) realizaram o pré-tratamento de 1 kg de resíduos de milho com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na razão 0,125 g/g biomassa, 22 °C, pressão atmosférica e pH 11,5 durante 48 h, com ajuste periódico do pH. Durante o pré-tratamento, houve diminuição de aproximadamente 35% do material insolúvel, correspondendo a um rendimento mássico aproximado de 65%. Segundo os autores, a maior parte dessa diminuição foi causada pela solubilização da lignina (passando de 18% para 6%), enquanto uma menor parte foi causada pela solubilização de glucanos (5,5% do total) e xilanos (10,1% do total).

**Tabela 1 – Quantidades finais de bagaço pré-tratado e rendimentos obtidos nos ensaios de pré-tratamento.**

Ensaio	Rendimento (%)	Bagaço pré-tratado produzido (g)
1	61,5	73,8
2	60,1	72,1
3	52,3	62,8

4	54,0	64,8
5	51,4	61,7
6	52,9	63,5
Média	55,4	66,5

Após os ensaios de pré-tratamento, realizou-se o ensaio de caracterização para a amostra de bagaço *in natura* e para o bagaço pré-tratado. Os resultados da caracterização estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2 – Composição química do bagaço de cana antes e depois do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino e perda de massa por componente devido ao pré-tratamento.**

Componente	Composição (% , base seca)		Variação na composição (%)	Variação mássica* (%)
	Bagaço <i>in natura</i>	Bagaço pré-tratado		
Cinzas	9 ± 1	1,7 ± 0,1	-81,1	-89,54
Extrativos	2,18 ± 0,05	5,9 ± 0,2	170,6	49,94
Lignina	19,3 ± 0,7	16,87 ± 0,07	-12,4	-51,58
Celulose	33 ± 3	48,9 ± 0,3	48,2	-17,91
Hemicelulose	18 ± 2	22,5 ± 0,2	25,0	-30,75
Total	81	95,9		-44,6

\* Com base no rendimento mássico médio de pré-tratamento de 55,4%.

Os resultados da caracterização mostraram que o pré-tratamento foi capaz de aumentar a fração de celulose no bagaço de cana em 48,2%, passando de 33% (m/m, base seca) no bagaço *in natura* para 48,9% (m/m, base seca) no bagaço pré-tratado. Apesar do pré-tratamento por peróxido de hidrogênio alcalino se destacar pela alta taxa de deslignificação, os resultados mostraram que a redução relativa no teor de lignina obtida com o pré-tratamento foi de apenas 12,4% no presente trabalho. Além disso, um resultado interessante foi o aumento relativo de 25,0% no teor de hemicelulose (xilanas), visto que um dos efeitos característicos desse tipo de pré-tratamento é também a solubilização da hemicelulose.

Adicionalmente à comparação entre as composições antes e depois do pré-tratamento, a eficiência do pré-tratamento também foi avaliada pela massa removida de cada componente, também apresentada na Tabela 2 e calculada com base no rendimento mássico médio obtido nos ensaios de pré-tratamento e nas composições do bagaço *in natura* e pré-tratado. Por meio dessa abordagem, o pré-tratamento removeu 51,58% da lignina presente inicialmente, enquanto para a hemicelulose houve

remoção de 30,75%, comprovando que o aumento no teor de hemicelulose no material foi um aumento relativo. Para a celulose, o pré-tratamento solubilizou 17,9% da quantidade presente no bagaço *in natura*, corroborando com os resultados de Sun et al. (2000), que obtiveram solubilização de 17,8% para pré-tratamento com peróxido de hidrogênio a 5%. O valor de remoção da lignina foi próximo ao obtido por Azzam (1989), que observou remoção de cerca de 50% da lignina para o pré-tratamento de bagaço de cana com peróxido de hidrogênio 2% a 30 °C durante 8 h.

Ao comparar os resultados da caracterização do bagaço pré-tratado obtidos no presente trabalho com os resultados de Garcia (2009), apresentados na Tabela 3, observa-se uma grande diferença, mesmo que os pré-tratamentos tenham sido realizados nas mesmas condições. Com base na composição química do material, o pré-tratamento realizado por Garcia (2009) foi mais eficiente, resultando em aumento de 60,9% no teor de celulose e reduções de 29,9% e 60,7% nos teores de hemicelulose e lignina, respectivamente. Além disso, cinzas e extrativos foram completamente removidos. Garcia (2009) não menciona os rendimentos em massa obtidos no pré-tratamento. Entretanto, foi relatado que o pré-tratamento por peróxido de hidrogênio 7,355% (v/v), pH 11,5, 4% de sólidos (g sólido/mL solução), a 25 °C durante 1 h, resultou em rendimento em massa de 41,6% (RABELO, 2007). Adicionalmente, estas condições resultaram em redução de 72,9% e 45,5% nos teores de lignina e hemicelulose e aumento de 96,0% no teor de celulose, respectivamente, alcançando teores finais de 7,0% de lignina, 12,1% de hemicelulose e 77,6% de celulose.

