

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

TATIANE DA SILVA BOAES

Aprimoramento da obtenção do hidrolisado hemicelulósico a partir da mistura do bagaço e palha de cana-de-açúcar visando a produção de xilitol

Lorena

2022

TATIANE DA SILVA BOAES

Aprimoramento da obtenção do hidrolisado hemicelulósico a partir da mistura do bagaço e palha de cana-de-açúcar visando a produção de xilitol

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 Biotecnologia Industrial.

Orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças de Almeida Felipe

Versão Corrigida

Lorena

2022

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

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

Boaes, Tatiane da Silva
Aprimoramento da obtenção do hidrolisado
hemicelulósico a partir da mistura do bagaço e palha
de cana-de-açúcar visando a produção de xilitol /
Tatiane da Silva Boaes; orientadora Maria das Graças
de Almeida Felipe - Versão Corrigida. - Lorena, 2022.
66 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências - Programa de Pós
Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de
Biotecnologia Industrial) - Escola de Engenharia de
Lorena da Universidade de São Paulo. 2022

1. Hidrolisado hemicelulósico. 2. Hidrólise ácida
diluída. 3. Compostos tóxicos. 4. Bagaço e palha de
cana-de-açúcar. 5. Xilitol. I. Título. II. Felipe,
Maria das Graças de Almeida, orient.

*Pelo amor, força e carinho e por nunca
deixarem de acreditar em mim, ao meu pai
Claudi Boaes e minha amada mãe Maria
Antônia Boaes. Amo vocês!*

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e pelas oportunidades que me fizeram chegar até aqui.

A minha família, em especial aos meus pais Maria Antônia e Cláudio pelo amor, pelo incentivo de seguir meus sonhos, conselhos e por acreditar nas minhas escolhas. Aos meus queridos irmãos Diocleciano e Joseph que sempre torceram e cuidaram de mim, me ajudando da melhor forma possível. Aos meus sobrinhos Eliza, Abner, Heitor e Heloisa. A Nina.

Ao meu noivo Douglas, que conheci nesta jornada em Lorena e que desde então vem me acompanhando, sempre me incentivando e amando.

A minha amiga Lenise, que me acompanha desde a graduação lá na UFT e encarou essa vida de pós-graduação comigo, onde dividíamos além do aluguel, as angústias da vida e da pós-graduação, mas também os momentos felizes. A minha amiga Fernanda Weber, que o mestrado me presenteou, que me dava conselhos da vida à conselhos acadêmicos.

A minha orientadora Maria das Graças pelos ensinamentos, paciência e confiança. Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Fermentação: Fanny, Italo e Sarah pelos momentos e ajuda no laboratório.

Ao professor Júlio, que sempre esteve disposto a me ajudar com ideias e com parte do planejamento experimental. Ao professor Ferraz pela disponibilização do espaço no Laboratório de Ciências da Madeira, e ao Zé Moreira e ao Otto pela ajuda na realização das hidrólises. Aos integrantes do Laboratório de Bioprocessos e Produtos Sustentáveis do professor Sílvio com a ajuda nas análises no HPLC.

À Universidade de São Paulo (USP), à Escola de Engenharia de Lorena (EEL) e em especial ao Departamento de Biotecnologia (DEBIQ), pela disponibilização a área experimental e laboratórios.

E por fim a todas as pessoas que indiretamente ou diretamente contribuíram seja de forma profissional ou pessoal para que este trabalho fosse realizado.

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

RESUMO

BOAES, T. S. **Aprimoramento da obtenção do hidrolisado hemicelulósico a partir da mistura do bagaço e palha de cana-de-açúcar visando a produção de xilitol**. 2022. 66 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2022.

Grande parte do fornecimento de energia e produção de materiais é realizada utilizando recursos fósseis, no entanto, essa é uma fonte de energia limitada e não renovável. Desta forma, fontes alternativas são buscadas, como o aproveitamento de biomassas vegetais em um conceito de biorrefinaria. Além da ampla experiência no Brasil na utilização da cana para a produção de açúcar, bioetanol e energia elétrica, também podem ser produzidos bioprodutos a partir da utilização do bagaço e palha de cana que são subprodutos do setor sucroalcooleiro. Grande parte das pesquisas é voltada para a utilização da biomassa para a produção de bioetanol de segunda geração, mais precisamente da fração celulósica rica em glicose, porém, a fração hemicelulósica a qual é constituída principalmente da pentose xilose, pode ser convertida em compostos químicos de alto valor agregado, como exemplo o xilitol. O xilitol é comercialmente produzido por via química a partir de materiais ricos em xilana e possui demanda e mercado crescentes. Deste modo, intensivas pesquisas são realizadas na busca de uma tecnologia de produção biotecnológica deste adoçante, de forma a que este processo possa ser competitivo ao químico. Várias etapas são necessárias no processo biotecnológico como a hidrólise ácida diluída da biomassa lignocelulósica, concentração à vácuo, destoxificação, suplementação nutricional do hidrolisado e a fermentação por microrganismos assimiladores de xilose. Assim, este trabalho buscou aprimorar este bioprocessamento avaliando a possibilidade de eliminação da etapa como concentração à vácuo do hidrolisado a partir da otimização das condições de hidrólise ácida diluída para assim maximizar o teor de xilose e minimizar a de compostos potencialmente inibitórios ao metabolismo microbiano. Inicialmente foi feita a caracterização química da mistura de bagaço e palha de cana (1:1) (m/m) sendo a composição desta biomassa de 34,4, 22,9, 22,0, 3,5 e 9,3 g/100g de celulose, hemicelulose, lignina, cinzas e extrativos respectivamente. Na etapa seguinte ocorreu a hidrólise ácida diluída utilizando o planejamento fatorial 2^4 com triplicata no ponto central e experimentos estrela rotacional em que as variáveis de estudo foram temperatura, tempo, concentração de ácido e relação sólido:líquido. De acordo com os resultados, as condições que apresentaram elevados teores de açúcares (xilose, glicose e arabinose), com destaque para a xilose, cujos valores foram superiores a 60 g/L são referentes ao ensaio de N° 24 em que a temperatura foi de 135 °C, tempo de residência 15 minutos, concentração de ácido de 2% (m/v) e relação sólido:líquido 0,25 (m/v). E ainda nesta condição em relação aos compostos tóxicos ácido acético, furfural, 5-HMF e fenólicos os valores obtidos (g/L) foram de 9,38, 0,022, 0,027 e 11,57 respectivamente. Além disso dos fatores estudados (tempo, temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido), a temperatura foi a variável de maior influência na concentração destes compostos no hidrolisado nos demais ensaios. A partir desses resultados foi possível estabelecer que a melhor condição de hidrólise para a obtenção de máximo valor de açúcar xilose visando a produção de xilitol foi a de N° 24.

Palavras-chave: Hidrolisado hemicelulósico. Hidrólise ácida diluída. Compostos tóxicos. Bagaço e palha de cana-de-açúcar. Xilitol.

ABSTRACT

BOAES, T. S. **Improvement of obtaining the hemicellulose hydrolyzate from the mixture of bagasse and sugarcane straw aiming at the production of xylitol.** 2022. 66 p. Dissertation (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2022.

Much of the energy supply and material production is carried out using fossil resources, however, this is a limited and non-renewable energy source. In this way, alternative sources are sought, such as the use of plant biomass in a biorefinery concept. In addition to the extensive experience in Brazil in the use of sugarcane for the production of sugar, bioethanol and electricity, bioproducts can also be produced from the use of bagasse and sugarcane straw, which are by-products of the sugar-alcohol sector. Much of the research is focused on the use of biomass for the production of second-generation bioethanol, more precisely the cellulosic fraction rich in glucose, however, the hemicellulosic fraction, which consists mainly of pentose xylose, can be converted into chemical compounds of high added value, such as xylitol. Xylitol is commercially produced chemically from materials rich in xylan and has an increasing demand and market. In this way, intensive research is carried out in the search for a technology for the biotechnological production of this sweetener, so that this process can be competitive with the chemical. Several steps are necessary in the biotechnological process, such as dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass, vacuum concentration, detoxification, nutritional supplementation of the hydrolyzate and fermentation by xylose-assimilating microorganisms. Thus, this work sought to improve this bioprocess by evaluating the possibility of eliminating the step as vacuum concentration of the hydrolyzate from the optimization of dilute acid hydrolysis conditions to maximize the xylose content and minimize the potential inhibitory compounds to microbial metabolism. Initially, the chemical characterization of the mixture of bagasse and sugarcane straw (1:1) (p/p) was carried out, with the composition of this biomass being 34.4, 22.9, 22.0, 3.5 and 9.3 g /100g of cellulose, hemicellulose, lignin, ash and extractives respectively. In the next step, diluted acid hydrolysis took place using a 24 factorial design with triplicate at the central point and rotational star experiments in which the study variables were temperature, time, acid concentration and solid:liquid ratio. According to the results, the conditions that presented high levels of sugars (xylose, glucose and arabinose), especially xylose, whose values were greater than 60 g/L, refer to the test N° 24 in which the temperature was 135 °C, residence time 15 minutes, acid concentration of 2% (p/v) and solid:liquid ratio 0.25 (p/v). Still in this condition in relation to the toxic compounds acetic acid, furfural, 5-HMF and phenolics the values obtained (g/L) were 9.38, 0.022, 0.027 and 11.57 respectively. In addition to the factors studied (time, temperature, acid concentration and solid:liquid ratio), temperature was the variable with the greatest influence on the concentration of these compounds in the hydrolyzate in the other tests. From these results it was possible to establish that the best hydrolysis condition to obtain the maximum value of xylose sugar aiming at the production of xylitol was N° 24.

Keywords: Hemicellulose hydrolyzate. Dilute acid hydrolysis. Toxic compounds. Sugarcane bagasse and straw. Xylitol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da biomassa lignocelulósica com as principais frações constituinte. Adaptado de Li e Takkellapati, 2018.....	19
Figura 2. Efeito do pré-tratamento na biomassa lignocelulósica. Adaptado de Sajab et al., 2018.	22
Figura 3. Compostos obtidos a partir da hidrólise ácida de materiais lignocelulósicos (Arruda, 2011).	24
Figura 4. Esquema do trabalho proposto no presente projeto.	32
Figura 5. Fotografia da Autoclave (AU/E-20).....	36
Figura 6. Bagaço, palha e mistura do bagaço e palha de cana-de-açúcar (1:1) (m/m) in natura.	38
Figura 7. Superfície de resposta (a, c, e) e curvas de nível (b, d, f) para variável de resposta xilose em função de: (a) tempo e temperatura; (c) concentração de ácido e temperatura; (f) relação sólido:líquido e temperatura nos pontos máximos.....	45
Figura 8. Superfície de resposta (a, c) e curvas de nível (b, d) para variável de resposta glicose em função de: (a) concentração de ácido e temperatura; (c) relação sólido:líquido e temperatura nos pontos máximos.	48
Figura 9. Superfície de resposta (a, c) e curvas de nível (b, d) para variável de resposta arabinose em função de: (a) tempo e temperatura; (c) relação concentração de ácido e temperatura nos pontos máximos.	50
Figura 10. Gráfico de Pareto para o efeito das variáveis (linear e quadrático), na variável resposta ácido acético.	53
Figura 11. Gráfico de Pareto para o efeito das variáveis (linear e quadrático), na variável resposta (a) furfural; (b) 5-HMF.....	54
Figura 12. Gráfico de Pareto para o efeito das variáveis (linear e quadrático), na variável resposta de fenólicos.	55
Figura 13. Coloração do hidrolisado hemicelulósico da mistura de bagaço e palha de cana (1:1).....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais frações constituintes de diferentes biomassas lignocelulósicas.	20
Tabela 2. Principais produtos obtidos a partir do hidrolisado hemicelulósico.	30
Tabela 3. Níveis das variáveis independentes do planejamento fatorial 2^4 associado aos experimentos estrela rotacional para otimização das condições de hidrólise ácida diluída da mistura do bagaço e palha de cana.....	35
Tabela 4. Composição química da mistura de bagaço e palha de cana-de-açúcar.	38
Tabela 5. Comparação da composição química da mistura de bagaço e palha de cana-de-açúcar com outros estudos que utilizaram de bagaço, palha e mistura destas biomassas. N.D = Não determinado; B+P = Mistura de bagaço e palha de cana.....	39
Tabela 6. Matriz do planejamento de experimentos com variáveis independentes (tempo, temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido) e variáveis respostas de cada ensaio (xilose, glicose, arabinose, ácido acético, furfural, 5HMF e fenol) e pH final do hidrolisado. Temp. = Temperatura; Conc. = Concentração; S:L = Sólido/Líquido; Xil = Xilose; Gli = Glicose; Ara = Arabinose; Á.A = Ácido Acético; Furf = Furfural; 5HMF = 5-hidroximetilfurfural; Fen = Fenol.....	41
Tabela 7. Análise de variância para um modelo quadrático composto para a concentração de xilose no hidrolisado em função do tempo, temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido. A = tempo; B = temperatura; C = concentração de ácido; D = Relação sólido:líquido. *Significativo ao nível de confiança de 90%.	44
Tabela 8. Análise de variância para um modelo quadrático composto para a concentração de glicose no hidrolisado em função da temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido. B = temperatura; C = concentração de ácido; D = Relação sólido:líquido. *Significativo ao nível de confiança de 90%.....	47
Tabela 9. Análise de variância para um modelo quadrático composto para a concentração de arabinose no hidrolisado em função do tempo, temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido. A = tempo; B = temperatura; C = concentração de ácido; D = Relação sólido:líquido. *Significativo ao nível de confiança de 90%.....	49
Tabela 10. Análise de variância para um modelo quadrático composto para a concentração de arabinose no hidrolisado em função do tempo, temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido. B = temperatura; C = concentração de ácido; D = Relação sólido:líquido. *Significativo ao nível de confiança de 90%.	52

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1	BIOMASSAS LIGNOCELULÓSICAS	19
2.2	BAGAÇO E PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR	21
2.3	OBTENÇÃO DE HIDROLISADOS HEMICELULÓSICOS	22
2.4	TOXICIDADE DE HIDROLISADOS HEMICELULÓSICOS E MÉTODOS DE DESTOXIFICAÇÃO	25
2.5	UTILIZAÇÃO DO HIDROLISADO HEMICELULÓSICO PARA A OBTENÇÃO DE BIOMOLÉCULAS	28
3	OBJETIVOS	31
3.1	OBJETIVO GERAL	31
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4	MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1	MATÉRIA-PRIMA	32
4.2	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA MISTURA DE BAGAÇO E PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR	33
4.2.1	<i>Determinação de extrativos</i>	33
4.2.2	<i>Determinação de lignina solúvel, insolúvel e de açúcares</i>	33
4.2.3	<i>Determinação de Cinzas</i>	34
4.3	OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE HIDRÓLISE ÁCIDA DILUÍDA DA MISTURA DE BAGAÇO E PALHA DE CANA	34
4.4	MÉTODOS ANALÍTICOS	36
4.4.1	<i>Análises das concentrações de açúcares e compostos tóxicos</i>	36
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA MISTURA DE BAGAÇO E PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR	38
5.2	AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE HIDRÓLISE ÁCIDA DILUÍDA DA MISTURA DE BAGAÇO E PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR EMPREGANDO PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS	41
5.3	ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) E SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA O MODELO DE CONCENTRAÇÃO DE AÇÚCARES EM FUNÇÃO DAS VARIÁVEIS ESTUDADAS	43
5.3.1	<i>Xilose</i>	43
5.3.2	<i>Glicose</i>	46
5.3.3	<i>Arabinose</i>	49

5.3.4	<i>Ácido Acético</i>	51
5.3.5	<i>Compostos Furfural, 5-HMF e Fenólicos</i>	54
5.4	ASPECTO VISUAL DO HIDROLISADO	56
6	CONCLUSÕES.....	57
	REFERÊNCIAS.....	58

1 INTRODUÇÃO

A utilização de recursos fósseis para o fornecimento de energia e produção de materiais contribuem para o desenvolvimento da sociedade, no entanto, esta é uma fonte de reserva limitada e não renovável que tem impactos negativos ao meio ambiente pela geração de gases de efeito estufa. Com isso, têm-se buscado novas fontes alternativas para a produção de energia como também para produção de materiais renováveis e sustentáveis.

Nesse contexto, o aproveitamento de materiais lignocelulósicos derivados de biomassas vegetais se apresenta como opção para a produção de biocombustíveis e outros produtos. Isto impulsiona os estudos relacionados à conversão de biomassas com aproveitamento de todas suas frações constituintes como exemplo, a biomassa da cana-de-açúcar. Esta é uma cultura que possui grande importância econômica no Brasil, sendo um dos maiores produtores mundiais. Nas usinas sucroalcooleiras, os subprodutos bagaço e palha de cana são geralmente queimados para fornecimento de energia no setor, porém, o aproveitamento alternativo destes para a produção de biocombustíveis e outros produtos de valor agregado contribuiria de forma a aumentar a lucratividade em um contexto de biorrefinaria do setor sucroalcooleiro.

Para a solubilização dos açúcares (hexoses e pentoses) presentes na biomassa lignocelulósica, a hidrólise ácida diluída é realizada, em que a fração majoritária presente no hidrolisado é a hemicelulósica, dando assim o nome de hidrolisado hemicelulósico, rico em pentoses. A partir deste hidrolisado hemicelulósico, e visando aumentar a lucratividade de uma biorrefinaria do setor sucroalcooleiro, vários produtos podem ser obtidos a partir deste hidrolisado, como por exemplo, o xilitol.

O xilitol um poliálcool de doçura comparada à sacarose e metabolismo independente de insulina, se apresenta como opção de biomolécula em função de sua demanda e mercado crescente, principalmente nos setores das indústrias alimentícia e farmacêutica.

O xilitol é comercialmente produzido por via química utilizando a xilose altamente purificada proveniente de biomassas lignocelulósicas, em um processo que utiliza de condições severas de temperatura e pressão e assim apresenta desvantagens econômicas por envolver alto consumo de energia além de utilizar catalisadores metálicos de difícil recuperação. Desta forma, a produção biotecnológica de xilitol surge como uma alternativa à sua produção por via química, uma vez que utiliza de condições menos severas e não necessita de uma xilose altamente purificada.

