

TRANSFORMAÇÃO TERMOQUÍMICA DE BIOMASSA VISANDO À
PRODUÇÃO DE BIOETANOL DE LEVOGLUCOSANA EM
BIORREATOR NÃO CONVENCIONAL

THERMOCHEMICAL TRANSFORMATION OF BIOMASS AIMING
THE BIOETHANOL PRODUCTION OF LEVOGLUCOSAN IN NON-
CONVENTIONAL BIOREACTOR

Geraldo Ferreira David

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE

DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
OUTUBRO – 2016

OCTOBER - 2016

TRANSFORMAÇÃO TERMOQUÍMICA DE BIOMASSA VISANDO À
PRODUÇÃO DE BIOETANOL DE LEVOGLUCOSANA EM
BIORREATOR NÃO CONVENCIONAL

GERALDO FERREIRA DAVID

Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutor em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Victor Haber Perez (UENF)
Co-orientador: Prof. Manuel Garcia Perez, PhD (WSU)

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
OUTUBRO – 2016

THERMOCHEMICAL TRANSFORMATION OF BIOMASS AIMING
THE BIOETHANOL PRODUCTION OF LEVOGLUCOSAN IN NON-
CONVENTIONAL BIOREACTOR

GERALDO FERREIRA DAVID

Thesis present to Center of Science and
Agropecuary Technologies of State University
of Northern of Rio de Janeiro, as part of the
requierments to obtain the tittle of Doctor in
Plant Production.

Advisor: Prof. Dr. Victor Haber Perez (UENF)
Co-Advisor: Prof. Manuel Garcia-Perez, PhD (WSU)

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
OCTOBER – 2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCT / UENF**

11/2017

David, Geraldo Ferreira

Transformação termoquímica de biomassa visando à produção de bioetanol de levoglucosana em biorreator não convencional / Geraldo Ferreira David. – Campos dos Goytacazes, 2016.

ix.304 f.: il.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Laboratório de Tecnologia em Alimentos. Campos dos Goytacazes, 2016.

Orientador: Víctor Haber Perez.

Coorientador: Manuel Garcia-Perez.

Área de concentração: Produção vegetal.

Bibliografia: f. 209-217.

1. BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR 2. PIRÓLISE RÁPIDA 3. LEVOGLUCOSANA 4. BIORREATOR DE CAMPO ELETROMAGNÉTICO 5. BIOETANOL I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Laboratório de Tecnologia em Alimentos. I II. Título

CDD 633.61

LIBRARY OF CATALOGING-PUBLICATION DATA

Prepared by Library of **CCT/ UENF**

11/2017

David, Geraldo Ferreira

Thermochemical transformation of biomass aiming the bioethanol production of levoglucosan in non-conventional bioreactor / Geraldo Ferreira David. – Campos dos Goytacazes, 2016.

ix.304 f.: il.

Thesis (Doctorate in Plant Production) - State University of Northern of Rio de Janeiro. Center of Science and Agropecuary Technologies. Food Technology Department. Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil. 2016.

Advisor: Víctor Haber Perez.

Co-Advisor: Manuel Garcia-Perez.

Research area: Plant Production.

Includes bibliographical references: p. 209-217.

1. SUGARCANE BAGASSE 2. FAST PYROLYSIS 3. LEVOGLUCOSAN 4. BIOREACTOR ASSISTED BY MAGNETIC FIELD 5. BIOETHANOL I. State University of Northern of Rio de Janeiro. Center of Science and Agropecuary Technologies. Food Technology Department. I II. Title

CDD 633.61

TRANSFORMAÇÃO TERMOQUÍMICA DE BIOMASSA VISANDO À
PRODUÇÃO DE BIOETANOL DE LEVOGLUCOSANA EM
BIORREATOR NÃO CONVENCIONAL

GERALDO FERREIRA DAVID

Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Doutorado em Produção Vegetal.

Aprovada em 31 de outubro de 2016

Comissão Examinadora

Prof. Gustavo Paim Valença (D.Sc., Engenharia Química) – UNICAMP

Profa. Maria Priscila Pessanha de Castro (D.Sc., Bacharel em Física) – UENF

Prof. Marcelo Silva Sthel (D.Sc., Bacharel em Física) – UENF

Prof. Dr. Victor Haber Perez (D.Sc., Engenharia Química) – UENF
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e ao Laboratório de Tecnologia em Alimentos pela oportunidade de realização deste curso. Agradeço também ao laboratório Biological System Engineering da Washington State University (WSU) por me receber como estagiário e pelo suporte financeiro para a realização de grande parte deste trabalho;

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado e a bolsa de doutorado sanduiche na qual me deu suporte financeiro para realização do meu doutorado e ao estágio nos Estados Unidos.

Meus agradecimentos também ao professor Manuel Garcia-Perez, pela oportunidade de participar de seu grupo de pesquisa, pela orientação, incentivo e paciência.

Ao Prof. Victor Haber Perez, o meu orientador que se tornou um amigo. Muito obrigado pela orientação, dedicação, por acreditar no meu potencial e sempre me incentivar e encorajar desafiar novos caminhos, contribuindo no meu crescimento acadêmico e pessoal.

Aos meus amigos do laboratório, todos em especial e aos meus amigos da universidade que sempre torceram por mim e me apoiaram.

Minha eterna gratidão ao meus país, Maria da Paz e Antônio David (em memória), ao meu irmão Manoel e aos meus familiares, não tenho palavras que expressar o meu agradecimento a vocês.

Em especial, agradeço a Diana Catalina, a minha melhor conquista que a UENF poderia ter me dado. Obrigado por sua ajuda, apoio, incentivo e companheirismo durante esta minha jornada. Com todo meu carinho e amor, muito obrigado!

Agradeço a todos que ajudaram de forma direta e indireta para que este trabalho fosse concluído.

ACKNOWLEDGMENT

I thank the State University of Northern of Rio de Janeiro, the Graduate Program in Plant Production and the Food Technology Laboratory for the opportunity to hold this course. Thanks also to the Biological System Engineering Laboratory of Washington State University (WSU) for receiving and for the financial support to carry out this work.

I thank the Coordination for the Improvement of Higher Level (CAPES) for granting the doctoral scholarship and the sandwich doctorate scholarship in which he gave me financial support for my PhD and the internship in the United States.

My thanks also go to Professor Manuel Garcia-Perez for the opportunity to participate in his research group, for orientation, encouragement and patience.

To Prof. Victor Haber Perez, my mentor that and friend. Thank you for your orientation, dedication, for believing in my potential and always encouraging the new challenges, contributed to my academic and personal growth.

To my lab friends, everyone in particular, and my university friends who always cheered for me.

My eternal gratitude to my parents, Maria da Paz and Antonio David (in memory), my brother Manoel and my family, I have no words to express my gratitude.

In particular, I thank Diana Catalina, my best achievement that the UENF could have given me. Thank you for your help, support, encouragement and companionship during this journey. With all my affection and love, thank you!

I thank everyone who helped directly and indirectly to finalize this work.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	ii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1. Composição química da biomassa: bagaço de cana-de-açúcar	14
2.2 Transformação termoquímica da biomassa	18
2.3 Açúcares pirolíticos	24
2.4 Processos de fermentação para produção de etanol usando açúcares pirolítico	30
2.5 Fermentação para produção de etanol com células imobilizadas	30
2.6 Uso de células imobilizadas em partículas com propriedades magnéticas na produção de etanol	36
2.7 Biomagnetismo: aplicação na fermentação alcoólica	38
3. MATERIAIS E MÉTODOS	46
3.1. Materiais	46
3.2 Procedimentos experimentais	46
3.2.1 Moagem do bagaço de cana	46
3.2.2 Pré-tratamentos químicos na biomassa	46
3.2.3 Lavagem do bagaço de cana com ácido nítrico	48
3.2.4 Tratamento com ácido sulfúrico	48
3.2.5 Ácido acético	50
3.2.6 Estudo de Pirólise-CG/MS (Py-CG/MS)	50
3.2.7 Pirólise do bagaço de cana no reator Auger	50
3.2.8 Extração da levoglucosana do bio-óleo	52
3.2.9 Hidrólise da levoglucosana em glicose	52
3.2.10 Detoxificação da solução de levoglucosana	54
3.2.11 Estudos de fermentação para produção de etanol com açúcares pirolíticos	54
3.2.12 Manutenção das leveduras	56
3.2.13 Preparo do inoculo	56
3.2.14 Preparação das partículas de magnetita (Fe ₃ O ₄)	56
3.2.15 Imobilização das <i>S. cerevisiae</i> X2180 em alginato de sódio	56
3.2.16 Ativação das células imobilizadas em alginato de cálcio	58
3.2.17 Fermentação para avaliar a influência do processo de imobilização das células da <i>S. cerevisiae</i> X-218	58
3.2.18 Fermentação para produção de etanol em biorreator de leito fluidizado assistido por campo eletromagnético	60
3.3 Métodos analíticos	60
3.3.1 Conteúdo de umidade	60
3.3.2 Cinzas	62
3.3.3 Análise Elemental: C, H, N – O	62
3.3.4 Análise de extrativos	62

SUMMARY

ACKNOWLEDGMENT	iii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUCTION	11
2. LITERATURE REVIEW	15
2.1. Biomass chemical composition: sugarcane bagasse	15
2.2 Thermochemical transformation of biomass	19
2.3 Pyrolytic sugars	25
2.4 Fermentation processes for the production of ethanol using pyrolytic sugars	31
2.5 Fermentation for ethanol production with immobilized cells	31
2.6 Use of immobilized cells in particles with magnetic properties in the production of ethanol	37
2.7 Biomagnetism: application in alcoholic fermentation	49
3. MATERIALS AND METHODS	47
3.1. Materials	47
3.2 Experimental procedures	47
3.2.1 Sugarcane bagasse milling	47
3.2.2 Chemical pre-treatments in biomass	47
3.2.3 Washing of sugarcane bagasse with nitric acid	49
3.2.4 H ₂ SO ₄ treatment procedure	49
3.2.5 Acetic acid	51
3.2.6 Studies of Pyrolysis-GC/MS (Py-GC/MS)	51
3.2.7 Sugarcane bagasse pyrolysis in the Auger reactor	51
3.2.8 Levoglucosan extraction from bio-oil	53
3.2.9 Levoglucosan hydrolyze to glucose	53
3.2.10 Levoglucosan solution detoxification	55
3.2.11 Fermentation for to ethanol production studies with pyrolytic sugars	55
3.2.12 Maintenance of yeast	57
3.2.13 Preparation of inoculum	57
3.2.14 Preparation of magnetic particles (Fe ₃ O ₄)	57
3.2.15 Immobilization of <i>S. cerevisiae</i> X-2180 in sodium alginate	57
3.2.16 Activation of immobilized cells in calcium alginate	59
3.2.17 Fermentation to evaluate the influence of immobilization process of <i>S. cerevisiae</i> X-2180	59
3.2.18 Fermentation to ethanol production in Bioreactor Fluidized bed Assisted by Electromagnetic Field	61
3.3 Analytical Methods	61
3.3.1 Moisture Content	61
3.3.2 Ash	63
3.3.3 Elemental analysis: C, H, N – O	63
3.3.4 Extractives of analysis	63

3.3.5	Análise Termogravimétrica (TGA)	64
3.3.6	Análise dos açúcares pirolíticos do bagaço de cana	64
3.3.7	Análise do bio-óleo da pirólise no reator Auger do bagaço da cana	64
3.3.8	pH	66
3.3.9	Crescimento celular	66
3.3.10	Monitoramento da produção de etanol por CG com “head space”	66
3.3.11	Análise do consumo de açúcar e produção de etanol por Cromatografia Líquida (HPLC)	66
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	68
4.1	Composição físico- química do bagaço de cana	68
4.2	Estudos do bagaço de cana tratado utilizando a lavagem com HNO ₃ e submetido a Pirólise-CG/MS.	70
4.2.1	Formação de levoglucosana usando o bagaço de cana submetido à lavagem com ácido nítrico	76
4.2.2.	Outros produtos pirolíticos do bagaço de cana lavado com HNO ₃	78
4.3	Estudos de Pirólise-CG/MS do bagaço de cana após lavagem com HNO ₃ e impregnação com H ₂ SO ₄	90
4.3.1	Análise termogravimétrica (TG)	90
4.3.2	Açúcares pirolíticos	100
4.3.3.	Outros produtos pirolíticos do bagaço de cana	106
4.4	Estudos do bagaço de cana tratado com ácido acético e submetido à Pirólise-CG/MS	118
4.4.1	Formação de açúcares pirolíticos com o bagaço de cana tratado com ácido acético	118
4.4.2.	Outros produtos pirolíticos formado da pirólise do bagaço de cana tratado com ácido nítrico	124
4.5	Pirólise do Bagaço de cana-de-açúcar no reator Auger	138
4.6	Extração da levoglucosana do bio-óleo, hidrólise e detoxificação da solução de açúcares pirolíticos	144
4.7	Processos fermentativos de produção de etanol com açúcares pirolíticos	152
4.8	Fermentações para produção de etanol em Biorreator assistido por campo eletromagnético	188
5.	CONCLUSÕES	204
6.	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	206
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	209
	APÊNDICE A	219
	APÊNDICE B	296
	APÊNDICE C	298
	APÊNDICE D	300

3.3.5 Thermogravimetric analyses (TGA)	65
3.3.6 Pyrolytic sugars determination of sugarcane bagasse	65
3.3.7 Bio-oil analysis in the Auger reactor of sugarcane bagasse	65
3.3.8 pH	67
3.3.9 Cellular growth	67
3.3.10 Monitoring the production of ethanol by CG with head space	67
3.3.11 Analysis of sugar consumption and ethanol production by Liquid Chromatography (HPLC)	67
4. RESULTS AND DISCUSSIONS	69
4.1 Physicochemical composition of sugarcane bagasse	69
4.2 Sugarcane bagasse treatment studies using washing with HNO ₃ and subjected to Pyrolysis-GC / MS	71
4.2.1 Levoglucosan formation using the cane bagasse subjected to nitric acid washing	77
4.2.2. Other pyrolytic products from sugarcane bagasse washed with nitric acid	79
4.3 Studies of sugarcane bagasse under Pyrolysis-GC/MS after HNO ₃ washing and H ₂ SO ₄ impregnation	91
4.3.1 Thermogravimetric analysis (TG)	91
4.3.2 Pyrolytic anhydrosugars	101
4.3.3. Other formed pyrolytic chemicals	107
4.4 Studies of sugarcane bagasse treated with acetic acid and submitted to pyrolysis-GC/MS	119
4.4.1 Formation of pyrolytic sugars with sugarcane bagasse treated with acetic acid	119
4.4.2. Other pyrolytic products formed from the pyrolysis of sugarcane bagasse treated with nitric acid	125
4.5 Sugarcane bagasse pyrolysis in the Auger reactor	139
4.6 Extraction of levoglucosan from bio-oil, hydrolysis and detoxification of the pyrolytic sugar solution	145
4.7 Fermentation processes for the production of ethanol with pyrolytic sugars	153
4.8 Fermentation for ethanol production in electromagnetic field assisted bioreactor	189
5. CONCLUSIONS	205
6. SUGGESTIONS FOR FUTURE WORK	207
BIBLIOGRAPHIC REFERENCES	209
APPENDIX A	220
APPENDIX B	297
APPENDIX C	299
APPENDIX D	301

RESUMO

DAVID, G.F., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Outubro de 2016. Transformação termoquímica de biomassa visando à produção de bioetanol de levoglucosana em biorreator não convencional. Orientador: Prof. Víctor Haber Perez.

Este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de um processo híbrido de conversão termoquímica do bagaço de cana-de-açúcar, integrando as tecnologias de fermentação para a produção de bioetanol. Para este estudo, foram realizadas diferentes estratégias de pré-tratamento do bagaço de cana visando melhorar a conversão da biomassa para produção de açúcares pirolíticos (levoglucosana) utilizando ácidos nítrico, sulfúrico e acético em diferentes temperaturas de pirólise (350, 400, 450, 500, 550 e 600°C), respectivamente. Dentre os processos de pré-tratamentos avaliados, o ácido acético é o mais atrativo, uma vez que conseguiu um aumento de nove vezes na formação de levoglucosana quando comparado com a biomassa sem tratamento (controle) e a melhor temperatura de pirólise foi de 400°C. Após estabelecida as melhores condições para o tratamento do bagaço de cana, realizou a pirólise no reator Auger a 400°C, obtendo um rendimento de 63% de bio-óleo com uma concentração em torno de 61 g/L de levoglucosana. A levoglucosana foi extraída do bio-óleo, hidrolisada em glicose e utilizada como substrato na fermentação para produção de etanol em biorreator assistido por campo eletromagnético, alcançando 97% de rendimento em bioetanol. Estes resultados confirmam que a fermentação para produção de etanol usando açúcares pirolíticos em biorreator assistido por campo eletromagnético é uma tecnologia promissora para o processo de obtenção de bioetanol.

ABSTRACT

DAVID, G.F., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). October 2016. Thermochemical transformation of biomass aiming the bioethanol production of levoglucosan in non-conventional bioreactor. Advisor: Prof. Victor Haber Perez.

This work has for objective the development a hybrid process for thermochemical conversion of sugar cane bagasse, integration fermentation technologies for bioethanol production. For this study were used some strategies for sugarcane bagasse regarding to improve conversion to pyrolytic sugar production (levoglucosan) using nitric, acetic and sulfuric acids and different pyrolysis temperatures (350, 400, 450, 500, 550 and 600 °C). In the evaluation of pretreatment process was found acetic acid as the most powerful, reaching nine times improvement in levoglucosan formation when compared to biomass untreated (control), using as pyrolysis temperature 400 °C. Once was determined the best conditions for levoglucosan formation from sugarcane bagasse, was carried out the pyrolysis in Auger Pyrolysis reactor at 400 °C, reaching a 63% of yield of bio-oil and a levoglucosan concentration around of 61 g/L. The levoglucosan was extracted from bio oil, hydrolyzed to glucose, and used as substrate in fermentation to ethanol production in bioreactor assisted by electromagnetic field, achieving a bioethanol yield of 97%. Those results confirm that bioethanol fermentation using pyrolytic sugars in bioreactor assisted by electromagnetic field is a promising technology in bioethanol production.

1. INTRODUÇÃO

Segundo dados da IEA (Agência Internacional de Energia), a utilização de etanol reduz em média 89% a emissão de gases responsáveis pelo efeito estufa (CO₂, CH₄ e NO₂) quando comparado com gasolina durante a sua queima nos motores. No Brasil e na Índia, o etanol é produzido a partir da cana-de-açúcar, no entanto, a cana gera grandes quantidades de biomassa celulósica durante o seu processamento. As indústrias sucroalcooleiras, tradicionalmente utilizam o bagaço de cana nas caldeiras para geração de energia através de sua combustão, ou em outras aplicações como forragem, alimento animal, etc., mas mesmo assim, há um grande excedente de bagaço disponível (Mesa, 2011) e este excesso tem se tornado um problema (Hoi et al., 2013). Uma alternativa de utilização deste subproduto é a produção de etanol de segunda geração, na qual oferece inúmeros benefícios à indústria sucroalcooleira, tais como, o aproveitamento da cana-de-açúcar e seus subprodutos, utilização da matéria-prima já disponível na unidade, apresentando vantagens logísticas, aumento na produção de etanol sem ampliar a área de cultivo, produção de etanol durante a entressafra da cana, redução da emissão de carbono durante a produção, gerando um combustível mais limpo, dentre outras vantagens. Porém, para utilizar esta biomassa lignocelulósica para produção de bioetanol, é possível com o desenvolvimento de novas tecnologias para converter o bagaço em etanol.

Uma alternativa que vem sendo intensivamente estudada é o processo de pirólise do bagaço de cana (Carrier et al., 2011; Dewangan et al., 2016; Mesa-Pérez et al., 2013; Tsai et al., 2006). A pirólise rápida é a decomposição térmica da biomassa na ausência de oxigênio. Produzindo três produtos principais, bio-óleo, biocarvão e gases não condensáveis. A pirólise rápida para produção de líquidos (bio-óleo) é bastante atrativa pela facilidade de transporte, devido ter maior densidade em relação à biomassa, facilidade no armazenamento/estocagem e manuseio com maior facilidade e menor custo quando comparado com a biomassa sólida, além de produzir um açúcar anidro (levoglucosana) que

1. INTRODUCTION

According to IEA (International Agency of Energy), the use of ethanol reduces on average 89% the gas emission responsible for the greenhouse effect (CO₂, CH₄ and NO₂) when compared to gasoline during its burning in engines. In Brazil and India, ethanol is produced from sugarcane; however, cane generates large amounts of cellulosic biomass during processing. The sugar and alcohol industries traditionally use sugarcane bagasse in the boilers to generate energy through their combustion, or in other applications such as fodder, animal feed, etc., but even so, there is a large bagasse surplus available (Mesa, 2011) and this excess has become a problem (Hoi et al., 2013). An alternative use of this by-product is the production of second generation ethanol, which offers several benefits to the sugar and alcohol industry. The benefits how, the use of sugarcane and its by-products, use of the raw material already available in the unit, logistic advantages, increase in ethanol production without expanding the area of cultivation, ethanol production during the off-season of the sugarcane, reduction of the carbon emission during the production, generating a cleaner fuel, among others. However, to use this lignocellulosic biomass for bioethanol production, it is possible by the development of new technologies to convert the bagasse into ethanol.

An alternative is the pyrolysis process of sugarcane bagasse (Carrier et al., 2011; Dewangan et al., 2016; Mesa-Pérez et al., 2013; Tsai et al., 2006). Fast Pyrolysis is the thermal decomposition of biomass in the absence of oxygen. Producing three main products, bio-oil, biochar and non-condensable gases. The fast pyrolysis to produce liquid (bio-oil) is very attractive for ease of transport because of having higher density compared to biomass, ease of storage / storage and handling with ease and lower cost when compared to the solid biomass in addition to produce an anhydrous sugar (levoglucosan) which

pode ser usado como matéria-prima para produção de diversos produtos, como etanol, metanol, lipídios, dentre outros produtos de interesse industrial.

Este trabalho tem por objetivo o desenvolvimento de um processo híbrido de conversão termoquímica da biomassa, integrando as tecnologias de fermentação para a produção de bioetanol. O destaque se dá, além do desenvolvimento de processo híbrido, o uso de matérias-primas não concorrentes com a cadeia alimentar e, ao mesmo tempo, o uso de biorreatores assistidos por campos eletromagnéticos visando aprimorar os processos de fermentação de bioetanol. Parte deste trabalho foi realizado na Washington State University sob a orientação do professor Manuel Garcia-Perez, no laboratório Biological Systems Engineering, na modalidade de Doutorado Sanduiche.

Em princípio trata-se de um tema estratégico para o Brasil que busca alcançar liderança no desenvolvimento de tecnologias de aproveitamento de resíduos agroindustriais com fontes renováveis para produção de bioenergia, onde além do Brasil, os Estados Unidos também exercem uma forte liderança em nível mundial. Segundo Moraes et al. (2012), o processo de pirólise da biomassa lignocelulósica oriunda do processamento da cana-de-açúcar no Brasil, que é uma tecnologia promissora, uma vez que o Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar. Vale a pena salientar que não há estudo utilizando a técnica de pré-tratamento com ácidos no bagaço de cana para produção de açúcares pirolíticos (levoglucosana).

can be used as raw material for producing various products, like ethanol, methanol, lipids, among other products of industrial interest.

This work aims to develop a thermochemical conversion process of biomass, integrating the fermentation technologies for bioethanol production. In addition to the development of a hybrid process, the use of non-competing raw materials with the food chain and, at the same time, the use of bioreactors assisted by electromagnetic fields aiming to improve the fermentation bioethanol processes. Part of this work was carried out at Washington State University under the coordination of Professor Manuel Garcia-Perez, in the Biological Systems Engineering lab, in the modality of Doctorate Sandwich.

At first, this is a strategic theme for Brazil, which seeks to achieve leadership in the development of technologies for the exploitation of agro-industrial waste with renewable sources for the production of bioenergy in addition to Brazil the United States also has a strong leadership in the world. According to Moraes et al. (2012), the process of pyrolysis of lignocellulosic biomass from sugarcane processing in Brazil, which is a promising technology, since Brazil is the world's largest producer of sugarcane. It is worth noting that there is no study using pre-treatment technique with acids in sugarcane bagasse for production of pyrolytic sugars (levoglucosan).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Composição química da biomassa: bagaço de cana-de-açúcar

As culturas tradicionais utilizadas para produção industrial de etanol de primeira geração, tais como, o milho, a beterraba e a cana-de-açúcar são incapazes de atender à demanda mundial de etanol. Dentre as razões estão, a sazonalidade na produção da matéria-prima, a localização geográfica e o seu valor primário na alimentação humana e animal, ou seja concorrência com a produção de alimentos (Sarkar et al. 2012; Tran et al., 2013; Balat et al., 2008).

O uso de matérias-primas resultante de resíduos agroindústrias, e portanto, não concorrentes com a cadeia alimentar, como a biomassa lignocelulósica, tem grande potencial para produzir biocombustíveis, mas requer pré-tratamentos para realizar a fermentação com micro-organismos e convertê-los em etanol (Cardona e Sánchez, 2007; Balat et al., 2008; Asgher et al., 2013). Atualmente, o uso da biomassa para geração de bioenergia corresponde a cerca de 10% da demanda global, tendo em vista que anualmente é estimada uma geração de $1,08 \times 10^{11}$ toneladas de biomassa lignocelulósica (Kan et al., 2016). O uso dessa matéria-prima para produção de bioetanol vem despertando cada vez mais o interesse no desenvolvimento de pesquisas visando o seu aproveitamento, uma vez que são de baixo custo, de fonte renovável e abundante na natureza (Sarkar et al., 2012; Balat et al., 2008). Neste sentido, o bagaço da cana-de-açúcar é uma biomassa que tem atraído a atenção de muitos pesquisadores principalmente para a produção de bioetanol. Uma vez que o processo de produção pode ser incorporado às indústrias sucroalcooleiras, requerendo menores investimentos, infraestrutura, logística e fornecimento de energia e por ser gerado na própria indústria não requer custo de transporte (Soccol et al., 2010).

2. LITERATURE REVIEW

2.1. Biomass chemical composition: sugarcane bagasse

Traditional crops used for industrial production of first-generation ethanol, such as corn, sugar beet and sugar cane, are unable to meet world demand for ethanol. Due to seasonality in the production of the raw material, the geographical location and its primary value in food and feed, i.e., competition with food production (Sarkar et al. 2012; Tran et al., 2013; Balat et al., 2008).

The use of raw materials resulting from agroindustrial residues, and therefore not competing with the food chain, such as lignocellulosic biomass, has great potential to produce biofuels, but requires pre-treatments to ferment with micro-organisms and convert them in ethanol (Cardona and Sánchez, 2007, Balat et al., 2008, Asgher et al., 2013). Currently, the biomass use for bioenergy generation corresponds to about 10% of global demand, considering that a generation of 1.08×10^{11} tons of lignocellulosic biomass is estimated annually (Kan et al., 2016). The use of this raw material for the production of bioethanol has been increasing interest in the development of research aimed at its use, since they are low cost, renewable source and abundant in nature (Sarkar et al., 2012; Balat et al., 2008). In this sense, sugarcane bagasse is a biomass that has attracted the attention of many researchers mainly for the production of bioethanol. Since the production, process can be incorporated attached to sugarcane industries, requiring less investment, infrastructure, logistics and energy supply, and because it is generated in the industry itself, it does not require transportation costs (Soccol et al., 2010).

Segundo o Ministério de Minas e Energia, a produção de cana-de-açúcar referente à safra 2014/15, fechou em 617 milhões de toneladas. Para cada tonelada de cana são gerados cerca de 270 kg de bagaço em base seca (Drummond e Drummond, 1996; Ortiz et al., 2012), ou seja, somente nesta safra foram gerados 166,59 milhões de toneladas de bagaço de cana, uma média de 185 milhões de toneladas de resíduos sólidos por safra (Rocha et al., 2015). Segundo Soccol et al. (2010), a cada 10 milhões de toneladas de bagaço de cana seco é capaz de produzir 600 milhões de galões de etanol. A quantidade de etanol de primeira geração produzido por hectare de cana-de-açúcar é cerca de 6000 L, se 50% desse bagaço de cana fosse convertido em etanol, sua produção chegaria a cerca de 10000 L/ ha (Soccol et al., 2010).

As indústrias sucroalcooleiras, tradicionalmente utilizam o bagaço de cana nas caldeiras para geração de energia através de sua combustão, porém a máxima eficiência energética é de apenas 26%, além dos riscos para a saúde devido às cinzas liberadas para a atmosfera (Garcia-Perez et al., 2002). Porém, as indústrias não utilizam todo o bagaço gerado, e isso tem se tornado um problema devido à um excesso desse subproduto (Hoi et al., 2013).

A composição média do bagaço de cana varia de 40 a 50% de celulose, 20 a 30% de hemicelulose, 20 a 25% de lignina e 1,5 a 3% de cinzas (Garcia-Perez et al., 2002; Ortiz et al., 2013). Essa composição varia de acordo com o estágio de corte da cana, espécies, fatores ambientais, maturidade no momento da colheita, práticas de colheita, eficiência na moagem, dentre outros (Hoi et al., 2013). Diante deste cenário, pesquisas estão sendo desenvolvidas para a utilização deste subproduto das indústrias sucroalcooleiras (Asgher et al., 2013; Jiang et al., 2015; Tsai et al., 2006) visando principalmente a produção de bioetanol.

Contudo, a produção de bioetanol a partir de matérias-primas celulósicas apresenta muitos desafios devido às dificuldades encontradas nos métodos de pré-tratamento para deslignificação total da biomassa lignocelulósica (Sarkar et al. 2012; Shahsavarani et al., 2013; Tran et al., 2013) para obtenção do açúcar presente em sua estrutura. Uma das tecnologias para disponibilizar estes açúcares para fermentação é por meio de processos termoquímicos (pirólise rápida ou *fast pyrolysis*), sendo esta, uma tecnologia eficiente para converter a biomassa em bioenergia (Zhang et al., 2013).

According to Brazilian Ministry of Mines and Energy, the harvest production of sugarcane in 2014/15 closed with a total volume of 617 million tons. For each sugarcane ton, about 270 kg of bagasse is generated on a dry basis (Drummond and Drummond, 1996; Ortiz et al., 2012), only in this harvest 166.59 million tons of sugarcane bagasse were generated. An average of 185 million tons of solid waste per sugarcane crop (Rocha et al., 2015). According to Soccol et al. (2010), every 10 million tons of dry sugarcane bagasse is capable to produce 600 million gallons of ethanol. The amount of ethanol produced per hectare of sugarcane is about 6000 L, if 50% of this sugarcane bagasse is converted into ethanol, ethanol production would reach about 10000 L / hectare (Soccol et al., 2010).

The sugarcane industry traditionally uses sugarcane bagasse in boilers to generate energy through its combustion, but the maximum energy efficiency is only 26%, in addition is one of the main health risks due to the ashes released into the atmosphere (Garcia-Perez et al., 2002). However, the industries do not use all the bagasse generated in sugarcane processing, and this has become a problem due an excess of this by-product (Hoi et al., 2013).

The average composition of sugarcane bagasse ranges from 40 to 50% cellulose, 20 to 30% hemicellulose, 20 to 25% lignin and 1.5 to 3% ash (Garcia-Perez et al., 2002; Ortiz et al., 2013). This composition varies according to the sugarcane cutting stage, species, environmental factors, maturity at harvest time, harvesting practices, grinding efficiency, among others (Hoi et al., 2013). In this context, researches are being developed for the use of this by-product of sugarcane industries (Asgher et al., 2013, Jiang et al., 2015, Tsai et al., 2006), mainly for the production of bioethanol.

However, the production of bioethanol from cellulosic feedstocks presents many challenges due to the difficulties encountered in pretreatment methods for total delignification of lignocellulosic biomass (Sarkar et al., 2012; Shahsavarani et al., 2013; Tran et al., 2013) to obtain the sugar present in its structure. One of the technologies to make these sugars available for fermentation is through thermochemical processes (fast pyrolysis), as this is an efficient technology to convert biomass into bioenergy (Zhang et al., 2013).

2.2 Transformação termoquímica da biomassa

O aproveitamento da biomassa pode ser feito por processos termoquímicos, nos quais decompõem a biomassa em três produtos principais: bio-óleo, biocarvão e gases não condensáveis (Zhou et al., 2013). Dependendo dos parâmetros de processo, obtém diferentes proporções destes produtos. A Tabela 1 apresenta os diferentes tipos de processos termoquímicos bem como, a porcentagem de formação de seus produtos. Como pode observar, a pirólise rápida otimiza a produção de produto líquido (bio-óleo), a gaseificação maximiza a formação de gás e a torrefação maximiza a formação de sólidos, biocarvão.

Tabela 1. Formação dos produtos durante os principais processos termoquímicos da biomassa (Bridgwater, 2003; Bridgwater, 2012).

Processo	Condições do processo	biocarvão (%)	Gases	
			Fração líquida (%)	Gases não condensáveis (%)
Torrefação	200 a 300 °C, baixa taxa de aquecimento, longo tempo de residência dos vapores	80	0	20
Pirólise rápida	350 a 600 °C, alta taxa de aquecimento, curto tempo de residência dos vapores (<2 s).	12	75	13
Gaseificação	(800 a 900°C, alta taxa de aquecimento, longo tempo de residência dos vapores.	10	5	85

Dentre os processos termoquímicos mais utilizados, pode destacar a combustão, torrefação, a pirólise e a gaseificação. Estes processos representam mais de 95% da valorização energética de biomassa (Mores et al., 2013; Ortiz et al., 2013). Dentre estas tecnologias, a pirólise e a gaseificação são as mais vantajosas, uma vez que é possível obter uma maior conversão de energia quando comparado com o processo de combustão (Garcia-Perez et al., 2002).

2.2 Thermochemical transformation of biomass

The biomass can be use by thermochemical processes, in which decomposes into three main products, bio-oil, bio-carbon and non-condensable gases. Depending on the process parameters, can get different proportions of these products. Table 1 shows the different types of thermochemical processes as well as the percentage of formation of their products. As can be seen, rapid pyrolysis optimizes the production of liquid product (bio-oil), gasification maximizes gas formation and roasting maximizes the formation of solids, biochar.

Table 1. Formation of products during the main thermochemical processes of biomass (Bridgwater, 2003; Bridgwater, 2012).

Process	Process conditions	Bio-char (%)	Gas	
			Liquid fraction (%)	Non-condensable gases (%)
Torrefaction	200-300 °C, low heating rate, long residence time of vapors.	80	0	20
Fast pyrolysis	350-600 °C, high heating rate, short residence time of vapors (< 2 s).	12	75	13
Gasification	800-900 °C, high heating rate, long residence time of vapors.	10	5	85

Among the most used thermochemical processes, we can highlight the combustion, roasting, pyrolysis and gasification. These processes represent more than 95% of the biomass energy valorization (Mores et al., 2013, Ortiz et al., 2013). Among these technologies, pyrolysis and gasification are the most advantageous since it is possible to achieve a greater conversion of energy when compared to the combustion process (Garcia-Perez et al., 2002).

O processo de pirólise pode ser realizado por meio de duas tecnologias, a pirólise convencional ou a pirólise rápida. A pirólise convencional maximiza o rendimento de gás combustível utilizando alta temperatura (500 °C), baixa taxa de aquecimento (10 °C/min) e longo tempo de residência (60 min), produzindo três produtos principais (bio-óleo, biocarvão e gases não condensáveis). Por outro lado, visando maximizar o rendimento do produto líquido tem o processo de pirólise rápida ou *flash pyrolysis*. Neste processo trabalha com elevada taxa de aquecimento (>100 °C/min) e alta taxa de transferência de calor na ausência de oxigênio. Pequenas partículas de biomassa (<1 mm) são alimentadas no reator a altas temperaturas (cerca de 500 °C) seguido do rápido resfriamento dos vapores resultantes da pirólise, gerando o bio-óleo bruto (Tsai et al., 2006; Qi et al., 2007; Cai e Liu 2016; Oudenhoven et al., 2015; Solar et al., 2016; Kan et al., 2016).

Os gases não condensáveis geralmente são compostos de hidrogênio, monóxido de carbono, dióxido de carbono, metano e água (Jarboe et al., 2011). O biocarvão pode ser usado para queima como um substituto do carvão mineral, mas seu principal uso é juntamente com adubo ou fertilizantes no solo visando aumentar a produtividade das culturas (Jarboe et al., 2011). Já o bio-óleo tem diversas aplicações devido a suas características e composição.

O bio-óleo tem coloração marrom escuro, é constituído de uma mistura complexa de muitos compostos orgânicos formados pela degradação térmica de celulose, hemicelulose, lignina e outras biomoléculas originalmente presentes na biomassa vegetal (Li et al., 2013; Moraes et al., 2012). O rendimento dos produtos da pirólise rápida varia de acordo com vários fatores, dentre eles pode destacar, temperatura, tipo de reator, condições de operação, tipo e variedade de biomassa, dentre outros. Para alcançar um maior rendimento de bio-óleo, é importante estabelecer as melhores condições de processo.

Os parâmetros de processo de pirólise rápida têm sido amplamente estudados para estabelecer melhorias no processo e garantir bons rendimentos de bio-óleo utilizando bagaço de cana (Carrier et al., 2011; Dewangan et al., 2016; Mesa-Pérez et al., 2013; Tsai et al., 2006). Os parâmetros como, tamanho das partículas alimentadas no reator, taxa de aquecimento dentre outros.

In pyrolysis process, two technologies are employed: conventional pyrolysis and fast pyrolysis. Conventional pyrolysis aims to maximize fuel gas yield using high temperature (500 °C), low heating rate (10 °C/ min) and long residence time (60 min), producing three main products (bio-oil , bio-char and non-condensable gases). Alternatively, aiming to maximize the yield of liquid product, the flash pyrolysis process is used. This process works with high heating rate (> 100 °C/ min) and heat transfer rate in absence of oxygen. Small biomass particles (<1 mm) are fed in the reactor at high temperature (about 500 °C) followed by rapid cooling of the vapors, generating raw bio-oil (Tsai et al., 2006; Qi et al., 2007; Cai e Liu 2016; Oudenhoven et al., 2015; Solar et al., 2016; Kan et al., 2016).

The non-condensable gases are generally composed by hydrogen, carbon monoxide, carbon dioxide, methane and water (Jarboe et al., 2011). Bio-char can be used for burning as a substitute for coal, but its main use is as fertilizer to increase crop productivity (Jarboe et al., 2011). Bio-oil has several applications due to its characteristics and composition.

The bio-oil is dark brown and consists of a complex mixture of many organic compounds formed by thermal degradation of cellulose, hemicellulose, lignin and other biomolecules originally present in lignocellulosic biomass (Mora et al. 2012). The products yield in rapid pyrolysis varies according to several factors, such as pyrolysis temperature, reactor type, operating conditions, type and variety of biomass, among others. It must then establish the best process conditions to achieve a good bio-oil yield.

The rapid pyrolysis process parameters has been studied to establish improvements in the process and to obtain more yields in bio-oil production with sugarcane bagasse (Carrier et al., 2011; Dewangan et al., 2016; Mesa-Pérez et al., 2013; Tsai et al., 2006). Parameters such as particle size fed to the reactor, rate of heating, among others.

Segundo Ortiz e colaboradores (2013), partículas de bagaço de cana entre 420 a 840 μm permitem obter um maior rendimento de bio-óleo. Os autores atribuem este parâmetro a problemas relacionados com a transferência de calor e massa, o que está relacionado com a quantidade de cinzas geradas e conseqüente, uma menor produção de líquidos (Ortiz et al., 2013). Outro parâmetro importante, é a taxa de aquecimento, a qual pode desencadear diversas reações como desidratação, despolimerização, carbonilação, carboxilação, dentre outras reações que afetam o rendimento dos produtos durante o processo (Tsai et al., 2006; Ortiz et al., 2013; Liaw et al., 2014; Zhou et al., 2013). Ortiz e colaboradores (2013), estudaram diferentes taxas de aquecimento durante a pirólise convencional do bagaço de cana (10, 20 e 40°C/min), os autores verificaram que a taxa de 10°C/min favorece a formação de compostos voláteis, alcançando altos rendimentos no processo. Além desses fatores, o tempo de residência e o teor de umidade da biomassa também influenciaram no rendimento dos produtos durante o processo de pirólise (Ortiz et al., 2013; Tsai et al., 2006). Tsai et al., (2006) realizaram um estudo de pirólise rápida de diferentes resíduos agrícolas (palha de arroz, bagaço de cana e casca de coco) em um reator de aquecimento por indução de leito fixo. Foram avaliados os parâmetros de processo (temperatura de pirólise, taxa de aquecimento e tempo de residência) de acordo com os rendimentos dos produtos formados para as respectivas biomassas. Os autores observaram que a temperatura de 500 °C favoreceu o rendimento de bio-óleo, com partículas menores que 500 μm e uma taxa de aquecimento de 200 °C/min e tempo de residência menor que 2 min. Dentre as três biomassas, o bagaço de cana alcançou o melhor rendimento na produção de bio-óleo (50%), e uma grande quantidade de água (>65%), devido ao teor de umidade da biomassa alimentada no reator.

Além de estabelecer os parâmetros para obter um melhor rendimento dos produtos gerados na pirólise, a composição do bio-óleo também deve ser levada em consideração (Moraes et al., 2012). A composição varia de acordo com o tipo de biomassa, teor de umidade, parâmetros de processo (Bridgwater et al 1999; Kan et al., 2016). Moraes et al. (2012) identificaram 123 compostos no bio-óleo produzido a partir do bagaço de cana.

According to Ortiz et al. (2013), sugarcane bagasse particles between 420-840 μm allow to obtain a higher yield of bio-oil. The authors attribute this parameter to problems related to the transfer of heat and mass, which was related to the amount of generated ash and consequent, a lower production of liquid products (Ortiz et al., 2013). Another important parameter is the rate of heating, which can trigger several side reactions such as dehydration, depolymerization, carbonylation, carboxylation, among other that affect the yield of the products during the process (Tsai et al., 2006; Ortiz et al., 2013; Liaw et al., 2014; Zhou et al., 2013). Ortiz et al. (2013), studied different heating rates during conventional pyrolysis of sugarcane bagasse (10, 20 and 40 $^{\circ}\text{C} / \text{min}$), the authors found that a rate of 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ favors the formation of volatiles, achieving higher yields in the process. Besides these factors, the residence time and the moisture content of the biomass also influenced the yield of the products during the pyrolysis process (Ortiz et al., 2013; Tsai et al., 2006). Tsai et al., (2006) carried out a fast pyrolysis study with different agricultural residues (rice straw, sugarcane bagasse and coconut husk) in a fixed bed induction heating reactor. The process parameters (pyrolysis temperature, heating rate and residence time) was evaluated according to the yields of the products formed for the respective biomasses. The authors observed that the temperature of 500 $^{\circ}\text{C}$ favored the bio-oil yield, with particles smaller than 500 μm and a heating rate of 200 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ and residence time less than 2 min. Among the three biomasses, the sugarcane bagasse achieved the best yield in bio-oil production (50%), and a large amount of water (> 65%) due to the moisture content of biomass fed into the reactor.

In addition to establishing the parameters to obtain a better yield of the products generated in the pyrolysis, the bio-oil composition should also be consider (Moraes et al., 2012). The composition varies according to biomass type, moisture content, process parameters (Bridgwater et al 1999; Kan et al., 2016). Moraes et al. (2012) identified 123 Compounds in a bio-oil produced from sugarcane bagasse.

Estes compostos geralmente são divididos em classes, como açúcares, ácidos, ésteres, aldeídos cetonas, fenóis além de outros minoritários, hidrocarbonos, compostos nitrogenados, dentre outros grupos (Moraes et al., 2012; Tsai et al., 2006). Os produtos da pirólise do bagaço de cana têm diferentes aplicabilidades, como por exemplo: (a) como um combustível líquido (Asadullah et al., 2007), (b) os gases não condensáveis para geração de eletricidade (Arni et al., 2010), e (c) o carvão pode ser usado para a produção de carvão ativado (Gonçalves et al., 2016).

2.3 Açúcares pirolíticos

A formação de açúcares pirolíticos durante a pirólise da biomassa varia de acordo com vários fatores, tais como: o tipo de material lignocelulósico, da composição da biomassa, do grau de polimerização da celulose, da porosidade, das condições dos pré-tratamentos e das condições de operação do reator (Ortiz et al., 2013). O bio-óleo geralmente pode conter mais de 10% em peso de levoglucosana (1,6-anidro- β -D-glucopiranosose), um açúcar anidro que pode ser hidrolisado em glicose, o qual é um açúcar fermentável com prévio processo de detoxificação, tornando a biomassa lignocelulósica uma matéria-prima com potencial para produção de bioetanol (Jarboe et al., 2011; Lian et al., 2010; Bennett et al., 2009; Chan e Duff, 2010). A levoglucosana também pode ser utilizada como fonte de carbono para a produção de diversos produtos tais como, lipídios (Lian et al., 2013), ácido cítrico (Zhuang et al., 2001), etanol (Layton et al., 2011; Chi et al., 2013), dentre outros. Pesquisas estão fortemente focadas no aumento da formação de levoglucosana durante o processo de pirólise, para isso, são utilizadas diferentes técnicas de pré-tratamento da biomassa antes do processo de pirólise.

A biomassa lignocelulósica contém metais alcalinos e alcalinos terrosos, estes compostos são considerados como catalisadores durante a pirólise, o que afeta o rendimento de formação de açúcares durante o processo de formação do bio-óleo, por isso, estes precisam ser previamente removidos da biomassa lignocelulósica (Kuzhiyil et al., 2012).

These compounds are generally divided into classes, such as sugars, acids, esters, aldehydes, ketones, phenols as well as other minorities, hydrocarbons, nitrogen compounds, among other groups (Moraes et al., 2012; Tsai et al., 2006). The pyrolysis products from sugar cane bagasse have different applicability such as: (a) liquid fuel (Asadullah et al., 2007), (b) non-condensable gas for electricity generation (Arni et al., 2010), and (c) coal that can be used for the production of activated carbon (Gonçalves et al., 2016).

2.3 Pyrolytic sugars

The formation of pyrolytic sugars during pyrolysis of biomass varies according to several factors, such as the type of lignocellulosic material, biomass composition, and degree of polymerization of cellulose, porosity, pre-treatment conditions and reactor operation conditions (Ortiz et al., 2013). The bio-oil may contain generally more than 10% by weight of levoglucosan (1,6-Anhydro-beta-glucopyranose). An anhydrous sugar that can be hydrolyzed to glucose, which is a fermentable sugar with a previous detoxification process, covering the lignocellulosic biomass to a raw material with bioethanol production potential (Jarboe et al., 2011; Lian et al., 2010; Bennett et al., 2009; Chan e Duff, 2010). The levoglucosan can also be used as carbon source for production of various products such as lipids (Lian et al., 2013), citric acid (Zhuang et al., 2001), ethanol (Layton et al., 2011; Chi et al., 2013), among others. Researchs are focused on increasing the levoglucosan formation during the pyrolysis process, using different biomass pretreatment techniques, before the pyrolysis process.

The lignocellulosic biomass contains alkaline metals and alkaline earth, these compounds are considered as catalysts during pyrolysis, which affects the sugar yield formation during the bio-oil formation process, therefore, these need to be previously removed from the lignocellulosic biomass (Kuzhiyil et al., 2012).

Uma das estratégias para a remoção dos compostos alcalinos, tem sido o tratamento da biomassa com diferentes tipos de ácidos orgânicos e inorgânicos, dentre eles o ácido clorídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido fórmico e ácido acético (Pecha et al., 2015; Li et al 2013; Zhou et al., 2013; Kuzhiyil et al., 2012) alcançando até 31% de rendimento em base seca de levoglucosana.

A Tabela 2 apresenta alguns trabalhos que utilizam técnicas de pré-tratamento em diferentes tipos de biomassa com o objetivo de obter maior rendimento de levoglucosana durante o processo de pirólise. Como pode observar têm casos que a concentração de levoglucosana alcançou mais de 40% em massa em comparação à biomassa sem tratamento. Estes trabalhos mostram a importância de realizar o pré-tratamento na biomassa antes do processo de pirólise. Vale a pena salientar que não há estudo utilizando a técnica de pré-tratamento com ácidos no bagaço de cana para produção de açúcares pirolíticos (levoglucosana).

A remoção destes metais alcalinos e alcalinos terrosos é relativamente fácil, este pré-tratamento remove a maioria dos metais alcalinos presentes na biomassa (Pecha et al., 2015), alcançando rendimento de até o dobro de formação de levoglucosana em relação à biomassa não tratada (Zhou et al., 2013). Uma técnica para verificar a remoção destes compostos alcalinos na biomassa é por meio da análise de ICP (*Inductively coupled plasma*) acoplado ao espectrômetro de massa (ICP/MS) ou Espectrometria de Emissão Óptica (ICP-OES), na qual é possível determinar a concentração dos principais metais (Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, S, Zn) presentes na biomassa. Não se sabe ao certo qual o efeito destes metais na biomassa durante a pirólise, como interferem no rendimento, na formação dos produtos da pirólise e na composição dos produtos, como por exemplo, o bio-óleo (Pecha et al., 2015).

One of the strategies to remove of alkalines compounds has been the treatment of biomass with different types of organic and inorganic acids, such as: hydrochloric acid, nitric acid, phosphoric acid, sulfuric acid, formic acid and acetic acid (Pecha et al., 2015; Li et al 2013; Zhou et al., 2013; Kuzhiyil et al., 2012) reaching up to 31% dry levoglucosan yield.

Table 2 presents some studies that use pre-treatment techniques with different types of biomass in order to obtain an improvement levoglucosan yield during the pyrolysis process. As can see in some cases the levoglucosan production reached more than 40% by mass compared to the untreated biomass. These studies show the importance of biomass pre-treatment before the pyrolysis process. It is worth noting that there is no study using the acid pre-treatment technique in sugarcane bagasse to produce pyrolytic sugars (levoglucosan).

The removal of these alkaline and alkaline earth metals is relatively easy, this pre-treatment removes most of the alkaline metals present in the biomass (Pecha et al., 2015), and achieving a yield of up to twice the formation of levoglucosan in relation to untreated biomass (Zhou et al., 2013). A technique to verify the removal of these alkaline compounds in the biomass is through the analysis of ICP (Inductively coupled plasma) coupled to the mass spectrometer (ICP/MS) or Optical Emission Spectrometry (ICP-OES), in which it is possible to determine the concentration of the main metals (Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, S, Zn) present in biomass. Is not well know the effects of these metals on biomass during pyrolysis, how they interfere with yield, with the formation of pyrolysis products and product composition, such as bio-oil (Pecha et al., 2015).

Tabela 2. Estudos utilizando pré-tratamento na biomassa visando aumento na formação de levoglucosana durante a pirólise.

Tipo de biomassa	Condições de tratamento	Rendimento de levoglucosana	Ref.
Microcristais de celulose	Impregnação com H ₃ PO ₄ em diferentes concentrações (0,05 a 3,0%) com posterior filtragem e secagem da biomassa (a 40 °C sob vácuo).	Microcristais de celulose: aumento de 40% de levoglucosana com 0,5% de ácido.	Dobele et al., 2003.
Madeira <i>Eucalyptus loxophleba</i> Celulose pura	Lavagem da biomassa com água deionizada e/ou HNO ₃ (0,1% massa). Efeito da temperatura de pirólise (350 a 600 °C).	Rendimento de 9% de levoglucosana. Pirólise a 600 °C favoreceu a formação de levoglucosana com um rendimento de 40%.	Mourant et al., 2011 Patwardhan et al., 2010
Douglas-fir	Efeito da temperatura (200 a 370 °C) de pré-tratamento da madeira.	Temperaturas de tratamento abaixo de 200 °C não afetaram a formação de levoglucosana (4%), porém em temperaturas acima de 200 °C houve queda no rendimento de levoglucosana.	Liaw et al., 2013
Douglas-fir	Lavagem da biomassa com HNO ₃ e impregnação com H ₂ SO ₄ ; HNO ₃ e H ₃ PO ₄ (0,05; 0,1; 0,3 e 0,5% massa), pirólise a 500 °C.	Os maiores rendimentos de levoglucosana foram alcançados utilizando as respectivas concentrações de ácidos: 0,05% de H ₂ SO ₄ ; 0,05% de HNO ₃ e 0,3% de H ₃ PO ₄ .	Pecha et al., 2015
Douglas fir e hybrid poplar	Lavagem da biomassa com HNO ₃ (0,1%) mais a impregnação com H ₂ SO ₄ (0,0005; 0,001; 0,003 e 0,005 g H ₂ SO ₄ /g biomassa seca).	Aumento de 50% na formação de levoglucosana em relação ao controle.	Zhou et al., 2013

Table 2. Studies using pre-treatment in the biomass aiming increase in the formation of levoglucosana during pyrolysis.

Biomass	Pre-treatment condition	Yields of levoglucosan	Ref
Cellulose microcrystals	Impregnation with H ₃ PO ₄ in different concentration (0.05 a 3.0%) with subsequent filtration and drying of the biomass (at 40 °C under vacuum).	Increase of 40% levoglucosan with 0.5% acid.	Dobele et al., 2003.
<i>Eucalyptus loxophleba</i>	Washing the biomass with deionized water and / or HNO ₃ (0.1% mass).	Yield of 9% of levoglucosan.	Mourant et al., 2011
Cellulose	Pyrolysis temperature effect (350 to 600 °C).	Pyrolysis at 600 °C favored the formation of levoglucosan to yield 40%.	Patwardhan et al., 2010
Douglas-fir	Effect of pre-treatment temperature in wood (200 to 370 °C).	Treatment temperatures below 200 °C did not affect the formation of levoglucosan (4%), but temperatures above 200 °C show a decrease in levoglucosan yield.	Liaw et al., 2013
Douglas-fir	Washing the biomass with HNO ₃ and H ₂ SO ₄ ; HNO ₃ e H ₃ PO ₄ impregnation (0.05; 0.1; 0.3 and 0.5% mass), pyrolysis at 500 °C.	The higher yields of levoglucosan was achieved using the respective acid concentrations: 0.05% of H ₂ SO ₄ ; 0.05% of HNO ₃ and 0.3% of H ₃ PO ₄ .	Pecha et al., 2015
Douglas fir and hybrid poplar	Washing the biomass with HNO ₃ (0.1%) H ₂ SO ₄ impregnation (0.0005; 0.001; 0.003 and 0.005 g H ₂ SO ₄ /g dry biomass).	Increase of 50% in the formation of levoglucosan in relation to the control.	Zhou et al., 2013

2.4 Processos de fermentação para produção de etanol usando açúcares pirolíticos

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é o micro-organismo mais usado na fermentação para a produção de etanol devido à sua capacidade de crescimento em altas concentrações de açúcar e pelo seu alto rendimento de etanol (Ko et al., 2016). Durante a produção de etanol sob condições anaeróbicas, a principal via metabólica usada pelas leveduras é a glicólise, para cada molécula de glicose são produzidas duas moléculas de piruvato que então é reduzido a etanol com liberação de duas moléculas de CO₂ (Kourkoutas et al., 2004). O rendimento em massa na produção de etanol é de 0,511 e 0,489 para CO₂ além de dois ATP's que são usados para a biossíntese das células. Além do etanol e CO₂, vários subprodutos também são produzidos durante a fermentação, tais como, glicerol (cerca de 1% m/v), ácidos orgânicos e até mesmo crescimento celular, o que acaba diminuindo o rendimento na produção de etanol (Kourkoutas et al., 2004).

Com interesse na utilização da biomassa lignocelulósica como fonte de matéria-prima surge a necessidade do estudo de micro-organismos que sejam capazes de converter açúcares pirolíticos (levoglucosana) em etanol. Contudo, existem referências de micro-organismos modificados geneticamente que usam levoglucosana como fonte de carbono para produzir etanol (Layton et al., 2011).

2.5 Fermentação para produção de etanol com células imobilizadas

O processo de imobilização de células microbianas para a fermentação para produção de etanol foi desenvolvido para eliminar a inibição causada pela alta concentração de substrato e produto durante a fermentação, aumentar a produtividade e o rendimento devido à maior concentração de células dentro do reator, à reutilização das partículas com as células imobilizadas, à facilidade de separação do produto ao final do processo, além da diminuição da susceptibilidade celular aos compostos inibitórios, à variação de pH, ao esgotamento de nutrientes em relação às células livres (Mishra et al., 2016; Najafpour et al., 2004), além de que as células imobilizadas são menos susceptíveis à produção de compostos secundários e ao crescimento celular na fermentação para a produção de etanol (Kourkoutas et al., 2004).

2.4 Fermentation processes for the production of ethanol using pyrolytic sugars

Saccharomyces cerevisiae yeast is the most used microorganism in fermentation for the production of ethanol due to its ability to grow in high concentrations of sugar and its high yield of ethanol (Ko et al., 2016). During the production of ethanol under anaerobic conditions, the main metabolic pathway used by yeast is glycolysis, for each glucose molecule two molecules of pyruvate are produced, pyruvate is then reduced to ethanol with the release of two molecules of CO₂ (Kourkoutas et al., 2004). The mass yield in ethanol production is 0.511 and 0.489 for CO₂ plus two ATP's that are used for cell biosynthesis. In addition to ethanol and CO₂, several by-products are also produced during fermentation for the production of ethanol, such as glycerol (about 1% mv), organic acids and even cell growth, which decreases yields in ethanol production (Kourkoutas et al., 2004).

With interest in the use of lignocellulosic biomass as a source of raw material, it is necessary to study microorganisms that are capable to transform pyrolytic sugars (levoglucosan) into ethanol. However, there are references of genetically modified microorganisms that use levoglucosan as a source of carbon to produce ethanol (Layton et al., 2011).

2.5 Fermentation for ethanol production with immobilized cells

The cell immobilization process for fermentation for ethanol production was developed to eliminate the inhibition process caused by the high concentration of substrate and product during fermentation. Also, to increase the productivity and yield in the ethanol production during the fermentation, allow to work with higher cells concentration inside the reactor. The reuse of the particles with the immobilized cells, the ease of separation of the product and the cells are less susceptible to effect inhibitory compounds, pH variation, nutrient depletion in relation to free cells (Mishra et al., 2016; Najafpour et al., 2004). Another advance is that the immobilized cells are less susceptible to the production of secondary compounds and cell growth during the fermentation process for ethanol production (Kourkoutas et al., 2004).

Entretanto, quando as células estão imobilizadas pode haver uma limitação no fornecimento de nutrientes, devido ao fato de que nem todas as células entram em contato com os nutrientes do meio, recebendo os nutrientes apenas por difusão (Najafpour et al., 2004; Kourkoutas et al., 2004). Um agente bastante utilizado para a imobilização das células é o alginato de sódio.

O alginato de sódio é um polissacárido linear, normalmente isolado de muitas espécies de algas marinhas e carapaças de caramujos, este polímero tem muitas aplicabilidades, como em produtos alimentares, farmacêuticos, têxteis, papel e agente espessante, na formação de gel e películas (Najafpour et al., 2004). Durante o processo de imobilização ocorre trocas de íons de sódio com íons de cálcio em solução resultando na solidificação de alginato de sódio em contato com solução de cloreto de cálcio formando assim, as partículas de alginato de cálcio (Najafpour et al., 2004). Na Tabela 3, encontra-se alguns trabalhos que utilizaram o alginato de sódio para imobilizar células de *S. cerevisiae* para fermentação para produção de etanol. Cada autor utiliza um método de imobilização, variando a concentração de células, o diâmetro das partículas, a concentração de cloreto de cálcio, o tempo de gelificação do alginato durante o processo de imobilização das células da levedura.

Outro método de imobilização é por meio da adsorção das células na partícula de alginato de cálcio, onde as partículas são adicionadas ao meio de crescimento celular e as células crescem aderidas nas partículas ou dentro dos poros das partículas (Liu et al., 2008; Jin et al., 2012). Liu et al. (2008) adicionaram as partículas no meio de cultura e incubaram a 30 °C e 150 rpm durante 48 h. Os autores a determinaram uma concentração celular na partícula de alginato de cálcio de 10^8 células/mL.

Além das partículas de alginato de cálcio, outros tipos de suportes têm sido usados para imobilização celular na fermentação para a produção de etanol, como esferas cerâmicas porosas (Bard et al., 2001), material celulósico poroso (Ganatsios et al., 2014), resíduos da indústria de seda (Rattanapan et al., 2011).