**Tabela 3 – Composição química do bagaço de cana antes e depois do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino, obtido por Garcia (2009).**

Componente	Bagaço <i>in natura</i>		Bagaço pré-tratado		Diferença (%)
	% (base seca)	Desvio	% (base seca)	Desvio	
Cinzas	1,79	0,02	0	-	-100,0
Extrativos	3,3	0,2	0	-	-100,0
Lignina	25,1	0,5	9,9	0,4	-60,7
Celulose	37,4	0,5	60,1	0,9	60,9
Hemicelulose	23,7	0,9	16,6	0,6	-29,9
Total	91	1	87	1	

Além da diferença na escala dos pré-tratamentos, as condições de agitação e mistura também foram diferentes. Ambos os pré-tratamentos, de Rabelo (2007) e de Garcia (2009), foram realizados com 100 mL de solução de peróxido de hidrogênio e mantidos sob agitação mecânica durante todo o tempo de reação. No presente trabalho, o volume de solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> utilizada foi de 1,5 L e a agitação

foi realizada manualmente por um conjunto de pás. Embora não se possa afirmar que esses dois fatores foram determinantes para o surgimento das diferenças apresentadas e da redução na eficiência do pré-tratamento, acredita-se que tenham influenciado em algum grau, uma vez que Gould (1985) comenta em seu trabalho que o tratamento aparentou requerer certo grau de agitação mecânica para atingir valores máximos.

Outro aspecto que pode ter contribuído para a redução na eficiência é a procedência do bagaço de cana, bem como sua condição antes do pré-tratamento. Anteriormente, Garcia (2009) concluiu que o pré-tratamento é sensível à procedência do bagaço ao comparar seus resultados com os de Rabelo (2007). O bagaço usado por Garcia (2009) foi moído e peneirado e obtido de colheita mecanizada de cana não queimada, enquanto o bagaço usado por Rabelo (2007) não era moído e provinha de cana queimada. O bagaço usado no presente trabalho não era moído e foi obtido por colheita não mecanizada. Novamente, não se descarta a possibilidade de que a procedência do bagaço e o tamanho e condição das fibras antes do pré-tratamento tenham influenciado em algum grau a eficiência do pré-tratamento.

Gould (1984) não observou remoções significativas de lignina em materiais obtidos por pré-tratamentos realizados em altas concentrações de sólidos ( $> 6$  g/mL) e não obteve aumentos na biohidrólise da celulose para esses materiais. Gould (1985) afirma que é muito provável que essas observações sejam resultado do desaparecimento de  $H_2O_2$  do meio reacional pela formação de  $O_2$  pelas rápidas reações paralelas não deslignificantes. Além disso, Wei e Cheng (1985) afirmam que sob efeitos catalíticos de íons metálicos, como  $Fe^{2+}$ , o peróxido de hidrogênio decompõem-se muito mais rapidamente que na ausência dos mesmos íons. Gould (1985) observou que a remoção de contaminantes metálicos dos sólidos eliminaram a formação de  $O_2$  da mistura reacional, mesmo em altas concentrações de sólidos (6-10 g/mL). A remoção de metais também restaurou a eficiência de remoção da lignina e aumentou a eficiência de sacarificação de materiais obtidos por pré-tratamentos em altas concentrações de sólidos a níveis comparáveis com os obtidos por pré-tratamentos em baixas concentrações de sólidos. No presente trabalho, nenhuma consideração foi feita a respeito da presença de íons metálicos no bagaço de cana e, por isso, é possível que os baixos níveis de deslignificação tenham sido afetados pela presença de tais íons.

## AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES – Brasil.

Os autores agradecem ao Grupo Santa Terezinha Ltda., unidade Iguatemi, pelo fornecimento do bagaço de cana que possibilitou a realização desse trabalho.

## CONCLUSÃO

O pré-tratamento de bagaço de cana por peróxido de hidrogênio alcalino apresentou rendimento mássico médio de 55,4% em seis experimentos realizados nas condições ótimas de liberação de açúcares após hidrólise enzimática definidas para o mesmo material lignocelulósico em outro trabalho. O pré-tratamento removeu 51,58%, 30,75% e 17,9% da lignina, hemicelulose e celulose presentes inicialmente, respectivamente, apresentando teores finais de 16,87% de lignina, 28,5% de hemicelulose e 48,9% de celulose. Comparando os resultados obtidos com outros trabalhos na literatura, acredita-se que os principais fatores envolvidos nas baixas taxas de remoção de lignina e hemicelulose foram a procedência do bagaço, o tamanho e condição das fibras antes do pré-tratamento e a possível presença de íons metálicos no bagaço de cana.