A conversão da xilose a xilitol ocorre por meio de microrganismos naturalmente fermentadores de pentoses. Várias etapas posteriores a hidrólise ácida diluída ainda são realizadas para a obtenção do xilitol por via biotecnológica, como a concentração a vácuo, destoxificação e suplementação nutricional do hidrolisado. Neste contexto, há vários anos pesquisadores do Grupo de Microbiologia Aplicada e Bioprocessos (GMBIO) da Escola de Engenharia de Lorena – Universidade de São Paulo tem investido esforços nas pesquisas para estabelecimento de condições para viabilizar o processo de produção de xilitol pela rota biotecnológica a partir de matérias-primas lignocelulósicas, como o bagaço e palha de cana.

Entretanto, é possível considerar que o processo de obtenção de xilitol pela rota biotecnológica poderá ainda ser aprimorado a partir da eliminação de algumas etapas, como a de concentração à vácuo do hidrolisado hemicelulósico, visando favorecer a viabilidade do escalonamento e redução de custos deste bioprocessos. Assim, o presente projeto contemplou o estudo das condições de hidrólise ácida diluída da mistura de bagaço e palha de cana (1:1) e avaliou-se a possibilidade de eliminação da etapa de concentração a vácuo do hidrolisado hemicelulósico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BIOMASSAS LIGNOCELULÓSICAS

O rápido aumento populacional concomitante com a demanda de energia acarreta em rápido consumo de combustível fóssil, prejudicial ao ambiente contribuindo com excesso de gases de efeito estufa (Arora et al., 2020). Segundo estes autores, os materiais lignocelulósicos surgiram como uma alternativa na solução deste problema, uma vez que estão abundantemente disponíveis no planeta. Mundialmente é produzido mais de 10 bilhões de toneladas por ano de biomassa lignocelulósica (Lin et al., 2022), que pode ser proveniente de resíduos de diferentes setores, como florestas, agricultura, processamento de madeira, resíduos sólidos municipais e resíduos de papel (Arora et al., 2020).

A biomassa lignocelulósica chama atenção pela sua capacidade de fornecer biocombustíveis, como bioetanol, biodiesel e biogás (Xu et al., 2020), além de bioprodutos derivados de seus açúcares constituintes como xilitol, ácido levulínico, sorbitol (Demesa et al., 2020). No entanto, a recalcitrância desse material lignocelulósico é o principal desafio para a conversão deste em bioprodutos (Xu et al., 2020).

A biomassa lignocelulósica é composta por três frações macromoleculares: celulose, hemicelulose e lignina (Figura 1) em que a quantidade exata destes componentes varia de acordo com o tipo de material lignocelulósico (Fengel e Wegener, 1989). A diversidade de materiais lignocelulósicos que podem ser utilizados na obtenção de bioprodutos e suas frações constituintes encontra-se na Tabela 1.

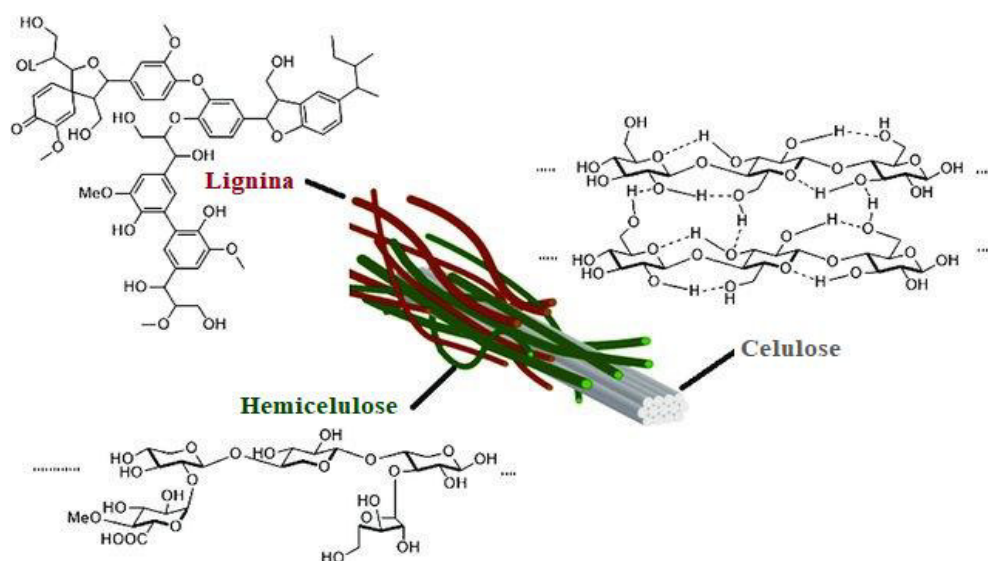


Figura 1. Estrutura da biomassa lignocelulósica com as principais frações constituinte. Adaptado de Li e Takkellapati, 2018.

Tabela 1. Principais frações constituintes de diferentes biomassas lignocelulósicas.

Material	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Referência
Bagaço de caju	17,73	19,22	33,41	Albuquerque et al., 2015
Bagaço de cana	43,10	28,60	20,80	Arruda, 2011
Bagaço de maçã	32,62	23,60	25,38	Leonel et al., 2020
Bagaço e palha de cana (1:1)	35,99	29,53	19,85	Hernández-Pérez, 2019
Palha de Arroz	43,50	22,00	17,20	Mussatto e Roberto, 2002
Palha de aveia	39,40	27,10	17,50	Guilherme et al., 2012
Palha de cana	31,70	27,00	31,10	Hernández-Pérez et al., 2016
Palha de cevada	38,60	21,40	19,90	Moraes, 2008
Palha de sorgo	39,50	27,90	23,10	Camargo et al., 2015
Palha de trigo	32,90	24,00	8,90	Guilherme et al., 2012
Resíduos de beterraba sacarina	26,30	18,50	2,50	El-Tayeb et al., 2012
Talo de milho	61,20	19,30	6,90	El-Tayeb et al., 2012
Talos de girassol	42,10	29,70	13,40	Motte et al., 2013
Talos de soja	34,50	24,80	19,80	Motte et al., 2013

Segundo Fengel e Wegener (1989), a celulose é um polímero linear composto por monômeros de D-glicose unido por ligações glicosídicas β 1 \rightarrow 4, enquanto que a hemicelulose é composta por várias unidades diferentes de açúcares como pentoses (D-xilose e L-arabinose), hexoses (D-glicose, D-galactose e D-manose) e ainda por ácidos hexurônicos (Ácido glucurônico, ácido metilglucurônico e ácido galactorônico) e ácido acético. De acordo ainda com estes autores, a lignina é uma macromolécula polifenólica, composta por unidades de 3-5-dimetoxi-4hidroxifenilpropano, 3-metoxi-4hidroxifenilpropano e 4-hidroxi-fenilpropano. Enquanto a celulose confere suporte estrutural para o material, e a hemicelulose reveste a fibra de celulose (Bajpai, 2016), a lignina atua

ligando a celulose e hemicelulose para formar uma estrutura tridimensional rígida, característica de uma parede celular de planta (Koupaie et al., 2019).

Ainda na biomassa lignocelulósica são encontrados extrativos e cinzas, na qual os extrativos são um grupo de moléculas da parede celular consistindo principalmente de gorduras, ácidos graxos, álcoois, fenóis, terpenos entre outros e as cinzas que são sais minerais e compostos inorgânicos, nos quais alguns desses elementos podem ser a sílica (Si), boro (B), ferro (Fe), sódio (Na), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), manganês (Mn) e zinco (Zn) (Rowell et al., 2012).

2.2 BAGAÇO E PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR

A cana-de-açúcar é uma das principais culturas agrícolas no mundo usada para produzir açúcar bem como gerar energia renovável (Wang et al., 2020). Em relação ao cultivo, a cana está presente em países tropicais e subtropicais e contribui com a economia de países como Brasil, China, Índia, Paquistão, Tailândia e África do Sul (Muller et al., 2020).

O Brasil é um dos maiores produtores de cana-de-açúcar no mundo e tem uma estimativa para a safra de 2022/23 (que iniciou em abril de 2022 e deve ser encerrada em março de 2023) de mais de 596 milhões de toneladas para uma área de 8.209,3 milhões de hectares (Conab, 2022).

No processamento da cana-de-açúcar, são gerados dois principais subprodutos, o bagaço e a palha sendo que o bagaço é proveniente da moagem da cana, enquanto que a palha é resultado da colheita mecanizada (Candido e Gonçalves, 2019; Leal et al., 2013). Nas indústrias sucroalcooleiras, o bagaço é geralmente queimado para fornecer energia a usina (Pelegia, 2018). Já em relação a palha de cana, esta é deixada ou queimada no campo quando é resultante de colheita manual (Ushima e França, 2018). De acordo ainda com estes autores, a palha apresenta algumas dificuldades para o uso como insumo energético, pois além do custo de transporte do campo para a usina, há também a corrosão das tubulações de vapor durante a combustão desta nas caldeiras, pois apresenta teor mais elevado de cloro do que o bagaço.

Então no que tange o uso avançado destes subprodutos, estes poderiam ser utilizados também para produção integrada de compostos de valor agregado, e assim poderia aumentar a lucratividade de uma biorrefinaria do setor sucroalcooleiro (Hernández-Pérez et al., 2016).

A biomassa de cana-de-açúcar é uma das fontes de biomassa relativamente mais abundantes, que possui menor custo e menor competição pelo uso de terra, sendo assim uma das fontes mais promissoras para a bioeconomia (Özüdoğru et al., 2019).

2.3 OBTENÇÃO DE HIDROLISADOS HEMICELULÓSICOS

O aproveitamento biotecnológico de carboidratos presentes em biomassas lignocelulósicas requer a solubilização destes açúcares, como a glicose, xilose, arabinose (Zhao et al., 2012). Para tanto, o pré-tratamento da biomassa (Figura 2) é um processo inevitável que tem como objetivo remover as barreiras recalcitrantes e aumentar a sua digestibilidade (Chandel et al., 2018).

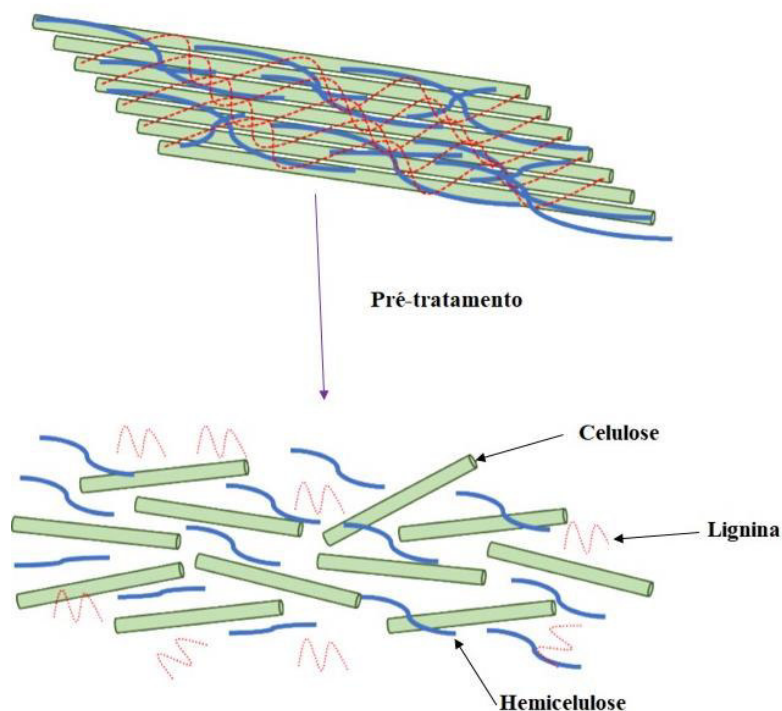


Figura 2. Efeito do pré-tratamento na biomassa lignocelulósica. Adaptado de Sajab et al., 2018.

Existem diversos métodos de pré-tratamento da biomassa que podem ser empregados, como físicos, químicos e biológicos bem como a combinação destes (Chandel et al., 2018). No caso da solubilização dos açúcares constituintes da fração hemicelulósica a utilização de ácidos tem sido comumente empregada por ser bastante eficaz, tendo destaque o ácido sulfúrico, por ser menos volátil e mais barato (Woiciechowski et al., 2020). De acordo com estes autores, a solubilização da fração hemicelulósica ocorre, pois, sua estrutura amorfa e ramificada a torna mais suscetível ao processo de hidrólise ácida

diluída. No entanto, outros ácidos tem sido relatados promissores, como os inorgânicos a exemplo o ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido clorídrico e também os ácidos orgânicos, como o ácido acético, ácido cítrico e ácido oxálico (Lorenci Woiciechowski et al., 2020).

Segundo Lenihan et al. (2010) ácidos diluídos também são utilizados como método de pré-tratamento, geralmente é empregado concentrações de ácido que variam de 1 a 10% (m/v), usando temperaturas que variam de 100 a 150 °C, no entanto, nessas condições, a liberação de hexoses pode ser comprometida e se tornar menos eficaz, pois pode haver a conversão dos monossacarídeos em compostos inibidores para o crescimento de microrganismos comprometendo o processo de fermentação.

Nas pesquisas com as biomassas bagaço e palha de cana, palha de arroz, farelo de trigo e espigas de milho quando foi empregado o tratamento com ácido sulfúrico diluído, os hidrolisados resultantes tinham em sua constituição como componente majoritário a xilose, seguido da glicose, arabinose, acetato entre outros (Choi et al., 2019; Hernández-Pérez et al., 2020).

No entanto, vários compostos tóxicos são gerados com a hidrólise ácida diluída, como o ácido acético proveniente da desacetilação da xilana (Martinez et al., 2000). Concentrações de ácido e temperaturas mais altas durante a hidrólise ácida contribuem para o surgimento de inibidores como furfural e hidroximetilfurfural (HMF), resultado da degradação de pentoses e hexoses respectivamente (Lenihan et al., 2010). Posteriormente há a conversão de HMF em ácido alifáticos (levulínico e fórmico) (Gaudereto et al., 2017) e os compostos fenólicos provenientes da quebra da lignina (Martinez et al., 2000) conforme demonstra a Figura 3.

Outros compostos que podem ser liberados na hidrólise sob condições ácidas são os íons metálicos, como cobre, níquel, cromo e ferro, pois as condições ácidas podem corroer os equipamentos (Jönsson e Martín, 2016), no entanto estes íons metálicos também podem ser provenientes da biomassa e do solo (Converti et al., 1999).

Porém a variedade de compostos tóxicos bem como suas concentrações nos hidrolisados hemicelulósicos dependem tanto da matéria-prima quanto das condições operacionais utilizadas para hidrólise, além disso o efeito destes compostos pode ser acentuado pelas variáveis do processo de fermentação como, condições fisiológicas da célula, concentração de oxigênio dissolvido e o pH do meio (Mussatto e Roberto, 2004).

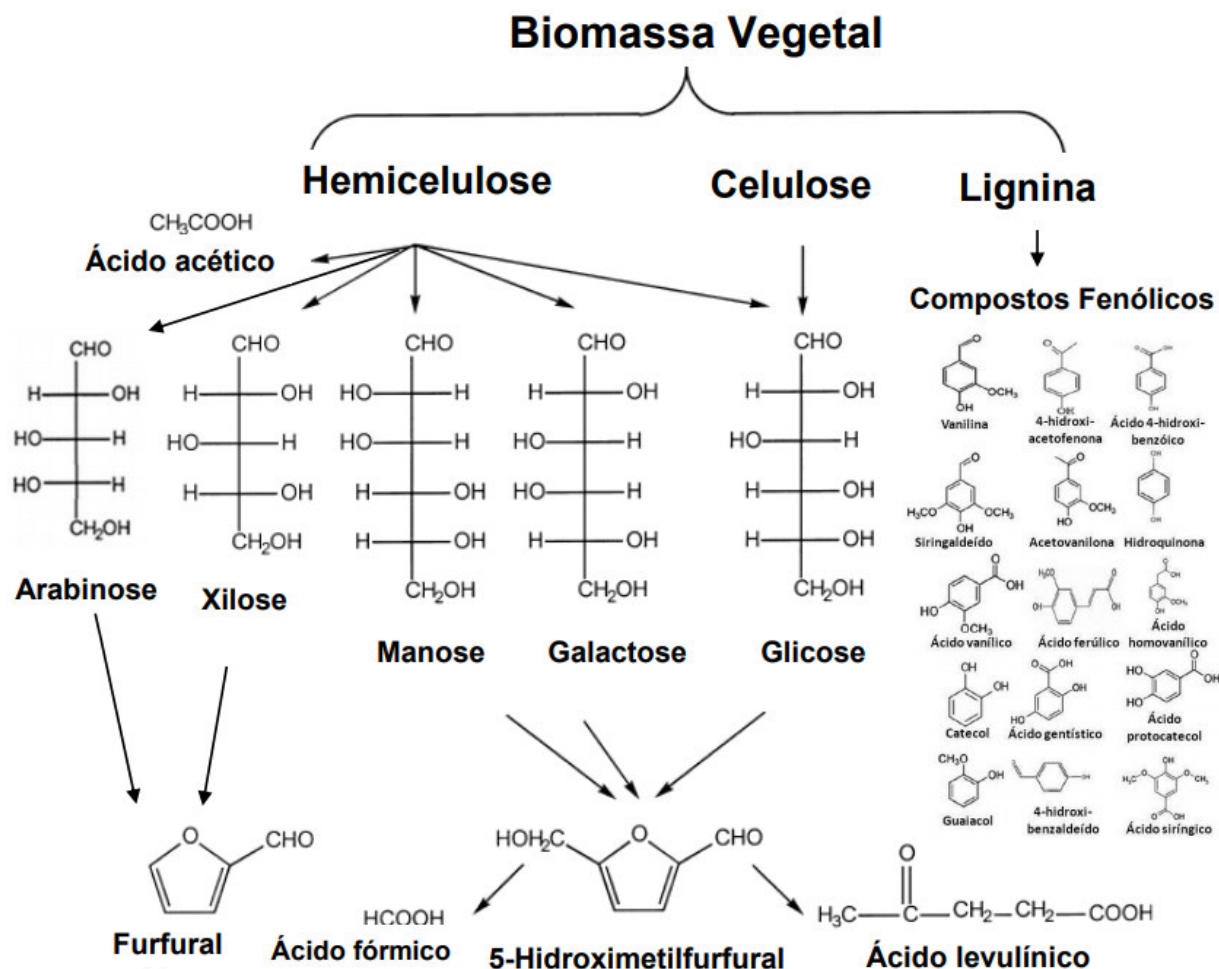


Figura 3. Compostos obtidos a partir da hidrólise ácida de materiais lignocelulósicos (Arruda, 2011).

