UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

WILIAN FIORELI MARCONDES

Integração da produção de xilo-oligossacarídeos como co-produto de alto valor agregado ao processo de produção de celulose nanofibrilada a partir do bagaço de cana-de-açúcar

LORENA – SP

2018

WILIAN FIORELI MARCONDES

Integração da produção de xilo-oligossacarídeos como co-produto de alto valor agregado ao processo de produção de celulose nanofibrilada a partir do bagaço de cana-de-açúcar

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na área de concentração de conversão de biomassa

Orientador: Prof. Dr. Valdeir Arantes

Versão Corrigida

Lorena – SP

2018

NÃO AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, SERÁ DISPONIBILIZADO AUTOMATICAMENTE APÓS 2 ANOS DA PUBLICAÇÃO

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado
da Escola de Engenharia de Lorena,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Marcondes, Wilian Fioreli
Integração da produção de xilo-oligossacarídeos como co-produto de alto valor agregado ao processo de produção de celulose nanofibrilada a partir do bagaço de cana-de-açúcar / Wilian Fioreli Marcondes; orientador Valdeir Arantes - Versão Corrigida. - Lorena, 2018.
71 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências - Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Conversão de Biomassa) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2018

1. Xos. 2. Cnf. 3. Biorrefinaria. 4. Otimização processo. 5. Tratamento ácido em duas etapas. I. Título. II. Arantes, Valdeir, orient.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à memória de meu irmão Ernaldo Cesar Marcondes Junior, que nos deixou durante o período do meu mestrado, mas que sempre me deu apoio e se prontificou a me ajudar a alcançar meus objetivos, mesmo quando não tinha condições arrumava uma maneira para me apoiar.

Dedico a memória de minha mãe Adalgisa Aparecida Fioreli Marcondes, que também nos deixou durante o período de desenvolvimento deste trabalho, que mesmo em seu leito de morte me apoiou na escolha que fiz e me deu forças para não desistir de tudo, mesmo com as adversidades que a vida me apresentava.

Dedico este trabalho ao meu filho Vicente Fioreli de Almeida Marcondes, que foi concebido durante o desenvolvimento deste trabalho, que veio para dar força para enfrentar os percalços do caminho da vida e veio trazer alegria novamente para a família e minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a esta força superior que guia a energia do universo, para nos dar as oportunidades de atingirmos nosso potencial.

Agradeço a minha família pelo apoio e incentivo para continuar na vida acadêmica.

Ao meu orientador Prof. Dr. Valdeir Arantes pelo tempo investido em mim, pela confiança e encaminhamento para uma melhor execução dos trabalhos.

À Prof. Dra. Adriane Milagres pela disponibilidade da infraestrutura para a realização deste trabalho.

Aos funcionários da secretária e da coordenação de pós-graduação no auxílio para que toda parte burocrática fosse resolvida com agilidade e rapidez.

Aos técnicos do departamento de biotecnologia (DEBIQ) no auxílio a realizações de experimentos, com especial atenção ao José Moreira, José Carlos, Bárbara Pereira e Fabrício Batista.

Aos meus colegas de laboratório pela força, paciência, ajuda em assuntos técnicos e pessoais.

À Usina Vale - Estância Vale do Rio Turvo - Onda Verde Agro Comercial S.A (Onde Verde- SP) que doou o bagaço de cana-de-açúcar para a realização deste trabalho.

Ao Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE) pela disponibilidade da infraestrutura no tratamento do bagaço utilizado neste trabalho.

Agradeço por fim as agências de fomento, CAPES e FAPESP pelo apoio financeiro.

RESUMO

MARCONDES, W.F. **Integração da produção de xilo-oligossacarídeos como co-produto de alto valor agregado ao processo de produção de celulose nanofibrilada a partir do bagaço de cana-de-açúcar.** 2018. 71 p. Dissertação (Mestre em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2018

Neste trabalho, foram realizados pré-tratamentos para maximizar o fracionamento dos componentes da biomassa e alcançar uma alta valorização do material. Relatamos uma integração de etapas de pré-tratamentos obter três produtos de alto valor agregado em um conceito de biorrefinaria: xilooligosacarídeo (XOS), xilose e celulose nanofibrilhada (CNF). Foi estudada a maximização de valor da fração hemicelulosica do bagaço de cana-de-açúcar através de extração hidrotérmica, de preferência na forma de XOS, e também se avaliou a produção de CNF, um nanomaterial emergente com inúmeras aplicações em diversos setores, como papel, têxteis e eletrônicos. Para selecionar a melhor condição de solubilização de hemicelulose na forma de XOS, as condições do processo hidrotérmicos foram avaliadas com planejamento experimental estatístico 2^3, com rotação do tipo estrela, a fim de analisar o efeito combinado de temperatura, tempo e concentração de ácido (H_2SO_4). A melhor condição experimental para produzir XOS com alto rendimento e seletividade foi a 182 °C durante 5,5 minutos e sem adição de ácido, obtendo um hidrolisado com recuperação de 43 % da xilana inicial na forma de XOS e apenas 2 % na forma de xilose. Um segundo tratamento hidrotérmico foi realizado com o objetivo de remover a xilana residual do bagaço tratado, de preferência na forma de XOS. Devido à alta recalcitrância do material, não foi possível encontrar uma condição experimental para obter alta seletividade para XOS no segundo pré-tratamento e, portanto, foi escolhido obter um hidrolisado rico em xilose, um produto que também possui diversas aplicações. As melhores condições experimentais para se obter um hidrolisado rico em xilose foram determinadas a 168 ° C durante 5,5 minutos e 1,01% m/m de H_2SO_4, obtendo-se uma recuperação de 36 % da xilana presente inicialmente no bagaço na forma de xilose e apenas 3 % na forma de XOS, sendo este um processo altamente seletivo para recuperação da xilana na forma monomérica. A fração sólida oriunda das etapas de extração da xilana foi deslignificada com NaOH e branqueada em duas etapas, com H_2O_2 em meio alcalino e com $NaClO_2$ em meio ácido, obtendo pasta celulósica com alto teor de celulose (88,9% m/m de celulose). A polpa celulósica foi processada em um refinador de disco mecânico (SupermassColloider) para produzir celulose nanofibrilada (CNF-B). As propriedades morfológicas do CNF-B foram avaliadas e verificou-se que foi semelhante à nanocelulose de polpa Kraft (CNF-K), em relação as suas dimensões, produzida nas mesmas condições. Além disso, a produção do CNF-B consumiu cerca de um terço da energia necessária para obter o CNF-K. O balanço de massa final do processo mostrou uma alta recuperação dos carboidratos originais em produtos de alto valor agregado. A recuperação da xilana foi de cerca de 88% m/m, sendo 43% m/m de XOS e 36% m/m de xilose. O alto conteúdo recuperado dos coprodutos demonstra a alta seletividade das otimizações realizadas. Por fim, o processo obteve alta recuperação e conversão de celulose à CNF-B, com um rendimento de 88% m/m.

Palavras-chave: XOS. CNF. Tratamento hidrotérmico. Biorrefinaria. Tratamento ácido duas etapas. Otimização processo.

ABSTRACT

MARCONDES, W.F. **Integration of xylooligosaccharide production as a high-value co-product to the process of production of nanofibrillated cellulose from sugarcane bagasse.** 2018. 71 p. Dissertation (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2018

A pretreatment has been pursued to maximize the biomass components and achieve a high material´s valorization. Here, we report an integration of pathways, which have been effective to obtain three high value-added products in a biorefinery concept: XOS, xylose and cellulose nanofibrillated (CNF). The maximization of hemicellulose fraction was studied through hydrothermal extraction from sugarcane bagasse, preferably oligosaccharides (XOS) form, and it was also evaluated CNF production, an emerging nanomaterial with numerous applications in diverse sectors such as paper, textiles and electronics. To select the best condition of hemicellulose solubilization in the form of XOS, the hydrothermal process conditions were evaluated with statistical experimental design to analyze the combined effect of temperature, time and acid concentration (H_2SO_4). The best experimental condition to produce XOS with high yield and selectivity was at 182 ° C for 5.5 minutes and without acid addition, obtaining a hydrolysate with 75% w/w of XOS content, which corresponds to 43% w/w of the original xylan. A second hydrothermal treatment was performed with the aim of remove a residual xylan from treated bagasse, focusing in XOS form. Because of the high susceptibility of the material, it was not possible to find an experimental condition to achieve high selectivity for XOS in the second pretreatment and, therefore, it was chosen to obtain a hydrolyzate rich in xylose, a product with many applications as well. The best experimental conditions to the hydrolyzate system based in xylose was determined at 168 ° C for 5.5 minutes and 1.01% w/w H_2SO_4, obtaining a xylose's yields of 36% w/w (initial xylan). The solid fraction of the second hydrothermal step was deslignificated with NaOH and bleached in two steps, with H_2O_2 at alkaline medium and with $NaClO_2$ at acid medium, obtaining cellulosic pulp with high cellulose content (88.9% w/w of cellulose). Cellulosic pulp was processed in a mechanical disc refiner (SupermassColloider) to produce fibrillated nanocellulose (CNF-B). The morphological properties of the CNF-B were evaluated, and it was found to be similar to Kraft pulp nanocellulose (CNF-K) produced at same conditions. Besides that, the production of CNF-B consumed about one third of the energy required to obtain CNF-K. CNF-B and CNF-K were also compared in terms of mean diameter and it was obtained 56.72 nm and 36.83 nm, respectively. The final mass balance of the process showed a high recovery of the original carbohydrates in means of high value-added product. The recovery of xylan was around 88%, being 43% w/w of XOS and 36% w/w of xylose. The high content recovered of the co-products demonstrate the high selectivity of the optimizations performed. Thus, this resulted in a high recovery and conversion of cellulose in the CNF-B with a yield of 88% w/w.

Keywords: XOS, CNF, Hydrothermal treatment, Biorefinary, Two steps acid tratament. process's optimization.

LISTA DE FIGURA

Figura 1 – Esquema da estrutura dos materiais lignocelulósicos. 15

Figura 2 – Esquema da ligação das cadeias de celulose 16

Figura 3 – Esquema representativo da cadeia de arabinoxilana. 17

Figura 4 – Esquematização da estrutura da lignina com os seus três precursores: álcool coniferílico, álcool sinapílico e álcool *p*-cumarílico. 18

Figura 5 – Modelo cinético para a hidrólise da hemicelulose de xilana. 22

Figura 6 – Composição do hidrolisado em relação a solubilização da hemicelulose de xilana da palha de milho na condição de 160 ºC e 0.5 % (m/m) de ácido. 23

Figura 7 – Representação da recuperação de xilose, glicose e carboidratos totais após uma etapa de pré-tratamento hidrotérmico em meio ácido. 25

Figura 8 – Fluxograma dos métodos de produção de xilooligossacarídeos 28

Figura 9 – Fluxograma com as rotas para obtenção de bioprodutos a partir de material lignocelulósico – A: Xilo-oligossacarídeo (XOS); B: Nanocelulose; C: XOS e Nanocelulose. 34

Figura 10 – Fluxograma experimental para produção de xilo-oligossacarídeo e celulose nanofibrilada a partir do bagaço da cana-de-açúcar. 36

Figura 11 – Superfície de contorno para a resposta XOS, fixando a variável tempo em 5,5 minutos. 48

Figura 12 – Superfície de contorno para a resposta “XOS + xilose” e xilose, fixando a variável tempo em 5.5 minutos. 53

Figura 13 – Balanço de massa das etapas de pré-tratamento partindo do bagaço até obtenção de polpa celulósica, considerando a massa seca inicial de 100 g de bagaço. 57

Figura 14 – Taxa de consumo de energia para obtenção de CNF-B e CNF-K 59

Figura 15 – Distribuição dos tamanhos de partículas para (A) CNF -B e (B) CNF -K. 60

Figura 16 – Imagem de microscopia de força atômica para fibras de (A) CNF-B e (B) CNF-K. 60

LISTA DE TABELA

Tabela 1 – Condições experimentais do planejamento experimental do primeiro pré-tratamento em meio ácido, com os valores das variáveis independentes tempo, temperatura e concentração de H_2SO_4 em relação a biomassa (% m/m). 40

Tabela 2 – Composição química do bagaço de cana-de-açúcar *in natura* e após lavagem. 43

Tabela 3 – Planejamento experimental fatorial completo 2^3, com repetições no ponto central e pontos axiais com rotação do tipo estrela, da primeira etapa hidrotérmica, com os valores das variáveis reposta XOS, xilose e XOS + xilose e do produto de degradação da xilose (Furfural) 45

Tabela 4 – Análise de variância (ANOVA) para a variável XOS, xilose e a soma de ambas, com intervalo de confiança de 90 % e valor do coeficiente de correlação (R^2), para a primeira etapa do pré-tratamento hidrotérmico. 46

Tabela 5 – Efeito das variáveis independentes temperatura (T), tempo (t) e concentração de catalisador (C) e suas interações sobre as variáveis respostas XOS, xilose e XOS+xilose. 47

Tabela 6 – Valores preditos e reais no ponto ótimo determinado. 48

Tabela 7 – Composição química da fração líquida da condição otimizada na primeira etapa do processo hidrotérmico. 49

Tabela 8 – Planejamento experimental da segunda etapa hidrotérmica, com os valores das variáveis independentes e o valor das variáveis reposta XOS, xilose e XOS + xilose. 51

Tabela 9 – Análise de variância (ANOVA) para a variável XOS, xilose e a soma de ambas, com intervalo de confiança de 90 % e valor do coeficiente de correlação (R^2), para a segunda etapa do pré-tratamento hidrotérmico. 52

Tabela 10 – Valore preditos e experimentais na condição ótima para recuperação de xilose na segunda etapa de pré-tratamento hidrotérmico, 168 ºC, por 5,5 minutos e concentração de H_2SO_4 de 1.01 % m/m. 54

Tabela 11 – Composição química da fração líquida da condição otimizada para recuperação de xilose na segunda etapa do processo hidrotérmico 54

Tabela 12 – Composição química da fração sólida em cada etapa de tratamento, com as respectivas variações dos componentes, representados em % m/m. 56

Tabela 13 – Composição química da polpa branqueada de bagaço de cana-de-açúcar e de polpa Kraft em relação a celulose, xilana e lignina. 58

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 15
2.1 Materiais lignocelulósico 15
2.1.1 Celulose 16
2.1.2 Hemicelulose 16
2.1.3 Lignina 17
2.2 Pré-tratamento aplicados a materiais lignocelulósicos 18
2.2.1 Pré-tratamento em meio alcalino 19
2.2.2 Pré-tratamento em meio ácido 20
2.2.3 Hidrólise ácida de hemicelulose em duas etapas 21
2.3 Xilo-oligossacarídeo 25
2.3.1 Prebióticos 26
2.3.2 Características dos XOS como prebióticos 26
2.3.3 Métodos de produção de xilooligossacarídeos 28
2.4 Nanocelulose 30
2.4.1 Processo de Produção de nanocelulose a partir de material lignocelulósico 31
2.5 O conceito de biorrefinaria na produção de nanocelulose e xilo-oligossacarídeo 33
3 OBJETIVOS 35
3.1 Objetivo Geral 35
3.2 Objetivos específicos 35
4 MATERIAIS E MÉTODOS 36
4.1 Bagaço de cana-de-açúcar e polpa kraft branqueada 36
4.2 Caracterização química dos sólidos 37
4.3 Caracterização química das frações líquidas 38
4.4 Tratamento 1 39
4.5 Tratamento 2 40
4.6 Deslignificação 40
4.7 Branqueamento 41
4.8 Produção de celulose nanofibrilada 41
4.9 Determinação de tamanho e distribuição de partículas 42
4.10 Microscopia de força atômica (AFM- Atomic Force Microscopy) 42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 43
5.1 Composição do bagaço de cana 43
5.2 Tratamento 1 44

5.3 Tratamento 2 50
5.4 Deslignificação e branqueamento 55
5.5 Balanço de massa 57
5.6 Produção de nanocelulose 58
6 CONCLUSÃO 61
7 PREVISÃO PARA TRABALHOS FUTUROS 62
REFERÊNCIAS 63

1 INTRODUÇÃO

A química verde, termo apresentado pelo químico Paul Anastas em 1991 que designava a terceira onda da química, está mais real do que nunca. Antecedida pelas duas primeiras ondas, respectivamente movidas pelo carvão e o petróleo, a química verde tem como princípio o uso de biomassas para a geração de químicos, tanto combustível como bioprodutos. E a química verde não veio apenas para substituir o petróleo, mas veio também para amenizar os impactos ambientais causados pelo avanço tecnológico das ondas anteriores e melhorar a imagem de poluidora que a ciência apresentava na sociedade (OCTAVIANO, 2011). Assim como as refinarias de petróleo, que tem como objetivo extrair o máximo de produtos e energia dessa matéria-prima de fonte fóssil, as biorrefinaria se apresentam como um conjunto de processos que buscam o maior aproveitamento da biomassa vegetal para obtenção de energia e bioprodutos.

"O pleno aproveitamento energético da cana-de-açúcar, para além do etanol e do açúcar obtidos de forma convencional, está ligado ao atual conceito de biorrefinaria que possibilita a conversão de material vegetal em produtos químicos ou biocombustível" (NOVACANA, 2013).

No Brasil a cana-de-açúcar é o carro chefe em termos de combustíveis e fonte de biomassa vegetal. Para a produção de combustível e alimento se utiliza o caldo da cana, rico em açúcares. Devido ao grande volume de biomassa processada na indústria sucroalcooleira (cerca de 635 toneladas/ano – 2017/2018), o resíduo dessa indústria, o bagaço da cana, se torna uma matéria prima a ser explorada com conceito de biorrefinaria. Embora haja muita pesquisa e plantas em nível industrial para a produção de etanol a partir do bagaço, chamado de etanol de segunda geração (etanol 2 G), o conceito de biorrefinaria ainda não é aplicado e nem toda biomassa é aproveitada. Apenas a fração celulósica (42 % m/m) é utilizada, sendo a fração hemicelulósica (24 % m/m) e lignina (23 % m/m) materiais a serem explorados.

A fração hemicelulósica do bagaço de cana é rica em xilana, um biopolímero com cadeia principal formada por xilose, que representa cerca de 87 % da sua composição. Os trabalhos que focam na extração de xilana, em sua maioria, buscam sua recuperação na forma monomérica, isto é, xilose. A xilose é utilizada como fonte de carbono em diversos processos fermentativos, como para produção de xilitol e etanol. Buscando a geração de produtos de alto valor agregado, uma alternativa a este processo seria a extração da xilana na sua forma oligomérica, isto é, xilooligossacarídeos (XOS) que tem uma grande área de aplicação como

adesivos, reforço em polpas celulósicas, emulsificantes, prebióticos entre outros. A extração na forma de XOS traz uma vantagem de não necessitar de uma etapa de fermentação para se obter um produto final, pois o próprio XOS extraído já é um produto de alto valor agregado.

A fração celulósica, embora seja utilizada para produção de etanol 2G, apresenta potencial para produtos de alto valor agregado, como as nanoceluloses. Existem diferentes tipos de nanocelulose e possíveis modificações químicas das mesmas que proporcionam características químicas e físicas únicas a estes materiais como baixa densidade, alta resistência mecânicas, propriedades óticas e alta flexibilidade etc. O uso desse material é variado e abrange áreas como construção civil, médicas, aviação, alimentícias e tecnológicas como telas de dispositivos eletrônicos.

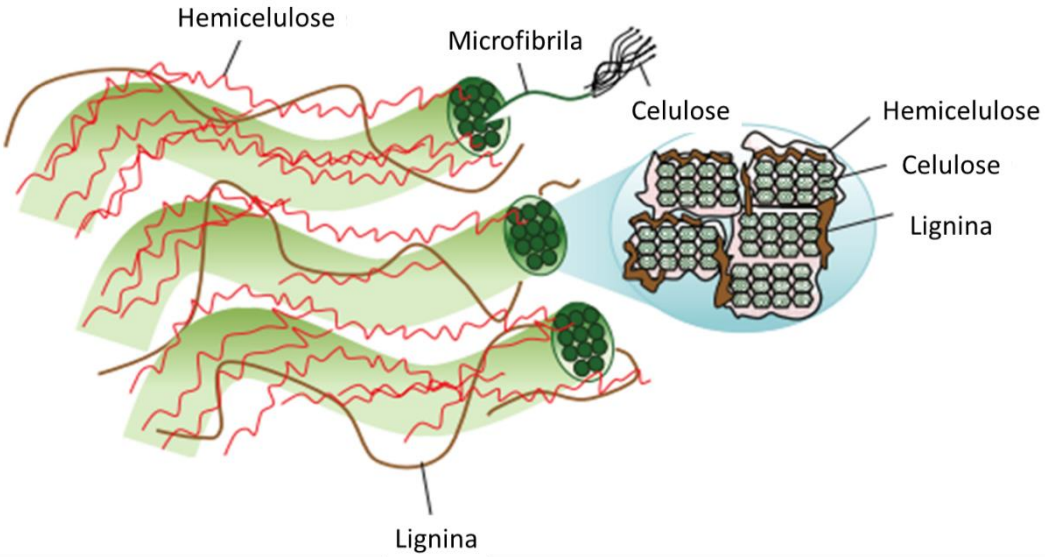
A elaboração de tratamentos que busquem o máximo aproveitamento dessa biomassa é fundamental para a sustentabilidade do processo, tanto no âmbito econômico como ambiental. Neste contexto, este trabalho propôs a extração da xilana presente no bagaço na sua forma oligomérica - XOS, produto que apresenta alto valor agregado, e integrado a este processo fornecer um material sólido adequado para produção de nanocelulose.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Materiais lignocelulósico

Englobando as espécies de madeira, gramíneas, resíduos agroindustriais e florestais, os materiais lignocelulósicos (LCM) são considerados a matéria-prima para uma economia sustentável, tanto em escala local como mundial, sendo a matéria-prima renovável mais abundante na natureza (NYGAARD et al., 2016). Os LCM são compostos majoritariamente por celulose, hemicelulose e lignina, intimamente associados (FENGEL; WEGENER, 1989) como ilustra a Figura 1.

Figura 1 – Esquema da estrutura dos materiais lignocelulósicos.



Fonte: Adaptado de (LEE; HAMID; ZAIN, 2014)

No Brasil, o bagaço de cana-de-açúcar (BCA), um resíduo da indústria sucroalcooleira, é considerado a principal matéria-prima para produção de etanol de segunda geração (2G). A estimativa da safra de cana-de-açúcar para 2017/2108 é de 635 mil toneladas (CONAB, 2017). Considerando que 1 tonelada de cana processada gera 128 Kg de bagaço seco (ANDREOLI, 2008), a estimativa de produção é acima de 81 mil toneladas de bagaço. A maioria deste bagaço é utilizado para geração de energia dentro da própria indústria e uma pequena fração deste é utilizado para geração de etanol 2G (SOUZA et al., 2015).

