

Maximizando o etanol de segunda geração a partir de biomassa

Maximizing second generation ethanol from biomass

Maíra Rodrigues Uliana¹, Lavínia Quérlili Cunha Soares², Mylena Aparecida Ferreira da Silva³, Hálím Felipe Plínio Santo⁴, Sérgio Marques Costa⁵, Alba Regina Azevedo Arana⁶

RESUMO: : Nos últimos anos, tem sido observado um crescente interesse em âmbito nacional pela produção de etanol combustível, em razão de sua característica renovável. A conversão de biomassa em etanol emergiu como uma alternativa globalmente estudada e promissora, com ênfase em sua aplicação na geração de energia elétrica e na fabricação de biocombustíveis líquidos. O etanol de segunda geração é derivado de biomassa lignocelulósica, obtido por meio de processos químicos avançados ou biotecnologia, através da conversão da celulose em açúcares fermentáveis. O objetivo deste trabalho foi avaliar pré-tratamentos físico químicos para hidrolisar o bagaço de cana-de-açúcar e posterior fermentação alcoólica na produção de etanol de segunda geração. Amostras de bagaço de cana foram lavadas, secas em estufa, suspensas em sol. ácida (1 e 0,1 M) e água destilada e submetidas a banho de ultrassom e micro-ondas, ambas com tempo de exposição variando de 10 a 30 minutos. Em seguida, os materiais foram filtrados, lavados, levados à fermentação, que foi conduzida até 1 °Brix. A destilação foi realizada após a fermentação em destilador simples. As amostras antes da fermentação foram avaliadas quanto aos açúcares redutores e redutores totais e hidroximetilfurfural; e após a fermentação pelo teor alcoólico. Os tratamentos foram conduzidos em 4 repetições. Os resultados mostraram que os pré-tratamentos com micro-ondas e água ou solução ácida 0,1M produziram mostos com maiores teores de açúcares, resultando em destilados mais alcoólicos. Entretanto, o ultrassom não foi eficaz na liberação de açúcares, inviabilizando a fermentação alcoólica. Estes achados ressaltam a importância da escolha adequada do método de pré-tratamento na produção eficiente de etanol de segunda geração a partir de biomassa lignocelulósica.

Palavras-chave: Bagaço de Cana-de Açúcar; Pré-tratamento Físico; Pré-tratamento Físico-Químico; Bioetanol; Biocombustível.

ABSTRACT: In recent years, there has been a growing national interest in fuel ethanol production due to its renewable nature. The conversion of biomass into ethanol has emerged as a globally researched and promising alternative, particularly in the fields of electricity generation and liquid biofuel production. Second generation ethanol is derived from lignocellulosic biomass, obtained through advanced chemical processes or biotechnology, through the conversion of cellulose into fermentable sugars. The aim of this work was to evaluate physical-chemical pre-treatments to hydrolyze sugarcane bagasse and subsequent alcoholic fermentation in the production of second-generation ethanol. Samples of sugarcane bagasse were washed, dried, suspended in acidic solution (1

¹ Doutora em Agronomia pela Faculdade de Ciências Agrônômicas (UNESP/Botucatu, SP). Docente do Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional da Universidade do Oeste Paulista, Unoeste, Presidente Prudente (SP), Brasil.

² Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional da Universidade do Oeste Paulista, Unoeste, Presidente Prudente (SP), Brasil.

³ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional da Universidade do Oeste Paulista, Unoeste, Presidente Prudente (SP), Brasil.

⁴ Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional da Universidade do Oeste Paulista, Unoeste, Presidente Prudente (SP), Brasil.

⁵ Doutor em Agronomia pela Faculdade de Ciências Agrônômicas (UNESP/Botucatu, SP). Docente do Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional da Universidade do Oeste Paulista, Unoeste, Presidente Prudente (SP), Brasil.

⁶ Doutora em Geografia pela Universidade de São Paulo (USP). Docente do Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional da Universidade do Oeste Paulista, Unoeste, Presidente Prudente (SP), Brasil.

and 0.1 M) or distilled water, and subjected to ultrasound and microwave treatment for varying exposure times ranging from 10 to 30 minutes. The materials were then filtered, washed, and fermented until reaching 1 °Brix. Distillation was performed after fermentation using a simple distiller. Prior to fermentation, samples were analyzed for reducing and total reducing sugars, as well as hydroxymethylfurfural, while alcohol content was measured post-fermentation. Treatments were conducted in four repetitions. The results showed that microwave pre-treatments with water or 0.1M acidic solution produced musts with higher sugar content, resulting in more alcoholic distillates. However, ultrasound was ineffective in sugar release, rendering alcoholic fermentation unfeasible. These findings underscore the critical role of selecting the appropriate pre-treatment method for achieving efficient second-generation ethanol production from lignocellulosic biomass.