Para algumas biomassas lignocelulósicas as condições de hidrólise ácida diluída já estão bem estabelecidas como para o bagaço de cana nas condições de 1,0% (m/v) H₂SO₄, temperatura de 121 °C, 10 minutos, a uma razão sólido/líquido de 1:10 (m/v) (Silva et al., 2004). No entanto para a palha de cana, (Hernández-Pérez et al., 2016) adaptaram esta metodologia, alterando o tempo de reação para 20 minutos. Nesta pesquisa os rendimentos foram satisfatórios, uma vez que a xilose foi o monossacarídeo majoritário representando 71% do teor de açúcares, com concentração de 18,6 g/L enquanto para glicose e arabinose estes foram 14,1 e 14,9% respectivamente com concentrações de 3,7 e 3,9 g/L cada um.

Após a hidrólise ácida o hidrolisado precisa ser processado passando por uma série de operações para ser utilizado como meio de fermentação, as quais são: concentração, destoxificação, ajuste de pH e suplementação nutricional (Lenihan et al., 2010).

2.4 TOXICIDADE DE HIDROLISADOS HEMICELULÓSICOS E MÉTODOS DE DESTOXIFICAÇÃO

Em função da presença nos hidrolisados hemicelulósicos de compostos tóxicos junto aos carboidratos conforme apresentado no item anterior, a etapa de destoxificação é realizada para a utilização do mesmo como meio de fermentação e desta forma reduzir ao máximo a concentração de compostos inibidores ao metabolismo microbiano (Silva et al., 2013).

No caso do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana obtido por hidrólise ácida diluída por Arruda (2011), as concentrações dos tóxicos no hidrolisado original e concentrado à vácuo foram respectivamente 2,31 e 5,28 g/L de ácido acético, 0,188 e 0,082 g/L de furfural, 0,024 e 0,073 g/L de 5-hidroximetilfurfural e 5,48 e 12,74 g/L de fenóis, enquanto que no trabalho de Hernández-Pérez (2015) para o hidrolisado hemicelulósico de palha de cana as concentrações destes tóxicos no hidrolisado original e concentrado à vácuo foram respectivamente de 2,23 e 3,75 g/L de ácido acético, 0,18 e 0,05 g/L de furfural, 0,40 e 1,00 g/L de 5-hidroximetilfurfural e 3,00 e 5,03 g/L de fenóis, sendo assim, em função da matéria prima empregada há diferenças na constituição dos compostos.

Em estudos feitos por Wang et al. (2016) para avaliar a tolerância de *Candida tropicalis* ao furfural, utilizou-se concentrações de 0, 1, 3, 5, 7 e 9 g/L deste composto ao meio de fermentação contendo xilose e observou-se que as curvas de crescimento foram prolongadas, no entanto, foi observado que na concentração de 1 g/L de furfural a biomassa final produzida foi um pouco maior do que em meio ausente deste tóxico e em 5 g/L essa levedura cresceu lentamente no início da fermentação. No caso da *Candida guilliermondii* cultivada em meio semidefinido contendo glicose, Sanchez e Bautista, (1988) verificaram que o crescimento foi inibido significativamente em concentrações maiores que 1 g/L de furfural, no entanto a inibição total aconteceu quando concentração deste composto atingiu 2 g/L. Já em relação ao 5-hidroximetilfurfural a inibição foi significativa em concentrações maiores de 1,5 g/L chegando a 61,7% de inibição quando a concentração deste composto foi de 2 g/L no meio, desta forma elucidando que o furfural tem um maior potencial de inibir do crescimento e fermentação do que 5-hidroximetilfurfural nesta cepa de levedura (Sanchez e Bautista, 1988).

A explicação da toxicidade de furfural e HMF serem compostos tóxicos aos microorganismo, é devido a estes afetarem tanto as atividades enzimáticas e biológicas da levedura (Mussatto e Roberto, 2004). De acordo com Fonseca et al. (2011) o efeito tóxico

dos compostos furanos é por serem aldeídos quimicamente reativos, e assim tendem a reagir com moléculas biológicas ou ainda causar danos às membranas celulares.

Segundo Zhang et al. (2012) a *Candida athensensis* SB18 é capaz de produzir xilitol com altos rendimentos. No entanto, subprodutos derivados do hidrolisado da biomassa lignocelulósica, como os compostos fenólicos, podem interferir negativamente no desempenho desse microrganismo para a produção de xilitol (Zhang et al., 2012). Desta forma ainda estes autores, avaliaram o potencial de compostos fenólicos como, vanilina, siringaldéido, 4-hidroxibenzaldéido e fenol na produção de xilitol em meio semidefinido contendo xilose como fonte de carbono e observaram que na concentração inicial de 1,0 g/L, o fenol foi a molécula mais tóxica a *C. athensensis* SB18, inibindo o crescimento celular em 66,73%, seguido pela também concentração de 1 g/L de siringaldeído, 4-hidroxi-benzaldéido e vanilina com 41,55%, 16,11% e 13,81%, respectivamente. Ainda nesta pesquisa, concentrações inferiores a 1,0 g/L de 4-hidroxibenzaldéido, siringaldeído e vanilina não interferiram na produção de xilitol e consumo de xilose por essa levedura quando comparado com o meio ausente de tóxico.

Avaliando o efeito de compostos tóxicos na produção de 2,3-butanodiol usando *Enterobacter aerogenes* ATCC29007 cultivada no hidrolisado de *Miscanthus* contendo glicose no meio, Lee et al. (2015) observaram que os compostos fenólicos mostraram efeitos tóxicos no crescimento celular, produção de 2,3 butanodiol e atividade enzimática na qual a concentração superior a 1,5 g/L desde composto impediu a produção de 2,3-butanodiol. A toxicidade dos compostos fenólicos se dá pois estes danificam a membrana celular causando aumento da permeabilidade e perda de componentes celulares além disso inativam sistemas enzimáticos essenciais (Monlau et al., 2014; Mussatto et al., 2005).

Quanto a toxicidade do ácido acético, Mussatto et al. (2005) avaliaram a influência deste tóxico presente no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de malte na bioconversão de xilose em xilitol pela levedura *C. guilliermondii* FTI 20037. Nesta pesquisa foi observado que concentração acima de 3,83 g/L de ácido acético afetou a produção de xilitol. Da mesma forma, Felipe et al. (1995) utilizando da mesma levedura também observaram efeito tóxico do ácido acético em concentrações maiores que 3 g/L na produção de xilitol em meio semidefinido contendo xilose, entretanto estes autores constataram que concentrações até 1,0 g/L de ácido acético favorece a produção de xilitol.

Lima et al. (2004) também utilizando da mesma levedura avaliaram o efeito deste ácido presente no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana na atividade das enzimas xilose redutase (XR) e xilitol desidrogenase (XDH) e observou que a presença de 5 g/L

deste composto no meio de cultura favoreceu o metabolismo da xilose pela levedura através do aumento nas atividades destas enzimas. No caso do ácido acético sua toxicidade está relacionada à sua difusão nas células na forma não dissociada e sua dissociação no interior, que pode se difundir nas células e causar consequente interrupção na geração de energia devido ao efeito de um gradiente de pH (Silva-Fernandes et al., 2017).

Santos et al. (2014) estudaram sobre métodos de destoxificação no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana observaram que no hidrolisado que foi concentrado, as concentrações de metais como manganês (Mn), ferro (Fe), níquel (Ni), cobre (Cu) e zinco (Zn) aumentaram em relação ao hidrolisado original, na qual o ferro foi o metal que teve a maior concentração em ambos hidrolisados. Ainda estes autores explicam que durante o processo de concentração alguns metais podem precipitar e outros podem ser solubilizados tendo sua concentração aumentada ou diminuída no hidrolisado. Os metais pesados são prejudiciais em altas concentrações pois podem formar compostos inespecíficos criando efeitos citotóxicos e inibindo enzimas importantes nas vias metabólicas de microrganismos (Silva-Fernandes et al., 2017).

As fermentações de açúcares provenientes de hidrolisados lignocelulósicos não destoxificado apresentam uma cinética lenta, com rendimento e produtividade reduzidos quando comparado com fermentações de açúcares comerciais ou de hidrolisados destoxificados (Mussatto e Roberto, 2004). Vários métodos podem ser utilizados para minimizar a toxicidade de compostos tóxicos, como os três grupos principais: físicos, químicos e biológicos (Silva et al., 2013).

Nos métodos físicos, tem-se a evaporação (concentração) à vácuo que pode eliminar compostos voláteis, como ácido acético, furfural e vanilina de hidrolisados hemicelulósicos, porém a desvantagem deste método é que compostos não voláteis podem ter suas concentrações aumentadas no hidrolisado (Chandel et al., 2013). No caso da evaporação à vácuo este procedimento foi empregado com posterior associação com carvão ativado no hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana o que resultou em uma redução na concentração de ácido acético, furfural, 5-hidroxiacetilfurfural e compostos fenólicos (Rodrigues et al., 2001). Nesta pesquisa foi também observado que furfural e 5-hidroxiacetilfurfural foram removidos quase totalmente, independente das variáveis pH, temperatura e adição de carvão durante a evaporação à vácuo e que a remoção de compostos fenólicos foi favorecida com a adição de carvão ativado independente do pH, já a remoção de ácido acético foi eficaz quando adicionado carvão ativado após o processo de evaporação em pH 0,92.

Entre os métodos químicos, o tratamento com o uso de carvão ativado é o que possui melhor custo-benefício e com alta capacidade de absorção dos compostos tóxicos na destoxificação de hidrolisados hemicelulósicos sem afetar a concentração de açúcares (Chandel et al., 2011). Marton et al. (2006) avaliaram a atividade de carvão ativado e condições de adsorção para o tratamento de hidrolisado de bagaço de cana para a produção de xilitol e observaram que para condições empregando carvão ativado em pó 1% (m/v) por 30 min a 60°C, 100 rpm e pH 2,5, conseguiram remover 76% de compostos fenólicos, 44% de ácido acético, 60% de 5-HMF e 58% de furfural, tendo uma produtividade volumétrica de xilitol em 0,50 g/L/h e rendimento de xilose em xilitol em 0,66 g/g. Este é um dos métodos mais empregados nas pesquisas para a produção de xilitol em diferentes hidrolisados, como hidrolisado de palha de arroz (Mussatto et al., 2004), palha de trigo (Canilha et al., 2008), palha de cana (Hernández-Peréz et al., 2016); bagaço de cevada (Carvalho et al., 2005), eucalipto (Villarreal et al., 2006), tronco de sagu (Kamal et al., 2011), bagaço de cana (Arruda, 2011), bagaço de maçã (Leonel et al., 2020).

Os métodos biológicos para destoxificação abordam o uso de microrganismos e também de enzimas celulares nos hidrolisados os quais são empregados pela simplicidade e condições de trabalho mais brandas e não utilização de produtos químicos, no entanto estes métodos apresentam desvantagens como tempo de reação lento e especificidade do inibidor, como também perda dos açúcares nos hidrolisados (Chandel et al., 2011). Morozova et al. (2017), destoxificaram hidrolisados hemicelulósicos de abeto utilizando lodo ativado e obtiveram uma redução dos compostos tóxicos na qual a concentração de 5-HMF diminuiu de 3,06 g/L para 0,0012 g/L, furfural de 1,3 g/L para 0,0009 g/L. Já Schroyen et al. (2017) utilizaram de destoxificação enzimática para tratar hidrolisados de palha de cânhamo e *miscanthus* para serem utilizadas na produção de biogás. Nesta pesquisa foi avaliado a interação das enzimas lacase e da peroxidase versátil individualmente com 0, 100 e 500 mg/L de diferentes compostos fenólicos por 0, 6 e 24h tendo sido observado que o tratamento com lacase destoxificou de forma eficiente enquanto a peroxidase versátil foi inibida em 100mg/ de compostos fenólicos.

2.5 UTILIZAÇÃO DO HIDROLISADO HEMICELULÓSICO PARA A OBTENÇÃO DE BIOMOLÉCULAS

A biomassa lignocelulósica é uma fonte excelente para a produção de uma variedade de produtos de alto valor agregado, pois além de serem utilizadas como fontes

de carbono para fermentações microbianas, também podem ser utilizadas para a produção direta de moléculas mais complexas (Magalhães et al., 2019). A hidrólise da biomassa lignocelulósica com ácido permite que carboidratos e moléculas não carboidratos estejam disponíveis para a obtenção de diferentes produtos de alto valor agregado, e a fração hemicelulósica é a fração majoritária liberada (Kumar et al., 2018) que pode ser utilizada para a produção de diferentes produtos (Tabela 2), como por exemplo o ácido láctico, lipídeos microbianos, carotenóides, bioetanol, proteína microbiana, biosurfactante, n-butanol, ácido succínico, biogás e o xilitol, produto este de estudo recorrente no grupo de pesquisa GMBIO.

O xilitol é um poliol que ocorre naturalmente na natureza, é encontrado em vários tipos de frutas e vegetais, como ameixas, morango, framboesas, couve-flor, abóbora e espinafre (Ur-Rehman et al., 2015; Winkelhausen e Kuzmanova, 1998). Também é um intermediário no metabolismo de carboidratos em humanos e animais, na qual em condições normais o ser humano pode produzir de 5 a 15 g de xilitol por dia (Uhari et al., 2000).

Devido as propriedades do xilitol, como doçura, efeito de resfriamento rápido, baixa caloria, ele tem aplicabilidade em pelo menos três tipos de indústrias, como por exemplo na indústria alimentícia para produção de gomas de mascar sem açúcar e produtos de panificação, além também de muitos produtos farmacêuticos e odontológicos (Albuquerque et al., 2014). Por possuir alto poder edulcorante, menor índice glicêmico e baixo valor calórico, o xilitol é um ótimo substituto da sacarose e outros açúcares para dietas (Albuquerque et al., 2014; Zhang et al., 2018), desta forma sendo um tratamento alternativo contra diabetes para controlar os níveis de açúcar no sangue (Lugani et al., 2017).

Em relação ao mercado, o xilitol teve sua produção aumentada em mais de quarenta vezes em quatro décadas, devido a população estar buscando um estilo de vida mais saudável (Özüdoğru et al., 2019). Industrialmente, o xilitol é produzido pela rota química utilizando materiais lignocelulósicos, porém, alternativas ecológicas para sua obtenção têm sido estudadas, como por exemplo por via biotecnológica (Irmak et al., 2017).

Tabela 2. Principais produtos obtidos a partir do hidrolisado hemicelulósico.

Produto	Microrganismo	Fonte de Hidrolisado	Referência
Xilitol	<i>Candida Tropicalis</i>	Bagaço e palha de cana	Jofre et al., 2021
Ácido Lático	<i>Lactobacillus salivarius</i>	<i>Pinus taeda</i>	Yamakawa et al., 2022
Lipídeos microbianos	<i>Rhodosporidium toruloides</i>	<i>Pinus taeda</i>	Yamakawa et al., 2022
Carotenoides	<i>Rhodosporidium toruloides</i>	<i>Pinus taeda</i>	Yamakawa et al., 2022
Bioetanol	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>Pinus taeda</i>	Yamakawa et al., 2022
Proteína microbiana	<i>Hansenula polymorpha</i>	<i>Pinus taeda</i>	Yamakawa et al., 2022
Biossurfactante	<i>Cutaneotrichosporon mucoides</i>	Bagaço de cana	Marcelino et al., 2019
n-butanol	<i>Clostridia acetobutylicum</i> ATCC824	Bordo-açucareiro	Sun e Liu, 2012
Ácido succínico	<i>Actinobacillus succinogenes</i>	Caroço de azeitona e Bagaço de cana	Jokodola et al., 2022
Biogás (metano e hidrogênio)	Microrganismos da mistura de esterco bovino e lodo	Casca de café	Santos et al., 2018

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Contribuir para o aprimoramento da produção biotecnológica de xilitol a partir da mistura de bagaço e palha de cana-de-açúcar, visando à integração deste bioprocessos em uma biorrefinaria no setor sucroalcooleiro a partir da otimização da hidrólise ácida diluída para possível eliminação da etapa de concentração a vácuo do hidrolisado.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição química da matéria prima mistura de bagaço e palha de cana-de-açúcar (1:1) (m/m);
- Avaliar os parâmetros: temperatura, tempo de reação, concentração de ácido e relação sólido líquido da hidrólise ácida diluída de uma mistura de bagaço e palha de cana-de-açúcar com vistas a obtenção de um hidrolisado hemicelulósico rico em xilose;
- Avaliar as concentrações dos compostos carboidratos e não carboidratos do hidrolisado hemicelulósico da mistura de bagaço e palha de cana-de-açúcar.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fermentações II do Departamento de Biotecnologia da Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo (EEL/USP), coordenado pela Profa. Dra. Maria das Graças de Almeida Felipe conforme o esquematizado na Figura 4.