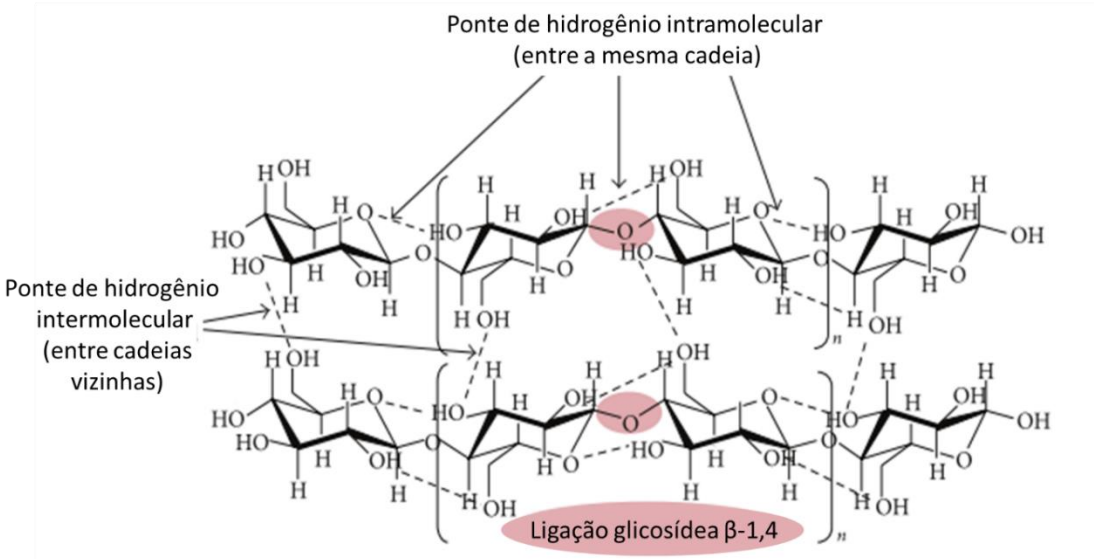
Como um LCM, o bagaço é constituído principalmente de celulose (~ 42 % m/m), hemicelulose (~28 % m/m) e lignina (~22 % m/m) (ROCHA et al., 2015) . O conceito de biorrefinaria utilizando o bagaço como matéria-prima já vem sendo estudado a tempos, sempre buscando incorporar maior valor agregado as suas frações. Para buscar um uso mais

nobre para as frações de um LCM é necessário entender suas particularidades, como a estrutura da celulose, hemicelulose e lignina.

2.1.1 Celulose

A celulose é um homopolímero formado por unidades de anidroglicose unidas por ligações glicosídeas β-1,4, como ilustrado na Figura 2. Entre 50-90 % das cadeias de celulose tem ligações laterais do tipo ponte de hidrogênio, que confere a este polímero regiões de alta organização. As frações da celulose com maior ordenação são denominadas celulose cristalina enquanto que as regiões menos ordenadas são denominas celulose amorfa (JACOBSEN; WYMAN, 2000; MOON; et.al., 2011).

Figura 2 – Esquema da ligação das cadeias de celulose



Fonte: Adaptado de (LEE; HAMID; ZAIN, 2014)

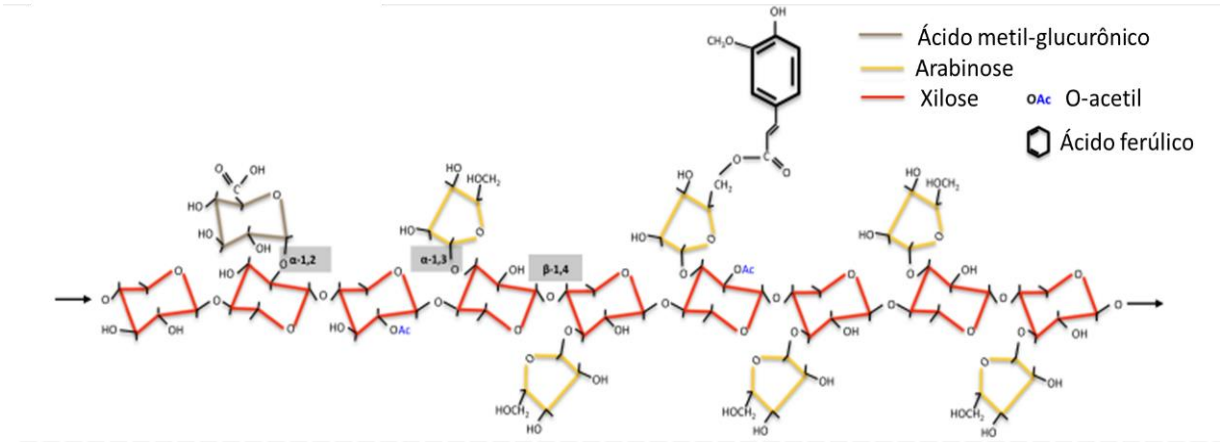
2.1.2 Hemicelulose

A hemicelulose é um dos principais componentes da parede celular dos LCM e apresenta diferença em sua composição e estrutura dependendo da sua fonte. É um heteropolímero ramificado, podendo sua cadeia principal ser constituída por um ou dois tipos de açucares, sendo eles hexoses (glicose, manose, galactose) ou pentoses (xilose e arabinose) e suas ramificações são geralmente compostas de ácidos uronicos, como 4-O-metil-D-glucurônico e D- galacturônico. Alguns açúcares da cadeia principal também podem conter grupos acetil, majoritariamente ligados nos carbonos C2. A presença de hemicelulose do tipo galacto-glucomanana é predominante em madeiras moles (*softwood*) com pequenas quantidades de arabino-glucoxilana, enquanto que madeiras duras (*hardwood*) apresentam

predominância de hemicelulose do tipo glucoxilana com pequenas quantidades de glucomana (FENGEL; WEGENER, 1989; DAVID N.-S. HON, 1995; CHEN, 2014).

O BCA, classificado como gramínea, apresenta hemicelulose do tipo arabinoxilanas, com a cadeia principal formada por unidades de xilose unidas por ligações do tipo β-1,4 e as cadeias das ramificações por ligações α-1,3 (Figura 3)(DAVID N.-S. HON, 1995). Cerca de 87 % da hemicelulose é composta por xilose, e esta tem uma razão de 12:1 para a arabinose e de 8,8:1 para grupos acetil (DAVID N.-S. HON, 1995; ROCHA et al., 2015).

Figura 3 – Esquema representativo da cadeia de arabinoxilana.



Fonte: Adaptado de (BUCKERIDGE; DE SOUZA, 2014).

Constituída basicamente por xilana, a hemicelulose de BCA tem potencial para obtenção de xilose e/ou xilo-oligossacarídeo (XOS). A xilose, unidade monomérica oriunda da xilana, pode ser utilizada em processos bioquímicos para obtenção de produtos como xilitol e etanol (FELIPE et al., 1997; GÍRIO et al., 2010). O XOS, oligômero de xilose, tem aplicação em diversas áreas como aplicação industrial para reforço de papel, uso em filmes barreiras de oxigênio, emulsificantes, gomas vegetais usada como espessantes em alimentos, adesivos e como fibras alimentares com propriedades prebióticas (VÁZQUEZ et al., 2000; LIMA; OLIVEIRA; BUCKERIDGE, 2003; KAMM; KAMM, 2004; MÄKELÄINEN et al., 2010a).

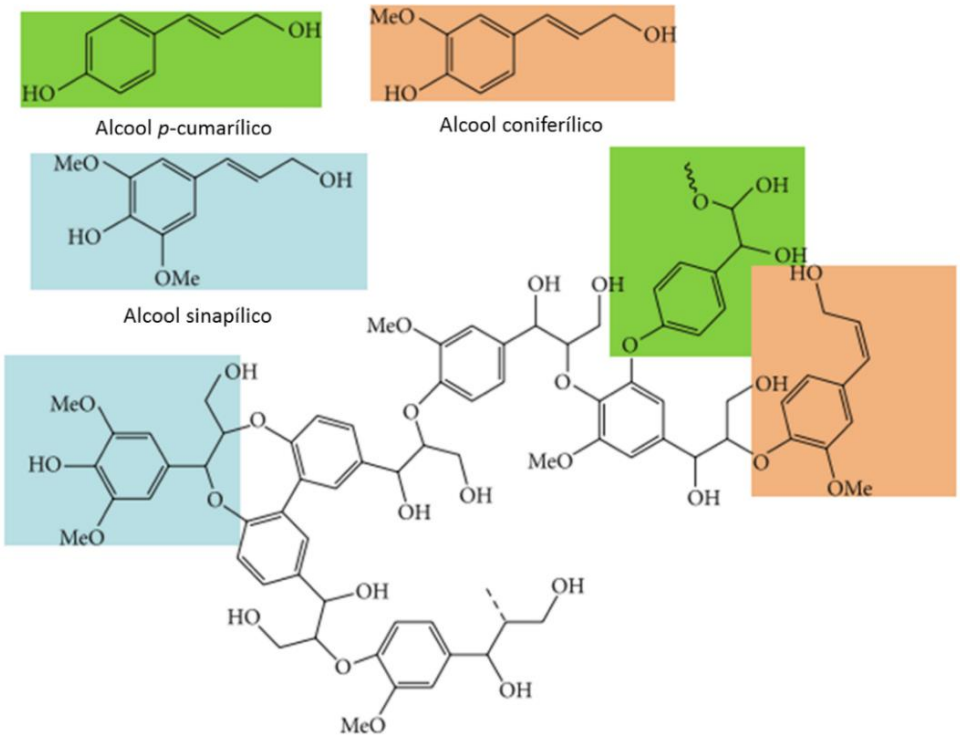
2.1.3 Lignina

A lignina é uma macromolécula amorfa e tem como precursores três álcoois: sinapílico, coniferílico e *p*-cumarílico, que se diferem um do outro pela quantidade de grupos metoxilas ligadas ao anel aromático, como ilustra a figura 4, que esquematiza também a estrutura da lignina. A macromolécula é formada predominantemente por ligações cruzadas

do tipo β-O-4 e ocasionalmente por ligações α-O-4 e éter entre grupos aromáticos (FENGEL; WEGENER, 1989; AGBOR et al., 2011).

Assim como a hemicelulose, a lignina apresenta diferentes estruturas dependendo do material onde se encontra, com variação entre as proporções de seus constituintes. Na parede celular vegetal a lignina confere rigidez, proteção contra ataques microbiano e impermeabilidade, além de ser considerado um composto que une as outras frações da biomassa, como celulose e hemicelulose (AGBOR et al., 2011).

Figura 4 – Esquematização da estrutura da lignina com os seus três precursores: álcool coniferílico, álcool sinapílico e álcool *p*-cumarílico.



Fonte: Adaptado de (LEE; HAMID; ZAIN, 2014)

A lignina do bagaço tem como principal precursor o álcool sinapílico, tendo uma proporção de composição molar de álcool p-cumarílico:coniferílico: sinapílico de aproximadamente 2:38:60, diferente da palha de cana por exemplo, que é de 4:68:24 (DEL RÍO et al., 2015).

2.2 Pré-tratamento aplicados a materiais lignocelulósicos

Fatores econômicos impulsionam as indústrias que trabalham com LCM a buscarem a produção não somente de combustível líquido, como etanol e biodiesel, mas também uma gama de outros coprodutos, como compostos químicos, alimentícios e de construção, se encaixando no conceito de biorrefinaria (BACOVSKY et al., 2013). A utilização das frações

dos LCM se faz necessária para um processo mais viável e sustentável, abrindo espaço para a busca por novos bioprodutos como a nanocelulose (MANDAL; CHAKRABARTY, 2011; CAMARGO et al., 2016) e xilooligossacarídeo (XOS). Para tanto, é necessário que a biomassa passe por um processo de fracionamento para a utilização de cada um de seus compostos, sendo os pré-tratamentos responsáveis por esta operação.

O fracionamento dos LCM pode ser feito por diversos métodos, como pré-tratamentos em meio ácido, alcalino, solventes orgânicos, líquidos iônicos, cada qual com suas vantagens e desvantagens (AGBOR et al., 2011). Considerando os custos envolvidos no pré-tratamento e o valor dos açúcares recuperados no final, processos como ácido diluído, explosão a vapor e métodos alcalinos são os mais propícios para serem usados no fracionamento da biomassa (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009).

2.2.1 Pré-tratamento em meio alcalino

A principal característica dos processos em meio alcalino é a solubilização da lignina e carboidratos, sem seletividade para os mesmos (GÍRIO et al., 2010). Estes pré-tratamentos podem ser divididos em dois grupos, de acordo com o agente álcali utilizado: 1 – pré-tratamentos que utilizam hidróxido de sódio ou cálcio e; 2 – pré-tratamentos base de amônia (CARVALHEIRO; DUARTE; GÍRIO, 2008; HU; RAGAUSKAS, 2012). Comparado ao processo em meio ácido, o processo alcalino apresenta a vantagem de trabalhar em condições mais amenas de temperatura e pressão, além de não necessitar de reatores mais complexos. Como desvantagem apresenta uso de agente álcali não somente como catalisador, mas também como reagente do processo, não sendo possível sua total recuperação, além de possuir alto custo para recuperação do álcali residual, principalmente para processos com hidróxido de sódio ou cálcio (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009; HU; RAGAUSKAS, 2012). Considerando a estratégia de fracionar a biomassa para maior uso individual da celulose, hemicelulose e lignina, este processo apresenta a desvantagem da baixa seletividade do processo, sendo extraídos nesse processo tanto a lignina como os carboidratos presente na biomassa (GÍRIO et al., 2010).

Dentre os pré-tratamentos alcalinos, os que utilizam hidróxido de sódio ou cálcio são os mais utilizados para materiais lignocelulósicos (HU; RAGAUSKAS, 2012) e apresentam maior seletividade pare remoção da lignina. Sobre a celulose, o processo alcalino causa um inchamento em suas fibras e, em condições mais severas, causa reações *peeling*, que se trata de uma hidrólise alcalina que diminui o grau de polimerização da celulose e liberam monômeros de glicose no meio (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). Estudos mostraram que

devido a remoção de parte da lignina e hemicelulose, há um aumento da cristalinidade do material, mas em condições mais severas é observado a diminuição da cristandade, que pode ser explicado por mudanças estruturais da celulose (KUMAR et al., 2009; WU et al., 2011).

Pré-tratamentos com amônia podem ser realizados em reatores pressurizados e temperaturas brandas, na faixa de 60-100 ºC. Por ser altamente volátil, amônia proporciona alta taxa de recuperação de catalisador (cerca 95 %) (HU; RAGAUSKAS, 2012). Nas cadeias de celulose, tratamentos com amônia causam o inchamento das fibras, o que facilita possíveis hidrólises enzimáticas subsequentes, assim como o fracionamento dessa biomassa. Outra vantagem é a possibilidade de se trabalhar com altas cargas de sólidos quando comparado ao pré-tratamento de ácido diluído (AGBOR et al., 2011; HU; RAGAUSKAS, 2012).

2.2.2 Pré-tratamento em meio ácido

O mecanismo dos pré-tratamentos hidrotérmicos em meio ácido é a hidrólise da cadeia polimérica dos polissacarídeos (celulose e hemicelulose) onde o íon hidrônio age sobre as ligações β1-4 destas cadeias, liberando no meio os oligômeros e monômeros relativos as cadeias hidrolisadas. Esta reação pode ser conduzida na presença de catalisador exógeno (adição de ácido) ou sem a adição de catalisador (auto hidrólise) (GARROTE; DOMÍNGUEZ; PARAJÓ, 1999). Processos em meio ácido são mais seletivos para a hidrólise dos carboidratos, sendo os processos menos severos mais seletivos para a hidrólise da hemicelulose em comparação com a celulose, já os processos mais severos não apresenta essa seletividade entre os carboidratos (GÍRIO et al., 2010).

A auto hidrólise usa como reagente apenas a água e o próprio LCM, submetidos a temperaturas tipicamente na faixa de 145 – 190 ˚C e tempos que podem variar de segundos a algumas horas (SASKA; OZER, 1995). Este tipo de pré-tratamento é considerado um método de baixo custo, de baixo impacto ambiental e relativamente de fácil operação (GARROTE; DOMÍNGUEZ; PARAJÓ, 1999; VALLEJOS et al., 2015). Os íons hidrônios envolvidos na reação de despolimerização da hemicelulose são gerados da própria água ou de subcomponentes que fazem parte do LCM, como ácidos urônico, acético ou fenólicos (SASKA; OZER, 1995). Assim, considerando as faixas de temperaturas e tempo mencionados anteriormente, a celulose e a lignina ficam praticamente intactas na fração sólida (celulignina), enquanto a hemicelulose sofre a despolimerização por ação da hidrólise, resultando em um hidrolisado rico em oligômeros e monômeros derivados da hemicelulose (GARROTE; DOMÍNGUEZ; PARAJÓ, 1999).

Quando a hidrólise é conduzida com adição de ácido, os íons hidrônios do ácido agem como catalisador da reação. Dentre esta classe de processo há o ácido concentrado e o ácido diluído, que se diferem pela proporção de ácido adicionada ao meio (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). Tratamentos com ácido concentrado tem alta eficiência em hidrolisar os carboidratos, tanto celulose como hemicelulose, mas um meio altamente reativo dificulta o controle no processo de degradação da biomassa, o que causa a degradação dos açucares gerando furfural e hidroximetilfurfural (HMF) pela degradação das pentoses e hexoses, respectivamente, diminuindo o rendimento de recuperação de carboidratos (HU; RAGAUSKAS, 2012). Outra desvantagem do ácido concentrado é que faz uso de ácidos que são compostos altamente corrosivos, tóxicos e levam perigo para saúde humana; por conta destas condições necessitam de reatores resistentes e maior cuidado na manipulação do processo, o que encarece o mesmo. Além destes fatores seria necessário a recuperação deste ácido no final do processo para torná-lo economicamente viável e sustentável, o que adiciona mais uma etapa relativamente dispendiosa ao processo (PEDERSEN; MEYER, 2010; ABDUL KHALIL; et. al., 2012; LEE; HAMID; ZAIN, 2014).

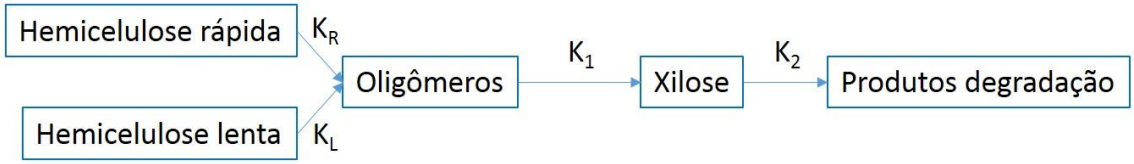
Considerando as adversidades citadas no processo de ácido concentrado, um pré-tratamento mais brando, sendo ele por auto hidrólise ou ácido diluído, se apresenta como um processo capaz de contribuir para a separação da hemicelulose do LCM com maior eficiência para um processo de obtenção de nanocelulose e/ou etanol, entre outros compostos químicos. Processos com ácido diluídos, com concentrações menores que 4 % m/m, podem hidrolisar a hemicelulose em altas taxas e reduzidos tempos. A baixa concentração, ou ausência, de ácido exige reatores menos resistentes que os utilizados no processo de ácido concentrado, além de um mais fácil manuseio e maior controle na reação de despolimerização dos carboidratos, resultando assim em rendimentos finais superiores de açúcares recuperados no processo (LEE; HAMID; ZAIN, 2014).

2.2.3 Hidrólise ácida de hemicelulose em duas etapas

Estudos apontam a existência de duas frações de hemicelulose nos LCM, uma que sofre hidrólise com mais facilidade (hemicelulose rápida - H_R) e outra que necessita de um tratamento mais severo para ser hidrolisada (hemicelulose lenta - H_L) (JACOBSEN; WYMAN, 2000). Entender a cinética de hidrólise destas hemiceluloses possibilita a elaboração de técnicas que busquem o melhor aproveitamento deste material. Jacobsen e Wyman propuseram um modelo para explicar a cinética de hidrólise da hemicelulose em

um processo em meio ácido (catalisado ou não), conforme Figura 5 (JACOBSEN; WYMAN, 2000).

Figura 5 – Modelo cinético para a hidrólise da hemicelulose de xilana.



Fonte: Adaptado de (JACOBSEN; WYMAN, 2000).

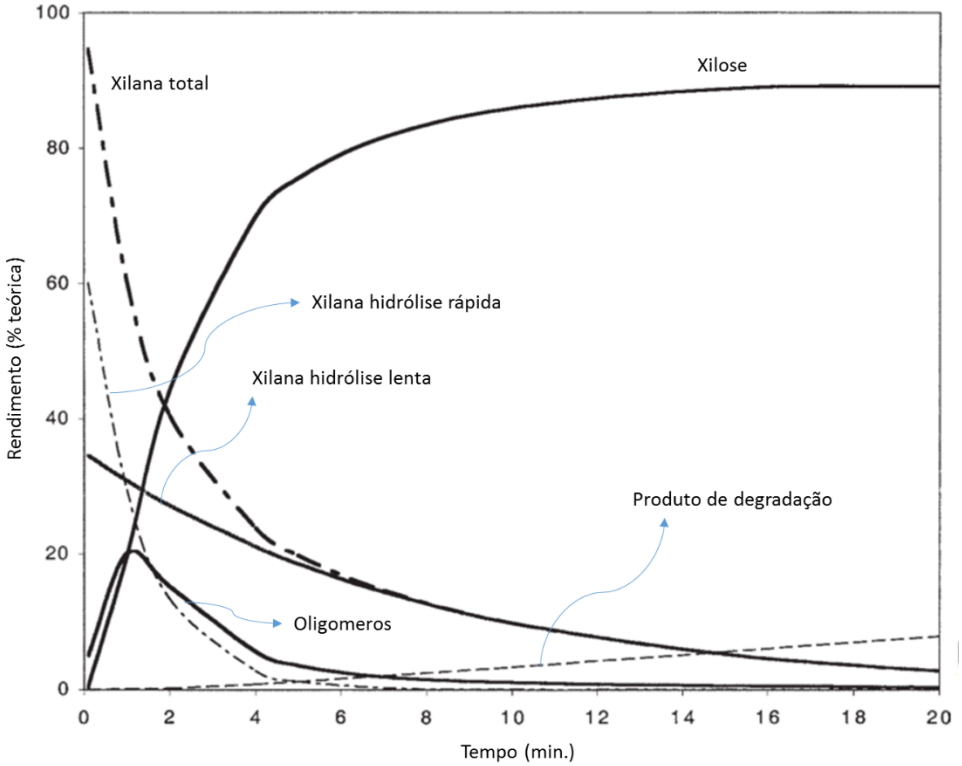
Nota: K_R - constantes de velocidade da reação de hidrólise da hemicelulose rápida;
K_L - constantes de velocidade da reação de hidrólise da hemicelulose lenta;
K_1 - constante da velocidade de reação de despolimerização de oligômeros;
K_2 - constante de velocidade da reação de degradação da xilose.