Antes da fermentação, alguns trabalhos fazem um processo de ativação das esferas, no qual colocam as partículas com as células imobilizadas em meio fresco a 30 °C durante 2 h sob agitação (120 rpm). Os autores justificam que este método é usado para desenvolver um microambiente celular nas partículas (Birol et al., 1998; Jin et al., 2012).

However, when cells are immobilized can be a limitation in nutrients supply due that not all cells are in contact with the nutrient medium, the nutrients receiving only by diffusion (Najafpour et al., 2004; Kourkoutas et al., 2004). A compound widely used for the immobilization of cells is sodium alginate.

Sodium alginate is a straight chain polysaccharide, normally isolated from many seaweed species and snail shells. This polymer has many applicabilities, such as in food, pharmaceutical, textile, paper and thickening agents, in the formation of gel and films (Najafpour et al., 2004). During the immobilization process, sodium ion exchanges with calcium ions in solution resulting in the solidification of sodium alginate in contact with calcium chloride solution, thus forming the calcium alginate particles (Najafpour et al., 2004). Table 3 shows, some studies employing sodium alginate immobilized cells of *S. cerevisiae* for fermentation to produce ethanol. Each author uses a method of immobilization, varying the cell concentration, particle diameter, calcium chloride concentration, gelation time of the alginate during the cell immobilization process.

Another immobilization method is by adsorption of the cells on the calcium alginate particle. The particles were add to the cell growth medium and the cells grow adhered to the particles or within the pores of alginate particles (Liu et al., 2008; Jin et al., 2012). Liu et al. (2008) added the particles in the culture medium and incubated at 30 °C, 150 rpm for 48 h. The authors determined the amount of yeast in the particles and obtaining a cell concentration in the calcium alginate particle of 10^8 cells/mL.

Another supports types have been used for cellular immobilization in fermentation for ethanol production, such as porous ceramic beds (Bard et al., 2001), porous cellulosic material (Ganatsios et al., 2014), waste from the silk industry (Rattanapan et al., 2011).

Before performing the fermentation with the cells immobilized on the particles, some works prepare a process, which they call activation of the beds, in which the particles was placed with the immobilized cells in fresh medium at 30 °C for 2 h under stirring (120 rpm) before starting the fermentation experiments. The authors justify that this method was used to develop a microenvironment for the cells inside of the particles (Birol et al., 1998; Jin et al., 2012).

Tabela 3. Estudos utilizando alginato de sódio para imobilização celular para fermentação para produção de etanol.

Microrganismo	Razão alginato: células	Diâmetros das partículas	CaCl₂	Condições de fermentação	Produção de etanol	Ref.
<i>Kluyveromyces marxianus.</i>	Alginato de sódio (4%): 20 mg de biomassa seca/mL solução de alginato.	3,8 mm.	0,1 mol/L de CaCl ₂ durante 30 min sob agitação.	Biorreator leito fluidizado.	Rendimento teórico de 87%.	Gabardo et al., 2012.
<i>Saccharomyces cerevisiae.</i>	Alginato de sódio (3%): com cultivo de levedura.	5,01 ± 0,23 mm.	CaCl ₂ (2% m/v) durante 30 min sob agitação.	Reator de coluna tubular.	Rendimento teórico de 46,23%.	Ghorbani et al., 2011.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CICC 1308.	As partículas foram adicionadas no meio de cultura (1:10 (m/m)).	3,00 mm.	CaCl ₂ 2% (m/v) agitado durante 20 min.	Frascos no shaker.	42,36 %.	Jin et al., 2012.
<i>Saccharomyces cerevisiae.</i>	Alginato de sódio 4% (m/v): levedura (10 ⁸ UFC/mL).	4,0 mm.	CaCl ₂ 2,0% (m/v) mantido 16 h a 120h a 4°C.	Reator de leito empacotado.	Rendimento de 99% e produtividade de 24,61g/L/h.	Mishra et al., 2016.
<i>Saccharomyces cerevisiae.</i>	Alginato de sódio (1,5 - 6%): densidade celular por partículas 3,1 g/L.	4,5 – 5,0.	120 g de CaCl ₂ em 2 L água destilada.	Reator de coluna com sistema de leito empacotado.	Produtividade de 88,2%.	Najafpour et al., 2004.

Table 3. Studies using sodium alginate for cell immobilization in the fermentation for ethanol production.

Microorganism	Alginate: cells ratio	Particle diameters	CaCl ₂	Fermentation conditions	Ethanol production	Ref
<i>Kluyveromyces marxianus</i> .	Sodium alginate (4%): 20 mg dry biomass/mL of alginate solution.	3.8 mm.	0.1 mol/L de CaCl ₂ for 30 min with stirring.	Fluidized bed bioreactor.	Yield of 87%.	Gabardo et al., 2012.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	Sodium alginate (3%): on yeast cultivation.	5.01 ± 0.23 mm.	CaCl ₂ (2% <i>m/v</i>) for 30 min with stirring.	Tubular column reactor.	Yield of 46.23%.	Ghorbani et al., 2011.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CICC 1308.	The particles were added to the culture medium (1:10 (<i>m/m</i>)).	3.00 mm.	CaCl ₂ 2% (<i>m/v</i>) stirred for 20 min.	Frask with stirring.	42.36 %.	Jin et al., 2012.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	Sodium alginate 4% (<i>m/v</i>): yeast (10 ⁸ UFC/mL).	4.0 mm.	CaCl ₂ 2.0% (<i>m/v</i>) kept for 16 h at 120h at 4°C.	Packed bed reactor.	Yield of 99% and productivity of 24.61gL/h.	Mishra et al., 2016.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	Sodium alginate (1.5 - 6%): cell density by particle: 3.1 g/L.	4.5 – 5.0.	120 g of CaCl ₂ on 2 L destilate water.	Column reactor with packed bed system.	Produtivity of 88.2%.	Najafpour et al., 2004.

2.6 Uso de células imobilizadas em partículas com propriedades magnéticas na produção de etanol

O uso de células imobilizadas com leveduras para produção de etanol tem sido extensivamente estudado visando o seu uso em reatores de leito fluidizado, obtendo melhorias no desempenho do processo de fermentação (Gabardo et al., 2012; Ivanova et al., 1996; Liu et al., 2009; Brady et al., 1996; Medina, 2013; Najafpour et al., 2004). Alguns trabalhos reportam o uso de partículas imobilizadas com propriedades magnéticas para permitir a separação do suporte sólido do meio de fermentação, facilitar a recuperação e permitir o uso de partículas de menor diâmetro (Al-Hassan et al., 1991).

O processo de imobilização celular, tem sido utilizado em diversas aplicações, como hidrólise de carboidratos, tratamento de resíduos, bebidas alcoólicas e outros tipos de fermentação (Al-Qodah et al., 2015; Al-Hassan et al., 1991).

Outra aplicação desses suportes com propriedade magnética é o seu uso em biorreatores de leito fluidizado estabilizado magneticamente, os quais utilizam um campo magnético para controlar o movimento das partículas magnéticas no leito (Ding e Sun, 2005; Sakai et al., 1994). Esses biorreatores oferecem suas vantagens em relação aos de leito fixo e de leito empacotado (Ding e Sun, 2005), tais como, diminuem problemas referentes a limitações de transferência de massa do meio líquido das células imobilizadas, permitem operação de maior velocidade de fluidização, com sistema de contracorrente, facilidade na separação (Tuzmen et al., 2010). A incorporação de magnetita nas partículas de alginato de cálcio com células de *S. cerevisiae* no processo de imobilização celular para produção de etanol foi estudada por Birnbaum et al. (1992), os autores concluíram que as partículas apresentaram bom desempenho, estabilidade operacional na fermentação (durante 3 semanas), capacidade para ativação, além de fornecer vantagens de manipulação, uma vez que neste estudo, magnetita foi adicionada na partícula para facilitar a separação usando um campo magnético no final do processo (Birnbaum et al., 1992).

2.6 Use of immobilized cells in particles with magnetic properties in the production of ethanol

The use of yeast immobilized cells for the production of ethanol has been extensively studied for its use in fluidized bed reactors, obtaining improvements in the performance of the fermentation process (Gabardo et al., 2012; Ivanova et al., 1996; Liu et al., 2009; Brady et al., 1996; Medina, 2013; Najafpour et al., 2004). Several papers report the use of immobilized particles with magnetic properties to allow separation of the solid support from the fermentation medium, facilitate recovery and allow the use of smaller particles (Al-Hassan et al., 1991).

The cellular immobilization process has been used in several applications, such as carbohydrates hydrolysis, residues treatment, alcoholic beverages and other types of fermentation (Al-Qodah et al., 2015; Al-Hassan et al., 1991).

Another application of these supports with magnetic property is their use in magnetically stabilized fluidized bed bioreactors, which utilize a magnetic field to control the movement of magnetic particles in the bed of the bioreactor (Ding e Sun, 2005; Sakai et al., 1994). These bioreactors offer their advantages over fixed-bed and packed-bed bioreactors, such as, reduce problems related to the mass transfer limitations of the liquid medium of the immobilized cells, allow a higher fluidization speed, work with countercurrent system, ease in separation (Tuzmen et al., 2010). The incorporation of magnetite on calcium alginate particles with *S. cerevisiae* cells immobilized for ethanol production was studied by Birnbaum et al. (1992). The authors concluded that the particles exhibited good performance, operational stability during fermentation (for 3 weeks), ability to activate, and to provide handling advantages, since in this study, magnetite was added to the particle to facilitate the separation using a magnetic field at the end of the fermentation (Birnbaum et al., 1992).

A Tabela 4 apresenta alguns trabalhos que reportam o processo de imobilização celular em partículas com propriedades magnéticas na produção de etanol em biorreatores assistidos por campo eletromagnético. Pode observar que o rendimento teórico de etanol se encontra em uma faixa de 73 a 96%. Outros autores reportam um aumento na produção de etanol usando essa tecnologia de células imobilizadas em biorreatores com campos magnéticos.

2.7 Biomagnetismo: aplicação em processos de fermentação

A aplicação de campos eletromagnéticos no desenvolvimento de bioprocessos para a obtenção de bioprodutos de interesse industrial tem sido desenvolvida por alguns grupos de pesquisas (Hristov, 2010; Hristov e Perez, 2011, Perez et al. 2007; Alvarez et al., 2006), contudo, a forma de interação destes campos eletromagnéticos sobre os mecanismos em nível molecular e celular ainda não tem sido totalmente elucidada. Em bioprocessos, à aplicação de campos magnéticos ou eletromagnéticos incluem uma ampla gama de fenômenos que vão desde alterações na taxa de crescimento, inibição, estimulação e até a produção de metabólitos (Justo et al., 2005; Novak et al., 2007; Alvarez et al., 2007; Hunt et al., 2009).

Diversos trabalhos foram desenvolvidos com diferentes tipos de biorreatores assistidos por campo eletromagnético para a produção de etanol (Perez et al., 2007; Lopes et al., 2012) visando estudar os efeitos biológicos dos campos eletromagnéticos nas células das leveduras durante a fermentação para a produção de etanol. Alguns desses efeitos sugerem alterações na taxa metabólica, inibição do crescimento celular e melhorias no rendimento na produção de metabólitos. De acordo com o trabalho realizado por Perez et al. (2007) utilizando a levedura *S. cerevisiae* sob uma intensidade de campo de 20 mT, os autores observaram um incremento na produção de etanol de aproximadamente de 17% em menor tempo de fermentação (2 horas a menos) em relação ao experimento controle (sem aplicação de campo magnético).

Table 4 shows some studies that report the cellular immobilization process in particles with magnetic properties in ethanol production in bioreactors assisted by electromagnetic field. Can be observed ethanol yield in range of 73-96%. Other authors report an increase in ethanol production using this technology of cells immobilized in bioreactors with magnetic fields.

2.7 Biomagnetism: application in fermentation processes

The application of electromagnetic fields in the development of bioprocesses to obtain byproducts of industrial interest has been developed by some research groups (Hristov, 2010; Hristov e Perez, 2011, Perez et al. 2007; Alvarez et al., 2006). However, the interaction of these electromagnetic fields on mechanisms at the molecular and cellular level has not yet been fully elucidated. In bioprocesses, the application of magnetic or electromagnetic fields includes a wide range of phenomena ranging from changes in growth rate, inhibition, stimulation and even the production of metabolites (Justo et al., 2005; Novak et al., 2007; Alvarez et al., 2007; Hunt et al., 2009).

Some publication developed different types of bioreactors assisted by electromagnetic field for ethanol production (Perez et al., 2007; Lopes et al., 2012) Aiming to study the biological effects of electromagnetic fields on yeast cells during fermentation for ethanol production. Some of these effects suggest changes in the metabolic rate, inhibition of cell growth and improvements in the yield of metabolites. According to Perez et al. (2007) using the *S. cerevisiae* yeast under a field strength of 20 mT, was observed an increase in ethanol production of approximately 17% in a lower fermentation time (2 hours less) in relation to the control experiment (without field application magnetic).

Tabela 4. Estudos com células imobilizadas em partículas com propriedades magnéticas para fermentação para produção de etanol.

Micro-organismo	Método de imobilização	Processo de fermentação	Rendimento de etanol	Ref.
<i>S. cerevisiae</i>	Partículas comerciais Haldor Topsoe KM-1. As partículas foram misturadas por 3 h com uma conc. de células $1,1 \times 10^{10}$ cel/mL.	Biorreator de leito fluidizado estabilizado magneticamente por um campo com linhas de campo transversal, intensidade de campo de 10,4 a 27,7 kA/m.	Aumento de 1,5 vezes no rendimento de etanol, rendimento teórico de 96% e produtividade de 59 g/L	Inova et al., 1996.
<i>S. cerevisiae</i> GT4608	Suspensão de células ($\geq 10^8$ cel/mL) em solução de alginato de Na (3,0%, m/v) com 5,0% (m/v) ferro em pó.	Biorreator com leito fluidizado estabilizado magneticamente com intensidade de campo de 85–120 Oe.	Rendimento teórico 95,3%, produtividade de 26,7 g/L/h	Liu et al., 2009.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> C12	Partículas de alginato + 100-250mg/mL de células+5-20% de Fe ₃ O ₄ (sist. 1); Quitosana (1%) + 50-150 mg de Fe ₃ O ₄ (sist. 2); celulose revestida com Fe ₃ O ₄ (sist. 3).	Biorreator de coluna	Rendimento teórico de etanol 88,8% (sist. 1); 74,5% (sist. 2) e 73,1% (sist. 3).	Ivanova et al., 2011.

Table 4. Studies with immobilized cells in particles with magnetic properties in fermentation for ethanol production.

Microorganism	Immobilization method	Fermentation Process	Yield of ethanol	Ref
<i>S. cerevisiae</i>	Commercial particles Haldor Topsoe KM-1. particles mixed for 3 h with conc. cells 1.1×10^{10} cell/mL.	Fluid bed bioreactor magnetically stabilized by a field with transverse field lines, field intensity of 10.4 – 27.7 kA/m.	1.5-fold increase in ethanol yield, theoretical yield of 96% and yield of 59 g/L	Inova et al., 1996.
<i>S. cerevisiae</i> GT4608	Cell suspension ($\geq 10^8$ cells/mL) in solution of alginate of Na (3,0%, m/v) with 5,0% (m/v) iron powder.	Magnetically stabilized fluid bed bioreactor with field intensity 85–120 Oe.	Yield of 95.3% and productivity of 26.7 g/L/h.	Liu et al., 2009.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> C12	Alginate particles + 100-250mg/mL cells+5-20% of Fe_3O_4 (system 1); chitosan (1%) + 50-150 mg of Fe_3O_4 (system 2); cellulose core with Fe_3O_4 (system 3).	Column bioreactor	Ethanol yield 88.8% (system 1); 74.5% (system 2) and 73.1% (system 3).	Ivanova et al., 2011.

... Continuação da Tabela 4.

Micro-organismo	Método de imobilização	Processo de fermentação	Rendimento de etanol	Ref.
<i>Kluyveromyces marxianus</i> IMB3	Solução de 4% (m/v) alginato de Na, com 3% de Fe ₃ O ₄ , partículas com diâmetro de 2mm.	Reator de batelada alimentada.	Aumento de 12 g/L de etanol com as células imobilizadas, e um rendimento teórico 87%.	Brady et al., 1996.
<i>Kluyveromyces marxianus</i> .	Alginato de sódio (4%): 20 mg de biomassa seca/mL solução de alginato. 3,8 mm.	Biorreator leito fluidizado.	Rendimento teórico de 87%.	Gabardo et al., 2012.
<i>Candida shehatae</i> UFMG HM 52.2.	Alginato de Na (2%), 1 e 8% de magnetita; relação de células- alginato-magnetita de 1:10.	Dois biorreatores leito fluidizados assistidos por campo eletromagnético, com linhas de campo na direção transversal (10 mT) e linhas de campo na direção Axial (14 mT).	Aumento de 49% na produção de etanol em relação ao biorreator sem campo eletromagnético.	Medina, 2013.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2% de alginato de Na, 4,2% Células secas e 15, 30 ou 50% ferro em pó.	Biorreator assistido por campo magnético, com 50% ferro nas partículas, e intensidade de campo de 5,000 Hz e 200 Oe.	Aumento de 12% no rendimento de produção de etanol com as células imobilizadas.	Sakai et al., 1994

... Continuation of Table 4.

Microorganism	Immobilization method	Fermentation Process	Yield of ethanol	Ref
<i>Kluyveromyces marxianus</i> IMB3	Solution of 4% (m / v) Na-alginate, with 3% Fe ₃ O ₄ , particles with 2 mm of diameter.	Reactor fed batch.	Increase of 12 g/L ethanol with immobilized cells, yield 87%.	Brady et al., 1996.
<i>Kluyveromyces marxianus</i> .	Na-alginate (4%): 20 mg dry biomass / mL alginate solution. diameter of 3,8mm.	Fluidized bed bioreactor.	Yield of 87%.	Gabardo et al., 2012.
<i>Candida shehatae</i> UFMG HM 52.2.	Na alginate (2%), 1-8% magnetite; Concentration of 1:10 alginate-magnetite cells.	Two bioreactors fluidized bed assisted by electromagnetic field with field lines in the transverse direction (10 mT) and field lines in the direction Axial (14 mT).	Increase of 49% in ethanol production in relation to the bioreactor without electromagnetic field.	Medina, 2013.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2% alginate-Na, 4.2%; Dry cells e15, 30 or 50% iron powder.	Bioreactor assisted by magnetic field, with 50% iron in the particles, and field strength of 5.000 Hz and 200 Oe.	12% increase in yield of ethanol production with immobilized cells.	Sakai et al., 1994

Outra aplicação dos reatores de campo eletromagnético é em sistemas que empregam a levedura imobilizada em suportes com propriedades magnéticas operando em condições de biorreator de leito fixo ou fluidizado, ambos estabilizados magneticamente (Liu et al., 2009). Estes tipos de reatores consistem em um leito de partículas em um estado alterado por um campo eletromagnético externo com linhas de campos operando em diferentes direções (axial, transversal, inclinada) em relação ao sentido do fluxo. Esta aplicação objetiva diminuir problemas referentes a limitações de transferência de massa do meio líquido com as células imobilizadas, eliminação de mistura sólida, variação na pressão do leito, possibilidade de operação com maior velocidade de fluidização e até mesmo em sistema contracorrente (Tuzmen et al., 2010).

Another application of electromagnetic field reactors is in a system that uses yeast immobilized on supports with magnetic properties operating under fixed or fluidized bed bioreactor conditions; both magnetically stabilized (Liu et al., 2009). These types of reactors consist of a bed of particles in a state altered by an external electromagnetic field with lines of fields operating in different directions (axial, transverse and inclined) relative to flow direction. This application aims to reduce problems related to limitations of mass transfer of liquid medium with immobilized cells, elimination of solid mixture, variation in bed pressure, and possibility of operation with higher fluidization velocity and even in countercurrent system (Tuzmen et al., 2010).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Materiais

O bagaço da cana-de-açúcar foi doado pela Usina Paraíso, localizada em Tocos, distrito de Campos dos Goytacazes, no estado no Rio de Janeiro. Para a fermentação para produção de etanol foram utilizadas duas cepas de levedura. Nos estudos de modificação genética utilizou a *Saccharomyces cerevisiae*. Nas fermentações realizadas no Brasil, utilizou uma cepa selvagem da levedura *Saccharomyces cerevisiae* X-2180, cordialmente fornecida pelo Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos - UENF. Todos os reagentes usados como padrão, solventes e meios de cultura foram obtidos da Sigma-Aldrich e da Merck.

3.2 Procedimentos experimentais

3.2.1 Moagem do bagaço de cana

Previamente, a biomassa foi submetida ao processo de moagem usando um moinho (Bliss Industries Hammer Mill). O tamanho das partículas do bagaço foi cerca de 0,420 μm (40 mesh) de acordo com a ASTM (D5644-01). O processo de moagem foi realizado no laboratório de Composite Material Engineering Center na WSU (Pelaez-Samaniego et al., 2013).

3.2.2 Pré-tratamentos químicos na biomassa

Com o objetivo de melhorar a formação de levoglucosana durante a pirólise rápida do bagaço de cana, utilizou algumas estratégias de pré-tratamentos com ácidos (lavagem com ácido nítrico, impregnação com ácido sulfúrico e ácido acético). A Figura 1 apresenta um desenho esquemático das estratégias dos pré-tratamentos empregados no bagaço de cana antes de serem realizados os testes de pirólise no reator pirolisador acoplado ao cromatógrafo gasoso com espectrômetro de massas (Py-CG/MS).

3. MATERIALS AND METHODS

3.1. Materials

Sugarcane bagasse was collected from Brazilian Paraiso's Sucoalcohol Industry located at Northern of Rio de Janeiro, Brazil. Two yeast strains were used for fermentation to ethanol production. In the genetic modification studies *Saccharomyces cerevisiae* was used. In the fermentations carried out in Brazil, a wild strain of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* X-2180, cordially supplied by Laboratory of Physiology and Biochemistry of Microorganisms - UENF. All reagents used as standards, solvents and culture media were obtained from Sigma-Aldrich and Merck.

3.2 Experimental procedures

3.2.1 Sugarcane bagasse milling

Previously to in-nature biomass characterization, the sugarcane bagasse was submitted to a milling process using a Bliss Industries Hammer, the particle size was about 0.420 μm (40 mesh) according to ASTM (D5644-01). The grinding process was carried out in the Composite Material Engineering Center WSU (Pelaez-Samaniego et al., 2013).

3.2.2 Chemical pre-treatments in biomass

Aiming to improve the formation of levoglucosan during the rapid pyrolysis of sugarcane bagasse, it used some strategies of pre-treatments with acids (washing with nitric acid, impregnation with sulfuric acid and acetic acid). Figure 1 presents a schematic drawing of the pre-treatments strategies in sugarcane bagasse before pyrolysis tests were performed in the pyrolyzer reactor coupled to gas chromatograph with mass spectrometer (Py-GC/MS)

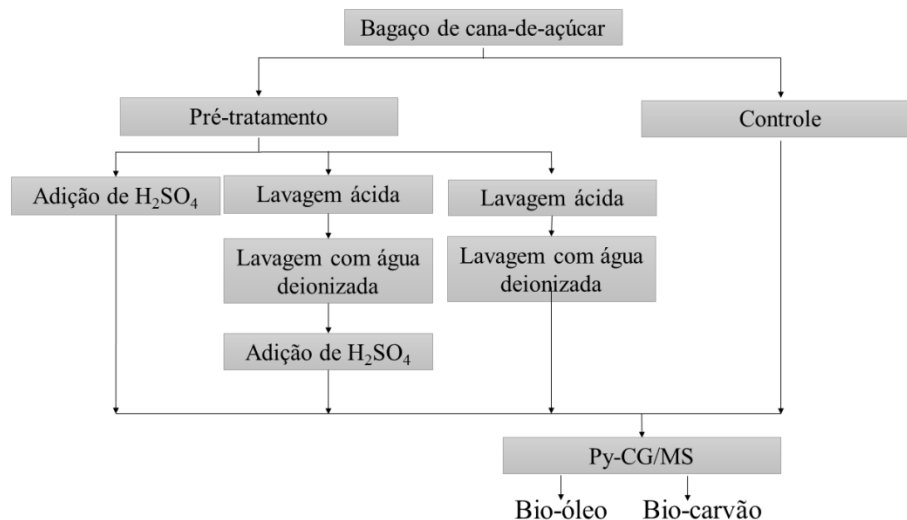


Figura 1. Esquema geral das estratégias de tratamento do bagaço de cana com lavagem ácida mais a impregnação com ácido sulfúrico em diferentes concentrações.

3.2.3 Lavagem do bagaço de cana com ácido nítrico

O bagaço de cana triturado foi lavado com uma solução de ácido nítrico (0,1% v/v) por 2 horas sob constante agitação à temperatura ambiente. Em seguida, a biomassa foi lavada com água deionizada até neutralizar o pH e seca em estufa a 105°C até peso constante (Zhou et al., 2013).

3.2.4 Tratamento com ácido sulfúrico

O pré-tratamento com ácido sulfúrico, foi realizado de acordo com o método descrito por Zhou et al. (2013). Diferentes concentrações de ácido sulfúrico (0,001; 0,002 e 0,003 g H₂SO₄/g bagaço de cana seco) foram avaliadas. O ácido sulfúrico dissolvido em água destilada e misturado na biomassa. A biomassa ficou mantida na solução sob constante agitação durante 4 horas, em seguida submeteu-se a secagem em estufa a 105 °C até peso constante (Zhou et al., 2013).

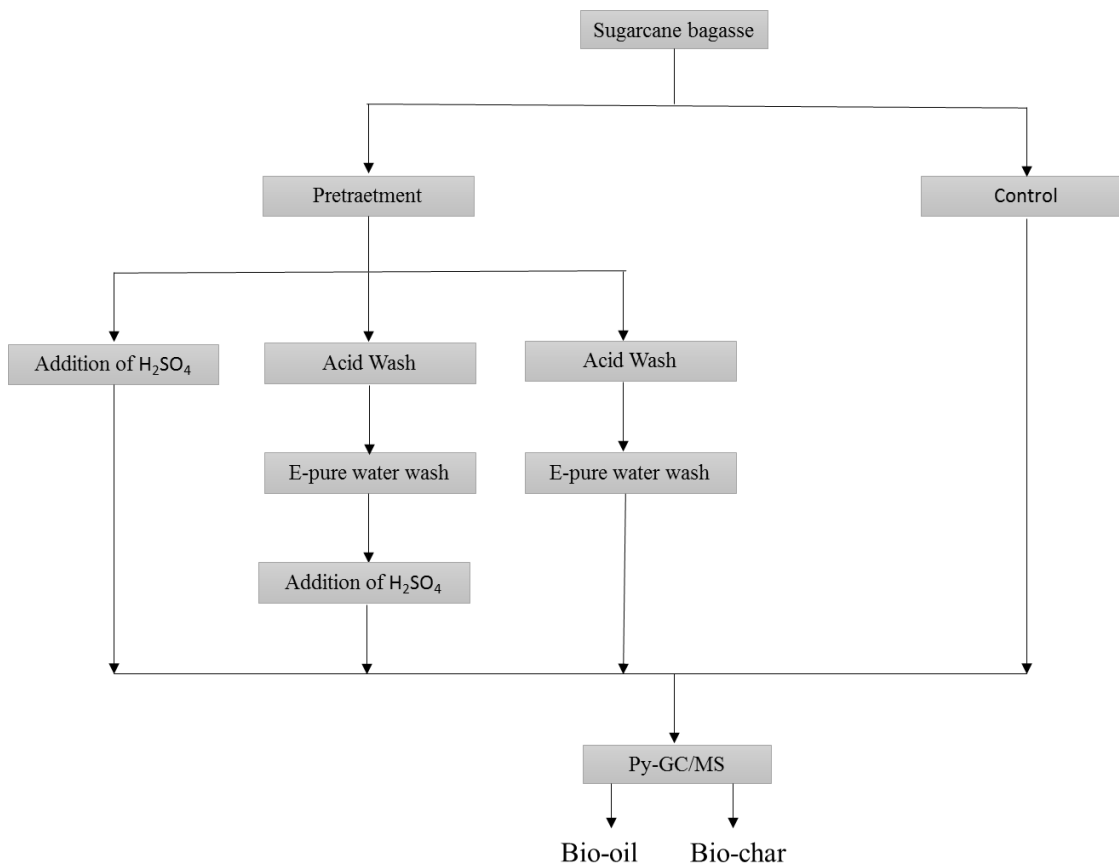


Figure 1. General scheme of the treatment strategies of sugarcane bagasse with acid washing plus impregnation with sulfuric acid in different concentrations.

3.2.3 Washing of sugarcane bagasse with nitric acid

The sugarcane bagasse was triturated up to 0.420 mm in a Hammer mill and after that, the biomass was washed with 0.1% nitric acid solution for 2 hours under constant agitation. The treated biomass was rinsed with deionized water to pH neutralization and dried in a vacuum oven at 70 °C up to constant weight (Zhou et al., 2013).

3.2.4 Sulfuric acid treatment procedure

The pre-treatment with sulfuric acid was carried out according to Zhou et al. (2013), using different sulfuric acid concentrations (0.001, 0.002 and 0.003 g H₂SO₄/g dried sugarcane bagasse). Firstly, the sulfuric acid was dissolved in distilled water and mixed with the biomass. Then the biomass was impregnated and stirred for 4 h. Finally, the treated biomass was dried in a vacuum oven at 105 °C to constant weight (Zhou et al., 2013).

3.2.5 Ácido acético

A biomassa foi tratada com uma solução de ácido acético (10% v/v) durante 10 min a 90 °C sob constante agitação em um reator Parr (Bench Top Reactors modelo 4522 integrado a um controlador de temperatura modelo 4842). Para cada 100 gramas de biomassa, colocou 500 mL de solução ácida. A biomassa tratada foi lavada com água deionizada até neutralizar o pH, em seguida, seca em estufa a 105 °C até peso constante.

3.2.6 Estudo de Pirólise-CG/MS (Py-CG/MS)

Os estudos de pirólise de todos os tratamentos empregados no bagaço de cana-de-açúcar foram realizados em um forno pirolisador (CDS pyroprobe 5000 series (CDS Analytical, Inc.) conectado a um cromatógrafo a gás integrado ao sistema de espectrômetro de massa (6890 N Network GC System e 5975B inert XL MSD, Agilent Technologies). Utilizou aproximadamente 300 µg de biomassa. Realizou um estudo com diferentes temperaturas de pirólise (350, 400, 450, 500, 550 e 600°C) no bagaço de cana. A temperatura no injetor do cromatógrafo gasoso a 250°C. Para a separação dos compostos formados durante a pirólise, utilizou uma coluna capilar HP-5MS (30 m × 0,25 mm, Agilent) utilizando uma rampa de temperatura a 40°C (1 min) até 280°C (15 min) em uma taxa de 6°C/min. Hélio foi usado como gás de arraste, com fluxo de 1 mL/min em modo Split (50:1). As áreas dos picos foram obtidas pela integração de íons selecionados. Os compostos foram identificados usando os padrões da biblioteca NIST Mass Spectral Program (2.0). Para cada composto, a área do pico foi dividida pela quantidade de biomassa pirolisada (Zhou et al., 2013).

3.2.7 Pirólise do bagaço de cana no reator Auger

O bagaço de cana tratado com ácido acético foi pirolisado no reator Auger (Figura 2) na Washington State University seguindo o procedimento descrito por Liaw et al (2012) para obtenção dos açúcares pirolíticos. A biomassa seca foi introduzida na parte superior do reator (Barbender Technologies) com uma taxa de alimentação de 10 g/min. Com um sistema de rosca sem fim, um motor conduzia a biomassa para o interior do reator (velocidade de 20 rpm), o qual corresponde a um tempo de residência de 50 segundos.

3.2.5 Acetic acid

The biomass was treated with a solution of acetic acid (10% v/v) for 10 min at 90 °C under constant stirring in a Parr reactor (Model 4522 Bench Top Reactors integrated with a model 4842 temperature controller). For each 100 grams of biomass, was placed 500 mL of acid solution. The treated biomass was washed with deionized water until the pH was neutralized, then oven dried at 105 °C until constant weight.

3.2.6 Studies of Pyrolysis-GC/MS (Py-GC/MS)

The pyrolysis studies of all the treatments used in sugarcane bagasse were carried out in a pyrolysis furnace (CDS pyroprobe 5000 series (CDS Analytical, Inc.) connected to a gas chromatograph integrated with a mass spectrometer system (6890 N Network GC System and 5975B inert XL MSD, Agilent Technologies). Was used approximately 300 µg of biomass and carried out a study with different pyrolysis temperatures (350, 400, 450, 500, 550 and 600 ° C) in sugarcane bagasse. The injector temperature in the gas chromatograph was 250 °C. For separation of the formed compounds during the pyrolysis, a HP-5MS capillary column (30m × 0.25mm, Agilent) was used with temperature ramp at 40 °C (1 min) to 280 °C (15 min) in a rate of 6 °C/min. Helium was used as drag gas, with flow of 1 mL / min in Split mode (50: 1). The areas of the peaks were obtained by the integration of selected ions. Compounds were identified using the standards of the NIST Mass Spectral Program (2.0). For each compound, the peak area was divided by the amount of pyrolysed biomass (Zhou et al., 2013).

3.2.7 Sugarcane bagasse pyrolysis in the Auger reactor

The sugarcane bagasse treated with acetic acid was pyrolyzed in the reactor Auger (Figure 2) at Washington State University following the procedure described by Liaw et al (2012) to obtain the pyrolytic sugars. The dry biomass was introduced at the top of the reactor (Barbender Technologies) with a feed rate of 10 g/min. With an endless screw system, a motor led the biomass into the reactor (speed of 20 rpm), which corresponds to a residence time of 50 seconds.

A temperatura do reator foi 400°C. O biocarvão foi coletado em um recipiente localizado no final do reator Auger. Um fluxo de nitrogênio de 20 L/min foi usado como gás carregador dos vapores formados durante a pirólise da biomassa, correspondendo a um tempo de residência de aproximadamente 5 segundos no interior do reator. Os vapores foram condensados em três unidades de condensadores em série. O bio-óleo e o biocarvão foram coletados, pesados e quantificados. Os gases não condensáveis foram calculados por diferença (Massa de biomassa - Massa de bio-óleo - Massa de biocarvão = Gases não condensáveis).

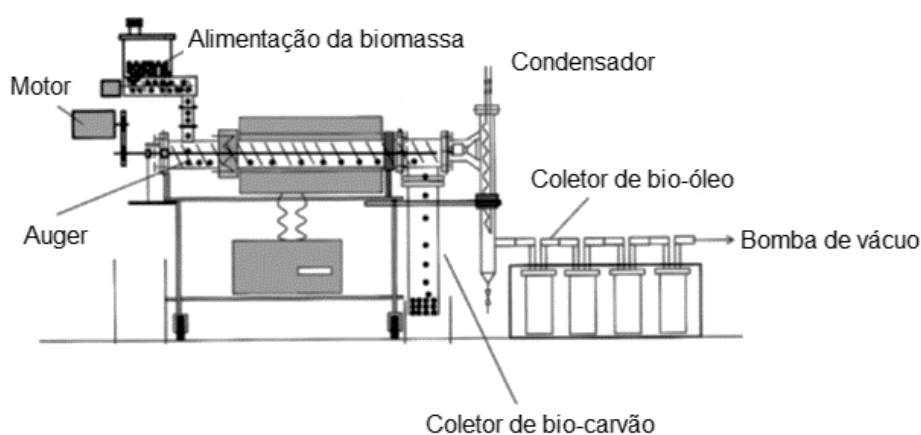


Figura 2. Desenho esquemático do reator Auger (Liaw et al., 2012).

3.2.8 Extração da levoglucosana do bio-óleo

A extração de levoglucosana do bio-óleo produzido no reator Auger seguiu o procedimento descrito por Lian et al. (2013). O procedimento é realizado em duas etapas: a) extração com água quente e b) separação com água fria. A primeira etapa consistiu da adição de água deionizada (bio-óleo: água, 1:2,5) ficando sob agitação a 60 °C durante uma hora. Após esta etapa, a solução ficou estocada a 4 °C durante a noite para precipitar os oligômeros não polares de lignina em suspensão.

3.2.9 Hidrólise da levoglucosana em glicose

A levoglucosana extraída do bio-óleo da pirólise do bagaço de cana foi hidrolisada em glicose usando H₂SO₄. Adicionou o ácido sulfúrico na solução de levoglucosana até atingir uma concentração final de 500 mmol/L. A reação ocorreu a 120 °C de acordo com a metodologia descrita por Lian et al. (2010).

The temperature of the reactor was 400 °C. Biochar was collected in a container located at the end of the Auger reactor. A nitrogen flux of 20 L/ min was used as the vapor-charging gas formed during biomass pyrolysis, corresponding to a residence time of approximately 5 seconds inside the reactor. The vapors were condensed into three condensed units in series. Bio-char and bio-oil were collected, weighed and quantified. Non-condensable gases were calculated by difference (Mass of biomass - Mass of bio-oil - Mass of biomass = non-condensable gases).

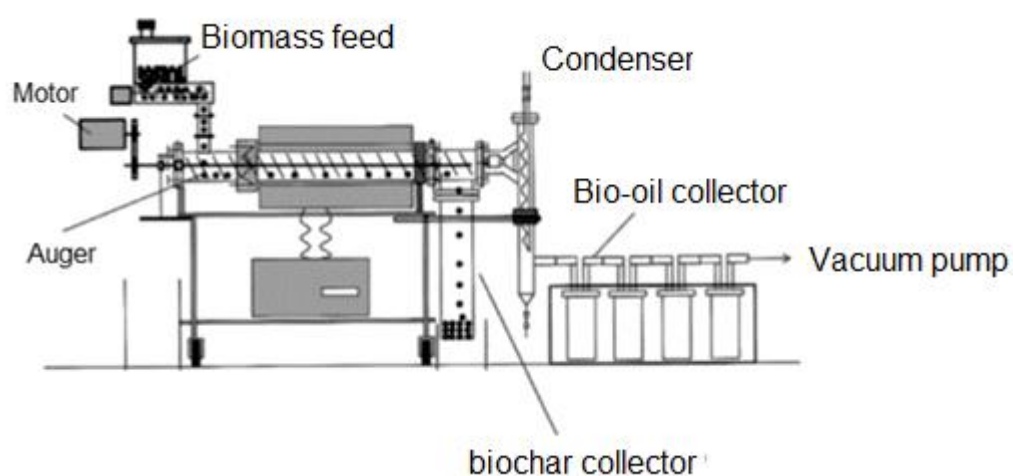


Figure 2. Schematic drawing of the Auger reactor (Liaw et al., 2012).

3.2.8 Levoglucosan extraction from bio-oil

Levoglucosan extraction was performed following the procedure described by Lian et al. (2013). The procedure was executed in two stages: a) extraction with hot water and b) separation with cold water. The first step was the addition of deionized water (bio-oil: water, 1: 2.5) under stirring at 60 °C for one hour. After this step, the solution was stored at 4 °C overnight to precipitate the non-polar lignin oligomers in suspension.

3.2.9 Levoglucosan hydrolyze to glucose

Levoglucosan extracted from the bio-oil of the pyrolysis of sugarcane bagasse was hydrolyzed to glucose using H₂SO₄. Sulfuric acid was added in the levoglucosan solution until a final concentration of 500 mmol/L. The reaction occurred at 120 °C according to the methodology described by Lian et al. (2010).

Monitorou a hidrólise da levoglucosana retirando amostras a cada 15 minutos. As amostras foram analisadas por cromatografia líquida (HPLC).

3.2.10 Detoxificação da solução de levoglucosana

Os compostos fenólicos na solução de levoglucosana após a etapa de extração foram removidos pela adsorção por carvão ativado (DARCO®, 100 mesh particle size, powder from Sigma–Aldrich). A proporção de carvão ativado por solução de levoglucosana foi de 0,25:1 (massa/massa). A mistura foi mantida a 4°C durante a noite, seguido da etapa de filtração (Lian et al., 2010).

3.2.11 Estudos de fermentação para produção de etanol com açúcares pirolíticos

A Figura 3 apresenta a título ilustrativo um esquema utilizado para converter o bagaço de cana-de-açúcar por meio do processo de pirólise rápida em etanol. Nas fermentações com açúcares pirolíticos usou a levedura *S. cerevisiae* X-2180 imobilizada em partículas de alginato de cálcio com propriedades magnéticas para serem utilizadas no reator assistido por campos eletromagnéticos.

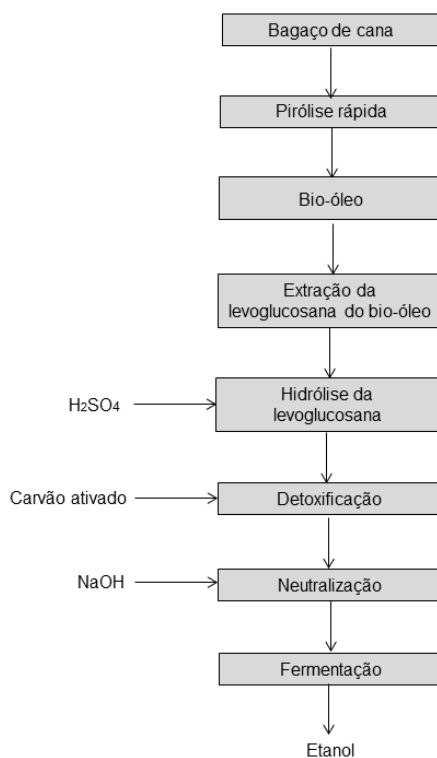


Figura 3. Esquema do estudo da conversão do bagaço de cana em etanol.

The hydrolysis of levoglucosan was monitored taking samples every 15 minutes and analyzed by liquid chromatography (HPLC).

3.2.10 Levoglucosan solution detoxification

The phenolic compounds in the levoglucosan solution after the extraction step were removed by activated charcoal adsorption (DARCO®, 100 mesh particle size, powder from Sigma–Aldrich). The ratio of activated carbon by levoglucosan solution was 0.25: 1 (mass/ mass). The mixture was maintained at 4 °C overnight, followed by the filtration step (Lian et al., 2010).

3.2.11 Fermentation for to ethanol production studies with pyrolytic sugars

Figure 3 shows a scheme used to convert the sugarcane bagasse through the fast pyrolysis process in ethanol. In the fermentations with pyrolytic sugars we used yeast *S. cerevisiae* X2180 immobilized in calcium alginate particles with magnetic properties to be used in the reactor assisted by electromagnetic fields.

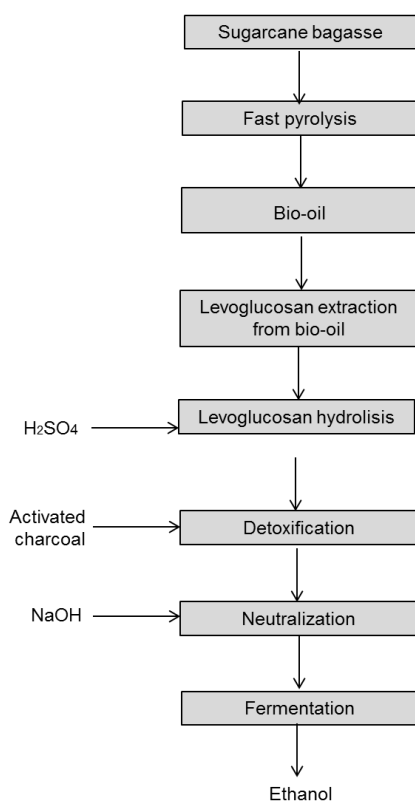


Figure 3. Scheme for the study of conversion of sugarcane bagasse into ethanol.

3.2.12 Manutenção das leveduras

As leveduras foram mantidas em meio sólido constituído de extrato de levedura (10 g/L), peptona (20 g/L), ágar (2 g/L) e glicose (40 g/L). Ajustou o pH para 6,5. O meio foi vertido em tubos de ensaio e esterilizado a 120°C por 15 minutos. Após a inoculação, os tubos foram mantidos a 30 °C durante 24 horas em “shaker” (MA 832, Marconi), e finalmente estocados a 4 °C até sua utilização.

3.2.13 Preparo do inoculo

Realizou o cultivo da levedura em frascos Erlenmeyers de 125 mL contendo 50 mL de meio sintético composto de 10 g/L de extrato de levedura, 20 g/L de peptona e 40 g/L de glicose. As células foram cultivadas em incubadora tipo “Shaker” com agitação a 200 rpm, a 30 °C por 12 horas. As células foram recuperadas por centrifugação a 4000 rpm durante 10 min, lavadas e ressuspensas em água destilada esterilizada. A suspensão de células foi utilizada no processo de imobilização celular de acordo com a curva de calibração previamente preparada em espectrofotômetro (Apêndice B, Figura B1). A concentração inicial de células na fermentação para produção de etanol foi de 20 g/L em relação ao volume de meio de cultura.

3.2.14 Preparação das partículas de magnetita (Fe₃O₄)

Para a imobilização das células da levedura em partículas de alginato de cálcio com propriedades magnéticas, preparou as partículas de magnetita de acordo com o método descrito por Dussan et al. (2010). Foram misturadas duas soluções de 100 mL de FeCl₂ (0,2 mol/L) com 100 mL de FeCl₃ (0,3 mol/L). Aqueceu a solução até atingir 90 °C. Após alcançar esta temperatura, gotejou 100 mL de NaOH (4 mol/L), formando um precipitado preto. Este precipitado foi separado da solução e lavado até atingir um pH 5,5. Em seguida, realizou a secagem de magnetita até peso constante.

3.2.15 Imobilização das *S. cerevisiae* X2180 em alginato de sódio

As células foram imobilizadas pelo método de aprisionamento em alginato de cálcio usando diferentes concentrações de células nas partículas. Os suportes com propriedade magnética foram preparados com pó de ferro

3.2.12 Maintenance of yeast

To maintain the yeast was prepared a solid medium with yeast extract (10 g/L), peptone (20g/L), agar (2 g/L) and glucose (40 g/L). The pH was adjusted to 6.5. The medium was transferred into tubes and sterilized at 120 °C for 15 minutes. After inoculation, the tubes were kept at 30 °C for 24 hours in shaker (MA 832, Marconi), and finally stored at 4 °C until the use.

3.2.13 Preparation of inoculum

The inoculum was prepared by culturing the yeast in 125 mL Erlenmeyer flasks containing 50 mL of synthetic medium composed of 10 g/L yeast extract, 20 g/L peptone and 40 g/L glucose. Cells were grown in shaker incubator at 200 rpm, at 30 ° C for 12 hours. Cells were recovered by centrifugation at 4000 rpm for 10 min, washed and resuspended in sterile distilled water. The cell suspension was used in the cellular immobilization process according to the calibration curve previously prepared in spectrophotometer (Appendix B, Figure B1). The initial cell concentration in the fermentation to ethanol production was 20 g/L of the volume of culture medium.

3.2.14 Preparation of magnetic particles (Fe₃O₄)

For the immobilization of yeast cells in calcium alginate particles with magnetic properties, the magnetite particles prepared according to the method described by Dussan et al. (2010). Two solutions of 100 mL of FeCl₂ (0.2 mol / L) were mixed with 100 mL of FeCl₃ (0.3 mol / L). The solution was heated **at** 90 °C. After reaching this temperature, 100 mL of NaOH (4 mol / L) was added dropwise to form a black precipitate. This precipitate was separated from the solution and washed to pH 5.5. The magnetite was then dried on a hot plate until constant weight.

3.2.15 Immobilization of *S. cerevisiae* X-2180 in sodium alginate

Cells were immobilized by the calcium alginate entrapment method using different concentrations of cells in the particles. Magnetic-propped supports were prepared with the addition of iron powder

adquirido pela empresa “Baker Analyzed” REAGENT (10% m/v) e também avaliou o uso de magnetita previamente preparada para ser utilizada nos reatores de campo eletromagnético.

O processo de imobilização seguiu o método modificado de David (2012). A imobilização foi realizada por meio da preparação de duas soluções principais: a) solução de alginato de sódio e b) solução gelificante de cloreto de cálcio (2% m/v de CaCl_2). Em béquer de 250 mL foram dissolvidos 1,8 g de alginato de sódio em 30 mL de água destilada. Após a homogeneização da solução, adicionou as células da levedura *S. cerevisiae*. Para as células imobilizadas em partículas com propriedade magnética foi adicionada a solução 10% (m/v) de ferro em pó ou magnetita, respectivamente. A solução de alginato de sódio foi gotejada na solução de CaCl_2 . As partículas esféricas formadas foram mantidas na solução de cloreto de cálcio durante 20 minutos. Após este período de cura, as partículas foram lavadas com água destilada e utilizadas nos experimentos de fermentação.

3.2.16 Ativação das células imobilizadas em alginato de cálcio

Após a imobilização das células para a fermentação para produção de etanol, realizou o procedimento de ativação das células nas partículas. Esta etapa consiste em deixar as células imobilizadas em meio de fermentação durante duas horas a 30 °C sob agitação (120 rpm) em shaker (Birol et al., 1998). Após este procedimento, as partículas foram lavadas com água destilada esterilizada e colocadas no meio de fermentação para produção de etanol.

3.2.17 Fermentação para avaliar a influência do processo de imobilização das células da *S. cerevisiae* X-2180

Foram realizados experimentos para avaliar o processo de imobilização das células nas partículas de alginato de cálcio com e sem propriedade magnética em frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de meio de fermentação para produção de etanol contendo os seguintes nutrientes: 10 g/L de extrato de levedura, 20 g/L de peptona e 70 g/L de glicose (ou levoglucosana hidrolisada). As fermentações foram conduzidas em “shaker” sob agitação (120 rpm) até o consumo de todo o açúcar do meio. Amostras foram retiradas a cada 2 horas e analisadas em HPLC. Os experimentos foram realizados em duplicata.

purchased by the company “Baker. Analyzed” REAGENT (10% m/v) and the use of magnetite in electromagnetic field reactors was also evaluated

The immobilization procedure followed the method modified from David (2012). Immobilization was performed by the preparation of two main solutions: a) sodium alginate solution and b) calcium chloride gelling solution (2% w/v CaCl₂). In 250 mL beaker were dissolved 1.8 g of sodium alginate in 30 mL of distilled water. After homogenization of the solution, yeast cells of *S. cerevisiae* were added. For the immobilized cells with magnetic properties were added 10% (m/v) solution of iron powder or magnetite, respectively. The sodium alginate solution was dropped into the CaCl₂ solution. The spherical particles formed were maintained in the calcium chloride solution for 20 minutes. After this curing period, the particles were washed with distilled water and used in the fermentations experiments.

3.2.16 Activation of immobilized cells in calcium alginate

After the immobilization of cells to fermentation to ethanol production was carried out the activation procedure of the cells in the particles. This step consists in leaving the cells immobilized in fermentation medium for two hours at 30 °C under shaking (120 rpm) shaker (Biol et al., 1998). After this procedure, the particles were washed with sterile distilled water and placed in the fermentation to ethanol production medium.

3.2.17 Fermentation to evaluate the influence of immobilization process of *S. cerevisiae* X-2180

Experiments were carried out to evaluate the immobilization process of cells in the calcium alginate particles with and without magnetic properties in 250 mL Erlenmeyer flasks containing 100 mL of medium fermentation for ethanol production containing the following nutrients: 10 g/L yeast extract, 20 g/L peptone and 70 g/L glucose (or hydrolyzed levoglucosan). Fermentations were conducted in "shaker" under agitation (120 rpm) until the consumption of the whole sugar medium. Samples were withdrawn every 2 hours and analyzed on HPLC. The experiments were performed in duplicate.

3.2.18 Fermentação para produção de etanol

Após a etapa de hidrólise da levoglucosana em glicose e da detoxificação (Figura 3), iniciou a etapa de fermentação para produção de etanol. O meio de fermentação para a produção de etanol foi constituído dos seguintes nutrientes: extrato de levedura (10 g/L), peptona (20 g/L) e levoglucosana hidrolisada (70 g/L) ou glicose (70 g/L) no caso do controle. As fermentações foram realizadas em Shaker (30 °C, 120 rpm) e no reator assistido por campos eletromagnéticos com sistema de linhas de campo na direção Axial.

3.2.19 Fermentação para produção de etanol em Biorreator de Leito Fluidizado Assistido por Campo Eletromagnético

Os experimentos no reator de campos eletromagnéticos foram conduzidos em fermentador protótipo de 380 mL de leito vertical de vidro acoplado a um condensador em espiral. O volume de trabalho de 200 mL, o leito foi fluidizado usando uma bomba peristáltica com fluxo de 65 mL/min. A temperatura da fermentação foi controlada com um banho ultra termostático com refrigeração e circulação. Para o sistema gerador de campo eletromagnético, utilizou o Biorreator Assistido por Campo Eletromagnético – Sistema Axial gerando uma intensidade de campo de 14 mT. As medições de indução eletromagnética em função da posição na câmara de tratamento magnético foram realizadas usando um gaussímetro digital da Hirst Magnetic modelo GM08 (Reino Unido). Monitorou o aquecimento das bobinas geradoras de campo eletromagnético utilizando uma câmera de termovisor modelo E40 FLIR.

3.3 Métodos analíticos

3.3.1 Conteúdo de umidade

Para determinar o conteúdo de umidade do bagaço de cana, utilizou cadinhos de porcelana secos a 105 °C. As amostras foram pesadas e colocadas em estufa a 105±3 °C até peso constante e o conteúdo de umidade determinado. Os procedimentos foram realizados em triplicada de acordo com a norma NREL/TP-510-42621 (2008)

3.2.18 Fermentation to ethanol production

After the step of hydrolysis of levoglucosan in glucose followed by the detoxification process (Figure 3), the fermentation stage for ethanol production started. The fermentation to ethanol production medium was composed of the following nutrients: yeast extract (10 g/L), peptone (20 g/L) and hydrolyzed levoglucosan (70 g/L) or glucose (70 g/L). The fermentations were performed in Shaker (30 °C, 120 rpm) and in the reactor Assisted by electromagnetic fields with system of field lines in the Axial direction.

3.2.19 Fermentation to ethanol production in Bioreactor Fluidized bed Assisted by Electromagnetic Field

Experiments in the reactor of electromagnetic fields were conducted in a prototype fermenter of 380 mL of vertical glass bed coupled to a spiral condenser. The working volume was 200 mL and the bed was fluidized using a peristaltic pump with a flow rate of 65 mL/ min. The fermentation temperature was controlled with a thermostatic bath with water circulation. For the electromagnetic field generator system, was used an Eletromagnetic Field Assisted Bioreactor - Axial System generating a field strength of 14 mT. Electromagnetic induction measurements as a function of position within the magnetic treatment chamber were performed using a Hirst Magnetic digital gauge model GM08 (UK). The heating of the coils generating electromagnetic field was monitored using a camera of thermovisor model E40 FLIR.

3.3 Analytical Methods

3.3.1 Moisture Content

To determine the moisture content of sugarcane bagasse were used porcelain crucibles dried at 105 °C. The samples were weighed and placed in an oven at 105±3 °C until constant weight and the moisture content determined. The procedures were performed in triplicate according to NREL/TP-510-42621 (2008).

3.3.2 Cinzas

Para determinar o conteúdo de cinzas, seguiu os procedimentos recomendados pela NREL/TP-510-42622 (2008) em triplicata. Cadinhos de porcelana foram colocados em forno mufla a 575 ± 25 °C por 4 horas, até peso constante. Pesou 1,5 gramas de bagaço de cana no cadinho seco e levou para mufla a 575 ± 25 °C por 24 horas até peso constante. Para calcular a porcentagem de cinzas, foram usadas as equações 1, 2 e 3:

$$\% \text{ Sólidos Totais} = \frac{Massa_{\text{cadinho+amostra seca}} - Massa_{\text{cadinho}}}{Massa_{\text{amostra natural}}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Peso seco} = \frac{Massa_{\text{amostra seca}} \times \% \text{ sólidos totais}}{100} \quad (2)$$

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{Massa_{\text{cadinho+cinzas}} - Massa_{\text{cadinho}}}{\text{Peso seco}} \times 100 \quad (3)$$

3.3.3 Análise Elemental: C, H, N – O

Para realizar a análise elemental do bagaço de cana utilizou o analisador modelo LECO ® CHN TruSpec. O equipamento foi calibrado com EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético). As amostras foram pesadas em uma balança de alta precisão (modelo LECO ®). Pesou cerca de 0,13 gramas de amostra em frasco de alumínio e posicionado no forno do analisador. A combustão das amostras ocorreu a 950 °C usando oxigênio com alto grau de pureza (99,99%). As análises foram realizadas em triplicata seguindo o método descrito por Zhou et al. (2013).

3.3.4 Análise de extrativos

A determinação da porcentagem de extrativos foi realizada usando uma solução de etanol: tolueno (2:1) como requerido pelo padrão ASTM D1107-07. Pesou 6 gramas de bagaço de cana seco a 105 °C e adicionou no sistema Soxhlet com 260 mL da solução. A mistura foi mantida no sistema em ebulição durante 6 horas. Após a extração, colocou o frasco com o extrativo no rota-evaporador para remoção do solvente, em seguida, secou o frasco em estufa a 105 ± 3 °C por uma hora até peso constante.

A porcentagem de extrativo foi determinada usando a Equação 4.

$$\frac{Massa_{\text{frasco com extrativo}} - Massa_{\text{frasco vazio}}}{Massa_{\text{amostra}}} \quad (4)$$

3.3.2 Ash

To determine the ash content, followed the procedures recommended by NREL/TP-510-42622 (2008) in triplicate. Porcelain crucibles were placed in a muffle furnace at 575 ± 25 ° C for 4 hours until constant weight. Weighed 1.5 grams of cane bagasse in the dried crucible and carried to muffle at 575 ± 25 ° C for 24 hours to constant weight. To calculate the percentage of ash were used the equations 1, 2 and 3:

$$\% \text{ Total Solid} = \frac{Mass_{crucible+dry\ sample} - Mass_{crucible}}{Mass_{natural\ sample}} \times 100 \quad (1)$$

$$Dry\ weight = \frac{Mass_{dry\ sample} \times \% \text{ total Solid}}{100} \quad (2)$$

$$\% \text{ Ash} = \frac{Mass_{crucible+ash} - Mass_{crucible}}{Dry\ weight} \times 100 \quad (3)$$

3.3.3 Elemental analysis: C, H, N – O

Was used LECO® CHN TruSpec analyzer. The equipment was calibrated with EDTA (ethylenediamine tetra acetic acid) with the following composition (% Carbon = 41.08 ± 0.10 , $\pm 5.54\%$ Hydrogen = $0.02 \pm 9.56\%$ Nitrogen 0.02). The samples were weighed on a scale with high precision (model LECO®). About 0.13 grams of sample was weighed in aluminum flask and placed in the oven of the analyzer. The combustion of the samples occurred at 950 ° C using high purity oxygen (99.99%). The analyzes were performed in triplicate following the method described by Zhou et al. (2013).

3.3.4 Extractives of analysis

The determination of the biomass extractive percentage was performed using an ethanol: toluene solution (2:1) as required by the ASTM D1107-07 standard. 6 grams of dried cane bagasse at 105 °C were added to the Soxhlet system with 260 mL of solution. The mixture was kept in the boiling system for 6 hours. After extraction, the extractive vial was placed in a rotary evaporator to remove the solvent from the extraction, then the vial was oven dried for one hour at 105 ± 3 °C until constant weight. The percentage of extractive was calculated according to Equation 4

$$\frac{Mass_{flask\ with\ extract} - Mass_{empty\ flask}}{Mass_{sample}} \quad (4)$$

3.3.5 Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica foi realizada em TGA (TGA/SDTA851e, Mettler Toledo) seguindo os procedimentos descritos por Zhou et al. (2013). Cerca de 5 mg de amostra foram colocadas em cadinhos de alumínio e aquecidas de 25 a 600 °C com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min utilizando nitrogênio (20 mL/min).

3.3.6 Análise dos açúcares pirolíticos do bagaço de cana

O conteúdo de açúcar do bio-óleo e das fermentações foram quantificados por Cromatografia de Troca Iônica de Alta Performance (Dionex ICS-3000) equipado com injetor automático (AS 50 autossampler, GP50 gradient pump) e detector eletroquímico. Para separação dos açúcares, utilizou uma coluna Carbopac PA20. A fase móvel constituiu de uma solução de NaOH (50 mmol/L) com fluxo de 0,50 mL/min. Usou outra solução de hidróxido de sódio (10 mmol/L) para manter o detector em pH de 10,4. O volume de injeção das amostras de 10 µL e a temperatura da coluna foi mantida a 35°C. Realizou a calibração do equipamento para quantificação dos açúcares. As análises foram realizadas em triplicata (Lian et al., 2010).