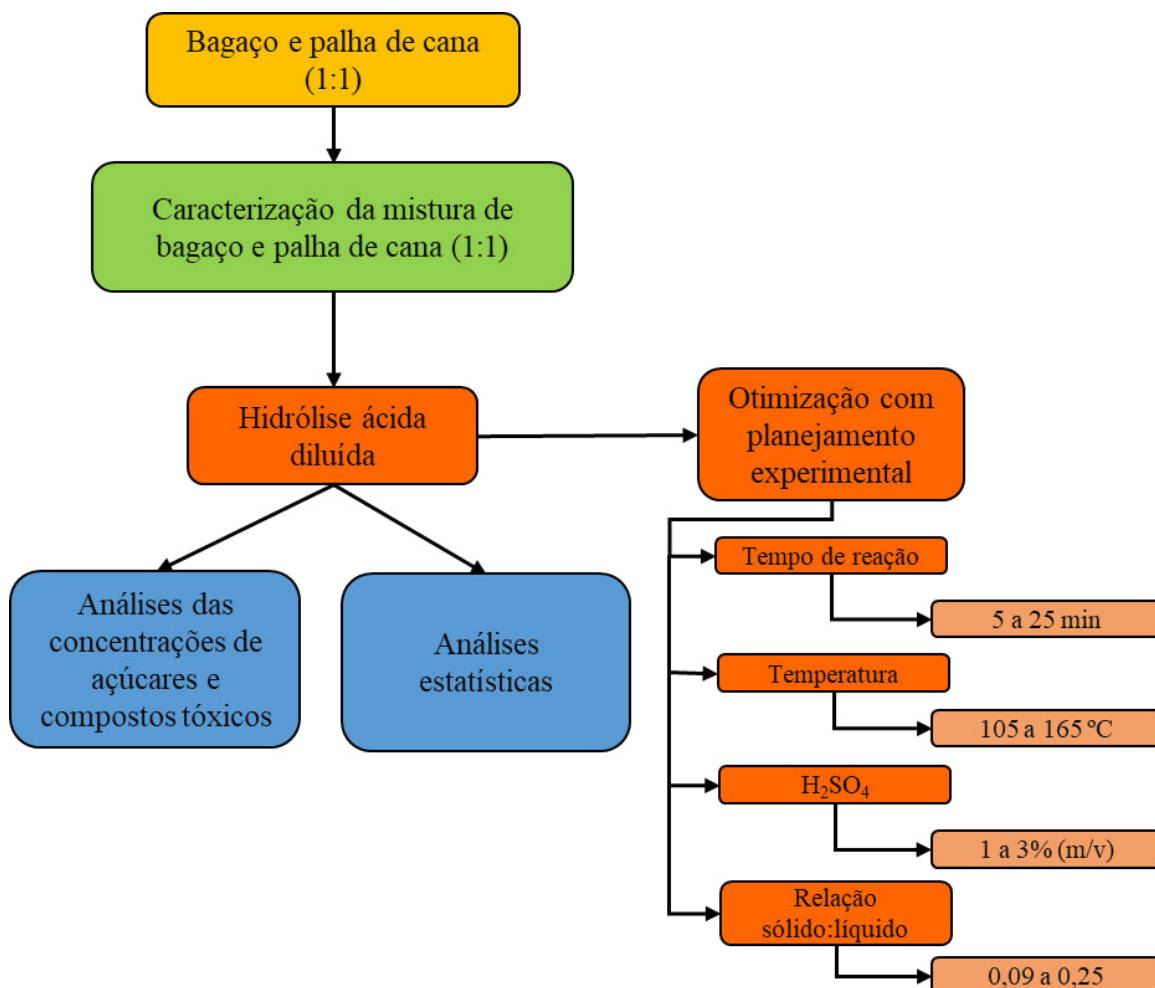


Figura 4. Esquema do trabalho proposto no presente projeto.

4.1 MATÉRIA-PRIMA

Os subprodutos da cana-de-açúcar, bagaço e palha utilizados nos experimentos foram cedidos pela Usina Pederneiras, localizada na cidade de Tietê/SP. O bagaço é proveniente da safra 2019/2020 e a palha da safra 2017/2018. Estas biomassas foram secas ao ar e em estufa a 30°C até que atingissem um teor de umidade menor ou igual a 10%. A palha foi triturada em moedor e em seguida foi preparada a mistura de bagaço e palha na

proporção 1:1 (m/m) e então armazenadas nas dependências do Departamento de Biotecnologia (DEBIQ) da EEL/USP até sua utilização.

4.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA MISTURA DE BAGAÇO E PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR

4.2.1 Determinação de extrativos

Para determinação de extrativos, cerca de 1,5 g em triplicata da mistura de bagaço e palha de cana moída a 20 Mesh foi colocado em envelopes de papel filtro e levadas a um extrator de Soxhlet com etanol 95% por 6h. Após a extração, as biomassas foram secas ao ar, pesadas e nova umidade foi quantificada com câmara de UV a 105°C. O teor de extrativos foi calculado a partir da subtração da massa inicial (com extrativos) com a massa final (sem extrativos).

4.2.2 Determinação de lignina solúvel, insolúvel e de açúcares

Com amostras da mistura do bagaço e palha de cana sem extrativos da etapa anterior, foi realizado a caracterização química a partir da hidrólise com ácido sulfúrico, seguindo a metodologia descrita por Ferraz et al., (2000) realizada em triplicata pela adição de 0,3 g das amostras em tubos de ensaio os quais foram colocados em banho termostático a 30°C e adicionado 3 mL de ácido sulfúrico a 72% (v/v), durante 1 h. Com o auxílio de um bastão de vidro o conteúdo de cada tubo foi misturado a cada 10 minutos durante o processo.

Após 1h, esta mistura foi transferida para frascos Erlenmeyer de 250 mL e adicionou-se 79 mL de água destilada, e em seguida os frascos foram submetidos a autoclave a 120°C, 1 atm por 1 h. Os hidrolisados em temperatura ambiente, foram filtrados a vácuo com filtro sinterizado n° 3 (SCHOOT). O filtrado foi transferido para um balão volumétrico de 200 mL e a biomassa vegetal retida no filtro foi armazenada em estufa a 100°C até que atingisse massa constante, para determinação da lignina solúvel.

Para a determinação da lignina solúvel, uma diluição de 1:10 fração líquida do filtrado:água destilada foi feita e em seguida analisada em espectrofotômetro UV-visível (Thermo Scientific Evolution 201) no comprimento de onda de 205 nm (absortividade da lignina solúvel 105 L.g⁻¹.cm⁻¹). No caso da determinação da lignina insolúvel, calculou-se

a diferença de peso das amostras de biomassa antes e após hidrólise de determinação da composição química.

Também foi determinada a concentração de açúcares monoméricos (xilose, glicose e arabinose) e ácido acético, as quais foram previamente filtradas com “Sep Pak” C18 e analisadas em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com coluna Bio Rad (Hércules, CA) Aminex HPX- 87H, com H₂SO₄ 0,01N como eluente, a 45°C, a um fluxo de 0,06 mL/min em cromatógrafo Agilent 1200 (Kyoto, Japão).

4.2.3 Determinação de Cinzas

Para a determinação de cinzas, empregou-se cadinhos de porcelana calcinados e tarados com tampa. Logo após, os cadinhos foram armazenados em dessecador com vácuo e após seu resfriamento foram pesados em balança analítica. Foram transferidas para os cadinhos, 0,5 g das amostras de biomassa, as quais permaneceram na mufla a 575°C por 24h. O teor de cinzas foi calculado segundo a equação 1:

$$\%Cinzas = \frac{MC*100}{MA} \quad (1)$$

Em que:

MC: massa de cinzas (g);

MA: massa da amostra seca (g).

4.3 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE HIDRÓLISE ÁCIDA DILUÍDA DA MISTURA DE BAGAÇO E PALHA DE CANA

Baseado em condições já empregadas para a mistura do bagaço e palha de cana (1:1) (m/m), 20 minutos, 121 °C, 1% (m/v) de H₂SO₄ e relação matéria seca:solução ácida 1:10 (m/v) (Hernández-Pérez, 2019) e na condição de hidrólise, 10 minutos, 3% (m/v) de H₂SO₄ e relação matéria seca:solução ácida 1:4,17 (m/v) também para mistura e bagaço de cana (1:1) (m/m) (dados não publicados), um planejamento fatorial 2⁴ com triplicata no ponto central e experimentos estrela rotacional foi proposto na presente pesquisa. As variáveis de estudo, concentração de ácido sulfúrico, relação matéria seca:solução ácida,

tempo de reação, temperatura e seus níveis se encontram na Tabela 3. A variável de resposta concentração de xilose no hidrolisado hemicelulósico e/ou os teores de tóxicos presentes foi analisada.

Tabela 3. Níveis das variáveis independentes do planejamento fatorial 2^4 associado aos experimentos estrela rotacional para otimização das condições de hidrólise ácida diluída da mistura do bagaço e palha de cana.

Variáveis independentes	Símbolos	Níveis				
		-2	-1	0	+1	+2
Tempo de reação (min)	X_1	5	10	15	20	25
Temperatura (°C)	X_2	105	120	135	150	165
Concentração de ácido sulfúrico (%m/v)	X_3	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
Relação matéria seca:solução ácida (m/v)	X_4	0,09	0,13	0,17	0,21	0,25

As condições de hidrólise de acordo com o planejamento experimental (Tabela 3) foram realizadas em autoclave (AU/E-20) da empresa REGIMED, com 4 reservatórios de capacidade total de 1 L cada (Figura 5). Inicialmente, a biomassa e a solução ácida aquosa foram adicionadas aos reservatórios da autoclave. A contagem do tempo de residência foi iniciada quando a temperatura atingiu o valor programado. Após o tempo de reação, a hidrólise foi interrompida pela imersão dos reservatórios em um banho com água fria, assim parando a reação. A fração líquida, correspondente ao hidrolisado hemicelulósico, foi separada do resíduo sólido (celulignina) por filtração, e mantida em câmara fria (4 °C) até sua caracterização.



Figura 5. Fotografia da Autoclave (AU/E-20).

4.4 MÉTODOS ANALÍTICOS

4.4.1 Análises das concentrações de açúcares e compostos tóxicos

A determinação da concentração de xilitol, dos açúcares (glicose, xilose, arabinose) bem como de subproduto (ácido acético) foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (Arruda, 2011). As amostras foram previamente diluídas e filtradas em “Sep Pak” C18. A coluna utilizada: Bio Rad (Hércules, CA) Aminex HPX-87H, com H_2SO_4 0,01 N como eluente, a $45^\circ C$, a um fluxo de 0,06 mL/min em um cromatógrafo Agilent 1200 (Kyoto, Japão) e tempo de análise 25 min. No caso do 5-hidroximetilfurfural e furfural foram utilizadas as mesmas condições, no entanto com tempo de reação de 60 min.

Para os compostos fenólicos, foi empregada metodologia conforme Arruda (2011). Cada amostra foi diluída na proporção 1:1000 com água deionizada e adicionada a esta uma solução de NaOH (6N) até as amostras alcançarem pH 12. A análise foi feita em espectrofotômetro com luz UV (Beckman Coulter DU 800, EUA) com comprimento de onda de 280nm e seu cálculo baseado nas equações 2 e 3.

$$CF = \left(4,187 \times 10^{-2} \times (A_{t280} - A_{pd280}) \right) - 3,279 \times 10^{-4} \quad (2)$$

$$A_{pd280} = (C_{fur} \times \epsilon_{fur}) + (C_{HMF} \times \epsilon_{HMF}) \quad (3)$$

Em que CF corresponde à concentração de compostos fenólicos totais (g/L). A_{t280} corresponde à absorvância da amostra, e A_{pd280} à absorvância dos produtos resultantes da degradação dos açúcares (Furfural e 5-Hidroximetilfurfural). O valor de A_{pd280} é obtido a partir da Equação 2, na qual C_{Fur} e C_{HMF} correspondem à concentração de furfural e 5-HMF (g/L), respectivamente, determinada por cromatografia líquida, e ϵ_{Fur} e ϵ_{HMF} são as absorvâncias destes compostos (146,85 e 114,00 L g⁻¹cm⁻¹, respectivamente).

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos resultados apresentados nos experimentos foi feita utilizando o software STATISTICA 7.0. Foi considerado um nível de significância de 90% ($p < 0,1$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA MISTURA DE BAGAÇO E PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR

A partir da metodologia empregada para a caracterização da mistura de bagaço e palha de cana (1:1) (m/m) (Figura 6) foram encontradas as características desta biomassa, no qual o conteúdo de celulose, hemicelulose, lignina, cinzas e extrativos é mostrado na Tabela 4.

Tabela 4. Composição química da mistura de bagaço e palha de cana-de-açúcar.

Caracterização química da mistura de bagaço e palha de cana <i>in natura</i> (g/100g)					
Componentes					
Celulose	Hemicelulose	Lignina Total	Cinzas	Extrativos	Total
34,4±0,8	22,9±0,2	22,0±0,2	3,5±0,2	9,3±1,6	92,2±1,7
	<i>Xilana</i> 18,6±0,4				
	<i>Arabinose</i> 2,0±0,1				
	<i>Acetil</i> 2,3±0,1				



Figura 6. Bagaço, palha e mistura do bagaço e palha de cana-de-açúcar (1:1) (m/m) *in natura*.

Nota-se para as frações constituídas de carboidratos que a celulose é o polímero principal presente na mistura de bagaço e palha de cana, seguido da hemicelulose, conforme mencionado em literaturas a respeito de paredes celulares vegetais (Fengel e Wegener, 1989).

A celulose corresponde a 60,0% do conteúdo de carboidratos totais, esta fração é muito importante para a produção de biocombustíveis, como por exemplo o bioetanol de segunda geração (Alokika et al., 2021). Já a fração hemicelulósica dessa mistura corresponde a 40,0% do conteúdo de carboidratos do material, sendo que 81,2% desta fração é composta por xilana, e assim corresponde a 32,5% dos carboidratos totais. Assim, pode-se dizer que este material apresenta características de composição química que favorecem o seu uso para a produção de xilitol, uma vez que para isto é importante um material rico em xilana um biopolímero abundante em paredes vegetais (Rennie e Scheller, 2014). As fontes mais potenciais de xilana incluem muitas culturas agrícolas como por exemplo, a cana-de-açúcar (Ebringerová e Heinze, 2000).

A partir de outros estudos individuais com os subprodutos provenientes da cana-de-açúcar, bagaço e a palha, bem como da mistura destes é possível fazer uma comparação da constituição destas biomassas vegetais de acordo com a Tabela 5.

Tabela 5. Comparação da composição química da mistura de bagaço e palha de cana-de-açúcar com outros estudos que utilizaram de bagaço, palha e mistura destas biomassas. **N.D**= Não determinado; **B+P** = Mistura de bagaço e palha de cana.

Material	Componente g/100g					Referências
	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Cinzas	Extrativos	
B+P (1:1) (m/m)	34,4	22,9	22,0	3,5	9,3	Presente trabalho
B+P (1:1)	41,9	30,2	23,7	3,5	2,9	Ávila et al., 2018
B+P (1:1)	35,9	29,5	19,8	10,4	5,7	Hernández-Pérez, 2019
Bagaço de cana	43,1	28,6	20,8	2,9	4,6	Arruda, 2011
Bagaço de cana	35,2	24,5	22,2	20,9	N.D	Rezende et al., 2011
Palha de cana	31,7	27,0	31,1	1,5	N.D	(Hernández-Pérez et al., 2016)

Ao se comparar os resultados obtidos no presente trabalho com os da literatura (Tabela 5), nota-se certa proximidade em alguns valores, mas também pequenas diferenças em relação a alguns trabalhos. Ao que se refere ao conteúdo de hemicelulose da mistura de bagaço e palha de cana do presente trabalho ($22,9 \pm 0,2$ g/100g) este quando comparado aos

da tabela 5, nota-se que este valor está próximo aos valores que normalmente é encontrado para este tipo de biomassa. Já no que se diz respeito a fração de celulose, esta correspondeu a 60,0% do conteúdo de carboidratos da mistura de bagaço e palha do presente trabalho, e o valor encontrado ($34,4 \pm 0,8$ g/100g) foi intermediário aos valores reportados (Tabela 5), no entanto, similar ao trabalho de Hernández-Pérez (2019) na mistura de bagaço e palha de cana, e ao trabalho de Rezende et al. (2011) no bagaço de cana.

Os componentes não carboidratos da mistura de bagaço e palha de cana, lignina, cinzas e extrativos também foram comparados. Nota-se nesta Tabela 5 que Ávila et al. (2018) em pesquisa também com mistura de bagaço e palha, encontraram valores similares para lignina e cinzas, no entanto, valores superiores para cinzas foram relatados nos trabalhos de Hernández-Pérez (2019) com mistura de bagaço e palha de cana e Rezende et al. (2011) para bagaço de cana. No caso da pesquisa de Rezende et al. (2011) uma quantidade alta de cinzas foi encontrada (20,9 g/100g), o que equivale a quase 6 vezes mais do valor encontrado para cinzas no presente estudo. Ainda estes autores afirmam que a quantidade de cinzas encontrada no bagaço no seu estudo é superior quando comparada a resultados encontrados na literatura para outras amostras de bagaço, e explicam que o alto valor encontrado nas amostras podem ser devido a estas terem sido analisadas conforme recebidas da usina, sem lavagem prévia, assim podendo conter poeira, solo e outros detritos acumulados durante a colheita, transporte e armazenamento após a extração do suco na usina.

De acordo com Ávila et al. (2018), o teor de cinzas na cana-de-açúcar pode estar associado aos sais e compostos inorgânicos presente nela, como também pode ainda está associado à contaminação inorgânica do solo e contaminação por metais devido ao desgaste de britadores industriais, como ferro e titânio, porém a lavagem prévia do material antes da determinação de cinzas pode remover a maior parte da sílica presente na superfície das folhas.

Quanto aos de extrativos para a mistura de bagaço e palha de cana do presente trabalho, observa-se na Tabela 5 que os valores encontrados na literatura são inferiores. A diferença encontrada de extrativos depende de espécie para espécie, no entanto podem ser encontrados valores diferentes para a mesma espécie e essas diferenças dependem do método de extração utilizado no material (Rowell et al., 2012).

A variação da composição química do conteúdo de carboidrato e não carboidrato de um mesmo tipo de material depende de diversos fatores, como genética da planta, ambiente de crescimento e condições de processamento, bem como os métodos

empregados para a análise da composição química (Canilha et al., 2012). Ainda estes autores afirmam que na palha de cana, essa variação pode estar ligada a fatores como sistema de colheita, altura, variedade da cana, idade da colheita, clima e solo.

5.2 AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE HIDRÓLISE ÁCIDA DILUÍDA DA MISTURA DE BAGAÇO E PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR EMPREGANDO PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS

Os resultados referentes a composição do hidrolisado hemicelulósico da mistura de bagaço e palha de cana-de-açúcar (1:1) (m/m) submetida ao processo de hidrólise ácida diluída com ácido sulfúrico seguindo o planejamento fatorial 2^4 com triplicata no ponto central e experimentos estrela rotacional (item 4.3) encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6. Matriz do planejamento de experimentos com variáveis independentes (tempo, temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido) e variáveis respostas de cada ensaio (xilose, glicose, arabinose, ácido acético, furfural, 5HMF e fenol) e pH final do hidrolisado. **Temp.**= Temperatura; **Conc.**= Concentração; **S:L**= Sólido/Líquido; **Xil**= Xilose; **Gli**= Glicose; **Ara**= Arabinose; **Á.A**= Ácido Acético; **Furf**= Furfural; **5HMF**= 5-hidroximetilfurfural; **Fen**= Fenol.