Santucci et al. simplificaram o modelo de Jacobsen e Wyman e consideraram K_R e K_L como uma constante só (K_H) e mostraram experimentalmente que os valores de formação de oligômeros (K_H) são superiores a K_1 e este é superior a K_2 e que estas constantes são altamente dependentes da temperatura em que ocorre a reação, podendo aumentar de 10 a 18 vezes seu valor com um acréscimo de 30 ºC na temperatura reacional (JACOBSEN; WYMAN, 2000; SANTUCCI et al., 2015). Já Vallejos e Schell consideraram as variáveis K_R e K_L separadamente e obtiveram resultados que apontam que K_R é superior a K_L, K_1 e K_2, e que K_L é inferior a K_1 e K_2 (pela ordem decrescente: K_R, K_1, K_2 e K_L) (SCHELL et al., 2003; VALLEJOS et al., 2015). Experimentalmente, é possível notar o comportamento da xilana e seus produtos de hidrólise em uma reação em meio ácido, como ilustrado na Figura 6.

No experimento de Jacobsen a variável tempo é variada com o intuito de se observar o andamento da reação. No início da reação há uma extração da H_R muito drástica, com uma grande liberação de oligômeros e monômeros. Após um tempo de reação (aproximadamente 1 hora), os oligômeros são hidrolisados a monômeros, observado pelo decréscimo da curva de oligômeros (linha cheia referente ao oligômero indicada na figura 6). Com o decorrer do tempo de reação, o produto de degradação, no caso furfural, vai sendo formado de forma quase linear. Analisando o comportamento deste hidrolisado ao longo do tempo com o modelo cinético proposto por Jacobsen e Wyman, é possível relacionar que no início da reação, a constante K_R tem grande efeito nos produtos do hidrolisado (liberação de oligômeros), mas que esse efeito vai caindo ao decorrer da reação. K_1 tem efeito sobre os produtos do hidrolisado desde o início, quando o primeiro oligômero é liberado no meio, e só tem seu efeito diminuído quando a quantidade de oligômeros é quase nula. Isto indica que

a concentração de reagente (para K_R é xilana e para K_1 é XOS) afeta diretamente o poder de efeito das constantes na composição do hidrolisado. A maior concentração de oligômeros no meio reacional acontece quando cerca de 50 % da xilana foi solubilizada (JACOBSEN; WYMAN, 2000).

Figura 6 – Composição do hidrolisado em relação a solubilização da hemicelulose de xilana da palha de milho na condição de 160 ºC e 0.5 % (m/m) de ácido.



Fonte: Adaptado de (JACOBSEN; WYMAN, 2000)

Considerando as observações acima, uma estratégia para manter a alta recuperação de xilana na forma de XOS é a remoção do reagente que proporciona um maior efeito da constante K_1, isto é, o XOS. Isto pode ser feito interrompendo a reação quando sua severidade ainda é baixa (início da reação). Uma desvantagem desta estratégia é que, no início da reação, pouca xilana foi extraída do material (extraiu-se apenas a H_R), resultando em uma fração sólida com muita hemicelulose residual. Para sanar este problema é possível realizar segunda etapa de hidrólise com um fator de severidade maior com o objetivo de retirar a hemicelulose presente no material.

Kobayashi e Sakai mostraram que cerca de 70 % de toda hemicelulose removida em um tratamento em meio ácido foi hidrolisa rapidamente, e os 30 % restante precisou do aumento de severidade para ser hidrolisada (KOBAYASHI; SAKAI, 1956). De forma similar, Santucci et.al hidrolisaram cerca de 75 % da hemicelulose rapidamente e necessitou

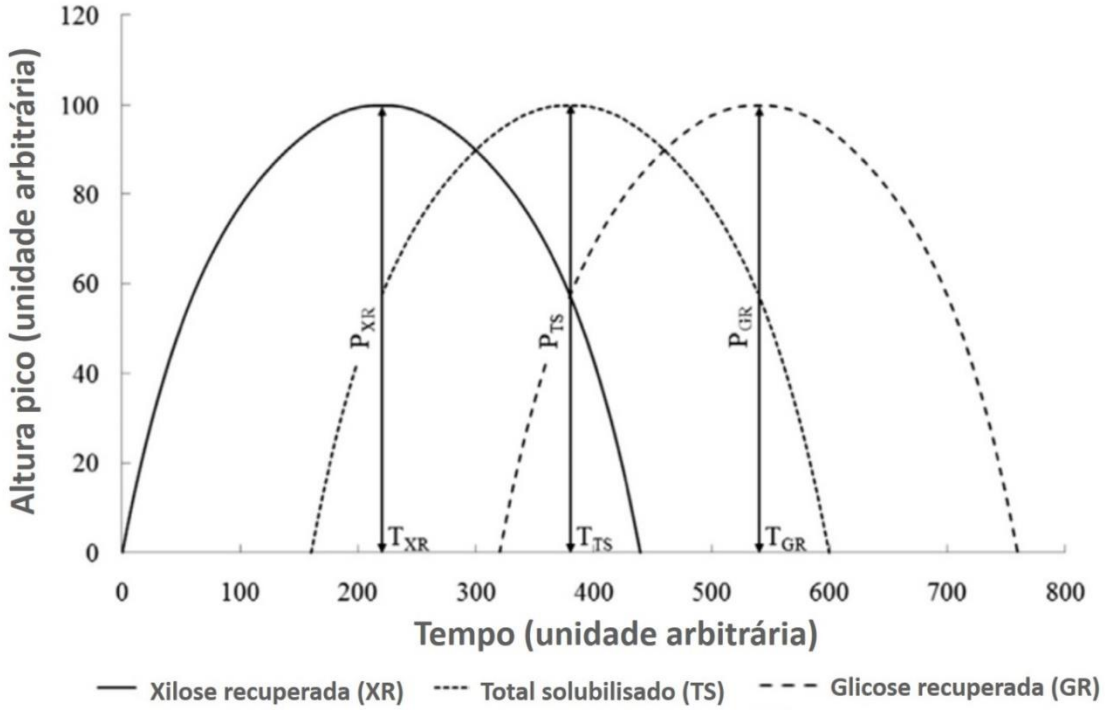
de um aumento da severidade para hidrolisar o restante da hemicelulose (SANTUCCI et al., 2015).

Corroborando com a estratégia de duas etapas de pré-tratamento, Diedericks e colaboradores, buscando a maior recuperação de açúcares totais do LCM, tanto no hidrolisado como na fração sólida, fizeram um estudo do pré-tratamento com ácido diluído variando a severidade do processo. Os resultados obtidos mostraram que a máxima recuperação dos açucares constituintes da hemicelulose ocorreram em severidade menor do que a necessária para maximizar a recuperação de glicose, onde a fração sólida (majoritariamente constituída de celulose) foi submetida a hidrólise enzimática. Os autores observaram que o uso de um pré-tratamento hidrotérmico em meio ácido em duas etapas apresenta uma maior recuperação dos açúcares e uma menor degradação dos monômeros que compõem a hemicelulose, pois estes açúcares são retirados do meio após a primeira etapa, não sofrendo a degradação oriunda devido ao aumento da severidade do processo (DIEDERICKS; VAN RENSBURG; GÖRGENS, 2013). Assim, fica evidente que a maior recuperação de açucares totais, um dos princípios do conceito de biorrefinaria, é favorecido por uma hidrólise ácida em duas etapas, como ilustra a Figura 7, onde o tempo de reação é arbitrário, que pode ser entendido como aumento de severidade do processo, considerando que todas as outras variáveis sejam fixas (DIEDERICKS; VAN RENSBURG; GÖRGENS, 2013).

Com a simulação realizada por Driedericks e colaboradores, esquematizada na fig. 6, é possível notar que realizando apenas uma etapa de hidrólise não é possível obter uma máxima recuperação de xilose e glicose, mas que um processo em duas etapas aumentaria a quantidade de açúcares recuperados (DIEDERICKS; VAN RENSBURG; GÖRGENS, 2013).

Segundo Hu e colaboradores, os XOS liberados durante a hidrólise da hemicelulose podem apresentar diferentes graus de polimerização (DP) e substituição, dependendo da severidade do processo (tempo, temperatura, concentração de ácido), tendo ficado evidente que o DP dos XOS é inversamente proporcional a severidade do processo (HU; RAGAUSKAS, 2012).

Figura 7 – Representação da recuperação de xilose, glicose e carboidratos totais após uma etapa de pré-tratamento hidrotérmico em meio ácido.



Fonte: adaptado de (DIEDERICKS; VAN RENSBURG; GÖRGENS, 2013)

Nota: P_{XR} - pico de recuperação de xilose;
P_{TS} - pico de total de açúcares solubilizados;
P_{GR} - pico de recuperação de glicose;
T_{XR} - tempo de máxima recuperação de xilose;
T_{TS} - tempo de máxima solubilização total de açúcares;
T_{XR} - tempo de máxima recuperação de glicose;

2.3 Xilo-oligossacarídeo

A fração hemicelulósica, na sua forma oligomérica, tem diversas aplicações como citado anteriormente. Como reforço em polpas celulósicas a adição de 1% m/m desse material gera um aumento de até 30% nas propriedades mecânicas como rasgo e ruptura (LIMA; OLIVEIRA; BUCKERIDGE, 2003). Outras aplicações como produção de biofilmes com propriedades de barreira de oxigênio, emulsificantes, adesivos podem usar XOS como matéria prima (VÁZQUEZ et al., 2000; KAMM; KAMM, 2004; DU et al., 2018). O destaque do XOS, porém, vem do fato dele ser considerado um composto com propriedades prebióticas, que atua na melhora da composição da microbiota por ser um substrato seletivo para certos grupos de bifidobacterias e lactobacillus, sendo um prebiótico emergente no cenário das fibras alimentares funcionais (GOBINATH et al., 2010; MÄKELÄINEN et al., 2010b).

2.3.1 Prebióticos

Os prebióticos são definidos como “ingredientes da alimentação que não são digestíveis e que causam efeitos benéficos ao consumidor pelo estimulo ao crescimento e atividade de uma ou de um grupo limitado de bactérias do cólon” (GIBSON et al., 2004). A principal classe de prebióticos são os oligossacarídeos (OS), mais especificamente os oligossacarídeos não digestíveis (NDO). Este grupo de componentes tem como característica serem açúcares complexos que conseguem passar pelo intestino delgado sem serem degradados (ou degradados em baixas taxas) e chegam a parte inferior do intestino onde se tornam viáveis para uma ou um grupo de bactérias que são benéficas para a saúde do hospedeiro, como as Bifidobacterias e Lactobacilus. Lactose, galacto-oligossacarídeo (GOS), fruto-oligossacarídeo (FOS), inulina e seus hidrolisados são exemplos de materiais prébióticos comumente utilizados na nutrição humana (OLEJNIK, 2005). No entanto, a utilização de XOS como prebiótico vem ganhando destaque devido as suas características peculiares, e em muitos casos superiores aos prebióticos utilizados convencionalmente. (GOBINATH et al., 2010; MÄKELÄINEN; ET.AL., 2010b).

A melhoria causada na saúde do hospedeiro pela ingestão de prebiótico não se dá somente pela sua seletividade como substrato de bactérias benéficas, mas principalmente pelos produtos da fermentação destas bactérias, como vitaminas solúveis em água (exemplo ácido fólico e B_{12}) e ácidos graxos de cadeia curta (SFCA) (TAYLOR et al., 1985). A alta produção de SFCA pelas *Bifidobacterias*, como acetato, propionato e burtitrato, causa a diminuição do pH no cólon, inibindo assim o crescimento de bactérias maléficas, como a *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens*. Grande parte dos SCFA é absorvida pelo tecido do cólon e serve de precursor para outros compostos que auxiliam a melhoria da saúde do hospedeiro, como antioxidantes e anti-inflamatórios (SAMANTA et al., 2015).

2.3.2 Características dos XOS como prebióticos

Vários trabalhos já apontam o potencial do uso de XOS como material prebiótico, um complemento da dieta alimentar (GIBSON et al., 2010; GOBINATH et al., 2010; MÄKELÄINEN et al., 2010a; MÄKELÄINEN; et.al., 2010b; SAMANTA et al., 2015). XOS apresentam maior especificidade por determinadas bactérias, como o *B. adolescentes* e *B. lactis*, que são algumas das bifidobactérias mais utilizada para melhoria da saúde humana, quando comparados com GOS e FOS, que não foram específicos com as culturas estudadas, servindo de substrato para várias bactérias do meio como *Bifidobacterias*,

lactobacilos e até algumas bactérias potencialmente patogênicas (MÄKELÄINEN et al., 2010a; MÄKELÄINEN; ET.AL., 2010b). Esta especificidade do XOS por algumas bifidobactérias proporciona um potencial para sua aplicação como regulador da flora intestinal, onde se deseja o aumento de determinadas culturas em detrimento de outras. Além da vantagem de maior especificidade, outras características importante dos XOS já foram reportadas, como propriedades antioxidantes, onde estudos mostraram que ratos com estreptozotocina, induzida por diabete, que receberam doses diárias de 10 % de XOS apresentaram um aumento na corrente sanguínea de enzimas antioxidantes(GOBINATH et al., 2010). Estudos em humanos já comprovaram a eficácia da utilização de XOS para o aumento das bifidobactérias e diminuição do pH fecal, com dosagens menores do que as usuais utilizadas pelos prebióticos comerciais como FOS e GOS (OKAZAKI; FUJIKAWA; MATSUMOTO, 1990).

As propriedades estruturais dos oligossacarídeos são extremamente importantes para o uso destes como prebióticos, já que a estrutura dos oligossacarídeos influencia a sua atividade pré-biotica (SANZ; GIBSON; RASTALL, 2005; VAN CRAEYVELD et al., 2008). Sanz e colabores estudaram a influência das ligações em grupos glicosídeos e chegaram à conclusão que ligações 1-2, 1-4 e 1-6 geram altos índices prebióticos, com destaque para Kojibiose e sophorose e que, com exceção da 6α-manobiose, dissacarídeos contendo manoses apresentaram baixos índices prébiótico (SANZ; GIBSON; RASTALL, 2005). Craeyveld e colabores estudaram o efeito da estrutura de arabionoxilo-oligossacarídeos (AXOS) sobre o efeito prébiótico em ratos, considerando o grau médio de polimerização (avDP) e grau médio de substituição (avDS), evidenciando que um valor de avDP ≤5 estimula um crescimento de *Bifidobacterias* enquanto que um valor de avDP > 12 não estimula o crescimento destas mesmas bactérias (VAN CRAEYVELD et al., 2008). Uma maior diversidade no DP de XOS pode proporcionar um melhor crescimento das bifidobactérias em relação a amostra com menor variedade de DP, o que indica que uma mistura de XOS com variados DP pode ser mais eficaz que uma mistura de DP definido (MÄKELÄINEN et al., 2010b). Outros trabalhos apontam que XOS com DP 2-3 apresentam melhores propriedades prebióticas (MOURA et al., 2007). Embora não haja um consenso de qual faixa de DP os XOS apresentam melhores propriedades prebióticas, os estudam apontam que XOS com DP <12 podem ser usados com prebióticos e que mais pesquisas sobre a influência da estrutura do XOS na atividade prebiótica devem ser realizados.

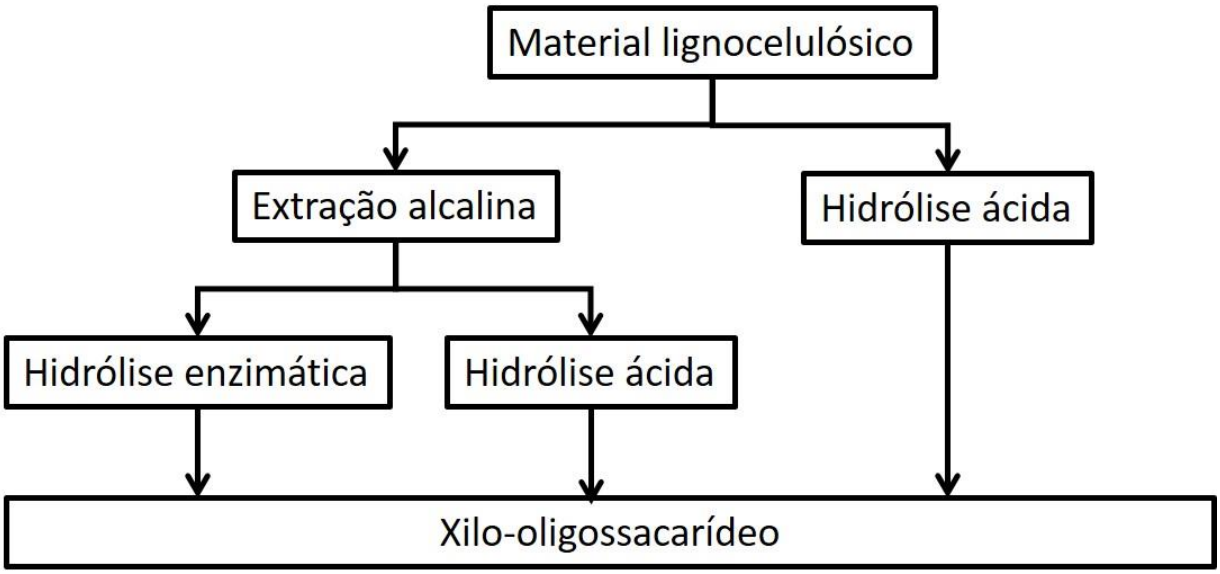
A influência da variação de avDS ficou destacada no trabalho de Voragen, onde mostrou que diferentes grupos substituintes podem afetar a seletividade do XOS pelas

bifidobactérias, assim como pode alterar também a taxa de consumo do XOS nos meios estudados (KABEL et al., 2002).

2.3.3 Métodos de produção de xilooligossacarídeos

A extração de XOS de materiais lignocelulósicos pode ser feita, basicamente, por via enzimática e/ou química (Figura 8), onde o objetivo é extrair a hemicelulose do LCM.

Figura 8 – Fluxograma dos métodos de produção de xilooligossacarídeos



Fonte: Própria do autor.

2.3.3.1 Método químico

Sobre a hemicelulose, os processos alcalinos causam a solubilização da cadeia principal da xilana e remoção de seus grupos laterais, como a remoção dos grupos acetil por saponificação, o que gera uma menor solubilidade do material em meio neutro (QING et al., 2013a). Três pontos relevantes devem ser ressaltados neste processo químico em meio alcalino:

a) Como nestes processos o álcali utilizado, podendo ele ser o NAOH, KOH, $Ca(OH)_2$ ou uma mistura dos mesmos, não atua apenas como catalisador mas também como reagente, há um consumo de químicos, o que encarece o processo (QING et al., 2013a);
b) As cadeias de xilana obtidos por este processo tem um alto DP, com valores superiores a 120 unidades de xilose (PANTHAPULAKKAL; KIRK; SAIN, 2015) e necessita de um tratamento posterior, podendo ser enzimático ou ácido,

para que se obtenha XOS com DP abaixo de 12, o que é desejável para o seu uso como prébiótico (VAN CRAEYVELD et al., 2008);

c) As cadeias de xilana obtidas não possuem grupos laterais, ou os possuem em baixa quantidade, o que não é desejável para obtenção de prebióticos, visto que o grau de substituição do XOS influência em sua atividade prebiótica (KABEL et al., 2002).

A produção de XOS por via química em meio ácido ocorre por processos hidrotérmicos, podendo ter adição de catalisador (ácido diluído) ou sem adição de catalisador (auto hidrólise) (GARROTE; DOMÍNGUEZ; PARAJÓ, 1999). Comparado com os processos catalisados, a auto hidrólise tem como vantagem a necessidade de reatores menos resistente a corrosão e a maior facilidade no processo de purificação do XOS produzido, já que não há adição de ácido ao meio (LEE; HAMID; ZAIN, 2014). O menor tempo de reação, comparado com os processos de produção de XOS por via enzimática, é uma das grandes vantagens do pré-tratamento hidrotérmico (QING et al., 2013a). Comparado ao processo em meio alcalino, a auto hidrólise mostra como vantagem a não necessidade de um pós-tratamento para diminuição do DP, além da obtenção de um XOS ramificado, que se mostra ser mais eficiente como agente prebiótico (KABEL et al., 2002). Como desvantagem, os processos em meio ácido tem como característica a formação de compostos de degradação de açúcares, tais como furfural e hidroximetil furfural (HMF) por reações de desidratação de pentose e hexose, respectivamente (HU; RAGAUSKAS, 2012). Estes produtos de degradação são considerados impurezas e inibidores para muitos microrganismos de fermentação e, se presente, seria necessário uma etapa de purificação (ZABED et al., 2016).

2.3.3.2 Método enzimático

A produção de XOS por via enzimática é realizada em duas etapas: A primeira é um tratamento alcalino, geralmente utilizando NAOH como reagente para a extração da xilana do material lignocelulósico, seguido da hidrólise enzimática com endo-xilanases para diminuição do DP das cadeias de xilanas proveniente do tratamento alcalino (BRIENZO, 2010; CARVALHO et al., 2013; JAYAPAL et al., 2013; QING et al., 2013a).

Entre as diversas endo-xilanases existentes, as que merecem mais destaque são as glicosil-hidrolase (GH), representadas pelas famílias GH10 e GH11 e que se diferem pelo modo que atuam sobre a cadeia de xilana (BIELY; SINGH; PUCHART, 2016). As endo-xilanases da família GH10 necessitam de uma sequência de no mínimo duas unidades de xilose não substituídas para que a enzima realize a hidrólise reação. Já as xilanases da família

GH11 necessitam de uma sequência mínima de três unidades de xilose não substituídas para realizar a hidrólise. Considerando esta diferença na estrutura da cadeia da xilana necessária para o funcionamento das enzimas, é sugerido que as enzimas da família GH11 sejam usadas para xilanas obtidas por processos químicos em meio alcalino, já que esta xilana possui menos grupos substituintes, o que facilitaria a atividade da enzima, e para as cadeias de xilanas obtidas por processos em meio ácido, que têm a tendência de a serem mais substituídas e menos suscetíveis as xilanas da família GH11 por possuírem menos sequencias de xiloses não substituídas, é mais viável a utilização de xilanases da família GH10 (CARVALHO et al., 2013; QING et al., 2013a; BIELY; SINGH; PUCHART, 2016).

Em poucos casos, quando a xilana liberada pelo tratamento alcalino apresenta grupos substituintes, pode-se utilizar xilanases com características de hidrolisar as reações com estes grupos substituintes, como o uso de acetil-xilana-esterase que atua na hidrólise dos grupos acetil das xilanas (BRIENZO, 2010; QING et al., 2013a).