Keywords: Sugarcane Bagasse. Physical Pre-treatment. Physical-chemical Pre-treatment. Bioethanol. Biofuel.

Autor correspondente: Máira Rodrigues Uliana
E-mail: mruliana@gmail.com

Recebido em: 07/03/2024
Aceito em: 13/09/2024

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem-se observado um aumento significativo do interesse nacional na produção de etanol combustível, em razão de sua característica renovável e sustentável. A conversão de biomassa em etanol emerge como uma alternativa promissora, amplamente estudada em escala global, com ênfase em sua aplicação na geração de energia elétrica e na produção de biocombustíveis líquidos. O Brasil, pioneiro no investimento em biocombustíveis desde as primeiras décadas do século XX, destaca-se internacionalmente na produção de cana-de-açúcar e etanol (Bizerra, Queiroz, Coutinho, 2018; Fazzi *et al.*, 2020; Araújo, Sobrinho, 2023).

As matérias-primas empregadas na fabricação de bioetanol são categorizadas de forma conveniente em três grupos principais: açúcares, amidos e materiais celulósicos. A produção de etanol a partir de biomassas lignocelulósicas, conhecida como Etanol de Segunda Geração, é obtida por meio de métodos químicos ou pela utilização de biotecnologia avançada para a quebra das moléculas de celulose, liberando os açúcares para a fermentação (Ferreira, 2015; Duque *et al.*, 2021).

Diversas estratégias de pré-tratamento químico têm sido desenvolvidas com o intuito de remover a hemicelulose e a lignina, reduzir a cristalinidade da celulose e aumentar o rendimento de celulose e açúcar na hidrólise enzimática, visando maximizar a produtividade da matéria-prima celulósica. Diversos fatores influenciam no rendimento da reação, tais como a concentração de substrato, a atividade das enzimas, as condições da reação, entre outros (Badiei *et al.*, 2014; Kuster Moro *et al.*, 2015; Tayyab *et al.*, 2018; Satari, Karimi, Kumar, 2019).

A avaliação do pré-tratamento é comumente realizada mediante a utilização de diferentes abordagens analíticas. Dentre os métodos empregados, destacam-se: a análise da quantidade de açúcares liberados durante o pré-tratamento para o líquido, visando garantir a máxima recuperação de carboidratos nessa fase inicial; a fermentação do líquido de pré-tratamento para avaliar a inibição do microrganismo de fermentação; e a sacarificação e fermentação simultâneas (SSF) de toda a vinhaça ou de sólidos insolúveis em água (Galbe, Zacchi, 2007; Tayyab *et al.*, 2018; Afedzi, Parakulsuksatid, 2023).

Os processos conhecidos como hidrotérmólise aquosa ou fracionamento vapor/aquoso, solvólise não catalisada e aquasolvente envolvem a manutenção da água em estado líquido em temperaturas elevadas para a conversão de materiais celulósicos. O pré-tratamento hidrotérmico de biomassa lignocelulósica se destaca como uma abordagem promissora devido à sua simplicidade e ao uso mínimo de produtos químicos; nesse método, a água atua como um ácido em altas temperaturas, promovendo a conversão de açúcares monoméricos em furanos (Lei, Cybulska, Julson, 2013; Tayyab *et al.*, 2018; Baig, Wu, Turcotte, 2019; Satari, Karimi, Kumar, 2019).

A etapa combinada de hidrólise enzimática e fermentação, conhecida como sacarificação e fermentação simultâneas (SSF), tem sido amplamente empregada. O SSF tem se destacado por proporcionar maiores rendimentos de bioetanol, além de demandar menores quantidades de enzimas, devido à redução da inibição dos produtos finais celobiose e glicose, formados durante a hidrólise enzimática, decorrente da fermentação realizada pelas leveduras (Balat, Balat, Öz, 2008; Lara-Serrano *et al.*, 2018).