Matriz de Planejamento dos Experimentos												
Nº Ensaio	Fatores				Variáveis Resposta (g/L)							
	Tempo (min)	Temp. (°C)	Conc. ácido %	Relação S:L (m/v)	Xil	Gli	Ara	Á.A	Furf	5-HMF	Fen	pH
1	10	120	1,5	0,13	10,76	1,59	2,48	1,95	0,002	0,018	3,50	0,94
2	20	120	1,5	0,13	10,67	2,27	3,17	2,28	0,001	0,014	6,20	0,61
3	10	150	1,5	0,13	14,55	4,27	3,87	4,15	0,079	0,048	26,34	0,94
4	20	150	1,5	0,13	14,33	4,16	2,83	4,01	0,093	0,048	33,89	0,87
5	10	120	2,5	0,13	22,06	2,91	3,39	3,77	0,008	0,022	7,29	0,54
6	20	120	2,5	0,13	24,68	4,28	4,85	4,73	0,009	0,045	8,43	0,38
7	10	150	2,5	0,13	20,23	5,08	3,92	4,99	0,142	0,045	35,86	0,56
8	20	150	2,5	0,13	12,19	4,73	3,07	5,23	0,085	0,030	46,27	0,67
9	10	120	1,5	0,21	17,07	3,11	4,92	3,61	0,001	0,023	4,13	0,92
10	20	120	1,5	0,21	28,77	3,21	4,76	4,72	0,004	0,043	6,08	0,58
11	10	150	1,5	0,21	32,85	6,97	6,93	6,56	0,072	0,055	24,55	0,92
12	20	150	1,5	0,21	25,58	5,19	5,23	5,23	0,020	0,074	14,97	1,03
13	10	120	2,5	0,21	39,52	4,33	5,77	6,36	0,007	0,041	7,74	0,63
14	20	120	2,5	0,21	41,23	4,56	5,93	6,75	0,007	0,045	7,58	0,38
15	10	150	2,5	0,21	48,32	9,60	7,95	7,99	0,061	0,081	16,14	0,63

continua

conclusão

16	20	150	2,5	0,21	32,06	7,39	5,87	7,66	0,265	0,091	47,17	0,68
17	5	135	2	0,17	30,28	4,18	5,04	4,50	0,006	0,000	3,10	0,30
18	25	135	2	0,17	42,18	7,68	7,04	7,34	0,039	0,045	11,17	0,39
19	15	105	2	0,17	2,02	2,17	2,95	2,08	0,002	0,033	2,19	0,21
20	15	165	2	0,17	5,36	4,44	1,51	8,32	0,521	0,213	65,28	0,78
21	15	135	1	0,17	33,13	2,94	3,52	3,15	0,014	0,050	6,51	1,11
22	15	135	3	0,17	41,72	6,68	5,32	6,46	0,047	0,057	13,47	0,66
23	15	135	2	0,09	18,43	3,20	2,73	2,77	0,018	0,026	10,34	0,74
24	15	135	2	0,25	64,20	9,61	9,95	9,38	0,022	0,027	11,57	0,33
25	15	135	2	0,17	43,66	7,80	6,69	6,82	0,010	0,037	11,40	0,22
26	15	135	2	0,17	33,55	5,65	4,92	5,96	0,024	0,050	10,52	0,82
27	15	135	2	0,17	38,78	3,85	4,20	4,43	0,022	0,052	11,53	0,85

Conforme apresentado na Tabela 6, observa-se que os máximos valores para xilose (64,20 g/L), glicose (9,61 g/L), arabinose (9,95 g/L) e ácido acético (9,38 g/L) foram obtidos nas condições do ensaio N° 24, no qual o tempo era 15 minutos, temperatura 135 °C, concentração de ácido 2% (m/v) e relação sólido:líquido de 0,25 (m/v).

Já os mínimos valores encontrados para xilose (2,02 g/L) (ensaio N° 19), glicose (1,59 g/L) (ensaio N° 1), arabinose (1,51 g/L) (ensaio N° 20) e ácido acético (1,95 g/L) (ensaio N° 1), foram obtidos nos ensaios onde o tempo, temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido variaram de 10 a 15 minutos, 105 a 165 °C, 1,5 a 2% (m/v) e 0,13 a 0,17 (m/v) respectivamente.

Em relação a concentração dos compostos furfural, 5-HMF e fenol, os máximos valores encontrados foram de 0,521 g/L, 0,213 g/L e 65,28 g/L respectivamente no ensaio N° 20, onde a temperatura foi de 165 °C. Além disso, é possível observar que os menores valores em conjunto encontrados para as concentrações de furfural, 5-HMF e fenol foram encontradas nos ensaios de N° 17, em que as condições de temperatura era de 135°C, concentração de ácido de 2% (m/v) e relação sólido:líquido de 0,17 (m/v), no entanto o tempo utilizado foi o menor, apenas de 5 minutos. Já no ensaio N°19, as condições utilizadas se mantiveram as mesmas do ensaio N° 17, com exceção do tempo que foi de 15 minutos e a temperatura 105°C, assim sugerindo que o aumento da temperatura e o tempo que a temperatura permanece influenciam na concentração desses compostos no hidrolisado.

O resultado para valores de xilose na Tabela 6 dos ensaios 3 ao 7, 9 ao 13, 16, 17, 21, 23, 26 e 27 são superiores ao encontrado por Hernández-Pérez (2019) que também utilizou de mistura de bagaço e palha de cana (1:1) (m/m) e obteve 13,18 g/L de xilose quando utilizou condições de temperatura e concentração de ácido, 121 °C, 1% (m/v) de H₂SO₄, para o tempo de 20 minutos e relação sólido:líquido 1:10 (m/v).

Observa-se ainda que os resultados obtidos no ensaio 14, 15, 18, 22 e 25 são semelhantes em relação aos obtidos por Hernández-Pérez et al. (2020) que também utilizou da mistura de bagaço de palha de cana e obteve valores para xilose de 42,90, 47,63, 45,10, 47,58 g/L, entretanto, neste caso estes autores utilizaram de condições operacionais diferentes, as quais foram 121 °C, 1% (m/v) de H₂SO₄, para o tempo de 20 minutos e relação sólido:líquido 1:10 (m/v), tendo concentrado o hidrolisado à vácuo a 70 °C e suplementado com caldo de cana em concentrações de 0, 0,87, 2,50 e 3,33 (%v/v) respectivamente.

O ensaio N° 24 obteve concentração de xilose (64,20 g/L) superior da Hernández-Pérez (2020) (47,63 g/L), no entanto utilizando de condições mais altas de temperatura (135 °C), concentração de ácido (2% m/v) e relação sólido:líquido 0:25 (m/v). Desta forma pode ser sugerido que pode haver a possibilidade de eliminar a etapa de concentração à vácuo do processo de produção biotecnológica de xilitol da mistura de bagaço e palha de cana, além disso os resultados obtidos até o momento sugerem que houve um melhoramento nas condições de hidrólise ácido diluída em relação a concentração de açúcares no hidrolisado, em particular a xilose quando comparado a hidrólise dos autores acima. Para tanto, análises estatísticas foram realizadas para confirmar os dados, e estes encontram-se no item 5.3

5.3 ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) E SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA O MODELO DE CONCENTRAÇÃO DE AÇÚCARES EM FUNÇÃO DAS VARIÁVEIS ESTUDADAS

5.3.1 Xilose

Os resultados obtidos nas diferentes condições de hidrólise empregadas para a mistura de bagaço e palha de cana (1:1) (m/m) foram submetidos à análise de variância – ANOVA (Tabela 7), para um modelo quadrático (Equação 4), o qual foi composto para a variável resposta xilose em função das variáveis tempo, temperatura, concentração de

ácido e relação sólido:líquido. Pela análise da significância dos coeficientes do modelo, pode-se observar que os fatores C (concentração de ácido) e D (relação sólido:líquido) têm influência significativa sobre a concentração de xilose no hidrolisado hemicelulósico, a um nível de confiança de 90%.

Tabela 7. Análise de variância para um modelo quadrático composto para a concentração de xilose no hidrolisado em função do tempo, temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido. **A**= tempo; **B**= temperatura; **C**= concentração de ácido; **D**= Relação sólido:líquido. *Significativo ao nível de confiança de 90%.

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	Valor F	p-valor
Modelo	4919,96	6	819,99	23,81	< 0,0001*
A	2,63	1	2,63	0,076	0,7850*
B	6,03	1	6,03	0,18	0,6801*
C	441,10	1	441,10	12,81	0,0019*
D	2155,94	1	2155,94	62,59	<0,0001*
AB	142,38	1	142,38	4,13	0,0555*
B ²	2171,88	1	2171,88	63,05	<0,0001*
Resíduo	688,92	20	34,45		
Falta de ajuste	637,79	18	35,43	1,39	0,5004
Erro puro	51,13	2	25,56		
Total	5608,88	26			

R² = 0,8772

A análise de variância demonstrou que o modelo ajustado foi significativo ($p < 0,01$), sem falta de ajuste significativa ($> 0,50$). Seu valor de R^2 foi de 0,8772, indicando que o modelo pode explicar 87,72% de variabilidade da resposta (concentração de xilose no hidrolisado hemicelulósico). Assim, o modelo foi considerado adequado e é apresentado na Equação 4.

$$Xilose = 35,73 + 0,33A + 0,50B + 4,29C + 9,48D - 2,98AB - 9,02(B^2) \quad (4)$$

Em que:

A: Tempo

B: Temperatura

C: Concentração de ácido

D: Relação sólido:líquido

Com a equação do modelo, foi possível traçar as superfícies de resposta da Figura 7 pontos máximos, as quais possibilitam melhor a visualização dos efeitos das variáveis estudadas.

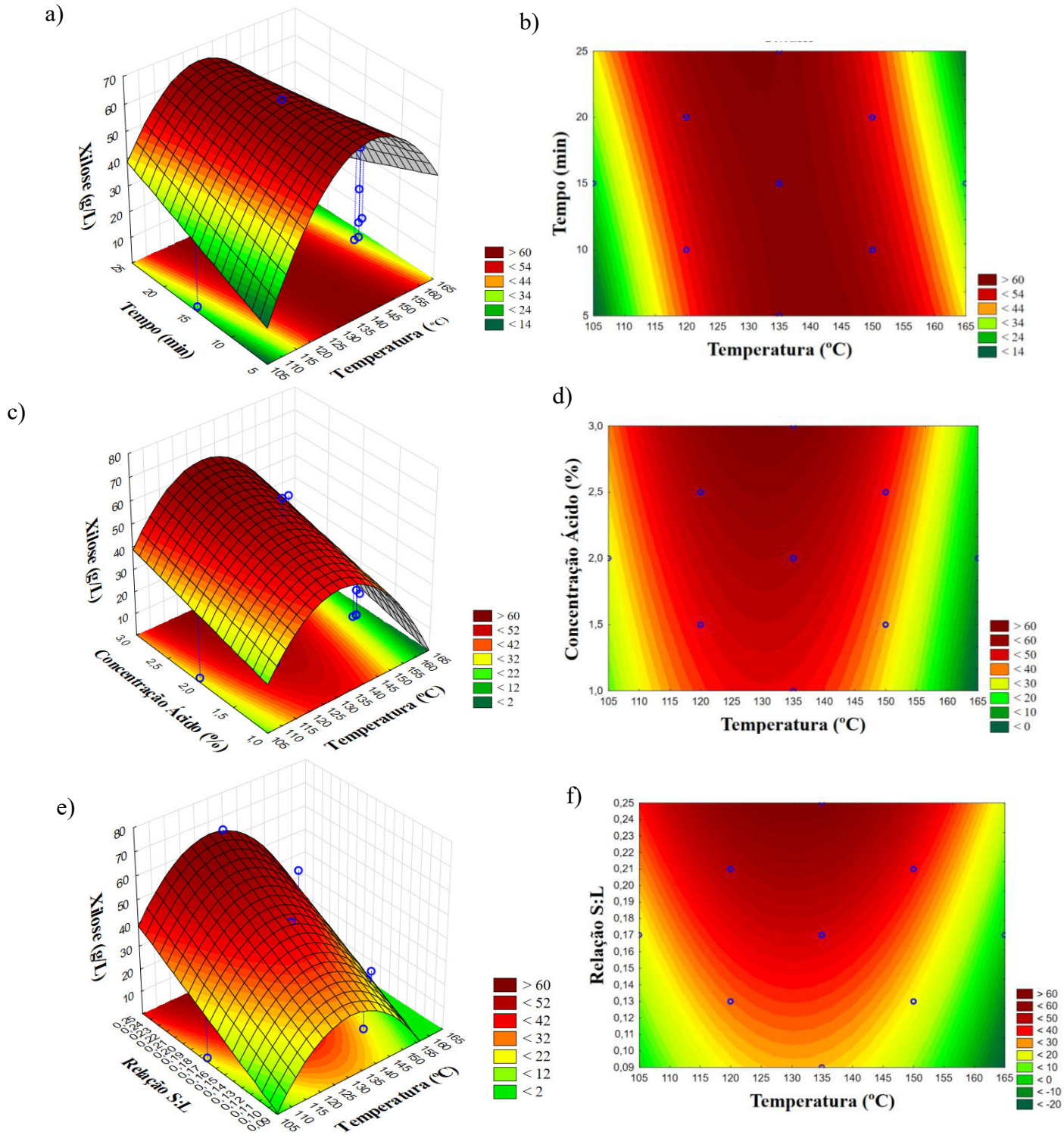


Figura 7. Superfície de resposta (a, c, e) e curvas de nível (b, d, f) para variável de resposta xilose em função de: (a) tempo e temperatura; (c) concentração de ácido e temperatura; (f) relação sólido:líquido e temperatura nos pontos máximos.

Desta forma, pode-se observar na Figura 7, que a concentração de xilose foi máxima (aproximadamente 70 g/L) em valores intermediários a altos de temperatura, destacando-se a temperatura de 135 °C, considerando a faixa de valores estudada, no entanto a Figura 7 sugere que após uma determinada faixa de temperatura (aproximadamente 150 °C), a concentração de xilose começa a decair. Este comportamento pode ser explicado, devido à alta temperatura influenciar significativamente a degradação da xilose em furfural (Redding et al., 2011).

Na Figura 7a,b é possível observar que a variável tempo não teve grande influência na concentração de xilose, pois no tempo entre 5 a 20 minutos a concentração de xilose se manteve quase a mesma, mudando apenas com o aumento da temperatura. Tanto a concentração de ácido (Figura 7c,d) como a relação de sólido:líquido (Figura 7e,f) teve um comportamento linear na concentração de xilose, indicando que quanto maior a concentração de ácido bem como a relação sólido:líquido, maior a concentração de xilose no hidrolisado até uma determinada faixa de temperatura.

No entanto na Figura 7c,d ainda é importante ressaltar que usando uma concentração de ácido baixa aumentando a temperatura até aproximadamente 150°C, foi possível obter concentrações altas de xilose, no entanto passando-se desta temperatura observou-se a diminuição da mesma. Segundo Zhang et al. (2022), temperaturas mais altas aceleram tanto a taxa de hidrólise de celulose/hemicelulose em glicose/xilose quanto a taxa de degradação de glicose/xilose em HMF/furfural. Em estudo realizado por Dionísio et al. (2021) utilizando hidrólise ácida diluída no bagaço de cana-de-açúcar nas condições de 140°C em um reator de liga de aço de capacidade de 350L, razão sólido de 9% (m/m) e concentração de ácido de 0,5% (v/v) por 15 minutos, obteve-se 25,14 (g/L) de xilose, um valor inferior ao encontrado no presente estudo que apesar da utilização de 1,0% de ácido, com temperaturas de 140°C foi possível obter concentrações de xilose de aproximadamente 40 (g/L).

5.3.2 Glicose

A Tabela 8 mostra o modelo quadrático (Equação 5) para a variável resposta glicose em função das variáveis temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido. Para a composição deste modelo, o coeficiente tempo foi excluído da equação devido à baixa significância.

Tabela 8. Análise de variância para um modelo quadrático composto para a concentração de glicose no hidrolisado em função da temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido. **B=** temperatura; **C=** concentração de ácido; **D=** Relação sólido:líquido. *Significativo ao nível de confiança de 90%.

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	Valor F	p-valor
Modelo	86,84	4	21,71	14,21	< 0,0001*
B	27,46	1	27,46	17,97	0,0003*
C	15,99	1	15,99	10,47	0,0038*
D	32,41	1	32,41	21,21	0,0001*
B ²	10,98	1	10,98	7,19	0,0137*
Resíduo	33,61	22	1,53		
Falta de ajuste	25,79	20	1,29	0,33	0,9223
Erro puro	7,82	2	3,91		
Total	120,45	26			
R² = 0,7209					

O modelo proposto foi significativo ($p < 0,01$), com falta de ajuste não significativo ($p > 0,10$). Seu valor de R^2 foi de 0,7209, indicando que este modelo explica 72,09% de variabilidade da resposta (concentração de glicose no hidrolisado). O modelo é apresentado na Equação 5.

$$Glicose = 5,45 + 1,07B + 0,82C + 1,16D - 0,64(B^2) \quad (5)$$

Em que:

B: Temperatura

C: Concentração de ácido

D: Relação sólido:líquido

A partir da equação do modelo, as superfícies de respostas (Figura 8) foram traçadas com os pontos máximos.