3.3.7 Análise do bio-óleo da pirólise no reator Auger do bagaço da cana

A composição do bio-óleo foi determinada usando cromatógrafo gasoso com detector de massas (CG/MS) modelo Shimadzu GCMS-QP2010 plus, com uma coluna VF-5ms (0,25 µm × 0,25 mm × 30 m). A temperatura do injetor foi mantida a 250°C. Utilizou uma rampa de temperatura do forno do CG a 40°C (1 min) até 280°C (15 min) em uma taxa de aquecimento de 6°C/min. Hélio foi usado como gás de arraste (100kPa) a uma vazão de 1,69 mL/min na coluna. A temperatura da fonte de íons do detector de massas foi fixada a 280 °C.

3.3.5 Thermogravimetric analyses (TGA)

The analysis was performed in TGA (TGA/ SDTA851e, Mettler Toledo) following the procedure described Zhou et al. (2013). The samples (5.0 mg) were loaded into a crucible, heated from 25 to 600 °C at 10 °C/min under nitrogen (20 mL/min).

3.3.6 Pyrolytic sugars determination of sugarcane bagasse

The sugar content of the bio-oil and the fermentations were quantified by High Performance Ion Exchange Chromatography (Dionex ICS-3000) equipped with automatic injector (AS 50 auto-sampler, GP50 gradient pump) and electrochemical detector (ED50 electrochemical detector). A Carbopac PA20 column was used to separate the sugars. The mobile phase used was a NaOH solution (50 mmol/L) with flow rate of 0.50 mL/min. Another sodium hydroxide solution (10 mmol/L) was used to keep the detector at a pH of 10.4. The injection volume of the samples was 10 µL and the column temperature was maintained at 35 °C. The equipment was calibrated to quantify the sugars. The analyzes were performed in triplicate (Lian et al., 2010).

3.3.7 Bio-oil analysis in the Auger reactor of sugarcane bagasse

The bio-oil composition of pyrolysis of acetic acid treated sugarcane bagasse was analyzed using a Shimadzu GCMS-QP2010 plus mass detector (CG/MS) gas chromatograph with a VF-5ms (0.25 µm × 0.25 mm × 30 m). The injector temperature was 250 °C using a ramp temperature at 40 °C (1 min) to 280 °C (15 min) at a rate of 6 °C/ min. Helium was used as drag gas (100kPa) at a flow rate of 1.69 mL/ min in the column. The temperature of the ion source of the mass detector was set at 280 °C.

3.3.8 pH

As amostras coletadas durante a fermentação de produção de etanol foram analisadas em pHmetro METTLER TOLEDO Modelo pH Meter S20.

3.3.9 Crescimento celular

O crescimento celular foi determinado utilizando um espectrofotômetro (Spectrophotometer Spectronic 20 Genesys (Spectronic Instruments)) para determinar a densidade óptica (DO 600 nm). As amostras foram diluídas 1:10 com água destilada (Lian et al 2010).

3.3.10 Monitoramento da produção de etanol por CG com “head space”

A produção de etanol durante as fermentações foi monitorada usando um sistema “head space” em um cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama (GC-FID, Shimadzu GC-2014 system com um AOC-500 auto-injector) (Steffen e Pawliszyn, 1996). O equipamento equipado com coluna GC HP-INNOWax mantida a 110°C para a separação dos componentes. Usou hélio como gás de arraste com fluxo de 1,08 mL/min na coluna e com fluxo total de 31,2 mL/min (Lian et al., 2010). Preparou uma curva de calibração com uma faixa de concentração de solução de (0,5 a 5,0 g/L). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.3.11 Análise do consumo de açúcar e produção de etanol por Cromatografia Líquida (HPLC)

As análises de consumo de açúcar e produção de etanol durante a fermentação foram monitoradas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), modelo YL9100 HPLC System (YOUNG LIN) equipado com uma coluna Rezex RCM – Monosaccharide Ca⁺² (8%). Água de Milli-Q foi usada como fase móvel com um fluxo de 0,7 mL/min. A temperatura da coluna foi mantida a 60°C. Utilizou o detector de Índice de Refração (David et al., 2016). Realizou a calibração do equipamento com uma curva de calibração com intervalo de linearidade de compostos analisados entre 1 a 4 g/L obtendo um coeficiente de correlação R² de 0,999.

3.3.8 pH

The samples collected during the ethanol production were analyzed in pHmeter METTLER TOLEDO model pH Meter S20.

3.3.9 Cellular growth

Cell growth and amount of cells for immobilization were determined using a spectrophotometer by determination of optical density (OD 600 nm) in Spectrophotometer Spectronic 20 Genesys (Spectronic Instruments). Samples were diluted 1:10 with distilled water (Lian et al 2010).

3.3.10 Monitoring the production of ethanol by CG with head space

Ethanol production during fermentations was monitored using a head space system on a gas chromatograph with flame ionization detector (GC-FID, Shimadzu GC-2014 system with an AOC-500 auto injector) (Steffen and Pawliszyn, 1996). An HP-INNOWax GC column maintained at 110 °C was used for separating the components. Helium gas was used with entrainment gas, with a column flow of 1.08 mL/min and total flow of 31.2 mL/min (Lian et al., 2010). The ethanol calibration curve was linear, with a range of concentration of solution (0.5-5.0 g/L). All analyzes were performed in triplicate.

3.3.11 Analysis of sugar consumption and ethanol production by Liquid Chromatography (HPLC)

Analysis of sugar consumption and ethanol production during fermentation were monitored by high performance liquid chromatography (HPLC) model YL9100 HPLC System (YOUNG LIN) equipped with a Rezex RCM - Monosaccharide Ca⁺² (8%) column, the phase used was Milli-Q water with a flow rate of 0.7 mL/min. The column temperature was maintained at 60 °C. The detector used was the Refraction Index (David et al., 2016). A calibration curve was prepared with a linearity range of compounds tested between 1 and 4 g/L obtaining a correlation coefficient R² of 0.999.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Composição físico-química do bagaço de cana

A Tabela 5 apresenta a composição do bagaço de cana. Como pode ser observado, a composição foi de cerca de 73%, porque o teor total de lignina não foi experimentalmente determinado. A composição de carboidratos deste bagaço é composta principalmente de glicose e xilose, cujos valores foram aproximadamente, 43 e 22% em massa, respectivamente. Estes valores de composição são consistentes com os dados reportados em outros trabalhos, mas com algumas variações, como mostrado comparativamente na Tabela 5. Provavelmente, estas diferenças podem ser atribuídas a influência das espécies e variedade da planta, fase de crescimento na colheita, fatores edafoclimáticos, exposição a micro-organismos, insetos e pragas, poluentes e tipo de processamento pós-colheita. Todas estas características proporcionam propriedades físico-químicas específicas para cada planta e podem determinar em algumas espécies, a concentração de um composto específico, o que torna difícil a generalização dos resultados em relação à composição de bagaço de cana-de-açúcar.

Tabela 5. Composição (% em massa) do bagaço de cana não tratado.

Cinzas	Extrativos	Xilose	Galactose	Glicose	Arabinose	Ref.
1,02	3,10	22,14	1,73	43,39	1,96	Neste trabalho
4,00	5,90	20,90	0,90	40,60	4,00	Batalha et al., 2015
4,59	-	27,96	0,61	41,35	1,75	Hongdan et al., 2013
2,30	5,56	25,00	0,22	46,00	2,10	Prado et al., 2014

4. RESULTS AND DISCUSSIONS

4.1 Physicochemical composition of sugarcane bagasse

Table 5 shows the composition of the sugarcane bagasse studied. As can be observed the total composition was around 73% because the total lignin content was not experimentally determined. In addition, the carbohydrate composition was composed mainly of glucose and xylose in which values were approximately, 43 and 22 wt.%, respectively. These composition values observed are consistent with data reported in other works but with some variations, as shown comparatively in Table 1. Probably, these differences can be attributed to the influence of the species and variety of plant, growth stage during harvesting, edaphoclimatic factors, exposure to microorganisms, insects and pests, pollutants and type of postharvest processing. All these characteristics provide specific physicochemical properties for each plant and can determine in some species the concentration of a specific compound, making it difficult to generalize the results regarding to the composition of sugarcane bagasse.

Table 5. Composition (wt. %) of untreated sugarcane bagasse.

Ash	Extractives	Xylose	Galactose	Glucose	Arabinose	Ref.
1.02	3.10	22.14	1.73	43.39	1.96	In this study
4.00	5.90	20.90	0.90	40.60	4.00	(Batalha et al., 2015)
4.59	-	27.96	0.61	41.35	1.75	(Hongdan et al., 2013)
2.30	5.56	25.00	0.22	46.00	2.10	(Prado et al., 2014)

Quanto ao teor de C, H, N, e O estão apresentados na Tabela 6. Esta é uma análise importante, uma vez que a composição elementar da biomassa está relacionada com os rendimentos dos produtos da pirólise da biomassa (Balat, 2011; Rocha et al., 2015). A biomassa apresentou uma composição média de 46% de carbono, 48% de oxigênio, 5,86% de hidrogênio e cerca de 6% de nitrogênio. Assim, de acordo com a Tabela 6, o bagaço de cana apresentou uma relação média de C: H, de 8: 1, também de 1: 1 C: O, 183: 1 C: N e 8: 1 O: H, valores estes, próximos aos encontrados por Rocha et al. (2015) em um estudo com 60 amostras de bagaço de cana, de diferentes variedades de cana, coletadas em várias indústrias de álcool no Brasil.

Tabela 6. Análise da composição elementar do bagaço de cana não tratado.

C	H	N	O*	Cinzas
45,78	5,86	0,25	48,11	1,02

*determinado por diferença

4.2 Estudos do bagaço de cana tratado utilizando a lavagem com HNO₃ e submetido a Pirólise-CG/MS.

Um dos objetivos deste trabalho de tese é obter um maior rendimento na formação de açúcares pirolíticos, isto é, levoglucosana durante a pirólise do bagaço de cana-de-açúcar, algumas estratégias foram realizadas com o intuito de obter um maior rendimento deste açúcar no bagaço.

Uma das características conhecidas na biomassa lignocelulósica é a presença em sua matriz de metais alcalinos e metais alcalinos terrosos (Na, K, Mg, Ca, Al, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, e Ba). Estes compostos têm um efeito catalítico durante a pirólise da biomassa, resultando em baixo rendimento na formação de açúcares pirolíticos. Uma das estratégias utilizadas para remover estes compostos indesejáveis, foi a lavagem do bagaço de cana com ácido nítrico (0,1%). Estudos mostram que este processo remove mais de 50% do teor de metais alcalinos na biomassa lignocelulósica (Pecha et al., 2015). A Figura 4 apresenta a título ilustrativo um cromatograma da pirólise do bagaço de cana submetido à lavagem com HNO₃ e pirolisado à temperatura de 400 °C em um pirolisador acoplado ao um cromatógrafo a gás com espectro de massa (Pirólise-CG/MS).

The content of C, H, N, and O is shown in Table 6. It is an important analysis because the elemental composition of biomass is related to the yield of pyrolysis products (Balat, 2011; Rocha et al., 2015). In this work, the biomass showed about 46% carbon, 48% oxygen, 5.86% hydrogen and about 6% of nitrogen. Thus, according to Table 6 sugarcane bagasse presented a ratio average carbon to hydrogen of 8:1, almost 1:1 carbon to oxygen, 183:1 carbon to nitrogen and 8:1 oxygen to hydrogen, values close to those found by Rocha et al. (2015) during a study with sixty samples of sugarcane bagasse, containing a mix of different cane varieties, collected from several Brazilian sucroalcohol industries.

Table 6. Elemental composition analysis of untreated sugarcane bagasse.

C	H	N	O*	Ash
45.78	5.86	0.25	48.11	1.02

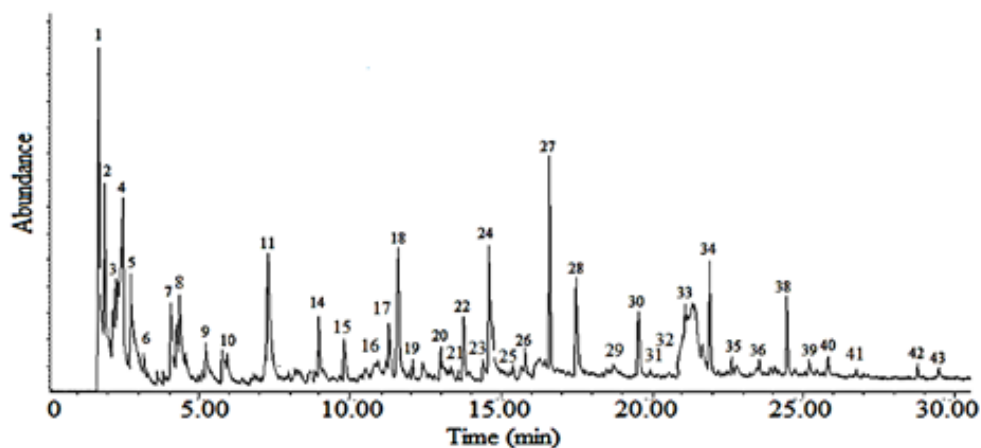
*determined by difference.

4.2 sugarcane bagasse treatment studies using washing with HNO₃ and subjected to Pyrolysis-GC/MS.

One of the objectives of this work is to obtain a higher yield in the formation of pyrolytic sugars, i.e., levoglucosan during the pyrolysis of sugarcane bagasse, some strategies were carried out with the aim of obtaining a higher yield of this sugar in the bagasse.

One of the well-known characteristics in lignocellulosic biomass is the presence of alkali metals and alkaline earth metals (AAEMs) in their matrix (Na, K, Mg, Ca, Al, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, and Ba). These compounds have a catalytic effect during the pyrolysis of the biomass, resulting in low yields in the formation of pyrolytic sugars. One of the strategies used to remove these undesirable compounds from biomass was the washing of sugarcane bagasse with nitric acid (0.1%). Studies have shown that this washing process removes more than 50% of the alkali metal content in lignocellulosic biomass (Pecha et al., 2015). Figure 4 shows, for illustrative purposes, a the pyrolysis chromatogram of sugarcane bagasse washed with nitric acid and pyrolyzed at 400 °C in a pyrolyzer coupled to gas chromatograph with a mass spectrometric (Pyrolysis- GC/MS).

a)



b)

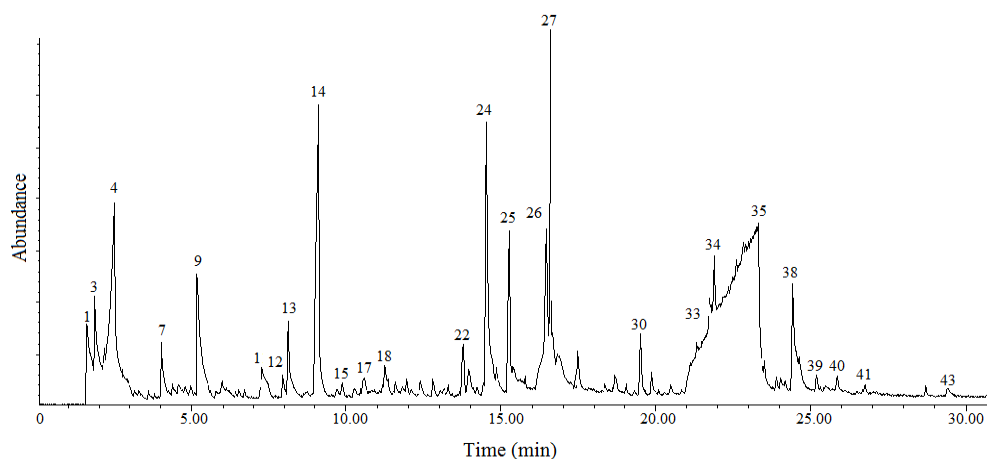


Figura 4. Cromatograma da pirólise-CG/MS do bagaço de cana lavado com ácido nítrico (0,1%) à temperatura de pirólise de 400 °C. a) bagaço de cana sem tratamento; b) bagaço de cana lavado com ácido nítrico.

Pode observar a quantidade de compostos formados durante a pirólise do bagaço de cana sem tratamento (Figura 4a) e em menor quantidade de compostos no bagaço submetido ao processo de lavagem com ácido nítrico (Figura 4b). Isso mostra como a lavagem com ácido nítrico interfere na formação dos compostos durante a pirólise da biomassa. A Tabela 7 apresenta os compostos formados nos respectivos cromatogramas referentes à Figura 4. No bagaço de cana sem tratamento foram encontrados 43 compostos por meio da Pirólise-CG/MS, dentre estes compostos, estão presentes açúcares pirolíticos, álcoois, compostos fenólicos, aldeídos, ácidos orgânicos, etc.

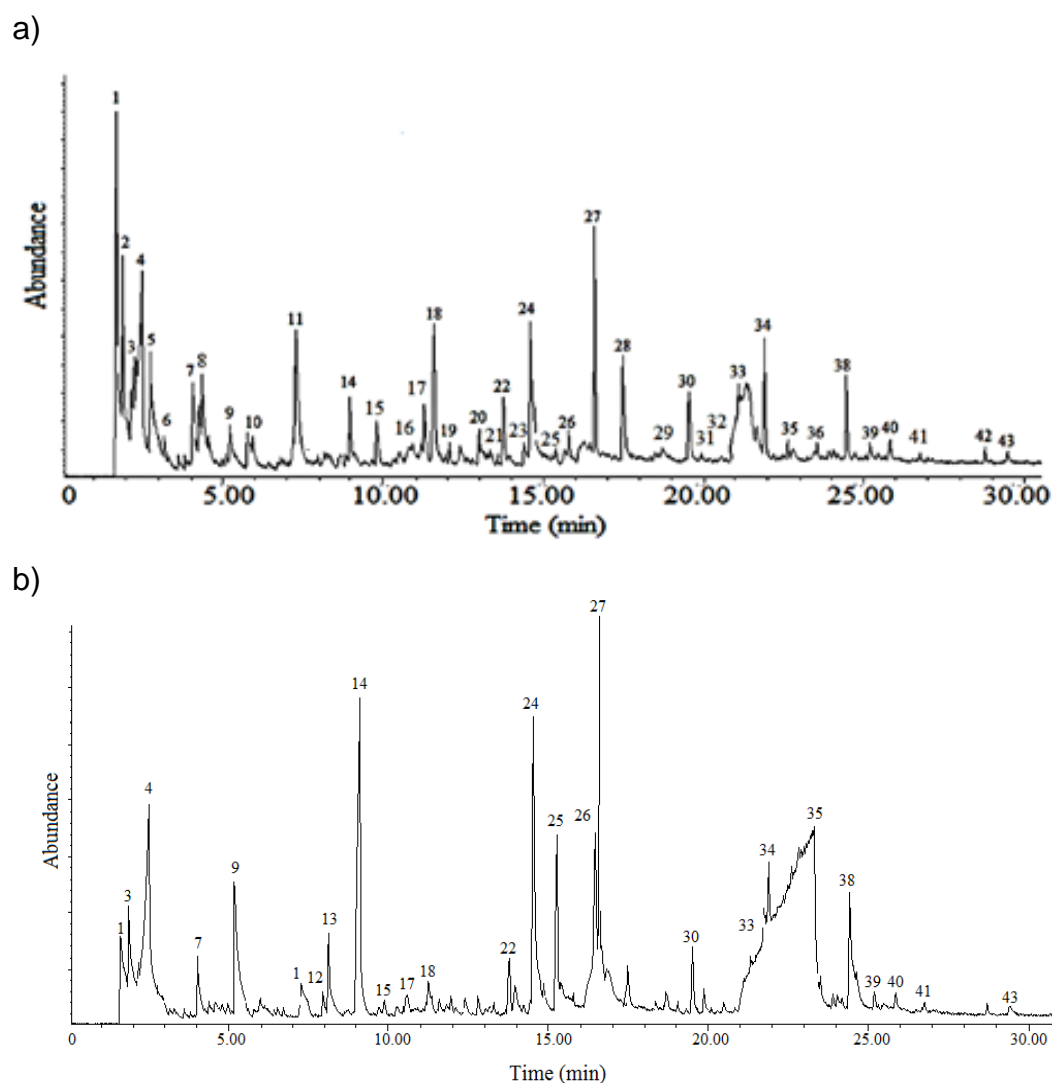


Figure 4. Pyrolysis-GC/MS chromatogram of the sugarcane bagasse washed with nitric acid (0.1%) at a pyrolysis temperature of 400 °C. a) untreated sugarcane bagasse; b) cane bagasse washed with nitric acid.

It is possible to observe the amount of compounds formed during the pyrolysis of untreated sugarcane bagasse (Figure 4a) and in the smaller number of compounds in the bagasse subjected to the nitric acid washing process (Figure 4b). This shows how nitric acid washing interferes with the formation of compounds during the pyrolysis of the biomass. Table 7 presents the compounds formed in the respective chromatograms referring to Figure 4. In the untreated sugarcane bagasse, 43 compounds were found through Pyrolysis-GC/MS, among these compounds, pyrolytic sugars, alcohols, phenolic compounds, aldehydes, organic acids, etc.

Tabela 7. Compostos condensáveis da pirólise do bagaço de cana por Py-GC/MS.

Pico	Compostos	TR	Formul	m/z	MM
1	Dióxido de carbono	1.59	CO ₂	44	44
2	Ácido propanoico, 2-oxo-	1.79	C ₃ H ₄ O ₃	43	88
3	Acetaldeido	1.84	C ₂ H ₄ O	43	44
4	Ácido acético	2.51	C ₂ H ₄ O ₂	43	60
5	2-Propanone, 1-hidroxi-	2.66	C ₃ H ₆ O ₂	43	74
6	ni	-	-	-	-
7	1,2-Etanediol, monoacetato	3.96	C ₄ H ₈ O ₃	43	104
8	Ácido propanoico, 2-oxo-, metil ester	4.31	C ₄ H ₆ O ₃	43	102
9	Furfural	5.12	C ₅ H ₄ O ₂	96	96
10	2-Furanmetanol	5.7	C ₅ H ₆ O ₂	41	98
11	2-Ciclopenteno-1-one, 2-hidroxi-	7.26	C ₅ H ₆ O ₂	98	98
12	ni	7.91	-	-	-
13	Ácido butanedioico, metil-	8.12	C ₅ H ₈ O ₄	86	132
14	2,4(3H,5H)-Furandione, 3-metil-	9.04	C ₅ H ₆ O ₃	114	114
15	1,2-Ciclopentanedione, 3-metil-	9.83	C ₆ H ₈ O ₂	112	112
16	ni	10.54	-	-	-
17	2,5-Dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanone	11,19	C ₆ H ₈ O ₃	43	128
18	Fenol, 2-metoxi-	11.26	C ₇ H ₈ O ₂	109	124
19	ni	-	-	-	-
20	ni	12.78	-	-	-
21	Fenol, 3,4-dimetil-	13.26	C ₈ H ₁₀ O	107	122
22	Fenol, 2-metoxi-4-metil-	13.76	C ₈ H ₁₀ O ₂	123	138
23	ni	13.92	-	-	-
24	Benzofurano, 2,3-dihidro-	14.51	C ₈ H ₈ O	120	120
25	1,4:3,6-Dianidro- α -D-glucopiranoose	15.27	C ₆ H ₈ O ₄	69	144
26	Fenol, 4-etil-2-metoxi-	15.75	C ₉ H ₁₂ O ₂	137	152
27	2-Metoxi-4-vinilfenol	16.57	C ₉ H ₁₀ O ₂	135	150
28	Fenol, 2,6-dimetoxi-	17.46	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	154
29	Vanilina	18.65	C ₈ H ₈ O ₃	151	152
30	Fenol, 2-metoxi-4-(1-propenil)-, (E)-	19.5	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164
31	Fenol, 2-metoxi-4-propil-	19.84	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	137	166
32	Fenol, 3-metoxi-2,4,6-trimetil-	20.46	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	151	166
33	Levoglucoana	21.77	C ₆ H ₁₀ O ₅	60	162
34	3',5'-Dimetoxiacetofenone	21.91	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	165	180
35	ni	-	-	-	-
36	Benzaldehyde, 4-hidroxi-3,5-dimetoxi-	23.86	C ₉ H ₁₀ O ₄	182	182
37	ni	-	-	-	-
38	Fenol, 2,6-dimetoxi-4-(2-propenil)-	24.42	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194	194
39	Etanone, 1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-	25.15	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	181	196
40	Desaspidinol	25.8	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	167	210
41	ni	26.7	-	-	-
42	ni	28.72	-	-	-
43	3,5-Dimetoxi-4-hidroxicinnamaldehyde	29.43	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	208	208

TR - tempo de retenção (min); m/z – razão massa-carga dos espectros de massa; MM- massa molecular (kg/ kmol); ni – não identificado.

Table 7. Sugarcane bagasse pyrolytic condensable compounds by Py-GC/MS.

Peak	Compounds	Rt	Formula	m/z	MW
1	Carbon dioxide	1.59	CO ₂	44	44
2	Propanoic acid, 2-oxo-	1.79	C ₃ H ₄ O ₃	43	88
3	Acetaldehyde	1.84	C ₂ H ₄ O	43	44
4	Acetic acid	2.51	C ₂ H ₄ O ₂	43	60
5	2-Propanone, 1-hydroxy-	2.66	C ₃ H ₆ O ₂	43	74
6	ni	-	-	-	-
7	1,2-Ethanediol, monoacetate	3.96	C ₄ H ₈ O ₃	43	104
8	Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester	4.31	C ₄ H ₆ O ₃	43	102
9	Furfural	5.12	C ₅ H ₄ O ₂	96	96
10	2-Furanmethanol	5.7	C ₅ H ₆ O ₂	41	98
11	2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-	7.26	C ₅ H ₆ O ₂	98	98
12	ni	7.91	-	-	-
13	Butanedioic acid, methyl-	8.12	C ₅ H ₈ O ₄	86	132
14	2,4(3H,5H)-Furandione, 3-methyl-	9.04	C ₅ H ₆ O ₃	114	114
15	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	9.83	C ₆ H ₈ O ₂	112	112
16	ni	10.54	-	-	-
17	ni	11.06	-	-	-
18	Phenol, 2-methoxy-	11.26	C ₇ H ₈ O ₂	109	124
19	ni	-	-	-	-
20	ni	12.78	-	-	-
21	Phenol, 3,4-dimethyl-	13.26	C ₈ H ₁₀ O	107	122
22	Phenol, 2-methoxy-4-methyl-	13.76	C ₈ H ₁₀ O ₂	123	138
23	ni	13.92	-	-	-
24	Benzofuran, 2,3-dihydro-	14.51	C ₈ H ₈ O	120	120
25	1,4:3,6-Dianhydro- α -D-glucopyranose	15.27	C ₆ H ₈ O ₄	69	144
26	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	15.75	C ₉ H ₁₂ O ₂	137	152
27	2-Methoxy-4-vinylphenol	16.57	C ₉ H ₁₀ O ₂	135	150
28	Phenol, 2,6-dimethoxy-	17.46	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	154
29	Vanillin	18.65	C ₈ H ₈ O ₃	151	152
30	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)	19.5	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164
31	Phenol, 2-methoxy-4-propyl-	19.84	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	137	166
32	Phenol, 3-methoxy-2,4,6-trimethyl-	20.46	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	151	166
33	Levoglucosan	21.77	C ₆ H ₁₀ O ₅	60	162
34	3',5'-Dimethoxyacetophenone	21.91	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	165	180
35	ni	-	-	-	-
36	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-	23.86	C ₉ H ₁₀ O ₄	182	182
37	ni	-	-	-	-
38	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	24.42	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194	194
39	Ethanone, 1-(4-hydroxy-3,5-	25.15	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	181	196
40	Desaspidinol	25.8	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	167	210
41	ni	26.7	-	-	-
42	ni	28.72	-	-	-
43	3,5-Dimethoxy-4-	29.43	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	208	208

Rt – retention time (min); **m/z** - mass-to-charge ratio in the mass spectrum; **MW**- molecular weight (kg/ kmol); **ni** – not identified.

No Apêndice A deste trabalho, encontram-se todos os compostos da pirólise-CG/MS do bagaço de cana-de-açúcar sem tratamento (Tabela A1). Nas Tabelas A2 até a Tabela A7 encontram-se todas as áreas dos picos dos cromatogramas divididas pela massa de bagaço de cana pirolisado. Realizou este cálculo para todos os compostos identificados de acordo com cada uma das condições empregadas, isto é, variando a temperatura de pirólise (350, 400, 450, 500, 550 e 600 °C) do bagaço de cana sem tratamento, bem como, todos os respectivos cromatogramas (Figura A1 até a Figura A6) do bagaço de cana não tratado. Nas Tabelas A8 até a Tabela A13, encontram-se todas as áreas divididas pela massa de bagaço de cana pirolisado, de todos os compostos identificados no bagaço de cana submetido à lavagem com ácido nítrico. Nas Figuras A7 até a Figura A12, encontram-se todos os cromatogramas da pirólise-CG/MS do bagaço de cana lavado com ácido nítrico.

4.2.1 Formação de levoglucosana usando o bagaço de cana submetido à lavagem com ácido nítrico

A Figura 5 apresenta a formação de levoglucosana no bagaço de cana sem tratamento e do bagaço de cana previamente lavado com ácido nítrico e submetido ao estudo de Pirólise-CG/MS em diferentes temperaturas (350 a 600 °C). Em relação à temperatura de pirólise, em todas as temperaturas estudadas, a formação de levoglucosana foi maior em comparação com a biomassa sem tratamento. Quando o bagaço foi lavado com ácido nítrico, houve um aumento na formação de levoglucosana. Este aumento é provavelmente devido à remoção dos compostos alcalinos no bagaço, alcançando quase o dobro na formação de levoglucosana quando comparado com o bagaço sem tratamento (Figura 5) com a temperatura de pirólise a 400 °C. Resultados similares confirmaram que a lavagem com ácido nítrico aumenta a produção de levoglucosana durante a pirólise da biomassa lignocelulósica, provavelmente devido à redução das interações indesejáveis entre a celulose com os outros constituintes da matriz lignocelulósica (Oudenhoven, et al., 2013; Zhou et al., 2013; Pecha et al., 2015).

In Appendix A of this work, are all compounds of Pyrolysis-GC/MS sugarcane bagasse without treatment (Table A1). In Tables A2 to Table A7 are all areas of the peaks of the chromatograms divided by the mass of the pyrolysed sugarcane bagasse. This calculation was performed for all compounds identified according to each of the conditions employed, i.e., varying the pyrolysis temperature (350, 400, 450, 500, 550 and 600 °C) of untreated sugarcane bagasse in all the respective chromatograms (Figure A1 to Figure A6) of the untreated sugarcane bagasse. In Tables A8 to Table A13, all areas are divided by the mass of the pyrolysed sugarcane bagasse, of all the compounds identified in the sugarcane bagasse subjected to washing with nitric acid. In Figures A7 through Figure A12 are all pyrolysis-GC/MS chromatograms of nitric acid washed cane bagasse.

4.2.1 Levoglucosan formation using the cane bagasse subjected to nitric acid washing

Figure 5 presents the levoglucosan formation in untreated sugarcane bagasse and the sugarcane bagasse washed with nitric acid and submitted to the study of Pyrolysis-GC/MS at different temperatures (350 to 600 °C). Regarding the pyrolysis temperature, in all the studied temperatures, the formation of levoglucosana was greater in comparison with the biomass without treatment. When the bagasse was washed with nitric acid, there was an increase in the formation of levoglucosan. This increase is probably due to the removal of the alkaline compounds in the bagasse, reaching almost double the formation of levoglucosan when compared to untreated bagasse (Figure 5) with the pyrolysis temperature at 400 °C. Similar results confirmed that washing with nitric acid increases the production of levoglucosan during the pyrolysis of lignocellulosic biomass, probably due to the reduction of undesirable interactions between cellulose and the other constituents of the lignocellulosic matrix (Oudenhoven, et al., 2013; Zhou et al., 2013; Pecha et al., 2015).

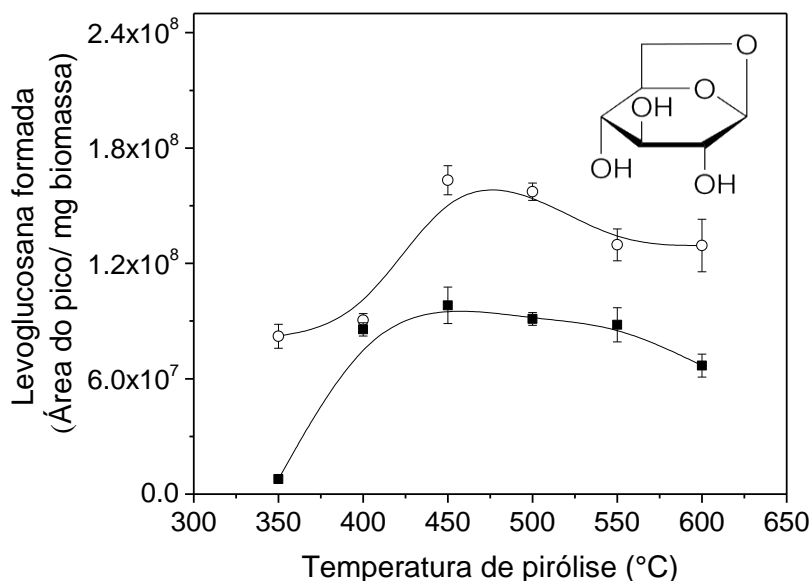


Figura 5. Produção de levoglucosana do bagaço de cana previamente lavado com ácido nítrico e submetido ao estudo de Pirólise-CG/MS em diferentes temperaturas. Símbolos: ■ biomassa não tratada; ○ biomassa lavada.

4.2.2. Outros produtos pirolíticos do bagaço de cana lavado com ácido nítrico

Os rendimentos relativos aos compostos formados durante a pirólise de biomassa não tratada (controle) e a biomassa lavada com ácido nítrico estão representados graficamente nas Figuras 6 a 10. A Figura 6 mostra a formação de pequenas moléculas que contêm de um a quatro átomos de carbono, tais como dióxido de carbono; acetaldeído; ácido acético; 2-propanono, 1-hidroxi; 1,2-etanediol, monoacetato. Estes produtos são resultantes das reações de fragmentação do bagaço de cana, cujo rendimento foi maior para as amostras não tratadas. No entanto, a sua concentração foi substancialmente menor principalmente quando a biomassa foi lavada com ácido nítrico, exceto para o composto acetaldeído. Pode observar também, um aumento na formação de CO₂ com o aumento da temperatura de pirólise, porém quando o bagaço foi submetido à lavagem com HNO₃, diminuiu a sua formação em comparação com a biomassa sem tratamento. Segundo Pecha et al. (2015), sódio, potássio, e cálcio aumentam o rendimento de gases, tais como CO₂ e CO diminuem o rendimento de moléculas do bio-óleo e a área da superfície do biocarvão.

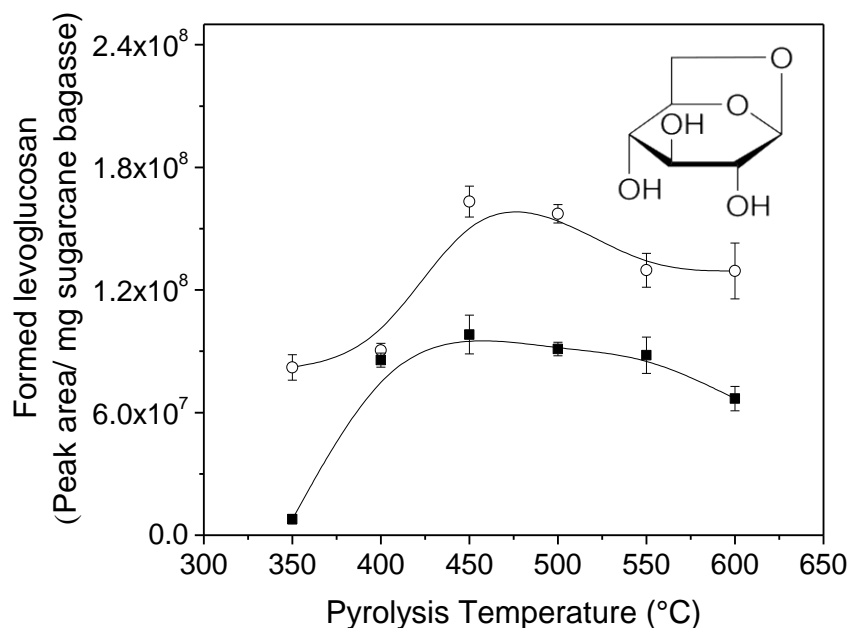


Figure 5. Production of levoglucosan from bagasse previously washed with nitric acid and submitted to the study of Pyrolysis-CG / MS at different temperatures. Symbols: ■ untreated biomass; ○ washed biomass.

4.2.2. Other pyrolytic products from sugarcane bagasse washed with nitric acid

The yields relative to the compounds formed during pyrolysis of untreated biomass (control) and the biomass washed with nitric acid are shown graphically in Figures 6-10. Thus, Figure 6 shows the formation of small molecules containing one to four carbon atoms, such as carbon dioxide; acetaldehyde; acetic acid; 2-propanone, 1-hydroxy; 1,2-ethanediol, monoacetate. These products are the result of the fragmentation reactions of sugarcane bagasse, the yield of which was higher for the untreated samples. However, their concentration was substantially lower especially when the biomass was washed with nitric acid, except for the acetaldehyde compound. It can also observe an increase in the formation of carbon dioxide with the increase of the pyrolysis temperature, but when the bagasse was washed with HNO₃, it decreased its formation in comparison with the biomass without treatment. According to Pecha et al. (2015), sodium, potassium, and calcium increase the yield of gases such as CO₂ and CO decrease the yield of bio-oil molecules and the surface area of the bio-coal.

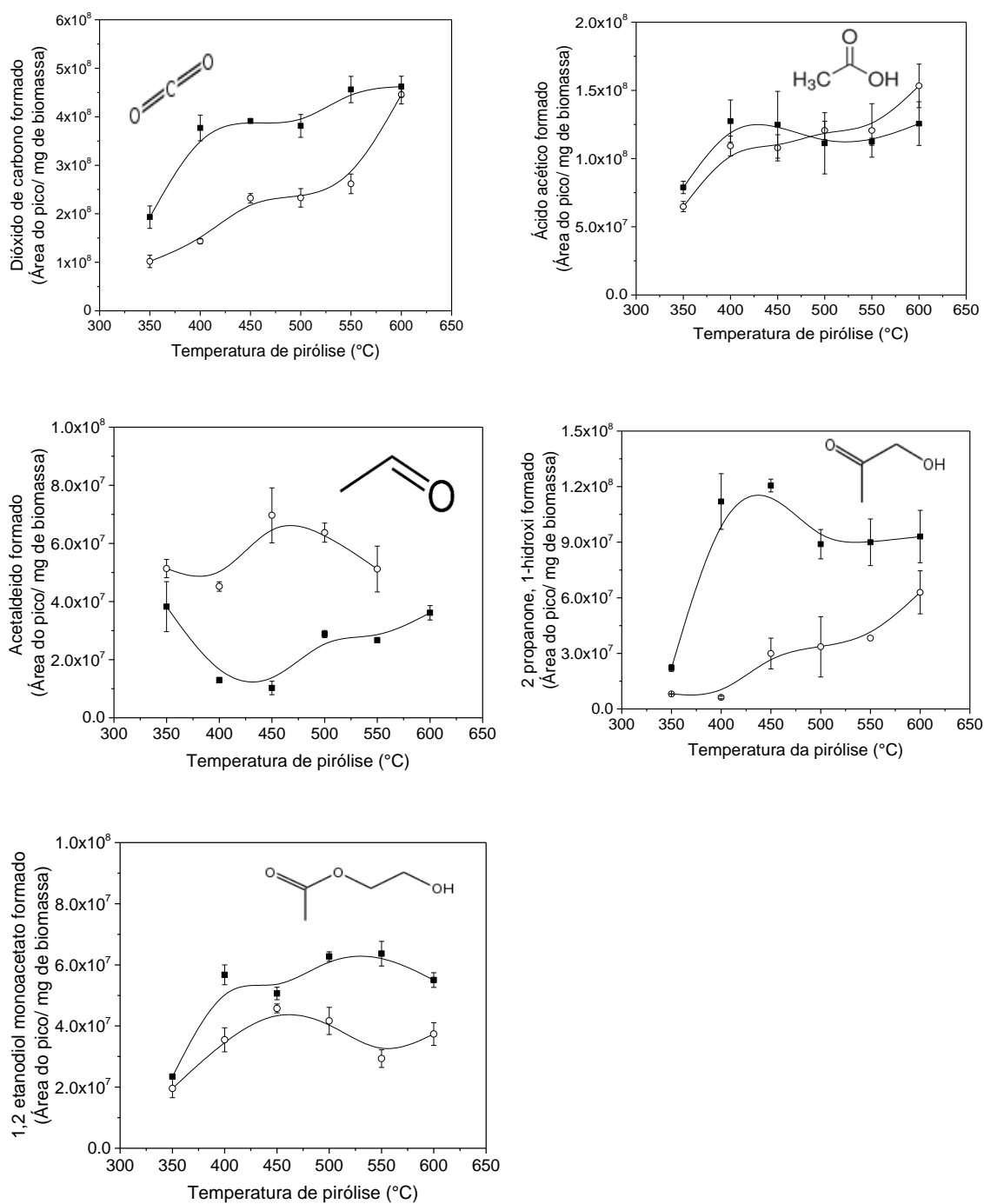


Figura 6. Efeitos na formação de produtos pirolíticos do bagaço de cana submetido à lavagem com ácido nítrico nos estudos de pirólise-CG/MS em diferentes temperaturas (dióxido de carbono; acetaldeído; ácido acético; 2-propanone, 1-hidroxi-; 1,2-ethanediol, monoacetato). Símbolos: ■ biomassa não tratada; ○ biomassa lavada.

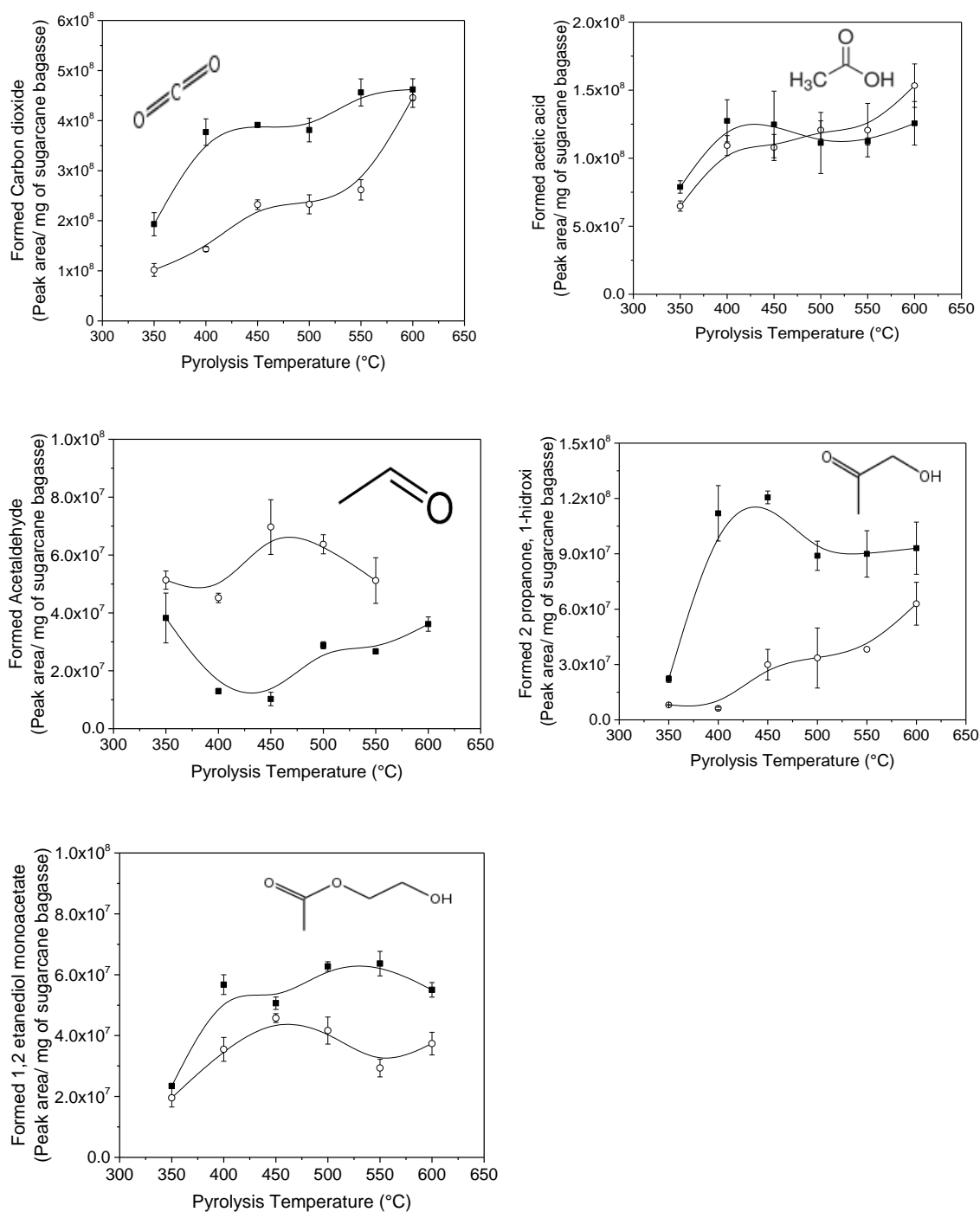


Figure 6. Effects in the formation of pyrolytic products from sugarcane bagasse subjected to washing with nitric acid in studies of pyrolysis GC / MS at different temperatures (carbon dioxide; acetaldehyde; acetic acid; 2-propanone,1-hydroxy; 1,2-ethanediol, monoacetate). Symbols: ■ untreated biomass; ○ washed biomass.

A Figura 7 apresenta a formação de compostos pirolíticos com cadeia de 5 carbonos na biomassa sem tratamento e no bagaço de cana lavado com ácido nítrico. Pode observar um aumento na formação destes compostos em relação à biomassa não tratada (furfural; ácido butanoedioico, metil; 2,4 (3H,5H) - Furandione, 3-metil), exceto para o 2-Ciclopenteno-1-one, 2-hidroxi, no qual foi expressivamente maior no bagaço de cana sem tratamento na temperatura de pirólise de 400 °C.

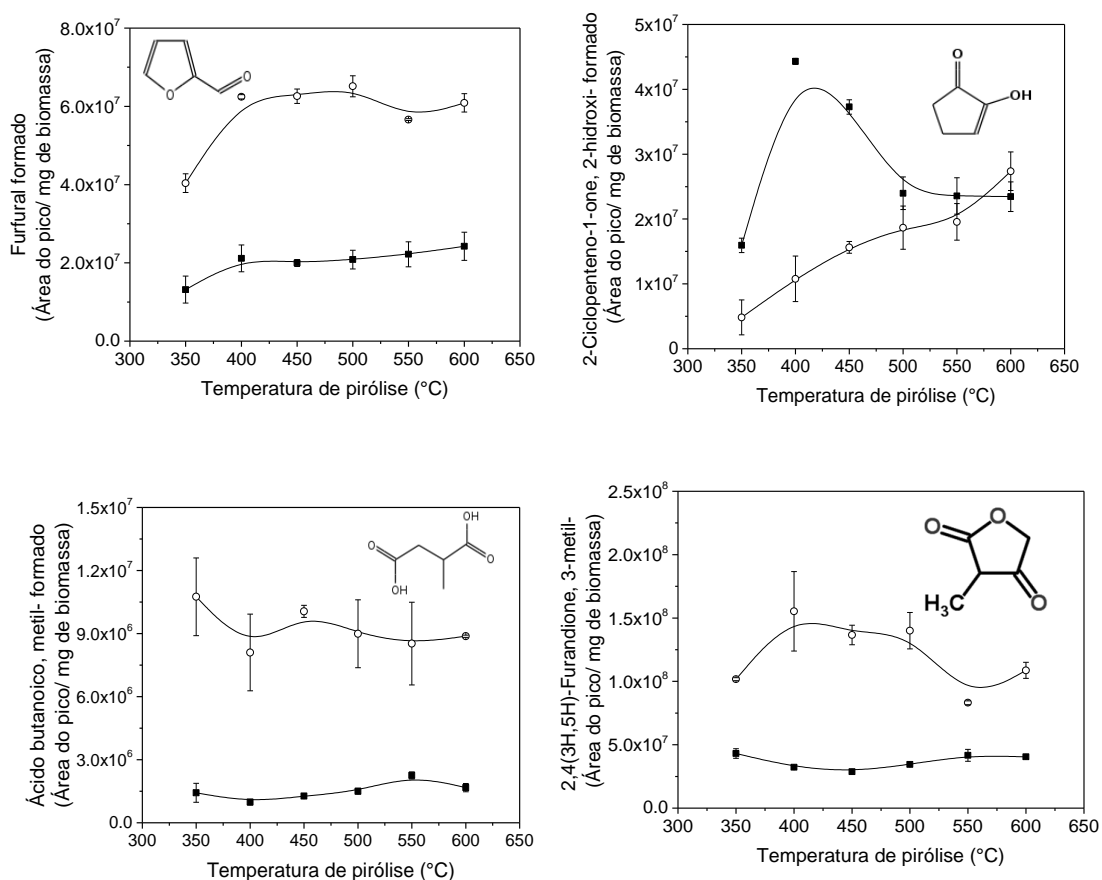


Figura 7. Efeitos na formação de produtos pirolíticos do bagaço de cana submetido à lavagem com ácido nítrico nos estudos de pirólise-CG/MS em diferentes temperaturas (furfural; 2-Ciclopenteno-1-one, 2-hidroxi-; ácido butanoedioico, metil; 2,4 (3H,5H) - Furandione, 3-metil). Símbolos: ■ biomassa não tratada; ○ biomassa lavada.

Figure 7 shows the formation of pyrolytic compounds with 5-carbon chain in the untreated sugarcane bagasse and in the bagasse washed with nitric acid. It can be seen an increase in the formation of these compounds compared to untreated biomass (furfural; butanedioic acid, metill; 2,4(3H,5H)-furandione 3-methyl) except for the 2-cyclopentene-1-one, 2 -hydroxy, in which it was expressively higher in untreated sugarcane bagasse at the pyrolysis temperature of 400 °C.

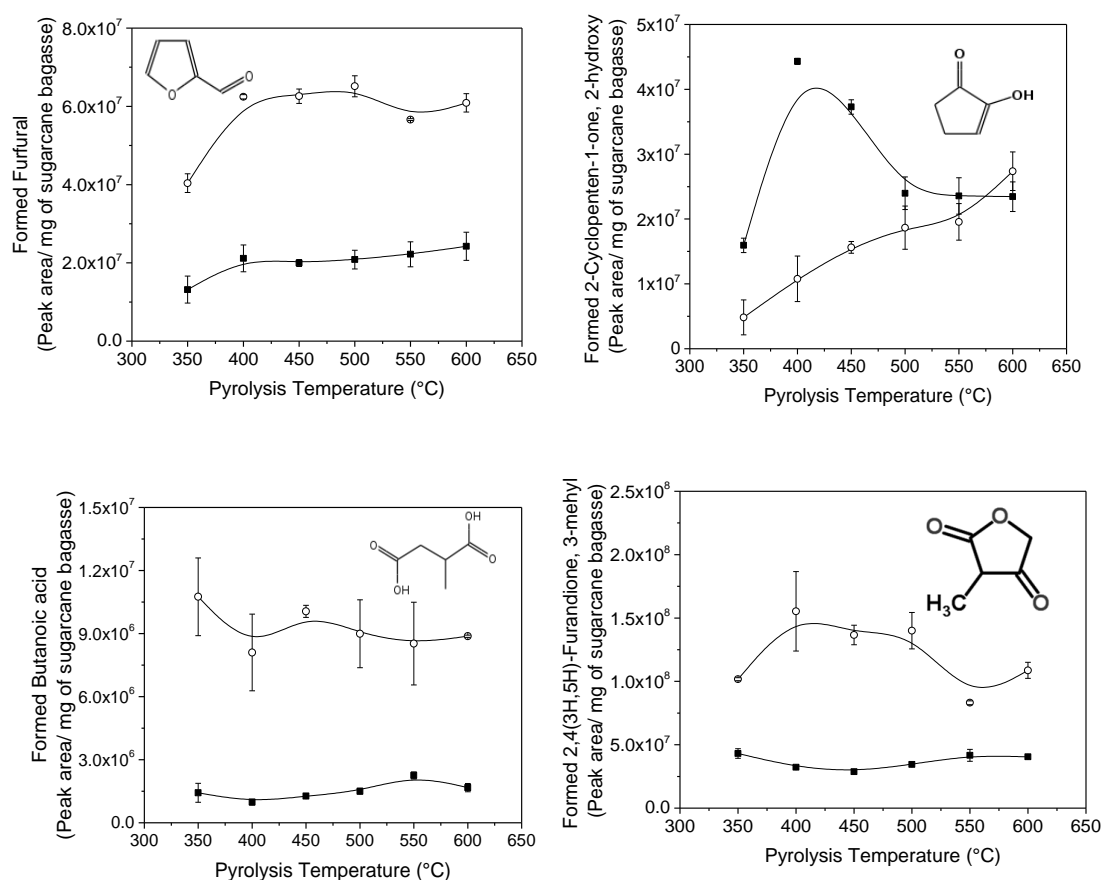


Figure 7. Effects in the formation of pyrolytic products of sugarcane bagasse submitted to washing with nitric acid in the studies of pyrolysis-GC/MS at different temperatures (furfural, 2-cyclopentene-1-one, 2-hydroxy; butanedioic acid, metill; 2,4 (3H, 5H)-furandione 3-methyl). Symbols: ■ untreated biomass; ○ washed biomass.

Estes compostos fenólicos formados na pirólise da biomassa são indesejáveis para a fermentação para produção de etanol, uma vez que são compostos inibidores para a levedura *S. cerevisiae*. Para alguns destes compostos fenólicos, tais como: fenol, 4-etil-2-metoxi; fenol, 2,6-dimetoxi; desaspidinol e o 1,2-ciclopentanedione, 3 metil, foram drasticamente reduzidos com a lavagem do bagaço com ácido nítrico (Figura 8 e Figura 9), para os compostos 2-metoxi-4-metil-; benzofurano, 2,3-dihidro a lavagem ácida não apresentou diferenças na formação em relação ao bagaço não tratado, uma vez que seguiu o mesmo perfil de formação (Figura 8).

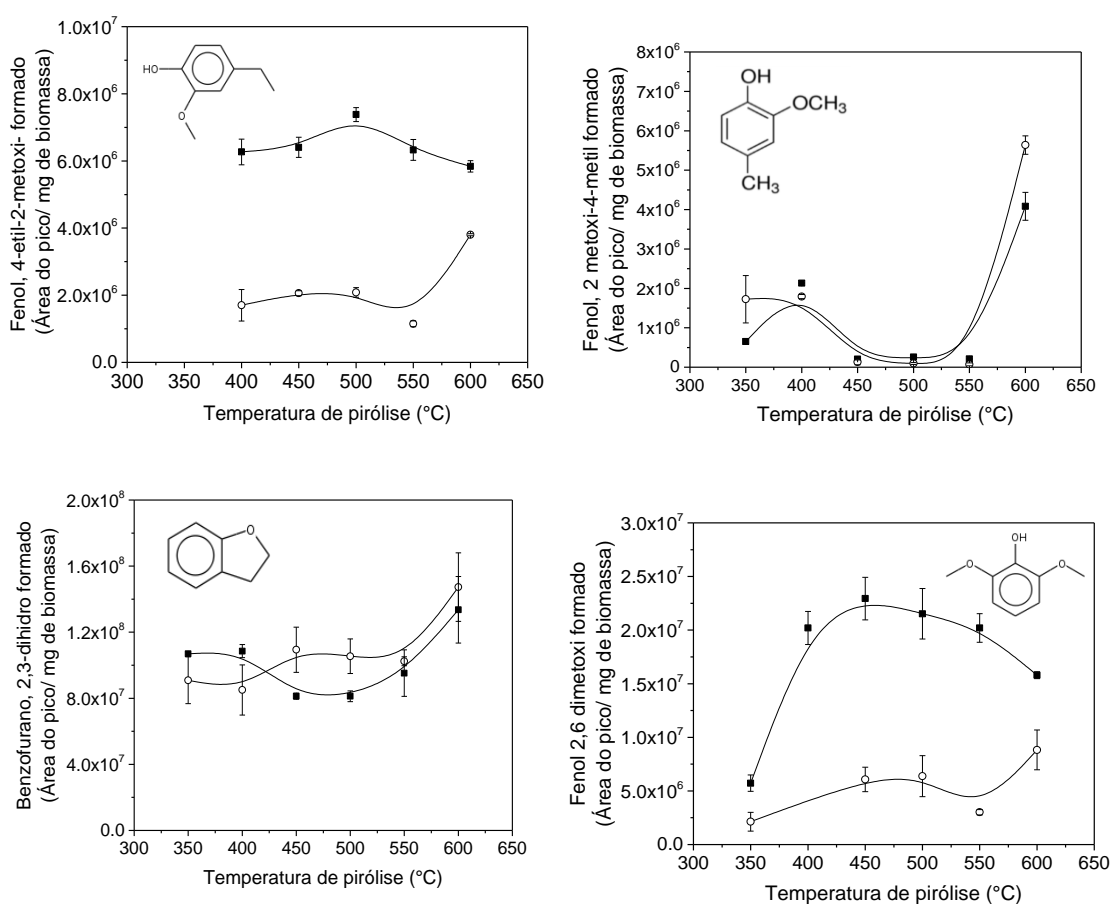


Figura 8. Efeitos na formação de produtos pirolíticos do bagaço de cana submetido à lavagem com ácido nítrico nos estudos de pirólise-CG/MS em diferentes temperaturas (fenol, 4-etil-2-metoxi; fenol, 2-metoxi-4-metil; benzofurano, 2,3-dihidro; fenol, 2,6-dimetoxi). Símbolos: ■ biomassa não tratada; ○ biomassa lavada.

These phenolic compounds formed in the pyrolysis of biomass are undesirable for fermentation for the production of ethanol, since they are inhibitory compounds for yeast *S. cerevisiae*. For some of these phenolic compounds, such as: phenol, 4-ethyl-2-methoxy; phenol, 2,6-dimethoxy; desaspidinol and 1,2-cyclopentanedione, 3-methyl, were dramatically reduced by washing the bagasse with nitric acid (Figure 8 and Figure 9). For compounds 2-methoxy-4-methyl-; benzofuran, 2,3-dihydro the acid wash showed no difference in formation relative to the untreated bagasse, since it followed the same formation profile (Figure 8).

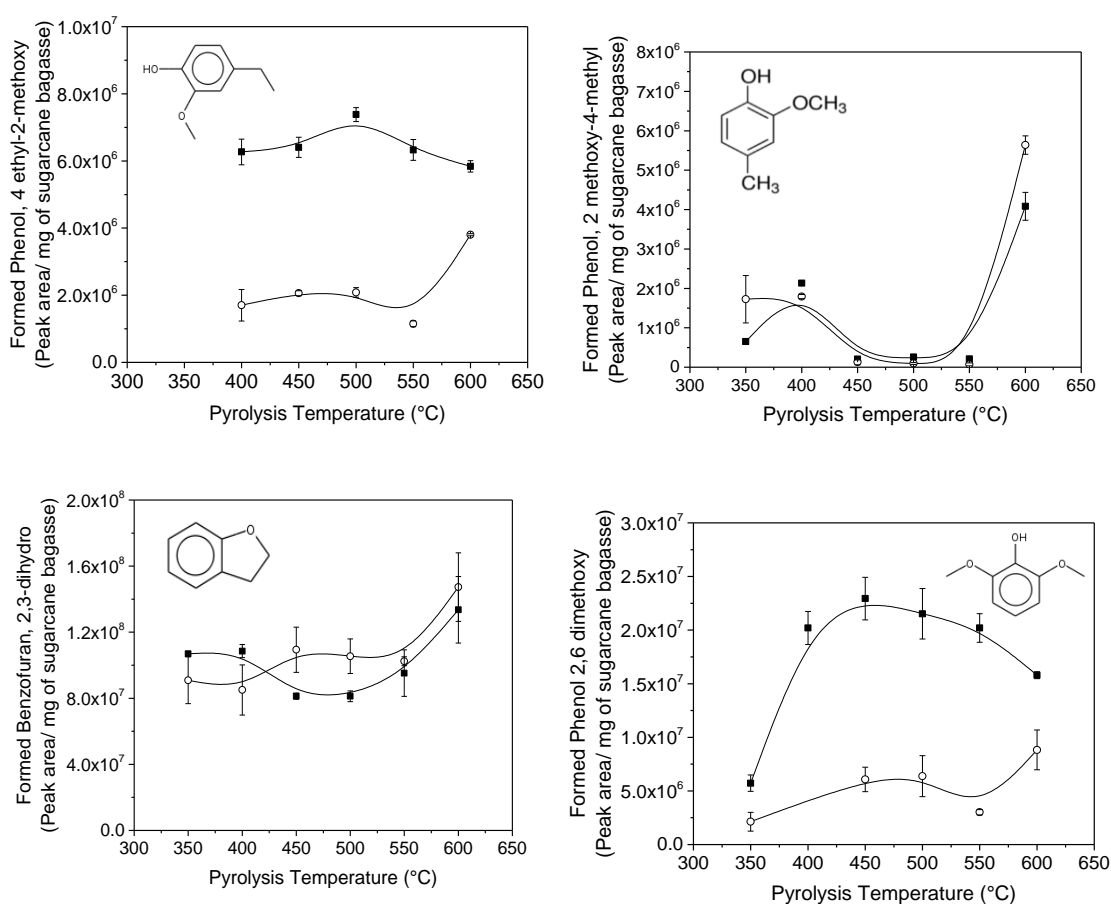


Figure 8. Effect on formation of pyrolytic products from sugarcane bagasse subjected to washing with nitric acid in studies of pyrolysis GC / MS at different temperatures (phenol, 4-ethyl-2-methoxy; phenol, 2-methoxy-4-methyl; benzofuran, 2,3-dihydro; phenol, 2,6-dimethoxy). Symbols: ■ untreated biomass; ○ washed biomass.