Desta forma, esta pesquisa busca questionar: qual o desempenho dos pré-tratamentos físico-químicos na produção do etanol de segunda geração? É possível produzir glicose da biomassa da cana-de-açúcar a partir de métodos “limpos”? Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar pré-tratamentos físico químicos para hidrolisar o bagaço de cana-de-açúcar e posterior fermentação alcoólica na produção de etanol de segunda geração. O foco é gerar menor quantidade de resíduos, e obtenção da glicose a partir de celulose da biomassa usando métodos “limpos”, onde altas temperaturas e pressões e solventes poluentes são desnecessários.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

Foram utilizadas amostras de bagaço de cana-de-açúcar, resíduo do processo de fabricação de cachaça, do Centro de Tecnologia de Alimentos da Universidade do Oeste Paulista (CTA/UNOESTE).

2.2 PRÉ-TRATAMENTO

As amostras de bagaço de cana-de-açúcar foram lavadas exaustivamente para remoção de quaisquer açúcares livre presentes nas fibras, seco em estufa a 60 °C com fluxo de ar por 48 horas e em seguida a granulometria das fibras foi padronizada por passagem em moedor, e adicionadas em diferentes amostras, ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 98%, com concentração de 0,1 M e água destilada.

Ultrassom: O princípio da sonicação aplicada aos processos químicos é baseado na energia transmitida pela onda sonora que é absorvida pelo líquido formando micro

cavidades que, num pequeno intervalo de tempo, colapsam-se liberando enormes quantidades de energia ao meio reacional (Oliveira, 2012). Assim, as ondas sônicas e ultrassônicas tem a capacidade de aumentar a velocidade das reações químicas e da transferência de massa, reduzindo a quantidade de reagentes e tornando as condições reacionais menos drásticas, suavizando a superfície das microfibrilas constituintes da celulose, aumentando a área hidratada disponível para a hidrólise. A água sob radiação ultrassônica se desassocia a radicais hidroxilas e átomos de hidrogênio. O colapso das microcavidades formadas durante a radiação gera também forças mecânicas, as quais são capazes de romper, homoliticamente ou heteroliticamente, macromoléculas de forma não-aleatória (Adewuyi, 2001).

Desta forma, o pré-tratamento por ultrassom pode promover a destruição das pontes de hidrogênio entre as moléculas de celulose diminuindo o seu grau de cristalinidade e elevando a área superficial da mesma. A utilização do método de ultrassom possui algumas vantagens, uma delas a diminuição do uso de reagentes químicos no momento do pré-tratamento, sem a necessidade de altas temperaturas além de haver baixa formação de compostos inibitórios (Wang *et al.*, 2008). Para este pré-tratamento, amostras de 1g (base seca) foram suspensas em uma solução ácida (H₂SO₄), e amostras de 1g (base seca) foram suspensas em uma solução de água destilada, material/solvente 1:10 (m/v), e levadas a um banho de ultrassom com uma potência de 50W. A temperatura do banho foi mantida constante (27 °C). O tempo de exposição do material sob irradiação ultrassônica variado de 10 em 10 minutos e, após isso, o material pré-tratado foi filtrado e lavado com 3 volumes de água e reservado para posterior caracterização.

Micro-ondas: As micro-ondas são radiações eletromagnéticas não ionizantes, que possuem uma frequência que vai de 300 a 300.000 MHz e que corresponde entre a região de infravermelho e ondas de rádio no espectro eletromagnético (Sanseverino, 2002). O mecanismo de transferência de energia usando um campo de micro-ondas é muito diferente daquele dos três modos bem estabelecidos de transferência de calor, isto é, condução, radiação e convecção (Zlotorzynski, 1995). No aquecimento por micro-ondas, também chamado de aquecimento dielétrico, existem dois mecanismos principais para a transformação de energia eletromagnética em calor. O primeiro deles é chamado rotação de dipolo e relaciona-se com o alinhamento das moléculas com o campo elétrico aplicado. O segundo mecanismo é chamado de condução iônica, onde o calor é gerado através de perdas por fricção, que acontecem através da migração de íons dissolvidos quando sob a ação de um campo eletromagnético (Sanseverino, 2002). As reações conduzidas de pré-tratamento de biomassa por este método mostraram grande vantagem em termos de rendimento, tempo e menor formação de subprodutos (Sanseverino, 2002; Zlotorzynski, 1995). Desta forma, para o pré-tratamento de micro-ondas, amostras de 1g (base seca) foram suspensas em uma solução ácida (H₂SO₄), e amostras de 1g (base seca) foram suspensas em uma solução de água destilada, material/solvente 1:10 (m/v). Em seguida, as amostras foram levadas às micro-ondas de marca Electrolux modelo MTO 30/ 127V com capacidade de 20 litros e frequência de magnetron de 2450 MHz, com potência de 40%. O tempo de exposição do material sob irradiação ultrassônica variado de 10 em 10 minutos

até o tempo de 30 minutos e, após isso, o material pré-tratado foi filtrado e lavado com 3 volumes de água e reservado para posterior caracterização.