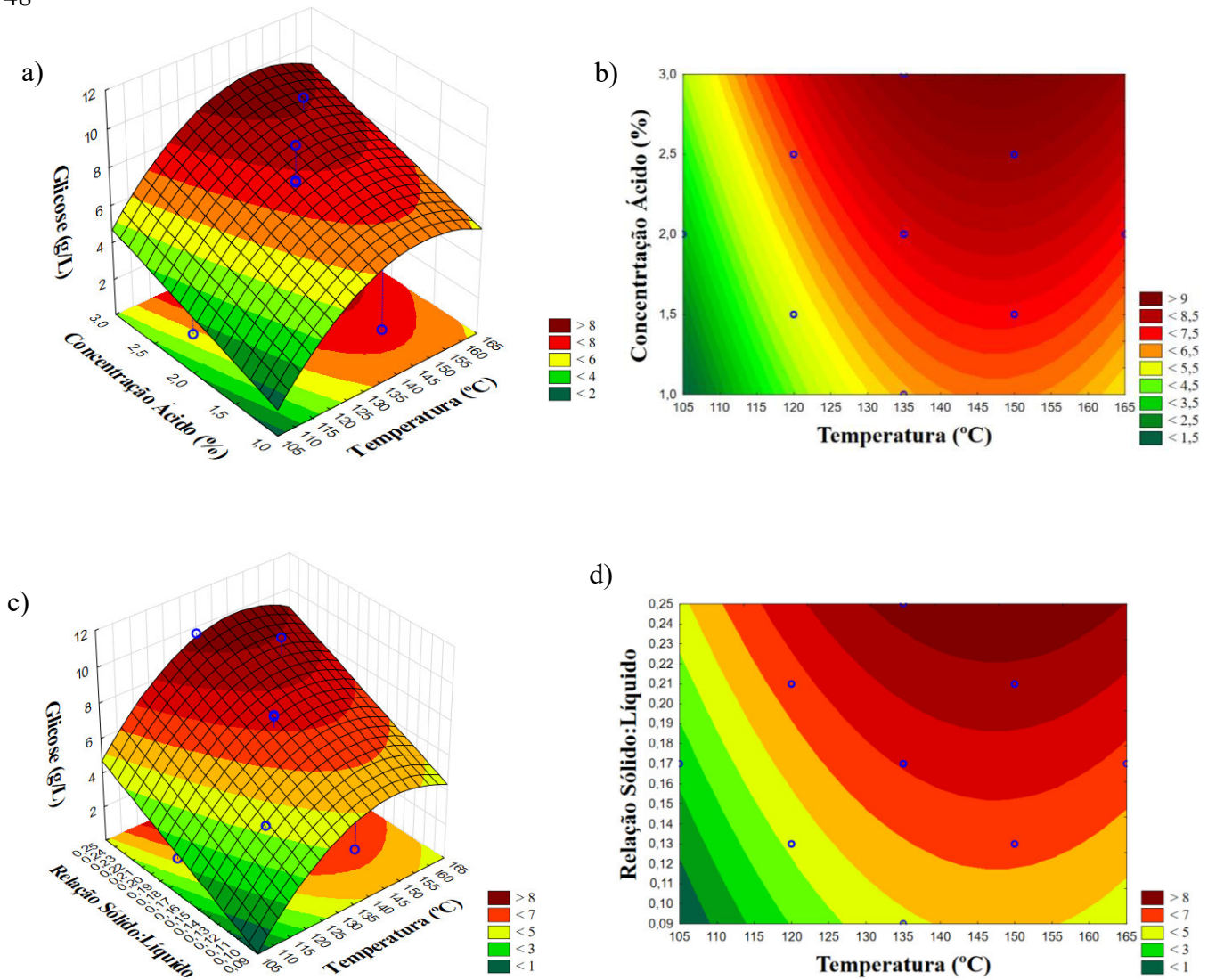


Figura 8. Superfície de resposta (a, c) e curvas de nível (b, d) para variável de resposta glicose em função de: (a) concentração de ácido e temperatura; (c) relação sólido:líquido e temperatura nos pontos máximos.

Para a concentração de glicose, a temperatura também teve grande influência, em que temperaturas acima de 120°C obteve-se valores de glicose acima de 9 g/L. No entanto não foi possível estabelecer uma temperatura máxima, pois até a faixa estudada, mostra que a temperatura de 165 °C ainda continha grandes concentrações de glicose, porém pode-se observar uma tendência na diminuição de glicose. Carvalho et al. (2004) submeteu o bagaço de cana nas condições de hidrólise de 121°C por 10 min, usando 100 mg de ácido sulfúrico/g de bagaço (peso seco) em uma relação sólido:líquido de 1:10 (m/v) que proporcionou um hidrolisado com alta concentração de xilose (22,2 g/l), porém baixa concentração de glicose (1,4 g/L).

Em relação a concentração de ácido e relação sólido:líquido, o comportamento é linear, em que aumentando a concentração de ambos, a concentração de glicose aumenta a

partir de temperatura de 115°C. Contudo, analisando a Figura 8 a,b e comparando-a com a Figura 7 c,d, pode-se observar que o ácido libera muito mais xilose do que glicose e este fato pode ser explicado pela fração hemicelulose ser muito mais susceptível ao ataque ácido (Ogata, 2013).

5.3.3 Arabinose

Para a variável resposta arabinose, os resultados foram submetidos a ANOVA (Tabela 9), para um modelo quadrático (Equação 6) em função das variáveis tempo, temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido. O fator que teve maior influência foi B² (temperatura) a um nível de confiança de 90%.

Tabela 9. Análise de variância para um modelo quadrático composto para a concentração de arabinose no hidrolisado em função do tempo, temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido. **A**= tempo; **B**= temperatura; **C**= concentração de ácido; **D**= Relação relação sólido:líquido. *Significativo ao nível de confiança de 90%.

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	Valor F	p-valor
Modelo	77,56	7	11,08	23,81	< 0,0001*
A	0,009	1	0,009	0,076	0,9133*
B	0,096	1	0,096	0,18	0,7305*
C	4,30	1	4,30	12,81	0,0306*
D	48,79	1	48,79	62,59	<0,0001*
AB	3,82	1	3,82	4,13	0,0402*
B ²	19,88	1	19,88		<0,0001*
C ²	2,85	1	2,85	63,05	0,0725
Resíduo	14,97	19	0,79		
Falta de ajuste	11,69	17	0,69	0,42	0,8782
Erro puro	3,28	2	1,64		
Total	92,53	26			
R² = 0,8382					

ANOVA demonstrou que o modelo ajustado foi significativo ($p < 0,01$), sem falta de ajuste significativa ($> 0,8782$). O valor de R² foi de 0,8382, indicando que o modelo pode

explicar 83,82% de variabilidade da resposta (concentração de arabinose no hidrolisado hemicelulósico). O modelo foi considerado adequado e é apresentado na Equação 6.

$$\text{Arabinose} = 5,85 + 0,020A + 0,063B + 0,42C + 1,43D - 0,49AB - 0,88(B^2) - 0,33(C^2) \quad (6)$$

Em que:

A: Tempo

B: Temperatura

C: Concentração de ácido

D: Relação sólido:líquido

As superfícies de respostas (Figura 9) mostram que novamente a temperatura foi o fator que mais contribui para a concentração de açúcares no hidrolisado, neste caso da arabinose.

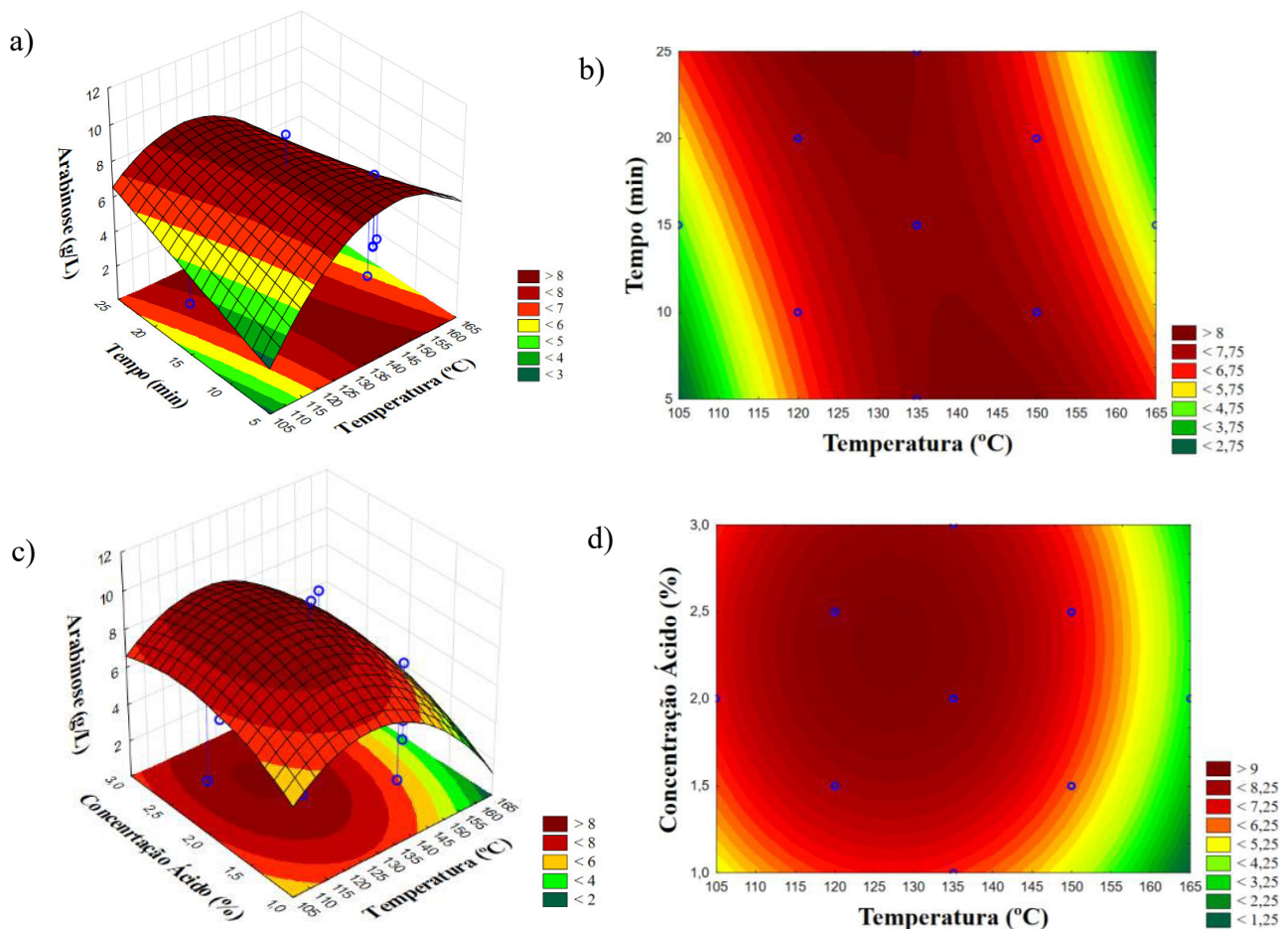


Figura 9. Superfície de resposta (a, c) e curvas de nível (b, d) para variável de resposta arabinose em função de: (a) tempo e temperatura; (c) relação concentração de ácido e temperatura nos pontos máximos.

Em relação ao tempo (Figura 9 a,b) nota-se que este não influenciou muito. Em temperaturas intermediárias o tempo influencia pouco, e em temperatura muito alta e maior quantidade de tempo começaram a degradar a arabinose. Na Figura 9 c,d observa-se que na menor concentração de ácido em temperaturas de 105°C, influenciou nos valores de arabinose no hidrolisado. No entanto quando passava de temperaturas a partir de 145°C já havia a degradação de arabinose.

A concentração de arabinose encontrada neste trabalho (9,95 g/L) foi inferior à obtida por Jofre et al. (2021), 12,2 g/L, porém usando de condições de hidrólise concentração de ácido 1 % (m/v) H₂SO₄, relação sólido:líquido 1:10 (m/v), 120 °C por 20 min, ainda estes autores utilizaram de concentração a vácuo, enquanto no presente trabalho as condições utilizadas foram as do ensaio N° 24 apenas.

5.3.4 Ácido Acético

Os resultados da variável resposta ácido acético foram submetidos a ANOVA (Tabela 10) para um modelo quadrático (Equação 7), em função das variáveis temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido. Nota-se que no modelo, apenas estão presentes os fatores lineares e que o fator relação sólido:líquido foi o de maior significância para o modelo ($p < 0,01$).

Tabela 10. Análise de variância para um modelo quadrático composto para a concentração de arabinose no hidrolisado em função do tempo, temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido. **B=** temperatura; **C=** concentração de ácido; **D=** Relação sólido:líquido. *Significativo ao nível de confiança de 90%.

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática	Valor F	p-valor
Modelo	83,70	3	27,20	32,26	< 0,0001*
B	24,26	1	24,26	28,05	0,7305*
C	19,42	1	19,42	22,46	0,0306*
D	40,02	1	40,02	46,27	<0,0001*
Resíduo	19,89	23	0,86		
Falta de ajuste	16,96	21	0,81	0,55	0,8125
Erro puro	2,93	2	1,47		
Total	103,59	26			

$R^2 = 0,8080$

O modelo ajustado foi considerado significativo ($p < 0,01$), sem falta de ajuste significativa ($> 0,8125$). O seu valor de R^2 foi de 0,8080, indicando que este modelo pode explicar 87,72% de variabilidade da resposta (concentração de ácido acético no hidrolisado hemicelulósico). Assim, o modelo foi considerado adequado e é apresentado na Equação 7.

$$\text{Ácido acético} = 5,23 + 1,01B + 0,90C + 1,29D \quad (7)$$

Em que:

B: Temperatura

C: Concentração de ácido

D: Relação sólido:líquido

Para este modelo não foi necessário traçar as superfícies de repostas, uma vez que este modelo se apresentou de forma linear. A Figura 10 apresenta o gráfico Pareto, cuja as barras representam os efeitos padronizados à variável resposta ácido acético.

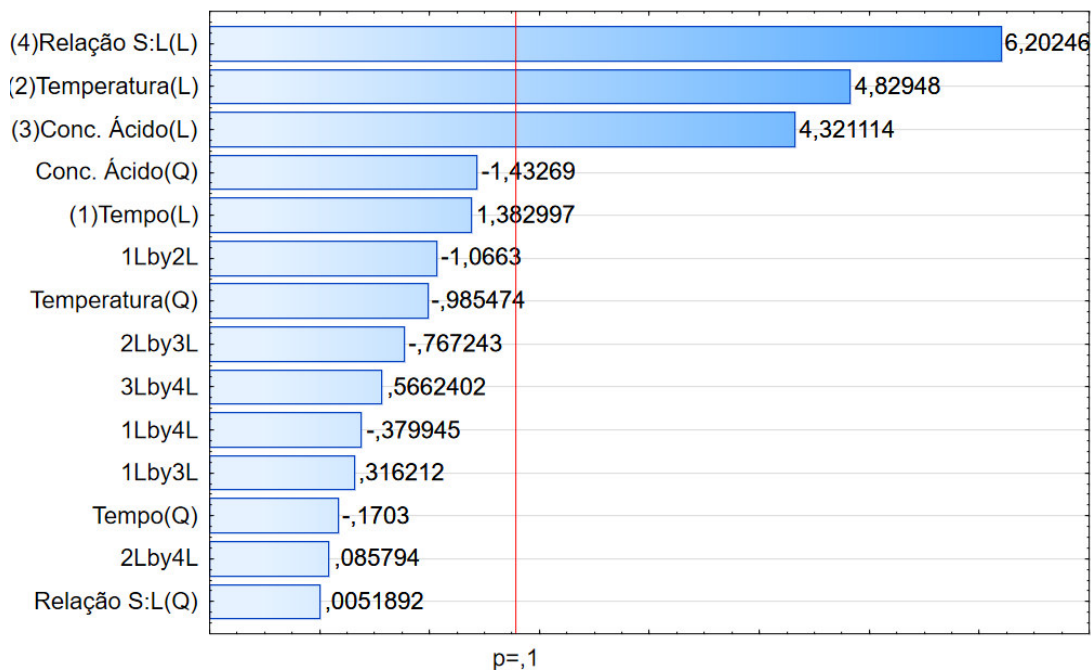


Figura 10. Gráfico de Pareto para o efeito das variáveis (linear e quadrático), na variável resposta ácido acético.

Na Figura 10, os efeitos dos fatores 4 (L) (Relação sólido:líquido), 2(L) (temperatura) e 3 (L) (concentração de ácido), foram considerados estatisticamente significativos no nível de confiança de 90%, pois as barras ultrapassaram a linha vertical $p=0,1$. Com a análise dos gráficos pareto, nota-se que a variável 2 (L), 3 (L) e 4 (L) apresentaram um efeito linear com sinal positivo na concentração de ácido acético, indicando que quanto maior o índice desses fatores, maior a concentração de ácido acético no hidrolisado.

Em estudo realizado por Hernández-Perez et al. (2016) para a palha de cana submetida à hidrólise ácida diluída com apenas 1,0% (m/v) de H_2SO_4 a 121 °C por 20 minutos na razão sólido/líquido de 1:10, obteve valor para ácido acético de 2,23 g/L. Já Aguilar et al. (2002) também para hidrólise ácida diluída, porém do bagaço de cana, mantendo a mesma relação sólido líquido 1:10, no entanto aumentando a concentração de ácido para 6% (m/v) de H_2SO_4 , temperatura para 122 °C durante tempo de reação de 40 minutos, obteve concentração de ácido acético ainda maior de 5,1 g/L, mostrando assim que com o aumento dessas variáveis há o aumento da concentração de ácido acético.

5.3.5 Compostos Furfural, 5-HMF e Fenólicos

Com relação aos compostos furfural e 5-HMF, a Figura 11 a,b mostra que os efeitos dos fatores 2 (L) e 2(Q) foram considerados estatisticamente significativos no nível de confiança de 90%, pois as barras ultrapassaram a linha vertical $p=0,1$. Analisando os gráficos nota-se que tanto o fator 2 (L) que se apresentou um efeito linear quanto 2 (Q) que apresentou um efeito quadrático, teve influência positiva, indicando que quanto maior a temperatura maior a concentração destes compostos no hidrolisado hemicelulósico. No trabalho de Kang et al. (2021), observou-se que apesar dos altos rendimentos de xilose em temperaturas elevadas, a conversão de açúcar em furfural também era favorecida.