Em relação aos processos químicos, a produção de XOS por hidrólise enzimática tem como vantagens a possibilidade de trabalhar com condições de processos mais amenas, como temperatura, além de atuar especificamente nas cadeias de xilanas sem a formação de produtos de degradação de açúcares, como furfural, facilitando assim o processo de purificação (CARVALHO et al., 2013; QING et al., 2013a). Uma das desvantagens da produção de XOS por via enzimática é o alto tempo de reação, podendo chegar a dias, em comparação com os processos químicos que levam no máximo horas (QING et al., 2013a).

2.4 Nanocelulose

Nanocelulose é uma estrutura de celulose que possui pelo menos uma de suas dimensões em escala manométrica, isto é, menor que 100 nm, podendo ser tanto na forma de celulose nanocristalina (CNC) como na forma de celulose nanofibrilada (CNF) (MOON; et.al., 2011; XU et al., 2013). A CNC possui diâmetros que variando de 3-30 nm e comprimento entre 50-500 nm, enquanto a CNF apresenta diâmetros variando entre 20-50 nm e comprimento muito variado, chegando a centenas de nanômetros. (MOON; et.al., 2011; LAVOINE et al., 2012; XU et al., 2013).

As características da nanocelulose, como dimensões em nano escala, propriedades óticas únicas, alta área superficial, elevada cristalinidade e rigidez, faz com que este material tenha aplicações em diversas áreas, substituindo materiais atuais e até criando novos tipos de matérias, além de ser um material de fonte renovável (MOON; et.al., 2011; LEE; HAMID; ZAIN, 2014). A aplicabilidade da nanocelulose é bem diversificada, englobando,

por exemplo, as áreas como biomedicina, automotiva, alimentícia, transporte e embalagens (BAI; HOLBERY; LI, 2009; SIRÓ; PLACKETT, 2010; KIZILTAS et al., 2013; LEE; HAMID; ZAIN, 2014; LIN; DUFRESNE, 2014).

Como a celulose é o polímero natural mais abundante do mundo, as fontes de nanocelulose são bem diversificas, podendo ser elas de origem animal, produzida pelo tunicato (MOON; et.al., 2011); origem bacteriana, através da síntese de celulosepor microorganismos como a *Acetobacter xylinum* (NAINGGOLAN et al., 2013); através de algas específicas que produzem celulose nas suas parede celular (KIM et al., 1996); e origem vegetal (os materiais LCM), que é responsável pela maior parte da celulose produzida no mundo e engloba todas as plantas, madeiras, materiais lignocelulósicos entre outros (LEE; HAMID; ZAIN, 2014). Os LCM, por serem a maior fonte de celulose no mundo, têm grande potencial para ser a fonte renovável de matéria-prima para produção de nanoceluloses.

2.4.1 Processo de Produção de nanocelulose a partir de material lignocelulósico

A obtenção de nanocelulose, tanto celulose nanofibrilada (CNF) quanto celulose nanocristalina (CNC) a partir de LCM passa basicamente por duas etapas: 1 – Obtenção da celulose oriunda do material lignocelulósico ; e 2 – Tratamento desta celulose purificada para separar as nanofibrilas (CNF) e os nanocristais (CNC) (MOON; ET.AL., 2011; LEE; HAMID; ZAIN, 2014).

Normalmente os estudos para produção de nanocelulose partem da polpa branqueada de eucalipto, oriunda da indústria de polpas celulósicas. Quando o material de origem é outro, como os LCM, é necessária uma purificação desse material para se ter uma polpa adequada para produção de nanocelulose (DUFRESNE, 2012). A purificação da biomassa é feita por tratamentos que visam remover a fração não celulósica do material, majoritariamente lignina e hemicelulose. Como citado nesta revisão bibliográfica, os tratamentos em meio ácido e alcalino são eficientes para remoção da hemicelulose e lignina, respectivamente.

Camargo et al. estudaram a viabilidade de produção de nanocelulose a partir de bagaço de cana-de-açúcar e concluíram que, para a solubilização da hemicelulose, o uso de diferentes processos hidrotérmicos, neste caso o ácido diluído e explosão a vapor, não provocaram diferenças na produção de CNC, e que a etapa de pré-tratamento é flexível e pode ser ajustada de acordo com os interesses desejados (CAMARGO et al., 2016).

4.1.1 Refinamento mecânico

A partir de uma polpa celulósica, a celulose nanofibrilada (CNF) é obtida através de tratamento mecânico. Este tratamento visa a separação das fibras de celuloses e as estratégias usadas são variadas, sendo as mais estudas a homogeneização por alta pressão, microfluidização, sonicação com alta intensidade e moagem por disco (DUFRESNE, 2012; SANTUCCI et al., 2016).

A homogeneização por alta pressão se baseia em aplicar pressão (aproximadamente 55 Mpa) sobre uma suspensão de polpa, tipicamente na concentração entre 1 e 2 % m/m (DUFRESNE, 2012), e rapidamente despressurizar o sistema, submetendo o material a passar por micro canais. A despressurização causa um maior afrouxamento das fibras e as forças de cisalhamento causadas pela passagem pelos micro-orifícios causam a desfibrilação do material. É um sistema relativamente simples, não necessita de solventes orgânicos e apresenta alta eficiência, mas apresenta a desvantagem da necessidade de reciclo e um alto consumo de energia, além constantes entupimentos no equipamento, o que resulta na necessidade de uma redução de tamanho prévio do material (ABDUL KHALIL et al., 2014) (QING et al., 2013b).

Semelhante ao homogeneizador que utiliza um sistema sobre pressão, a microfluidização se baseia em passar uma polpa por uma câmera com micro canais em formato de “Z” ou “Y”, onde se gera uma força de cisalhamento que desfibrila o material. A pressão nesse sistema pode chegar a 40.000 psi, aproximadamente 276 MPa (SPENCE et al., 2011; DUFRESNE, 2012). As peças com menores tamanhos, que geralmente são os focos de entupimento, são móveis e por isto o microfluidizador apresenta menor problema de entupimento que o homogeneizador (SPENCE et al., 2011)

O princípio do tratamento de sonicação com alta intensidade é a ação de forças hidrodinâmicas sobre as fibras de celulose. A suspensão é submetida a pulsos ultrassônicos, tipicamente com frequências de 20-50 kHz (DUFRESNE, 2012). A formação, expansão e implosão de bolhas microscópicas de gás resultam em energia que é absorvida pelo material e proporciona o desfibramento (ABDUL KHALIL et al., 2014). Este processo apresenta como desvantagens o aquecimento do sistema pela geração de energia, altos níveis de ruído e a geração de radicais livres que podem interagir com outras moléculas do material (DUFRESNE, 2012; ABDUL KHALIL et al., 2014).

O refinamento por moinho de disco é realizado pela passagem da suspensão de polpa por um pequeno espaço entre dois discos ranhurados. O disco superior é fixo enquanto o

outro disco alcança rotações de 1500 rpm (DUFRESNE, 2012; ABDUL KHALIL et al., 2014). A força centrípeta age no material forçando sua passagem pelas ranhuras dos discos, que possuem dimensões micrométricas (SPENCE et al., 2011). São necessários alguns ciclos para se obter um material em escala nanométrica, dependendo do material de partida (DUFRESNE, 2012; ABDUL KHALIL et al., 2014). Os discos podem ser feitos de diversos materiais e com diferentes configurações de ranhuras com o objetivo de mudar o fluxo dentro do sistema. A necessidade de substituir os discos é uma desvantagem desse processo, já que os mesmos podem se desgastar. Comparado aos outros processos, o refinamento por discos possibilita o trabalho em maiores teores de sólidos e tem maior facilidade para utilização em escala industrial, como mostrado no estudo de produção de CNF a partir de polpa de eucalipto branqueada (SPENCE et al., 2011; WANG et al., 2012).

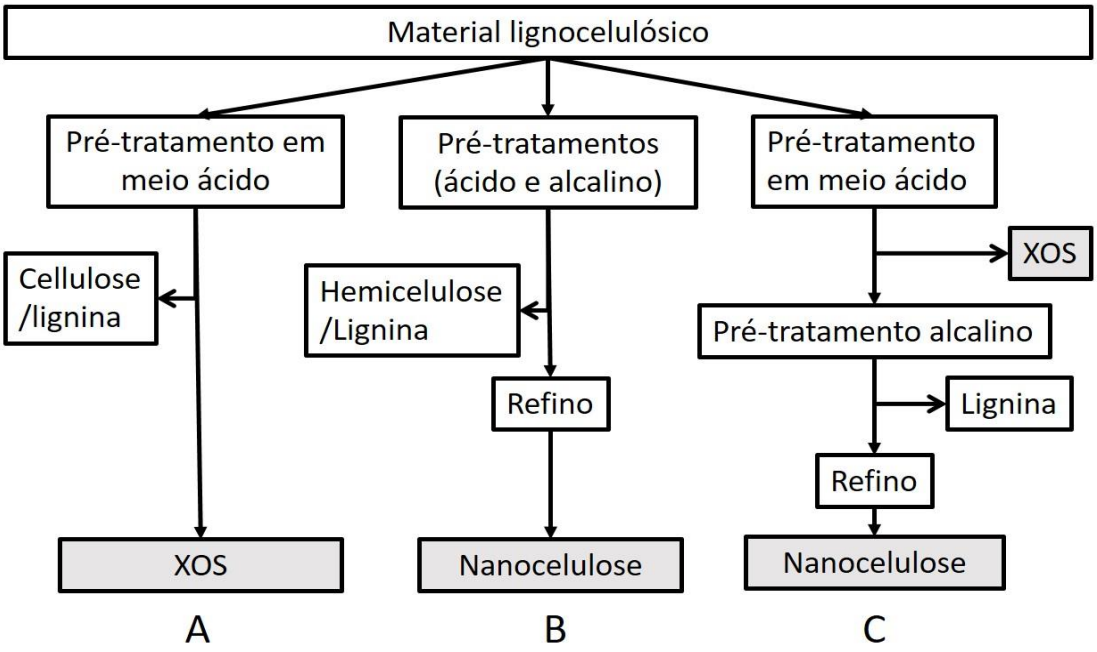
2.5 O conceito de biorrefinaria na produção de nanocelulose e xilo-oligossacarídeo

O conceito de biorrefinaria busca o uso integral das frações da biomassa vegetal, tanto para obtenção de produtos de alto valor agregado como para fontes energéticas. A produção de nanocelulose utiliza apenas a fração celulósica, sendo necessária remoção da hemicelulose e lignina do LCM. As etapas de obtenção da polpa celulósica passam por uma solubilização da hemicelulose e deslignificação para se obter uma polpa celulósica adequada para produção de nanocelulose (LEE; HAMID; ZAIN, 2014). Durante estas etapas é possível e desejável a obtenção de outros produtos de alto valor agregado, tanto por fatores econômicos como pela sustentabilidade do processo, utilizando as frações hemicelulósicas e de lignina.

No caso do BCA, a hemicelulose é predominantemente composta por xilana e pode ser removida durante a etapa de pré-tratamento em meio ácido na forma de XOS. A otimização desta etapa para obtenção de XOS é adequada a uma aplicação do conceito de biorrefinaria para a produção de nanocelulose a partir do bagaço de cana-de-açúcar.

Buscando a aplicação do conceito de biorrefinaria, com a produção conjunta de nanocelulose e XOS, o uso da combinação das etapas de obtenção de ambos os produtos (Figura 9 A,B) resulta em um processo que busca o aproveitamento de ambas frações de carboidratos do material (Figura 9 C). O processo se baseia em uma hidrólise ácida para a extração da hemicelulose (em forma de XOS) seguida de etapas de deslignificação e branqueamento para a remoção da lignina, resultando em uma polpa rica em celulose, adequada para produção de nanocelulose (Figura 9 C)

Figura 9 – Fluxograma com as rotas para obtenção de bioprodutos a partir de material lignocelulósico – A: Xilo-oligossacarídeo (XOS); B: Nanocelulose; C: XOS e Nanocelulose.



Fonte: Própria do autor.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Integrar a produção de xilooligossacarídeos como co-produto de alto valor agregado ao processo de produção de celulose nanofibrilada a partir do bagaço de cana-de-açúcar.

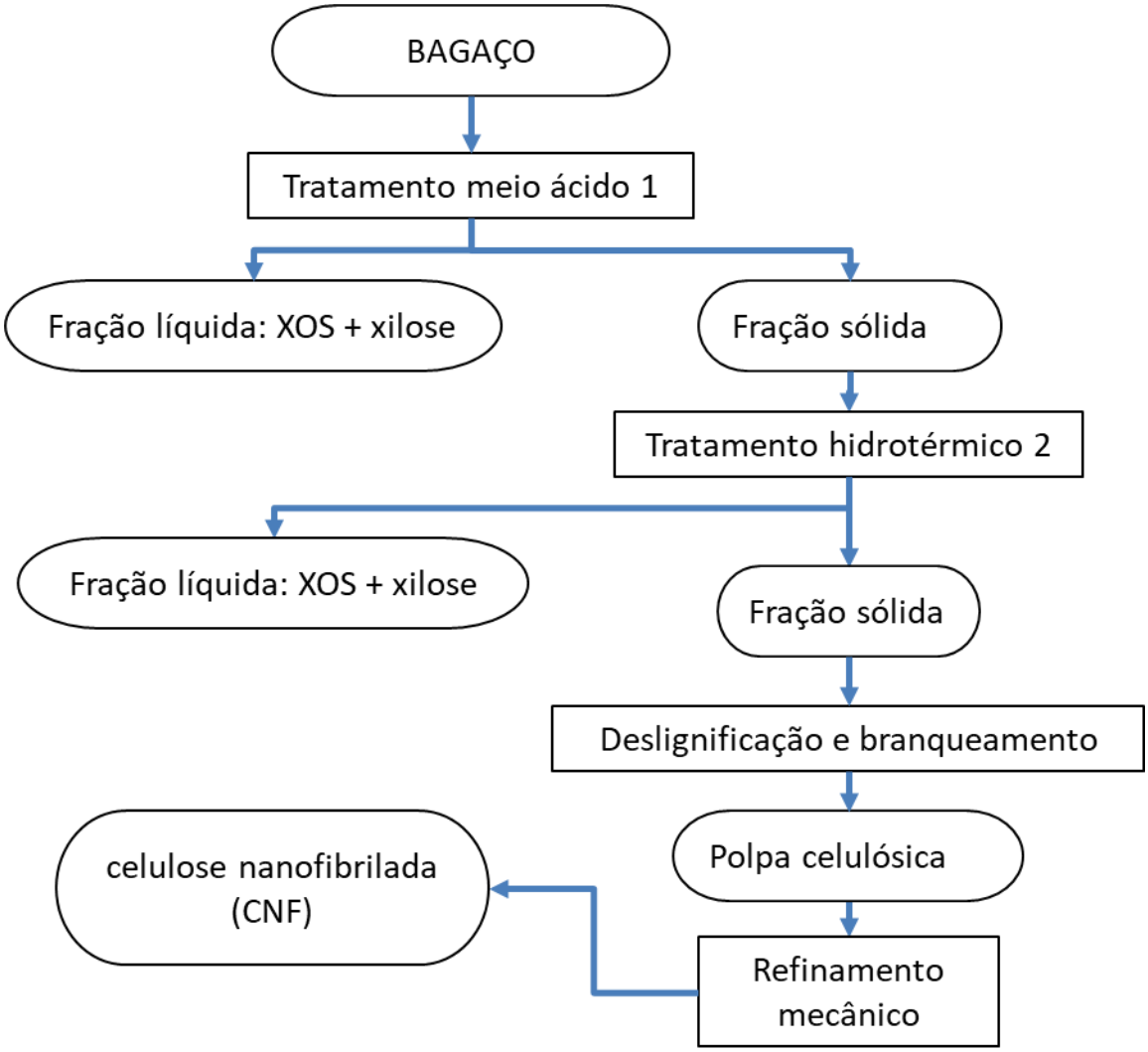
3.2 Objetivos específicos

- Otimizar a primeira etapa de pré-tratamento hidrotérmico para a remoção da xilana na forma oligomérica (XOS);
- Otimizar a segunda etapa de pré-tratamento hidrotérmico para maximizar a remoção de xilana no hidrolisado;
- Gerar polpa rica em celulose através da deslignificação e branqueamento do material obtido do pré-tratamento hidrotérmico;
- Produzir celulose nanofibrilada através de refinamento mecânico.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A abordagem experimental adotada neste projeto está esquematizada na Figura 10.

Figura 10 – Fluxograma experimental para produção de xilo-oligossacarídeo e celulose nanofibrilada a partir do bagaço da cana-de-açúcar.



Fonte: Própria do autor.

4.1 Bagaço de cana-de-açúcar e polpa kraft branqueada

O bagaço de cana-de-açúcar utilizado foi coletado na usina Usina Vale - Estância Vale do Rio Turvo - Onda Verde Agro Comercial S.A (Onde Verde- SP) em março de 2016. A etapa de moagem do bagaço foi realizada no Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE) em moinho de martelo e foi classificado em relação ao seu tamanho em peneiras vibratórias, na qual as frações menores que 6 mm foram recolhidas para processamento. Para fins de remover a sacarose residual ou outros compostos solúveis em água, foi efetuada uma lavagem a 80 °C por 30 min em reator Parr com capacidade para 8 litros, sendo utilizado 6 litros para a lavagem, com uma razão bagaço:líquido de 1:24 (m/v),

conforme procedimento adaptado de Novo et al. (NOVO et al., 2011). O procedimento de lavagem foi adotado após cada etapa de processamento no reator Parr utilizando 20 vezes o volume de água destilada em relação a massa seca do material, sendo 10 vezes em mistura e 10 vezes em fluxo de filtração à vácuo. Todos os cálculos realizados foram baseados na composição química do bagaço lavado. O material foi armazenado em câmera fria (4ºC) até utilização.

A polpa kraft branqueada foi obtida da empresa Fibria Celulose S.A. (Jacareí-SP, Brazil), com a composição de 78,6 % m/m de celulose, 14,6 % de hemicelulose e 2,7 % de lignina e umidade de 65 %m/m (DIAS, 2017).

4.2 Caracterização química dos sólidos

A caracterização química do bagaço *in natura* e das frações sólidas geradas durante os processos seguiram os protocolos do Laboratório Nacional de Energia Renovável (NREL) dos Estados Unidos: determinação de cinzas (NREL/TP-510-42622) (HAMES; SCARLATA; NREL, 2008); extrativos (NREL/TP-510-42619) (SLUITER et al., 2008a) e para a composição dos açúcares e lignina (NREL/TP-510-42618) (SLUITER et al., 2012). Com exceção das cinzas, os outros procedimentos foram adaptados e são descritos abaixo.

O material sólido moído (passando em peneira de 20 mesh) foi submetido ao processo de extração em duas etapas, sendo a primeira em água destilada e a segunda com etanol. Ambas as etapas de extração ocorreram por 16 horas e foram realizadas em balão de 1 litro, tendo como volume total de solvente de 700 mL, com duração de 16 horas por etapa. A determinação da percentagem de extrativos foi realizada através da diferença de massa inicial e final do material seco. Para determinação dos componentes estruturais do material, cerca de 300 mg (massa seca) do material, obtido após o processo de extração, foram submetidos a duas etapas de hidrólises, sendo uma com ácido concentrado e outra com ácido diluído. A primeira ocorreu com a adição de 3,0 mL ácido sulfúrico (72% m/m) à temperatura ambiente por 2 horas, com agitação a cada 20 minutos. Após este procedimento, o material foi submetido a hidrólise com ácido diluído, através da adição de 84,0 mL água destilada ao primeiro meio reacional, resultando em uma concentração final de ácido sulfúrico próximo a 4 % m/m. Este meio reacional foi submetido a autoclave (121 ºC) por 1 hora. A mistura final, após ser resfriada, foi filtrada em cadinho de vidro sinterizado nº3. Por gravimetria foi determinada a percentagem de lignina insolúvel, considerando a massa retida no cadinho. A fração líquida foi submetida a análise de espectrometria UV em 205 nm para determinação da concentração de lignina solúvel, considerando a constante de absortividade

molar igual a 105 $L.g^{-1}.cm^{-1}$ (DENCE, 1992). Para proteção da coluna cromatográfica, as amostras foram previamente filtradas em membrana de 0,45 mm, para remoção de partículas que pudessem ocasionar entupimento, e cartucho de resina C-18, para remoção de composto fenólicos e produtos de degradação de carboidratos que danificam a coluna cromatográfica. A quantificação dos açúcares constituintes e do ácido acético foi feita por técnica de cromatografia líquida de alta pressão (HPLC Waters®) utilizando uma coluna HPX-87H (Bio-rad) a 45 ºC, eluída com ácido sulfúrico 5 mmol/L a 0,6 mL/min.

A umidade da amostra foi determinada por balança automática de infravermelho (SHIMADZU, modelo:MOC63u) com lâmpada de halogênio, utilizando pelo menos 0,5 g do material para análise.

4.3 Caracterização química das frações líquidas

A caracterização das frações líquidas obtidas durante os processos, tanto hidrolisado como águas de lavagem, foi feita de acordo com o protocolo NREL/TP-510-42623 (SLUITER et al., 2008b). As frações líquidas foram submetidas à análise em HPLC de acordo com o item 3.2, para determinar a concentração de glicose, arabonise xilose e ácido acético. Para a determinação de açúcares oligoméricos foi feita uma etapa de pós-hidrólise, a fim de despolimerizar todos os oligômeros a seus monômeros correspondentes, com a adição de 347 µL de H_2SO_4 (72 % m/m) a 10,0 mL de amostra, resultando em uma concentração de ácido sulfúrico próximo à 4 % m/m. Esta solução foi submetida a autoclave por 1 hora à 121 ºC. O líquido resfriado foi submetido a análise cromatográfica como citado anteriormente. A quantidade de açúcares oligoméricos foi feita pela diferença da quantidade de açúcares obtido na etapa com pós-hidrólise e dos açúcares obtidos diretamente no hidrolisado. A quantidade de ácido acético liberado na etapa de pós hidrólise, isto é, o ácido medido na pós hidrólise menos o ácido contido inicialmente no hidrolisado, foi usado para determinar o grau de substituição da cadeia de xilana por grupos acetil, que é expresso em unidades de acetil (mol) por unidade de xilose (mol) (GULLÓN et al., 2011), conforme equação 1.

$$GA = \frac{massa_{AA}/MM_{AA}}{massa_{xilose}/MM_{xilose}} \quad (1)$$

Onde: GA – grau de acetilação; AA – ácido acético); MM – massa molar.