2.3 INÓCULO

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi utilizada no experimento empregando bagaço de cana-de-açúcar pré-tratada hidrotermicamente. A ativação da levedura *S. cerevisiae* foi feita em frascos de Erlenmeyers de 500 mL, contendo 50 mL de meio YPD (10 g.L⁻¹ extrato de levedura, 20 g.L⁻¹ peptona, 40 g/L de glicose), sob temperatura de 34 °C. Depois de 6 horas de cultivo, o meio foi centrifugado e as células (aproximadamente 2,5 g massa seca.L⁻¹) foram inoculadas ao pré-hidrolisado do bagaço de cana-de-açúcar, em concentração de 30 g.L⁻¹, sendo os frascos mantidos a 30±1 °C em Estufa Incubadora B.O.D. (Modelo 705 Marca Brastemp nº 9911030 - 340 Litros) durante toda a fermentação.

2.4 FERMENTAÇÃO POR BATELADA

A condução da fermentação foi realizada pelo processo em batelada, com a recuperação do fermento por centrifugação. O processo fermentativo foi monitorado pela redução dos sólidos solúveis, a cada 4 horas. As fermentações foram divididas em três etapas: pé-de-cuba, início e final. O pé-de-cuba consistiu nas leveduras empregadas na fermentação; o início da fermentação foi fixado em 1 hora após inoculação, mosto+leveduras, e o final do processo, estabelecido quando os sólidos solúveis apresentaram valores inferiores a 1 ou próximos de zero, em intervalos de 30 minutos.

2.5 DESTILAÇÃO

Foi utilizado destilador simples, a fogo direto. Uma vez concluída a fermentação alcoólica, o fermentado foi inserido ao balão de destilação. A presença de células de leveduras é benéfica para a qualidade do destilado. Em seguida, o balão foi colocado sobre o bico de Bunsen, a chama pode ser mais intensa no início, até quando o destilado começou a sair no condensador.

2.6 AVALIAÇÕES

Determinação de açúcares redutores (AR): os açúcares redutores foram determinados conforme a metodologia proposta por Somogyi-Nelson (Nelson, 1960). O método fundamenta-se no poder redutor dos glicídios submetidos a aquecimento em meio alcalino, resultando em enodióis que reduzem os íons cúpricos à cuproso. O óxido cuproso, assim formado, reduz a reação arsênio-molibídico à óxido de molibdênio de coloração azul, cuja intensidade de cor é proporcional a quantidade de açúcares redutores

presentes na amostra. O teor de açúcares redutores foi determinado a 540 nm em espectrofotômetro UV-Vis, marca Quimis modelo Q898DPT. Para obtenção das curvas analíticas lineares foi utilizada uma solução padrão de glicose (PA) na concentração de 10 g.L⁻¹ e posterior diluição sequencial, variando sua concentração de 2,0 até 10 g.L⁻¹.

Determinação de açúcares redutores totais (ART): os açúcares redutores totais foram determinados conforme a metodologia proposta por Somogyi-Nelson (Nelson, 1960). O método foi utilizado com a inversão dos açúcares, no qual o pré tratado foi submetido a uma hidrólise com ácido clorídrico. Para obtenção das curvas analíticas lineares, foi utilizado uma solução padrão de glicose (PA) na concentração de 10 g.L⁻¹ e posterior diluição sequencial, variando sua concentração de 2,0 até 10 g.L⁻¹.

Determinação de hidroximetilfurfural (HMF): a determinação do furfural foi realizada conforme as normas do Instituto Adolfo Lutz (2008) para açúcares e produtos correlatos. O método consiste na reação do furfural em meio ácido com o aminobenzeno (anilina), dando origem a pigmentos. A quantificação foi realizada através de curvas analíticas lineares. As leituras das absorvâncias foram realizadas no espectrofotômetro Uv/Vis marca Bel photonics.

Determinação de teor alcoólico (TA): os valores correspondentes ao teor alcoólico foram analisados de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz (2008) em bebidas alcoólicas. Os resultados foram obtidos a partir da conversão pela tabela de conversão da densidade relativa a 20°C/20°C, determinada no destilado alcoólico da amostra.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 TRATAMENTO DE MICRO-ONDAS

Na Tabela 1, encontram-se os resultados referentes aos AR e ART, assim como o HMF, após o tratamento com 10, 20 e 30 minutos de micro-ondas com água e soluções ácidas de 0,1 e 1M. Ainda, na mesma Tabela 1, encontram-se os resultados do TA final das amostras tratadas após a fermentação alcoólica dos mostos.