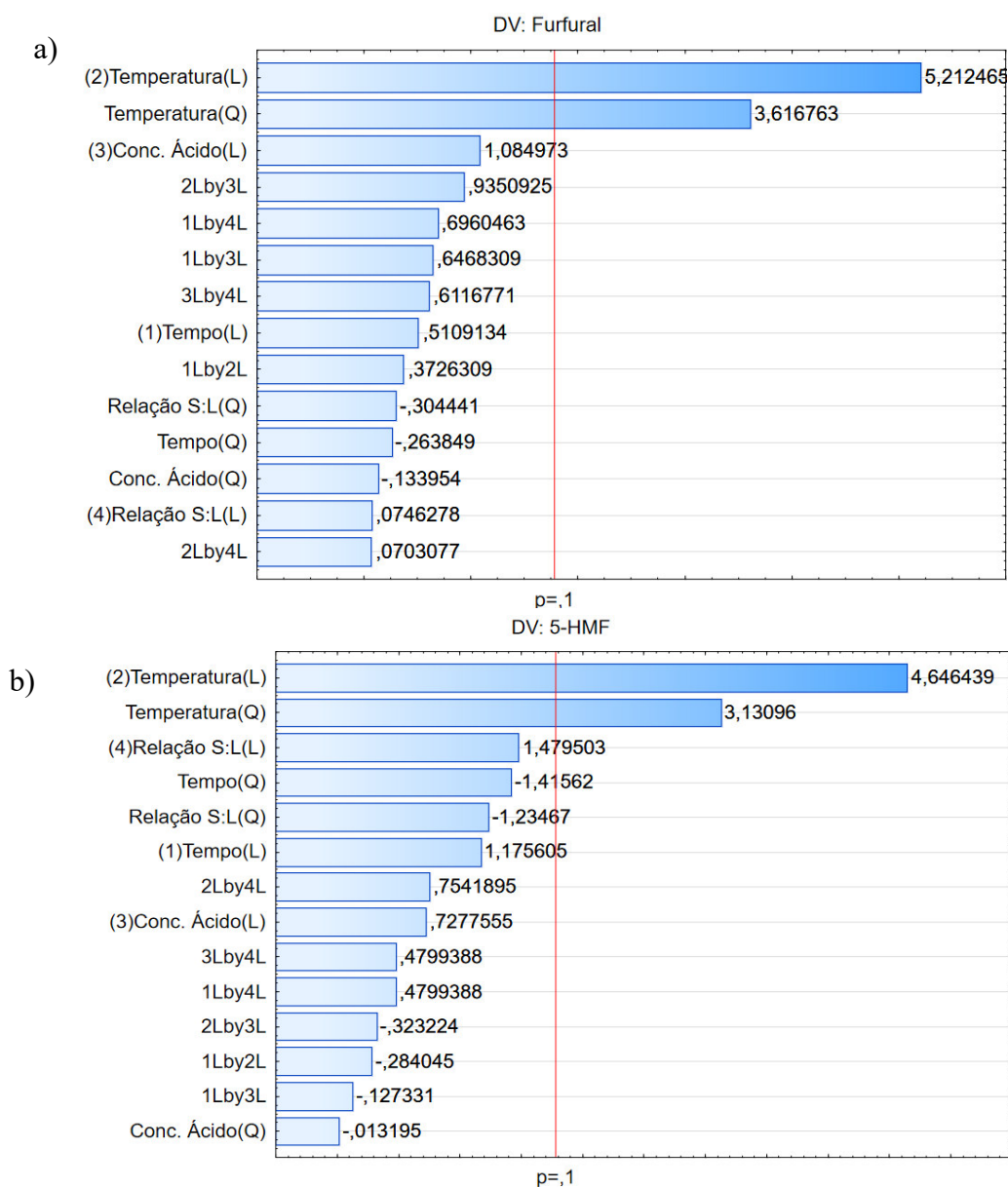


Figura 11. Gráfico de Pareto para o efeito das variáveis (linear e quadrático), na variável resposta (a) furfural; (b) 5-HMF.

Já para a variável resposta Fenólicos, o gráfico de Pareto (Figura 12) mostra que além de ter os efeitos dos fatores 2(L) e 2(Q) considerados significativos ($p < 0,1$), o efeito do fator 3 (L) também teve significância, pois as barras ultrapassaram a linha vertical que garante 90% de confiabilidade. Então além da temperatura influenciar aumentando a concentração de fenol, a concentração de ácido também influenciou aumentando a concentração destes compostos, que indica que quanto maior a concentração de ácido maior a concentração de fenólicos. De acordo com Mussatto e Roberto (2004) a concentração de ácido e temperatura são os fatores que mais afetam a concentração de compostos tóxicos no hidrolisado, em que temperaturas superiores a 160°C são relatadas como as que mais favorecem tanto o aparecimento de açúcares como os de produtos da decomposição da lignina.

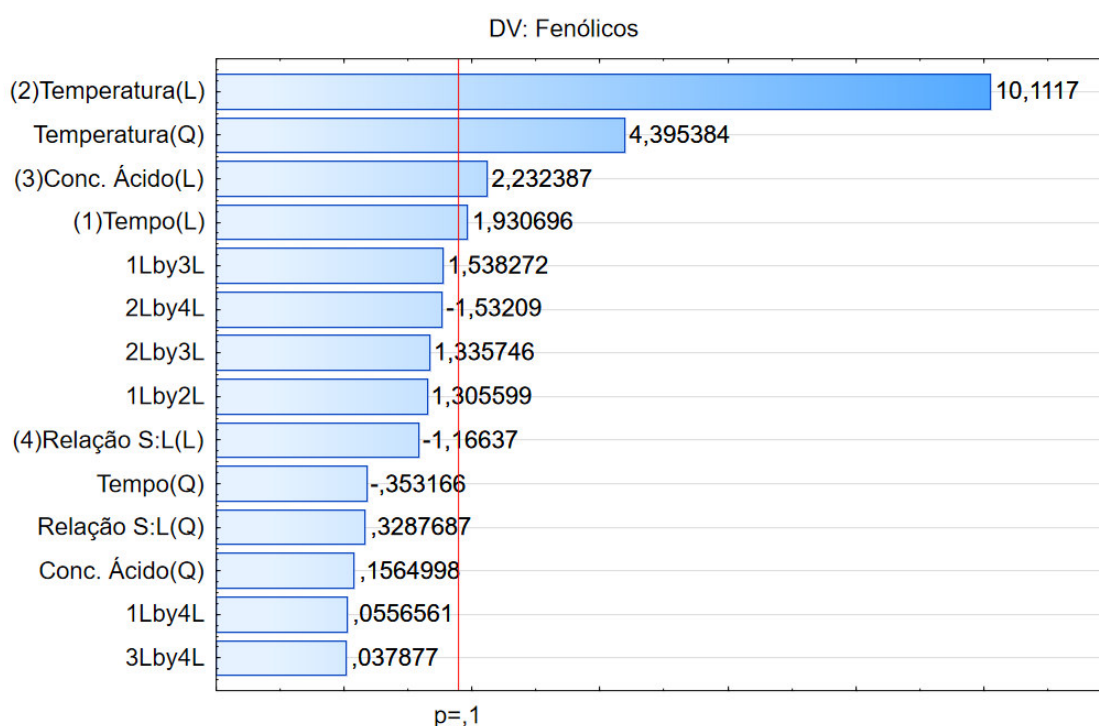


Figura 12. Gráfico de Pareto para o efeito das variáveis (linear e quadrático), na variável resposta de fenólicos.

As maiores concentrações de Furfural, 5-HMF e Fenólicos foram observadas em experimentos que utilizavam valores máximos tanto pra temperatura (175°C) como concentração de ácido sulfúrico (6% p/v), indicando que nessas condições ocorre a degradação do açúcar e da lignina presente no hidrolisado (Dussán et al., 2014).

Os resultados obtidos para as variáveis respostas Furfural, 5-HMF e Fenólicos foram submetidas a ANOVA, e a análise mostrou que para essas variáveis não foi possível estabelecer um bom modelo, pois houve falta de ajuste significativo e R^2 inferior a 0,7.

5.4 ASPECTO VISUAL DO HIDROLISADO

No que se refere a característica visual (cor) de cada hidrolisado hemicelulósico obtido (Figura 13) nota-se nesta Figura uma coloração que varia de levemente amarronzada para marrom.



Figura 13. Coloração do hidrolisado hemicelulósico da mistura de bagaço e palha de cana (1:1).

As colorações observadas nos hidrolisados hemicelulósicos resultantes das diferentes condições de hidrólise (Figura 13) podem ser atribuídas pela quebra da lignina, sendo a intensidade da coloração dependente do teor desta fração, além disso, a cor pode ter relação com processos oxidativos que produzem ácidos hexenurônicos e cromóforos a partir da lignina (Brienzo et al., 2009). Extrativos bem como produtos de degradação de açúcares gerados em altas temperaturas também influenciam na cor (Oliveira, 2015).

De acordo com Hernández et al. (1987) compostos fenólicos associados a carboidratos podem formar polímeros coloridos devidos a reações de condensação e oxidação, indicando assim que quanto mais intensa a cor, maior a probabilidade de conter compostos fenólicos. Observa-se que o hidrolisado do ensaio N° 20, em que a temperatura foi de 165 °C, foi o que apresentou a cor mais intensa, indicando que este possui maior concentração de fenólicos, o que vai de acordo com o valor encontrado na Tabela 6, em que o valor obtido para fenólicos neste ensaio foi de 65,28 g/L.

6 CONCLUSÕES

- A composição química da mistura do bagaço e palha de cana-de-açúcar (1:1) (m/m) encontrada no presente trabalho teve valores dentro da faixa àquelas descritas na literatura para os componentes celulose, hemicelulose, lignina, cinzas e extrativos.
- A condição de hidrólise ácida diluída que apresentou as maiores concentrações de açúcares xilose (64,20 g/L), glicose (9,61 g/L) e arabinose (9,95 g/L) foi referente ao ensaio N° 24 em que tempo, temperatura, concentração de ácido e relação sólido:líquido foram respectivamente 15 minutos, 135 °C, 2% (m/v), 0,25 (m/v).
- A temperatura foi a variável de maior influência nas concentrações de açúcares e tóxicos no hidrolisado hemicelulósico pois, com o aumento ou diminuição da temperatura os valores desses compostos no hidrolisado poderiam variar.
- Hidrólises realizadas tanto com condições de temperatura mais brandas (menores que 120°C) ou severas (maiores que 150°C) resultaram em baixos rendimentos de açúcares, como por exemplo temperatura de 105 °C (2,02 g/L de xilose, 2,17 g/L de glicose e 2,95 de arabinose) e temperatura de 165 °C (5,36 g/L de xilose, 4,44 g/L de glicose e 1,51 g/L de arabinose), pois temperaturas mais brandas não solubilizam ao máximo os açúcares e temperaturas mais severas degradam estes em subprodutos, no entanto, temperaturas intermediárias (entre 120 a 150°C) resultaram em concentrações média a alta de açúcares.

REFERÊNCIAS

- Aguilar, R., Ram I Irez, J.A., Garrote, G., v A Azquez, M., 2002. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. *Journal of Food Engineering* 55, 309–318
- Albuquerque, T.L. De, Da Silva, I.J., De MacEdo, G.R., Rocha, M.V.P., 2014. Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: A review. *Process Biochemistry* 49, 1779–1789. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.07.010>
- Albuquerque, T.L., Gomes, S.D.L., Marques, J.E., Silva, I.J. da, Rocha, M.V.P., 2015. Xylitol production from cashew apple bagasse by *Kluyveromyces marxianus* CCA510. *Catalysis Today* 255, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2014.10.054>
- Alokika, Anu, Kumar, A., Kumar, V., Singh, B., 2021. Cellulosic and hemicellulosic fractions of sugarcane bagasse: Potential, challenges and future perspective. *International Journal of Biological Macromolecules* 169, 564–582. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.175>
- Arora, A., Nandal, P., Singh, J., Verma, M.L., 2020. Nanobiotechnological advancements in lignocellulosic biomass pretreatment. *Materials Science for Energy Technologies* 3, 308–318. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2019.12.003>
- Arruda, P.V., 2011. Avaliação do processo biotecnológico de obtenção de xilitol em diferentes escalas a partir do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. Tese - Esc Eng Lorena da Univ São Paulo 163.
- Ávila, P.F., Forte, M.B.S., Goldbeck, R., 2018. Evaluation of the chemical composition of a mixture of sugarcane bagasse and straw after different pretreatments and their effects on commercial enzyme combinations for the production of fermentable sugars. *Biomass and Bioenergy* 116, 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.06.015>
- Bajpai, P., 2016. Structure of Lignocellulosic Biomass. Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuel Production. Springer, Singapore. 7–12. https://doi.org/10.1007/978-981-10-0687-6_2
- Brienzo, M., Siqueira, A.F., Milagres, A.M.F., 2009. Search for optimum conditions of sugarcane bagasse hemicellulose extraction. *Biochemical Engineering Journal* 46, 199–204. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.05.012>
- Camargo, D., Sene, L., Variz, D.I.L.S., Felipe, M. das G. de A., 2015. Xylitol Bioproduction in Hemicellulosic Hydrolysate Obtained from Sorghum Forage Biomass. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 175, 3628–3642. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1531-4>
- Candido, R.G., Gonçalves, A.R., 2019. Evaluation of two different applications for cellulose isolated from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. *Industrial Crops and Products* 142. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111616>
- Canilha, L., Carvalho, W., Felipe, M.D.G.A., Silva, J.B.D.A., 2008. Xylitol production from wheat straw hemicellulosic hydrolysate: Hydrolysate detoxification and carbon

- source used for inoculum preparation. *Brazilian Journal of Microbiology* 39, 333–336. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822008000200025>
- Canilha, L., Chandel, A.K., Suzane Dos Santos Milessi, T., Antunes, F.A.F., Luiz Da Costa Freitas, W., Das Graças Almeida Felipe, M., Da Silva, S.S., 2012. Bioconversion of sugarcane biomass into ethanol: An overview about composition, pretreatment methods, detoxification of hydrolysates, enzymatic saccharification, and ethanol fermentation. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2012, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2012/989572>
- Carvalho, F., Duarte, L.C., Lopes, S., Parajó, J.C., Pereira, H., Gírio, F.M., 2005. Evaluation of the detoxification of brewery's spent grain hydrolysate for xylitol production by *Debaryomyces hansenii* CCM1 941. *Process Biochemistry* 40, 1215–1223. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.04.015>
- Carvalho, W., Santos, J.C., Canilha, L., Almeida E Silva, J.B., Felipe, M.G.A., Mancilha, I.M., Silva, S.S., 2004. A study on xylitol production from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate by Ca-alginate entrapped cells in a stirred tank reactor. *Process Biochemistry* 39, 2135–2141. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2003.11.021>
- Chandel, A. K., da Silva, S. S., & Singh, O. V. 2011. Detoxification of lignocellulosic hydrolysates for improved bioethanol production. *Biofuel production-recent developments and prospects* 2011. 225-246
- Chandel, A.K., da Silva, S.S., Singh, O. V., 2013. Detoxification of Lignocellulose Hydrolysates: Biochemical and Metabolic Engineering Toward White Biotechnology. *Bioenergy Research* 6, 388–401. <https://doi.org/10.1007/s12155-012-9241-z>
- Chandel, A.K., Antunes, F.A.F., Terán-Hilares, R., Cota, J., Ellilä, S., Silveira, M.H.L., dos Santos, J.C., da Silva, S.S., 2018. Bioconversion of Hemicellulose Into Ethanol and Value-Added Products: Commercialization, Trends, and Future Opportunities. *Commercialization, Trends, and Future Opportunities., Advances in Sugarcane Biorefinery: Technologies, Commercialization, Policy Issues and Paradigm Shift for Bioethanol and By-Products* 2018, 97-134. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804534-3.00005-7>
- Choi, J.W., Jeon, E.J., Jeong, K.J., 2019. Recent advances in engineering *Corynebacterium glutamicum* for utilization of hemicellulosic biomass. *Current Opinion in Biotechnology* 57, 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.11.004>
- CONAB, 2022. Acompanhamento da safra brasileira - Cana-de-açúcar – V. 9, - SAFRA 2022/23 – N.1 – Primeiro Levantamento - Abril 2022.
- Converti, A., Perego, P., Domínguez, J.M., 1999. Xylitol production from hardwood hemicellulose hydrolysates by *Pachysolen tannophilus*, *Debaryomyces hansenii*, and *Candida guilliermondii*. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology* 82, 141–151. <https://doi.org/10.1385/abab:82:2:141>
- Demesa, A.G., Laari, A., Sillanpää, M., 2020. Value-added chemicals and materials from lignocellulosic biomass: Carboxylic acids and cellulose nanocrystals. *Carboxylic acids and cellulose nanocrystals., in: Advanced Water Treatment: Advanced*

Oxidation Processes. Elsevier, pp. 367–436. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819225-2.00006-5>

- Dionísio, S.R., Santoro, D.C.J., Bonan, C.I.D.G., Soares, L.B., Biazi, L.E., Rabelo, S.C., Ienczak, J.L., 2021. Second-generation ethanol process for integral use of hemicellulosic and cellulosic hydrolysates from diluted sulfuric acid pretreatment of sugarcane bagasse. *Fuel* 304. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121290>
- Dussán, K.J., Silva, D.D.V., Moraes, E.J.C., Arruda, P. v., Felipe, M.G.A., 2014. Dilute-acid hydrolysis of cellulose to glucose from sugarcane bagasse. *Chemical Engineering Transactions* 38, 433–438. <https://doi.org/10.3303/CET1438073>
- Ebringerová, A., Heinze, T., 2000. Xylan and xylan derivatives-biopolymers with valuable properties, 1 Naturally occurring xylans structures, isolation procedures and properties 21, 542-556.
- El-Tayeb, T.S., Abdelhafez, A.A., Ali, S.H., Ramadan, E.M., 2012. Effect of acid hydrolysis and fungal biotreatment on agro-industrial wastes for obtainment of free sugars for bioethanol production. *Brazilian Journal of Microbiology* 43, 1523–1535. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400037>
- Felipe, M.G.A., Vieira, D.C., Vitolo, M., Silva, S.S., Roberto, I.C., Manchilha, I.M., 1995. Effect of acetic acid on xylose fermentation to xylitol by *Candida guilliermondii*. *Journal of Basic Microbiology* 35, 171–177. <https://doi.org/10.1002/jobm.3620350309>
- Fengel, D.; Wegener, G. 1989. *Wood Chemistry, ultrastructure, reactions*. Berlin: Walter de Gruyter 613.
- Ferraz, A., Baeza, J., Rodriguez, J., Freer, J., 2000. Estimating the chemical composition of biodegraded pine and eucalyptus wood by DRIFT spectroscopy and multivariate analysis *Bioresource Technology* 74, 201-2012.
- Fonseca, B.G., Moutta, R.D.O., Ferraz, F.D.O., Vieira, E.R., Nogueira, A.S., Baratella, B.F., Rodrigues, L.C., Zhang, H.R., Da Silva, S.S., 2011. Biological detoxification of different hemicellulosic hydrolysates using *Issatchenkia occidentalis* CCTCC M 206097 yeast. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 38, 199–207. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0845-z>
- Gaudereto, H.S., Cabral, L.G., De, F., Rodrigues, Á., 2017. Production of levulinic acid from sugarcane bagasse: kinetic study, simulation and economic viability. 19, 236–255.
- Guilherme, J., Martin, P., Porto, E., Corrêa, C.B., Aquino, L.M. De, 2012. Antimicrobial potential and chemical composition of agro-industrial wastes. *Journal Of Natural Products* 5, 27–36.
- Hernández, R. et al. 1987. Coloración Del Bagazo: Influencia de los Compuestos Polifenólicos. *ICIDCA, Cuba*, 21, 35-38.
- Hernández-Pérez, A.F., Chaves-Villamil, A.C., de Arruda, P.V., dos Santos, J.C., Felipe, M. das G. de A., 2020. Sugarcane Syrup Improves Xylitol Bioproduction from