4.4 Tratamento 1

O tratamento hidrotérmico foi conduzido em um reator Parr de capacidade de 2 L, acoplado a um agitador mecânico com controle de velocidade (expresso em rpm) e a um controlador digital de temperatura (expresso em ºC). O sistema de aquecimento é por camisa térmica elétrica, com taxa de aquecimento de aproximadamente 5 ºC/minuto. A massa total adicionada foi de 50 g em base seca do bagaço (considerando uma umidade de aproximadamente 35 % m/m) e a relação sólido-líquido de bagaço de cana-de-açúcar e água foi de 1:11, com agitação a 120 rpm. Esta condição foi determinada com base em testes preliminares que avaliaram a maior consistência e a agitação mais adequada para operação do reator. As variáveis tempo, temperatura e concentração de H_2SO_4 (%m/m) foram determinadas de acordo com o planejamento experimental. Após a hidrólise, a mistura foi filtrada a vácuo e a fração sólida foi lavada como descrito anteriormente. Tanto os açúcares do hidrolisado como da água de lavagem foram contabilizados para o valor de açúcares finais recuperados.

O planejamento experimental foi feito com fatorial completo tendo como as variáveis independentes o tempo de reação (15 – 45 minutos), temperatura do reator (150 – 190 ºC) e concentração de ácido sulfúrico em relação a massa seca de bagaço (0 – 1 % m/m), conforme apresentado na tabela 1. Foram feitas 5 repetições no ponto central e analisado se a região estudada apresentava curvatura em relação a variável resposta XOS (rendimento de xilana recuperada na forma de xilo-oligossacarídeo). Como o modelo apresentou curvatura significativa (p-valor de 0,003), foi realizado experimentos nos pontos axiais por rotação tipo estrela (α =1.64), com os valores apresentados na tabela 1. A condições com a concentração de ácido negativa (- α = -1,32 % m/m) foi ajustado para 0 % m/m e a temperatura acima de 200 ºC (α = 203 ºC) foi ajustado para 200 ºC por questões técnicas do equipamento. O programa utilizado para as análises de dados foi o Design-expert 11 e para a geração dos gráficos foi utilizado o programa DELL Statistic, versão 13 e. O índice de significância estatística utilizado foi de 90 %, a fim de analisar quais fatores apresentavam significância estatística para a resposta estudada, no caso rendimento dos produtos da hidrólise da xilana, XOS e xilose.

Para efeito de otimização de processo foi considerada como variáveis dependente (resposta) a quantidade de XOS e xilose recuperado na fração líquida (soma do hidrolisado com as águas de lavagem).

A partir deste planejamento foi determinado o ponto ótimo para máxima recuperação de xilana na forma de XOS com alta seletividade em relação a xilose. As condições do ponto ótimo foram ajustadas para um aumento de escala para se gerar massa para o segundo planejamento experimental. Para isso, o reator utilizado foi o Parr de 8 litros à 120 rpm, com taxa de sólidos de 1:20, à 182 ºC por 5,5 min sem a adição de ácido, condição determinada como ótima nesse planejamento. O reator parr de 8 litros apresenta sistema de agitação e aquecimento próprios, mas com as mesmas propriedades dos apresentados para o reator parr de 2 litros.

Tabela 1 – Condições experimentais do planejamento experimental do primeiro pré-tratamento em meio ácido, com os valores das variáveis independentes tempo, temperatura e concentração de H_2SO_4 em relação a biomassa (% m/m).

Condição	**- α**	**-1**	**0**	**+ 1**	**+ α**
Temperatura (ºC)	138	150	170	190	200
Tempo (min.)	5.5	15	30	45	55
[H_2SO_4] (% m/m)	0	0	0.5	1	1.32

Fonte: Própria do autor

4.5 Tratamento 2

O segundo tratamento foi realizado sobre a fração sólida oriunda do primeiro tratamento. Com o objetivo de gerar um material rico em celulose, foi otimizado as condições de tempo, temperatura e concentração e agente catalisador para uma maior remoção da xilana residual do bagaço, através da recuperação de seus produtos de hidrólise, xilose e XOS. O planejamento experimental aplicado a esta etapa seguiu os mesmos passos do item 4.4, com os mesmos níveis das variáveis independentes (tempo, temperatura e concentração de agente catalisador) e analisando como variável resposta a recuperação dos produtos de hidrólise da xilana, xilose e XOS.. Após esta etapa o material foi filtrado à vácuo e a fração sólida foi lavada como citado anteriormente.

4.6 Deslignificação

A etapa de deslignificação foi aplicada à fração sólida oriunda do segundo tratamento (item 4.5), após o mesmo ser lavado. Esta etapa foi realizada em reator Parr com 2 litros de capacidade. Foi utilizada uma massa de 50 g do material (com base seca, considerando uma umidade de 83 %m/m), com razão de sólido-líquido de 1:20 (m/v), NaOH 1,0 % (m/v), sob agitação a 80 rpm a 100 ºC durante uma hora (ROCHA et al., 2012). Após esta etapa o material foi filtrado à vácuo e a fração sólida foi lavada como citado anteriormente.

4.7 Branqueamento

As etapas de branqueamento foram aplicadas à fração sólida oriunda da etapa de deslignificação (item 4.6). As duas etapas de branqueamento, a primeira em meio alcalino e a segunda em meio ácido, foram realizadas em reator Parr com 2 Litros de capacidade. Na primeira etapa foram tratadas 50 g do material (em base seca, considerando uma umidade de 82 % m/m), com razão sólido-líquido de 1:20. Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi adicionado até concentração de 8% (m/m), assim como NaOH 3% (m/m). $MgSO_4$ (1,2 %m/m) foi adicionado ao meio para controlar a degradação do H_2O_2 e melhorar a ação de branqueamento (FANG et al., 1999), condição otimizada por Li (LI et al., 2012). A reação ocorreu por 2 horas à 80 ± 2 °C, sob constante agitação (120 rpm). Esta metodologia foi adaptada do estudo realizado por de Li et al., (2011). Após esta etapa o material foi filtrado à vácuo e lavado conforme descrito anteriormente.

A segunda etapa de branqueamento foi realizada em mesmo reator, com a mesma razão de sólidos (1:20), utilizando toda a massa recuperada da reação anterior, e adicionando ácido acético concentrado (aproximadamente 99,7 %v/v) até atingir concentração de 2.0 % v/m (volume em relação a massa seca do material), assim como clorito de sódio 6 % v/m, conforme procedimento adaptado de Rocha (ROCHA; BALKZÓ; MULINARI, 2012). A reação foi conduzida a 75 ± 2 ºC por 2 horas. Após esta etapa o material foi filtrado e lavado como citado anteriormente.

4.8 Produção de celulose nanofibrilada

A produção de celulose nanofibrilada (CNF) foi feita a partir da polpa branqueada obtida do bagaço (item 4.7). Foi processado 1 litro de polpa, com consistência de 0,6 % m/m, em ultra-refinador de discos SuperMassColloider (Masuko modelo: MKCA6-5J) até que a suspensão final apresentasse propriedades de nanofibrilas. Resumidamente, um dos discos do equipamento permanece em estado estacionário enquanto o outro disco rotaciona à 1500 rpm, com uma distância dos discos determinada conforme Wang (WANG et al., 2012), onde se determina a posição zero pelo ruído entre os discos se tocando e, após a adição da suspensão da polpa, diminui-se a distância para -100 µm. Uma vez que todo material tenha passado pelo equipamento o procedimento se encerra (um ciclo) e os discos são afastados. Os ciclos de processos foram repetidos até que as partículas analisadas apresentassem tamanhos inferiores a 1000 nm, tamanho estipulado por estudos dentro do grupo de pesquisa que apontam a possibilidade de a partícula estar na escala nanométrica. A propriedade de

nanofibrila determinada como tamanho é o diâmetro de uma esfera de volume hidrodinâmico equivalente à partícula, medido no analisador de partículas MasterSizer 300 (descrito no item 4.9). O mesmo procedimento foi realizado para uma polpa Kraft branqueada de eucalipto, nas mesmas condições, para servir de referência nas propriedades na CNF obtida. A polpa branqueada de eucalipto foi utilizada pois a maioria dos trabalhos encontrados na literatura para produção de CNF utilizam este tipo de polpa como matéria-prima.

4.9 Determinação de tamanho e distribuição de partículas

Após cada ciclo, a suspensão foi analisada em relação a distribuição e tamanho médio das partículas, utilizando o analisador de partículas por difração a laser Mastersizer 3000 (Malvern Instruments, Reino Unido), com faixa de detecção de 10 nm a 3,5 mm. As partículas foram dispersadas no módulo do Hydro MV, que proporciona um melhor movimento da amostra, evitando sedimentação e agregação. O tamanho das partículas é estipulado pela difração ocasionada pelo corpo das partículas quando estas são submetidas à um feixe de laser. Por conter várias partículas passando por esses lasers, o equipamento calcula o volume da partícula, considerando que ela fosse uma esfera. Portanto, o cálculo do tamanho da partícula é indireto, pois o equipamento calcula o diâmetro de uma esfera de volume equivalente a partícula, valor que consideramos como sendo o tamanho da partícula. O índice fornecido pelo analisador de partículas após cada análise é o D_{90}, representando que 90 % das partículas apresentam valores de tamanho menores que o valor do índice D_{90}.,

Foram realizadas 4 leituras para cada amostra sob agitação de 3.500 rpm e obscuração entre 2,0 e 3,0 %. Os resultados foram reportados na forma de densidade numérica (%) por tamanho de partícula. Ao final das 4 leituras a unidade de dispersão foi lavada automaticamente por três vezes utilizando água deionizada.

4.10 Microscopia de força atômica (AFM- Atomic Force Microscopy)

As análises foram realizadas no Laboratório de polímeros (LabPol) do Departamento de Engenharia Química da EEL. As amostras que apresentaram tamanho de partícula inferior a 1000 nm (item 4.9) foram analisadas em relação a topografia. Uma amostra com teor de sólido de 0,01 % (m/m) foi dispersada em ultrassom por 5 minutos e, em seguida, 100 µL da amostra foi adicionada à uma mica recém clivada. A análise foi realizada no equipamento Park Systems XE7 (Corea do Sul) com *cantilever* (CONTSCR 10M), frequência de 1,0 Hz, operado em sistema de contato intermitente. As topografias geradas foram tratadas e os diâmetros foram medidos com auxílio do *software* Gwyddion 2.49 (64 bits).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição do bagaço de cana

O bagaço de cana-de-açúcar (BCA) após ser lavado (80ºC por 30 minutos) apresentou composição química diferente do bagaço *in natura*, como é demostrado na Tabela 2, com a diminuição da quantidade de glicose. Considerando que o processo de lavagem do bagaço foi brando, utilizando temperatura abaixo do ponto de degradação da celulose (FENGEL; WEGENER, 1989), é provável que a diminuição dos níveis de glicose ocorreu devido a remoção da sacarose residual contida no bagaço, oriunda da etapa de moagem da cana-de-açúcar. Para a realização dos experimentos foi utilizado o bagaço lavado, portanto todos os cálculos foram baseados na composição química deste material.

Na literatura são encontrados valores distintos para a composição BCA, como é mostrado na Tabela 1. Diferenças geográficas, climáticas e de espécies de cana existentes são os principais fatores para diferentes composições químicas do bagaço (LOO; KOPPEJAN, 2008). O bagaço lavado apresentou maiores teores de lignina e menores teores de celulose do que as composições encontradas na literatura. Os teores da hemicelulose (xilose, arabinose e ácido acético) foram semelhantes ao encontrado na literatura.

Tabela 2 – Composição química do bagaço de cana-de-açúcar *in natura* e após lavagem.

Componente (%m/m)	*Bagaço in natura*	*Bagaço lavado*	*Literatura**	*Literatura **
Glicose	38,92 ± 0,36	33,00 ± 0,80	42,19 ± 1,93	36,74 ± 0,26
Xilose	23,37 ± 0,19	22,93 ± 1,24	23,96 ± 1,75	20,30 ± 0,07
Arabinose	1,91 ± 0,02	1,88 ± 0,15	2,00 ± 0,30	1,8 ± 0,37
Ácido acético	4,63 ± 0,04	4,36 ± 0,02	2,80 ± 0,30	4,26 ± 0,08
Cinzas	6,41 ± 0,33	6,74 ± 0,42	2,84 ± 1,22	6,53 ± 0,20
Lignina	24,36 ± 0,77	29,18 ± 0,70	21,56 ± 1,67	20,57 ± 0,40
Extrativos	4,84 ± 0,06	5,77 ± 0,69	5,63 ± 2,31	4,07 ± 0,05

Fonte: Própria do autor; * (ROCHA et al., 2015); ** (SZCZERBOWSKI et al., 2014)

A hemicelulose do bagaço lavado representou aproximadamente 30 % do material seco, sendo composta por xilana, arabinose e ácido acético (Tabela 1). Com relação aos carboidratos presentes na hemicelulose, cerca de 92 % (m/m) é xilana, sendo o principal açúcar dessa fração e o segundo maior carboidrato presente no BCA lavado. Por estas razões a hemicelulose do bagaço é propícia para se obter produtos à base de xilana, como XOS e xilose.

5.2 Tratamento 1

Visando otimizar a condição do primeiro pré-tratamento hidrotérmico, foram analisadas as variáveis independentes temperatura (ºC), tempo (minutos) e concentração de catalisador ácido (H_2SO_4 - % m/m). Além de ser utilizado para otimizar o processo para maior recuperação de XOS, o planejamento experimental serve como ferramenta para entender melhor como as variáveis de processos afetam a composição do hidrolisado recuperado. Como o foco deste estudo foi a recuperação da xilana no hidrolisado e por esta razão o rendimento de XOS e xilose foram estudados. Como variável resposta foram analisadas as variáveis o rendimento de xilana extraída na sua forma oligomérica, isto é, xilooligosacarídeo (XOS); xilana extraída na sua forma monomérica, xilose; e xilana total recuperada, representada por XOS + xilose.

As condições de processo foram ajustadas segundo o planejamento de experimento fatorial completo 2^3, com as repetições no ponto central, e os dados obtidos estão na Tabela 3. O teste de curvatura, que determina se a região de trabalho foi adequada para a realização de um planejamento com superfície de resposta, apresentou p-valor de 0,003, sendo significante estatisticamente para um intervalo de confiança de 90 % (p-valor menor que 0,1). Uma vez que a curvatura é significativa, um planejamento fatorial não é o mais adequado para explicar o experimento e o planejamento experimental com superfície de resposta precisa ser estudado. Assim, foi realizado experimentos nos pontos axiais, com rotação do tipo estrela, que são apresentados na Tabela 3, com o objetivo de se obter uma superfície de resposta e uma possível otimização dos fatores para a máxima recuperação de XOS. O valor do ponto axial para concentração de ácido negativa não é tecnicamente possível, então este valor foi convertido a 0. O valor para temperatura no ponto axial com +α inicialmente era de 202 ºC, mas ao fazer testes no reator, temperaturas acima de 200 ºC apresentaram comportamento instáveis, então o ponto foi ajustado para 200 ºC.

O modelo quadrático aplicado apresentou significância estatística para todas as respostas, podendo ser utilizado para uma otimização do processo (Tabela 4). Os coeficientes de correlação para as três respostas foram considerados aceitáveis, apontando que a equação aplicada explica com satisfação o processo estudado.

A análise de variância (ANOVA) apresenta os dados do planejamento experimental completo, com os pontos centrais e axiais, conforme a Tabela 4.

Tabela 3 – Planejamento experimental fatorial completo 2^3, com repetições no ponto central e pontos axiais com rotação do tipo estrela, da primeira etapa hidrotérmica, com os valores das variáveis reposta XOS, xilose e XOS + xilose e do produto de degradação da xilose (Furfural)

	Temperatura (ºC)	**Tempo (min,)**	**H_2SO_4 (% m/m)**	**Rendimento (% m/m)**			**Degradação**
				XOS	xilose	XOS + xilose	Furfural
Planejamento fatorial completo 2^3	150	15	0	7,02	1,52	8,54	0,03
	150	45	0	15,47	1,85	17,33	0,05
	190	15	0	42,44	8,80	51,24	0,58
	190	45	0	7,22	12,01	19,23	1,19
	150	15	1	30,84	15,02	45,87	0,11
	150	45	1	24,67	31,08	55,75	0,17
	190	15	1	1,52	37,00	38,52	0,81
	190	45	1	1,01	22,77	23,77	1,12
Ponto central	170	30	0,5	35,67	20,85	56,51	0,22
	170	30	0,5	36,21	17,16	53,37	0,24
	170	30	0,5	36,74	20,17	56,91	0,23
Pontos axiais (rotação estrela)	170	30	1,32	7,04	46,52	53,56	0,75
	138	30	0,50	12,91	4,67	17,59	0,02
	200	30	0,50	0,00	7,78	7,78	1,47
	170	55	0,50	22,66	26,74	49,39	0,63
	170	5,5	0,50	36,76	9,29	46,05	0,11
	170	30	0,00	40,85	3,55	44,39	0,10

Fonte: Própria do autor.

A máxima recuperação de xilana na forma de XOS foi o objetivo da primeira etapa de pré-tratamento hidrotérmico. A equação que representa este modelo (Equação 2) foi modificada retirando termos de menor relevância para o modelo. A Tabela 5 traz os efeitos das variáveis independentes sobre as variáveis resposta, já considerando a retirada dos temos sem significância estatística. Termos lineares não foram retirados pois o modelo precisa ser hierárquico. Com a retirada dos termos que envolvam a variável tempo (tempo x concentração de catalisador e o termo quadrático do tempo), o coeficiente de relação obtido foi de 0,8554.

Tabela 4 – Análise de variância (ANOVA) para a variável XOS, xilose e a soma de ambas, com intervalo de confiança de 90 % e valor do coeficiente de correlação (R^2), para a primeira etapa do pré-tratamento hidrotérmico.

		XOS		xilose		XOS + xilose	
	*GL***	*Soma dos quadrados*	*p-valor*	*Soma dos quadrados*	*p-valor*	*Soma dos quadrados*	*p-valor*
Modelo	9	3367,58	0,0140*	5073,21	0,0002*	2381,96	0,0249*
T	1	207,28	0,1110	45,46	0,2175	58,60	0,3355
t	1	236,1	0,0930*	40,32	0,2426	81,29	0,2627
C	1	142,23	0,1750	676,32	0,0012*	1438,86	0,0014*
Tt	1	180,65	0,1330	559,07	0,0021	104,12	0,2105
TC	1	803,05	0,0090*	930,50	0,0005*	4,69	0,7783
tC	1	50,39	0,3990	15,05	0,4611	10,36	0,6767
T^2*	1	1425,13	0,0020*	2772,56	0,0000*	222,14	0,0840*
t^2	1	62,22	0,3520	63,62	0,1529	0,01	0,9908
C^2	1	371,61	0,0450*	163,80	0,0369*	41,97	0,4105
Resíduos	7	437.54		173,28		383,63	
Total	16	3805,12		5246,49		2765,58	
R^2		0.8850		0.9670		0.8613	

Fonte: Própria do autor.
Nota: * - termos significativos estatisticamente para um intervalo de confiança de 90,0 %;
** - GL: grau de liberdade;
Variáveis T: Temperatura (ºC); t: Tempo (minutos); C: Concentração de H_2SO_4 (% m/m).

$$XOS_{rend.} = -941{,}46 + 10{,}7726 \times T + 4{,}41067 \times t + 109{,}058 \times A - 0{,}0158401 \times T \times t - 1{,}00191 \times T \times A - 0{,}029404 \times T^2 - 27{,}0235 \times A^2 \quad (2)$$

onde: $XOS_{rend.}$ = Rendimento de XOS em relação a xilana inicial no bagaço, T = temperatura, t = tempo e A= concentração de catalisador (C).

A tabela 5 apresenta o efeito das variáveis independentes sobre as respostas. O tempo de reação apresenta efeito negativo sobre a recuperação de XOS e efeito positivo na recuperação de xilose. A concentração de catalisador tem efeito negativo para a recuperação da xilana na forma de XOS e, embora o termo linear correspondente a esse fator (C) não seja significante, este fator combinado com a temperatura apresenta efeito significativo sobre a resposta XOS. Sobre a recuperação de xilose, o termo linear C tem efeito positivo sobre a resposta, mas quando combinado com a temperatura apresenta efeito negativo. A

temperatura apresenta efeito negativo sobre todas as respostas, com exceção do termo linear para a resposta XOS + xilose.

Tabela 5 – Efeito das variáveis independentes temperatura (T), tempo (t) e concentração de catalisador (C) e suas interações sobre as variáveis respostas XOS, xilose e XOS+xilose.

	XOS	*xilose*	*XOS+xilose*
T	-8,0380	-3,7530	4,28502
T^2	-23,5279	-33,2248	-9,69692
t	-8,4642	-3,5465	4,91770
C	-7,2885	16,0311	23,31962
C^2	-13,5174	-8,6979	4,81949
*T*t*	-9,5040	-16,7194	-7,21531
*T*C*	-20,0381	-21,5696	-1,53150

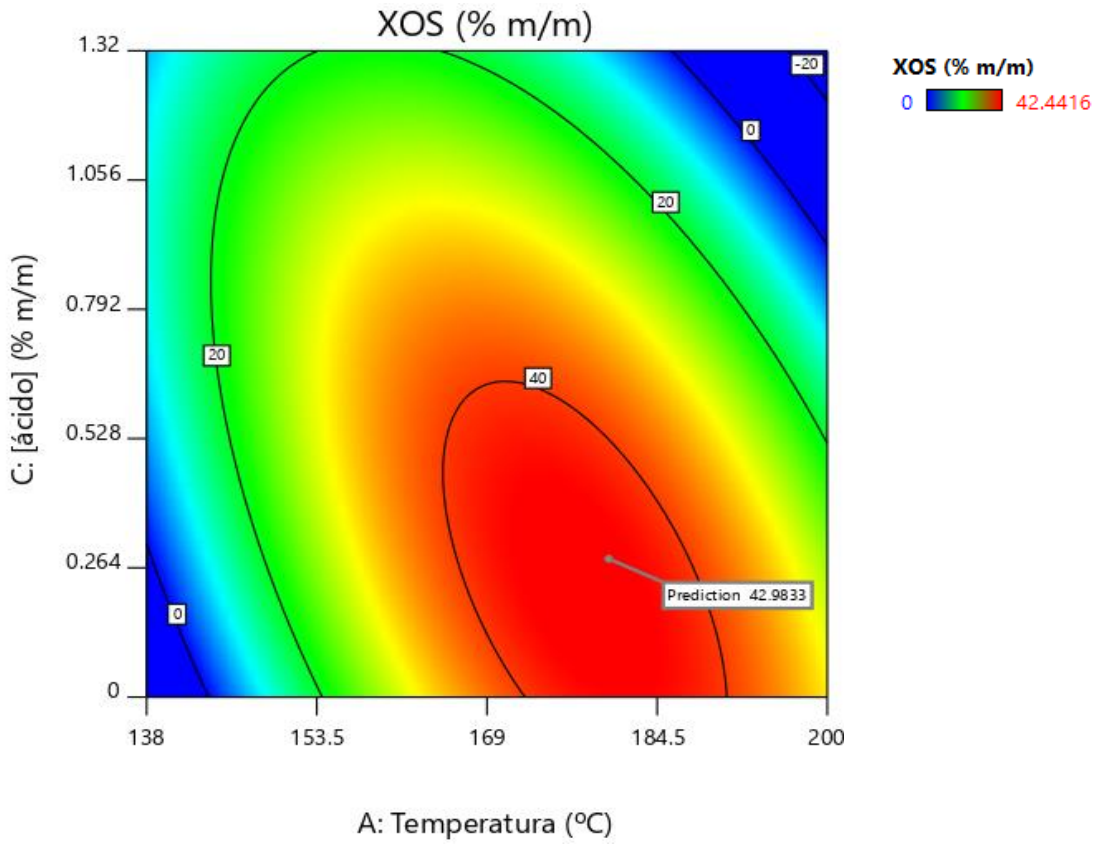
Fonte: Própria do autor.