As amostras suspensas na solução mais ácida (1M), independente do tempo de exposição, não resultaram quantidades significativas de AR e ART (Tabela 1).

Ambos os tratamentos, solução ácida 0,1M e água, produziram meios com valores de AR e ART próximos, independente dos tempos de exposição às micro-ondas (Tabela 1), a exceção do tratamento com água exposto por 30 minutos.

A eficácia do pré-tratamento com micro-ondas, tanto em água quanto em solução ácida 0,1M, na liberação de açúcares do bagaço de cana, é consistente com estudos anteriores. O uso de micro-ondas já foi estudado e pode melhorar significativamente a eficiência da hidrólise da biomassa lignocelulósica. Isso é crucial para a produção de etanol de segunda geração (ESG), pois açúcares são necessários para a fermentação (Zhang *et al.*, 2018).

Nenhum pré-tratamento testado produziu HMF suficiente para ser detectado (Tabela 1). A ausência de detecção de HMF após o pré-tratamento com micro-ondas

sugere que o processo foi controlado e não levou a reações indesejáveis. Este resultado está alinhado com as descobertas de estudos anteriores. Por exemplo, em uma revisão conduzida por Mohapatra *et al.* (2017), foi demonstrado que o uso de micro-ondas pode reduzir significativamente a formação de HMF durante o pré-tratamento de biomassa lignocelulósica. Isso é crucial para garantir a qualidade do produto final e evitar possíveis impactos negativos na fermentação e na produção de biocombustíveis (Mohapatra *et al.*, 2017).

Tabela 1. Resultados de açúcares redutores, açúcares redutores totais, hidroximetilfurfural em amostras pré-tratadas com micro-ondas e soluções ácidas/água destilada antes da fermentação alcoólica e teores alcoólicos das amostras após a fermentação

Micro-ondas					
Tratamento	Tempo de Exposição (min.)	Açúcares Redutores (g glicose.L ⁻¹)	Açúcares Redutores Totais (g glicose.L ⁻¹)	Hidroximetilfurfural	Teor Alcoólico (°GL)
H ₂ O	10	57,2	70,6	N/D*	5,5
	20	58,0	77,5	N/D*	7,5
	30	31,2	75,9	N/D*	7,0
H ₂ SO ₄ 0,1M	10	54,3	78,5	N/D*	5,5
	20	50,6	78,8	N/D*	8,6
	30	52,8	74,8	N/D*	6,9
H ₂ SO ₄ 1M	10	N/D	N/D	N/D*	<0,5
	20	N/D	N/D	N/D*	<0,5
	30	N/D	N/D	N/D*	<0,5

N/D*: não detectável pelo método.

As amostras que produziram mais açúcares também foram as que resultaram maiores concentrações de etanol (TA entre 5,5 a 8,9 °GL, água e sol. ácida, 10, 20 e 30 min.), esse fato é positivo, uma vez que apenas água pode ser utilizada com o micro-ondas para hidrolisar parte dos carboidratos do bagaço de cana (Tabela 1). A relação positiva entre os teores de açúcares nos mostos e os níveis de álcool destilado, conforme observado neste estudo, é consistente com pesquisas anteriores. Por exemplo, alguns estudos destacam a importância da concentração de açúcares na eficiência da fermentação e na produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica. Essa correlação sugere que o processo de pré-tratamento influenciou diretamente a eficiência da fermentação (Zhang *et al.*, 2012; Camargos *et al.*, 2019).

A utilização de água como solvente para o pré-tratamento é uma vantagem significativa, conforme evidenciado neste estudo. Esta descoberta está alinhada com uma pesquisa anterior, que destacou a viabilidade e eficácia do uso de água como solvente no pré-tratamento de biomassa lignocelulósica para a produção de etanol de segunda geração. No entanto, a solução ácida 0,1M também demonstrou eficácia, indicando uma possível flexibilidade na escolha do solvente, dependendo das necessidades específicas do processo (Zhao, Cheng, Liu, 2017; Matsakas *et al.*, 2019).

3.2 TRATAMENTO DE ULTRASSOM

Na tabela 2, encontram-se os resultados referentes aos AR e ART, assim como o HMF após o tratamento com 10, 20 e 30 minutos de ultrassom com água e soluções ácidas de 0,1 e 1M.