## REFERÊNCIAS

- AL-ZUHAIR, S. **The effect of crystallinity of cellulose on the rate of reducing sugars production by heterogeneous enzymatic hydrolysis.** *Bioresource Technol*, 2008, 99: 4078–4085.
- AZZAM, A.M. **Pretreatment of cane bagasse with alkaline hydrogen peroxide for enzymatic hydrolysis of cellulose and ethanol fermentation.** *Journal of Environmental Science and Health B*, 1989, 24: 421–433.
- BALAT, M. **Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review.** *Energy Conversion and Management* 2011, 52: 858–875.
- BANERJEE, G.; CAR, S.; LIU, T.; WILLIAMS, D.L.; MEZA, S.L.; WALTON, J.D.; HODGE, D.B. **Scale-up and integration of alkaline hydrogen peroxide pretreatment, enzymatic hydrolysis, and ethanolic fermentation.** *Biotechnol. Bioeng.*, 2012, 109: 922-931.
- CANILHA, L.; MILAGRES, A.M.F.; SILVA, S.S.; ALMEIDA E SILVA, J.B.; FELIPE, M.G.A.; ROCHA, G.J.M.; FERRAZ, A.; CARVALHO, W. **Sacarificação da biomassa lignocelulósica através de pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática: uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal.** *Rev. Anal.*, 2009, 44: 48–54.
- CARDONA ALZATE, C.A.; SÁNCHEZ TORO, O.J. **Energy consumption analysis of integrated flow sheets for production of fuel ethanol from ligno-cellulosic biomass.** *Energy*, 2006, 31: 2447–2459.
- GARCIA, D.R. **Determinação de dados cinéticos do pré-tratamento de bagaço de cana-de-açúcar**

com peróxido de hidrogênio alcalino e da hidrólise enzimática posterior. Dissertação (mestrado), Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2009.

GOULD, J.M. **Alkaline peroxide delignification of agricultural residues to enhance enzymatic saccharification.** *Biotechnology and Bioengineering*, 1984, 26: 46–52.

GOULD, J.M. **Studies on the mechanism of alkaline peroxide delignification of agricultural residues.** *Biotechnology and Bioengineering*, 1985, 27(3): 225–231.

HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, A.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. **Preparation of Samples for Compositional Analysis: Laboratory Analytical Procedure (LAP) (Revised).** NREL Report No. TP-510-42620, 2008, 12 p.

KOHLHEPP, G. **Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil.** *Estudos Avançados*, 2010, 24 (68): 223–253.

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

PAN, X.; ARATO, C.; GILKES, N.; GREGG, D.; MABEE, W.; PYE, K.; XIAO, Z.; ZHANG, X.; SADDLER, J. **Biorefining of softwoods using ethanol organosolv pulping: Preliminary evaluation of process streams for manufacture of fuel-grade ethanol and co-products.** *Biotechnol. Bioeng.*, 2005, 90: 473-481.

RABELO, S.C. **Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar.** Dissertação (mestrado). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2007.

RABELO, S.C.; FONSECA, N.A.A.; MACIEL FILHO, R.; COSTA, A.C. **Ethanol production from enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse pretreated with lime and alkaline hydrogen peroxide.** *Biomass and Bioenergy*, 2011, 35: 2600-2607.

RIVERA, E.C.; RABELO, S.C.; DOS REIS GARCIA, D.; FILHO, R.M.; DA COSTA, A.C. **Enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse for bioethanol production: determining optimal enzyme loading using neural networks.** *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2010, 85: 983–992.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. **Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples: Laboratory Analytical Procedure (LAP).** NREL Report No. TP-510-42621, 2008a, 9 p.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.

**Determination of Ash in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP).** NREL Report No. TP-510-42622, 2008b, 8 p.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; CROCKER, D. **Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP) (Revised July 2011).** Issue Date: 4/25/2008. NREL Report No. TP-510-42618, 2011, 18 p.

SLUITER, A.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. **Determination of Extractives in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP).** NREL Report No. TP-510-42619, 2008c, 12 p.

SUN, R.C.; TOMKINSON, J.; MA, P.L.; LIANG, S.F. **Comparative study of hemicelluloses from rice straw by alkali and hydrogen peroxide treatments.** Carbohydrate Polymers, 2000, 42: 111–122.

SUN, Y.; CHENG, J.J. **Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production.** Bioresour. Technol., 2005, 96 (14): 1599–1606.

TAHERZADEH, M.J.; KARIMI, K. **Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review.** Bioresource, 2007, 2 (3): 472–499.

WEI, C-H.; CHENG, C-Y. **Effect of hydrogen peroxide pretreatment on the structural features and the enzymatic hydrolysis of rice straw.** Biotechnol Bioeng, 1985, 27: 1418–1426.