A superfície de contorno (Figura 11) foi gerada a partir da equação quadrática do modelo (equação 2), onde uma das variáveis precisa ter seu valor fixado (no caso foi o tempo em 5,5 minutos).

A superfície de contorno ilustra que há uma região de ótimo, quando o rendimento de XOS é máximo. A determinação de qual condição utilizar no processo precisa levar em consideração os valores máximos de produto que se deseja alcançar e questões técnicas do processo, como condições que sejam mais fáceis de serem controladas ou de custo. Considerando que a faixa ótima tenha uma concentração entre 0-0,6 % m/m de catalisador, foi proposto que a reação fosse realizada sem catalisador, já que o mesmo gera custos operacionais e necessidade de reatores mais resistentes. Com isto, o máximo rendimento de XOS (condição otimizada) foi com tempo fixado em 5,5 minutos e sem adição de catalisadores temperatura de 182 ºC de reação. Os resultados com os valores obtidos e valores teóricos estão expressos na Tabela 4.

A validação da condição ótima prevista (182 ºC por 5,5 minutos e sem adição de ácido) foi realizada através da condução do tratamento hidrotérmico nesta condição em triplicata (Tabela 6). O valor do XOS foi muito próximo do valor predito pelo modelo (diferença de 3%). No entanto, o valor de xilose é menor que o esperado, resultando em um total de xilana recuperada também menor que o esperado. O licor obtido nessa etapa apresenta alta seletividade para produção de XOS e foi considerado como condição ótima para esta etapa do tratamento.

Figura 11 – Superfície de contorno para a resposta XOS, fixando a variável tempo em 5,5 minutos.



Fonte: Própria do autor

Tabela 6 – Valores preditos e reais no ponto ótimo determinado.

Rendimento (% m/m)	Predito	Experimental			
		#1	#2	#3	média
XOS	42,53	43,27	45,21	42,35	43,61
xilose	6,26	2,37	2,1	2,32	2,26
XOS + xilose	46,34	45,64	44,3	43,9	45,87

Fonte: Própria do autor

A fração líquida gerada utilizando a condição otimizada tem como seu principal componente o XOS (Tabela 7), representando cerca de 75 % m/m dos carboidratos do material da fração líquida. Essa concentração de XOS está dentro da faixa dos produtos prebióticos a base de XOS, que apresentam purezas entre 75 – 90 % m/m (AACHARY; PRAPULLA, 2011).

Com base na equação 1, com os valores obtidos na tabela 7 para massa de xilose e ácido acético liberado na pós-hidrólise da fração líquida, o grau de substituição do XOS obtido é de 0,24, valor maior que o encontrado por Buruiana (0,12), que realizou análise prebiótica e verificou que XOS substituídos tiveram consumos iniciaisem maior taxa que XOS não-substituídos (BURUIANA et al., 2017), resultados semelhantes a Gullón, que

realizou estudos em humanos do uso de XOS substituído e detectou que XOS acetilados eram consumidos mais rapidamente pelos voluntários nas primeiras horas de ensaios do que os XOS não substituídos, mas que depois de 72 horas, todos os XOS apresentaram o mesmo consumo (GULLÓN et al., 2014). Já Voragen detectou o oposto em seu trabalho com testes em humanos, onde detectou que XOS com grupos substituintes apresentaram consumo mais lento que XOS não substituídos (KABEL et al., 2002). Embora os trabalhos citados tenham apresentado métodos distintos de análise da atividade prebiótica de XOS substituído, eles apontam que há interferência dos grupos substituintes na atividade prebiótica, mas que esta questão ainda não está totalmente esclarecida.

Tabela 7 – Composição química da fração líquida da condição otimizada na primeira etapa do processo hidrotérmico.

Sem pós-hidrólise (g)				**Após pós-hidrólise (g)**			
Glicose	Xilose	Arabinose	ácido acético	Glicose	Xilose	Arabinose	ácido acético
0,07	0,60	1,11	0,74	1,44	10,93	0,34	1,06

Fonte: Própria do autor.

O mercado de prebiótico alcançou a marca de U$ 3,31 bilhões em 2015, com uma taxa de crescimento anual composta estimada de 11,6 % até 2023 (DAVIS, 2016). O mercado de XOS é crescente, principalmente quando se trata de XOS com propriedades prebióticas. Um exemplo é a China, que alcançou marcas de consumo de 1.600 toneladas de XOS por ano como aditivo alimentício, com projeção de crescimento de 5 % ao ano. Além disso, o governo chinês autorizou o uso de XOS como aditivo em rações na área de pecuária, o que deve fazer o consumo de XOS na China crescer ainda mais (CCM, 2016).

Considerando o rendimento de XOS obtido nessa etapa, de 43,6 % m/m em relação à xilana contida no bagaço, que representa aproximadamente 10 % do peso seco do bagaço de cana, é necessária 1 tonelada de bagaço para produção de 100 Kg de XOS, conforme indica a Equação 3. Esse cálculo, junto com informações de processamento de biomassa por uma planta já em escala industrial, nos traz um dimensionamento da capacidade de produção de XOS por via química.

(I) $XOS_{KG} = (Rendimento_{XOS} \text{ x } xilana_{bagaço} \text{ x } bagaço_{KG})/10000$

(II) $XOS_{KG} = (43{,}61 \text{ x } 22{,}93 \text{ x } 1000)/10000$

(III) $1\ ton_{bagaço} \rightarrow 100\ Kg_{XOS}$ (3)

A empresa Raizen S/A produz por ano cerca de 40 milhões de litros de etanol 2G na sua instalação localizada em Piracicaba – São Paulo (RAIZEN, 2017). Considerando a conversão de 289 litros de etanol por tonelada de biomassa, considerada ideal pelo diretor

da empresa Antonio Alberto Stuchi em entrevista (GOMES; ESTADO DE S.PAULO, 2016), cerca de 140 mil toneladas de bagaço são processadas com o intuito de se obter etanol. Com o processo proposto de tratamento hidrotérmico com o objetivo de solubilizar a xilana na forma de XOS, seria possível produzir cerca de 14 mil toneladas/ano de XOS apenas com a primeira etapa de hidrólise, conforme equação 3.

A empresa chinesa Longlive Bio-technology, que está introduzindo o seu produto no mercado europeu, possui uma planta para produção de XOS, com extração enzimática a partir do milho), com capacidade de 4.000 toneladas/ano, com projeção de construção de uma segunda planta com capacidade de produzir 6.000 toneladas/ano, totalizando 10 mil toneladas/ano (CCM, 2016; LONGLIVE, 2018). Esses números demonstram que, utilizando apenas uma das plantas de etanol 2 G brasileira, seria possível produzir quase que 50 % a mais de XOS do que a maior produtora chinesa de XOS, isto considerando apenas a primeira etapa de pré-tratamento proposta neste trabalho.

5.3 Tratamento 2

Após a extração de parte da xilana (cerca de 45 %) na primeira etapa de tratamento em meio ácido, foi realizada um segundo tratamento em meio ácido à fração sólida residual para a remoção da xilana residual. As respostas estudadas nessa etapa e os respectivos p-valor de curvatura são: 1- Rendimento de recuperação de xilana na forma de XOS (curvatura: 0,0021); 2- Rendimento de recuperação de xilana na forma de xilose (curvatura: 0,0024); 3 – Recuperação total da xilana no hidrolisado, tanto na forma de XOS como xilose (curvatura: 0,0164). Um modelo com base em superfície de resposta é o mais adequado para melhor entendimento do processo considerando as respostas estudadas, sendo então adicionados seis pontos axiais ao planejamento experimental fatorial com repetições no ponto central, como indicado na Tabela 8. As mesmas observações para concentração de ácido negativa e temperaturas superiores a 200 ºC feitas no primeiro planejamento experimental foram consideradas no segundo planejamento.

A ANOVA apresenta os dados do planejamento experimental completo, com os pontos centrais e axiais, conforme a Tabela 9. O modelo utilizado não foi significativo para a resposta XOS. Tanto o p-valor apresentou valor acima de 0,1 como o coeficiente de correlação apresentou valor de 0,4541, mostrando elevada falta de ajuste. Isso pode ter ocorrido pelo fato da variável resposta XOS apresentar diversos valores próximos a zero, prejudicando o modelo. Uma possível explicação é que na segunda etapa de pré-tratamento a xilana residual na fração sólida apresenta maior recalcitrância do que a extraída no primeiro

pré-tratamento. Essa recalcitrância exige uma severidade maior do processo, expondo o XOS extraído a um meio reacional propício a sua hidrólise, aumentando assim o rendimento de xilose e diminuindo o rendimento de XOS.

Tabela 8 – Planejamento experimental da segunda etapa hidrotérmica, com os valores das variáveis independentes e o valor das variáveis reposta XOS, xilose e XOS + xilose.

	Temperatura (ºC)	**Tempo (min,)**	**H_2SO_4 (% m/m)**	**Rendimento (% m/m)**		
				XOS	xilose	XOS + xilose
Planejamento fatorial completo 2^3	150	15	0	26,69	3,00	29,69
	150	45	0	31,16	5,55	36,711
	190	15	0	24,47	39,81	64,277
	190	45	0	0,40	39,19	39,595
	150	15	1	40,21	45,87	86,083
	150	45	1	6,43	62,61	69,034
	190	15	1	0,03	58,73	58,754
	190	45	1	24,63	20,57	45,203
Ponto central	170	30	0,5	2,89	74,22	77,119
	170	30	0,5	0,53	70,33	70,857
	170	30	0,5	1,55	69,10	70,65
Pontos axiais (rotação) estrela)	170	30	1,32	0,30	70,30	70,602
	138	30	0,50	23,23	17,74	40,971
	200	30	0,50	0,44	19,00	19,438
	170	55	0,50	0,07	70,54	70,617
	170	5,5	0,50	10,64	54,47	65,109
	170	30	0,00	45,92	14,62	60,537

Fonte: Própria do autor.

Para a recuperação de xilose e xilana total o modelo é significativo estatisticamente e apresenta um coeficiente de correlação elevado (R^2 = 0,8814), sendo possível utilizar este modelo para explicar o processo. Os dados obtidos apontam que a quantidade de XOS somada a xilose para se obter a xilana total recuperada (XOS+xilose) não foi significativa para prejudicar o modelo. Assim como no primeiro planejamento, a variável tempo não teve significância estatística.

Tabela 9 – Análise de variância (ANOVA) para a variável XOS, xilose e a soma de ambas, com intervalo de confiança de 90 % e valor do coeficiente de correlação (R^2), para a segunda etapa do pré-tratamento hidrotérmico.

		XOS		xilose		XOS + xilose	
	GL	*Soma dos quadrados*	*p-valor*	*Soma dos quadrados*	*p-valor*	*Soma dos quadrados*	*p-valor*
Modelo	9	1790,46	0,7341	8746,98	0,0284*	4886,11	0,0153*
A	1	608,56	0,2023	90,15	0,5346	230,27	0,1614
B	1	160,11	0,4939	3,86	0,8963	114,23	0,3066
C	1	579,95	0,2120	3034,02	0,0068*	960,99	0,0151*
AB	1	111,45	0,5661	421,41	0,2009	99,43	0,3378
AC	1	15,12	0,8309	1240,66	0,0459*	981,89	0,0144*
BC	1	13,57	0,8396	68,20	0,5878	20,93	0,6513
A^2*	1	104,60	0,5780	3516,10	0,0047*	2407,81	0,0015*
B^2	1	4,06	0,9117	12,06	0,8181	2,12	0,8847
C^2	1	412,76	0,2846	958,14	0,0708	113,15	0,3087
Resíduos	7	2152,49		1480,10		657,46	
Total	16	3942,95		10227,08		5543,57	
R^2		0,4541		0,8553		0,8814	

Fonte: Própria do autor.
Nota: * - termos significativos estatisticamente para um intervalo de confiança de 90 %;
Variáveis A: Temperatura (ºC); B: Tempo (minutos); C: Concentração de H_2SO_4 (% m/m).

A equação que representa o rendimento de xilose (equação3) foi estruturada sem os termos que não apresentaram significância estatística, isto é, todos os termos relacionados ao tempo (B, BA, BC, B^2).

$$Xilose_{rend.} = -1470{,}09 + 16{,}9693 \times A + 291{,}049 \times C - 1{,}24532 \times A \times C - 0{,}0476868 \times A^2 - 45{,}4845 \times C^2 \quad (3)$$

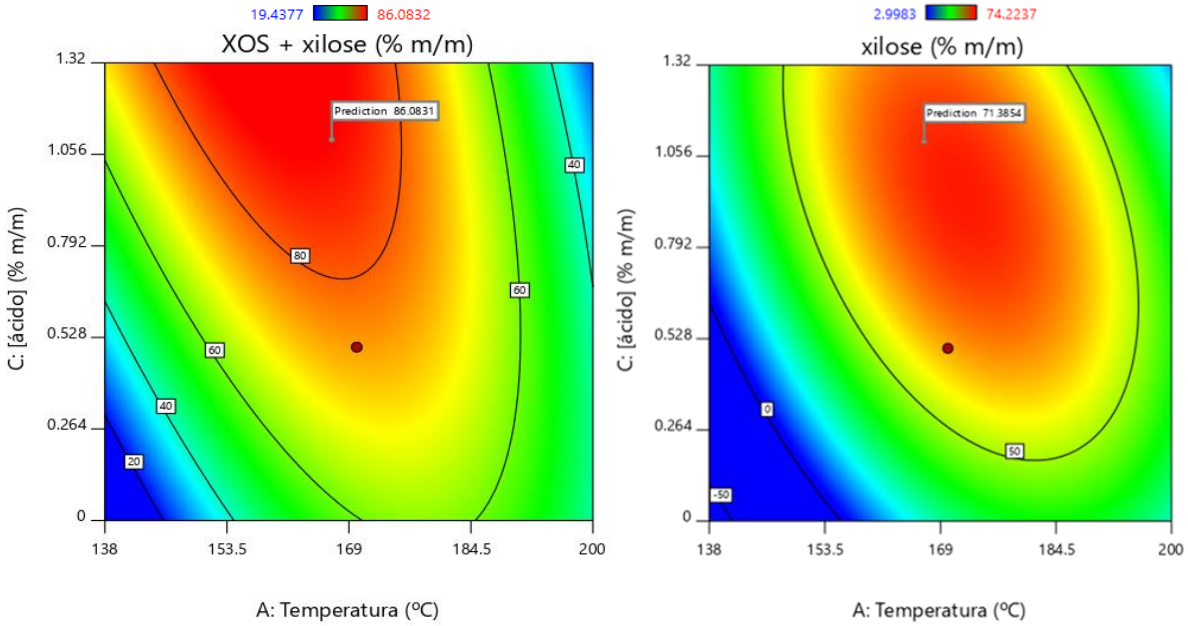
onde A: Temperature (ºC), B: time (min.) and C: H_2SO_4 (% w/w).

A Figura 12 apresenta a superfície de resposta para um tempo fixado em 5,5 minutos, obtida a partir da equação3 A influência da temperatura e concentração de catalisador é semelhante ao apresentado na primeira etapa de pré-tratamento hidrotérmico. Temperaturas muito elevadas ou baixas apresentam efeito negativo sobre a recuperação de xilose e xilana total, tendo sua região de máxima recuperação de xilana total entre 150-170 ºC e xilose entre 160-180 ºC. Nesta mesma faixa de temperatura, o aumento da concentração de ácido tem

efeito positivo na recuperação total da xilana e, sobre a xilose, apresenta uma faixa de ótimo de 0,6 a 1,2 % m/m.

Utilizando as simulações e observando os experimentos realizados, verificou-se que não seria possível extrair a xilana de forma eficiente, com alto rendimento e seletividade, como XOS, mantendo a alta proporção do carboidrato obtida na primeira etapa (75 % m/m dos carboidratos presente na fração líquida). Considerando isto e o fato da obtenção de XOS na primeira etapa ter sido elevada, foi proposto para esta etapa a otimização da extração da xilana preferencialmente na sua forma monomérica.

Figura 12 – Superfície de contorno para a resposta "XOS + xilose" e xilose, fixando a variável tempo em 5.5 minutos.



Fonte: Própria do autor.

Para a otimização, o valor do tempo foi fixado em 5,5 minutos. O menor valor de tempo foi utilizado pois este fator não apresenta significância estatística para as variáveis respostas estudadas. As respostas foram otimizadas tanto para a máxima recuperação de xilose como para máxima recuperação de xilana total (XOS + xilose).

A partir da superfície de contorno para o tempo fixado em 5,5 min (Figura 12), pode-se observar uma região de ótimo para recuperação de xilana total (XOS + xilose) entre 150-175 ºC e concentrações de catalisador acima de 1 % m/m. O valor da predição mostrada na superfície de contorno aponta para o ponto onde há a máxima recuperação de xilana total e a maior recuperação na forma de xilose, localizada a 168 ºC e concentração de H_2SO_4 de 1,01 % m/m. A validação do modelo foi realizada no ponto ótimo e os valores obtidos e previstos estão na tabela 10.

O valor de xilose recuperada está próximo ao predito pelo modelo, mas o mesmo não acontece para XOS e xilana total recuperada. A falta de precisão para a predição da resposta XOS era possível de acontecer, uma vez que o modelo proposto não apresentou significância estatística. Para a resposta de xilana total recuperada, o modelo não conseguiu prever o valor com precisão, o que não era esperado já que o modelo utilizado apresenta significância estatística. A causa para essa diferença do valor predito pode ser atribuída a ruídos do processo. Provavelmente, sob essa condição, a severidade do tratamento não foi suficiente a ponto de solubilizar uma maior quantidade de xilana do material, resultando assim em menor rendimento de XOS, afetando o valor total de xilana recuperada. Contudo, foi recuperada cerca de 96 % da xilose prevista pelo modelo, valor considerado satisfatório e, somado a isto, a pureza do líquido obtido em relação a xilose foi de 83 % m/m quando comparado aos outros carboidratos (Tabela 11), sendo determinante para mantermos esta condição (168 ºC, 5,5 minutos e 1,01 % m/m de catalisador) como ótima para esta etapa do processamento.

Tabela 10 – Valore preditos e experimentais na condição ótima para recuperação de xilose na segunda etapa de pré-tratamento hidrotérmico, 168 ºC, por 5,5 minutos e concentração de H_2SO_4 de 1.01 % m/m.

Rendimento (% m/m)	**Predito**	**Experimental**		
		#1	#2	média
XOS	14,70	4,13	4,25	4,19
xilose	71,39	69,05	67,9	68,48
XOS + xilose	86,08	74,18	73,15	73,67

Fonte: Própria do autor

Tabela 11 – Composição química da fração líquida da condição otimizada para recuperação de xilose na segunda etapa do processo hidrotérmico

Sem pós-hidrólise (g)				**Liberado após pós-hidrólise (g)**			
Glicose	Xilose	Arabinose	ácido acético	Glicose	Xilose	Arabinose	ácido acético
0,20	3,01	0,07	0,48	0,10	0,18	0,06	0,0

Fonte: Própria do autor.

No final da segunda etapa de pré-tratamento hidrotérmico, um total de 85,7 % m/m da xilana contida inicialmente no bagaço foi recuperada na forma de XOS (45,87 % m/m) e xilose (39.32 % m/m). É importante ressaltar que estes produtos foram obtidos em etapas seletivas para seus respectivos açúcares. Considerando os carboidratos presentes na fração líquida de cada uma das etapas do processo, a fração líquida da primeira etapa é composta por 75 % de XOS e a fração líquida da segunda etapa composta por 83 % de xilose, facilitando assim o processo de purificação de ambos os produtos.

5.4 Deslignificação e branqueamento

A deslignificação e o branqueamento são as etapas finais para se obter uma polpa rica em celulose, propicia para produção de nanocelulose. A tabela 12 apresenta a composição química de cada fração sólida após os tratamentos hidrotérmicos e etapas de remoção da lignina. A eficiência de cada etapa para a extração de cada componente caracterizado no bagaço também está apresentada na tabela 12.

A eficiência de remoção da lignina nas duas etapas está apresentada na tabela 13, sendo maior a remoção na etapa de deslignificação (71 %) do que a comparada com o branqueamento (54 %). Estes valores são inferiores ao reportado por Rocha (ROCHA; BALKZÓ; MULINARI, 2012) que apresentou eficiência de 83 % na etapa de deslignificação e 97 % no branqueamento. Contudo, Rocha reporta um rendimento de celulose de 53 % m/m, valor muito inferior ao obtido neste trabalho de 88 % m/m (Figura 14). O aumento na remoção de lignina reportado por Rocha é provavelmente devido ao aumento de severidade das etapas de deslignificação e branqueamento, que causaram uma maior remoção de lignina, mas também causaram uma maior perda de celulose (ROCHA; BALKZÓ; MULINARI, 2012). A composição química referente a celulose na polpa de bagaço branqueada (88,9 % m/m) foi semelhante entre o trabalho de Rocha (90 %m/m) – Tabela 12.

A maior perda de massa de celulose se dá no processo de desligninficação (10,8 %), como ilustrado na tabela 13. Essa perda se deve a reações de *peeling* que ocorre durante o processo (FENGEL; WEGENER, 1989).

A maior seletividade dos processos hidrotérmicos para solubilização dos componentes da hemicelulose (xilana, arabinana e grupos acetil) é comprovada com os dados da tabela 12. A celulose praticamente não foi solubilizada, apresentando valores nulos de variação da massa antes e após o processo. A hemicelulose teve uma variação entre sua massa em quase 50 %, mostrando que praticamente metade da massa de xilana foi solubilizada. Segundo trabalho de Jacobsen e Wyman (JACOBSEN; WYMAN, 2000), a maior concentração de XOS no hidrolisado se dá quando aproximadamente 50 % da hemicelulose é solubilizada, o que se comprova com os dados da tabela 12, que com o pré-tratamento hidrotérmico 1 obteve uma solubilização de quase 50 % da xilana do bagaço, obtendo cerca de 45 % de XOS na fração líquida (tabela 12).