Tabela 2. Resultados de açúcares redutores, açúcares redutores totais, hidroximetilfurfural em amostras pré-tratadas com ultrassom e soluções ácidas/água destilada

Ultrassom				
Tratamento	Tempo de Exposição (min.)	Açúcares Redutores (g glicose.L ⁻¹)	Açúcares Redutores Totais (g glicose.L ⁻¹)	Hidroximetilfurfural
H ₂ O	10	3,5	3,9	N/D*
	20	3,0	4,5	N/D*
	30	2,0	4,5	N/D*
H ₂ SO ₄ 0,1M	10	4,9	4,9	N/D*
	20	4,0	4,5	N/D*
	30	3,8	4,2	N/D*
H ₂ SO ₄ 1M	10	2,7	3,5	N/D*
	20	3,2	4,5	N/D*
	30	3,0	4,8	N/D*

N/D*: não detectável pelo método.

Em todos os tratamentos (ultrassom com água e soluções de ácido sulfúrico 0,1 e 1M) os teores de AR, ART foram baixos, menores que 5%. O HMF não foi detectado nas amostras. Aparentemente, os tempos e soluções escolhidas e utilizadas nos tratamentos não foram suficientes para disponibilizar os açúcares (Tabela 2). Estes resultados parecem desafiar expectativas baseadas em literatura prévia que sugerem o ultrassom como uma técnica promissora para a desestruturação eficaz de biomassa lignocelulósica, facilitando a liberação de açúcares fermentescíveis (Binod *et al.*, 2010; Gogate, Pandit, 2014). No entanto, os teores de AR e ART permaneceram baixos em todas as condições testadas nesta pesquisa. Esses achados estão alinhados com estudos anteriores que investigaram a eficácia de diferentes métodos de pré-tratamento na disponibilidade de carboidratos para fermentação. Há um destaque para a necessidade de otimização dos parâmetros de pré-tratamento, incluindo tempo e concentração de solventes, para maximizar a liberação de açúcares fermentescíveis (Satari, Karimi, Kumar, 2019; Pradhan *et al.*, 2023).

A eficácia do ultrassom depende criticamente dos parâmetros operacionais, tais como a intensidade do ultrassom, duração do tratamento, e concentração do solvente. Kumar *et al.* (2011) relataram que a otimização desses parâmetros é essencial para alcançar uma hidrólise eficiente, enquanto Smith *et al.* (2018) identificaram que variações no tempo de exposição e na intensidade podem afetar significativamente a eficiência da desestruturação. Neste estudo, é possível que as condições aplicadas não tenham sido ideais para maximizar a eficácia do ultrassom, sugerindo uma necessidade de ajustes nos parâmetros experimentais.

Além disso, quantidades não detectadas de HMF nas amostras indica que os tratamentos testados como pré-tratamentos foram controlados e não resultaram em

reações indesejáveis ligadas a esses grupos de compostos. Esta observação está de acordo com a literatura, como evidenciado por estudos anteriores que investigaram os efeitos de diferentes técnicas de pré-tratamento na formação de subprodutos indesejáveis. O ultrassom pode ser uma abordagem eficaz para minimizar a formação de compostos indesejáveis durante o pré-tratamento de biomassa lignocelulósica, desde que os parâmetros sejam rigorosamente otimizados para evitar a formação de subprodutos indesejáveis e maximizar a eficiência da liberação de açúcares (Kumar *et al.*, 2011; Satari, Karimi, Kumar, 2019; Pradhan *et al.*, 2023). Esses resultados sugerem a necessidade de investigar mais a fundo os parâmetros de pré-tratamento com ultrassom, como tempo de exposição e concentração de ácido, a fim de otimizar a eficiência na liberação de açúcares e viabilizar a fermentação alcoólica.

Portanto, este estudo destaca a importância de uma abordagem multidisciplinar no desenvolvimento de métodos de pré-tratamento para a produção de biocombustíveis, onde a otimização e a compreensão detalhada dos parâmetros do processo são cruciais. Futuros estudos deverão explorar a interação entre os parâmetros de ultrassom e as características específicas da biomassa para desenvolver protocolos de pré-tratamento mais eficientes e menos propensos a falhas.

É importante destacar que como os pré-tratamentos com ultrassom não resultaram em concentrações relevantes de açúcares, ficou inviável a fermentação alcoólica destas amostras, inviabilizando a produção de etanol e conseqüentemente a análise de TA das amostras destes tratamentos.