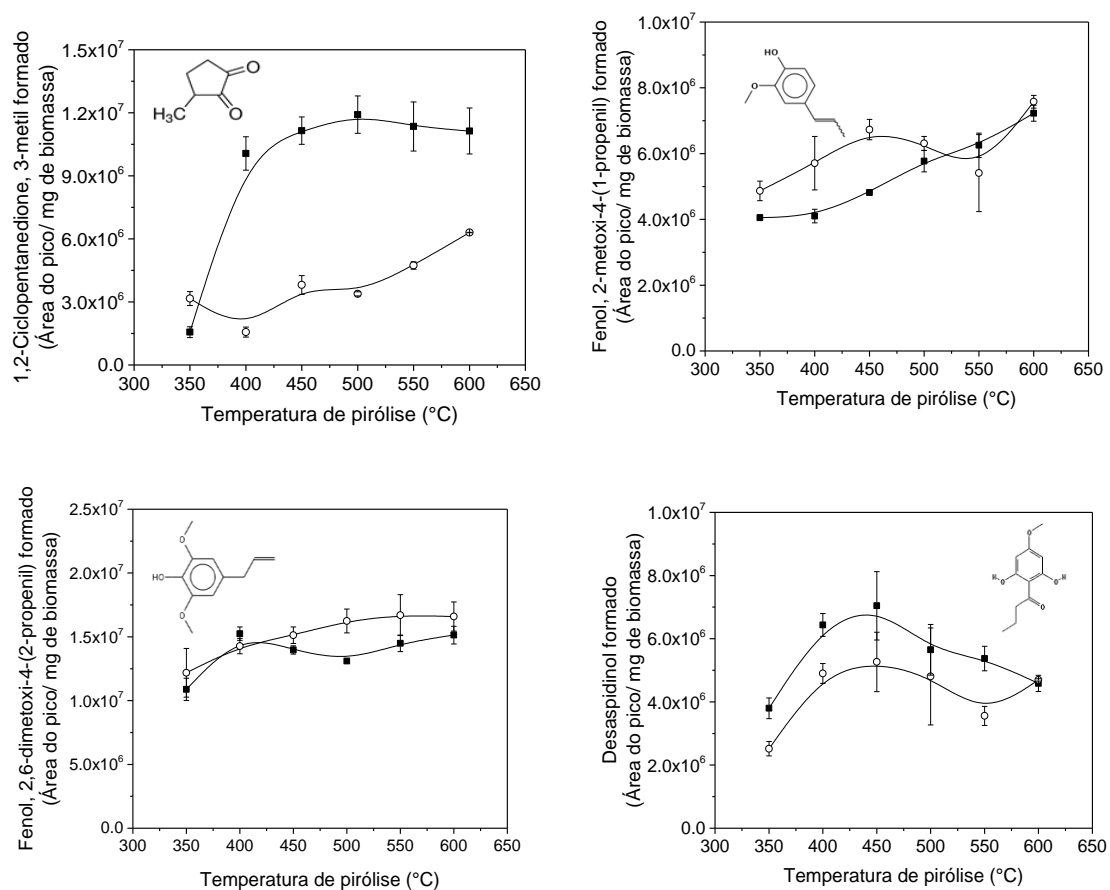


Figura 9. Efeitos na formação de produtos pirolíticos do bagaço de cana submetido à lavagem com ácido nítrico nos estudos de pirólise-CG/MS em diferentes temperaturas (1,2-ciclopentanedione, 3 metil; fenol, 2-metoxi-4-(1-propenil); desaspigidinol). Símbolos: ■ biomassa não tratada; ○ biomassa lavada.

Em outros casos, a lavagem com ácido nítrico não apresentou efeito na formação para alguns compostos, como no caso dos compostos 3,5 dimetoxi-4-hidroxycinnamaldeido; 2 metoxi-4-vinilfenol; vanilina; etanone, 1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil) e o benzaldehide, porém para o 4-hidroxi-3,5-dimetoxi a lavagem ácido favoreceu sua formação (Figura 10).

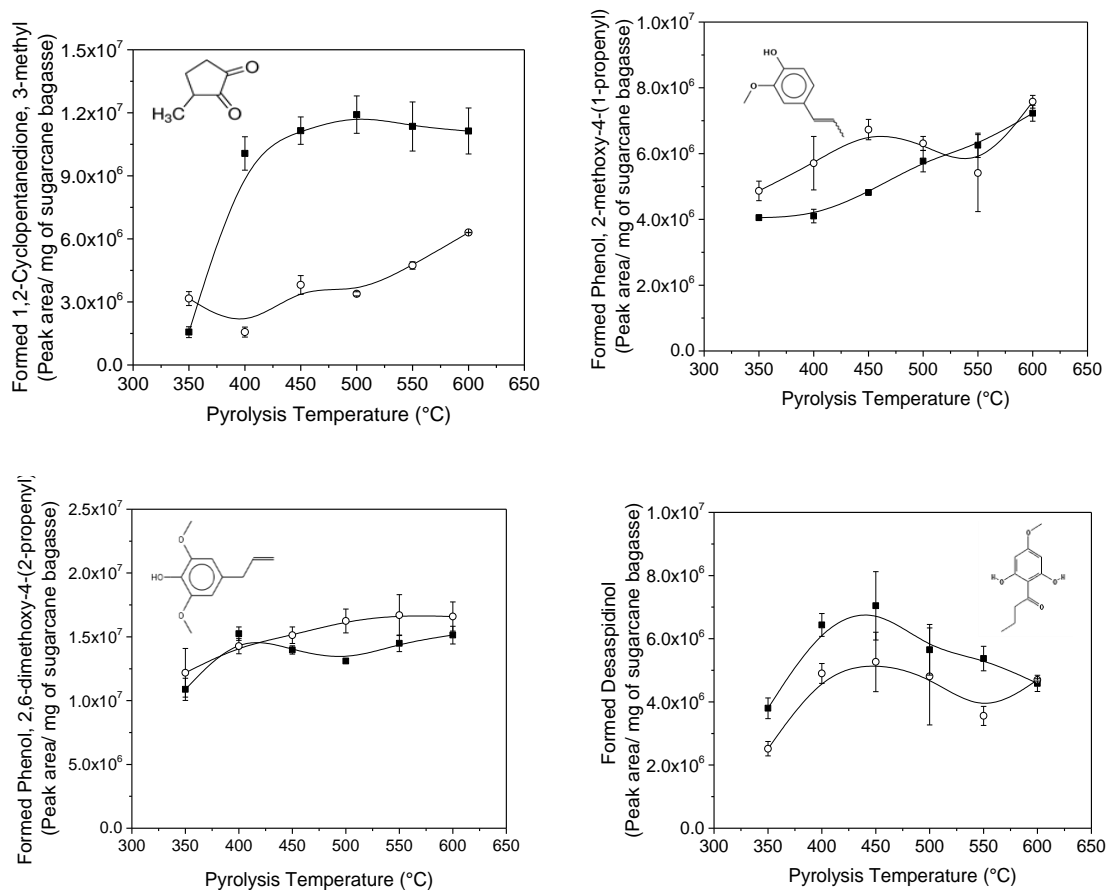


Figure 9. Effects on the formation of pyrolytic products of nitric acid washed in the pyrolysis-CG/MS studies at different temperatures (1,2-cyclopentanedione, 3-methyl, phenol, 2-methoxy-4 (1 -propenyl), desaspidinol). Symbols: ■ untreated biomass; ○ washed biomass.

In other cases, washing with nitric acid had no effect on the formation of some compounds, as the case of 3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde compounds; 2-methoxy-4-vinylphenol; vanillin; Ethanone, 1- (4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl) and benzaldehyde, but for 4-hydroxy-3,5-dimethoxy acid washing favored its formation (Figure 10).

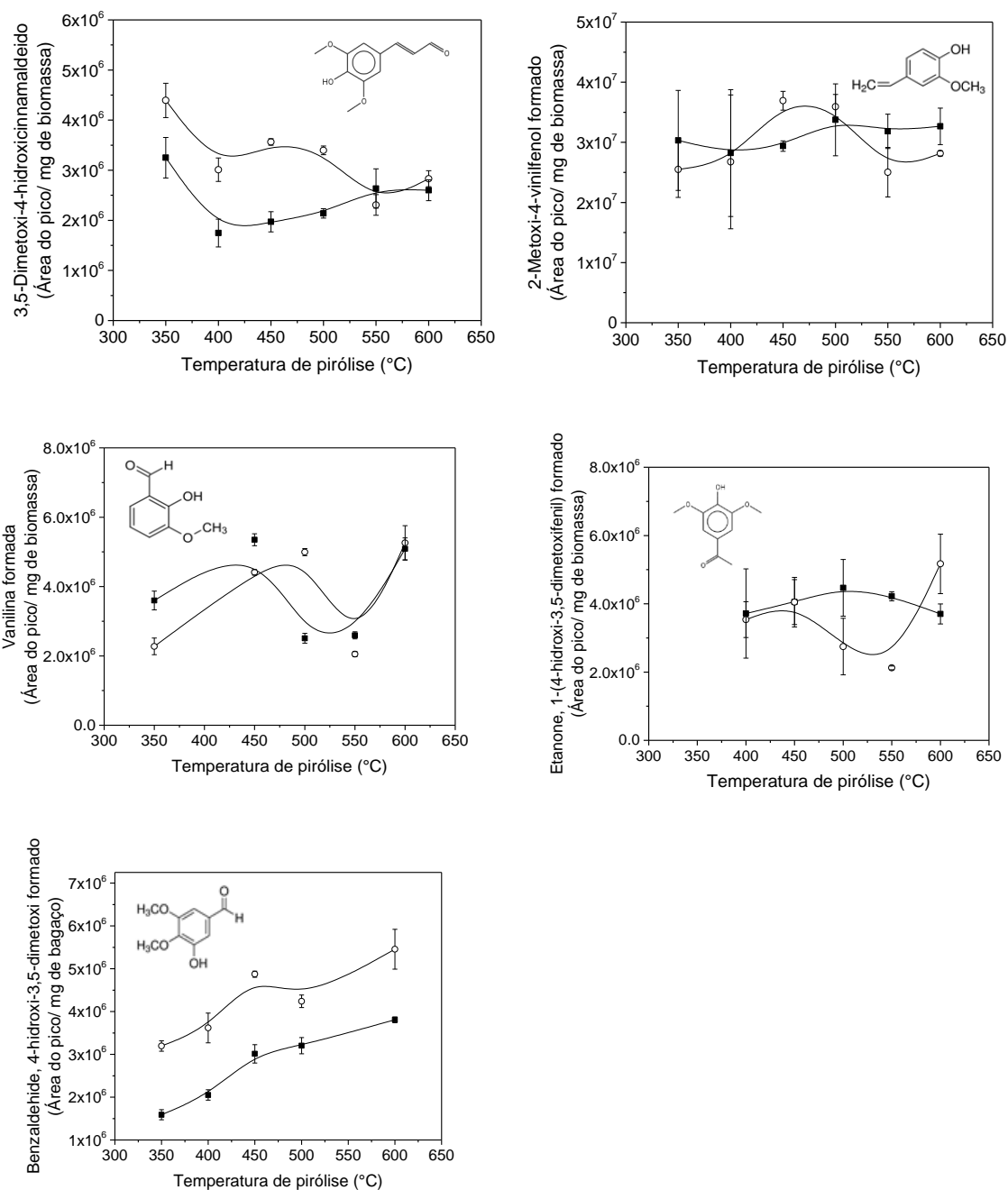


Figura 10. Efeitos na formação de produtos pirolíticos do bagaço de cana submetido à lavagem com ácido nítrico nos estudos de pirólise-CG/MS em diferentes temperaturas (3,5 dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde; 2 metoxi-4-vinilfenol; vanilina; etanone, 1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil); benzaldehíde, 4-hidroxi-3,5-dimetoxi). Símbolos: ■ biomassa não tratada; ○ biomassa lavada.

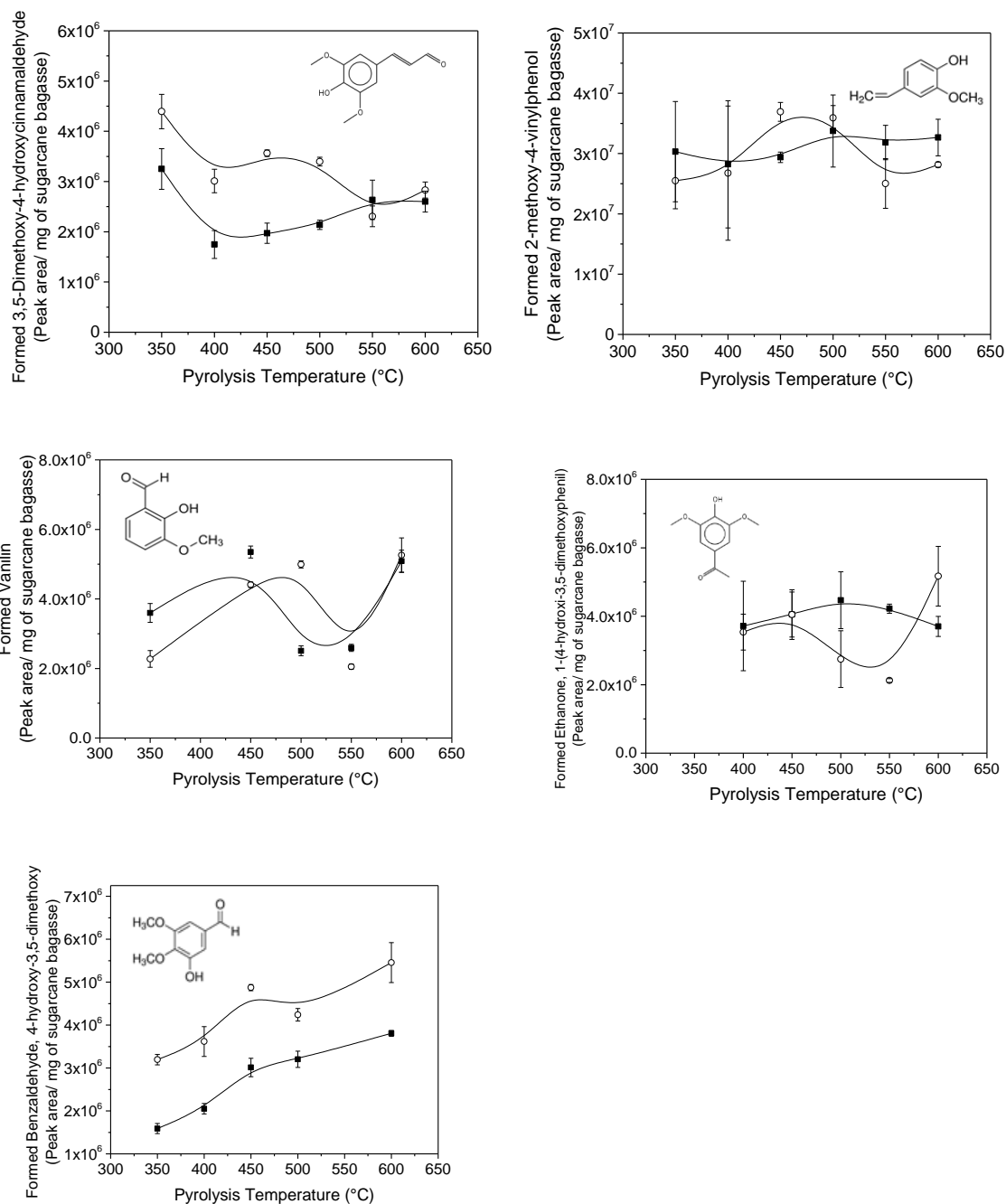


Figure 10. Effects on the formation of pyrolytic products of nitric acid washed in the pyrolysis-CG/MS studies at different temperatures (3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde, 2-methoxy-4-vinylphenol, vanillin, ethanone , 1- (4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl) benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy). Symbols: ■ untreated biomass; ○ washed biomass.

4.3 Estudos de Pirólise-CG/MS do bagaço de cana após lavagem com HNO₃ e impregnação com H₂SO₄

Neste trabalho, avaliou a taxa de degradação do bagaço de cana sem tratamento e com tratamentos com HNO₃ e H₂SO₄ por meio da análise de TG (Figura 11). Estudos de Pirólise-CG/MS foram realizados nas temperaturas de 350, 400, 450, 500, 550 e 600 °C no bagaço de cana não tratado e no bagaço tratado submetido à lavagem com HNO₃ e com a impregnação com H₂SO₄. Assim, os compostos detectados estão apresentados nos cromatogramas do bagaço de cana pirolisado a 400 °C (Figura 12) e os nomes das moléculas identificadas utilizando a biblioteca do espectro de massa, os tempos de retenção, as fórmulas químicas e os pesos moleculares são apresentados na Tabela 8. Para bagaço de cana não tratado, foram detectados 43 compostos pirolíticos condensáveis (Figura 12a). Quando aplicou os tratamentos os perfis foram alterados após a lavagem com HNO₃ mais a impregnação com H₂SO₄ detectando apenas 25 compostos pirolíticos condensáveis (Figuras 12b e 12c). Comparativamente, foram obtidas quantidades significativas de levoglucosana quando foram usados os tratamentos com os ácidos em relação ao experimento controle (Figuras 12b e 12c).

4.3.1 Análise termogravimétrica (TG)

A Figura 11 mostra os resultados da análise termogravimétrica para o bagaço de cana-de-açúcar não tratado (controle) e amostras submetidos a pré-tratamentos com a lavagem com HNO₃ e a impregnação com H₂SO₄. Durante a análise TG não foi observado perda de massa em temperaturas abaixo de 200 °C (Figura 11a) devido ao fato de que o bagaço de cana foi previamente submetido à secagem até peso constante e também ao fato de que as fibras são estáveis a baixa temperatura. Este comportamento foi observado para todas as amostras (bagaço de cana tratado e não tratado). Para o bagaço de cana não tratado, a partir deste ponto, a curva de DTG (Figura 11b) mostra o primeiro pico que se refere à perda de massa iniciando a partir de 210 °C, o qual pode ser atribuído à degradação da hemicelulose (Aboyade et al., 2013), enquanto o segundo pico foi iniciado a temperaturas mais elevadas, provavelmente devido à degradação da celulose (Motaung e Anandjiwala et al., 2015).

4.3 Studies of sugarcane bagasse under Pyrolysis-GC/MS after HNO₃ washing and H₂SO₄ impregnation

In this work, the rate of degradation of untreated sugarcane bagasse and sugarcane bagasse submitted to HNO₃ and H₂SO₄ treatments was assessed by TG analysis (Figure 11). Studies of Pyrolysis GC/MS were conducted for both sugarcane bagasse untreated and under HNO₃ acid washed and H₂SO₄ impregnation at 350, 400, 450, 500, 550 and 600 °C. Thus, the detected compounds are shown in the Py-GC/MS chromatographs (Figure 12) and the names of the molecules identified by NBS mass spectra library, the retention times, chemical formulas and the molecular weights are listed in Table 3 as illustrative way from pyrolysis GC/MS at 400 °C. For sugarcane bagasse untreated, 43 pyrolytic condensable compounds (Figure 12a) were detected in which profiles were changed after acid wash and H₂SO₄ impregnation being just detected 25 pyrolytic condensable compounds (Figure 12b and 12c). Comparatively, significant amounts of levoglucosan were obtained when acid treatments were used respect to the control experiment (Figure 12b and 12c).

4.3.1 Thermogravimetric analysis (TG)

Figure 11 shows the results of thermogravimetric tests with untreated sugarcane bagasse (control), acid wash samples with nitric acid and samples with sulfuric acid as additive. During TG analysis weight loss was not observed at temperatures below 200 °C (Figure 11a) due to the fact that the bagasse was previously submitted to drying until constant weight and also to the fact that the fibers are stable at low temperature. This behavior was observed for all samples, i.e. treated and untreated sugarcane bagasse. But, for untreated sugarcane bagasse (control), from this point, the DTG curve (Figure 11b) shows the first peak refers to the weight loss started at 210 °C, which can be attributed to the hemicellulose degraded (Aboyade et al., 2013), while the second peak was initiated at higher temperatures due probably to the cellulose degradation (Motaung and Anandjiwala et al., 2015).

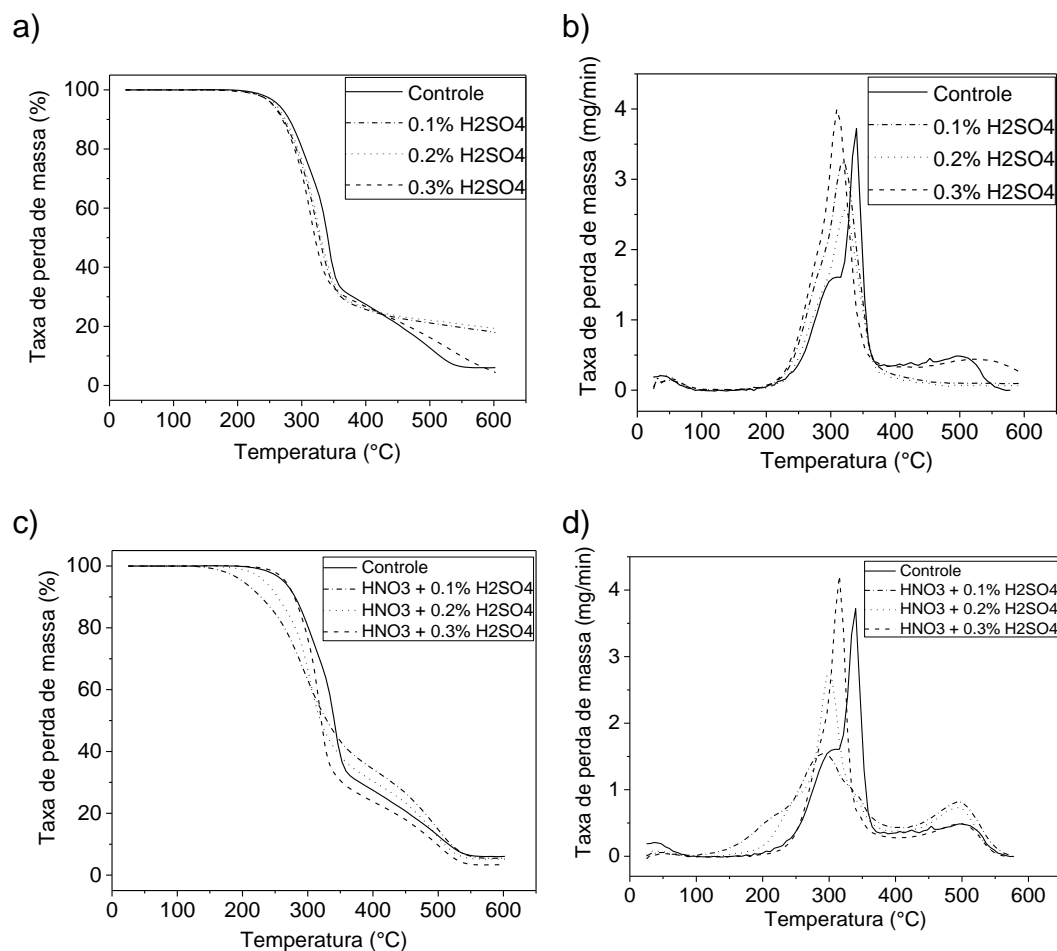


Figura 11. Análise de TG e DTG do bagaço de cana não tratado e tratado com: a) H₂SO₄ (0,1; 0,2 e 0,3%); b) H₂SO₄ (0,1; 0,2 e 0,3%); c) lavado com HNO₃ mais tratado com H₂SO₄; d) lavado com HNO₃ mais tratado com H₂SO₄.

De acordo com Yang e colaboradores (2007), a máxima perda de massa para a hemicelulose e celulose ocorre a 268 °C e 355 °C, respectivamente. Enquanto, a lignina apresenta decomposição mais lenta e difícil. A hemicelulose é composta por sacarídeos e tem uma estrutura aleatória, amorfa e ramificada, sendo de fácil decomposição a baixas temperaturas. Por outro lado, a celulose é um longo polímero de glicose e sem ramificações, ordenado e tem ligação de hidrogênio, sendo assim, mais difícil de se decompor. A lignina é constituída por diferentes anéis aromáticos e com ramificações e, portanto, decompõe ao longo de um grande intervalo de temperatura. Porém, os três componentes não se decompõem em reações independentes (Hoi et al. 2013).

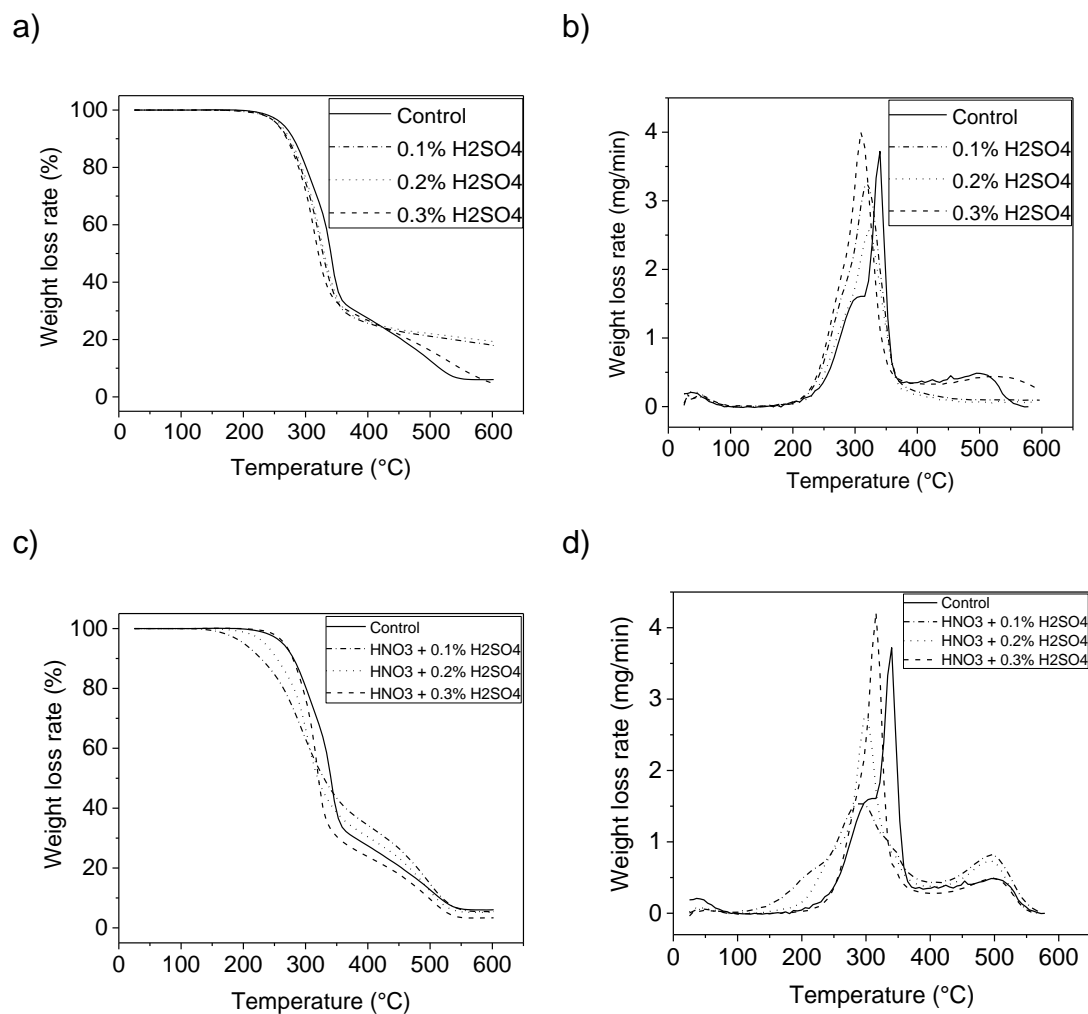


Figure 11. TG and DTG analysis of untreated and treated sugarcane bagasse with: a) H₂SO₄ acid (0.1, 0.2 and 0.3%); b) H₂SO₄ acid (0.1, 0.2 and 0.3%); c) washed with HNO₃ and treated with H₂SO₄ and; d) washed with HNO₃ and treated with H₂SO₄.

According to Yang et al. (2007) the maximum weight loss for hemicellulose and cellulose occurred at 268 °C and 355 °C, respectively. While, lignin presents lower and difficult decomposition. The hemicellulose consists of saccharides and has a random, amorphous and branched structure that is easy to decompose at low temperatures. On the other hand, the cellulose is a long polymer of glucose without branches, is ordered and has hydrogen bonding, and is therefore more difficult to decompose. Lignin consists of differing aromatic rings with branching and therefore decomposes over a wide thermal range. The three components therefore do not decompose as three independent reactions (Hoi et al. 2013).

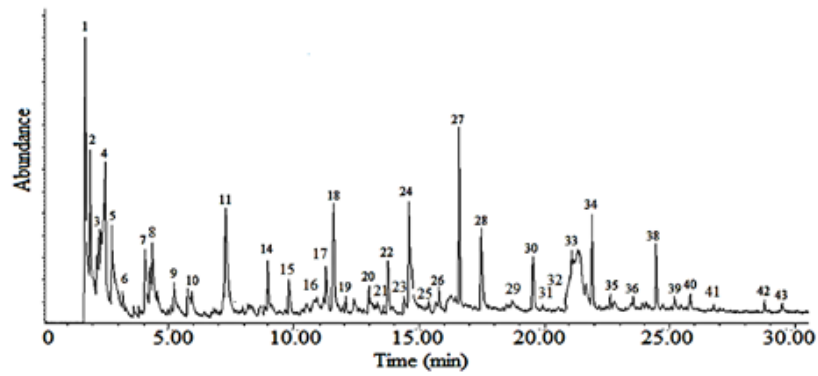
A título de comparação, para a biomassa tratada com H_2SO_4 nas concentrações de 0,1; 0,2 e 0,3% uma maior perda de massa foi observada em função da temperatura. Este comportamento torna-se ainda mais evidente através da análise da curva de DTG correspondente (Figura 11b) em que ocorreu um deslocamento dos picos de biomassa tratada em comparação com o experimento controle. Neste caso, a taxa de degradação da biomassa variou de forma proporcional à concentração de ácido, isto é, a maior concentração de ácido resultou numa taxa de degradação maior e uma menor estabilidade térmica da bagaço de cana-de-açúcar.

Por outro lado, a Figura 11c mostra os resultados de TG para a biomassa previamente lavada com HNO_3 (0,1%) e tratada com H_2SO_4 nas concentrações de 0,1; 0,2 e 0,3%. Neste caso, observou uma perda inicial de massa a partir de 150°C . Este comportamento sugere que a estratégia de combinar os tratamentos ácidos, por exemplo, lavagem ácida mais impregnação com ácido sulfúrico, afeta a estrutura das fibras do bagaço da cana aumentando a perda de massa para a menor concentração de H_2SO_4 . Quando se analisa a curva de DTG (Figura 11d), verifica que a estabilidade térmica foi menor para a menor concentração de H_2SO_4 , enquanto a taxa de degradação manteve o mesmo perfil de proporcionalidade em função da concentração de ácido.

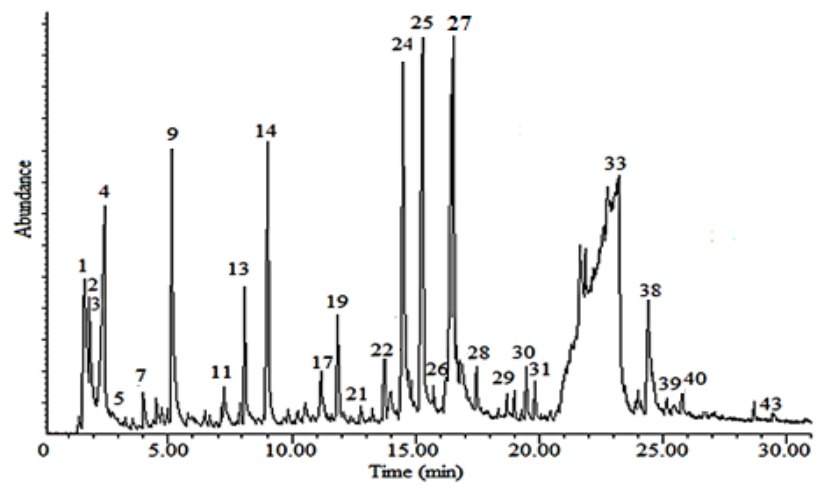
By comparison, for biomass treated with H₂SO₄ at concentrations of 0.1, 0.2 and 0.3% was observed a greater weight loss as temperature function. This behavior becomes clear by analyzing the corresponding DTG curve (Figure 11b) in which there was a dislocation of the peaks of treated biomass compared to the control experiment. In this case, the biomass degradation rate varied directly proportional to the concentration of acid, i.e., the highest concentration of the impregnated acid resulted in an increased degradation rate and a smaller thermal stability of sugarcane bagasse.

On the other hand, Figure 11c shows the TG results for biomass previously washed with HNO₃ (0.1%) plus treated with H₂SO₄ at concentrations of 0.1, 0.2 and 0.3%. In this case, the initial of weight loss was observed at 150 °C. This behavior suggests that the strategy of combining the acid treatments, e.g., acid washing plus impregnation, affected the fiber structure increasing the weight loss for lowest concentration of H₂SO₄. When is analyzing the DTG curve (Figure 11d) it was found that thermal stability was lowest for the lower concentration of H₂SO₄, while the degradation rate remained the same proportionality profile in relation to the acid concentration.

a)



b)



c)

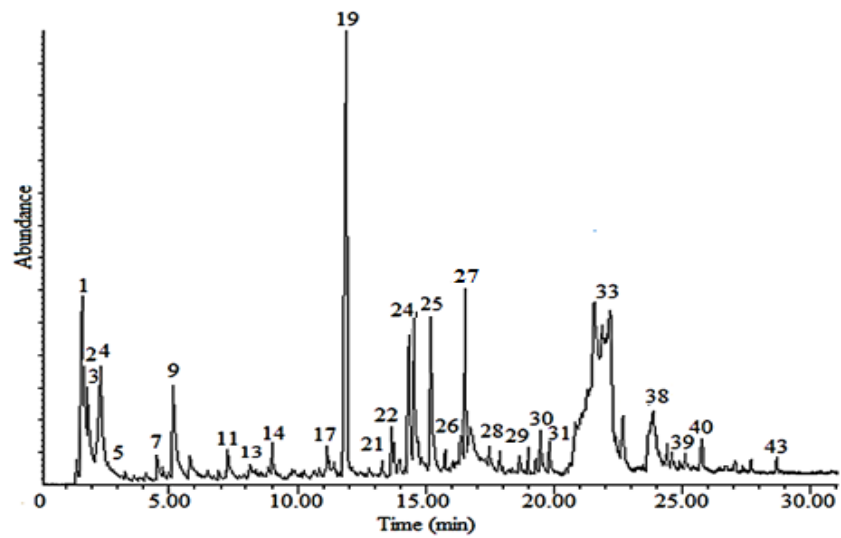


Figura 12. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise do bagaço de cana a 400 °C: a) bagaço de cana não tratado (controle); b) tratado com ácido H₂SO₄; c) lavagem com HNO₃ mais impregnação com H₂SO₄.

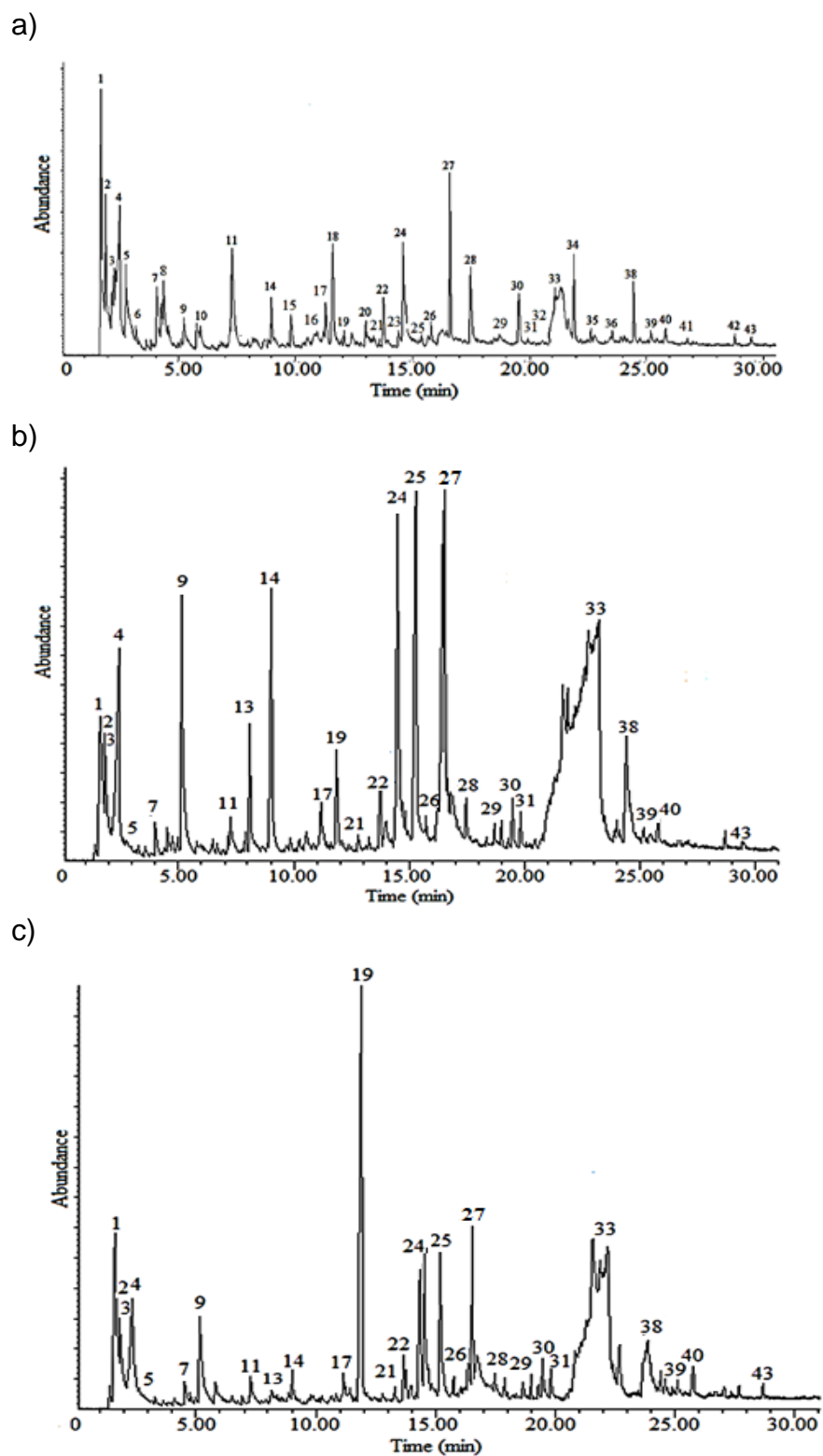


Figure 12. Pyrolysis - GC/MS chromatogram of condensable compounds at 400 °C for: a) untreated sugarcane bagasse (control experiment); b) treated sugarcane bagasse with H₂SO₄ acid; c) sugarcane bagasse washed with HNO₃ and treated with H₂SO₄.

Tabela 8. Compostos condensáveis da pirólise do bagaço de cana por Py-CG/MS.

nº pico	Compostos	TR	Formula	m/z	MM
1	Dióxido de carbono	1.59	CO ₂	44	44
2	Ácido propanoico, 2-oxo-	1.79	C ₃ H ₄ O ₃	43	88
3	Acetaldeido	1.84	C ₂ H ₄ O	43	44
4	Ácido acético	2.51	C ₂ H ₄ O ₂	43	60
5	2-Propanone, 1-hidroxi-	2.66	C ₃ H ₆ O ₂	43	74
6	ni	-	-	-	-
7	1,2-Etanediol, monoacetato	3.96	C ₄ H ₈ O ₃	43	104
8	Ácido propanoico, 2-oxo-, metil ester	4.31	C ₄ H ₆ O ₃	43	102
9	Furfural	5.12	C ₅ H ₄ O ₂	96	96
10	2-Furanmetanol	5.7	C ₅ H ₆ O ₂	41	98
11	2-Ciclopenteno-1-one, 2-hidroxi-	7.26	C ₅ H ₆ O ₂	98	98
12	ni	7.91	-	-	-
13	Ácido butanedioico, metil-	8.12	C ₅ H ₈ O ₄	86	132
14	2,4(3H,5H)-Furandione, 3-metil-	9.04	C ₅ H ₆ O ₃	114	114
15	1,2-Ciclopentanedione, 3-metil-	9.83	C ₆ H ₈ O ₂	112	112
16	ni	10.54	-	-	-
17	2,5-Dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanone	11,19	C ₆ H ₈ O ₃	43	128
18	Fenol, 2-metoxi-	11.26	C ₇ H ₈ O ₂	109	124
19	ni	-	-	-	-
20	ni	12.78	-	-	-
21	Fenol, 3,4-dimetil-	13.26	C ₈ H ₁₀ O	107	122
22	Fenol, 2-metoxi-4-metil-	13.76	C ₈ H ₁₀ O ₂	123	138
23	ni	13.92	-	-	-
24	Benzofurano, 2,3-dihidro-	14.51	C ₈ H ₈ O	120	120
25	1,4:3,6-Dianidro- α -D-glucopiranoose	15.27	C ₆ H ₈ O ₄	69	144
26	Fenol, 4-etil-2-metoxi-	15.75	C ₉ H ₁₂ O ₂	137	152
27	2-Metoxi-4-vinilfenol	16.57	C ₉ H ₁₀ O ₂	135	150
28	Fenol, 2,6-dimetoxi-	17.46	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	154
29	Vanilina	18.65	C ₈ H ₈ O ₃	151	152
30	Fenol, 2-metoxi-4-(1-propenil)-, (E)-	19.5	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164
31	Fenol, 2-metoxi-4-propil-	19.84	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	137	166
32	Fenol, 3-metoxi-2,4,6-trimetil-	20.46	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	151	166
33	Levoglucosana	21.77	C ₆ H ₁₀ O ₅	60	162
34	3',5'-Dimetoxiacetofenone	21.91	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	165	180
35	ni	-	-	-	-
36	Benzaldehide, 4-hidroxi-3,5-dimetoxi-	23.86	C ₉ H ₁₀ O ₄	182	182
37	ni	-	-	-	-
38	Fenol, 2,6-dimetoxi-4-(2-propenil)-	24.42	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194	194
39	Etanone, 1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-	25.15	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	181	196
40	Desaspidinol	25.8	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	167	210
41	ni	26.7	-	-	-
42	ni	28.72	-	-	-
43	3,5-Dimetoxi-4-hidroxicinnamaldehyde	29.43	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	208	208

TR - tempo de retenção (min); **m/z** – razão massa-carga dos espectros de massa; **MM**- massa molecular (kg/ kmol); **ni** – não identificado.

Table 8. Sugarcane bagasse pyrolytic condensable compounds detected by Py-GC/MS.

Peak	Compounds	Rt	Formula	m/z	MW
1	Carbon dioxide	1.59	CO ₂	44	44
2	Propanoic acid, 2-oxo-	1.79	C ₃ H ₄ O ₃	43	88
3	Acetaldehyde	1.84	C ₂ H ₄ O	43	44
4	Acetic acid	2.51	C ₂ H ₄ O ₂	43	60
5	2-Propanone, 1-hydroxy-	2.66	C ₃ H ₆ O ₂	43	74
6	ni	-	-	-	-
7	1,2-Ethanediol, monoacetate	3.96	C ₄ H ₈ O ₃	43	104
8	Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester	4.31	C ₄ H ₆ O ₃	43	102
9	Furfural	5.12	C ₅ H ₄ O ₂	96	96
10	2-Furanmethanol	5.7	C ₅ H ₆ O ₂	41	98
11	2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-	7.26	C ₅ H ₆ O ₂	98	98
12	ni	7.91	-	-	-
13	Butanedioic acid, methyl-	8.12	C ₅ H ₈ O ₄	86	132
14	2,4(3H,5H)-Furandione, 3-methyl-	9.04	C ₅ H ₆ O ₃	114	114
15	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	9.83	C ₆ H ₈ O ₂	112	112
16	ni	10.54	-	-	-
17	ni	11.06	-	-	-
18	Phenol, 2-methoxy-	11.26	C ₇ H ₈ O ₂	109	124
19	ni	-	-	-	-
20	ni	12.78	-	-	-
21	Phenol, 3,4-dimethyl-	13.26	C ₈ H ₁₀ O	107	122
22	Phenol, 2-methoxy-4-methyl-	13.76	C ₈ H ₁₀ O ₂	123	138
23	ni	13.92	-	-	-
24	Benzofuran, 2,3-dihydro-	14.51	C ₈ H ₈ O	120	120
25	1,4:3,6-Dianhydro- α -D-glucopyranose	15.27	C ₆ H ₈ O ₄	69	144
26	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	15.75	C ₉ H ₁₂ O ₂	137	152
27	2-Methoxy-4-vinylphenol	16.57	C ₉ H ₁₀ O ₂	135	150
28	Phenol, 2,6-dimethoxy-	17.46	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	154
29	Vanillin	18.65	C ₈ H ₈ O ₃	151	152
30	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (E)-	19.5	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164
31	Phenol, 2-methoxy-4-propyl-	19.84	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	137	166
32	Phenol, 3-methoxy-2,4,6-trimethyl-	20.46	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	151	166
33	Levogluconan	21.77	C ₆ H ₁₀ O ₅	60	162
34	3',5'-Dimethoxyacetophenone	21.91	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	165	180
35	ni	-	-	-	-
36	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-	23.86	C ₉ H ₁₀ O ₄	182	182
37	ni	-	-	-	-
38	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	24.42	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194	194
39	Ethanone, 1-(4-hydroxy-3,5-	25.15	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	181	196
40	Desaspidinol	25.8	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	167	210
41	ni	26.7	-	-	-
42	ni	28.72	-	-	-
43	3,5-Dimethoxy-4-	29.43	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	208	208

Rt – retention time (min); **m/z** - mass-to-charge ratio in the mass spectrum; **MW**- molecular weight (kg/ kmol); **ni** – not identified.

4.3.2 Açúcares pirolíticos

A Figura 13 apresenta o efeito da lavagem com ácido nítrico mais impregnação com ácido sulfúrico na produção de levoglucosana. Quando a biomassa foi tratada com ácido sob as condições avaliadas observou uma maior produção de levoglucosana em comparação com o experimento controle. Os melhores resultados foram observados para o tratamento com menor concentração de ácido sulfúrico (0,1%) e com a temperatura de pirólise a 550 °C e também quando realizou a combinação da lavagem da biomassa com ácido nítrico (0,1%) mais impregnação com ácido sulfúrico (0,2%). No entanto, neste último caso é mais atrativo, uma vez que a maior concentração de levoglucosana foi alcançada na mais baixa temperatura de pirólise, isto é, 350 °C, resultando em um aumento de cerca de 7 vezes mais de levoglucosana formada em comparação com o experimento controle.

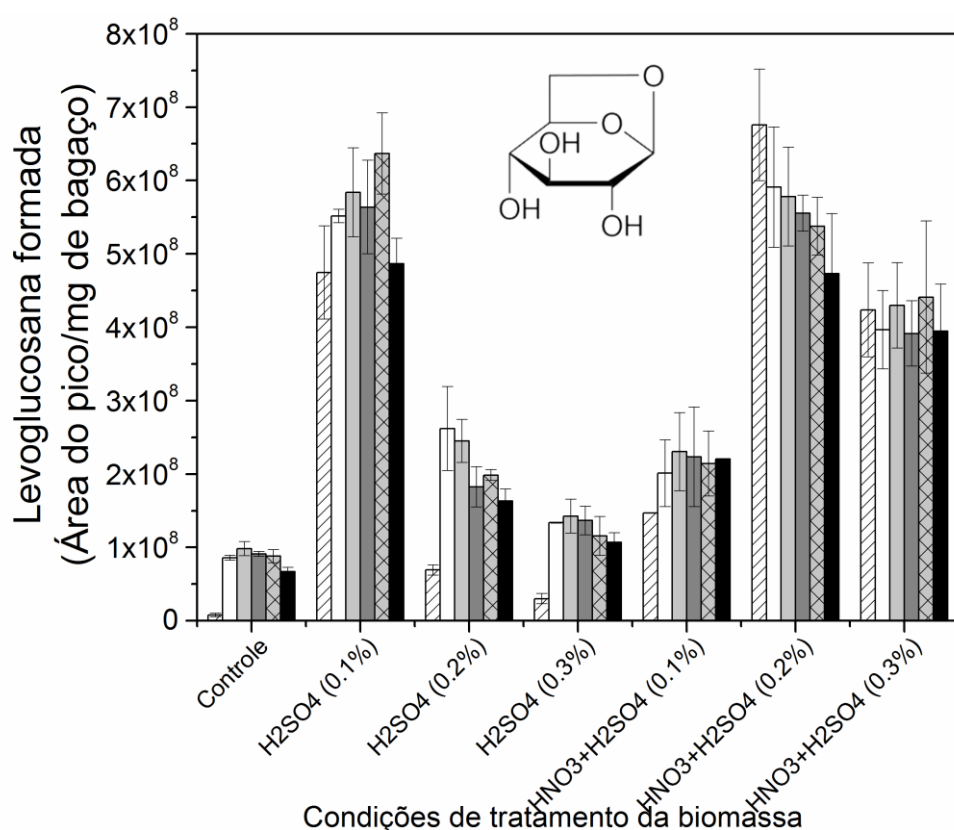


Figura 13. Produção de levoglucosana do bagaço de cana previamente tratado com ácidos e submetido à pirólise rápida em diferentes temperaturas: /// 350 °C; □ 400 °C; ■ 450 °C; ■ 500 °C; ▨ 550 °C; ■ 600 °C.

4.3.2 Pyrolytic anhydrosugars

Figure 13 shows the effect of nitric acid wash and sulfuric acid impregnations on the levoglucosan production. Generally, when the biomass was treated with acid under the conditions evaluated observed greater production of levoglucosan compared to the control experiment. Thus, the best results were observed for the treatment with the lowest concentration of sulfuric acid (0.1%) at 550 °C pyrolysis temperature and when a combination of biomass washing with nitric acid (0.1%) and sulfuric acid (0.2%) impregnation were used. However, this latter case was more attractive since the highest concentration of levoglucosan was achieved at lower pyrolysis temperatures, i.e., 350 °C resulting in about 7-folds more formed levoglucosan compared to the control experiment.

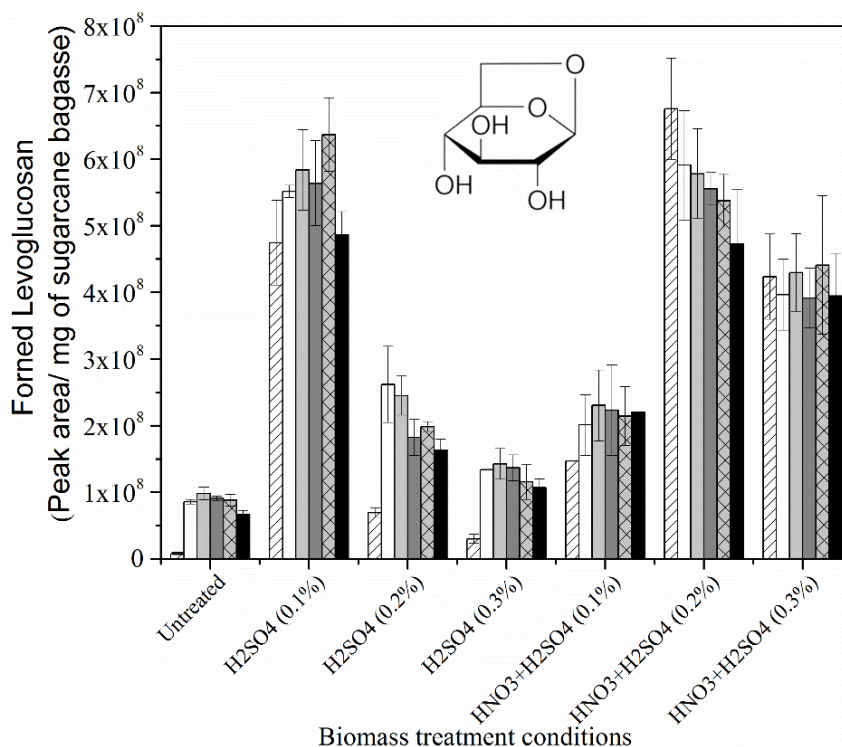


Figure 13. Yields of levoglucosan from sugarcane bagasse under previously treatment condition and after fast pyrolysis at different temperatures: // 350 °C; □ 400 °C; ■ 450 °C; ■ 500 °C; ▨ 550 °C; ■ 600 °C.

Este comportamento é devido ao efeito catalítico dos metais alcalinos e metais alcalino-terrosos como o K, Na e Ca nas reações de fragmentação que afetam a biomassa não tratada durante o processo de pirólise da biomassa. Então, o aumento na produção de levoglucosana pode ser explicado pela passivação dos compostos alcalinos (Patwardhan et al., 2010; Zhou et al., 2013; Pecha et al., 2015). A Tabela 9 mostra uma redução de vários compostos alcalinos na melhor condição de tratamento ácido no bagaço de cana, isto é, a lavagem com ácido nítrico (0,1%) mais impregnação com ácido sulfúrico (0,2%). Embora não tenham sido encontrados estudos abordando o tratamento utilizando ácidos como pré-tratamento no bagaço de cana para aumentar a produção de açúcares anidros da pirólise do bagaço, foram relatados resultados semelhantes para a madeira Douglas fir (softwood) e hybrid poplar (hardwood), celulose e no mallee *Eucalyptus loxophleba* aplicando as estratégias de lavagem ácida (acético, nítrico, fosfórico e sulfúrico), resultando em efeitos importantes sobre a passivação do AAEMs e conseqüentemente, mostraram diferentes comportamentos durante o processo de pirólise desses materiais lignocelulósico (Zhou et al., 2013; Pecha et al., 2015; Mourant et al., 2011). De acordo com Pecha et al. (2015), a remoção destes minerais através da lavagem utilizando ácido pareceu diminuir os rendimentos destes compostos em cerca de 50%.

Tabela 9. Resultados da análise de alcalinos, metais alcalinos terrosos e outros elementos do bagaço de cana não tratado e lavado com HNO₃ mais a impregnação com H₂SO₄, determinado por método ICP.

Elementos químicos	Bagaço de cana-de-açúcar	
	Não tratado	HNO ₃ (1%) + H ₂ SO ₄ (0,2%)
Ba (µg/g)	5,41 ±1	4,367 ±0,3
Ca (mg/g)	0,63 ±0,005	0,44 ±0,005
Cu (µg/g)	44,4 ±0,1	2,075 ±0,1
Fe (µg/g)	955 ±10	488,5 ±26
K (mg/g)	1,89 ±0,002	0,41 ±0,01
Mg (mg/g)	0,505 ±0,002	0,08 ±0,00
Mn (µg/g)	76 ±0,00	4,365 ±0,3
P (mg/g)	0,325 ±0,005	0,105 ±0,005
S (mg/g)	0,625 ±0,002	0,645 ±0,03
Zn (µg/g)	16,2 ±0,05	2,615 ±0,1

*Elementos expressados em gramas de bagaço de cana.

This behavior is due to the well-known catalytic effect of the alkali and alkaline earth metals (AAEMs) like K, Na and Ca on fragmentation reactions that affect the untreated biomass during the biomass pyrolysis process. Then, increase in the levoglucosan production can be explained by the AAEMs passivation (Patwardhan et al., 2010; Zhou et al., 2013; Pecha et al., 2015). In fact, Table 4 shows a drastic reduction of several alkalines after acid treatment at the best condition, i.e., washing with nitric acid (0.1 wt. %) and followed by sulfuric acid (0.2 wt. %) impregnation. Even without studies were found addressing the treatment of acid sugar cane bagasse to increase pyrolytic anhydrosugars production, similar results were reported for Douglas fir wood (softwood), hybrid poplar wood (hardwood), pine wood, cellulose and mallee *Eucalyptus loxophleba* with several acid wash strategies (acetic, nitric, phosphoric and sulfuric acid) resulting in major effects on the passivation of alkalines compounds and consequently showing different behaviors during pyrolysis process of these lignocellulosic materials (Zhou et al., 2013; Pecha et al., 2015; Mourant et al., 2011). According to Pecha et al. (2015), the mineral removal through acid washing appears to decrease the yields of these compounds by about 50%.

Table 9. Results of alkaline and alkaline earth and other elements of biomass in nature and treated with HNO₃ and H₂SO₄ impregnation, determined by ICP method.

Chemicals elements*	Sugarcane bagasse	
	As received	HNO ₃ (1%) + H ₂ SO ₄ (0.2%)
Ba (µg/g)	5.41 ±1.4	4.367 ±0.307
Ca (mg/g)	0.63 ±0.005	44.5 ±0.005
Cu (µg/g)	44.4 ±0.125	2.075 ±0.12
Fe (µg/g)	955 ±10	488.5 ±26.75
K (mg/g)	1.89 ±0.0025	0.41 ±0.011
Mg (mg/g)	0.505 ±0.0025	0.08 ±0.00
Mn (µg/g)	76 ±0.00	4.365 ±0.305
P (mg/g)	0.325 ±0.005	0.105 ±0.005
S (mg/g)	0.625 ±0.0025	0.645 ±0.0375
Zn (µg/g)	16.2 ±0.05	2.615 ±0.12

*Elements are expressed in grams of sugarcane bagasse.

Além disso, pode observar na Figura 14 que o tratamento ácido favoreceu não somente a formação de levoglucosana, mas também a formação de outros açúcares, tais como, 1,4:3,6-Dianidro- α -D-glucopiranosose e levoglucosenone, isto é, lavagem com HNO_3 (0,1%) combinado com a impregnação com H_2SO_4 (0,1%).