Tabela 12 – Composição química da fração sólida em cada etapa de tratamento, com as respectivas variações dos componentes, representados em % m/m.

	Bagaço lavado	***Tratamento 1***		***Tratamento 2***		***Deslignificado***		***Branqueado***	
	Composição	Composição	Variação	Composição	Variação	Composição	Variação	Composição	Variação
Glucana	33,02 ± 0,80	41,1 ± 0,33	0*	53,58 ± 1,41	0*	80,29 ± 2,04	-10.82	88,86 ± 2,54	-2.27
Xilana	22,93 ± 1,24	15,35 ± 0,10	-45.79	4,87 ± 0,24	-75.65	0	-100	0	0
Arabinana	1,88 ± 0,15	0,84 ± 0,09	-64.1	0,34 ± 0,07	-68.56	0,02 ± 0,00	-97.17	0,02 ± 0,00	-13.14
Acetil	4,36 ± 0,02	2,95 ± 0,05	-45.21	1,07 ± 0,05	-72.17	0,32 ± 0,00	-81.96	0,32 ± 0,01	-13.14
cinzas	6,74 ± 0,42	5,88 ± 1,21	-29.32	7,1 ± 0,94	-7.4	9,04 ± 1,76	-24.17	5,23 ± 0,53	-48.96
liginina	29,18 ± 0,70	32,37 ± 2,03	-10.17	39,56 ± 0,92	-6.19	19,11 ± 1,25	-71.25	9,98 ± 0,66	-53.88

Fonte: Própria do autor.

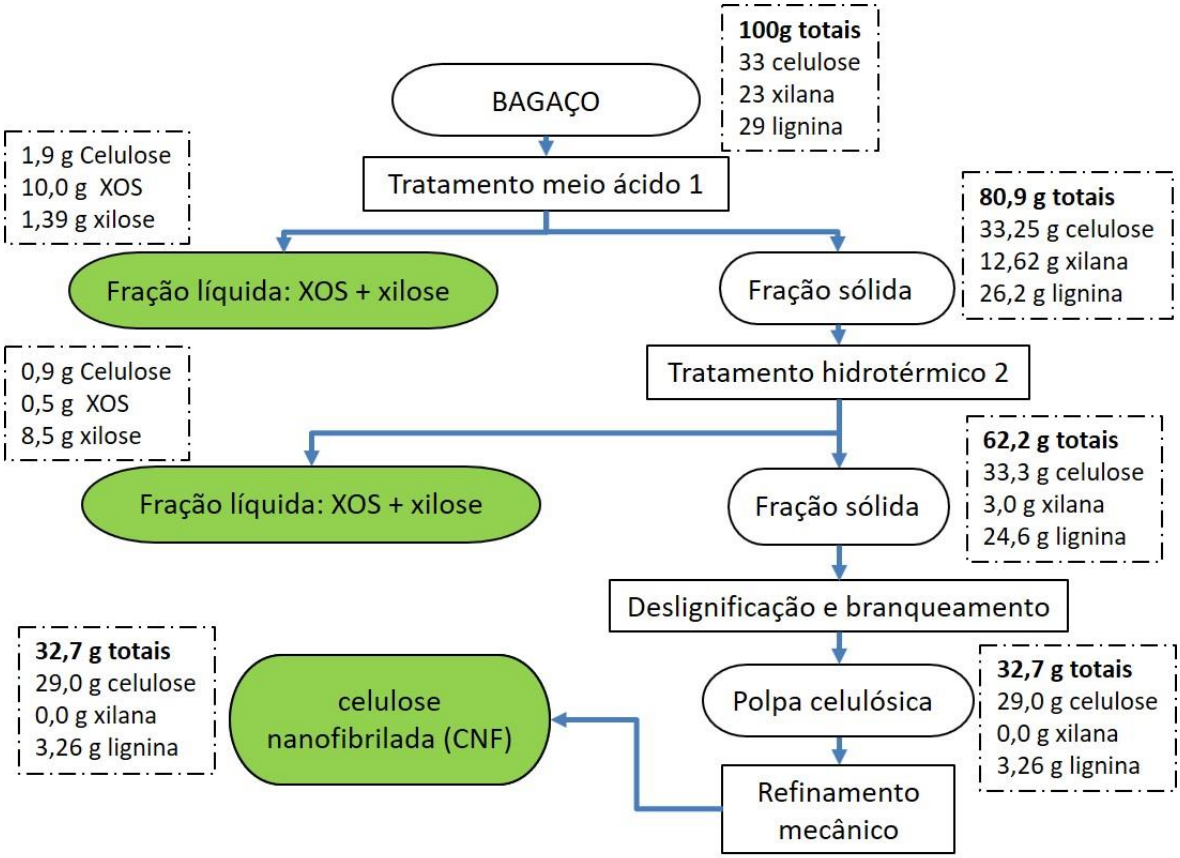
Nota: * - Variação positiva, próxima de zero, foi considerada nula.

A polpa branqueada obtida do bagaço apresenta 88 % m/m de celulose (tabela 12), valores superiores a polpas produzidas industrialmente pelo processo Kraft que apresentam composição de aproximadamente 80 % m/m (CHEN et al., 2015).

5.5 Balanço de massa

A Figura 13 ilustra o balanço de massa obtido nas etapas de pré-tratamento propostas, tendo como material de partida 100 g de bagaço secos. Cerca de 10 g de XOS e 8,6 g de xilose são recuperados na fração líquida de forma seletiva, representando aproximadamente 43,6 % e 37,5 % da xilana inicial, totalizando uma recuperação de 81,1 % da xilana como produto obtido com elevada seletividade. O total de celulose na polpa branqueada (29,03 g) representa quase 88 % da celulose contida no material inicial. Este valor é maior do que reportado por Rocha que obteve uma recuperação de celulose na polpa de 78 %, realizando um tratamento hidrotérmico semelhante, seguido de deslignificação e branqueamento (ROCHA et al., 2012).

Figura 13 – Balanço de massa das etapas de pré-tratamento partindo do bagaço até obtenção de polpa celulósica, considerando a massa seca inicial de 100 g de bagaço.



Fonte: Própria do autor.

5.6 Produção de nanocelulose

A produção de CNF pode ser realizada a partir de qualquer polpa rica em celulose através do refinamento mecânico, que neste estudo foi realizado em refinador de disco. A importância de se realizar este refinamento é para estudar o efeito da composição das polpas na CNF obtida, já que é possível obter polpas com diferentes composições, como a obtida nesse trabalho a partir do bagaço e a polpa Kraft branqueada comercial obtida pela empresa Fibria a partir do eucalipto. A polpa Kraft branqueada apresenta baixos níveis de lignina (menores que 3 %) e elevados níveis de xilana (14,6 %) quando comparados aos níveis apresentados pela polpa obtida a partir do bagaço (10 % lignina e 0 % de xilana), conforme a tabela 13. As consequências dessa variação de composição são discutidas a seguir.

A obtenção de CNF, que foi determinada pelo momento em que o tamanho das partículas (D90) alcançasse valores inferiores a 1000 nm, de bagaço de cana-de-açúcar branqueada (CNF – B) apresentou consumo de energia quase três vezes menor que a CNF obtida a partir da polpa de Kraft branqueada (CNF – K), com valores 26,6 kWh/kg e 69,2 kWh/kg, respectivamente, conforme a figura 14. A diferença no gasto de energia está provavelmente relacionada com a diferenças estruturais/morfológicas e composição química do material (Tabela 13). Santucci et al. em seu estudo sobre a influência da composição química no refinamento mecânico de polpas observou que, a presença de maior quantidade de lignina resulta em um menor gasto energético, similar ao trabalho de Spence et al. (SPENCE et al., 2011; SANTUCCI et al., 2016). Nair e Yan estudaram o efeito da quantidade de lignina presente em CNF e observou que CNF com maiores teores de lignina apresentaram maior estabilidade térmica, maior absorção de água e melhores propriedades mecânicas enquanto úmida quando comparado a polpas com menores teores de lignina (NAIR; YAN, 2015).

Tabela 13 – Composição química da polpa branqueada de bagaço de cana-de-açúcar e de polpa Kraft em relação a celulose, xilana e lignina.

Amostra	Glucana	Xilana	Liginina
Polpa do Bagaço branqueada	88,8	0	9,9
Polpa Kraft de eucalipto branqueada*	78,6	14,6	2,7

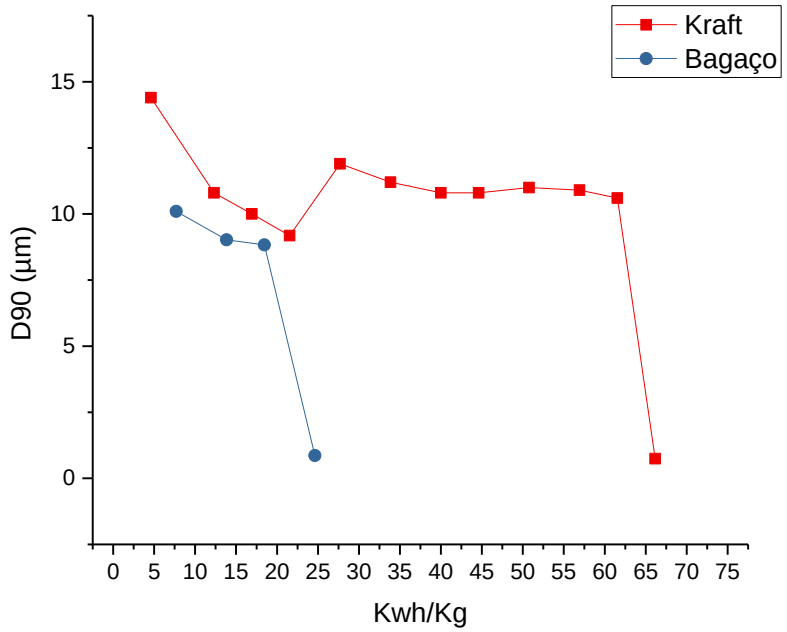
Fonte: Própria do autor; *(DIAS, 2017).

A figura 15 ilustra o comportamento da distribuição das partículas de acordo com seus respectivos tamanhos. Antes de atingir a escala nanométrica, ciclo 4 para CNF-B e ciclo 12 para CNF-K, as partículas apresentam tamanhos em torno de 3,03 µm e 7,06 µm para

CNF-B e 3,03 µm e 7,22 µm para CNF-K. Ao atingir escala nanométrica, os tamanhos das partículas estão na faixa de 0,594 µm e 0,569 µm para CNF-B e CNF-K, respectivamente.

Para comprovar que as partículas alcançaram escalas nanométricas, isto é, possuem uma de suas dimensões menores que 100 nm, que no caso de celulose nanofibrilada esta dimensão é o diâmetro, foi realizada uma análise morfológica das nanofibrilas por microscopia de força atômica (AFM) (Figura 16). As figuras comprovam que tanto a polpa de bagaço branqueada como a polpa Kraft branqueada serviram de matéria-prima para produção de CNF. Através da AFM e com ajuda de software de edição de imagem *Gwyddion* 2.49, foi possível estimar o tamanho dos diâmetros das nanofibrilas, tendo valores médios de 56,72 nm para CNF-B e 36,83 nm para CNF-K, valores dentro da faixa apresentada pela literatura para CNF de 20-90 nm (SIQUEIRA; ARANTES, 2013). Mesmo com as diferenças de escalas na Figura 17, sendo a figura referente a CNF-B com uma escala maior que a CNF-K, é possível notar, pela barra lateral de legenda de intensidade da cor, que ambas apresentam características de nanofibrilas, com valores de diâmetros menores que 100 nm.

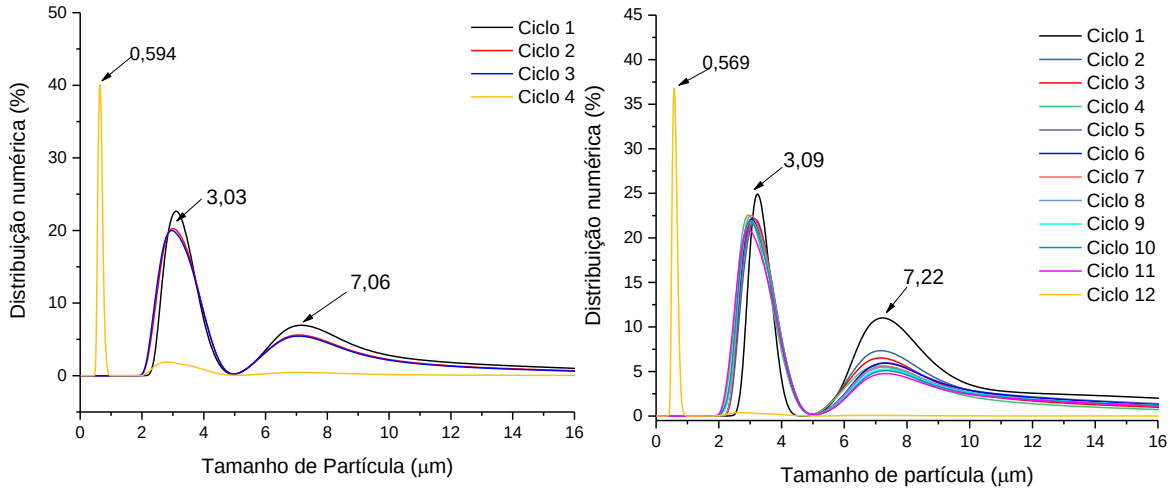
Figura 14 – Taxa de consumo de energia para obtenção de CNF-B e CNF-K



Fonte: Própria do autor

Onde: Kraft: processamento utilizando polpa Kraft branqueada; Bagaço: processo utilizando polpa obtida a partir do bagaço.

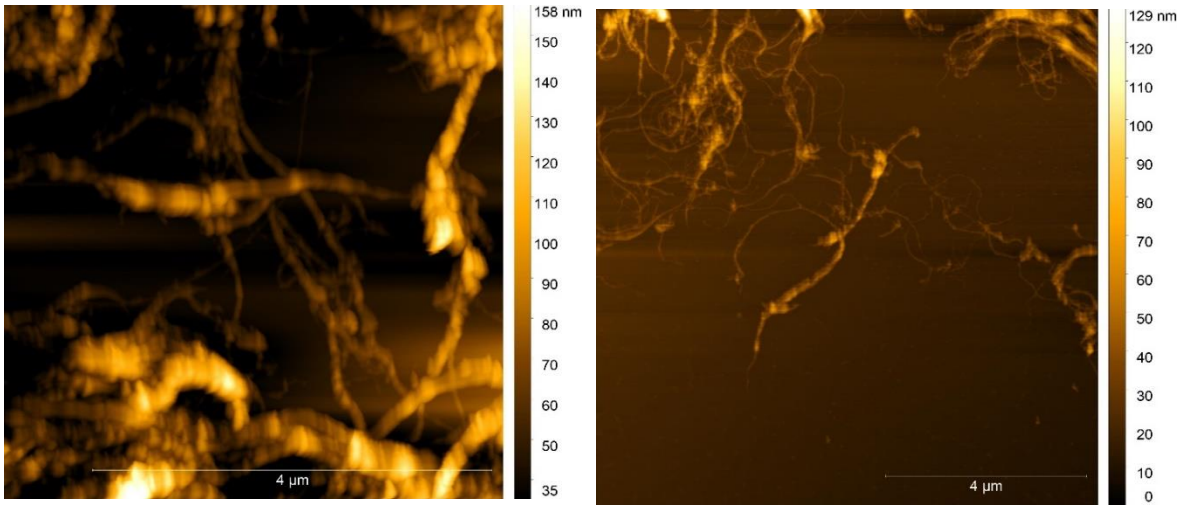
Figura 15 – Distribuição dos tamanhos de partículas para (A) CNF -B e (B) CNF -K.



(A) (B)

Fonte: Própria do autor.

Figura 16 – Imagem de microscopia de força atômica para fibras de (A) CNF-B e (B) CNF-K.



(A) (B)

Fonte: Própria do autor

As análises realizadas na CNF-B comprovaram que foi obtida celulose nanofibrilada e, considerando a composição química da polpa oriunda do bagaço, foi obtido uma CNF com 89 % de celulose e quase 10 % de lignina.

6 CONCLUSÃO

As etapas de pré-tratamento hidrotérmico geraram frações líquidas seletivas para os produtos de hidrólise da xilana, sendo a primeira etapa seletiva para recuperação da xilana na forma de XOS e a segunda etapa seletiva para a recuperação da xilana na forma de xilose. A recuperação total da xilana foi elevada, atingindo cerca de 80 % de rendimento.

A polpa celulósica gerada pelas etapas de pré-tratamentos do bagaço de cana-de-açúcar tem composição de celulose superior a polpa industrial normalmente utilizada para geração de nanocelulose. A energia necessária para refino da polpa oriunda do bagaço foi inferior a necessária pela polpa comercial utilizada (Kraft), assim como o tempo de refino. As características de morfologia da nanocelulose obtidas do bagaço de cana são compatíveis com as características da nanocelulose obtida por polpas celulósicas comerciais.

O processo proposto para produção de xilooligossacarídeos (XOS) integrado a produção de nanocelulose se mostrou eficiente, com alta recuperação dos carboidratos na forma de potenciais produtos de alto valor agregado, todos com elevado grau de pureza.

7 PREVISÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

O presente trabalhou trouxe uma grande contribuição na área de conversão de biomassa, com a proposta de um melhor aproveitamento da fração de carboidratos do bagaço da cana-de-açúcar. Os dados obtidos na otimização das duas etapas de tratamento em meio ácido possibilitam a simulação do processo para a obtenção de XOS e xilose, em diferentes proporções, além do estudo dos outros componentes, como glicose liberada, formação de produtos de degradação. Com o balanço de massa detalhado obtido é possível realizar a simulação do processo com as etapas estudadas, podendo ser conduzido um estudo de viabilidade técnico-econômica da cadeia produtiva.

O XOS obtidos podem ser caracterizados em relação ao grau de polimerização e substituição para uma possível aplicação como prebióticos. A celulose nanofibrilada obtida pode ser utilizada para estudos de estrutura, assim como possíveis aplicações. A polpa celulósica gerada pode ser utilizada para estudos de obtenção de diferentes tipos de nanoceluloses, aumento a aplicabilidade das etapas proposta.

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, jan. 2011. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1541-4337.2010.00135.x>. Acesso em: 3 maio 2017.

ABDUL KHALIL, H. P. S.; BHAT, A. H.; IREANA YUSRA, A. F. Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 963–979, jan. 2012. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861711007624>. Acesso em: 11 jul. 2014.

ABDUL KHALIL, H. P. S.; DAVOUDPOUR, Y.; ISLAM, M. N.; MUSTAPHA, A.; SUDESH, K.; DUNGANI, R.; JAWAID, M. Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 649–665, jan. 2014. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861713008539>. Acesso em: 3 jun. 2017.

AGBOR, V. B.; CICEK, N.; SPARLING, R.; BERLIN, A.; LEVIN, D. B. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 6, p. 675–685, nov. 2011. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0734975011000607>. Acesso em: 12 jul. 2016.

ANDREOLI, C. Convergência de Agricultura e Energia: I. Produção de Biomassa Celulósica para Biocombustíveis e Eletricidade. **Economia & Energia**, v. Fev., 2008.

BACOVSKY, D.; LUDWICZEK, N.; OGNISSANTO, M.; WÖRGETTER, M. Status of Advanced Biofuels Demonstration Facilities in 2012. **A REPORT TO IEA BIOENERGY**, v. TASK 39, n. March, p. 1–209, 2013.

BAI, W.; HOLBERY, J.; LI, K. A technique for production of nanocrystalline cellulose with a narrow size distribution. **Cellulose**, v. 16, n. 3, p. 455–465, 11 jun. 2009. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10570-009-9277-1>. Acesso em: 6 mar. 2017.

BIELY, P.; SINGH, S.; PUCHART, V. Towards enzymatic breakdown of complex plant xylan structures: State of the art. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 7, p. 1260–1274, nov. 2016.

BRIENZO, M. Extração da hemicelulose do bagaço de cana-de-açúcar para produção de xilo-oligosacarídeos. **Tese, Escola de Engenharia de Lorena**, p. 137, 2010.

BUCKERIDGE, M. S.; DE SOUZA, A. P. Breaking the “Glycomic Code” of Cell Wall Polysaccharides May Improve Second-Generation Bioenergy Production from Biomass. **BioEnergy Research**, v. 7, n. 4, p. 1065–1073, 24 dez. 2014. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s12155-014-9460-6>. Acesso em: 1 maio 2016.

BURUIANA, C.-T.; GÓMEZ, B.; VIZIREANU, C.; GARROTE, G. Manufacture and evaluation of xylooligosaccharides from corn stover as emerging prebiotic candidates for human health. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 449–459, abr. 2017.

Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643816307733>. Acesso em: 8 ago. 2017.

CAMARGO, L. A.; PEREIRA, S. C.; CORREA, A. C.; FARINAS, C. S.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C. Feasibility of Manufacturing Cellulose Nanocrystals from the Solid Residues of Second-Generation Ethanol Production from Sugarcane Bagasse. **BioEnergy Research**, v. 9, n. 3, p. 894–906, 4 set. 2016. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s12155-016-9744-0>. Acesso em: 7 ago. 2017.

CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L. C.; GÍRIO, F. M. Hemicellulose biorefineries: A review on biomass pretreatments. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 67, n. 11, p. 849–864, 2008.

CARVALHO, A. F. A.; NETO, P. de O.; DA SILVA, D. F.; PASTORE, G. M. Xylo-oligosaccharides from lignocellulosic materials: Chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis. **Food Research International**, v. 51, n. 1, p. 75–85, abr. 2013. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996912004905>. Acesso em: 9 dez. 2016.

CCM, Da. & B. I. **Longlive Bio-technology puts XOS into European feed market-China market news**. Disponível em: <http://www.cnchemicals.com/Press/87136-CCM: Longlive Bio_technology puts XOS into European feed market.html>. Acesso em: 3 jan. 2018.

CHEN, H. **Biotechnology of Lignocellulose**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2014.

CHEN, L.; WANG, Q.; HIRTH, K.; BAEZ, C.; AGARWAL, U. P.; ZHU, J. Y. Tailoring the yield and characteristics of wood cellulose nanocrystals (CNC) using concentrated acid hydrolysis. **Cellulose**, v. 22, n. 3, p. 1753–1762, 1 jun. 2015. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10570-015-0615-1>. Acesso em: 12 dez. 2016.