4 CONCLUSÃO

Os pré-tratamentos físico-químicos utilizando micro-ondas e água ou solução ácida 0,1M foram suficientes para produzir mostos com maiores teores de açúcares e, conseqüentemente, destilados mais alcoólicos. Já os tratamentos físico-químicos que utilizam ultrassom com água e soluções ácidas testados neste experimento, objetivando a melhora na disponibilidade de carboidratos para futura fermentação alcoólica, não foram eficientes.

REFERÊNCIAS

ADEWUYI, Y. G. Sonochemistry: environmental science and engineering applications. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 40, n. 22, p. 4681-4715, 2001.

<https://doi.org/10.1021/ie010096l>

AFEDZI, A. E. K.; Parakulsuksatid, P. Recent advances in process modifications of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of lignocellulosic biomass for bioethanol production. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, p. 102961, 2023.

<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102961>

ARAÚJO, D. F. C.; SOBRINHO, F. L. A. O futuro dos biocombustíveis: Análise do cenário atual e perspectivas para o setor no Brasil. **Geopauta**, v. 7, p. e12766-e12766, 2023. <https://doi.org/10.22481/rg.v7.e2023.e12766>

BADIEI, M.; ASIM, N.; JAHIM, J. M.; SOPIAN, K. Comparison of Chemical Pretreatment Methods for Cellulosic Biomass. **APCBEE Procedia**, v. 9, p. 170-174, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2014.01.030>

BAIG, K. S.; WU, J.; TURCOTTE, G. Future prospects of delignification pretreatments for the lignocellulosic materials to produce second generation bioethanol. **International Journal of Energy Research**, v. 43, n. 4, p. 1411-1427, 2019. <https://doi.org/10.1002/er.4292>

BALAT, M.; BALAT, H.; ÖZ, C. Progress in bioethanol processing. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 34, n. 5, p. 551-573, out. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2007.11.001>

BINOD, P.; SATYANAGALAKSHMI, K.; SINDHU, R.; JANU, K. U.; SUKUMARAN, R. K.; PANDEY, A. Short duration microwave assisted pretreatment enhances the enzymatic saccharification and fermentable sugar yield from sugarcane bagasse. **Renewable Energy**, v. 36, n.2, p. 466-470, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.06.007>

BIZERRA, A. M. C.; QUEIROZ, J. L. A. DE; COUTINHO, D. A. M. O impacto ambiental dos combustíveis fósseis e dos biocombustíveis: as concepções de estudantes do ensino médio sobre o tema. **Revista Brasileira de Educação Ambiental (RevBEA)**, v. 13, n. 3, p. 299-315, 2018.

CAMARGOS, C. H. M.; SILVA, R. A. P.; CSORDAS, Y.; SILVA, L. L.; REZENDE, C. A. Experimentally designed corn biomass fractionation to obtain lignin nanoparticles and fermentable sugars, **Industrial Crops and Products**, v. 140, p. 111649, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111649>

DUQUE, A.; ÁLVAREZ, C.; DOMÉNECH, P.; MANZANARES, P.; MORENO, A. D. Advanced bioethanol production: From novel raw materials to integrated biorefineries. **Processes**, v. 9, n. 2, p. 206, 2021. <https://doi.org/10.3390/pr9020206>

FAZZI, L. R.; SIMÕES, A. F.; DE ALMEIDA, P. S.; OLIVEIRA, B. D. A regulação de biocombustíveis no Brasil e nos EUA no contexto da mitigação das mudanças climáticas e do correlato Acordo de Paris. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 9, p. 104-119, 2020. <https://doi.org/10.19177/rgsa.v9e02020104-119>

FERREIRA, J. Etanol de segunda geração: definição e perspectivas. **Revista Conexão Eletrônica**, v. 12, p. 11, 2015.

GALBE, M.; ZACCHI, G. Pretreatment of Lignocellulosic Materials for Efficient Bioethanol Production. In: OLSSON, L. (Ed.). **Biofuels**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2007. v. 108, p. 41-65. https://doi.org/10.1007/10_2007_070

GOGATE, P. R.; PANDIT, A. B. A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions. **Advances in Environmental Research**, v. 8, n. 3-4, p. 501-551, 2014. [https://doi.org/10.1016/S1093-0191\(03\)00032-7](https://doi.org/10.1016/S1093-0191(03)00032-7)

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4^a ed. (1^a Edição digital), 2008. 1020 p.