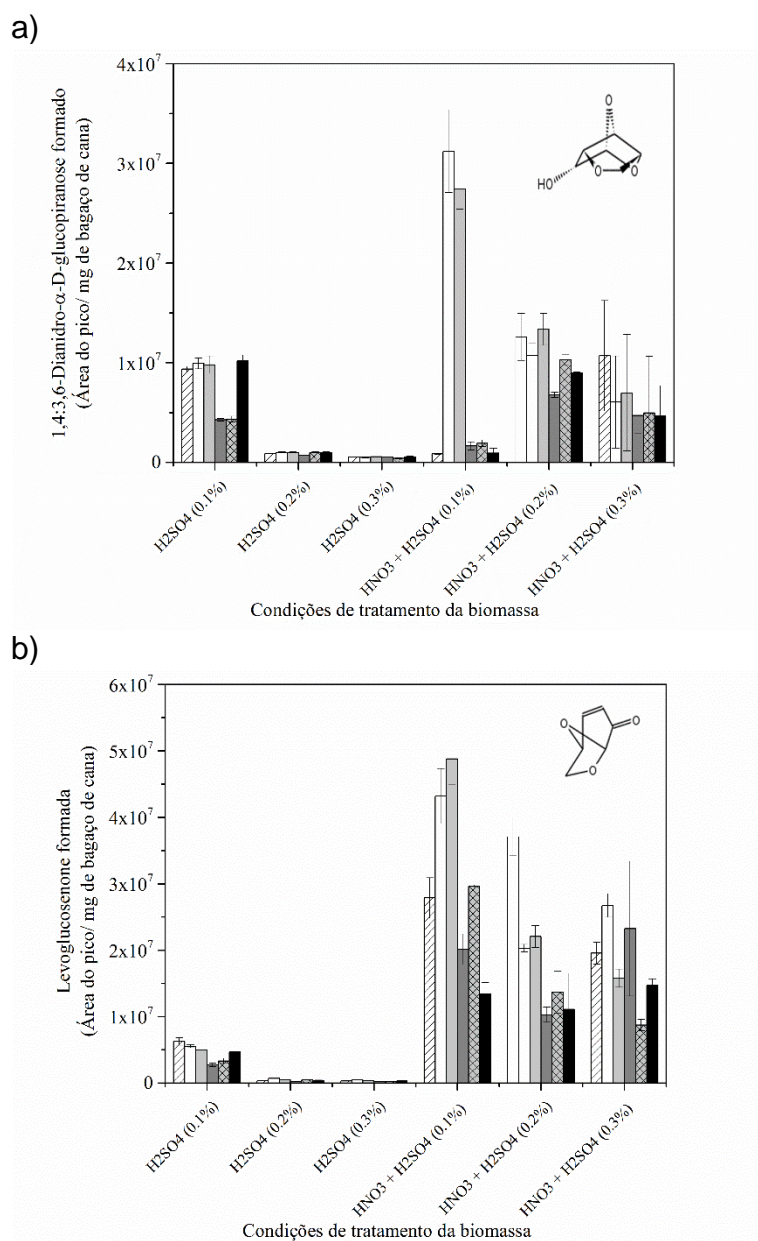


Figura 14. Efeito da adição de ácido sulfúrico na formação de açúcares pirolíticos após a lavagem do bagaço de cana com ácido nítrico mais impregnação com ácido sulfúrico em diferentes concentrações (1,4:3,6-Dianhydro- α -D-glucopyranose e levoglucosenone). Símbolos: // 350°C; □ 400°C; ■ 450°C; ■ 500°C; ▨ 550°C; ■ 600°C.

In addition, in Fig. 14 can be observed that the treatment that favored the formation of levoglucosan also favored the formation of other sugars such as 1,4:3,6-Dianhydro- α -D-glucopyranose and levoglucosenone, i.e., HNO₃ (0.1%) washing combined with H₂SO₄ at 0.1%.

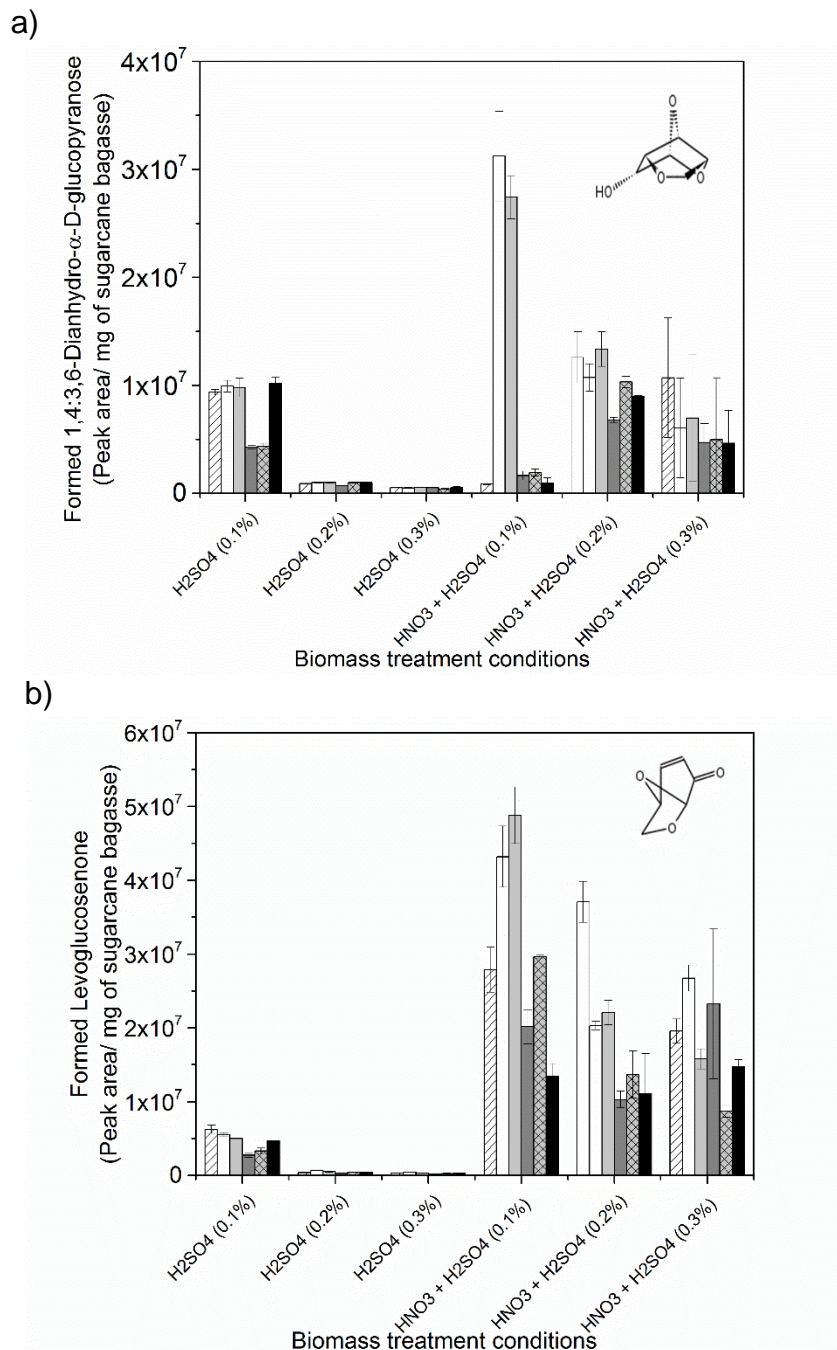


Figure 14. Yields of pyrolytic sugars from sugarcane bagasse under previously acid treatment condition and after fast pyrolysis at different temperatures (// 350 °C; □ 400 °C; ■ 450 °C; ■ 500 °C; ▨ 550 °C; ■ 600 °C): a) 1,4:3,6-Dianhydro- α -D-glucopyranose and b) levoglucosenone. Symbols: // 350 °C; □ 400 °C; ■ 450 °C; ■ 500 °C; ▨ 550 °C; ■ 600 °C.

Estes compostos são produtos das reações de desidratação que são formados durante as reações na fase líquida a partir de açúcares anidros, como levoglucosana. De acordo Pecha et al. (2015), o aumento na formação destes açúcares é bem conhecido quando se realiza o tratamento de um material lignocelulósico com a adição de ácido sulfúrico e ácido fosfórico na biomassa.

4.3.3. Outros produtos pirolíticos do bagaço de cana

Os rendimentos relativos aos compostos formados durante a pirólise da biomassa não tratada (controle) e da biomassa lavada com ácido nítrico mais a impregnação de ácido sulfúrico utilizando várias concentrações estão representados graficamente nas Figuras 15 a 18. Assim, a Figura 15 mostra a formação de pequenas moléculas que contêm de um a quatro átomos de carbono, tais como dióxido de carbono, ácido propanoico, 2-oxo-; acetaldeído; ácido acético; 2-propanono, 1-hidroxi-; 1,2-etanediol, monoacetato. Estes produtos são resultantes das reações de fragmentação do bagaço de cana, cujo rendimento foi maior para as amostras não tratadas. No entanto, a sua concentração foi substancialmente menor principalmente quando a biomassa foi lavada com ácido nítrico e impregnada com ácido sulfúrico para todas as concentrações.

De acordo com Pecha et al. (2015), a formação de CO₂ é geralmente oriunda da reação de descarboxilação e geralmente está correlacionada com uma diminuição no rendimento de produtos da desfragmentação da lignina que contém ácidos carboxílicos. Não há evidências em relação à produção de CO₂, o que corresponde bem com a teoria de que CO₂ é liberado diretamente a partir de reações primárias da lignina e com a fragmentação de grupos de ácido carboxílico, provavelmente através de um mecanismo por radicais livres.

A Figura 16 apresenta o perfil de formação de compostos pirolíticos contendo cinco átomos de carbono (furfural; 2-ciclopenteno-1-one, 2-hidroxi; ácido butanodioico, metil; 2,4(3H,5H) - furandione, 3-metil) previamente submetidos à lavagem com ácido nítrico mais a impregnação com ácido sulfúrico.

These compounds are products of dehydration reactions that are formed during secondary liquid phase reactions from anhydrosugars, like levoglucosan. According to Pecha et al. (2015), the increase of formation of these sugars is well known when the treatment of a lignocellulosic material is carried out with the addition of sulfuric acid and phosphoric acid to biomass.

4.3.3. Other formed pyrolytic chemicals

The relative yields of formed pyrolytic compounds for untreated and treated biomass as a function nitric acid wash and sulfuric acid impregnations at several concentrations are plotted in Figure 15 to 18. Thus, Figure 15 shows the evolution of small molecules containing one to four carbon atoms such as carbon dioxide; propanoic acid, 2-oxo-; acetaldehyde; acetic acid; 2-propanone, 1-hydroxy-; 1,2-ethanediol, monoacetate. These products result of fragmentation reactions of sugarcane bagasse in which yield was higher for untreated samples (control). However, their concentration was substantially reduced mainly when added nitric acid for washing plus sulfuric acid for all concentrations.

According to Pecha et al. (2015), the CO₂ is formed by decarboxylation reaction and generally, it is correlate with a decrease in the yield of lignin products that contain carboxylic acids. There are no significant evidence with the production of CO₂, which corresponds well to the theory that CO₂ is directly released from lignin primary reactions with fragmentation of carboxylic acid groups, likely through a free-radical mechanism.

Figure 16 shows the profile formation of pyrolytic compounds containing five carbon (2-cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-; butanedioic acid, methyl-; 2,4(3H,5H) - furandione, 3-methyl) previously submitted to the washing with nitric acid and sulfuric acid impregnation treatment.

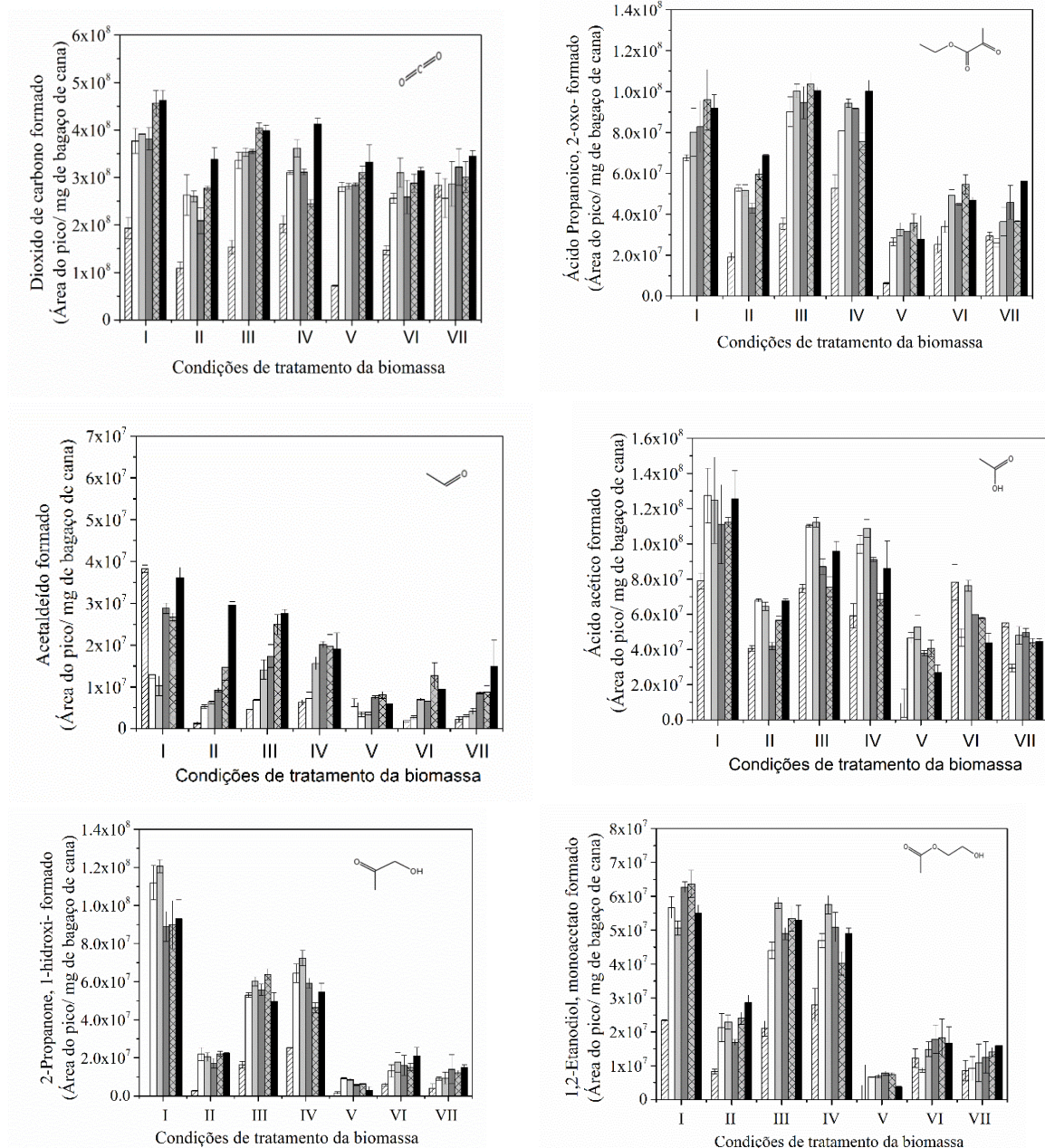


Figura 15. Efeitos na formação de produtos pirolíticos do bagaço de cana submetido à lavagem ácida e adição de ácido sulfúrico nos estudos de pirólise-CG/MS (dióxido de carbono; ácido propanoico, 2-oxo-; acetaldeído; ácido acético; 2-Propanone, 1-hidroxi-; 1,2-ethanediol, monoacetato). Símbolos: /// 350°C; □ 400°C; ■ 450°C; ■ 500°C; ▨ 550°C; ■ 600°C. Condições de tratamento da biomassa: I- biomassa não tratada; II- impregnação de H₂SO₄ (0,1%); III- impregnação de H₂SO₄ (0,2%); IV- impregnação de H₂SO₄ (0,3%); V- lavagem com HNO₃ + impregnação de H₂SO₄ (0,1%); VI- lavagem com HNO₃ + impregnação de H₂SO₄ (0,2%) e VII- lavagem com HNO₃ +impregnação de H₂SO₄ (0,3%).

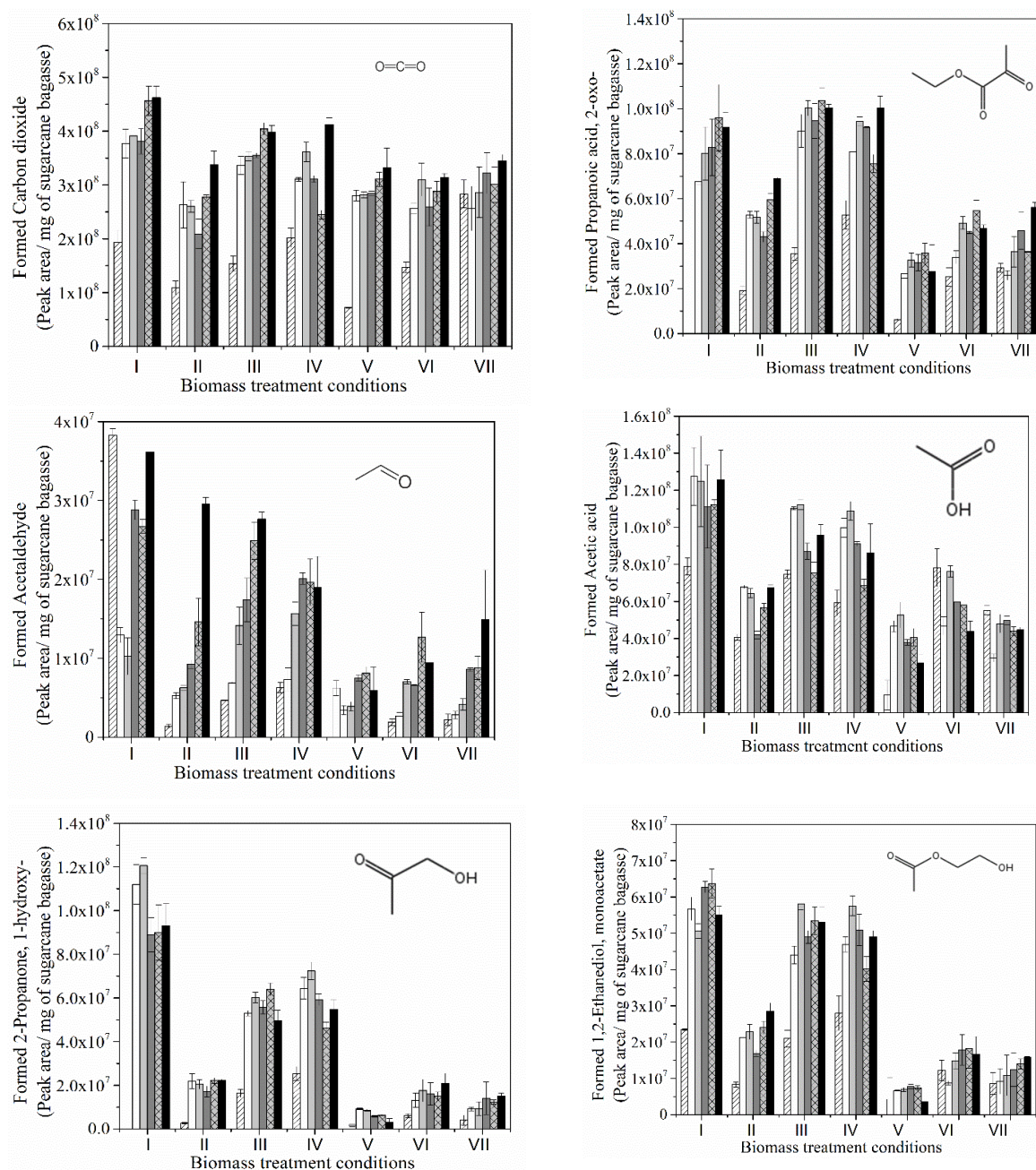


Figure 15. Effect of sulfuric acid addition on the pyrolytic products, acid washed sugarcane bagasse by Py-GC/MS studies (carbon dioxide; propanoic acid, 2-oxo; acetaldehyde; acetic acid; 2-Propanone, 1-hydroxy-; 1,2-Ethanediol, monoacetate). Symbols: /// 350°C; \square 400°C; \blacksquare 450°C; \blacksquare 500°C; /// 550°C; \blacksquare 600°C; Biomass treatment conditions: I- untreated sugarcane bagasse; II- H_2SO_4 (0.1%) impregnation; III- H_2SO_4 (0.2%) impregnation; IV- H_2SO_4 (0.3%) impregnation; V- washed with HNO_3 and treated with H_2SO_4 (0.1%) impregnation; VI- washed with HNO_3 and treated with H_2SO_4 (0.2%) impregnation and VII- washed with HNO_3 and treated with H_2SO_4 (0.3%) impregnation.

A formação de furfural, um produto da reação de desidratação da hemicelulose, aumentou à medida que a concentração de ácido sulfúrico foi incrementada em combinação com o ácido de lavagem com HNO₃. Zhou et al. (2013) observaram o mesmo comportamento quando se realizou a lavagem com ácido nítrico na madeira Hybrid poplar. Neste caso, a produção de furfural apresentou um aumento significativo (Figura 16).

A temperatura de pirólise afetou a formação de compostos fenólicos contendo cadeias maiores que sete átomos de carbono (Figura 17), ou seja, com o aumento da temperatura de pirólise favorecendo a formação destes compostos indesejáveis (Figura 18), com exceção do benzofurano, 2,3-dihidro, quando realizou a lavagem com HNO₃ e H₂SO₄ não evidenciou aumento.

Os compostos fenólicos com cadeia maiores (dez e onze átomos de carbonos), apresentaram diferentes perfis na formação desses produtos (Figura 18). Basicamente, na maioria dos casos (Figura 18) houve uma diminuição na formação dos compostos fenólicos quando realizou a lavagem ácida mais impregnação com ácido sulfúrico, os quais são compostos indesejáveis.

Estes resultados estão de acordo com estudos anteriores realizados pelo nosso grupo que observaram que ambos, lavagem de ácido nítrico e de adição de ácido sulfúrico podem diminuir os efeitos catalíticos dos compostos alcalinos (Zhou et al., 2013; Wang et al., 2014; Pecha et al., 2015). Finalmente, de modo geral, a adição de ácido sulfúrico reduziu drasticamente os rendimentos dos compostos indesejáveis quando se utilizou lavagem ácida. Isto pode ser explicado pelo efeito inibitório do ácido sulfúrico durante as reações de fragmentação (Pecha et al., 2015).

The yield of furfural, one product of hemicelluloses dehydration reactions, increased proportional to increased sulfuric acid concentration in combination with acid wash using HNO_3 . Zhou et al. (2013) observed the same behavior when the nitric acid washed hybrid poplar wood. In this case, the furfural production was enhanced significantly (Figure 16).

The pyrolysis temperature of sugarcane bagasse affected proportionally the phenolic compounds formation containing chains higher than seven carbons (Figure 17), i.e., increasing the pyrolysis temperature favored the phenols content (Figure 18). Still, the formation of these compounds with seven to eight carbons, except for benzofuran, 2,3-dihydro, when HNO_3 wash and H_2SO_4 were used, was not observed increase.

The phenolic compounds with largest chain (ten and eleven carbon atoms), presented different formation profiles (Figure 18) of these products. Basically, in most cases (Figure 18), there was a decrease in phenol formation when treatment with nitric acid wash plus impregnation with sulfuric acid was used resulting in the formation of undesirable compounds.

These results were consistent with a previous study performed by our group that observed that both, nitric acid wash and sulfuric acid addition can mitigate the catalytic effect of AAEMs (Zhou et al., 2013; Wang et al., 2014; Pecha et al., 2015). Finally, in general way the sulfuric acid addition dramatically reduced the yields when acid wash was used. This may be explained by the inhibitory effect of sulfuric acid on fragmentation reactions (Pecha et al., 2015).

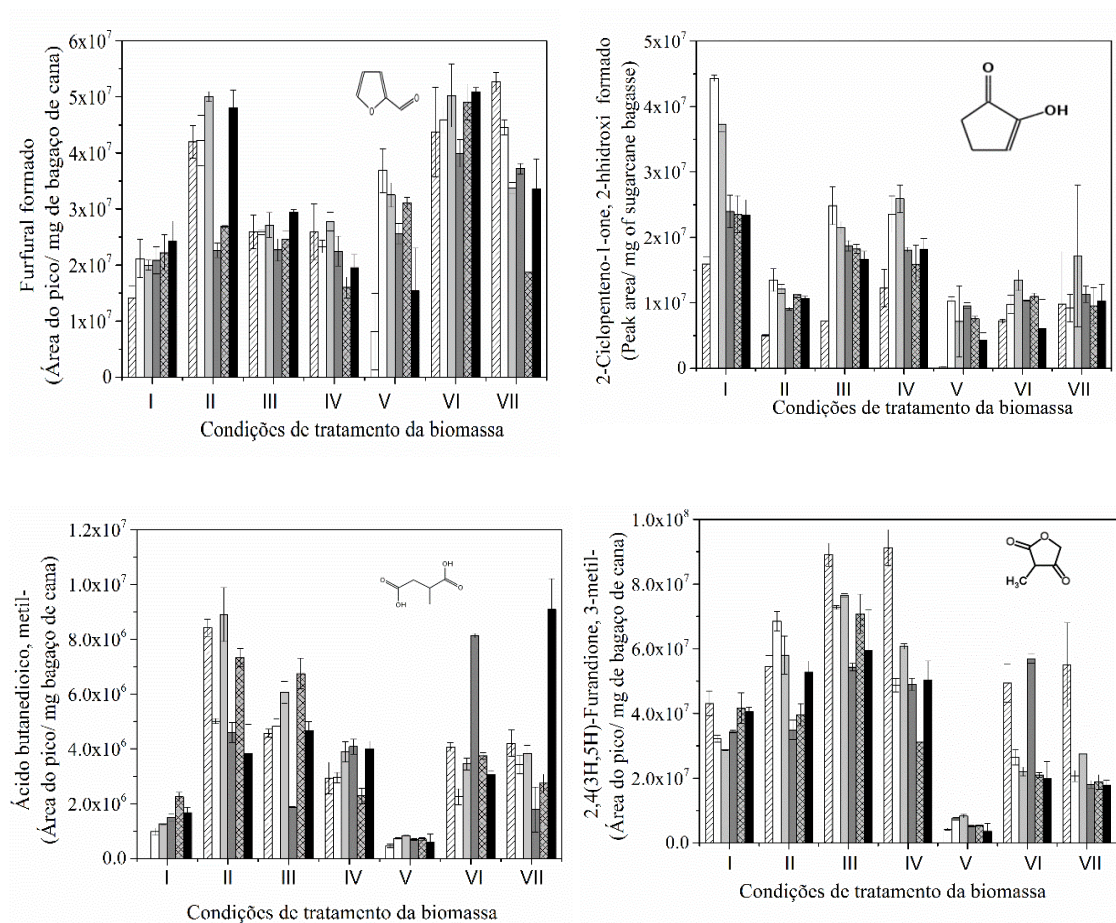


Figura 16. Efeitos na formação de produtos pirolíticos do bagaço de cana submetido à lavagem ácida e adição de ácido sulfúrico nos estudos de pirólise-CG/MS (Furfural; 2-Ciclopenteno-1-one, 2-hidroxi-; ácidos butanedioico, metil-; 2,4 (3H,5H) - Furandione, 3-metil-). Símbolos: // 350°C; □ 400°C; ■ 450°C; ■ 500°C; ▩ 550°C; ■ 600°C. Condições de tratamento da biomassa: I- biomassa não tratada; II- impregnação de H₂SO₄ (0,1%); III- impregnação de H₂SO₄ (0,2%); IV- impregnação de H₂SO₄ (0,3%); V- lavagem com HNO₃+ impregnação de H₂SO₄ (0,1%); VI- lavagem com HNO₃+ impregnação de H₂SO₄ (0,2%) e VII- lavagem com HNO₃+impregnação de H₂SO₄ (0,3%).

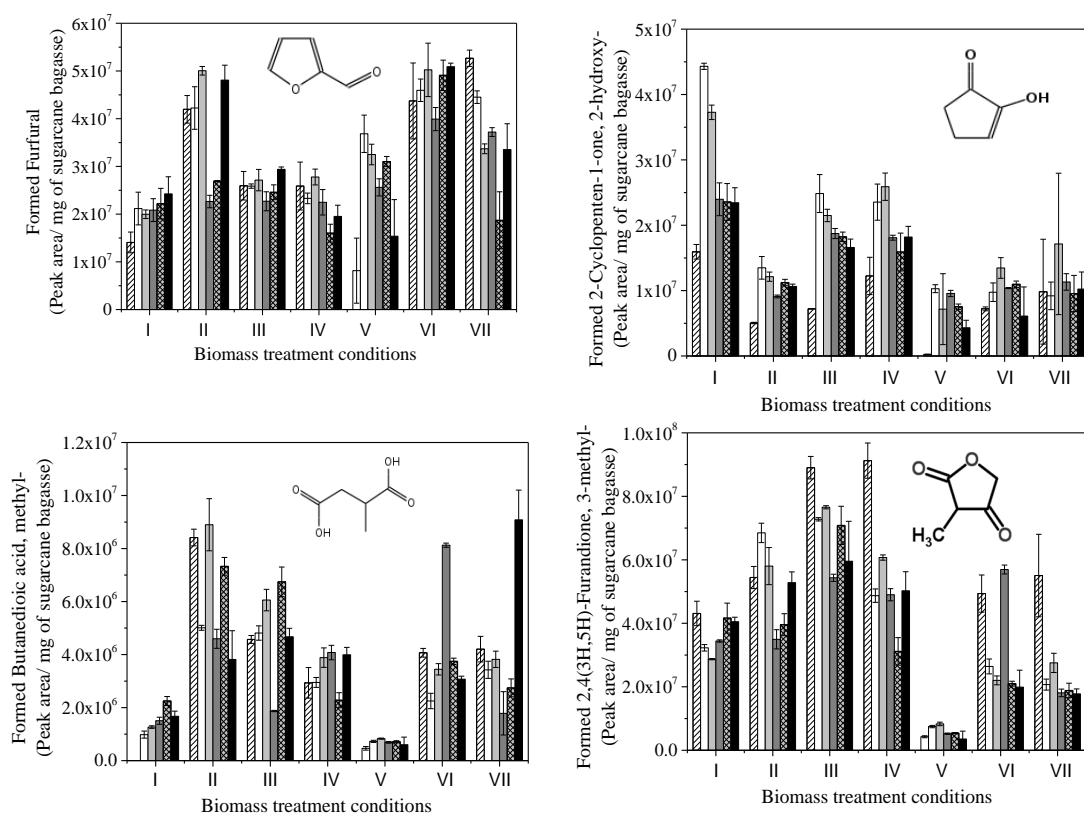


Figure 16. Effect of sulfuric acid addition on the pyrolytic products acid washed sugarcane bagasse by Py-GC/MS studies (Furfural; 2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-; Butanedioic acid, methyl-; 2,4 (3H,5H) - Furandione, 3-methyl-). Symbols: // 350°C; □ 400°C; ■ 450°C; ■ 500°C; ▩ 550°C; ■ 600°C; Biomass treatment conditions: I- untreated sugarcane bagasse; II- H₂SO₄ (0.1%) impregnation; III- H₂SO₄ (0.2%) impregnation; IV- H₂SO₄ (0.3%) impregnation; V- washed with HNO₃ and treated with H₂SO₄ (0.1%) impregnation; VI- washed with HNO₃ and treated with H₂SO₄ (0.2%) impregnation and VII- washed with HNO₃ and treated with H₂SO₄ (0.3%) impregnation.

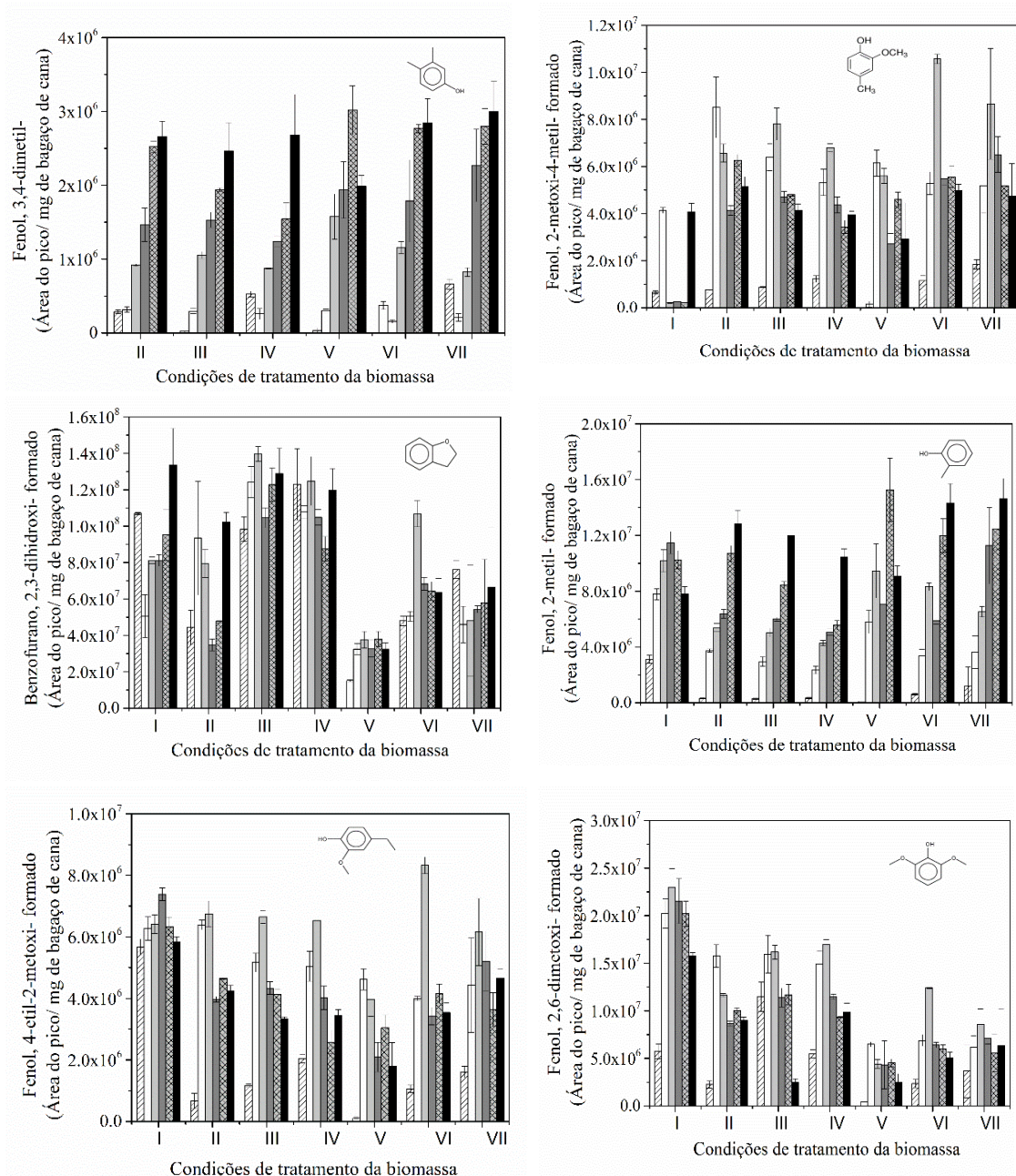


Figura 17. Efeitos na formação de produtos pirolíticos do bagaço de cana submetido à lavagem ácida e adição de ácido sulfúrico nos estudos Py-CG/MS (Fenol, 3,4-dimetil-; Fenol, 2-metoxi-4-metil-; Benzofurano, 2,3-dihidro-; Fenol, 2-metil-; Fenol, 4-etil-2-metoxi-; Fenol, 2,6-dimetoxi). Símbolos: /// 350°C; \square 400°C; \blacksquare 450°C; \blacksquare 500°C; \otimes 550°C; \blacksquare 600°C. Condições de tratamento da biomassa: I- biomassa não tratada; II- impregnação de H_2SO_4 (0,1%); III- impregnação de H_2SO_4 (0,2%); IV- impregnação de H_2SO_4 (0,3%); V- lavagem com HNO_3 + impregnação de H_2SO_4 (0,1%); VI- lavagem com HNO_3 + impregnação de H_2SO_4 (0,2%) e VII- lavagem com HNO_3 + impregnação de H_2SO_4 (0,3%).

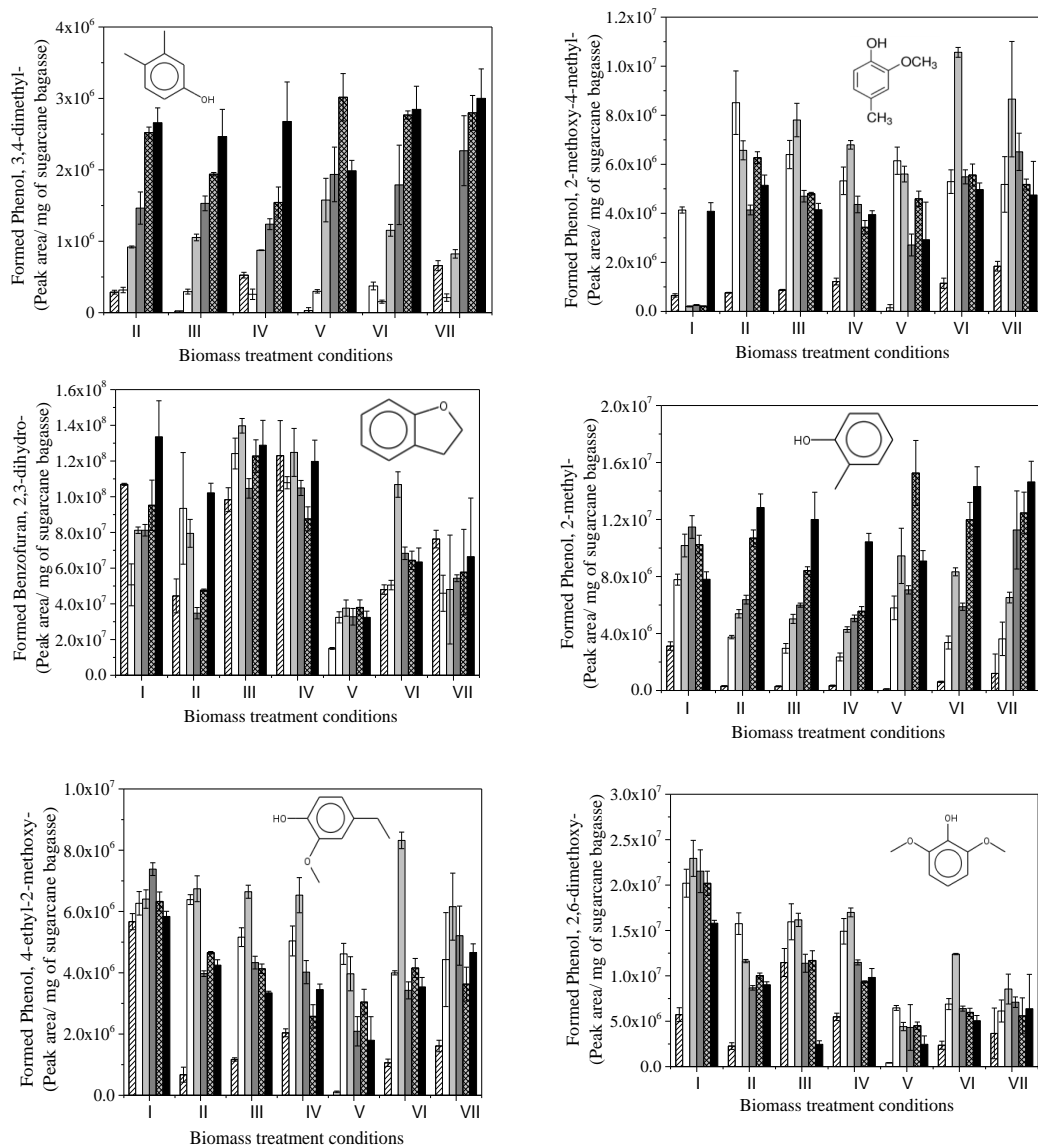


Figure 17. Effects on the formation of pyrolytic products from sugarcane bagasse subjected to acid washing and the addition of sulfuric acid in the studies Py-GC/MS (Phenol, 3,4-dimethyl; Phenol, 2-methoxy-4-methyl; Benzofuran, 2,3-dihydro; Phenol, 2-methyl; Phenol, 4-ethyl-2-methoxy; Phenol, 2,6-dimethoxy). Symbols: \diagup 350°C; \square 400°C; \blacksquare 450°C; \blacksquare 500°C; \otimes 550°C; \blacksquare 600°C. Biomass treatment conditions: I- untreated sugarcane bagasse; II- H₂SO₄ (0.1%) impregnation; III- H₂SO₄ (0.2%) impregnation; IV- H₂SO₄ (0.3%) impregnation; V- washed with HNO₃ and treated with H₂SO₄ (0.1%) impregnation; VI- washed with HNO₃ and treated with H₂SO₄ (0.2%) impregnation and VII- washed with HNO₃ and treated with H₂SO₄ (0.3%) impregnation.

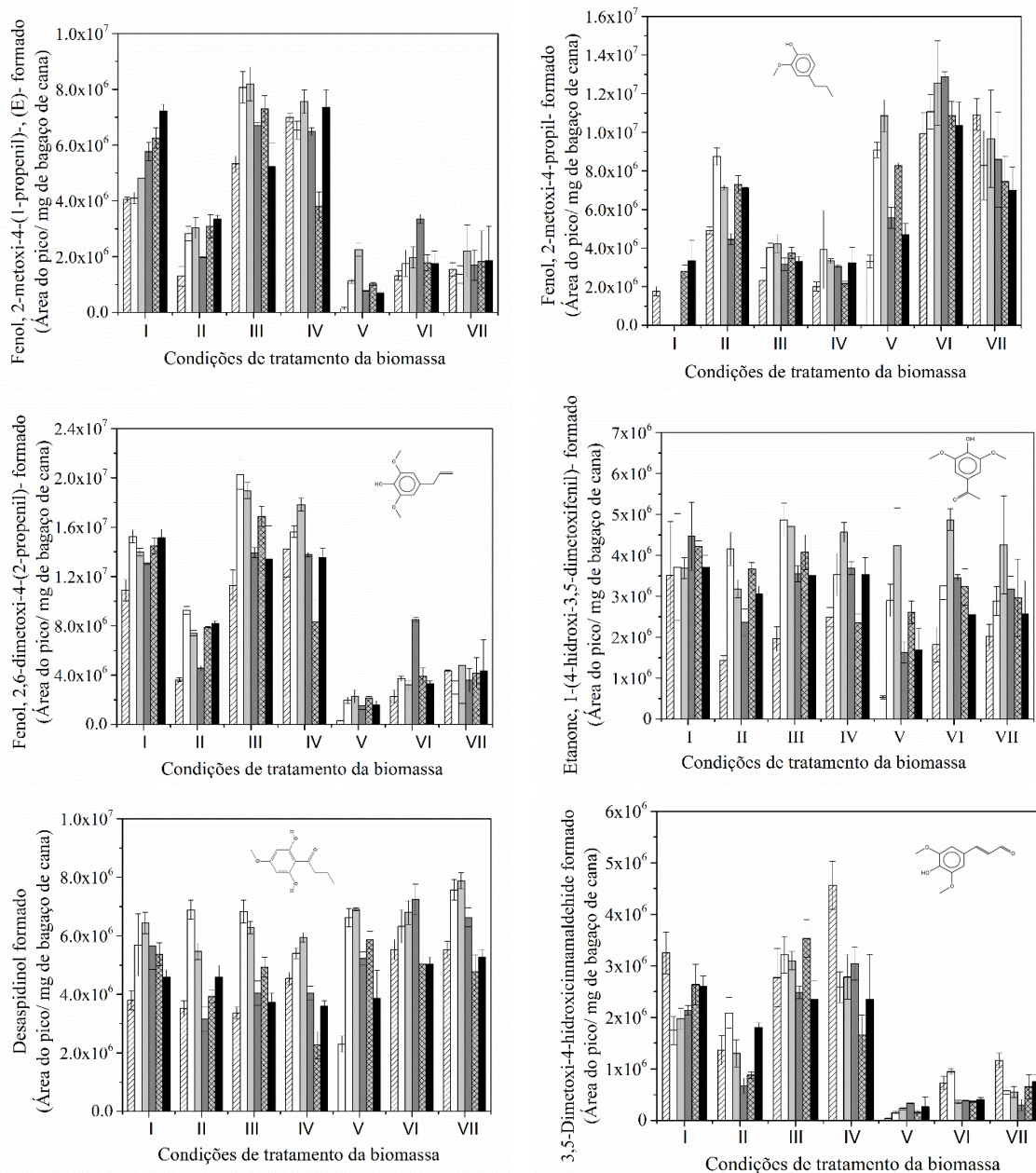


Figura 18. Efeitos na formação de produtos pirolíticos do bagaço de cana submetido à lavagem ácida e adição de H₂SO₄ na pirólise- CG/MS (Fenol, 2-metoxi-4-(1-propenil)-, (E)-; Fenol, 2-metoxi-4-propil-; Fenol, 2,6-dimetoxi-4-(2-propenil)-; Etanone, 1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-; Desaspídinol; 3,5-Dimetoxi-4-hidroxicinnamaldeído). Símbolos: /// 350°C; \square 400°C; \blacksquare 450°C; \blacksquare 500°C; \boxtimes 550°C; \blacksquare 600°C. Condições de tratamento da biomassa: I- biomassa não tratada; II- impregnação de H₂SO₄ (0,1%); III- impregnação de H₂SO₄ (0,2%); IV- impregnação de H₂SO₄ (0,3%); V- lavagem com HNO₃ + impregnação de H₂SO₄ (0,1%); VI- lavagem com HNO₃ + impregnação de H₂SO₄ (0,2%) e VII- lavagem com HNO₃ + impregnação de H₂SO₄ (0,3%).

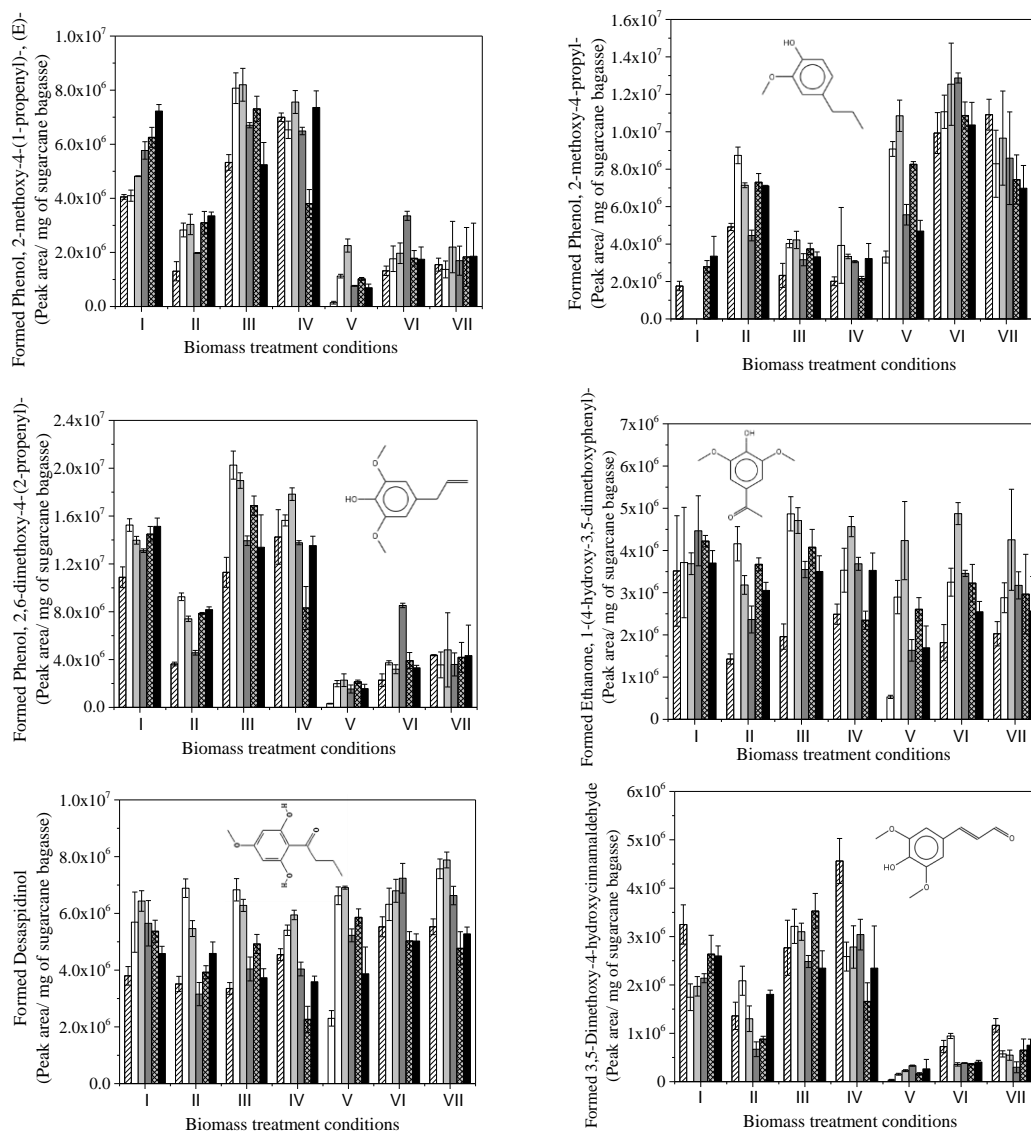


Figure 18. Effects on the formation of pyrolytic products from sugarcane bagasse with acid washing and addition H₂SO₄ in pyrolysis-CG/MS studies (Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-(E); phenol, 2-methoxy-4-propyl; phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl); ethanone, 1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl); Desaspindiol; 3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde). Symbols: //350°C; □ 400°C; ■ 450°C; ■ 500°C; ▨550°C; ■ 600°C; Biomass treatment conditions: I- untreated sugarcane bagasse; II- H₂SO₄ (0.1%) impregnation; III- H₂SO₄ (0.2%) impregnation; IV- H₂SO₄ (0.3%) impregnation; V- washed with HNO₃ and treated with H₂SO₄ (0.1%) impregnation; VI- washed with HNO₃ and treated with H₂SO₄ (0.2%) impregnation and VII- washed with HNO₃ and treated with H₂SO₄ (0.3%) impregnation.

4.4 Estudos do bagaço de cana tratado com ácido acético e submetido à Pirólise-CG/MS

Outra estratégia para aumentar o rendimento na formação de levoglucosana durante a pirólise do bagaço de cana-de-açúcar foi o tratamento com ácido acético. Este tratamento apresentou melhor rendimento na formação de levoglucosana em comparação com as outras estratégias estudadas (lavagem com ácido nítrico, impregnação com ácido sulfúrico e a combinação das duas). Na Figura 19 apresenta a título ilustrativo um cromatograma dos compostos da Pirólise –CG/MS do bagaço de cana tratado com ácido a 400 °C, e a Tabela 10 apresenta os compostos formados.

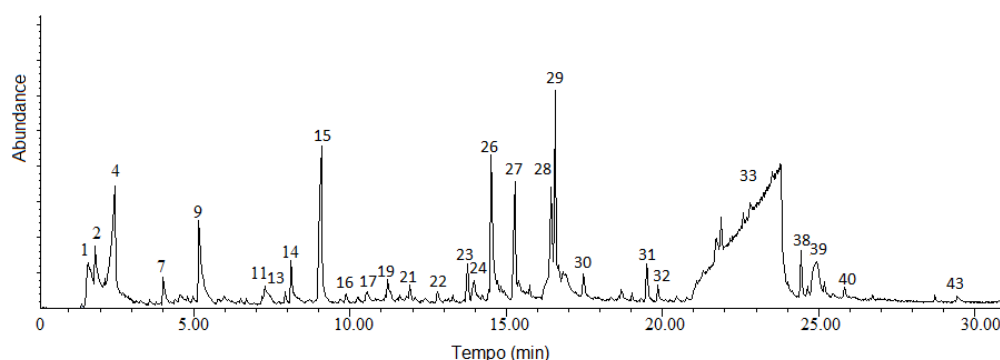


Figura 19. Cromatograma dos compostos presentes no bio-óleo obtido da pirólise do bagaço de cana tratado com ácido acético no reator Auger a 400 °C.

4.4.1 Formação de açúcares pirolíticos com o bagaço de cana tratado com ácido acético

Como pode observar na Figura 20, o tratamento com ácido acético aumentou mais de 9 vezes a formação de levoglucosana quando comparado com o bagaço de cana sem tratamento (controle) de acordo com os dados de Py-CG/MS utilizando a temperatura de pirólise a 400 °C, sendo esta a melhor condição para a formação deste açúcar. A partir de 400 °C, à medida que aumenta a temperatura de pirólise, diminui a formação de levoglucosana, este mesmo comportamento pode ser observado para o bagaço de cana não tratado (controle). Outro dado interessante, foi que a temperatura de 350 °C não favoreceu a formação de levoglucosana para ambas as biomassas, tratada e não tratada.

4.4 Studies of sugarcane bagasse treated with acetic acid and submitted to Pyrolysis-GC/MS

Another strategy to increase yield in the formation of levoglucosan during the pyrolysis of sugarcane bagasse was the treatment with acetic acid. This treatment presented better performance in levoglucosan formation compared to other studied strategies (nitric acid wash, sulfuric acid impregnation and the combination of the two). For illustrative purposes Figure 19, shown a pyrolysis-GC/MS chromatogram compounds of the acid treated sugarcane bagasse at 400 °C, and Table 10 shows the compounds formed.

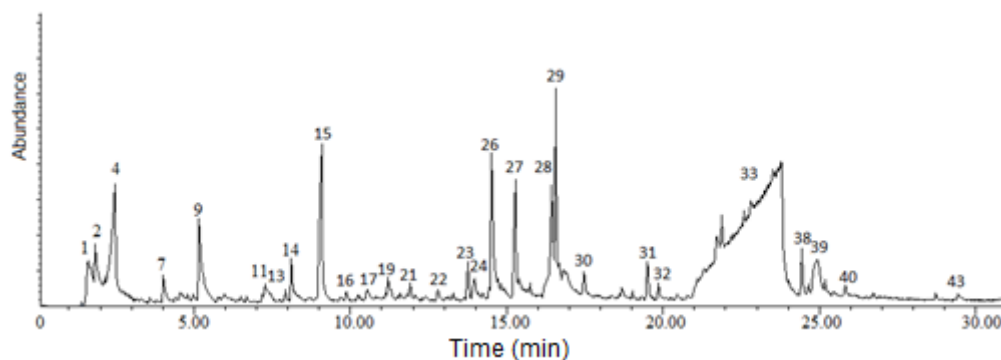


Figure 19. Chromatogram of the compounds present in the bio-oil obtained from the pyrolysis of sugarcane bagasse treated with acetic acid in the Auger reactor at 400 °C.

4.4.1 Formation of pyrolytic sugars with sugarcane bagasse treated with acetic acid

As can be seen in Figure 20, the acetic acid treatment increased more than 9-fold the formation of levoglucosan as compared to untreated sugarcane bagasse (control) according to the data of Py-GC/MS in the pyrolysis temperature at 400 °C, being this the best condition for the formation of this sugar. At 400 °C, as the pyrolysis temperature increases, levoglucosan formation decreases, the same behavior can be observed for untreated sugarcane bagasse (control). Another interesting fact was that the temperature of 350 °C did not favor the formation of levoglucosan for both biomass, treated and untreated.

Tabela 10. Compostos presentes no bio-óleo da pirólise do bagaço tratado com ácido acético.

Pico	Composto	TR	Formula	m/z	mw
1	Dióxido de carbono	2,05	CO ₂	44	44
2	Ácido propanoico, 2-oxo-	2,42	C ₃ H ₄ O ₃	43	88
3	Acetaldeido	2,73	C ₂ H ₄ O	43	44
4	Ácido acético	2,90	C ₂ H ₄ O ₂	43	60
5	nd				
6	nd				
7	1,2-Etanediol, monoacetato	4,74	C ₄ H ₈ O ₃	43	104
8	nd				
9	Furfural	5,14	C ₅ H ₄ O ₂	96	96
10	ni				
11	2-Ciclopenteno-1-one, 2-hidroxi-	7,62	C ₅ H ₆ O ₂	98	98
12	ni	7,71			
13	Ácido butanedioico metil	8,24	C ₅ H ₈ O ₄	86	132
14	2,4(3H,5H)-Furandione, 3-metil-	9,46	C ₅ H ₆ O ₃	114	114
15	1,2-Ciclopentanedione, 3-metil-	9,76	C ₆ H ₈ O ₂	112	112
16	ni	9,85			
17	2,5-Dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanone	10,70			
18	ni				
19	Fenol, 2-metoxi-	12,59	C ₆ H ₈ O ₃	43	128
20	ni				
21	Fenol, 3,4-dimetil-	14,89	C ₈ H ₁₀ O	107	122
22	Fenol, 2-metoxi-4-metil-	15,11	C ₈ H ₁₀ O ₂	123	138
23	ni	15,46			
24	nd				
25	nd				
26	Fenol, 4-etil-2-metoxi-	19,48	C ₉ H ₁₂ O ₂	137	152
27	2-Metoxi-4-vinilfenol	20,50	C ₉ H ₁₀ O ₂	135	150
28	Fenol, 2,6-dimetoxi-		C ₈ H ₁₀ O ₃	154	154
29	Vanilina	21,64	C ₈ H ₈ O ₃	151	152
30	Fenol, 2-metoxi-(1-propenil)-, (E)-	24,53	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164
31	Fenol, 2-metoxi 4-propil-	27,91	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	137	166
32	Fenol, 3-metoxi-2,4,6-trimetil-	31,82	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	151	166
33	Levoglucoana	34,94	C ₆ H ₁₀ O ₅	60	162
34	nd				
35	nd				
36	nd				
37	nd				
38	Fenol, 2,6-dimetoxi-4-(2-propenil)-	37,82	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194	194
39	Etanone, 1-(4-hidroxi-3,5-dimetofenil)-	40,28	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	181	196
40	Desaspidinol	38,52	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	167	210
41	nd				
42	nd				
43	nd				

TR - tempo de retenção (min); **m/z** – razão massa-carga dos espectros de massa; **MM**- massa molecular (kg/ kmol); **ni** – não identificado; **nd** – não detectado.

Table 10. Compounds in bio-oil from bagasse acetic acid treated, pyrolysis.

Peak	Compounds	Rt	Formula	m/z	mw
1	Carbon dioxide	2.05	CO ₂	44	44
2	Propanoic acid, 2-oxo-	2.42	C ₃ H ₄ O ₃	43	88
3	Acetaldehyde	2.73	C ₂ H ₄ O	43	44
4	Acetic acid	2.90	C ₂ H ₄ O ₂	43	60
5	nd				
6	nd				
7	1,2-Ethanediol, monoacetate	4.74	C ₄ H ₈ O ₃	43	104
8	nd				
9	Furfural	5.14	C ₅ H ₄ O ₂	96	96
10	ni				
11	2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-	7.62	C ₅ H ₆ O ₂	98	98
12	ni	7.71			
13	Butanedioic acid, methyl-	8.24	C ₅ H ₈ O ₄	86	132
14	2,4(3H,5H)-Furandione, 3-methyl-	9.46	C ₅ H ₆ O ₃	114	114
15	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	9.76	C ₆ H ₈ O ₂	112	112
16	ni	9.85			
17	2,5-Dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanone	10.70			
18	ni				
19	Phenol, 2-methoxy	12.59	C ₆ H ₈ O ₃	43	128
20	ni				
21	Fenol, 3,4-dimetil-	14.89	C ₈ H ₁₀ O	107	122
22	Fenol, 2-metoxi-4-metil-	15.11	C ₈ H ₁₀ O ₂	123	138
23	ni	15.46			
24	nd				
25	nd				
26	Fenol, 4-etil-2-metoxi-	19.48	C ₉ H ₁₂ O ₂	137	152
27	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	20.50	C ₉ H ₁₀ O ₂	135	150
28	2-Methoxy-4-vinylphenol		C ₈ H ₁₀ O ₃	154	154
29	Phenol, 2,6-dimethoxy-	21.64	C ₈ H ₈ O ₃	151	152
30	Vanillin	24.53	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164
31	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)	27.91	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	137	166
32	Phenol, 2-methoxy-4-propyl-	31.82	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	151	166
33	Phenol, 3-methoxy-2,4,6-trimethyl-	34.94	C ₆ H ₁₀ O ₅	60	162
34	Levoglucozan				
35	nd				
36	nd				
37	nd				
38	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	37.82	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194	194
39	Ethanone, 1-(4-hydroxy)	40.28	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	181	196
40	Desaspidinol	38.52	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	167	210
41	nd				
42	nd				
43	nd				

TR - retention time (min); m/z mass-charge of mass spectra ratio; MM- molecular mass (kg/kmol); ni – not identified; nd – not detected.