- Sugarcane Bagasse and Straw Hemicellulosic Hydrolysate. *Waste and Biomass Valorization* 11, 4215–4224. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00742-6>
- Hernández-Pérez, A.F., de Arruda, P.V., Felipe, M. das G. de A., 2016. Sugarcane straw as a feedstock for xylitol production by *Candida guilliermondii* FTI 20037. *Brazilian Journal of Microbiology* 47, 489–496. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.01.019>
- Hernández-Pérez, A. F. 2015 Aproveitamento da fração hemicelulósica da palha de cana-de-açúcar como matéria-prima na produção biotecnológica de xilitol: Estudo da atuação de co-substratos e permeabilizante de membrana celular. Dissertação – Esc. Eng. Lorena da Univ. São Paulo. 129.
- Hernández-Pérez, A. F. 2019 Produção biotecnológica de xilitol a partir da mistura de bagaço e palha de cana-de-açúcar com aproveitamento do melaço: Otimização das condições de cultivo e engenharia metabólica. Dissertação - Esc. Eng. Lorena da Univ. São Paulo.199.
- Irmak, S., Canisag, H., Vokoun, C., Meryemoglu, B., 2017. Xylitol production from lignocellulosics: Are corn biomass residues good candidates? *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 11, 220–223. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.07.010>
- Jofre, F.M., Hernández-Pérez, A.F., Santos, J.C. dos, Felipe, M. das G. de A., 2021. Use of dry yeast biomass as a new approach for detoxification of hemicellulosic hydrolysates aiming to xylitol production. *Industrial Crops and Products* 170. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113812>
- Jokodola, E. O., Narisetty, V., Castro, E., Durgapal, S., Coulon, F., Sindhu, R., Binod, P., Rajesh Banu, J., Kumar, G., Kumar, V., 2022. Process optimisation for production and recovery of succinic acid using xylose-rich hydrolysates by *Actinobacillus succinogenes*. *Bioresour Technol* 344. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126224>
- Jönsson, L.J., Martín, C., 2016. Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects. *Bioresource Technology* 199, 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.009>
- Kamal, S.M.M., Mohamad, N.L., Abdullah, A.G.L., Abdullah, N., 2011. Detoxification of sago trunk hydrolysate using activated charcoal for xylitol production. *Procedia Food Science* 1, 908–913. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.137>
- Kang, X., Wang, Y.Y., Wang, S., Song, X., 2021. Xylan and xylose decomposition during hot water pre-extraction: A pH-regulated hydrolysis. *Carbohydrate Polymers* 255, 117391. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117391>
- Koupaie, E. K., Dahadha, S., Bazyar Lakeh, A.A., Azizi, A., Elbeshbishy, E., 2019. Enzymatic pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biomethane production-A review. *Journal of Environmental Management* 233, 774–784. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.09.106>
- Kumar, V., Binod, P., Sindhu, R., Gnansounou, E., Ahluwalia, V., 2018. Bioconversion of pentose sugars to value added chemicals and fuels: Recent trends, challenges and possibilities. *Bioresource Technology* 269, 443–451. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.042>

- Leal, M.R.L.V., Galdos, M. V., Scarpore, F. V., Seabra, J.E.A., Walter, A., Oliveira, C.O.F., 2013. Sugarcane straw availability, quality, recovery and energy use: A literature review. *Biomass and Bioenergy* 53, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.03.007>
- Lee, S.J., Lee, Ju Hun, Yang, X., Kim, S.B., Lee, Ja Hyun, Yoo, H.Y., Park, C., Kim, S.W., 2015. Phenolic compounds: Strong inhibitors derived from lignocellulosic hydrolysate for 2,3-butanediol production by *Enterobacter aerogenes*. *Biotechnology Journal* 10, 1920–1928. <https://doi.org/10.1002/biot.201500090>
- Lenihan, P., Orozco, A., O'Neill, E., Ahmad, M.N.M., Rooney, D.W., Walker, G.M., 2010. Dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Chemical Engineering Journal* 156, 395–403. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.10.061>
- Leonel, L.V., Sene, L., da Cunha, M.A.A., Dalanhof, K.C.F., de Almeida Felipe, M. das G., 2020. Valorization of apple pomace using bio-based technology for the production of xylitol and 2G ethanol. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 43, 2153–2163. <https://doi.org/10.1007/s00449-020-02401-w>
- Li, T., Takkellapati, S., 2018. The current and emerging sources of technical lignins and their applications. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 12, 756–787. <https://doi.org/10.1002/bbb.1913>
- Lima, L. H. A., Felipe, M. G. A., Vitolo, M., & Torres, F. A. G. 2004. Effect of acetic acid present in bagasse hydrolysate on the activities of xylose reductase and xylitol dehydrogenase in *Candida guilliermondii*. *Applied microbiology and biotechnology* 65, 734–738.
- Lin, X., Jiang, K., Liu, X., Han, D., Zhang, Q., 2022. Review on development of ionic liquids in lignocellulosic biomass refining. *Journal of Molecular Liquids* 359, 119326. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.119326>
- Lorenci Woiciechowski, A., Dalmas Neto, C.J., Porto de Souza Vandenberghe, L., de Carvalho Neto, D.P., Novak Sydney, A.C., Letti, L.A.J., Karp, S.G., Zevallos Torres, L.A., Soccol, C.R., 2020. Lignocellulosic biomass: Acid and alkaline pretreatments and their effects on biomass recalcitrance – Conventional processing and recent advances. *Bioresource Technology* 304, 122848. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122848>
- Lugani, Y.; Oberoi, S.; Sook, Ba. S. 2017. Xylitol: a sugar substitute for patients of diabetes mellitus. *World J Pharm Pharm Sci.* 6, 741–749.
- Magalhães, A.I., de Carvalho, J.C., de Melo Pereira, G.V., Karp, S.G., Câmara, M.C., Medina, J.D.C., Soccol, C.R., 2019. Lignocellulosic biomass from agro-industrial residues in South America: current developments and perspectives. *Biofuels* 13, 1505–1519, *Bioproducts and Biorefining*. <https://doi.org/10.1002/bbb.2048>
- Martinez, A., Rodriguez, M.E., York, S.W., Preston, J.F., Ingram, L.O., 2000. Effects of Ca(OH)₂ treatments ('overliming') on the composition and toxicity of bagasse hemicellulose hydrolysates. *Biotechnology and Bioengineering* 69, 526–536. [https://doi.org/10.1002/1097-0290\(20000905\)69:5<526::AID-BIT7>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/1097-0290(20000905)69:5<526::AID-BIT7>3.0.CO;2-E)

- Marcelino, P.R.F., Peres, G.F.D., Terán-Hilares, R., Pagnocca, F.C., Rosa, C.A., Lacerda, T.M., dos Santos, J.C., da Silva, S.S., 2019. Biosurfactants production by yeasts using sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate as new sustainable alternative for lignocellulosic biorefineries. *Ind Crops Prod* 129, 212–223. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.001>
- Marton, J.M., Felipe, M.G.A., Almeida e Silva, J.B., Pessoa, A., 2006. Evaluation of the activated charcoals and adsorption conditions used in the treatment of sugarcane bagasse hydrolysate for xylitol production. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 23, 9–21. <https://doi.org/10.1590/S0104-66322006000100002>
- Monlau, F., Sambusiti, C., Barakat, A., Quéméneur, M., Trably, E., Steyer, J.P., Carrère, H., 2014. Do furanic and phenolic compounds of lignocellulosic and algae biomass hydrolyzate inhibit anaerobic mixed cultures? A comprehensive review. *Biotechnology Advances* 32, 934–951. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.04.007>
- Moraes, E. de J.C., 2008. Estudo de Viabilidade Econômica da Produção de Xilitol a partir de Hidrolisado Hemicelulósico de Palha de Cevada. *Journal of Chemical Information and Modeling* 53, 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Morozova, T. S.; Semyonov, S. Y.; Sibataev, A. K. 2017. Biodetoxification of lignocellulosic hydrolysates by specially adapted activated sludge. In: *The European Proceedings Of Social & Behavioural Sciences*. 400, 690-697.
- Motte, J.C., Trably, E., Escudié, R., Hamelin, J., Steyer, J.P., Bernet, N., Delgenes, J.P., Dumas, C., 2013. Total solids content: A key parameter of metabolic pathways in dry anaerobic digestion. *Biotechnology for Biofuels* 6, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-164>
- Muller, S.J., Sithole, P., Singels, A., Van Niekerk, A., 2020. Assessing the fidelity of Landsat-based fAPAR models in two diverse sugarcane growing regions. *Computers and Electronics in Agriculture* 170, 105248. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105248>
- Mussatto, S.I., Dragone, G., Roberto, I.C., 2005. Influence of the toxic compounds present in brewer's spent grain hemicellulosic hydrolysate on xylose-to-xylitol bioconversion by *Candida guilliermondii*. *Process Biochemistry* 40, 3801–3806. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.06.024>
- Mussatto, S.I., Roberto, I.C., 2004. Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolyzates for use in fermentative processes: A review. *Bioresource Technology* 93, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.10.005>
- Mussatto, S.I., Roberto, I.C., 2002. Produção biotecnológica de xilitol a partir da palha de arroz. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento* 28, 34–39.
- Mussatto, S.I., Santos, J.C., Roberto, I.C., 2004. Effect of pH and activated charcoal adsorption on hemicellulosic hydrolysate detoxification for xylitol production. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 79, 590–596. <https://doi.org/10.1002/jctb.1026>

- Ogata, B.H., 2013. Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial de uso em biorrefinarias. Dissertação - Esc Sup Agric “Luiz de Queiroz” da Univ. São Paulo 108.
- Oliveira, F. C., 2015. Oxidação de lignina proveniente de resíduos lignocelulósicos agroindustriais para obtenção de compostos químicos aromáticos de maior valor agregado. Tese – Esc. Eng. Lorena da Univ. São Paulo 199.
- Özudođru, H.M.R., Nieder-Heitmann, M., Haigh, K.F., Görgens, J.F., 2019. Techno-economic analysis of product biorefineries utilizing sugarcane lignocelluloses: Xylitol, citric acid and glutamic acid scenarios annexed to sugar mills with electricity co-production. *Industrial Crops and Products* 133, 259–268. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.015>
- Pelegia, E. D. B. 2018. Análise técnico-econômica do recolhimento e uso de palha de cana-de-açúcar em sistemas de gaseificação integrada a ciclos combinados. Dissertação - Faculdade de Eng. Mecânica da Univ. Estadual de Campinas. 111.
- Redding, A.P., Wang, Z., Keshwani, D.R., Cheng, J.J., 2011. High temperature dilute acid pretreatment of coastal Bermuda grass for enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology* 102, 1415–1424. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.09.053>
- Rennie, E.A., Scheller, H.V., 2014. Xylan biosynthesis. *Current Opinion in Biotechnology* 26, 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.11.013>
- Rezende, C.A., de Lima, M., Maziero, P., Deazevedo, E., Garcia, W., Polikarpov, I., 2011. Chemical and morphological characterization of sugarcane bagasse submitted to a delignification process for enhanced enzymatic digestibility. *Biotechnology for Biofuels* 4, 54. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-4-54>
- Rodrigues, R. C. L. B., Felipe, M. G. A., Silva, J. B., Vitolo, M., & Gómez, P. V. 2001. The influence of pH, temperature and hydrolyzate concentration on the removal of volatile and nonvolatile compounds from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolyzate treated with activated charcoal before or after vacuum evaporation. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 18, 299-311. <https://doi.org/10.1590/S0104-66322001000300009>
- Rowell, R.M., Pettersen, R., Tshabalala, M.A., 2012. Chapter 3 Cell Wall Chemistry. In: *Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites*, 2nd Edition; Chapter 3. pp. 33-72. 2013. 3, 33–72.
- Sajab, M. S., Abdul Latif, A., Harun, S., Markom, M., Jahim, J., 2018. Ammonia-based pretreatment for ligno-cellulosic biomass conversion-an overview, *Journal of Engineering Science and Technology* 13, 1595-1620.
- Sanchez, B., Bautista, J., 1988. Effects of furfural and 5-hydroxymethylfurfural on the fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* and biomass production from *Candida guilliermondii*. *Enzyme and Microbial Technology* 10, 315–318. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(88\)90135-4](https://doi.org/10.1016/0141-0229(88)90135-4)
- Santos, J. C.; Marton, J. M.; Felipe, M. G. A., 2014 Continuous system of combined columns of ion exchange resins and activated charcoal as a new approach for the

- removal of toxics from sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 16494-16501. <https://doi.org/10.1021/ie502712j>
- Santos, L.C. dos, Adarme, O.F.H., Baêta, B.E.L., Gurgel, L.V.A., Aquino, S.F. de, 2018. Production of biogas (methane and hydrogen) from anaerobic digestion of hemicellulosic hydrolysate generated in the oxidative pretreatment of coffee husks. *Bioresour Technol* 263, 601–612. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.037>
- Schroyen, M., Van Hulle, S.W.H., Holemans, S., Vervaeren, H., Raes, K., 2017. Laccase enzyme detoxifies hydrolysates and improves biogas production from hemp straw and miscanthus. *Bioresource Technology* 244, 597–604. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.137>
- Silva, D.D.V., Felipe, M.G.A., Mancilha, I.M., Luchese, R.H., Silva, S.S., 2004. Inhibitory effect of acetic acid on bioconversion of xylose in xylitol by *Candida guilliermondii* in sugarcane bagasse hydrolysate. *Brazilian Journal of Microbiology* 35, 248–254. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822004000200014>
- Silva, J.P.A., Carneiro, L.M., Roberto, I.C., 2013. Treatment of rice straw hemicellulosic hydrolysates with advanced oxidative processes: A new and promising detoxification method to improve the bioconversion process. *Biotechnology for Biofuels* 6, 1–13. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-23>
- Silva-Fernandes, T., Santos, J.C., Hasmann, F., Rodrigues, R.C.L.B., Izario Filho, H.J., Felipe, M.G.A., 2017. Biodegradable alternative for removing toxic compounds from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysates for valorization in biorefineries. *Bioresource Technology* 243, 384–392. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.064>
- Sun, Z., Liu, S., 2012. Production of n-butanol from concentrated sugar maple hemicellulosic hydrolysate by *Clostridia acetobutylicum* ATCC824. *Biomass Bioenergy* 39, 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.07.026>
- Uhari, M., Tapiainen, T., Kontiokari, T., 2000. Xylitol in preventing acute otitis media. *Vaccine* 19, 144–147. [https://doi.org/10.1016/S0264-410X\(00\)00294-2](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(00)00294-2)
- Ur-Rehman, S., Mushtaq, Z., Zahoor, T., Jamil, A., Murtaza, M.A., 2015. Xylitol: A Review on Bioproduction, Application, Health Benefits, and Related Safety Issues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 55, 1514–1528. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.702288>
- Ushima, A. H., França, G. P., 2018. Emissão de compostos clorados na combustão, gaseificação e pirólise de palha de cana-de-açúcar. *Revista Ipt Tecnologia E Inovação* 2, 37–47. <https://doi.org/10.34033/2526-5830-v2n8-3>
- Villarreal, M.L.M., Prata, A.M.R., Felipe, M.G.A., Almeida E Silva, J.B., 2006. Detoxification procedures of eucalyptus hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. *Enzyme and Microbial Technology* 40, 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.10.032>
- Wang, S., Cheng, G., Joshua, C., He, Z., Sun, X., Li, R., Liu, L., Yuan, Q., 2016. Furfural tolerance and detoxification mechanism in *Candida tropicalis*. *Biotechnology for Biofuels* 9, 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0668-x>

- Wang, X., Feng, Y., Yu, L., Shu, Y., Tan, F., Gou, Y., Luo, S., Yang, W., Li, Z., Wang, J., 2020. Sugarcane/soybean intercropping with reduced nitrogen input improves crop productivity and reduces carbon footprint in China. *Science of the Total Environment* 719, 137517. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137517>
- Winkelhausen, E., Kuzmanova, S., 1998. Microbial conversion of D-xylose. *Journal of fermentation and bioengineering* 86, 1–14.
- Xu, H., Peng, J., Kong, Y., Liu, Y., Su, Z., Li, B., Song, X., Liu, S., Tian, W., 2020. Key process parameters for deep eutectic solvents pretreatment of lignocellulosic biomass materials: A review. *Bioresource Technology* 310, 123416. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123416>
- Yamakawa, C.K., D’Imperio, I., Bonfiglio, F., Mussatto, S.I., 2022. Valorization of *Pinus taeda* hemicellulosic hydrolysate for the production of value-added compounds in an ethanol biorefinery. *Fuel* 318, 123489. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.123489>
- Zhang, J., Geng, A., Yao, C., Lu, Y., Li, Q., 2012. Effects of lignin-derived phenolic compounds on xylitol production and key enzyme activities by a xylose utilizing yeast *Candida athensensis* SB18. *Bioresour Technol* 121, 369–378. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.07.020>
- Zhang, H., Yun, J., Zayed, H., Yang, M., Zhang, G., Qi, Y., Guo, Q., Qi, X., 2018. Production of xylitol by expressing xylitol dehydrogenase and alcohol dehydrogenase from *Gluconobacter thailandicus* and co-biotransformation of whole cells. *Bioresource Technology* 257, 223–228. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.095>
- Zhang, B., Wu, L., Wang, Y., Li, J., Zhan, B., Bao, J., 2022. Re-examination of dilute acid hydrolysis of lignocellulose for production of cellulosic ethanol after de-bottlenecking the inhibitor barrier. *Journal of Biotechnology* 353, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2022.05.006>
- Zhao, X., Zhang, L., Liu, D., 2012. Biomass recalcitrance. Part I: The chemical compositions and physical structures affecting the enzymatic hydrolysis of lignocellulose. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 6, 465–482. <https://doi.org/10.1002/bbb.1331>