CONAB, C. N. de A. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar. v. 4, p. 177, 2017.

DAVID N.-S. HON. **Chemical Modification of Lignocellulosic Materials**. [s.l.] Taylor & Francis, 1995.

DAVIS, J. Prebiotics Market Size Forecast to Exceed USD 7.5 Billion by 2023: Global Market Insights Inc. **Global Market Insights Inc.**, v. May 09, 2016. Disponível em: <https://www.prnewswire.com/news-releases/prebiotics-market-size-forecast-to-exceed-usd-75-billion-by-2023-global-market-insights-inc-578637951.html>. Acesso em: 6 jun. 2017.

DEL RÍO, J. C.; LINO, A. G.; COLODETTE, J. L.; LIMA, C. F.; GUTIÉRREZ, A.; MARTÍNEZ, Á. T.; LU, F.; RALPH, J.; RENCORET, J. Differences in the chemical structure of the lignins from sugarcane bagasse and straw. **Biomass and Bioenergy**, v. 81, p. 322–338, out. 2015. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0961953415300465>. Acesso em: 3 dez. 2016.

DENCE, C. W. The Determination of Lignin. In: LIN, S. Y.; DENCE, C. W. (Ed.). **Methods in Lignin Chemistry**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1992. p. 33–61.

DIAS, I. K. R. The study of xylanase effects as an auxiliary enzyme on the production of

cellulose nanocrystals through enzymatic hydrolysis with endoglucanase. **Dissertação - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo**, p. 74, 2017.

DIEDERICKS, D.; VAN RENSBURG, E.; GÖRGENS, J. F. Enhancing sugar recovery from sugarcane bagasse by kinetic analysis of a two-step dilute acid pretreatment process. **Biomass and Bioenergy**, v. 57, p. 149–160, out. 2013. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0961953413003231>. Acesso em: 11 maio 2015.

DU, J.; LI, C.; ZHAO, Y.; WANG, H. Hemicellulose isolated from waste liquor of viscose fiber mill for preparation of polyacrylamide-hemicellulose hybrid films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 1255–1260, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.036>.

DUFRESNE, A. **Nanocellulose: From Nature to High Performance Tailored Materials**. Berlin/Boston: De Gruyter, 2012.

FANG, J. M.; SUN, R. C.; SALISBURY, D.; FOWLER, P.; TOMKINSON, J. Comparative study of hemicelluloses from wheat straw by alkali and hydrogen peroxide extractions. **Polymer Degradation and Stability**, v. 66, n. 3, p. 423–432, 1 dez. 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141391099000956>. Acesso em: 28 mar. 2018.

FELIPE, M. G. A.; VITOLO, M.; MANCILHA, I. M.; SILVA, S. S. Fermentation of sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate for xylitol production: Effect of pH. **Biomass and Bioenergy**, v. 13, n. 1–2, p. 11–14, jan. 1997. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0961953497000329>. Acesso em: 6 set. 2016.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions**. [s.l.] W. de Gruyter, 1989.

GARROTE, G.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. C. Mild autohydrolysis: an environmentally friendly technology for xylooligosaccharide production from wood. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 74, n. 11, p. 1101–1109, nov. 1999. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/%28SICI%291097-4660%28199911%2974%3A11%3C1101%3A%3AAID-JCTB146%3E3.0.CO%3B2-M>. Acesso em: 6 maio 2016.

GIBSON, G. R.; PROBERT, H. M.; LOO, J. Van; RASTALL, R. A.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Reviews**, v. 17, n. 2, p. 259, 10 dez. 2004. Disponível em: <http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0954422404000204>. Acesso em: 9 ago. 2016.

GIBSON, G. R.; SCOTT, K. P.; RASTALL, R. A.; TUOHY, K. M.; HOTCHKISS, A.; DUBERT-FERRANDON, A.; GAREAU, M.; MURPHY, E. F.; SAULNIER, D.; LOH, G.; MACFARLANE, S.; DELZENNE, N.; RINGEL, Y.; KOZIANOWSKI, G.; DICKMANN, R.; LENOIR-WIJNKOOK, I.; WALKER, C.; BUDDINGTON, R. Dietary prebiotics: current status and new definition. **Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods**, v. 7, n. January, p. 1–19, 2010. Disponível em: <http://www.foodsciencecentral.com/fsc/ixid15880>. Acesso em: 6 set. 2016.

GÍRIO, F. M.; FONSECA, C.; CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L. C.; MARQUES, S.; BOGEL-ŁUKASIK, R. Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. **Bioresource**

Technology, v. 101, n. 13, p. 4775–4800, jul. 2010. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852410001744>. Acesso em: 10 jul. 2014.

GOBINATH, D.; MADHU, A. N.; PRASHANT, G.; SRINIVASAN, K.; PRAPULLA, S. G. Beneficial effect of xylo-oligosaccharides and fructo-oligosaccharides in streptozotocin-induced diabetic rats. **British Journal of Nutrition**, v. 104, n. 1, p. 40–47, 26 jul. 2010. Disponível em: <http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0007114510000243>. Acesso em: 9 jun. 2018.

GOMES, J. R.; ESTADO DE S.PAULO, E. **Raízen avança no etanol de 2ª geração - Economia - Estadão**. Disponível em: <http://economia.estadao.com.br/noticias/geral,raizen-avanca-no-etanol-de-2-geracao,10000089302>. Acesso em: 11 jan. 2018.

GULLÓN, B.; GULLÓN, P.; TAVARIA, F.; PINTADO, M.; GOMES, A. M.; ALONSO, J. L.; PARAJÓ, J. C. Structural features and assessment of prebiotic activity of refined arabinoxylooligosaccharides from wheat bran. **Journal of Functional Foods**, v. 6, p. 438–449, jan. 2014. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464613002648>. Acesso em: 10 ago. 2015.

GULLÓN, P.; GONZÁLEZ-MUÑOZ, M. J.; GOOL, M. P. van; SCHOLS, H. A.; HIRSCH, J.; EBRINGEROVÁ, A.; PARAJÓ, J. C. Structural features and properties of soluble products derived from Eucalyptus globulus hemicelluloses. **Food Chemistry**, v. 127, n. 4, p. 1798–1807, ago. 2011. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814611003256>. Acesso em: 22 out. 2015.

HAMES, B.; SCARLATA, C.; NREL, a S. Determination of Ash in Biomass - NREL/TP-42622. **NREL**, n. May, 2008.

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 10–18, jan. 2009. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852408004574>. Acesso em: 7 ago. 2016.

HU, F.; RAGAUSKAS, A. Pretreatment and Lignocellulosic Chemistry. **BioEnergy Research**, v. 5, n. 4, p. 1043–1066, 24 dez. 2012. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s12155-012-9208-0>.

JACOBSEN, S. E.; WYMAN, C. E. Cellulose and hemicellulose hydrolysis models for application to current and novel pretreatment processes. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 84–86, n. 1–9, p. 81–96, 2000.

JAYAPAL, N.; SAMANTA, A. K.; KOLTE, A. P.; SENANI, S.; SRIDHAR, M.; SURESH, K. P.; SAMPATH, K. T. Value addition to sugarcane bagasse: Xylan extraction and its process optimization for xylooligosaccharides production. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 14–24, mar. 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669012002841>. Acesso em: 30 maio 2015.

KABEL, M. A.; KORTENOEVEN, L.; SCHOLS, H. A.; VORAGEN, A. G. J. In Vitro Fermentability of Differently Substituted Xylo-oligosaccharides. **J. Agric. Food Chem.**, p. 6205–6210, 2002.

KAMM, B.; KAMM, M. Principles of biorefineries. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 64, n. 2, p. 137–145, 1 abr. 2004. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-003-1537-7>. Acesso em: 6 jun. 2018.

KIM, N.; HERTH, W.; VUONG, R.; CHANZY, H. The Cellulose System in the Cell Wall ofMicrasterias. **Journal of Structural Biology**, v. 117, n. 3, p. 195–203, nov. 1996. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1047847796900830>. Acesso em: 6 jun. 2016.

KIZILTAS, A.; KIZILTAS, E. E.; BORAN, S.; GARDNER, D. J. Micro- and nanocellulose composites for automotive applications. **13th annual SPE Automotive Composites Conference and Exhibition**, p. 1–13, 2013.

KOBAYASHI, T.; SAKAI, Y. Hydrolysis Rate of Pentosan of Hardwood in Dilute Sulfuric Acid. **Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan**, v. 20, n. 1, p. 1–7, 1956. Disponível em: <http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.Journalarchive/bbb1924/20.1?from=CrossRef>. Acesso em: 6 jun. 2016.

KUMAR, R.; MAGO, G.; BALAN, V.; WYMAN, C. E. Physical and chemical characterizations of corn stover and poplar solids resulting from leading pretreatment technologies. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 17, p. 3948–3962, set. 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.01.075>. Acesso em: 6 jun. 2016.

LAVOINE, N.; DESLOGES, I.; DUFRESNE, A.; BRAS, J. Microfibrillated cellulose – Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 2, p. 735–764, out. 2012. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014486171200447X>. Acesso em: 6 jun. 2016.

LEE, H. V; HAMID, S. B. a; ZAIN, S. K. Conversion of Lignocellulosic Biomass to Nanocellulose: Structure and Chemical Process. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1–20, 2014. Disponível em: <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/631013/>. Acesso em: 9 set. 2017.

LI, J.; WEI, X.; WANG, Q.; CHEN, J.; CHANG, G.; KONG, L.; SU, J. Homogeneous isolation of nanocellulose from sugarcane bagasse by high pressure homogenization. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 4, p. 1609–1613, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.07.038>. Acessi em: 7 ago. 2017.

LIMA, D. U.; OLIVEIRA, R. C.; BUCKERIDGE, M. S. Seed storage hemicelluloses as wet-end additives in papermaking. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, n. 4, p. 367–373, 2003.

LIN, N.; DUFRESNE, A. Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect. **European Polymer Journal**, v. 59, p. 302–325, 2014. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014305714002493>. Acesso em 12 fev. 2017

LONGLIVE. **LONGLIVE - Company Introduction**. Disponível em: <http://en.longlive.cn/a/about/introduction/>. Acesso em: 18 jan. 2018.

LOO, S. Van; KOPPEJAN, J. Summary for Policymakers. In: INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (Ed.). **Climate Change 2013 - The Physical Science Basis**. Cambridge: Cambridge University Press, 2008. 1p. 1–30.

MÄKELÄINEN, H.; FORSSTEN, S.; SAARINEN, M.; STOWELL, J.; RAUTONEN, N.; OUWEHAND, A. Xylo-oligosaccharides enhance the growth of bifidobacteria and Bifidobacterium lactis in a simulated colon model. **Beneficial Microbes**, v. 1, n. 1, p. 81–91, mar. 2010a. Disponível em: <http://www.wageningenacademic.com/doi/10.3920/BM2009.0025>. Acesso em: 9 set. 2017.

MÄKELÄINEN, H.; SAARINEN, M.; STOWELL, J.; RAUTONEN, N.; OUWEHAND, A. Xylo-oligosaccharides and lactitol promote the growth of Bifidobacterium lactis and Lactobacillus species in pure cultures. **Beneficial Microbes**, v. 1, n. 2, p. 139–148, jun. 2010b. Disponível em: <http://www.wageningenacademic.com/doi/10.3920/BM2009.0029>. Acesso em: 9 set. 2017.

MANDAL, A.; CHAKRABARTY, D. Isolation of nanocellulose from waste sugarcane bagasse (SCB) and its characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 3, p. 1291–1299, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.030>. Acesso em 5 fev. 2017.

MOON, R. J.; ET.AL. **Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites.** [s.l.] Chemical Society reviews, 2011. v. 40

MOURA, P.; BARATA, R.; CARVALHEIRO, F.; GÍRIO, F.; LOUREIRO-DIAS, M. C.; ESTEVES, M. P. In vitro fermentation of xylo-oligosaccharides from corn cobs autohydrolysis by Bifidobacterium and Lactobacillus strains. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 6, p. 963–972, 2007.

NAINGGOLAN, H.; GEA, S.; BILOTTI, E.; PEIJS, T.; HUTAGALUNG, S. D. Mechanical and thermal properties of bacterial-cellulose-fibre-reinforced Mater-Bi?? bionanocomposite. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 4, n. 1, p. 325–329, 2013.

NAIR, S. S.; YAN, N. Effect of high residual lignin on the thermal stability of nanofibrils and its enhanced mechanical performance in aqueous environments. **Cellulose**, v. 22, n. 5, p. 3137–3150, 2015.

NOVACANA. **Biorrefinaria: futuro para o completo aproveitamento da biomassa de cana**. Disponível em: <http://www.novacana.com/estudos/biorrefinaria-futuro-para-o-completo-aproveitamento-da-biomassa-de-cana-241013/>. Acesso em: 3 set. 2015.

NOVO, L. P.; GURGEL, L. V. A.; MARABEZI, K.; CURVELO, A. A. da S. Delignification of sugarcane bagasse using glycerol-water mixtures to produce pulps for saccharification. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 21, p. 10040–10046, 2011.

NYGAARD, I.; DEMBELÉ, F.; DAOU, I.; MARIKO, A.; KAMISSOKO, F.; COULIBALY, N.; BORGSTRØM, R. L.; BRUUN, T. B. **Lignocellulosic residues for production of electricity, biogas or second generation biofuel: A case study of technical and sustainable potential of rice straw in Mali**. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1364032116002586>. Acesso em: 9 set. 2017.

OCTAVIANO, C. Mudança de petróleo para biomassa impulsiona a química verde. **Com Ciência**, 2011. Disponível em: <http://www.comciencia.br/comciencia/handler.php?section=8&edicao=68&id=858>. Acesso em: 2 jan. 2018.

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.

OLEJNIK, A. Probiotics , prebiotics and antioxidants as functional foods. n. FEBRUARY, 2005.

PANTHAPULAKKAL, S.; KIRK, D.; SAIN, M. Alkaline Extraction of Xylan from Wood Using Microwave and Conventional Heating. v. 41330, n. 4, p. 1–10, 20 jan. 2015.

PEDERSEN, M.; MEYER, A. S. **Lignocellulose pretreatment severity – relating pH to biomatrix opening**. 6. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S187167841000436X>. Acesso em: 5 maio. 2017.

QING, Q.; LI, H.; KUMAR, R.; WYMAN, C. E. Xylooligosaccharides Production, Quantification, and Characterization in Context of Lignocellulosic Biomass Pretreatment. **Aqueous Pretreatment of Plant Biomass for Biological and Chemical Conversion to Fuels and Chemicals**, p. 391–415, 2013a.

QING, Y.; SABO, R.; ZHU, J. Y.; AGARWAL, U.; CAI, Z.; WU, Y. A comparative study of cellulose nanofibrils disintegrated via multiple processing approaches. **Carbohydrate Polymers**, v. 97, n. 1, p. 226–234, ago. 2013b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.04.086>. Acesso em: 9 ago. 2017.

RAIZEN. **Etanol de Segunda Geração**. Disponível em: <https://www.raizen.com.br/energia-do-futuro-tecnologia-em-energia-renovavel/etanol-de-segunda-geracao>. Acesso em: 11 jan. 2018.

ROCHA, G. J. de M.; BALKZÓ, N. K.; MULINARI, D. R. Obtainment and Characterization of Cellulose from Sugarcane Bagasse Pretreated in Acid Medium. **Cadernos UniFOA**, v. Dezembro, p. 59–65, 2012.

ROCHA, G. J. de M.; NASCIMENTO, V. M.; GONÇALVES, A. R.; SILVA, V. F. N.; MARTÍN, C. Influence of mixed sugarcane bagasse samples evaluated by elemental and physical–chemical composition. **Industrial Crops and Products**, v. 64, p. 52–58, fev. 2015. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092666901400689X>. Acesso em: 23 jun. 2016.

ROCHA, G. J. M.; MARTÍN, C.; DA SILVA, V. F. N.; GÓMEZ, E. O.; GONÇALVES, A. R. **Mass balance of pilot-scale pretreatment of sugarcane bagasse by steam explosion followed by alkaline delignification**. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.005>. Acesso em: 1 ago. 2016.

SAMANTA, A. K.; JAYAPAL, N.; JAYARAM, C.; ROY, S.; KOLTE, A. P.; SENANI, S.; SRIDHAR, M. Xylooligosaccharides as prebiotics from agricultural by-products: Production and applications. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 5, n. 1, p. 62–71, jan. 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212619814000588>. Acesso em: 13 jan. 2015.

SANTUCCI, B. S.; BRAS, J.; BELGACEM, M. N.; CURVELO, A. A. da S.; PIMENTA, M. T. B. Evaluation of the effects of chemical composition and refining treatments on the properties of nanofibrillated cellulose films from sugarcane bagasse. **Industrial Crops and Products**, v. 91, p. 238–248, nov. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.017>. Acesso em: 8 dez. 2017.

SANTUCCI, B. S.; MAZIERO, P.; RABELO, S. C.; CURVELO, A. a. S.; PIMENTA, M. T. B. **Autohydrolysis of Hemicelluloses from Sugarcane Bagasse During Hydrothermal Pretreatment: a Kinetic Assessment**. 4. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s12155-015-9632-z>. Acesso em: 8 dez. 2017.

SANZ, M. L.; GIBSON, G. R.; RASTALL, R. a. Influence of disaccharide structure on prebiotic selectivity in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 13, p. 5192–5199, 2005.

SASKA, M.; OZER, E. Aqueous extraction of sugarcane bagasse hemicellulose and production of xylose syrup. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 45, n. 6, p. 517–523, 20 mar. 1995. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/bit.260450609>. Acesso em: 5 maio 2017.

SCHELL, D. J.; FARMER, J.; NEWMAN, M.; MCMILLAN, J. D. Dilute-Sulfuric Acid Pretreatment of Corn Stover in Pilot-Scale Reactor: Investigation of Yields, Kinetics, and Enzymatic Digestibilities of Solids. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 105, n. 1–3, p. 69–86, 2003. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1385/ABAB:105:1-3:69>. Acesso em: 5 ago. 2017.

SIQUEIRA, G.; ARANTES, V. NANOCELLULOSES FROM LIGNOCELLULOSIC BIOMASS. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2013.

SIRÓ, I.; PLACKETT, D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. **Cellulose**, v. 17, n. 3, p. 459–494, 21 jun. 2010. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10570-010-9405-y>. Acesso em: 8 ago. 2017.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R. O.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; ENERGY, D. of. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass - NREL/TP-510-42618. **NREL**, n. August, 2012.

SLUITER, A.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; SLUITER, A.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. Determination of Extractives in Biomass - NREL/TP-510-42619. **NREL**, n. January, 2008a.

SLUITER, a; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. Determination of Sugars , Byproducts , and Degradation Products in Liquid Fraction Process Samples - NREL/TP-510-42623. **NREL**, n. January, p. 1–14, 2008b.

SOUZA, A. C.; FUGITA, F. I.; SOUSA, A. H.; BOFO, D. C. S. Estudo das aplicações do bagaço da cana-de-açúcar dentro e fora das indústrias sucroalcooleiras. **Revista Brasileira de energia**, v. 21, n. 1, p. 91–115, 2015.

SPENCE, K. L.; VENDITTI, R. A.; ROJAS, O. J.; HABIBI, Y.; PAWLAK, J. J. A comparative study of energy consumption and physical properties of microfibrillated cellulose produced by different processing methods. **Cellulose**, v. 18, n. 4, p. 1097–1111, 13 ago. 2011. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10570-011-9533-z>. Acesso em: 12 dez. 2017.

SZCZERBOWSKI, D.; PITARELO, A. P.; ZANDONÁ FILHO, A.; RAMOS, L. P. Sugarcane biomass for biorefineries: Comparative composition of carbohydrate and non-carbohydrate components of bagasse and straw. **Carbohydrate Polymers**, v. 114, p. 95–101, dez. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.052>. Acesso em: 12 dez. 2017.

TAYLOR, P.; DEGUCHI, Y.; MORISHITA, T.; MUTAI, M. Agricultural and Biological Chemistry Comparative Studies on Synthesis of Water-soluble Vitamins among Human Species of Bifidobacteria. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 49, n. 1, p. 13–19, 9 jan. 1985.

VALLEJOS, M. E.; FELISSIA, F. E.; KRUYENISKI, J.; AREA, M. C. Kinetic study of the extraction of hemicellulosic carbohydrates from sugarcane bagasse by hot water treatment. **Industrial Crops and Products**, v. 67, p. 1–6, maio 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669014008371>. Acesso em: 1 jun. 2015.

VAN CRAEYVELD, V.; SWENNEN, K.; DORNEZ, E.; VAN DE WIELE, T.; MARZORATI, M.; VERSTRAETE, W.; DELAEDT, Y.; ONAGBESAN, O.; DECUYPERE, E.; BUYSE, J.; DE KETELAERE, B.; BROEKAERT, W. F.; DELCOUR, J. a; COURTIN, C. M. Structurally Different Wheat-Derived Arabinoxylooligosaccharides Have Different Prebiotic and Fermentation Properties in Rats. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 12, p. 2348–2355, 1 dez. 2008. Disponível em: <http://jn.nutrition.org/cgi/doi/10.3945/jn.108.094367>. Acesso em 8 ago. 2017.

VÁZQUEZ, M. .; ALONSO, J. .; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. . Xylooligosaccharides: manufacture and applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, n. 11, p. 387–393, nov. 2000. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224401000310>. Acesso em: 3 mar. 2015.

WANG, Q. Q.; ZHU, J. Y.; GLEISNER, R.; KUSTER, T. A.; BAXA, U.; MCNEIL, S. E. Morphological development of cellulose fibrils of a bleached eucalyptus pulp by mechanical fibrillation. **Cellulose**, v. 19, n. 5, p. 1631–1643, 25 out. 2012. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10570-012-9745-x>. Acesso em: 5 maio 2017.

WU, L.; ARAKANE, M.; IKE, M.; WADA, M.; TAKAI, T.; GAU, M.; TOKUYASU, K. Low temperature alkali pretreatment for improving enzymatic digestibility of sweet sorghum bagasse for ethanol production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 7, p. 4793–4799, abr. 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.023>. Acesso em: 5 maio 2017.

XU, X.; LIU, F.; JIANG, L.; ZHU, J. Y.; HAAGENSON, D.; WIESENBORN, D. P. Cellulose Nanocrystals vs. Cellulose Nanofibrils: A Comparative Study on Their Microstructures and Effects as Polymer Reinforcing Agents. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 5, n. 8, p. 2999–3009, 24 abr. 2013. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/am302624t>. Acesso em 7 ago. 2017.

ZABED, H.; SAHU, J. N.; BOYCE, A. N.; FARUQ, G. Fuel ethanol production from lignocellulosic biomass: An overview on feedstocks and technological approaches. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 66, p. 751–774, dez. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2016.08.038>. Acesso em: 5 set. 2017.