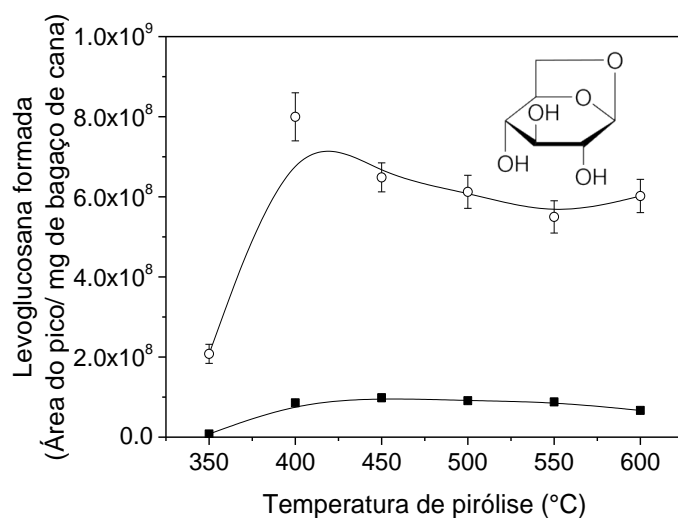


Figura 20. Efeito da adição de ácido acético no bagaço de cana na produção de açúcares pirolíticos no bagaço de cana determinado pelos estudos de Pirólise-CG/MS: Levoglucosana. Símbolos: ■ bagaço de cana não tratado (controle); ○ bagaço de cana tratado com ácido acético.

Segundo Kuzhiyil et al. (2012), a impregnação de certos ácidos na biomassa converte naturalmente os compostos alcalinos em sais termicamente estáveis, reduzindo seus efeitos catalíticos durante a pirólise e permitindo que ocorram mais reações com a celulose, que está diretamente relacionada com a formação de levoglucosana. No Apêndice A desta tese de doutorado, encontram-se todos os compostos da pirólise-CG/MS do bagaço de cana-de-açúcar sem tratamento (Tabela A1). As Tabelas A2 até a Tabela A7 encontram-se todas as áreas divididas pela massa de bagaço de cana pirolisado de todos os compostos identificados de acordo com cada uma das condições empregadas, isto é, variando a temperatura de pirólise (350, 400, 450, 500, 550 e 600 °C) do bagaço de cana sem tratamento, bem como, todos os respectivos cromatogramas (Figura A1 até a Figura A6) do bagaço de cana não tratado. A Tabela A14, apresenta todos os compostos da pirólise-CG/MS do bagaço de cana-de-açúcar tratado com ácido acético. Nas Tabelas A15 até a Tabela A20, encontram-se todas as áreas dividido pela massa de biomassa de todos os compostos identificados no bagaço de cana tratado com ácido acético. Nas Figuras A14 até a Figura A19, encontram-se todos os cromatogramas da pirólise-CG/MS do bagaço de cana lavado com ácido nítrico.

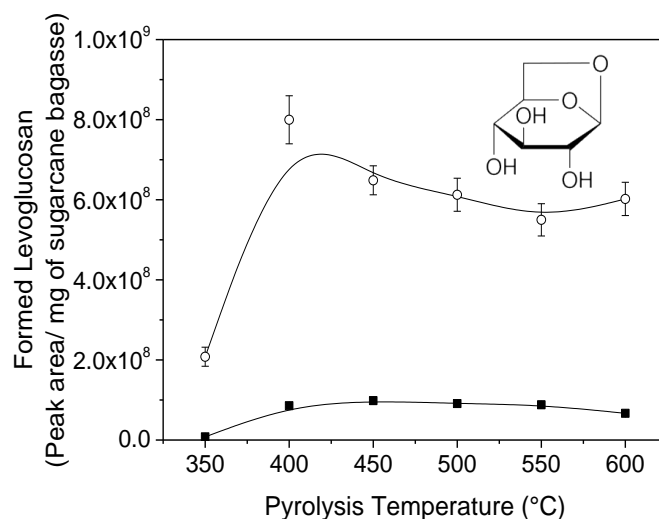


Figure 20. Effect of acetic acid addition on sugarcane bagasse on the production of pyrolytic sugars in sugarcane bagasse determined by the pyrolysis-GC/MS studies: Levoglucosana. Symbols: ■ untreated sugarcane bagasse (control); ○ sugarcane bagasse treated with acetic acid.

According to Kuzhiyil et al. (2012), the impregnation of certain acids in the biomass naturally converts the AAEMs into thermally stable salts, reducing their catalytic effects during pyrolysis and allowing more reactions to occur with cellulose, which is directly related to the levoglucosan formation. In Appendix A of this doctoral thesis are all the pyrolysis-CG/MS compounds of untreated sugarcane bagasse (Table A1). In Tables A2 to Table A7 are all areas divided by the mass of the pyrolysed sugarcane bagasse of all the compounds identified according to each of the conditions employed, i.e. varying the pyrolysis temperature (350, 400, 450, 500, 550 and 600 °C) of the untreated sugar cane bagasse, as well as all the respective chromatograms (Figure A1 to Figure A6). In Table A14, are all the pyrolysis-CG/MS compounds of the sugarcane bagasse. In Table A15 to Table A20, are all the areas was divided by the mass of biomass of all the compounds identified in the sugarcane bagasse treated with acetic acid. In Figures A14 to Figure A19, are all chromatograms of the pyrolysis-CG/MS of the cane bagasse washed with nitric acid.

Outro açúcar formado na pirólise do bagaço de cana tratado com ácido acético foi o 1,4:3,6 dianidro- α -D-glucopiranosose. Este açúcar apresentou o mesmo comportamento em relação à formação de levoglucosana, mostrando que, na pirólise a 400 °C se obtém um maior rendimento na formação de açúcares. Na medida em que aumenta a temperatura de pirólise, ocorre uma diminuição na sua formação ou quase não há alteração em seu rendimento (Figura 21). Pode observar que este açúcar aparece somente quando se realiza o tratamento com algum ácido no bagaço de cana, caso este, observado quando se utilizou o método de impregnação com o ácido sulfúrico e na lavagem com ácido nítrico mais a impregnação com ácido sulfúrico (Figura 21).

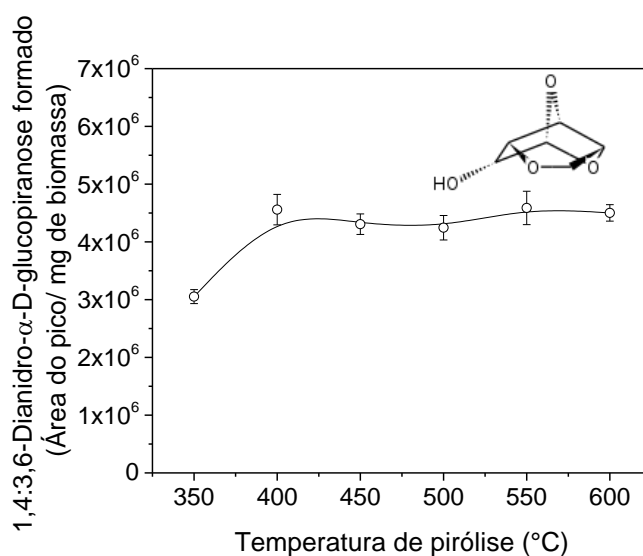


Figura 21. Efeito do tratamento do bagaço de cana com ácido acético sobre os produtos da pirólise determinado pelos estudos de Py-GC/MS: 1,4:3,6 Dianidro- α -D-glucopiranosose. Símbolos: ■ bagaço de cana sem tratamento; ○ bagaço de cana tratado com ácido acético.

4.4.2. Outros produtos pirolíticos formado da pirólise do bagaço de cana tratado com ácido nítrico

Os rendimentos relativos aos compostos formados durante a pirólise de biomassa não tratada (controle) e a biomassa tratada com ácido acético estão representados graficamente nas Figuras 22 a 26. A Figura 22 apresenta a formação de compostos de pequenas moléculas que contêm de um a quatro átomos de carbono, tais como dióxido de carbono, ácido propanoico, 2-oxo; acetaldeído; ácido acético; 2-propanona, 1-hidroxi; 1,2-etanediol, monoacetato.

Another sugar formed in the pyrolysis of sugarcane bagasse treated with acetic acid was 1,4: 3,6-dianhydro- α -D-glucopyranose. This sugar had the same behavior in relation to the formation of levoglucosan, showing that in the pyrolysis at 400 °C a higher yield in the formation of sugars is obtained. As the pyrolysis temperature increases, there is a decrease in its formation or there is almost no change in its yield (Figure 21). It can be observed that this sugar appears only when the treatment with some acid in the sugarcane bagasse is carried out, this was observed when the sulfuric acid impregnation method was used and in the nitric acid washing plus impregnation with sulfuric acid (Figure 21).

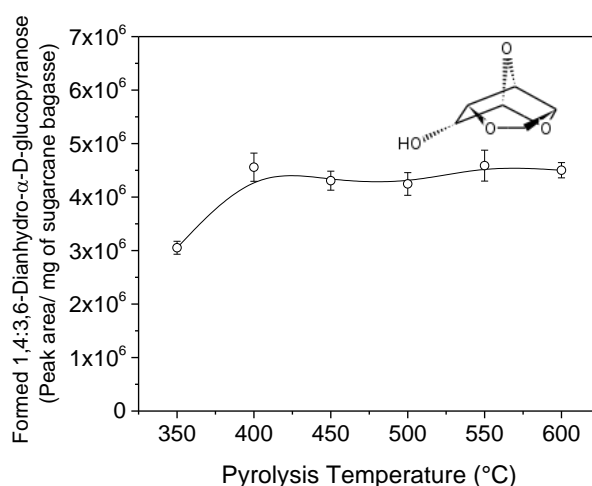


Figure 21. Effect of treatment of sugarcane bagasse with acetic acid on the products of pyrolysis determined by the studies of Py-GC/MS: 1,4: 3,6 Dianhydro- α -D-glucopyranose. Symbols: ■ untreated sugarcane bagasse; ○ sugarcane bagasse treated with acetic acid.

4.4.2. Other pyrolytic products formed from the pyrolysis of sugarcane bagasse treated with nitric acid

The yields relative to the compounds formed during pyrolysis of untreated (control) biomass and the treated acetic acid biomass are shown graphically in Figures 22 to 26. Figure 22 shows the formation of compounds of small molecules containing one to four carbon atoms, such as carbon dioxide; propanoic acid, 2-oxo; acetaldehyde; acetic acid; 2-propanone, 1-hydroxy; 1,2-ethanediol, monoacetate.

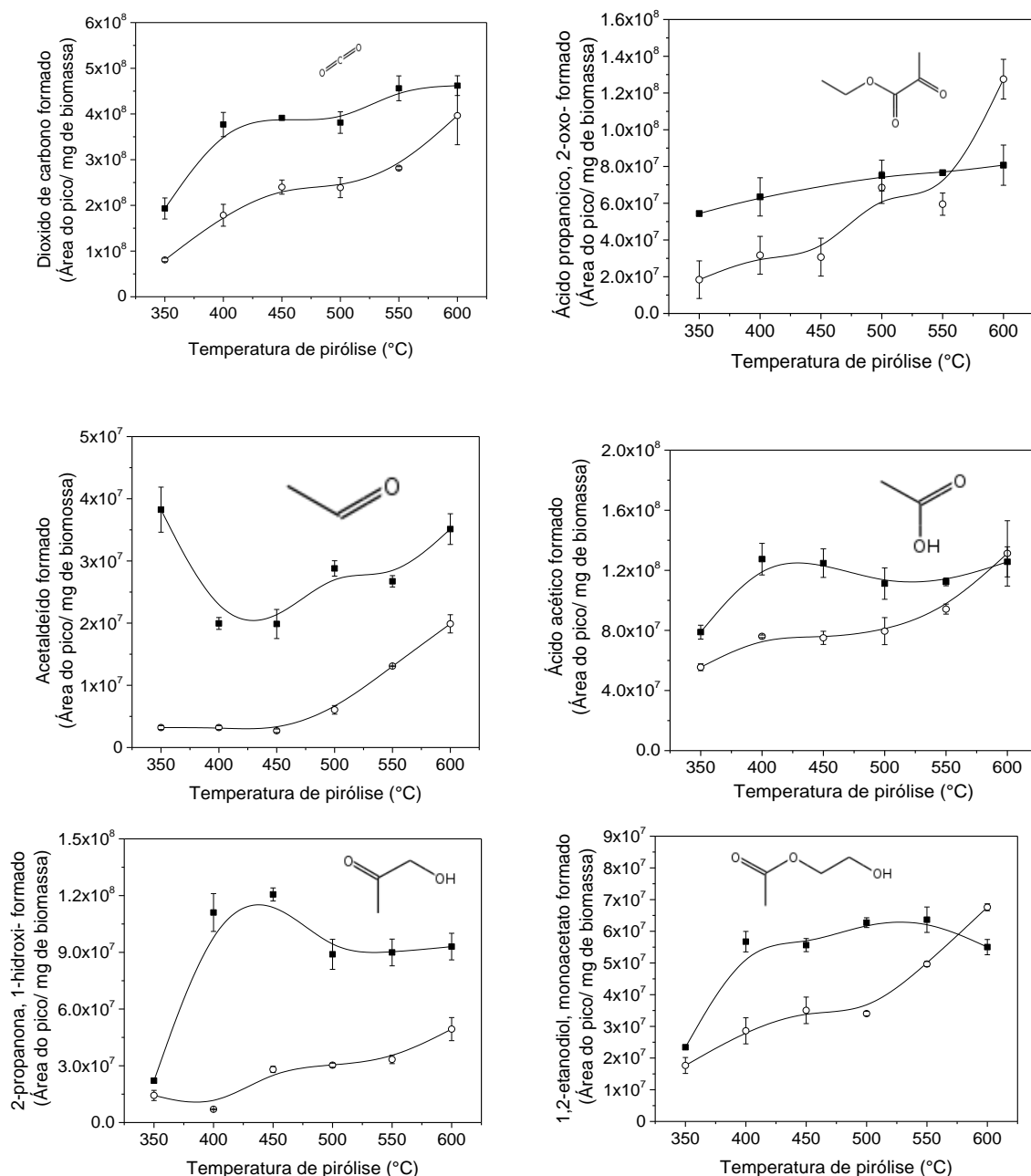


Figura 22. Efeito do tratamento do bagaço de cana com ácido acético sobre os produtos da pirólise determinado pelos estudos de Py-CG/MS: dióxido de carbono; ácido propanoico 2-oxo, acetaldeído; ácido acético; 2-propanona, 1-hidroxi-; 1,2-etanodiol, monoacetato. Símbolos: ■ bagaço de cana sem tratamento; ○ bagaço de cana tratado com ácido acético.

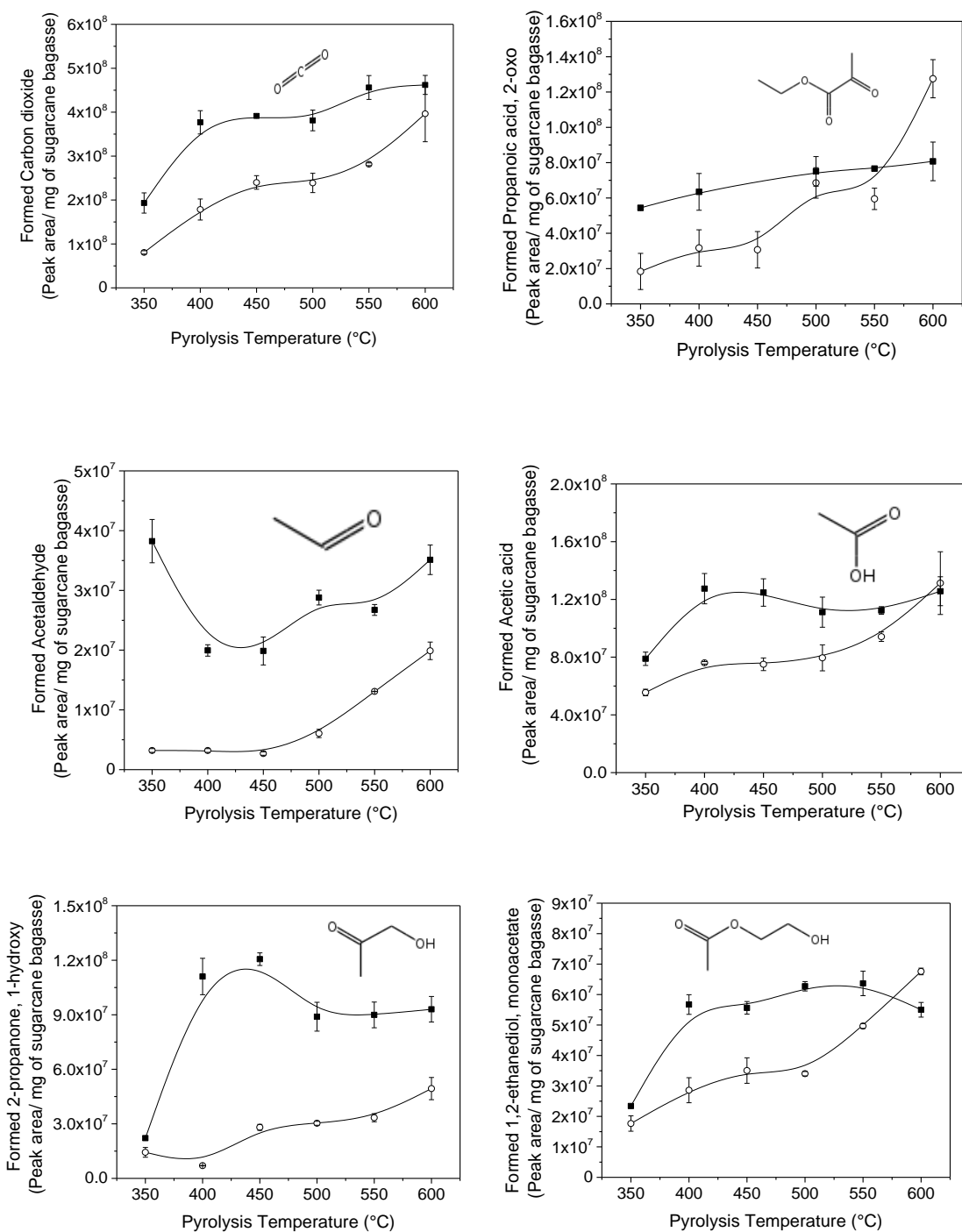


Figure 22. Effect of sugarcane bagasse treatment with acetic acid on the pyrolysis products determined by the Py-GC/MS studies: carbon dioxide; 2-oxo propanoic acid, acetaldehyde; acetic acid; 2-propanone, 1-hydroxy; 1,2-ethanediol, monoacetate. Symbols: ■ untreated sugarcane bagasse; ○ sugarcane bagasse treated with acetic acid.

Pode observar que a temperatura de pirólise a 350 °C não favoreceu a formação destes compostos, com exceção do acetaldeído. Para alguns compostos como ácido acético e 2-propanona, 1-hidroxi, a temperatura de 400 °C favoreceu a formação dos mesmos e diminuiu ou quase não houve alteração em sua formação em temperaturas maiores que 400 °C. Em relação aos outros compostos de até 4 átomos de carbono, à medida que aumenta a temperatura de pirólise aumenta o seu rendimento (Figura 22).

A Figura 23 apresenta o perfil de formação de compostos pirolíticos contendo cinco átomos de carbono (furfural; 2-ciclopenteno-1-one, 2-hidroxi; ácido butanodioico, metil-; 2,4(3H,5H) - furandione, 3-metil) formado durante a pirólise do bagaço de cana previamente submetido ao tratamento com ácido acético. Para estes compostos, com exceção ao ácido butanoico, a pirólise a 400 °C favoreceu a formação. Pode observar também que o tratamento com ácido acético favoreceu a formação destes compostos em relação ao bagaço sem tratamento, com exceção do 2-ciclopenteno-1-one, 2-hidroxi.

A temperatura de pirólise bem como, o tratamento com ácido acético afetaram a formação de compostos fenólicos contendo cadeias maiores que sete átomos de carbono (Figura 24, 25 e 26) durante a pirólise do bagaço de cana-de-açúcar. Quando aumenta a temperatura de pirólise favorece a formação de compostos fenólicos.

Alguns compostos como fenol, 2 metil; fenol, 4 etil-2-metoxi; fenol, 2,6-dimetoxi, em temperaturas de pirólise acima de 500 °C houve uma diminuição em sua formação para ambos os casos, a biomassa tratada com ácido acético e a sem tratamento (Figura 24 e 25). Por outro lado, o tratamento do bagaço com ácido acético formou alguns compostos que não foram detectados para a biomassa sem tratamento (controle), como fenol, 3,4-dimetil; fenol, 3-metoxi-2,4,6-trimetil e 2,5-Dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona (Figura 25 e Figura 26).

It may be observed that the pyrolysis temperature at 350 °C did not favor the formation of these compounds, with the exception of acetaldehyde. For some compounds such as acetic acid and 2-propanone, 1-hydroxy, the temperature of 400 °C favored the formation thereof and decreased or almost did not change in its formation at temperatures greater than 400 °C. In relation to the other compounds of up to 4-carbon atoms, as the pyrolysis temperature increases, their yield increases (Figure 22).

Figure 23 shows the profile of pyrolytic formation of compounds containing five carbon atoms (furfural, 2-cyclopentene-1-one, 2-hydroxy, butanedioic acid, methyl; 2,4 (3H, 5H) - furandione, 3- Methyl) formed during the pyrolysis of sugarcane bagasse previously treated with acetic acid. For these compounds, except for butanoic acid, pyrolysis at 400 °C favored formation. It may also be noted that acetic acid treatment brings on the formation of these compounds over untreated bagasse, with the exception of 2-cyclopentene-1-one, 2-hydroxy.

The pyrolysis temperature as well as the treatment with acetic acid affected the formation of phenolic compounds containing chains greater than seven carbon atoms (Figure 24, 25 and 26) during the pyrolysis of sugarcane bagasse. When the pyrolysis temperature increases, it favors the formation of phenolic compounds.

In some compounds such as phenol, 2-methyl; phenol, 4-ethyl-2-methoxy; Phenol, 2,6-dimethoxy, with pyrolysis temperatures above 500 °C, there was a decrease in its formation for both cases, the biomass treated with acetic acid and untreated (Figure 24 and 25). On the other hand, the treatment of bagasse with acetic acid formed some compounds that were not detected for the biomass without treatment (control), like phenol, 3,4-dimethyl; phenol, 3-methoxy-2,4,6-trimethyl and 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3 (2H) -furanone (Figure 25 and Figure 26).

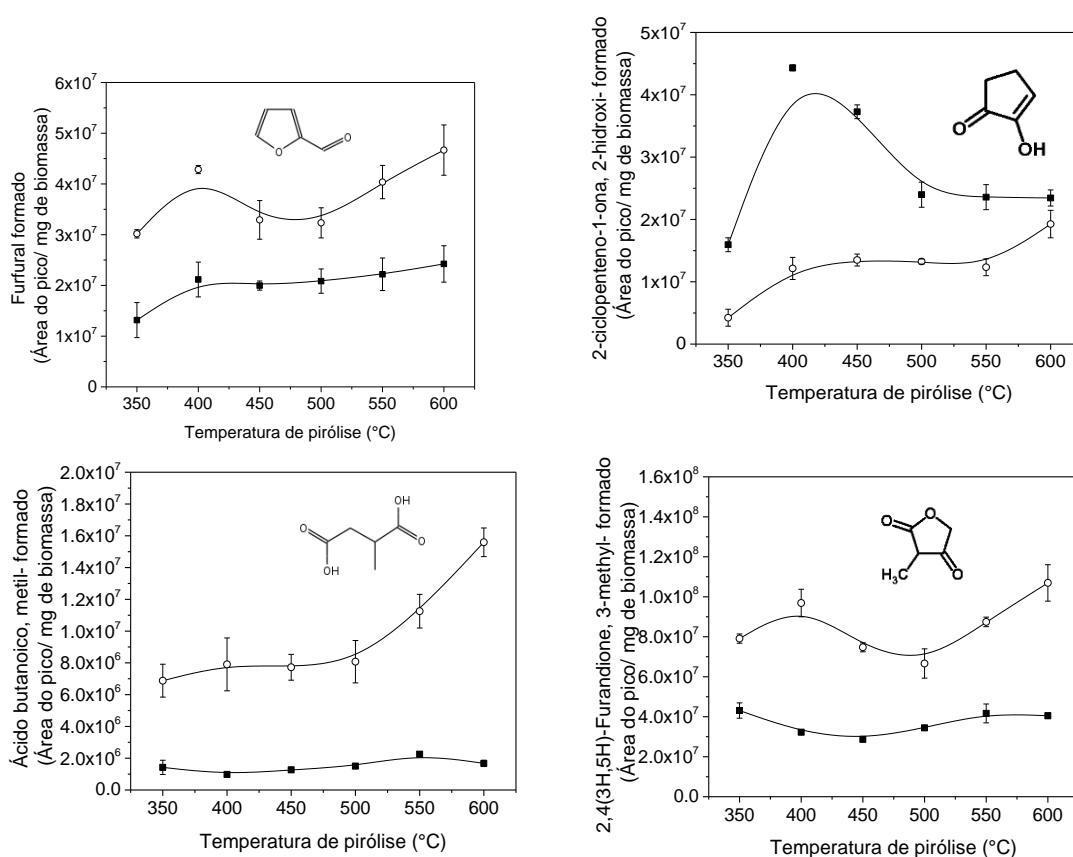


Figura 23. Efeito do tratamento do bagaço de cana com ácido acético sobre os produtos da pirólise determinado pelos estudos de Py-GC/MS: Furfural, 2-Ciclopenteno-1-ona, 2-hidroxi; Ácido butanoico, metil-; 2,4(3H,5H)-Furandione, 3-metil. Símbolos: ■ bagaço de cana sem tratamento; ○ bagaço de cana tratado com ácido acético.

Basicamente, na maioria dos compostos fenólicos, houve uma diminuição em sua formação durante a pirólise do bagaço de cana após realizar o tratamento com ácido acético (29 compostos). Em comparação ao bagaço sem tratamento (controle), no qual foram selecionados cerca de 43 compostos, sendo estes indesejáveis no bio-óleo, uma vez que são inibidores para a levedura (Lian et al., 2010).

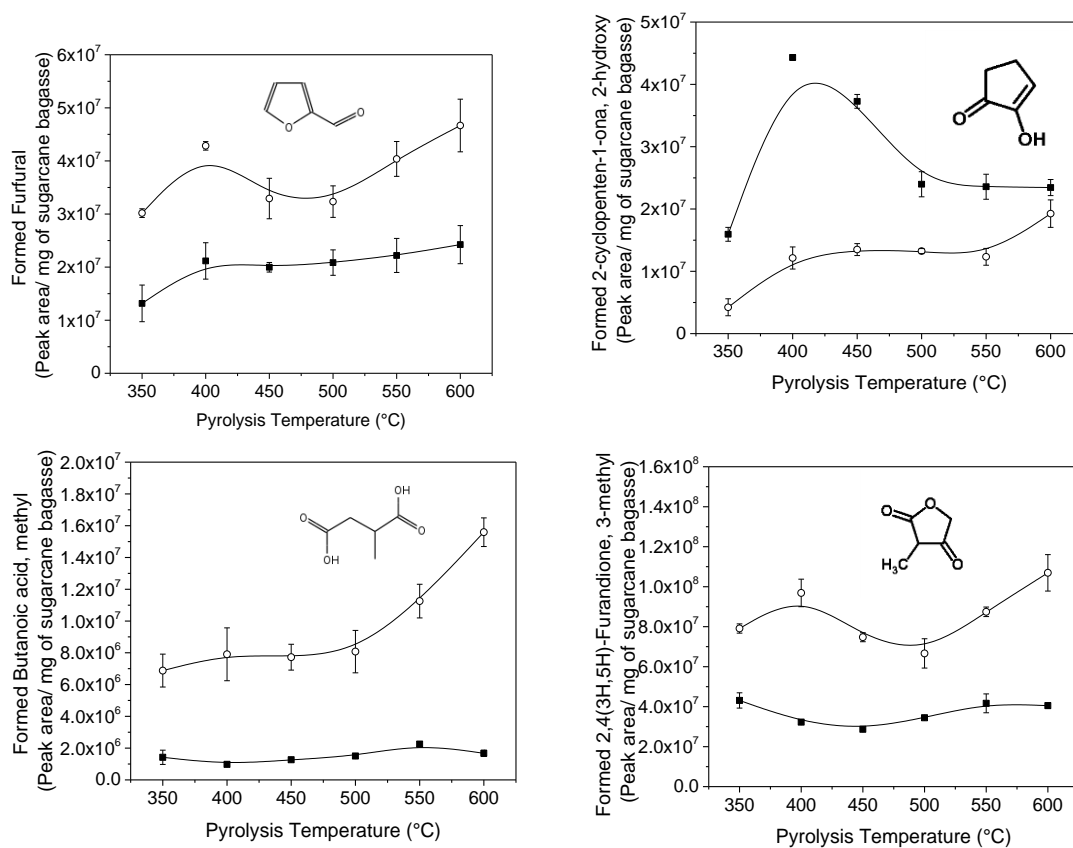


Figure 23. Effect of treatment of sugarcane bagasse with acetic acid on pyrolysis products determined by the Py-GC / MS studies: Furfural, 2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy; Butanoic acid, methyl-; 2,4 (3H, 5H) -Furandione, 3-methyl. Symbols: ■ untreated sugarcane bagasse; ○ sugarcane bagasse treated with acetic acid.

Basically, in the majority of the phenolic compounds, there was a decrease in its formation during the sugarcane bagasse pyrolysis after the treatment with acetic acid (29 compounds). Comparing to the untreated bagasse (control), in which were selected about 43 compounds, which are undesirable in the bio-oil, since they are inhibitory for yeast (Lian et al., 2010).

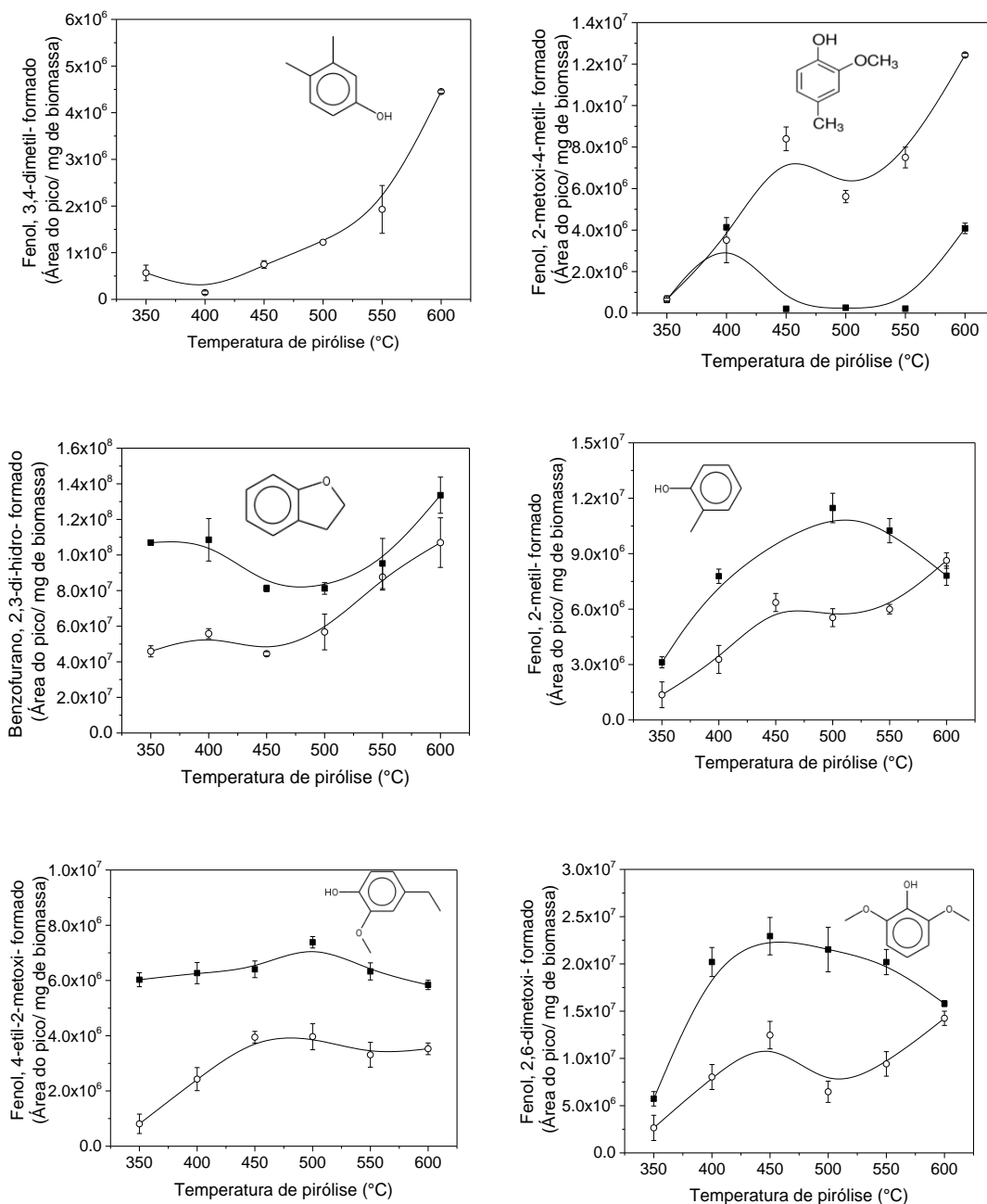


Figura 24. Efeito do tratamento do bagaço de cana com ácido acético sobre os produtos da pirólise determinado pelos estudos de Py-CG/MS: Fenol, 3,4-dimetil; Fenol, 2-metoxi-4-metil; Benzofurano, 2,3-di-hidroxi; Fenol, 2-metil; Fenol, 4-etil-2-metoxi; Fenol, 2,6-dimetoxi. Símbolos: ■ bagaço de cana sem tratamento; ○ bagaço de cana tratado com ácido acético.

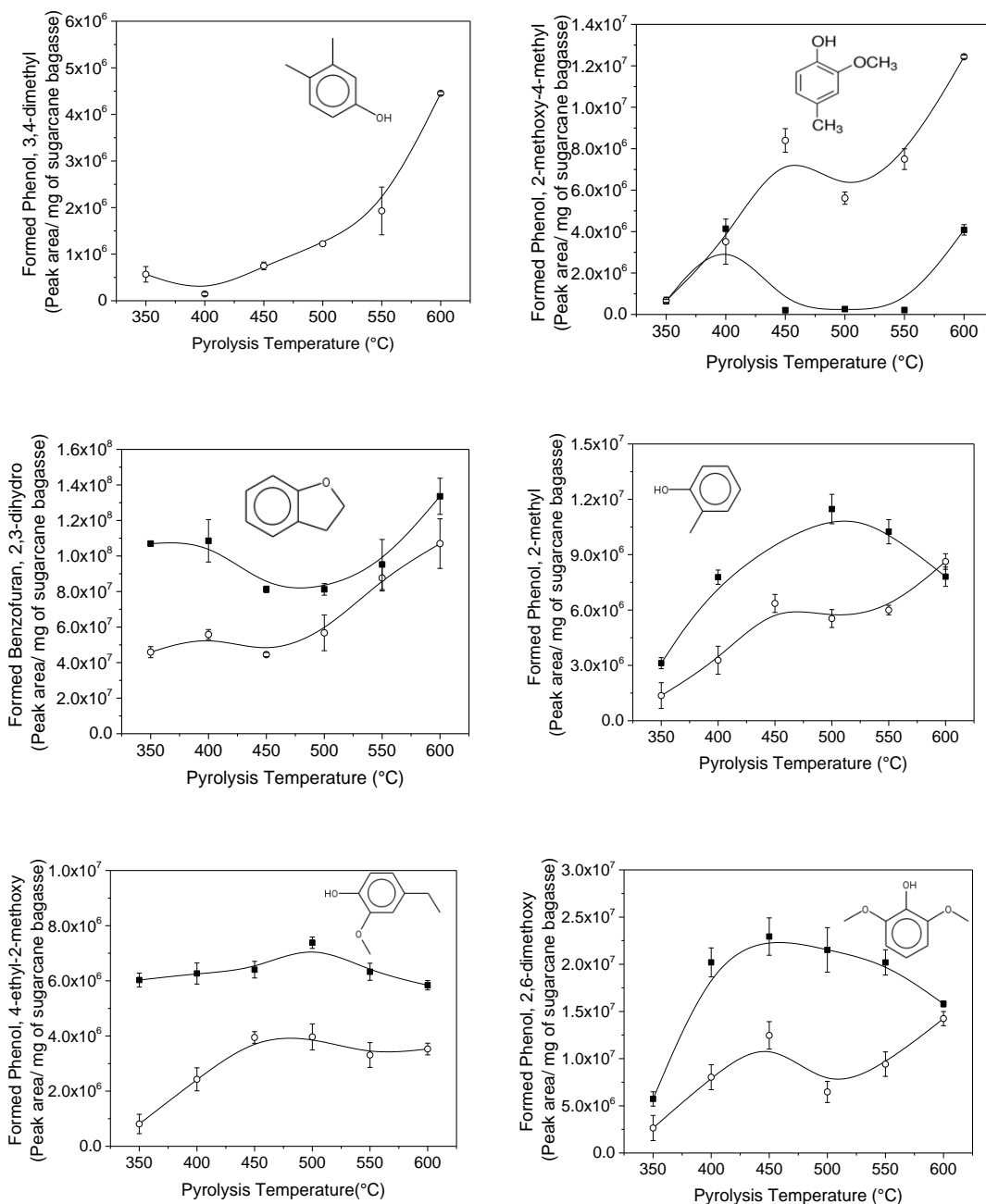


Figure 24. Effect of treatment of sugarcane bagasse with acetic acid on pyrolysis products determined by Py-GC/MS studies: Phenol, 3,4-dimethyl; Phenol, 2-methoxy-4-methyl; Benzofuran, 2,3-dihydroxy; Phenol, 2-methyl; Phenol, 4-ethyl-2-methoxy; Phenol, 2,6-dimethoxy. Symbols: ■ untreated sugarcane bagasse; ○ sugarcane bagasse treated with acetic acid.

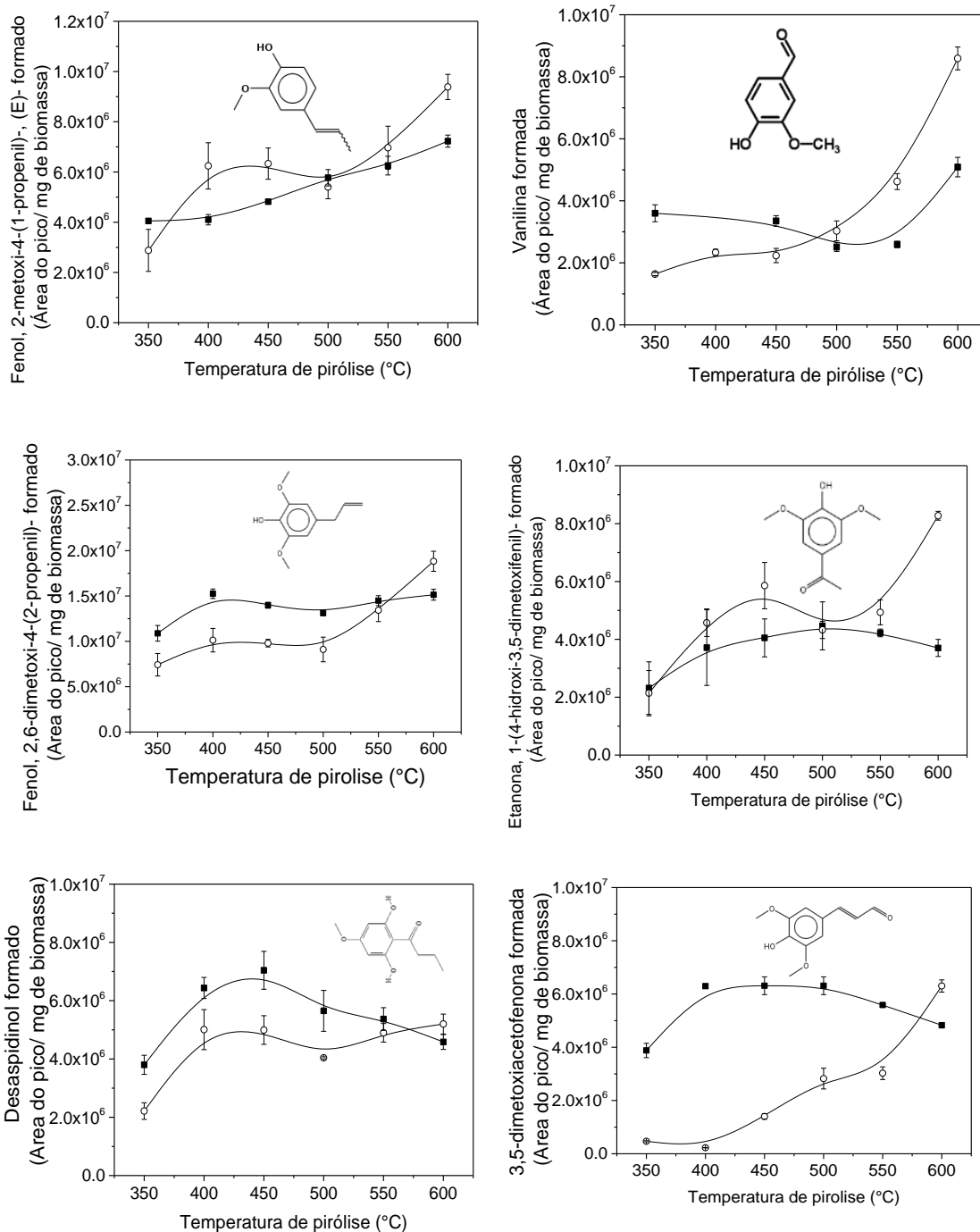


Figura 25. Efeito do tratamento do bagaço de cana com ácido acético sobre os produtos da pirólise determinado pelos estudos de Py-GC/MS: Fenol, 2-metoxi-4-(1-propenil)-, (E); Vanilina; Fenol, 2,6-dimetoxi-4-(2-propenil); Etanona, 1-(4-dihidroxi-3,5-dimetoxifenil); Desaspindol; 3,5-dimetoxiacetato fenona. Símbolos: ■ bagaço de cana sem tratamento; ○ bagaço de cana tratado com ácido acético.

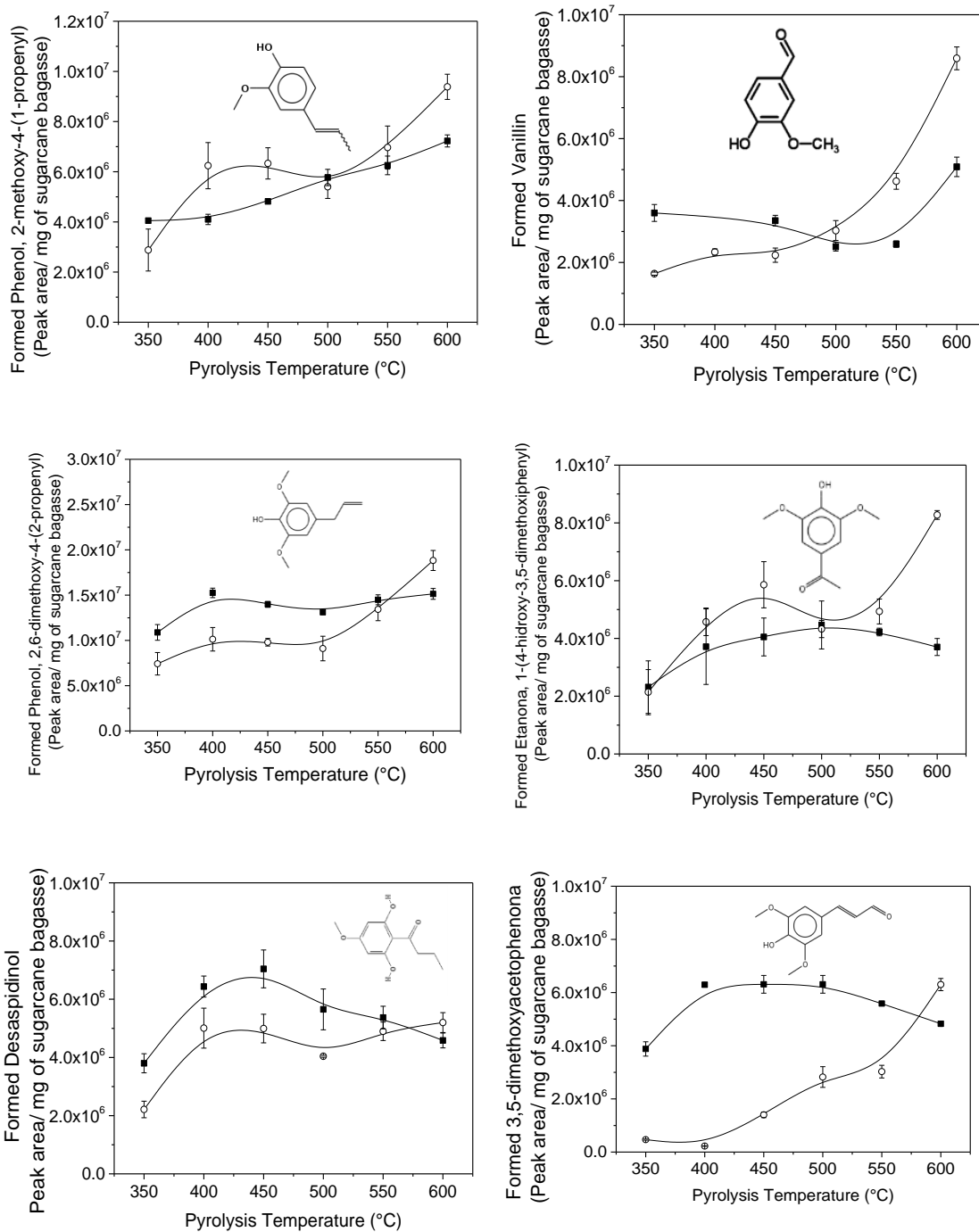


Figure 25. Effect of treatment of sugarcane bagasse with acetic acid on pyrolysis products determined by the Py-GC/MS studies: phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl); vanillin; phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl); ethanone, 1-(4-dihydroxy-3,5-dimethoxyphenyl); desaspidinol; 3,5-dimethoxyacetate phenone. Symbols: ■ untreated sugarcane bagasse; ○ sugarcane bagasse treated with acetic acid.

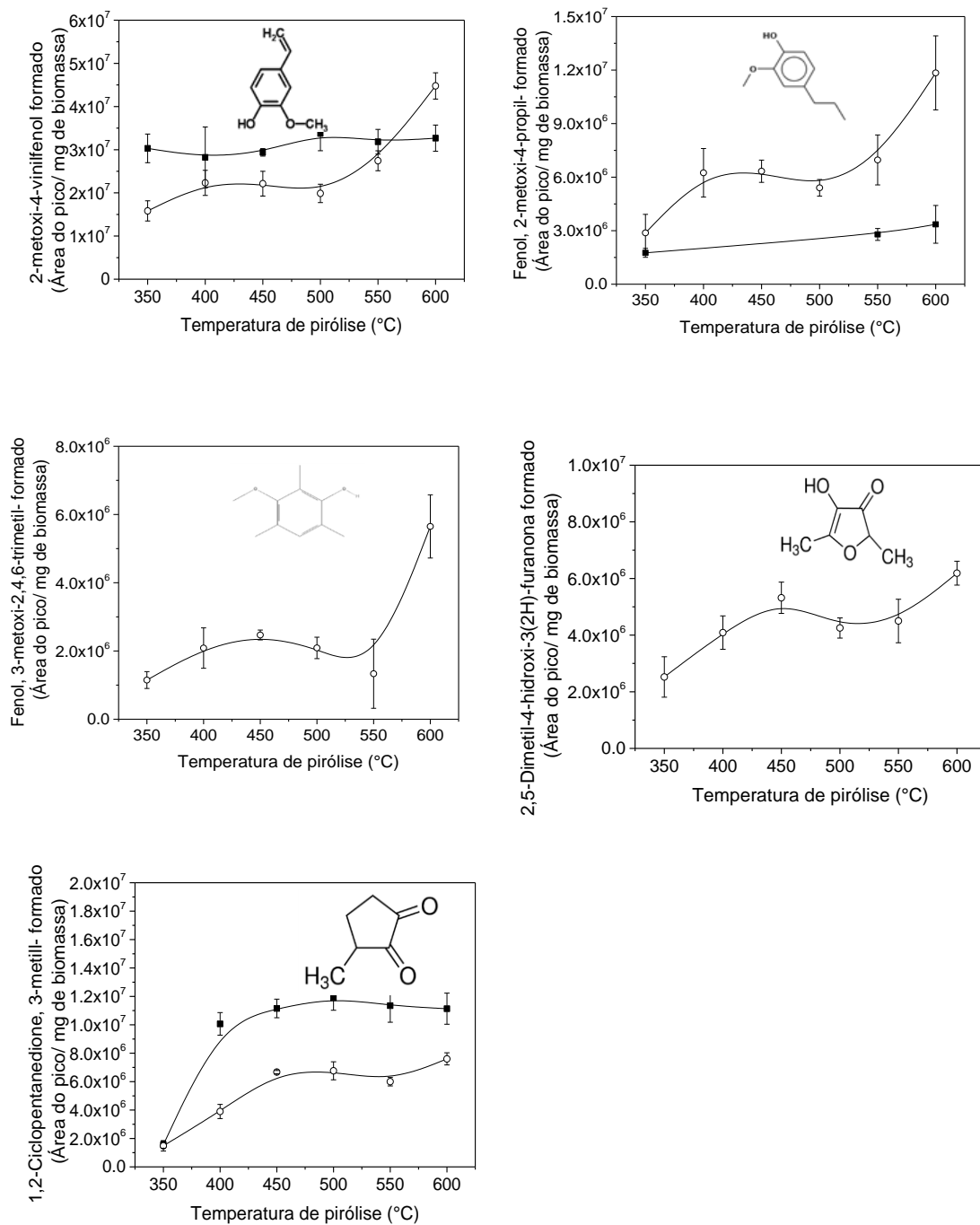


Figura 26. Efeito do tratamento do bagaço de cana com ácido acético sobre os produtos da pirólise determinado pelos estudos de Py-GC/MS: 2-metoxi-4-vinilfenol; Fenol, 2-metoxi-4-propil; Fenol, 3-metoxi-2,4,6-trimetil; 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona; 1,2-ciclopentanedione, 3-metil. Símbolos: ■ bagaço de cana sem tratamento; ○ bagaço de cana tratado com ácido acético.

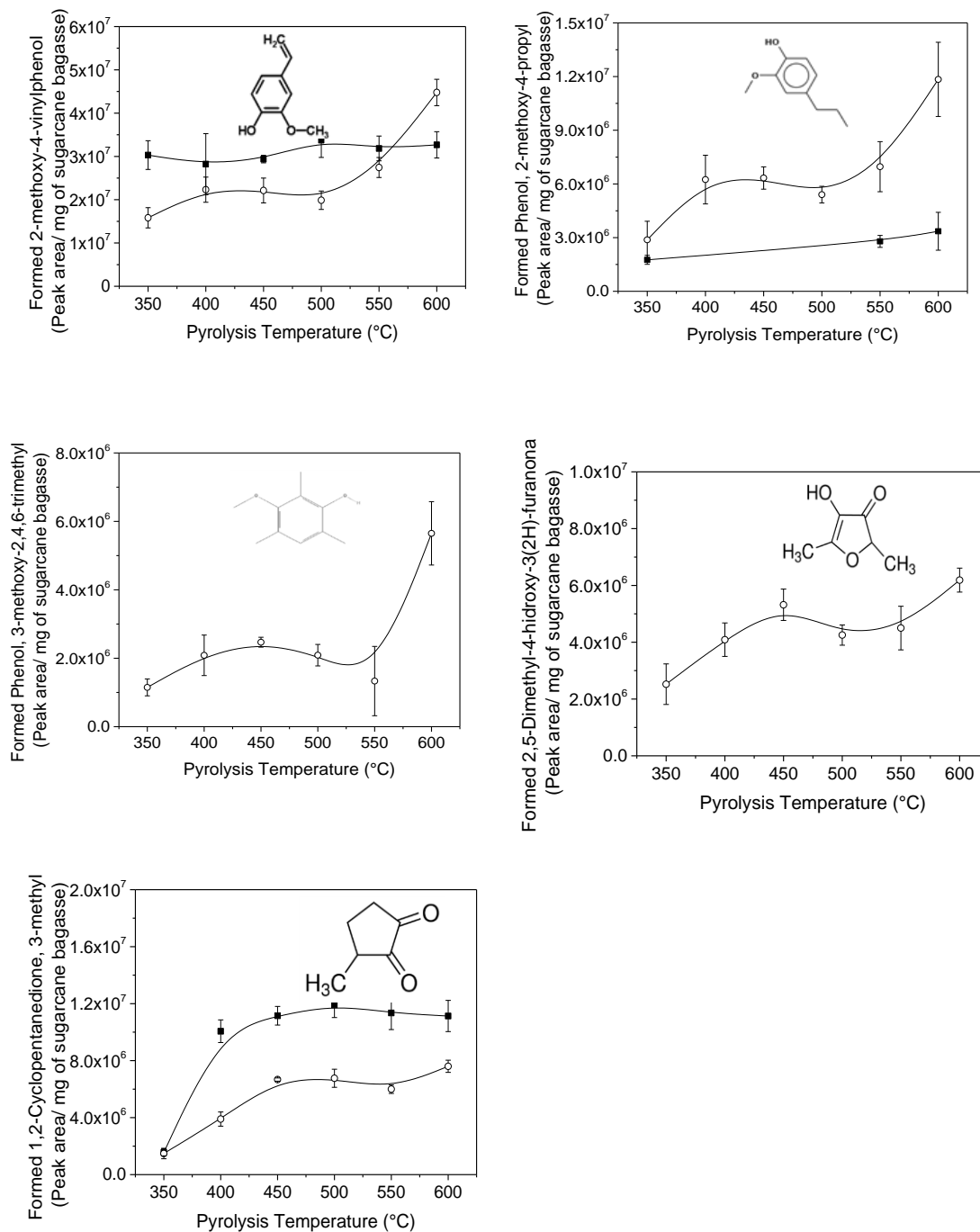


Figure 26. Effect of treatment of sugarcane bagasse with acetic acid on pyrolysis products determined by the Py-GC/MS studies: 2-methoxy-4-vinylphenol; phenol, 2-methoxy-4-propyl; phenol, 3-methoxy-2,4,6-trimethyl; 2,5-dimethyl-4-hydroxy-(2H)-furanone; 1,2-cyclopentanedione, 3-methyl. Symbols: ■ untreated sugarcane bagasse; ○ sugarcane bagasse treated with acetic acid.

4.5 Pirólise do Bagaço de cana-de-açúcar no reator Auger

Após realizar os estudos de pirólise-CG/MS com diferentes métodos de pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com diferentes ácidos, foi possível selecionar o método de pré-tratamento que favoreceu a formação de levoglucosana e também a temperatura de pirólise rápida do bagaço de cana.

Das estratégias avaliadas, o tratamento com ácido acético a 400 °C foi o que mais favoreceu a formação de levoglucosana. Após definir as condições apropriadas, iniciou o estudo de pirólise rápida no reator Auger. A Figura 27 apresenta a título ilustrativo o cromatograma do bio-óleo do bagaço de cana tratado com ácido acético obtido no reator Auger a 400 °C. Os compostos identificados no bio-óleo são apresentados na Tabela 11 juntamente com suas respectivas áreas. Como pode observar, os compostos identificados no bio-óleo são semelhantes aos compostos identificados nos estudos de pirólise-CG/MS do bagaço de cana tratado com ácido acético a 400 °C (Figura 19).

Dentre os diversos compostos encontrados no bagaço de cana tratado com ácido acético e no bio-óleo obtido no reator Auger, em sua maioria são açúcares, ácidos, aldeídos, compostos fenólicos e cetonas (Figura 27, Tabela 10 e Tabela 11). Estes compostos estão de acordo com os resultados reportados por outros trabalhos que realizaram estudo de pirólise do bagaço de cana (Ortiz et al., 2013; Garcia-Perez et al., 2002; Moraes et al., 2012).

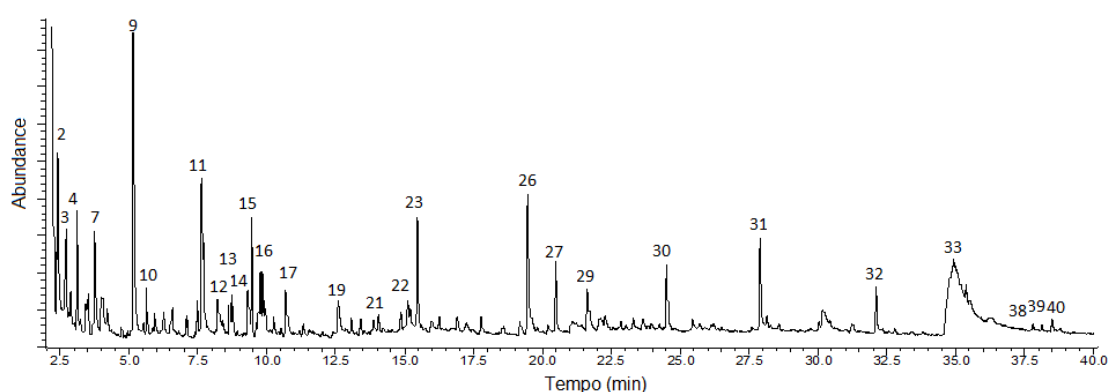


Figura 27. Cromatograma do bio-óleo obtido da pirólise do bagaço de cana tratado com ácido acético a 400 °C no reator Auger.

4.5 Sugarcane bagasse pyrolysis in the Auger reactor

After conducting the pyrolysis-GC/MS studies with different methods of pre-treatment of sugarcane bagasse with different acids, it was possible to select the pre-treatment method that favored the formation of levoglucosan and the pyrolysis temperature of sugarcane bagasse.

The evaluated strategies, treatment with acetic acid at 400 °C was what most favored the formation of levoglucosana. After defining the appropriate conditions, was started a rapid pyrolysis study in the Auger reactor. Figure 27 illustrates the bio-oil chromatogram of the acetic acid treated sugarcane bagasse obtained in the Auger reactor at 400 °C. The compounds identified in the bio-oil are shown in Table 11 along with their respective areas. As can be seen, the compounds identified in the bio-oil are similar to the compounds identified in the pyrolysis-CG/MS studies of sugarcane bagasse treated with acetic acid at 400 °C (Figure 19).

Among several compounds found in sugarcane bagasse treated with acetic acid and in the bio-oil obtained in the Auger reactor, they are mostly sugars, acids, aldehydes, phenolic compounds and ketones (Figure 27, Table 10 and Table 11). These compounds are in agreement with the results reported by other studies that carried out a study of pyrolysis of sugarcane bagasse (Ortiz et al., 2013; Garcia-Perez et al., 2002; Moraes et al., 2012).

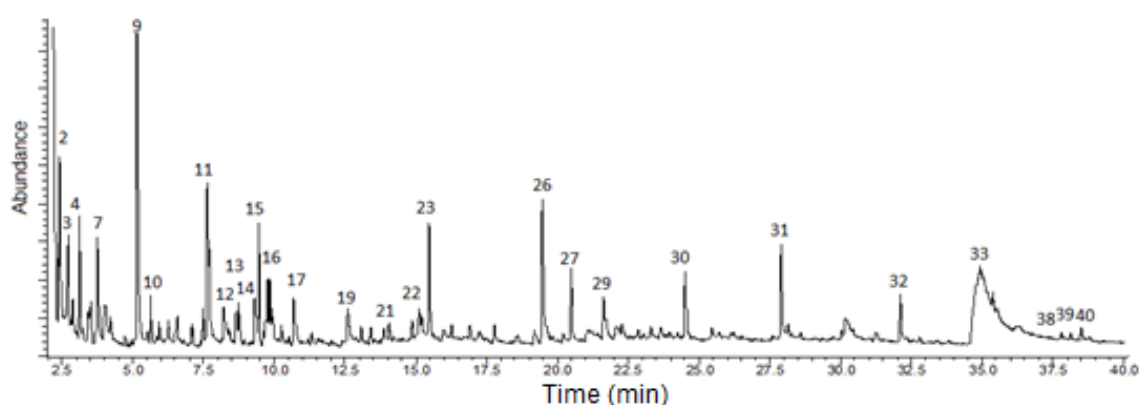


Figure 27. Chromatogram of the bio-oil obtained from the pyrolysis of the sugarcane bagasse treated with acetic acid at 400 °C in the Auger reactor.