KUMAR, P.; BARRETT, D. M.; DELWICHE, M. J.; STROEVE, P. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 48, n. 8, 2011. <https://doi.org/10.1021/ie801542g>

KUSTER MORO, M.; SPOSINA, R.; SILVA, A. S.; FUJIMOTO, M. D.; BON, E.P.S; MELO JR., P. A.; SECCHI, A. R. Pré-tratamento da biomassa de cana-de-açúcar por extrusão com dupla-rosca. In: Simpósio Nacional de Bioprocessos e Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassa. **Anais...**, 5 set. 2015.

LARA-SERRANO, M.; SÁEZ ANGULO, F.; NEGRO, M. J.; MORALES-DELA ROSA, S.; CAMPOS-MARTIN, J. M.; FIERRO, J. L. Second-generation bioethanol production combining simultaneous fermentation and saccharification of IL-pretreated barley straw. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 6, n. 5, p. 7086-7095, 2018. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b00953>

LEI, H.; CYBULSKA, I.; JULSON, J. Hydrothermal Pretreatment of Lignocellulosic Biomass and Kinetics. **Journal of Sustainable Bioenergy Systems**, v. 03, n. 04, p. 250-259, 2013. <http://dx.doi.org/10.4236/jsbs.2013.34034>

MATSAKAS, L.; RAGHAVENDRAN, V.; YAKIMENKO, O.; PERSSON, G.; OLSSON, E.; ROVA, U.; ... CHRISTAKOPOULOS, P. Lignin-first biomass fractionation using a hybrid organosolv–steam explosion pretreatment technology improves the saccharification and fermentability of spruce biomass. **Bioresource technology**, v. 273, p. 521-528, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.055>

MOHAPATRA, S.; MISHRA, C.; BEHERA, S. S.; THATOI, H. Application of pretreatment, fermentation and molecular techniques for enhancing bioethanol production from grass biomass – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 78, p. 1007-1032, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.026>

NELSON, N. A photometric adaptation of Somogyi method for determination of glucose. **Journal of Biologic Chemistry**, v. 153, n. 2, p. 375-380, 1960. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)71980-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)71980-7)

OLIVEIRA, L. R. M. **Estudo de alternativas de pré-tratamento e hidrólise do bagaço e palha de cana-de-açúcar para obtenção de etanol a partir de celulose**, Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 123p., 2012.

PRADHAN, D.; TSEGAYE, B.; MATHEW, S.; JAISWAL, S.; JAISWAL, A. Ultrasound-Assisted Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Bioethanol Production, p.365-387, 2023. In: Konur, O. (ed.) **Bioethanol Fuel Production Processes**, 1 ed., CRC Press: Boca Raton, 2023. <https://doi.org/10.1201/9781003226536-24>

SANSEVERINO, A. M. Microondas em síntese orgânica. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 660-667, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000400022>

SATARI, B.; KARIMI, K.; KUMAR, R. Cellulose solvent-based pretreatment for enhanced second-generation biofuel production: a review. **Sustainable energy & fuels**, v. 3, n. 1, p. 11-62, 2019. <https://doi.org/10.1039/C8SE00287H>

TAYYAB, M.; NOMAN, A.; ISLAM, W.; WAHEED, S.; ARAFAT, Y.; ALI, F.; ... LIN, W. Bioethanol production from lignocellulosic biomass by environment-friendly pretreatment methods: a review. **Applied Ecology & Environmental Research**, v. 16, n. 1, 2018. http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1601_225249

WANG, X. FANG, G.; HU, C.; DU, T. Application of ultrasonic waves in activation of microcrystalline cellulose. **Journal of applied polymer science**, v. 109, n. 5, p. 2762-2767, 2008. <https://doi.org/10.1002/app.27975>

ZHANG, S.; KESHWANI, D. R.; XU, Y.; HANNA, M. A. Alkali combined extrusion pretreatment of corn stover to enhance enzyme saccharification, **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 352-357, 2012. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2011.12.001>

ZHANG, Y.; CAI, D.; YONG, Q.; YU, S. Microwave-assisted acid pretreatment of alkali lignin: Effect on characteristics and pyrolysis behavior. **Bioresource Technology**, v. 256, p. 90-96, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.022>

ZHAO, X.; CHENG, K.; LIU, D. Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 20, p. 8277-8294, 2017. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-1883-1>

ZLOTORZYNSKI, A. The Application of Microwave Radiation to Analytical and Environmental Chemistry. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 25, n. 1, p. 43-76, 1995. <https://doi.org/10.1080/10408349508050557>