Tabela 11. Compostos presentes no bio-óleo da pirólise do bagaço tratado com ácido acético.

Pico	Composto	TR	Formula	m/z	mw
1	Dióxido de carbono	2,05	CO ₂	44	44
2	Ácido propanoico, 2-oxo-	2,42	C ₃ H ₄ O ₃	43	88
3	Acetaldeido	2,73	C ₂ H ₄ O	43	44
4	Ácido acético	2,90	C ₂ H ₄ O ₂	43	60
5	nd				
6	nd				
7	1,2-Etanediol, monoacetato	4,74	C ₄ H ₈ O ₃	43	104
8	nd				
9	Furfural	5,14	C ₅ H ₄ O ₂	96	96
10	ni				
11	2-Ciclopenteno-1-one, 2-hidroxi-	7,62	C ₅ H ₆ O ₂	98	98
12	ni	7,71			
13	Ácido butanedioico metil	8,24	C ₅ H ₈ O ₄	86	132
14	2,4(3H,5H)-Furandione, 3-metil-	9,46	C ₅ H ₆ O ₃	114	114
15	1,2-Ciclopentanedione, 3-metil-	9,76	C ₆ H ₈ O ₂	112	112
16	ni	9,85			
17	2,5-Dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanone	10,70			
18	ni				
19	Fenol, 2-metoxi-	12,59	C ₆ H ₈ O ₃	43	128
20	ni				
21	Fenol, 3,4-dimetil-	14,89	C ₈ H ₁₀ O	107	122
22	Fenol, 2-metoxi-4-metil-	15,11	C ₈ H ₁₀ O ₂	123	138
23	ni	15,46			
24	nd				
25	nd				
26	Fenol, 4-etil-2-metoxi-	19,48	C ₉ H ₁₂ O ₂	137	152
27	2-Metoxi-4-vinilfenol	20,50	C ₉ H ₁₀ O ₂	135	150
28	Fenol, 2,6-dimetoxi-		C ₈ H ₁₀ O ₃	154	154
29	Vanilina	21,64	C ₈ H ₈ O ₃	151	152
30	Fenol, 2-metoxi-(1-propenil)-, (E)-	24,53	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164
31	Fenol, 2-metoxi 4-propil-	27,91	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	137	166
32	Fenol, 3-metoxi-2,4,6-trimetil-	31,82	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	151	166
33	Levoglucoana	34,94	C ₆ H ₁₀ O ₅	60	162
34	nd				
35	nd				
36	nd				
37	nd				
38	Fenol, 2,6-dimetoxi-4-(2-propenil)-	37,82	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194	194
39	Etanone, 1-(4-hidroxi-3,5-dimetofenil)-	40,28	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	181	196
40	Desaspidinol	38,52	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	167	210
41	nd				
42	nd				
43	nd				

TR - tempo de retenção (min); **m/z** – razão massa-carga dos espectros de massa; **MM**- massa molecular (kg/ kmol); **nd** – não identificado; nd – não detectado.

Table 11. Compounds on bio-oil to pyrolysis bagasse acetic acid treated.

Peak	Compounds	Rt	Formula	m/z	mw
1	Carbon dioxide	2.05	CO ₂	44	44
2	Propanoic acid, 2-oxo-	2.42	C ₃ H ₄ O ₃	43	88
3	Acetaldehyde	2.73	C ₂ H ₄ O	43	44
4	Acetic acid	2.90	C ₂ H ₄ O ₂	43	60
5	nd				
6	nd				
7	1,2-Ethanediol, monoacetate	4.74	C ₄ H ₈ O ₃	43	104
8	nd				
9	Furfural	5.14	C ₅ H ₄ O ₂	96	96
10	ni				
11	2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-	7.62	C ₅ H ₆ O ₂	98	98
12	ni	7.71			
13	Butanedioic acid, methyl-	8.24	C ₅ H ₈ O ₄	86	132
14	2,4(3H,5H)-Furandione, 3-methyl-	9.46	C ₅ H ₆ O ₃	114	114
15	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	9.76	C ₆ H ₈ O ₂	112	112
16	ni	9.85			
17	2,5-Dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanone	10.70			
18	ni				
19	Phenol, 2-methoxy	12.59	C ₆ H ₈ O ₃	43	128
20	ni				
21	Fenol, 3,4-dimetil-	14.89	C ₈ H ₁₀ O	107	122
22	Fenol, 2-metoxi-4-metil-	15.11	C ₈ H ₁₀ O ₂	123	138
23	ni	15.46			
24	nd				
25	nd				
26	Fenol, 4-etil-2-metoxi-	19.48	C ₉ H ₁₂ O ₂	137	152
27	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	20.50	C ₉ H ₁₀ O ₂	135	150
28	2-Methoxy-4-vinylphenol		C ₈ H ₁₀ O ₃	154	154
29	Phenol, 2,6-dimethoxy-	21.64	C ₈ H ₈ O ₃	151	152
30	Vanillin	24.53	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164
31	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)	27.91	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	137	166
32	Phenol, 2-methoxy-4-propyl-	31.82	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	151	166
33	Phenol, 3-methoxy-2,4,6-trimethyl-	34.94	C ₆ H ₁₀ O ₅	60	162
34	Levoglucozan				
35	nd				
36	nd				
37	nd				
38	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	37.82	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194	194
39	Ethanone, 1-(4-hydroxy)	40.28	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	181	196
40	Desaspidinol	38.52	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	167	210
41	nd				
42	nd				
43	nd				

TR - Retention time (min); **m/z** – mass- charge of mass spectra ratio; **MM**- molecular mass (kg/kmol); **ni** – not identified; **nd** – not detected.

A Tabela 12 apresenta os rendimentos dos produtos resultante da pirólise do bagaço de cana não tratado (controle) e o bagaço de cana tratado com ácido acético. A biomassa tratada alcançou um rendimento de 63,12% de bio-óleo enquanto que o bagaço de cana sem tratamento produziu 60,68% de bio-óleo. Esta melhoria no rendimento na produção de bio-óleo do bagaço de cana tratado pode ser devido à diminuição dos efeitos catalíticos causados pelos compostos alcalinos e alcalinos terrosos que foram removidos durante o tratamento do bagaço com ácido acético.

Tabela 12. Rendimento dos produtos da pirólise rápida no reator Auger do bagaço de cana-de-açúcar.

Produtos	Rendimento dos produtos da pirólise do bagaço de cana	
	Não tratado	Tratado com ácido acético
Bio-óleo	60,68 ± 0,7	63,12 ± 0,2
Biocarvão	23,95 ± 1,4	24,94 ± 0,9
Gases não condensáveis	15,36 ± 2,1	11,94 ± 1,1

Os rendimentos dos produtos da pirólise podem ser afetados por diversos fatores, como a temperatura e o tamanho da partícula, o tempo de residência e a taxa de aquecimento (Ortiz et al., 2013), o teor de umidade na biomassa (Tsai et al., 2006). Neste trabalho, utilizou a temperatura de pirólise a 400 °C devido ao estudo prévio realizado na Pirólise-CG/MS e o tratamento com o ácido acético, condição esta que apresentou maior rendimento na formação de levoglucosana, o produto desejado deste trabalho. O tamanho das partículas de bagaço de cana foi de 0,420 mm e o tempo de residência da biomassa no reator Auger foi de 5 segundos.

A literatura relata várias condições de pré-tratamentos no bagaço de cana, bem como estudos de parâmetros de pirólise visando aumentar o rendimento de bio-óleo (Carrier et al., 2011; Dewangan et al., 2016; Mesa-Pérez et al., 2013; Tsai et al., 2006). Ortiz e colaboradores (2013) realizaram um estudo utilizando diferentes temperaturas de pirólise (200 a 550 °C) do bagaço de cana, os autores encontraram que os melhores rendimentos na formação dos compostos voláteis condensáveis foram nas mais altas temperaturas (550 °C) chegando a obter um rendimento de 57,43 %.

Table 12 shows the yields of the products resulting from the pyrolysis of the untreated cane bagasse (control) and the cane bagasse treated with acetic acid. The treated biomass yielded a 63.12% bio-oil yield while the untreated sugarcane bagasse yielded 60.68% bio-oil. This improvement in yield in the bio-oil production of the treated sugarcane bagasse may be due to the decrease in the catalytic effects caused by the alkaline and earth alkaline compounds that were removed during the treatment of the bagasse with acetic acid.

Table 12. Yield of the products of the fast pyrolysis in the Auger reactor of the sugarcane bagasse.

Products	Yield of pyrolysis products of sugarcane bagasse	
	Untreated	Acetic acid treatment
Bio-oil	60,68 ± 0,7	63,12 ± 0,2
Biochar	23,95 ± 1,4	24,94 ± 0,9
Non-condensable gases	15,36 ± 2,1	11,94 ± 1,1

The yields of pyrolysis products can be affected by several factors, such as temperature and particle size, residence time and heating rate (Ortiz et al., 2013), moisture content in biomass (Tsai et al., 2006). In this work, it was used the pyrolysis temperature at 400 °C due was the condition that presented the highest yield in the formation of levoglucosan, the desired product of this work, in the previous study carried out in Pyrolysis-GC/MS with the treatment with acetic acid. The size of the cane bagasse particles was 0.420 mm and the residence time of the biomass in the Auger reactor was 5 seconds.

The literature reports several pre-treatment conditions on sugarcane bagasse, as well as pyrolysis parameter studies aiming to increase the yield of bio-oil (Carrier et al., 2011; Dewangan et al., 2016; Mesa-Pérez et al., 2013; Tsai et al., 2006). Ortiz et al. (2013) carried out a study using different pyrolysis temperatures (200-550 °C) of sugarcane bagasse, the authors found that the best yields in the formation of volatile condensable compounds were at the highest temperatures (550 °C) to yield a yield of 57.43%.

Segundo os autores, o aumento de temperatura é proporcional com o aumento no rendimento dos compostos voláteis condensáveis, comportamento este observado por Tsai et al. (2006) ao estudarem três diferentes resíduos agropecuários. Além da relação da temperatura com o rendimento dos compostos voláteis, há também uma relação quanto ao teor de cinzas, pois, à medida que aumenta a temperatura de pirólise, diminui a formação de cinzas (Ortiz et al., 2013; Tsai et al., 2006).

Montoya et al. (2015) obtiveram um rendimento de 72,94% de bio-óleo, 23,28% de biocarvão e 3,79% de gases, a melhor condição foi a 500 °C com um fluxo de nitrogênio de 50 L/min com o tamanho de partículas de bagaço entre 0,425 a 0,6 mm. Drummond e Drummond (1996) alcançaram 54,6% de bio-óleo utilizando um reator de malha a 500°C e uma taxa de aquecimento de 1000 °C/s. Asadullah et al. (2007) reportaram um rendimento de bio-óleo de 66,0 % em relação à massa de bagaço de cana em um reator de leito fixo.

4.6 Extração da levoglucosana do bio-óleo, hidrólise e detoxificação da solução de açúcares pirolíticos

Após realizar a pirólise do bagaço de cana no reator Auger para obter os açúcares pirolíticos para produção de bioetanol, foi necessário realizar a extração dos açúcares do bio-óleo. O procedimento realizado em duas etapas como descrito no materiais e métodos. O método utiliza duas diferentes temperaturas (quente e fria), na qual visa à quebra das ligações de hidrogênio entre as estruturas da lignina presente no bio-óleo, liberando a levoglucosana para a fase aquosa (Lian, et al., 2010). Contudo, a coloração vermelha marrom, da fase aquosa indica a presença de compostos fenólicos e furânicos, os quais são inibidores na fermentação para produção de etanol. Após a extração da levoglucosana, fez-se necessário remover estes compostos indesejáveis para melhorar o rendimento na produção de etanol durante a fermentação.

Neste trabalho, utilizou uma levedura geneticamente modificada para converter diretamente a levoglucosana em etanol, sem a necessidade de realizar o procedimento de hidrólise deste açúcar em glicose. Porém, não tivemos sucesso com esta levedura, uma vez que ela não consumiu a levoglucosana. Então tivemos que realizar a hidrólise da levoglucosana em glicose.

According to the authors, the increase in temperature is proportional to the increase in the yield of volatile condensable compounds, this behavior observed by Tsai et al. (2006) studying three different agricultural waste. In addition the relationship between temperature and yield of the volatile compounds, there is also a relation to the ash content, because, as the pyrolysis temperature increases, decrease ash formation (Ortiz et al., 2013; Tsai et al., 2006).

Montoya et al. (2015) achieved a yield of 72.94% bio-oil, 23.28% and 3.79% biochar gases, the best condition was 500 °C with a nitrogen flow of 50 L/min with the particle size bagasse from 0.425 to 0.6 mm. Drummond and Drummond (1996) achieved 54.6% bio-oil using a loop reactor at 500 °C and a heating rate of 1000 °C/sec. Asadullah et al. (2007) reported a bio-oil yield of 66.0% relative to the mass of sugarcane bagasse in a fixed bed reactor.

4.6 Extraction of levoglucosan from bio-oil, hydrolysis and detoxification of the pyrolytic sugar solution

After performing the pyrolysis of sugarcane bagasse in Auger reactor for pyrolytic sugars to bioethanol production, it was necessary to carry out the extraction of bio-oil sugars. The procedure was performed in two steps as described in materials and methods. The method uses two different temperatures (hot and cold), in which it aims at breaking the hydrogen bonds between the lignin structures present in the bio-oil, releasing levoglucosan to the aqueous phase (Lian et al., 2010). However, the brown red coloration of the aqueous phase indicates the presence of phenolic and furanic compounds, which are inhibitors in fermentation for ethanol production. After extraction of levoglucosan, it has become necessary to remove these undesirable compounds to improve yield in ethanol production during fermentation.

In this work, a genetically modified yeast was used to directly convert levoglucosan to ethanol, avoiding the sugar hydrolysis procedure to glucose. However, we did not succeed with this yeast, since it did not consume levoglucosan. Then we had to perform the hydrolysis of levoglucosan in glucose.

A Figura 28 apresenta o cromatograma do monitoramento da conversão da levoglucosana em glicose durante o procedimento de hidrólise por meio da análise de cromatografia líquida (HPLC), onde podemos observar que a levoglucosana (tempo de retenção 18,15 minutos) desaparece após 90 minutos de hidrólise (Figura 28c). Como pode observar na Figura 29, nota-se que a glicose (tempo de retenção de 8,64 minutos) começa a aparecer logo após os 15 minutos de hidrólise e aumenta à medida que aumenta o tempo de hidrólise (Figura 28 a, Figura 28b, Figura 28c e Figura 29). Após 90 minutos de hidrólise a levoglucosana é completamente convertida em glicose (Figura 28 c).

Para determinação da concentração (g/L) dos açúcares, preparou uma curva de calibração para as respectivas fontes de carbono. As curvas de calibração encontram-se no Apêndice C para os respectivos açúcares, glicose (Figura C1a) e para levoglucosana (Figura C1c).

De acordo com trabalhos reportados na literatura, este método de hidrólise com ácido sulfúrico é o mais eficiente quando comparado com outros métodos que utilizam outros tipos de produtos, tais como, o ácido peracético, o peróxido de hidrogênio, cloreto de ferro (III), o sulfato de ferro (II), o sulfato de manganês, óxido de alumínio e o hidróxido de amônio (Yu e Zhang, 2003).

No trabalho de Yu e Zhang (2003), avaliaram o processo de hidrólise da levoglucosana empregando as condições de esterilização (121 °C/ 20 min), o que poderia evitar o processo subsequente de esterilização dos substratos fermentáveis. Porém, esta condição não foi suficiente para hidrolisar levoglucosana em glicose, os autores justificam este comportamento devido à acidez do meio, na qual não foi suficiente para realizar a hidrólise.

Usando a mesma concentração de ácido sulfúrico (0,5M de H₂SO₄) usada neste trabalho. Bennett et al. (2009) otimizaram o processo de hidrólise da levoglucosana convertendo-a em glicose em 44 minutos de reação. Os autores concluíram que a temperatura de hidrólise tem um efeito mais significativo. À medida que aumenta a temperatura de reação (130 °C) aumentou a velocidade de reação.

Figure 28 shows the chromatogram of the monitoring conversion of levoglucosan into glucose during the hydrolysis procedure by liquid chromatography (HPLC) analysis, where we can observe that the levoglucosan (retention time 18.15 minutes) disappears after 90 minutes of hydrolysis (Figure 28c). As can be seen in Figure 29, it is noted that glucose (retention time 8.64 minutes) begins to appear just after 15 minutes of hydrolysis and increases as the hydrolysis time increases (Figure 28a, Figure 28b , Figure 28c and Figure 29). After 90 minutes of hydrolysis, levoglucosan was completely converted to glucose (Figure 28c).

To determine the concentration (g/L) of the sugars, a calibration curve was prepared for the respective carbon sources. The calibration curves are in Appendix C for glucose (Figure C1a) and levoglucosan (Figure C1c).

According to studies reported in the literature, this method of hydrolysis with sulfuric acid is the most efficient when compared to other methods that use other types of products, such as peracetic acid, hydrogen peroxide, chloride iron (III), iron sulphate (II), manganese sulphate, aluminum oxide and ammonium hydroxide (Yu and Zhang, 2003). In the work of Yu and Zhang (2003), they evaluated the process of hydrolysis of levoglucosan using sterilization conditions (121 °C/20 min), which could avoid the subsequent sterilization process of the fermentable substrates. However, this condition was not enough to hydrolyze levoglucosan in glucose. The authors justify this behavior due to the acidity of the medium, in which it was not enough to carry out the hydrolysis.

Using the same concentration of sulfuric acid (0.5M H₂SO₄) used in this work. Bennett et al. (2009) optimized the process of hydrolysis of levoglucosan by converting it to glucose in 44 minutes of reaction. The authors concluded that the hydrolysis temperature has a more significant effect. As the reaction temperature increased (130 °C) the reaction rate increased.

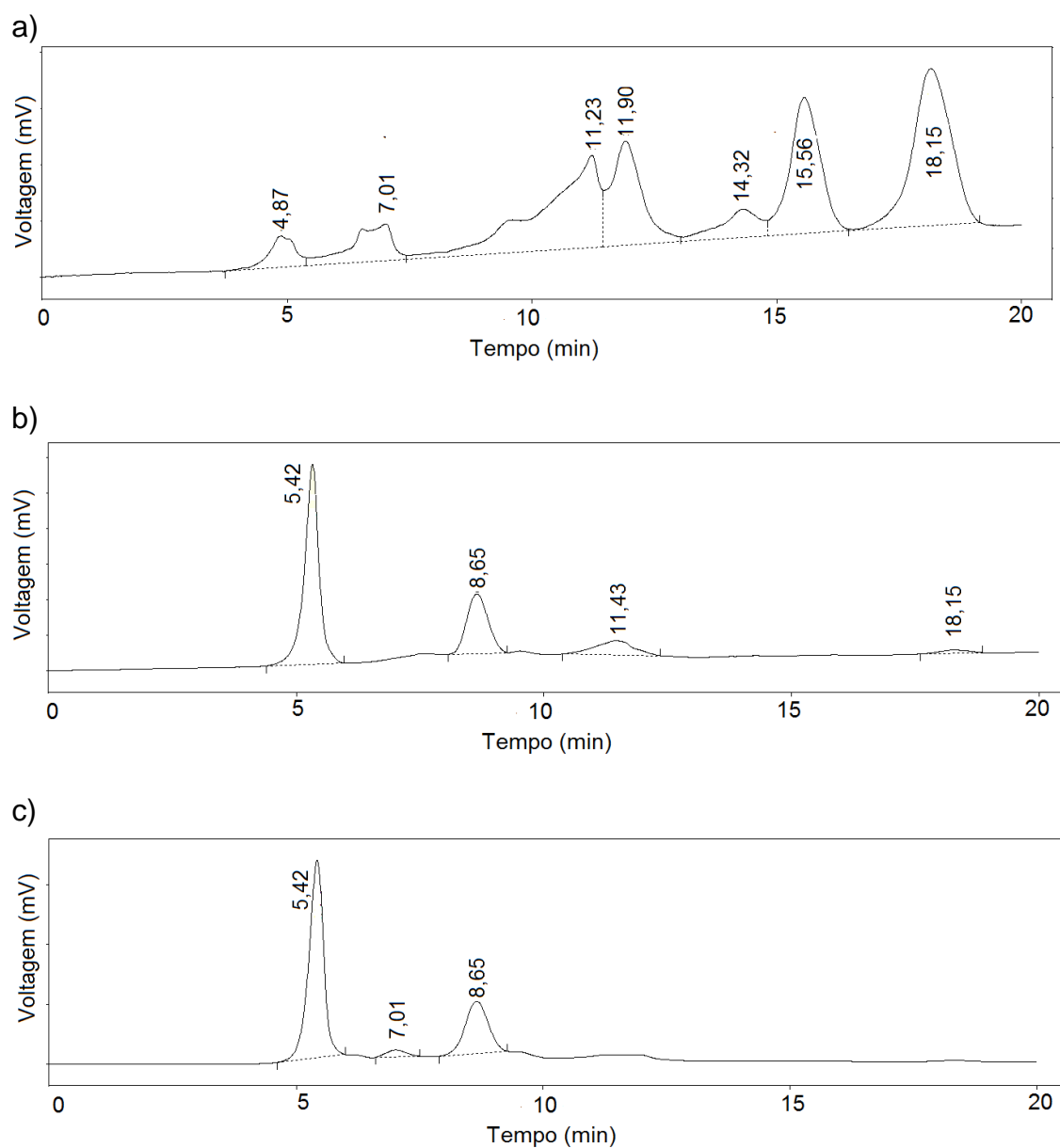


Figura 28. Cromatogramas do monitoramento da hidrólise da levoglucosana extraída do bio-óleo do bagaço de cana tratado com ácido acético: a) solução de levoglucosana; b) 60 minutos de hidrólise da levoglucosana; c) 90 minutos de hidrólise da levoglucosana.

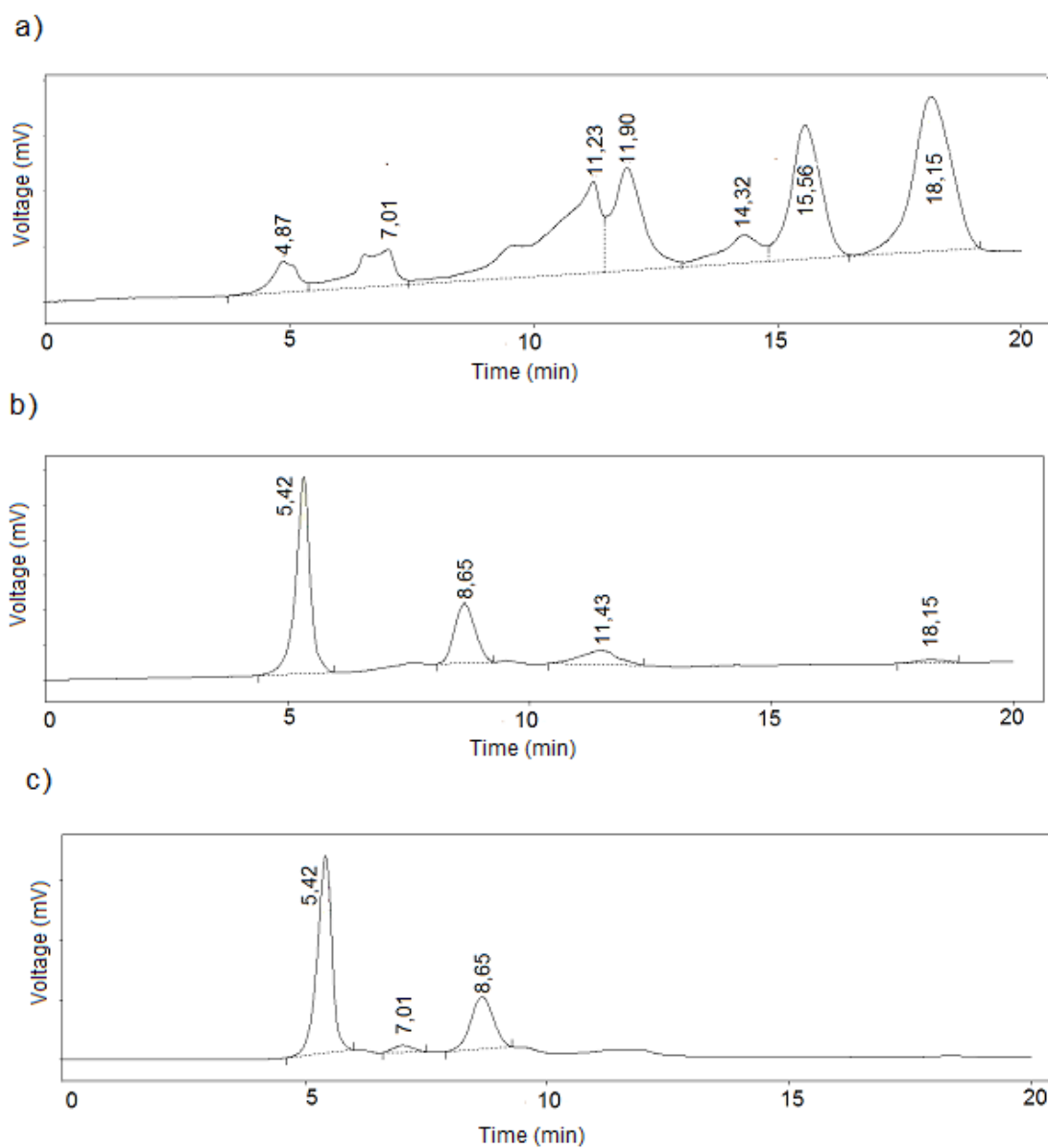


Figure 28. Chromatograms of the monitoring hydrolysis of levoglucosan extracted from the bio-oil of sugarcane bagasse treated with acetic acid: a) levoglucosan solution; b) 60 minutes of levoglucosan hydrolysis; c) 90 minutes of levoglucosan hydrolysis.

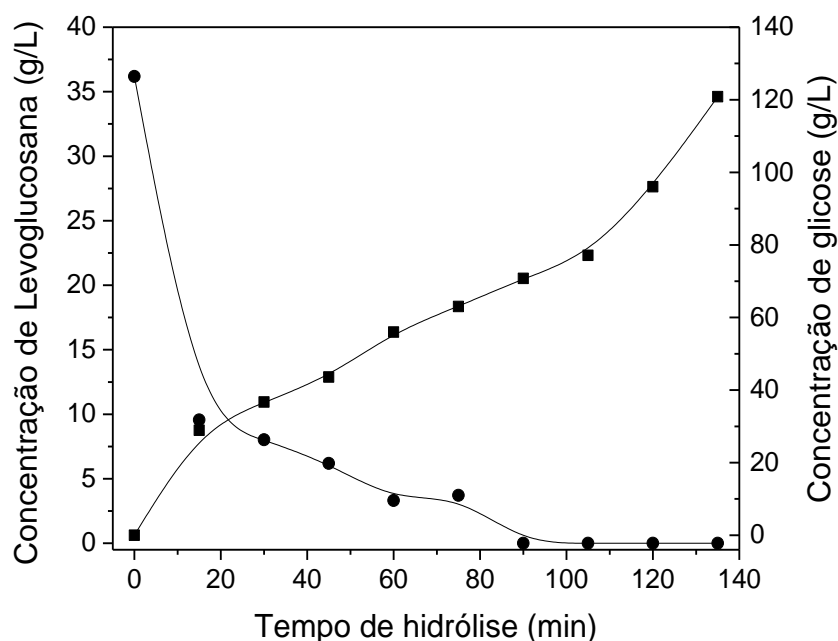


Figura 29. Mudança na concentração de açúcares durante a hidrólise de levoglucosana extraída do bio-óleo do bagaço de cana. Símbolos: ● levoglucosana; ■ glicose.

A Figura 30 apresenta a título ilustrativo fotografias do bio-óleo (Figura 30a), da solução de extração de levoglucosana (Figura 30b) e da solução de levoglucosana hidrolisada a glicose após a detoxificação com carvão ativado (Figura 30c). Pode observar a nítida diferença na coloração das três amostras. O bio-óleo um líquido negro, viscoso com odor característico de fumaça. Após a extração da levoglucosana do bio-óleo, a mistura ficou com uma coloração marrom escura. Contudo, após realizar a hidrólise da levoglucosana e com posterior processo de detoxificação, ficou um líquido de coloração amarelo claro. Este líquido contendo a glicose obtida da levoglucosana hidrolisada foi utilizado no processo de fermentação para produção de etanol em biorreator assistido por campo eletromagnético (Figura 30c).

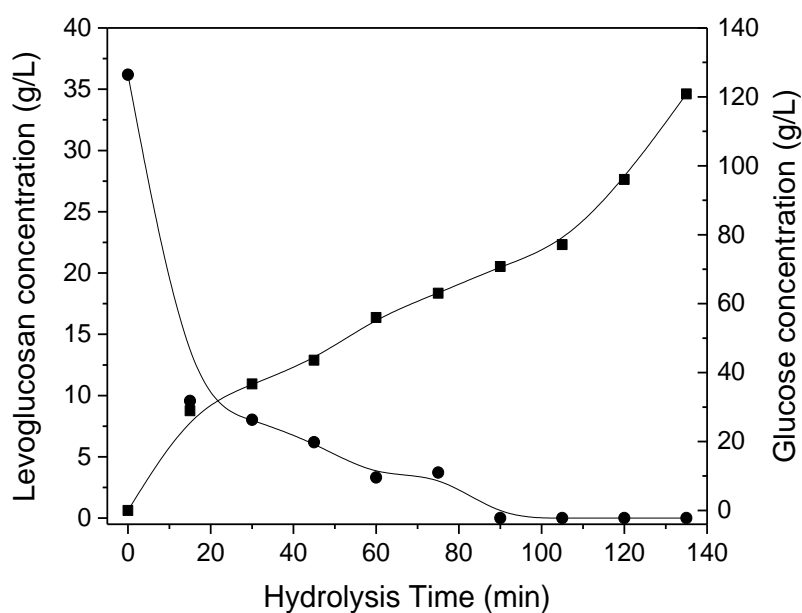


Figure 29. Change in sugar concentration during the hydrolysis of levoglucosan extracted from the bio-oil of sugarcane bagasse. Symbols: ● levoglucosan; ■ glucose.

Figure 30 shows, for illustrative purposes, photos of bio-oil (Figure 30a), levoglucosan extraction solution (Figure 30b) and glucose-hydrolyzed levoglucosan solution after detoxification with activated charcoal (Figure 30c). Can be see the difference in the staining of the three samples. The bio-oil is a black, viscous liquid with a characteristic of smoke odor. After extraction of the levoglucosan from the bio-oil, the mixture turned to a dark brown coloration. However, after carrying out the hydrolysis of levoglucosan and with subsequent detoxification process, a light yellow liquid remained. This liquid containing glucose obtained from hydrolyzed levoglucosana was used in fermentation process for ethanol production bioreactor assisted by an electromagnetic field (Figure 30c).

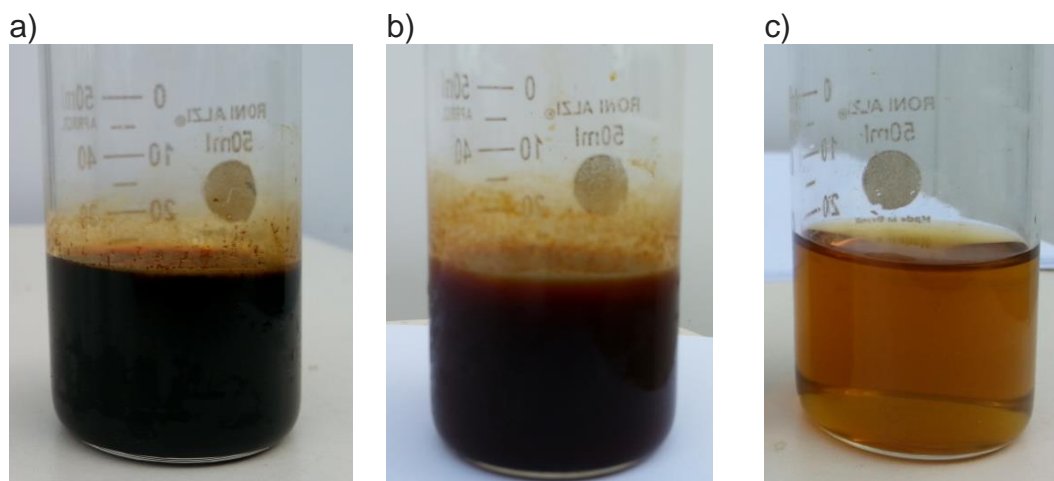


Figura 30. Imagens do bio-óleo formado da pirólise do bagaço de cana tratado com ácido acético no reator Auger. a) bio-óleo; b) solução de levoglucosana extraída do bio-óleo; c) solução de levoglucosana hidrolisada a glicose e detoxificada com carvão ativado.

4.7 Processos fermentativos de produção de etanol com açúcares pirolíticos

A proposta inicial deste trabalho é a produção de bioetanol usando açúcares pirolíticos, isto é, a levoglucosana. Os primeiros testes de fermentação foram utilizando uma levoglucosana pura (Carbosynth) para os experimentos de fermentação com a levedura *S. cerevisiae* modificada geneticamente (Figura 31), onde foi incluído uma enzima, a levoglucosana quinase. Com esta enzima, a levedura é capaz de consumir a levoglucosana e produzir em etanol. Todavia, ao realizar os testes com essa levedura modificada geneticamente, percebeu que não havia produção de etanol, somente o crescimento celular (Figura 31a). Este comportamento pode ser devido à via metabólica na qual a levoglucosana foi utilizada pela levedura.

Então, houve uma necessidade de realizar uma modificação genética da levedura para que ela utilize diretamente a levoglucosana na produção de etanol. Ambas as levedura, com modificação genética (Figura 31a) e sem a modificação genética (Figura 31b) produziram etanol utilizando glicose como fonte de carbono. Como pode observar na Figura 31, a levedura modificada com o gene levoglucosana quinase obteve uma conversão mais rápida de glicose em etanol quando comparado com o experimento controle.

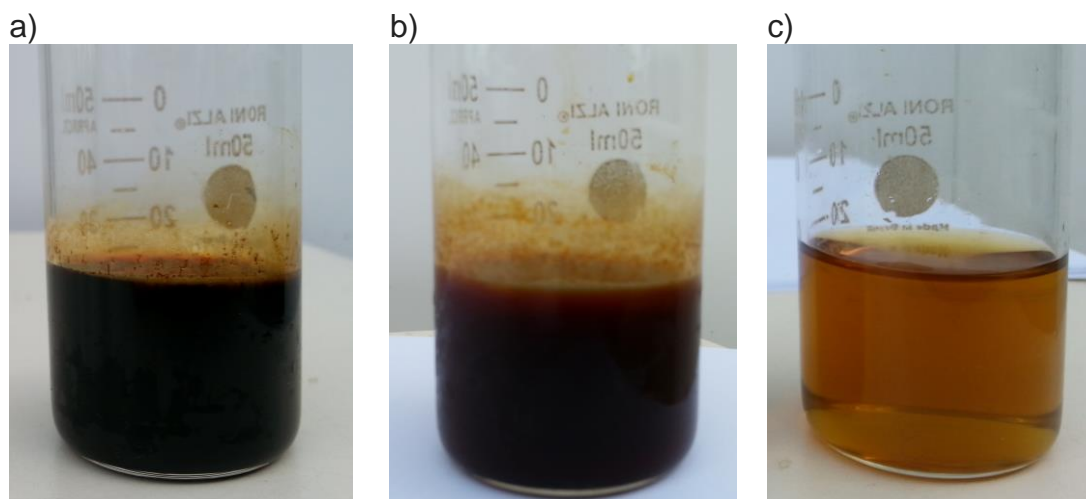


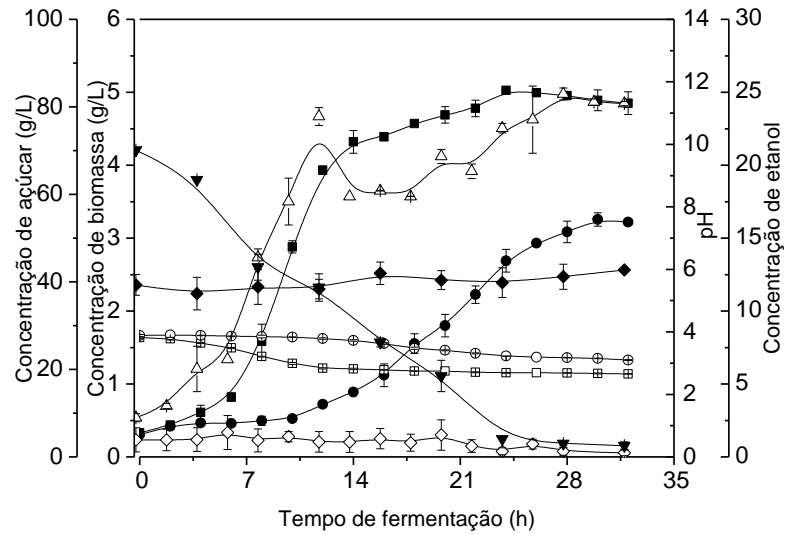
Figure 30. Images of the bio-oil formed from the pyrolysis of sugarcane bagasse treated with acetic acid in the Auger reactor. a) bio-oil; b) levoglucosan solution extracted from the bio-oil; c) levoglucosan solution hydrolyzed to glucose and detoxified with activated charcoal.

4.7 Fermentation processes for the production of ethanol with pyrolytic sugars

The initial purpose of this work is the production of bioethanol using pyrolytic sugars, i.e., levoglucosan. The first fermentation tests were using a pure levoglucosan (Carbosynth) for the fermentation experiments with genetically modified *S. cerevisiae* yeast (Figure 31), where an enzyme, levoglucosan kinase was included. With this enzyme, the yeast is able to consume levoglucosan and produce ethanol. However, when carrying out the tests with this genetically modified yeast, it was noticed that there was no ethanol production, only cell growth (Figure 31a). This behavior may be due to the metabolic pathway in which levoglucosan was used by the yeast.

Then, there was a need to development a genetic modification of the yeast to be able to use directly levoglucosan in the production of ethanol. Both yeast, with genetic modification (Figure 31a) and without the genetic modification, (Figure 31b) produced ethanol using glucose as the carbon source. As can be seen in Figure 31, yeast modified with the levoglucosan kinase gene obtained a faster conversion of glucose to ethanol when compared to the control experiment.

a)



b)

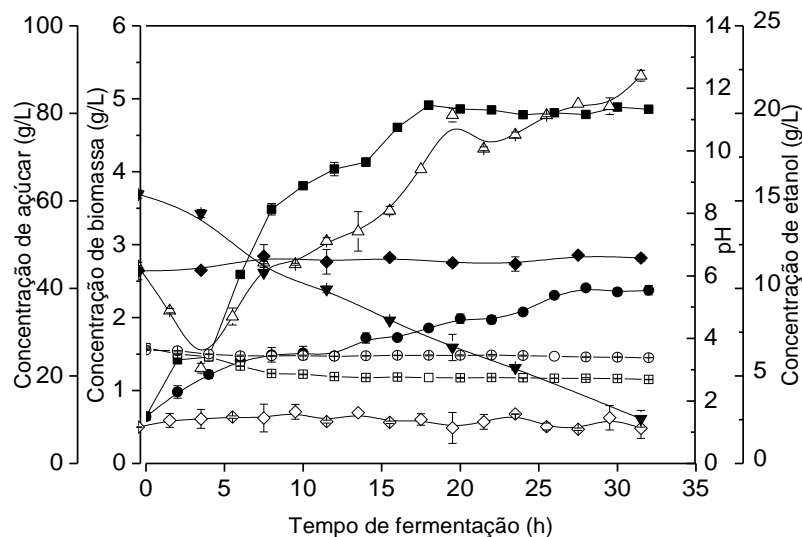
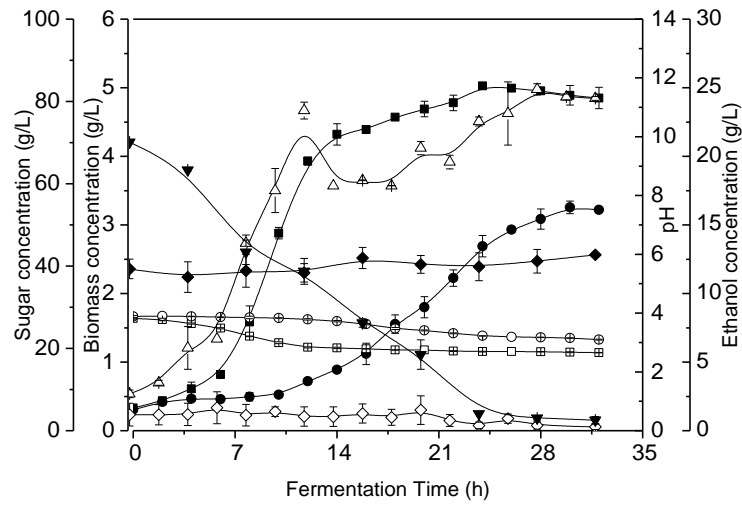


Figura 31. Cinética de fermentação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na produção de etanol usando glicose e levoglucosana como fontes de carbono a 28°C em shaker a 120 rpm: a) Fermentação com levedura modificada geneticamente introduzindo o gene *Igk* e b) Fermentação com levedura sem modificação genética. Símbolos: ■- Concentração de biomassa usando glicose, ●- Concentração de biomassa usando levoglucosana; □ – valor de pH usando glicose, ○- valor de pH usando levoglucosana; Δ - Concentração de etanol formado usando glicose, ◇- Concentração de etanol usando Levoglucosana; ▼- Consumo de glicose; e ◆ Consumo de levoglucosana.

a)



b)

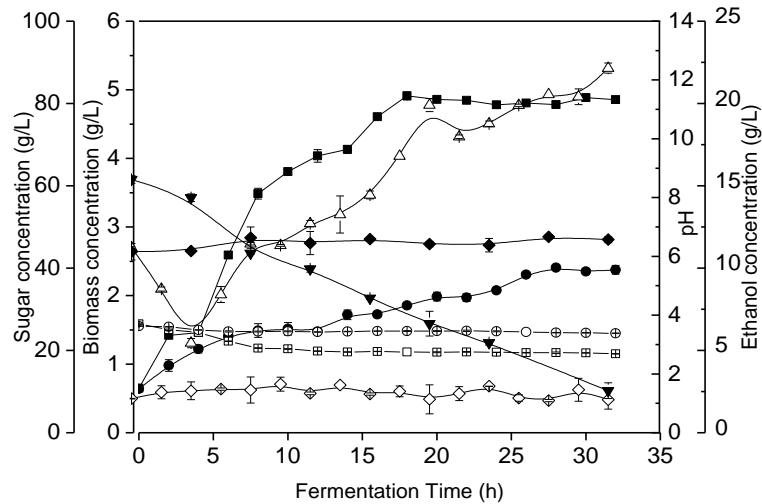
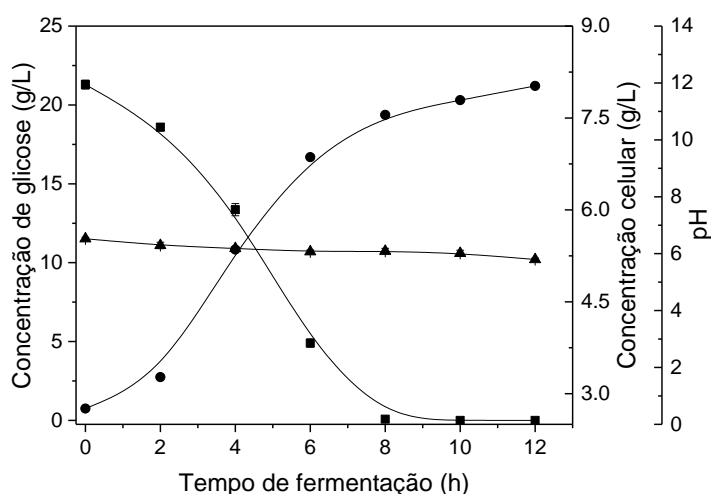


Figure 31. Fermentation kinetics of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in ethanol production using glucose and levoglucosan as carbon sources at 28 °C in a shaker at 120 rpm: a) Fermentation with genetically modified yeast introducing the Igk gene and b) Fermentation with yeast without genetics modification. Symbols: ■ - concentration of biomass using glucose, ● - concentration of biomass using levoglucosan; □ - pH value using glucose, ○ - pH value using levoglucosan; Δ - Concentration of ethanol formed using glucose, ◇ - Concentration of ethanol using levoglucosan; ▼ - glucose consumption; and ◆ levoglucosan consumption.

Primeiramente, realizou uma curva de crescimento celular para verificar se a levedura metabolizava a levoglucosana, seja para o seu crescimento ou produção de etanol. A Figura 32a apresenta a curva de crescimento da levedura em glicose, onde pode observar o seu rápido crescimento e consumo de açúcar. Mas, quando utilizou a levoglucosana como fonte de carbono (Figura 32b), não houve crescimento celular nem consumo de levoglucosana, confirmando que esta levedura não metaboliza este açúcar.

a)



b)

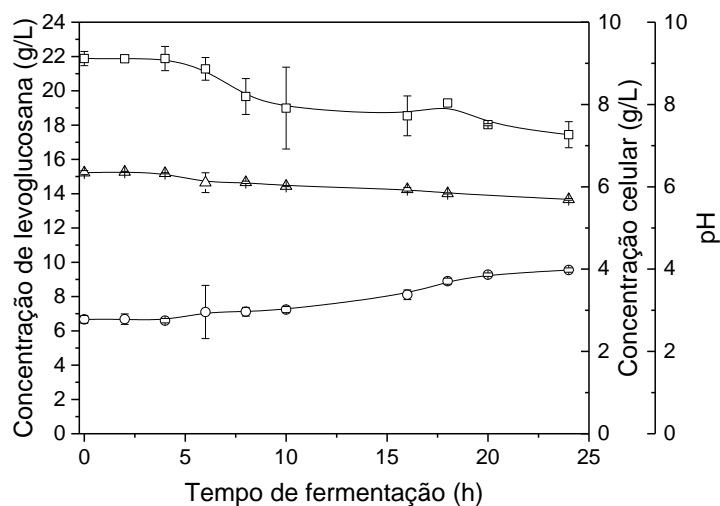
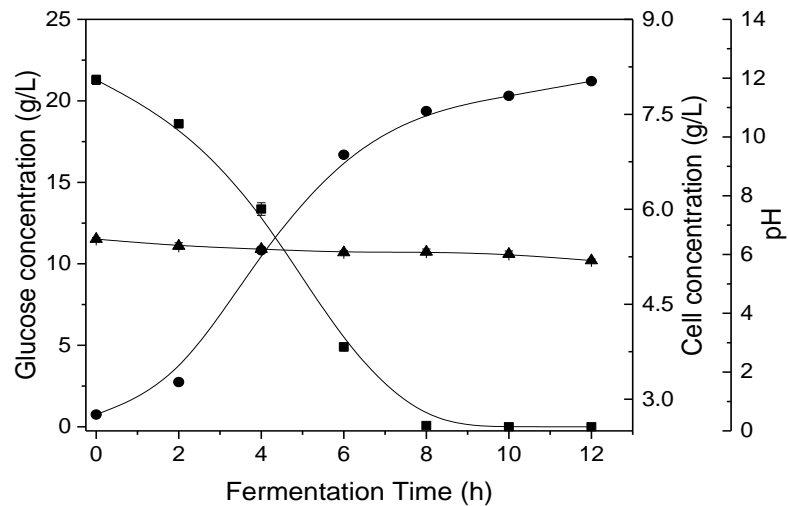


Figura 32. Curva de crescimento celular da *S. cerevisiae* X2180 usando diferente fonte de carbono em shaker a 30 °C e 200 rpm: a) glicose e b) levoglucosana. Símbolos: ■ concentração de glicose (g/L); ● concentração celular (g/L); ▲ pH; □ concentração de levoglucosana (g/L); ○ concentração celular; Δ pH.

First, it performed a cell growth curve to check the yeast metabolized levoglucosan for its growth or ethanol production. Figure 32a shows the growth curve of yeast in glucose, where can be observe its rapid growth and sugar consumption. However, when using levoglucosan as a carbon source (Figure 32b), there was no cell growth or levoglucosan consumption, confirming that this yeast does not metabolize this sugar.

a)



b)

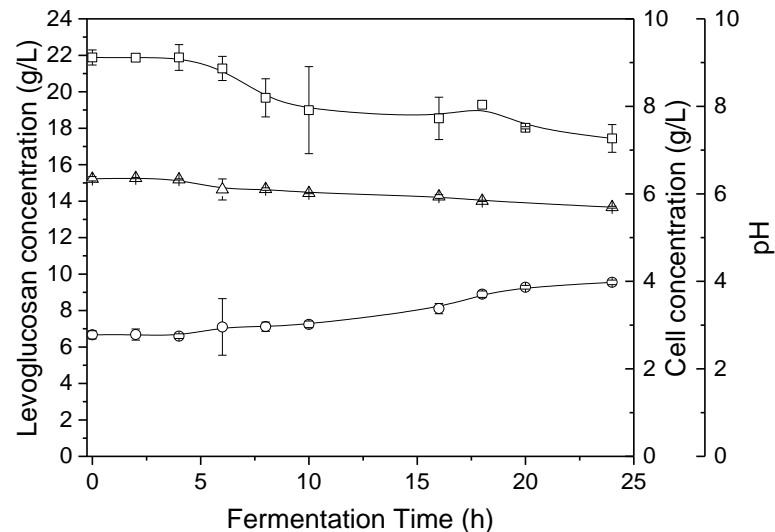


Figure 32. Cell growth curve of *S. cerevisiae* X-2180 using different shaker carbon source at 30 °C and 200 rpm: a) glucose and b) levoglucosan. Symbols: ■ glucose concentration (g/L); ● cell concentration (g/L); ▲ pH; □ concentration of levoglucosan (g/L); ○ cell concentration; Δ pH.

Visando realizar estudos de fermentação para produção de etanol no reator de campo magnético, foi realizada uma série de experimentos de fermentações para produção de etanol em shaker a 30 °C e 120 rpm. Estes experimentos foram para determinar a produção de etanol, o tempo para atingir a produção máxima de etanol, tempo para o consumo total de substrato, utilizando a glicose como fonte de carbono.

Para realizar as fermentações no biorreator assistido por campo eletromagnético, foi necessário o procedimento de imobilização das células em partículas de alginato de cálcio, avaliar a presença de pó de ferro e magnetita nas partículas de alginato com as células imobilizadas com a *S. cerevisiae* X2180. As fermentações foram realizadas em “shaker” a 30 °C, 150 rpm com uma concentração de celular de 20 g/L de células em relação ao volume de meio.

Após realizar os testes de fermentação com levoglucosana com a *S. cerevisiae* X-2180 com glicose e levoglucosana, avaliou o desempenho das três leveduras nas fermentações para produção de etanol em diferentes concentrações de células: 0,7 g/L de células (Figura 33) e 2,1 g/L de células em relação ao volume de meio de cultura.

In order to carry out fermentation studies for the production of ethanol in the magnetic field reactor, a series of fermentation experiments were carried out to produce ethanol in shaker at 30 °C and 120 rpm. These experiments were to determine ethanol production, time to reach maximum ethanol production, time to total substrate consumption, using glucose as the carbon source.

To carry out the fermentations in the electromagnetic field assisted bioreactor, it was necessary to immobilize cells in calcium alginate particles, to evaluate the presence of iron and magnetite particles in the alginate particles with the cells immobilized with *S. cerevisiae* X-2180. The fermentations were carried out in shaker at 30 °C, 150 rpm with a cell concentration of 20 g/L of cells relative to the volume of medium.

After fermentation with levoglucosan yeast *S. cerevisiae* X-2180, the performance of the three yeasts in fermentations for ethanol production in different cell concentrations were evaluated: 0.7 g/L of cells (Figure 33) and 2.1 g/L cells relative to the volume of culture medium.

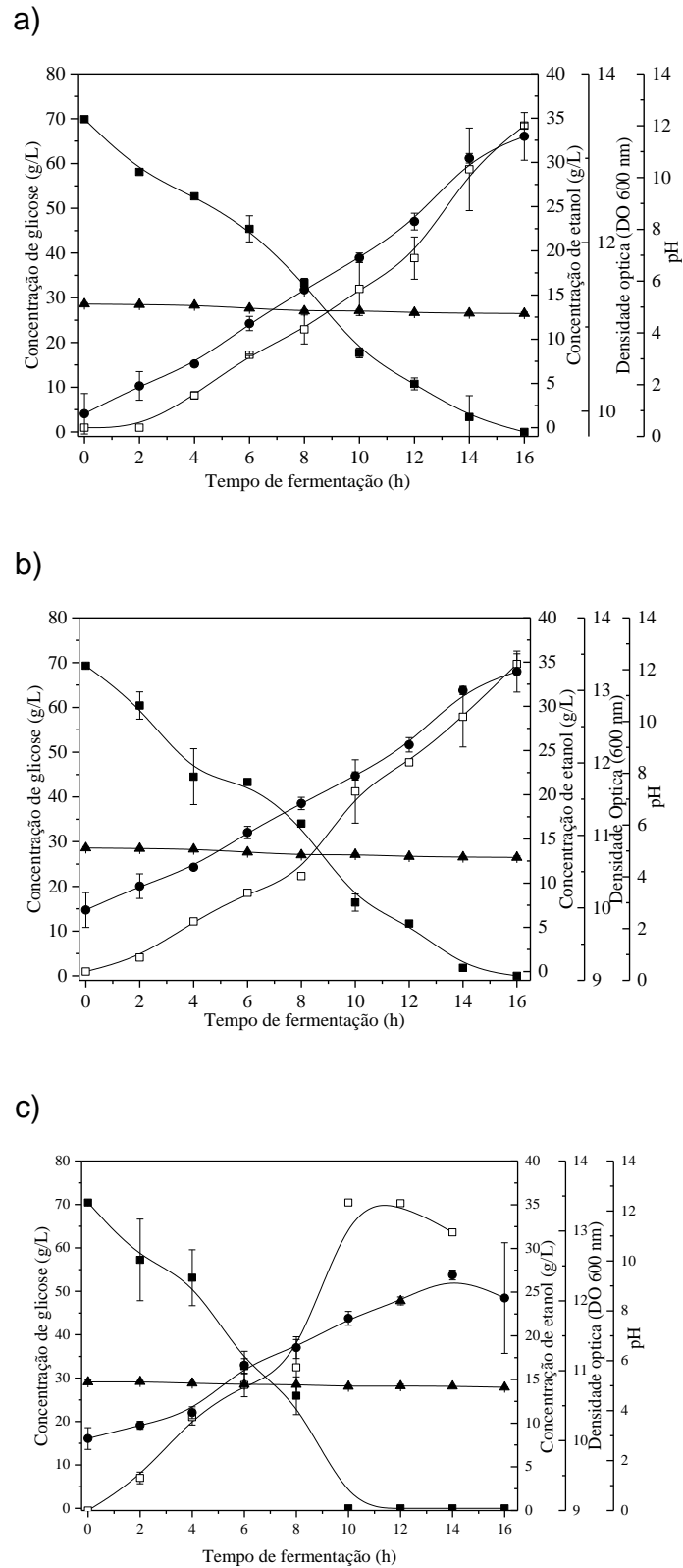


Figura 33. Fermentação com células livres (0,7 g/L) com três diferentes cepas: a) *S. cerevisiae*; b) *S. cerevisiae* Igk. c) *S. cerevisiae* X-2180. Símbolos: ■- concentração de glicose; □- concentração de etanol (g/L); ● densidade óptica (DO 600 nm); ▲- pH.

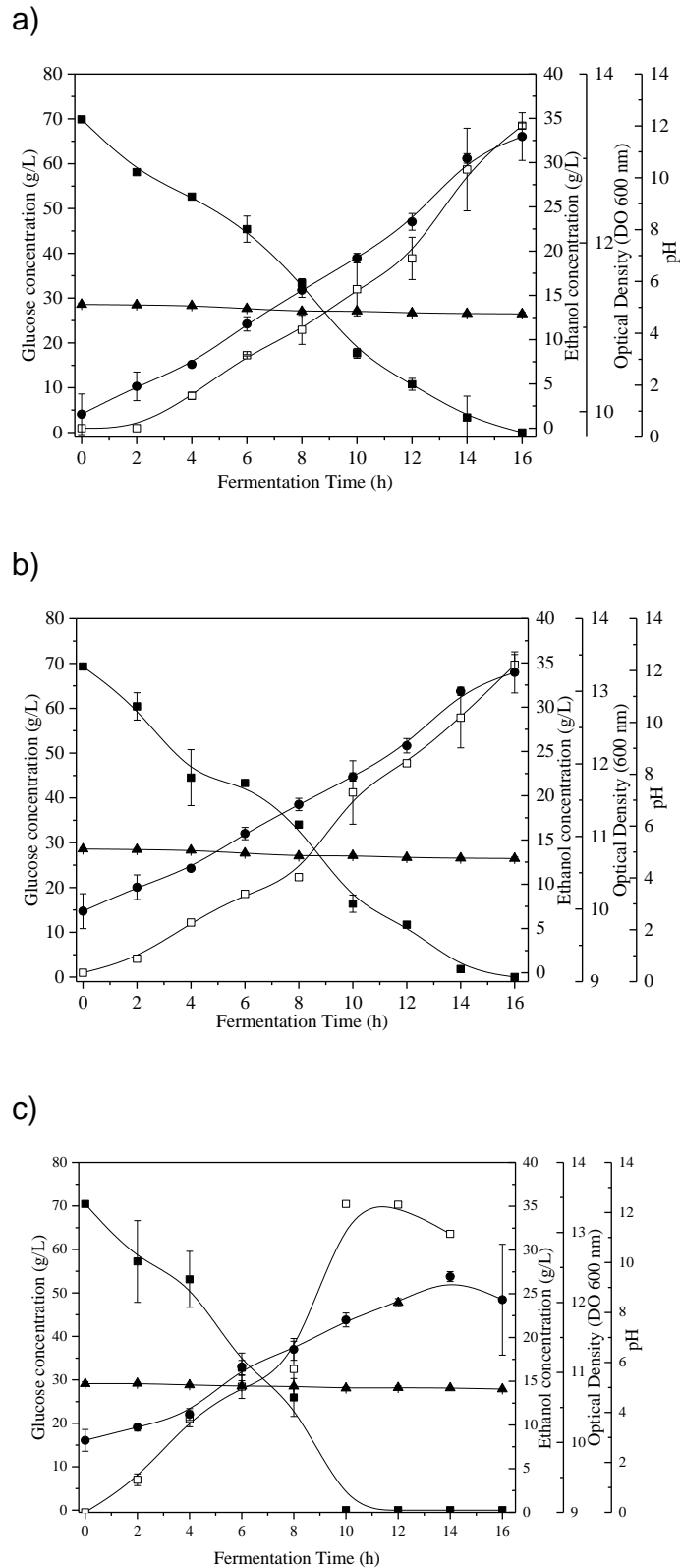


Figure 33. Fermentation with free cells (0.7 g/L) with three different strains: a) *S. cerevisiae*; b) *S. cerevisiae* IgG, c) *S. cerevisiae* X-2180. Symbols: ■ - glucose concentration; □ - concentration of ethanol (g/L); ● optical density (OD 600 nm); ▲ - pH.

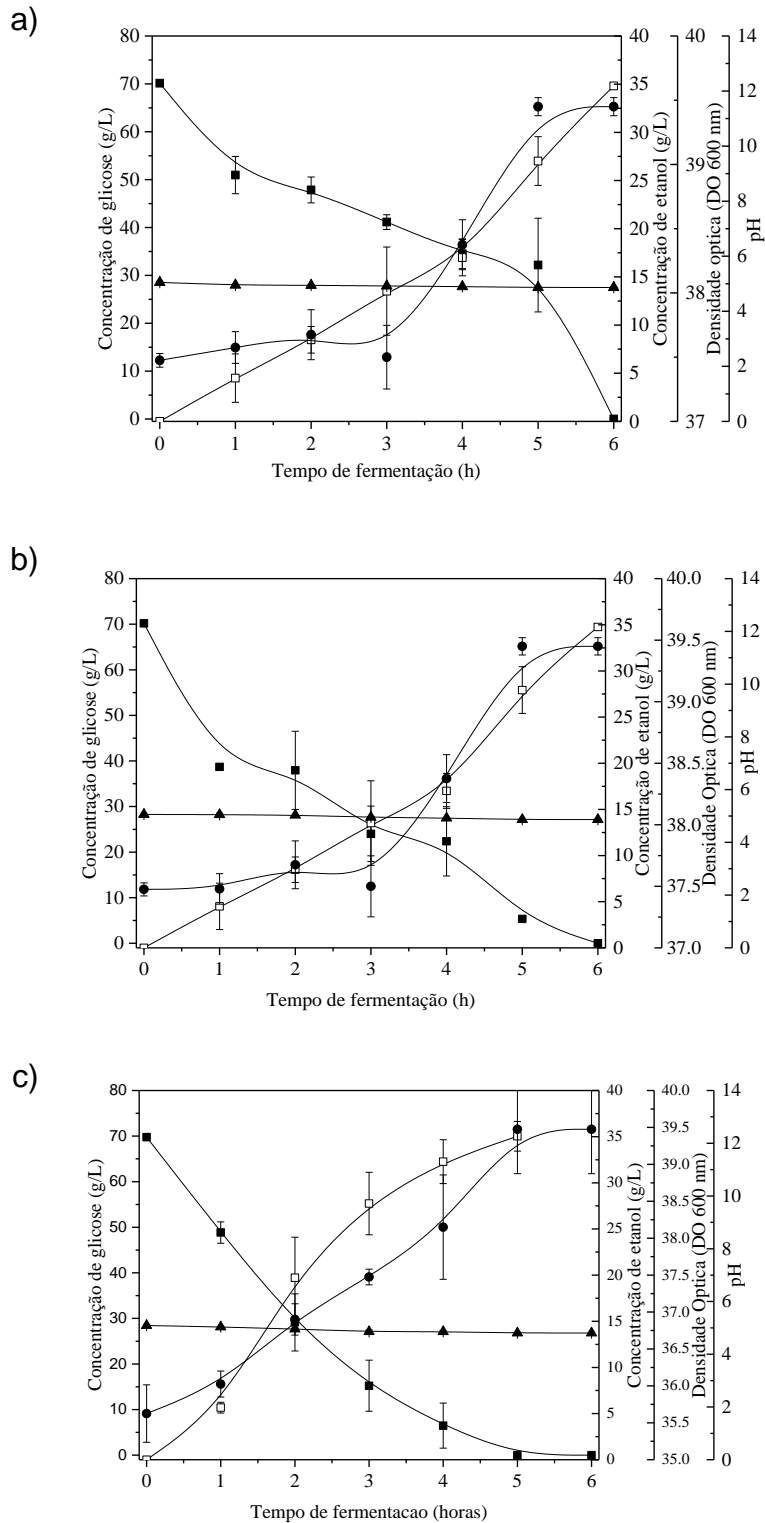


Figura 34. Fermentação para produção de etanol com as células livres (2,1 g/L) com três diferentes cepas: a) *S. cerevisiae*; b) *S. cerevisiae* Iqk. c) *S. cerevisiae* X-2180. Símbolos: ■- concentração de glicose; □- concentração de etanol (g/L); ● densidade óptica (DO 600 nm); ▲ - pH.

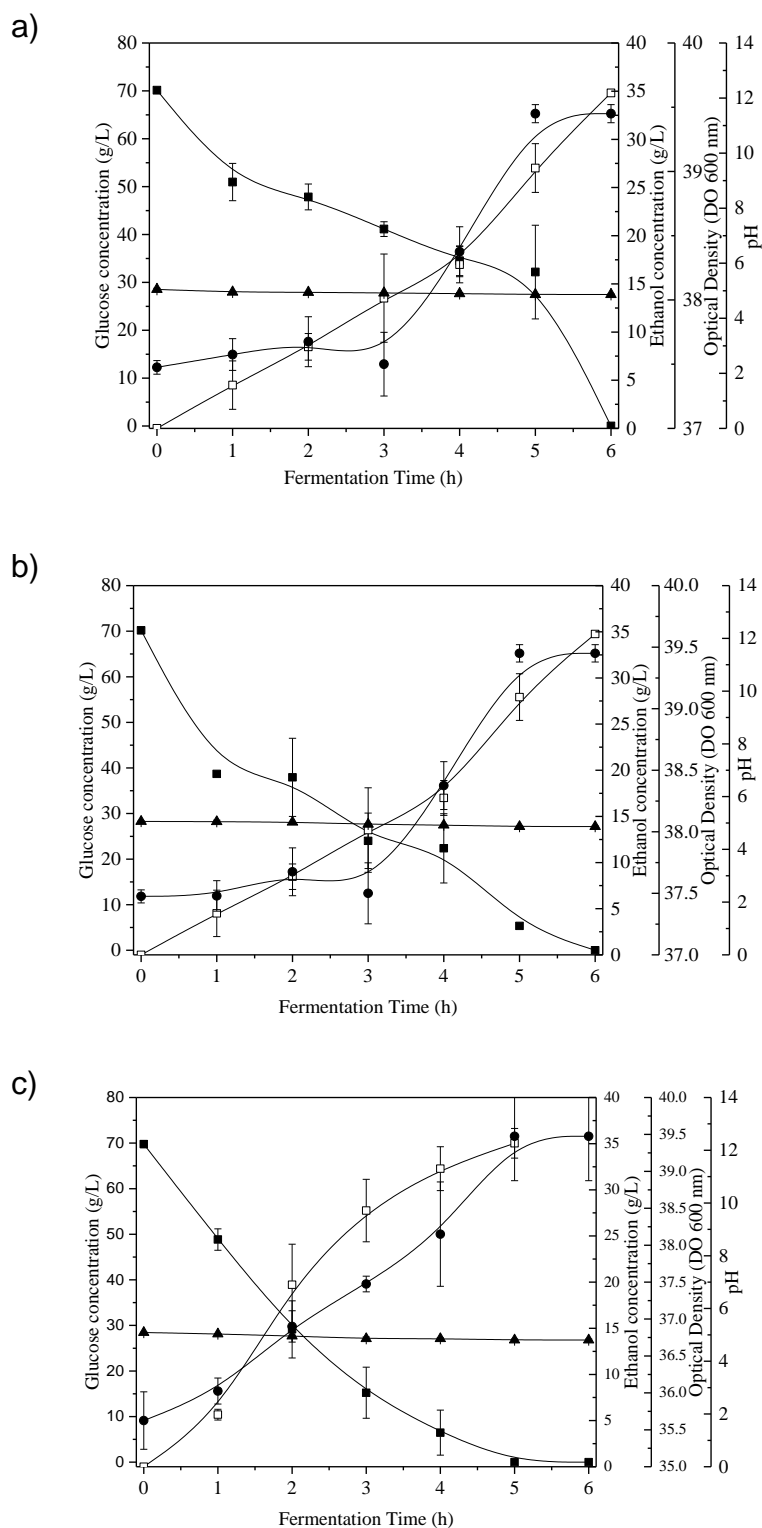


Figure 34. Fermentation for ethanol production with free cells (2.1 g/L) with three different strains: a) *S. cerevisiae*; b) *S. cerevisiae* Iqk. c) *S. cerevisiae* X-2180. Symbols: ■ - glucose concentration; □ - concentration of ethanol (g/L); ● optical density (OD 600 nm); ▲ - pH.

A Tabela 13 apresenta o rendimento teórico para cada fermentação para produção de etanol com diferentes concentrações de células. Como pode observar, a *S. cerevisiae* apresentou melhor rendimento na produção de etanol em relação às outras duas leveduras em estudo e em menor tempo de fermentação (Figura 34). Diante destes dados, a *S. cerevisiae* X-2180, foi escolhida para os próximos estudos de fermentação para produção de etanol com células imobilizadas e em fermentação no reator de campo eletromagnético.

Tabela 13. Rendimento na fermentação com diferentes concentrações de células em relação ao volume de meio de fermentação.

Levedura	Rendimento teórico de etanol (%)	
	0,7 (g/L)	2,1 (g/L)
<i>S. cerevisiae</i>	95,63	97,18
<i>S. cerevisiae</i> lgk	96,93	97,49
<i>S. cerevisiae</i> X-2180	97,91	98,26

Os próximos passos neste trabalho foram realizar o processo de imobilização de células para a fermentação para produção de etanol usando a *S. cerevisiae* X-2180.

As Figuras 35, 36 e 37 apresentam imagens de microscopia eletrônica de varredura de partículas de alginato de cálcio (Figura 35), de alginato de cálcio com células da levedura *S. cerevisiae* (Figura 36) e alginato de cálcio com células de levedura e magnetita (Figura 37). Como pode observar, nas partículas de alginato sem magnetita é possível observar a superfície lisa, tanto no interior quanto no exterior das partículas. Já nas partículas de alginato de cálcio com células da *S. cerevisiae*, pode observar as células aglomeradas nas partículas.

Na superfície interna das partículas estão com uma maior concentração de células em relação à superfície externa. A Figura 37 encontra as imagens das partículas de alginato de cálcio com células da *S. cerevisiae* e com magnetita (10%), tanto na parte interna quanto externa das partículas. Pode observar nestas imagens os grânulos de magnetita bem distribuídos nas partículas de alginato de cálcio, bem como as células da levedura.

Table 13 shows the yield for each fermentation for ethanol production with different cell concentrations. As can be observed, *S. cerevisiae* presented a better yield in the ethanol production compared to the other two yeasts under study and in a lower fermentation time (Figure 34). Based on these data, *S. cerevisiae* X-2180 was chosen for the next fermentation studies to produce ethanol with immobilized cells and in fermentation in the electromagnetic field reactor.

Table 13. Yield in the fermentation with different cell concentrations in relation to the volume of fermentation medium.

Yeast	Yield of ethanol (%)	
	0.7 (g/L)	2.1 (g/L)
<i>S. cerevisiae</i>	95.63	97.18
<i>S. cerevisiae</i> Igk	96.93	97.49
<i>S. cerevisiae</i> X-2180	97.91	98.26

The next steps in this work were to carry out the cell immobilization process for fermentation for ethanol production using *S. cerevisiae* X-2180. Figures 35, 36 and 37 present scanning electron microscopy images of calcium alginate particles (Figure 35), calcium alginate with yeast cells *S. cerevisiae* (Figure 36) and calcium alginate with yeast and magnetite cells (Figure 37). In alginate particles without magnetite, it is possible to observe the smooth surface, both inside and outside the particles. Already in the calcium alginate particles with cells of the *S. cerevisiae*, we can observe the cells agglomerated in the particles. In the inner surface of the particles, they have a higher concentration of cells in relation to the external surface. Figure 37 shows images of calcium alginate particles with *S. cerevisiae* cells and with magnetite (10%) both inside and outside the particles. These images shows the magnetite granules well distributed in the calcium alginate particles as well as the yeast cells.

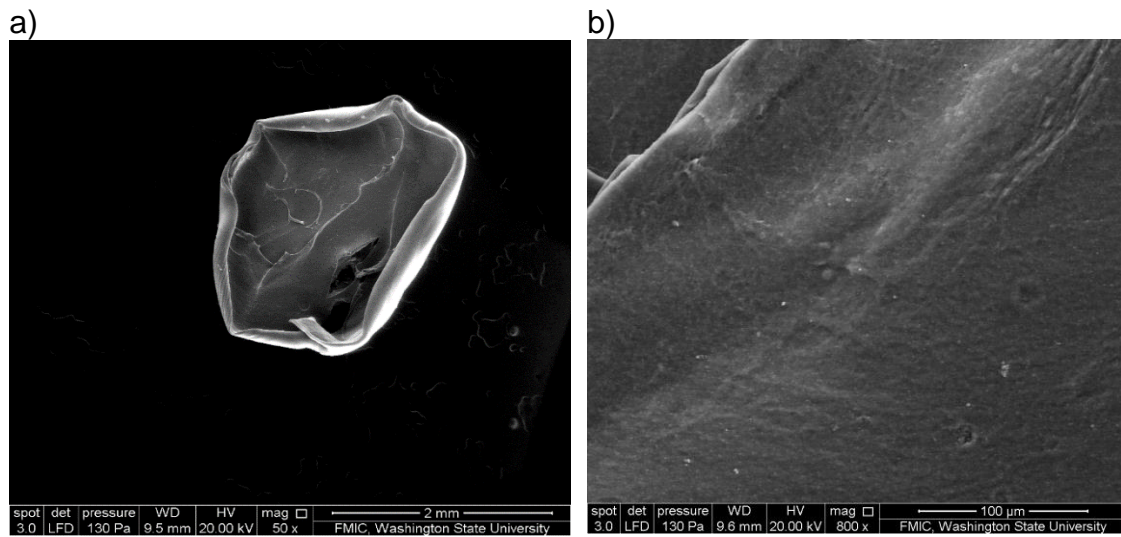


Figura 35. Imagens microscópicas da superfície interna da partícula de alginato de cálcio sem células e sem magnetita. a) imagem com zoom óptico de 50x; b) imagem com zoom óptico de 800x.

A técnica de microscopia eletrônica tem sido usada para avaliar o comportamento das células nas partículas de alginato durante a fermentação da produção de etanol (Najafpour et al., 2004). Najafpour et al. (2004) observaram que a levedura cresce na superfície externa das partículas e que durante a fermentação não houve vazamento de células para o meio líquido. Portanto, esta técnica de imobilização celular tem grande potencial para produção de etanol não apresentando problemas de difusão do meio com as células. Ao analisar as imagens no interior das partículas, após 72 horas de fermentação, os autores notaram que as células aparentemente migraram para o lado interior das partículas (Najafpour et al., 2004).

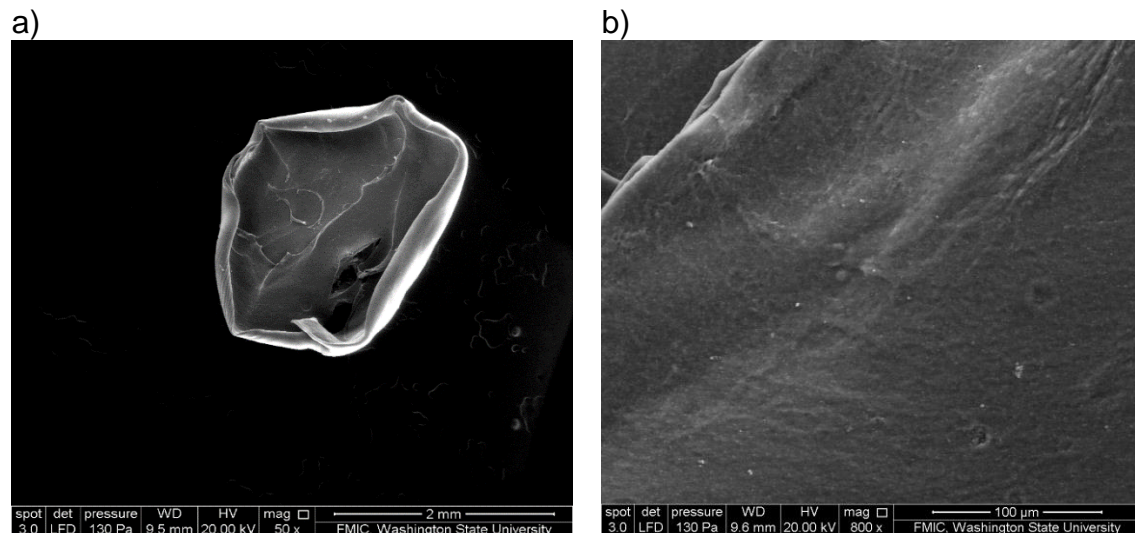


Figure 35. Microscopic images of the inner surface of the calcium alginate particle without cells and without magnetite. a) 50 x optical zoom image; b) 800 x optical zoom image

The technique of electron microscopy has been used to evaluate the behavior of cells in the alginate particles during the fermentation of ethanol production (Najafpour et al., 2004). Najafpour et al. (2004) observed that the yeast grows on the outer surface of the particles and that during fermentation there was no leakage of cells into the liquid medium. Therefore, this cellular immobilization technique has great potential for ethanol production without presenting problems of diffusion of the medium with the cells. When analyzing the images inside the particles, after 72 hours of fermentation, the authors noticed that the cells apparently migrated to the inner side of the particles (Najafpour et al., 2004).

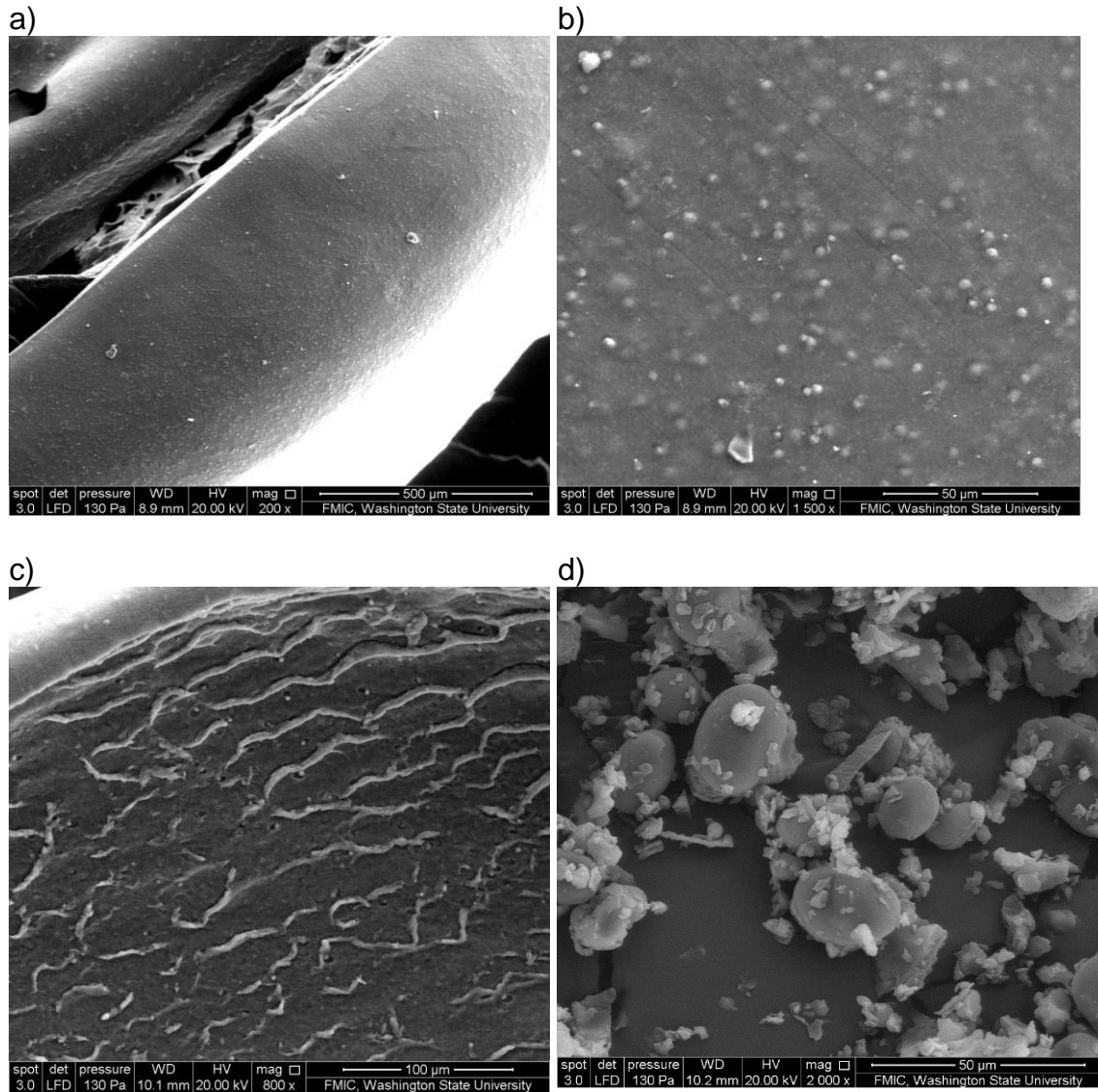


Figura 36. Imagens microscópicas da partícula de alginato de cálcio com células da *S. cerevisiae*. a) Imagem da superfície externa da partícula com zoom óptico de 200 x; b) Imagem da superfície externa da partícula com zoom óptico de 1500 x; c) Imagem da superfície interna da partícula com zoom óptico de 800x; d) Imagem da superfície interna da partícula com zoom óptico de 2000x.

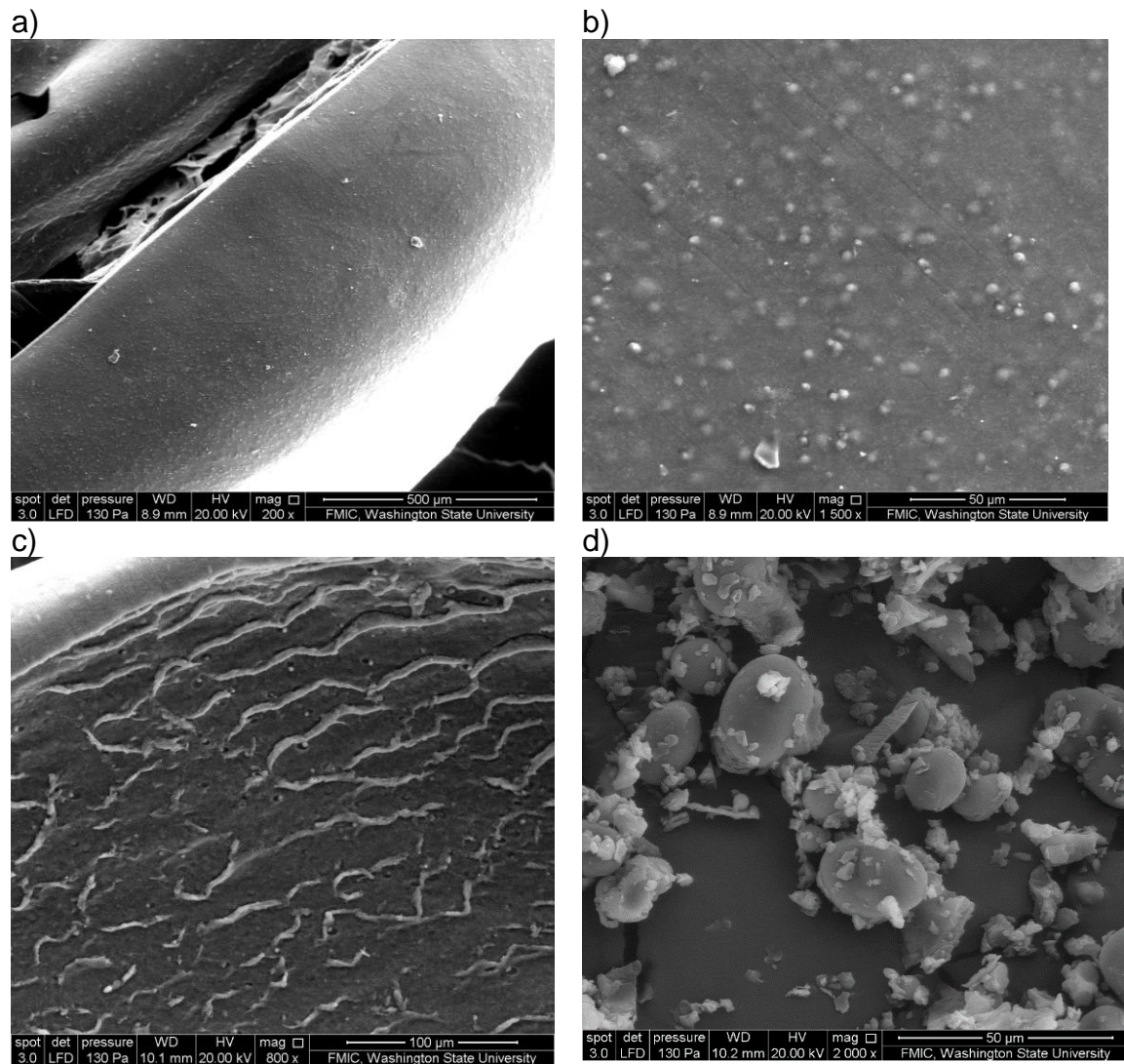


Figure 36. Microscopic images of the calcium alginate particle with *S. cerevisiae* cells. a) Image of the external surface of the particle with 200 × optical zoom; b) Image of the external surface of the particle with 1500 × optical zoom; c) Internal image of the particle with 800 × optical zoom; d) Internal image of the particle with optical zoom of 2000 ×.

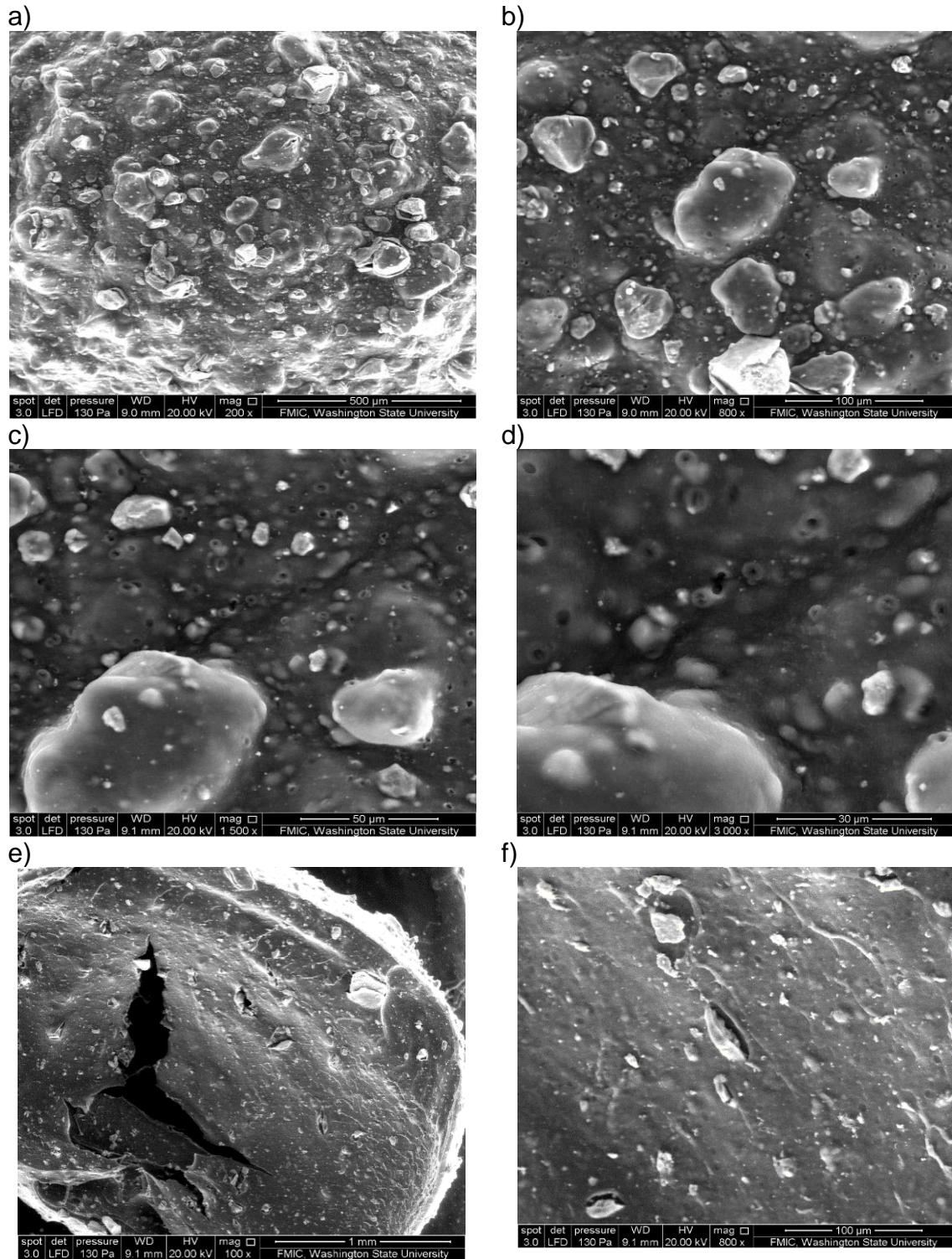


Figura 37. Imagens microscópicas da partícula de alginato de cálcio com células da *S. cerevisiae* e com magnetita (10%). a) Imagem externa da partícula com zoom óptico de 200x; b) Imagem externa da partícula com zoom óptico de 800x; c) Imagem externa da partícula com zoom óptico de 1500x; d) Imagem externa da partícula com zoom óptico de 3000x; e) Imagem interna da partícula com zoom óptico de 100x; f) Imagem interna da partícula com zoom óptico de 800x.

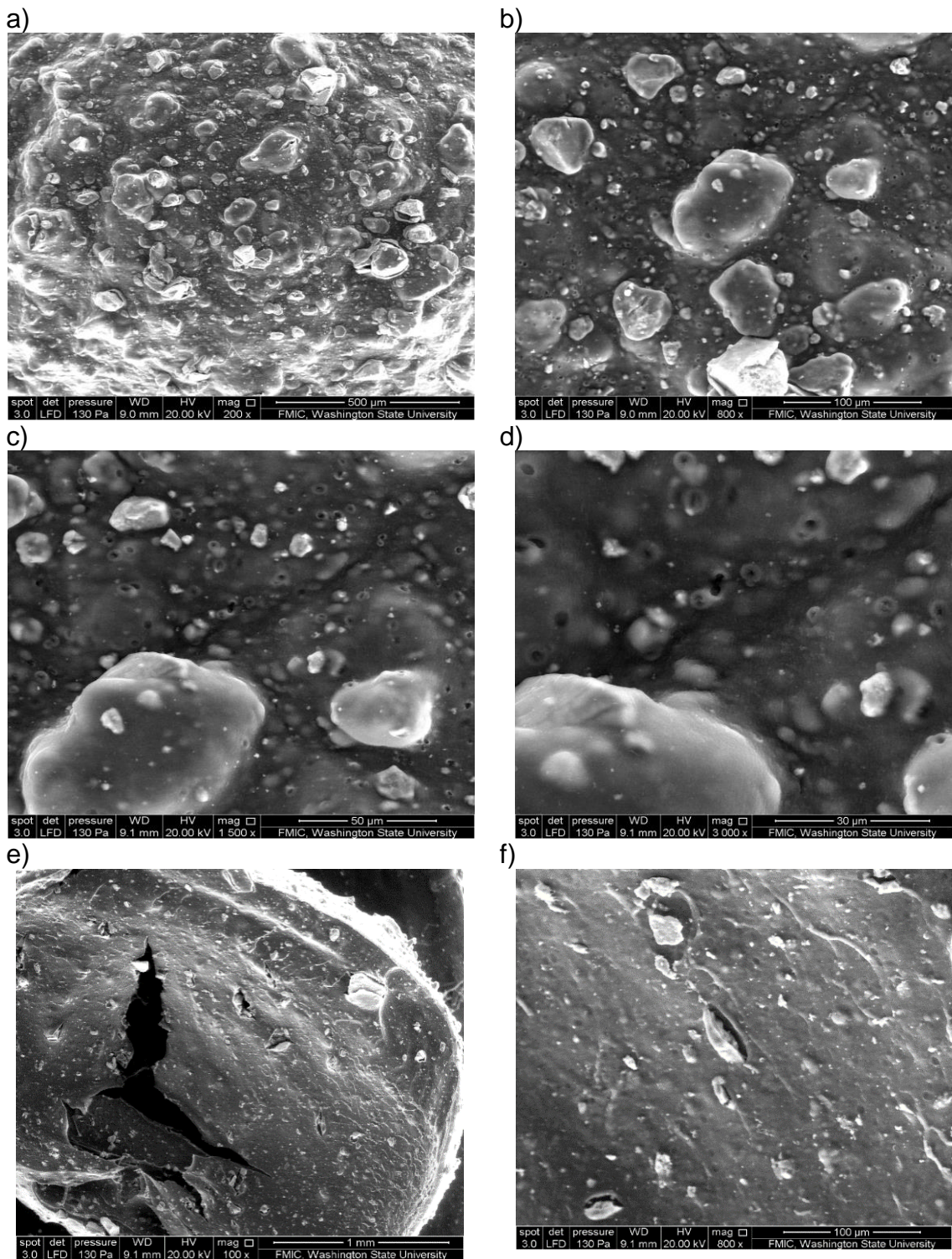


Figure 37. Microscopic images of the calcium alginate particle with *S. cerevisiae* cells and with magnetite (10%). A) External image of the particle with 200 × optical zoom; B) External image of the particle with 800 × optical zoom; C) External image of the particle with 1500 × optical zoom; D) External image of the

particle with optical zoom of 3000 x; E) Internal image of the particle with 100 x optical zoom; F) Internal image of the particle with 800 x optical zoom.

A Figura 38 apresenta a título ilustrativo, os frascos Erlenmeyers dos experimentos de fermentação para produção de etanol com as células livres (Figura 38a), com células imobilizadas em alginato de cálcio (Figura 38b) e a fermentação com as células imobilizadas em alginato de cálcio com magnetita (Figura 38c). Pode observar nas imagens a nítida formação de CO₂ na superfície do meio durante a fermentação.

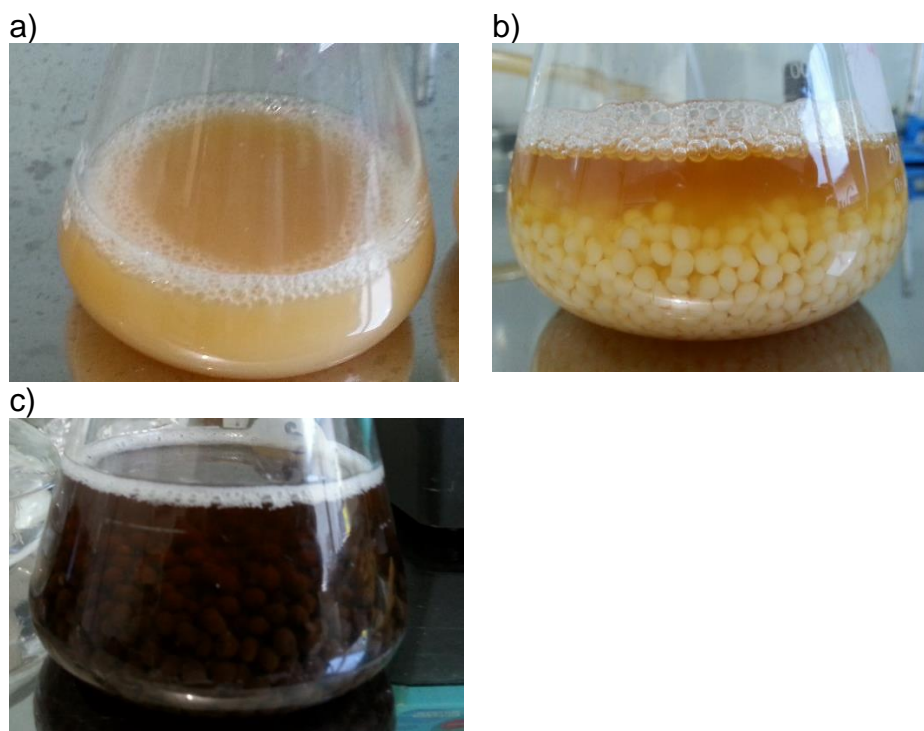


Figura 38. Fotografia da fermentação para produção de etanol em frascos Erlenmeyers da levedura *S. cerevisiae* X-2180 usando glicose como fonte de carbono: a) células livres; b) células imobilizadas em alginato; c) células imobilizadas em alginato com magnetita.

Figure 38 shows by way of illustration the Erlenmeyer flasks from fermentation to ethanol production experiments with the free cells (Figure 38a), with cells immobilized on calcium alginate (Figure 38b) and fermentation with the cells immobilized in calcium alginate with magnetite (Figure 38c). We can observe in the images the clear formation of CO₂ on the surface of the medium during the fermentation.

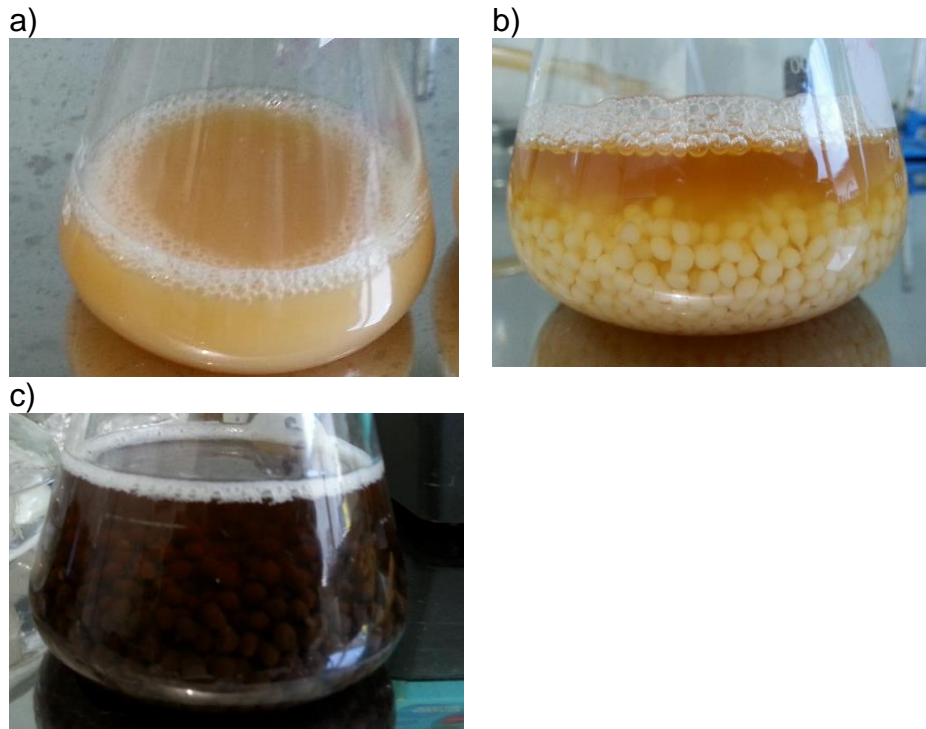


Figure 38. Photograph of fermentation for ethanol production in Erlenmeyer flasks of yeast *S. cerevisiae* X-2180 using glucose as carbon source: a) free cells; b) cells immobilized on alginate; c) cells immobilized on alginate with magnetite.

A Figura 39 apresenta os resultados da fermentação para a produção de etanol com as células livres e com as células imobilizadas com a levedura *S. cerevisiae* X-2180 usando as células livres e células imobilizadas. Foi utilizada para ambos os casos, uma concentração de 20 g/L de células em relação ao volume de meio de cultura. Nos experimentos com as células imobilizadas, utilizou uma concentração de células nas partículas de 40 g/L nos suportes de alginato (5% m/v). O consumo de substrato e o produto formado durante as fermentações para produção de etanol foram determinados por cromatografia líquida (HPLC) e a concentração foi determinada por meio de curvas de calibração previamente preparadas. As curvas de calibração estão apresentadas no Apêndice C para os compostos analisados, glicose (Figura C1a) e etanol (Figura C1b).

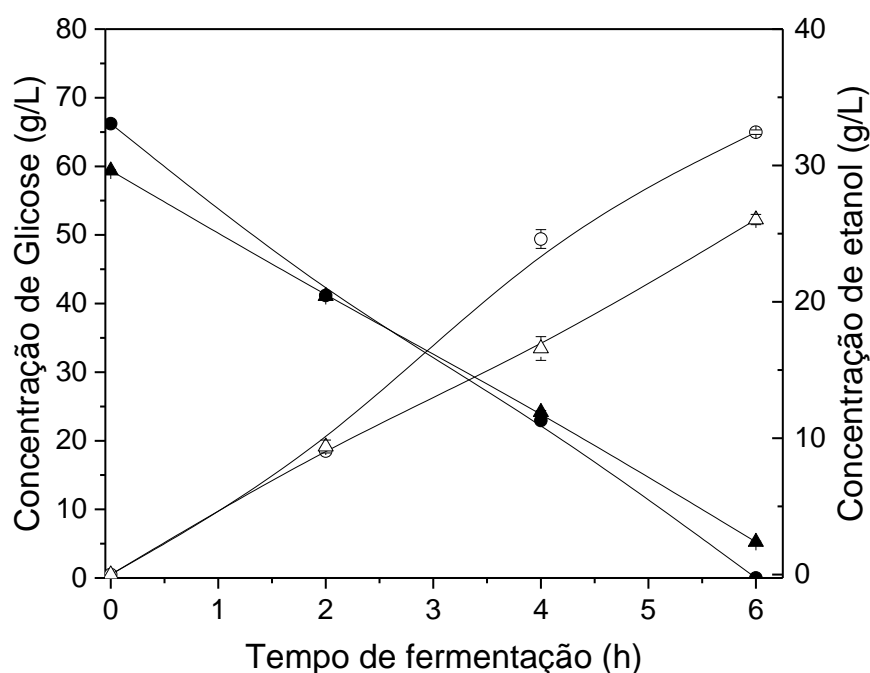


Figura 39. Fermentação com a levedura *S. cerevisiae* X2180 usando células livres e células imobilizadas (40 g/L de célula nas partículas) em suportes de alginato (5% m/v) em shaker a 30 °C, 120 rpm. Símbolos: Células livres: ●- concentração de glicose (g/L); ○- concentração de etanol (g/L). Células imobilizadas: ▲- concentração de glicose (g/L); △- concentração de etanol (g/L).

Figure 39 shows the fermentation results for the ethanol production with the free cells and the cells immobilized with the yeast *S. cerevisiae* X-2180 using the free cells and immobilized cells. In both cases, a concentration of 20 g/L of cells was used in relation to the volume of culture medium. In the experiments with the immobilized cells, a cell concentration on the 40 g/L particles was used in the alginate supports (5% m/v). Substrate consumption and the product formed during fermentations for ethanol production were determined by liquid chromatography (HPLC) and the concentration was determined by means of calibration curves previously prepared. The calibration curves are presented in Appendix C for the analyzed compounds, glucose (Figure C1a) and ethanol (Figure C1b).

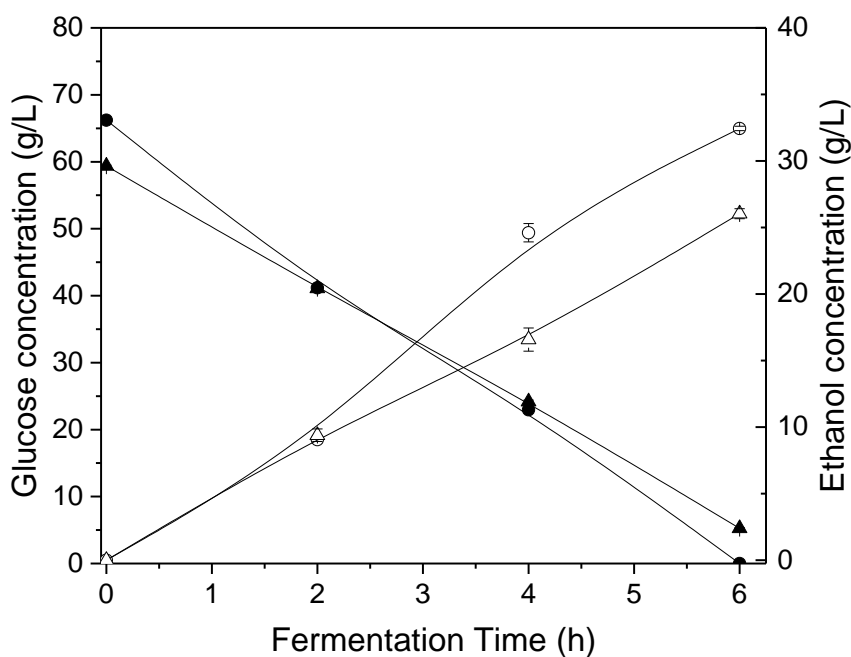


Figure 39. Fermentation with *S. cerevisiae* X2180 yeast using free cells and immobilized cells (40 g/L cell in the particles) in alginate supports in the shaker at 30 °C, 120 rpm. Symbols: Free cells: ● - glucose concentration (g/L); ○ - concentration of ethanol (g/L). Immobilized cells: ▲ - glucose concentration (g/L); Δ-ethanol concentration (g/L).

Em termos de rendimento de etanol foi alcançado 95% de rendimento para as células livres e 93,6% para as células imobilizadas. Estes dados são animadores, uma vez que não houve muita alteração no rendimento de etanol para as células imobilizadas comparadas com as células livres, mostrando que não há muita diferença quando se utiliza as células imobilizadas no processo de fermentação para a obtenção de etanol. Deve ser levado em consideração neste caso, que para as células imobilizadas este foi o primeiro ciclo de fermentação, sendo que, o primeiro ciclo apresenta um rendimento mais baixo do que os demais ciclos.

A Figura 40 mostra o resultado das fermentações com as células imobilizadas em diferentes ciclos de utilização das mesmas partículas. Pode observar uma nítida diferença nos rendimentos de etanol para as células imobilizadas nos diferentes ciclos de fermentação. No primeiro ciclo alcançou um rendimento de apenas 62%, enquanto que no segundo ciclo apresentou um rendimento de 95,49% de conversão da glicose em etanol.

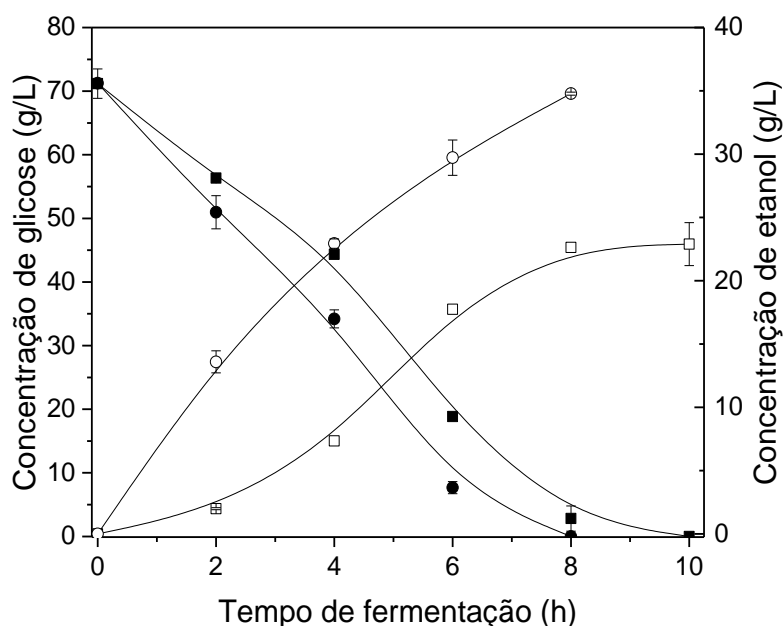


Figura 40. Fermentação para produção de etanol com as células da *S. cerevisiae* X-2180 imobilizadas em alginato de cálcio. Símbolos, primeiro ciclo de fermentação: ■- concentração de glicose (g/L); □- concentração de etanol (g/L), segundo ciclo de fermentação: ●- concentração de glicose (g/L); ○ concentração de etanol (g/L).

In terms of yield of ethanol produced, 95% yield was achieved for the free cells and 93.6% for the immobilized cells. These data are encouraging, since there was not much change in the ethanol yield for the immobilized cells compared to the free cells, showing that there is not much difference when using the cells immobilized in the fermentation process to obtain ethanol. It should be consider in this case that for the immobilized cells this was the first fermentation cycle and always the first cycle shows a lower yield than the other subsequent cycles.

Figure 40 shows the result of the fermentations with the immobilized cells in different cycles of use of the same particles. We can observed a clear difference in the ethanol yields for the immobilized cells in the different cycles of fermentation. In the first cycle was achieved a yield of only 62%, while in the second cycle yielded a 95.49% conversion of glucose to ethanol.

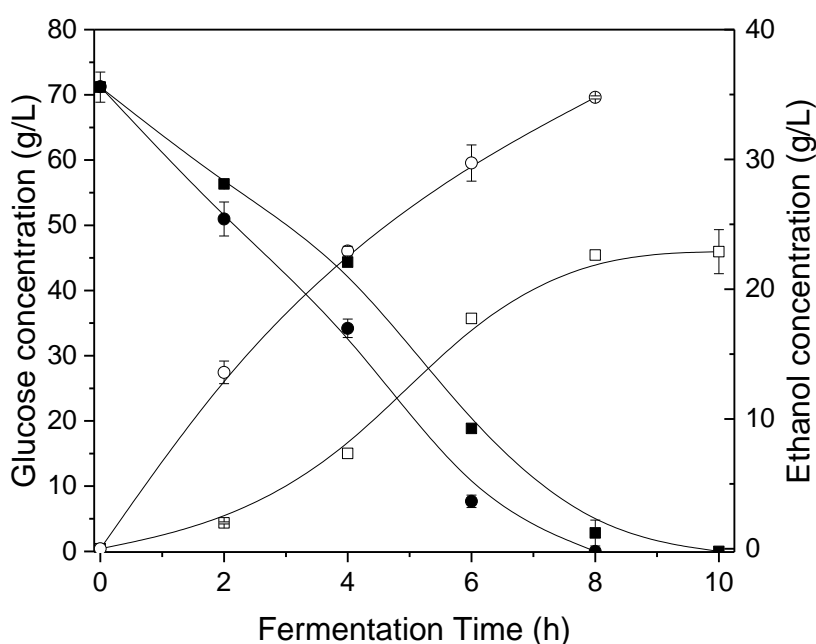


Figure 40. Fermentation for ethanol production with *S. cerevisiae* X-2180 cells immobilized on calcium alginate. Symbols, first cycle of fermentation: ■ - glucose concentration (g/L); □ - concentration of ethanol (g/L), second fermentation cycle: ● - glucose concentration (g/L); ○ ethanol concentration (g/L).

O primeiro ciclo de fermentação para produção de etanol demorou mais tempo para consumir todo o açúcar e obter a máxima produção de etanol quando comparado com o segundo ciclo. Este comportamento foi observado por (Duarte, 2011). Os autores justificam esse comportamento devido à adaptação das células ao microambiente formado pela levedura dentro das partículas e também as condições do meio de fermentação. Para diminuir este processo de adaptação das células imobilizadas durante as fermentações, Birol et al. (1998) estudaram um processo de pré-ativação das células imobilizadas antes de iniciar a fermentação para a produção de etanol, na qual consiste em realizar uma fermentação a 200 rpm, a 30°C durante 2 horas, com esse procedimento, cria o chamado microambiente para as células no interior da partículas. Este procedimento foi adotado para as demais fermentações.

Um dos objetivos deste trabalho é a produção de bioetanol em biorreator de leito fluidizado e com aplicação de campos eletromagnéticos utilizando as células da *S. cerevisiae* imobilizadas em partículas com propriedades magnéticas, isto é, com a adição de pó de ferro ou magnetita nas partículas. Antes de realizar as fermentações no biorreator de leito fluidizado, foi necessário fazer estudo para avaliar a influência das partículas magnéticas no processo de imobilização das células em alginato de sódio. Os experimentos foram realizados frascos Erlenmeyers em “shaker” a 30 °C a 120 rpm. As partículas com propriedades magnéticas avaliadas neste trabalho foram o pó de ferro comercial e a magnetita.

O pó de ferro puro na presença de água oxida muito rápido, então realizamos um procedimento de tratamento deste ferro em pó com ácido oleico. O tratamento consiste em deixar ácido oleico em contato com o ferro em pó durante 40 minutos em ultrassom. Após este período, remover o excesso de ácido oleico com etanol, seguido da lavagem com água destilada. Após a lavagem, o ferro em pó foi seco até peso constante. Este tratamento do ferro em pó foi eficiente durante 6 dias em contato com água. Então, usamos este pó de ferro tratado nos experimentos de fermentação.

The first fermentation cycle for ethanol production took longer to consume all the sugar and to obtain the maximum production of ethanol when compared to the second cycle. This behavior was observed by Duarte (2011). The author justifies this behavior due to the adaptation of the cells to the microenvironment formed by the yeast inside the particles and the conditions of the fermentation medium. To decrease this process of adaptation of immobilized cells during fermentations, Birol et al. (1998) studied a process of pre-activation of the immobilized cells before starting the fermentation for ethanol production, which consists of fermentation at 200 rpm, at 30 °C for 2 hours, with this procedure, creates the so-called microenvironment for the cells inside the particles. This procedure was adopted for the other fermentations.

One of this thesis objectives was the production of bioethanol in a fluidized bed bioreactor with the application of electromagnetic fields using *S. cerevisiae* cells immobilized on particles with magnetic properties, for example with the addition of iron powder or magnetite in the particles. Before performing the fermentations in the fluidized bed bioreactor, it was necessary to study the influence of the magnetic particles in the cell immobilization process in sodium alginate. The experiments were performed in Erlenmeyer flasks at 30 °C at 120 rpm. The particles with magnetic properties evaluated in this work were commercial iron powder and magnetite.

The pure iron powder in the presence of water oxidizes very fast, so we performed a treatment procedure of this iron powder with oleic acid. The treatment consists in leaving oleic acid in contact with the iron powder for 40 minutes in ultrasound. After this period, we removed excess oleic acid with ethanol, followed by washing with distilled water. After washing, the iron powder was dried to constant weight. This iron powder treatment was effective for 6 days in contact with water. We then used this treated iron powder in the fermentation experiments.

A Figura 41 apresenta os resultados obtidos na fermentação para a produção de etanol com as células da levedura imobilizadas em partículas de alginato de cálcio com ferro em pó tratado com ácido oleico usando diferentes concentrações de células nas partículas (40; 68 e 113 g/L). Como pode observar, em 10 horas de fermentação, não houve o consumo total de glicose, restando bastante substrato a ser consumido.

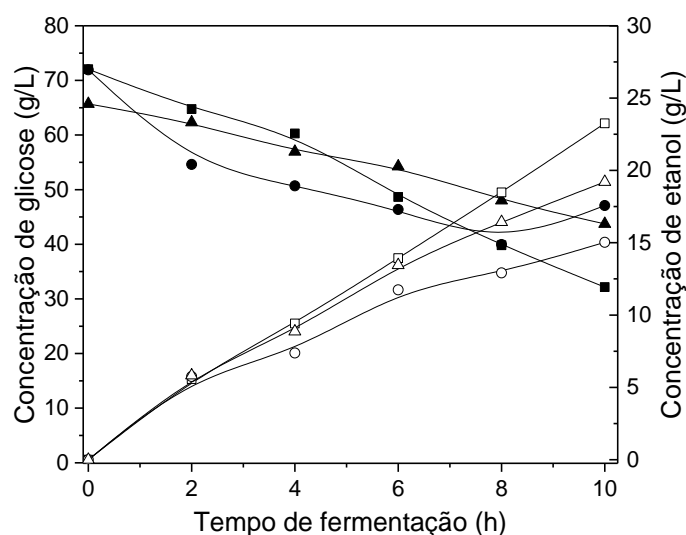


Figura 41. Fermentação para produção de etanol com as células da levedura *S. cerevisiae* X2180 imobilizada em suportes de alginato (5% m/v) com pó de ferro tratado (10% m/v) em shaker a 30 °C, 120 rpm, usando diferentes concentrações de células nas partículas. Símbolos, 40 g/L de célula na partícula: ■- concentração de glicose; □- concentração de etanol; 68 g/L de célula na partícula: ●- concentração de glicose; ○- concentração de etanol; 113 g/L de células nas partículas: ▲- concentração de glicose; △- concentração de etanol.

Na fermentação com as células imobilizadas o consumo total de substrato foi em 6 horas, então concluímos que o pó de ferro tratado não seria viável, podendo o mesmo estar inibindo as células no interior das partículas. Além do longo tempo de fermentação, este pó de ferro tratado com ácido oleico apresentou outros problemas, a oxidação dentro das partículas de alginato de cálcio (Figura 42) e a formação de espuma durante a fermentação para produção de etanol (Figura 43).

Figure 41 shows the results obtained in fermentation for ethanol production with yeast cells immobilized on calcium alginate particles with powdered iron treated with oleic acid using different concentrations of cells in the particles (40, 68 and 113 g/L). As can be seen, in 10 hours of fermentation, there was not total consumption of glucose, leaving enough substrate to be consumed.

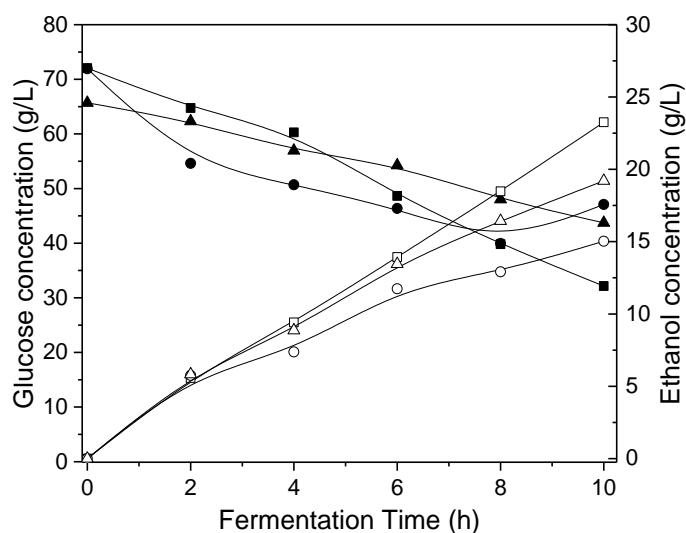


Figure 41. Fermentation for ethanol production with yeast cells *S. cerevisiae* X2180 immobilized on alginate supports (5% w/v) with treated iron powder (10% w/v) in shaker at 30 °C, 120 rpm using different cell concentrations in the particles. Symbols, 40 g/L of cell in the particle: ■ - glucose concentration; □ - ethanol concentration; 68 g/L of cell in the particle: ● - glucose concentration; ○ - ethanol concentration; 113 g/L of cells in the particles: ▲ - glucose concentration; Δ- ethanol concentration.

In the fermentation with immobilized cells the total consumption of substrate was in 6 hours, so we conclude that the treated iron powder would not be viable and could be inhibiting the cells inside the particles. In addition to the long fermentation time, this iron powder treated with oleic acid presented other problems, oxidation within the calcium alginate particles (Figure 42) and foaming during fermentation for ethanol production (Figure 43).

A Figura 42 apresenta a título ilustrativo o processo de oxidação do pó de ferro dentro das partículas de alginato de cálcio com as células da *S. cerevisiae* imobilizada com uma concentração celular de 40 g/L. As partículas de alginato de cálcio com 10% (m/v) de ferro com as células da levedura imobilizadas após 20 minutos após o período de preparo das partículas (Figura 42a). A Figura 42b apresenta as partículas imobilizadas após 24 horas do processo de imobilização, onde pode observar o início da oxidação do ferro em pó nas partículas.

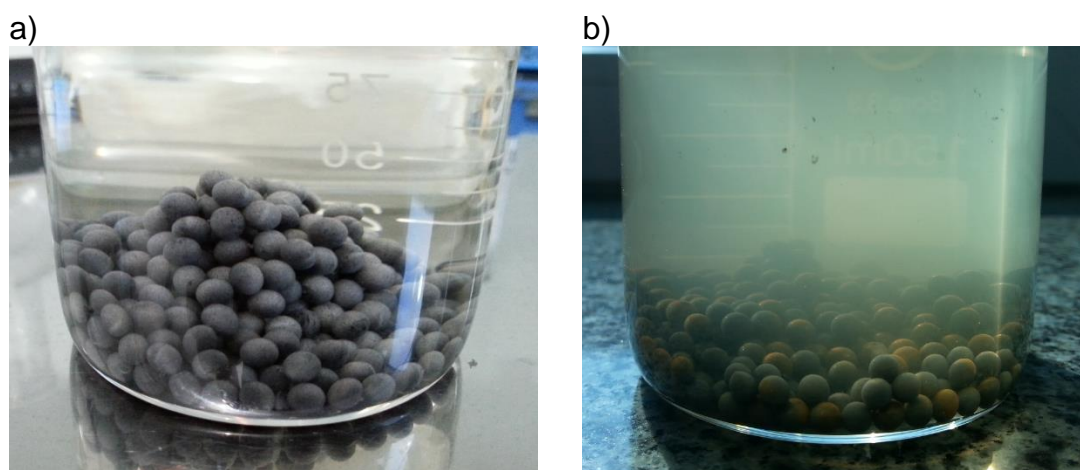


Figura 42. Fotografia das partículas com a *S. cerevisiae* X2180 imobilizada em alginato de cálcio com ferro em pó.

A Figura 43 apresenta fotografias da fermentação em frascos Erlenmeyers com as células imobilizadas em alginato de cálcio com ferro em pó tratado com ácido oleico. A Figura 43a apresenta a fermentação após 12 horas de fermentação, onde já se observa o meio com turbidez devido à oxidação e com formação de espuma. Esta espuma além de ser indesejável na fermentação pode ser inibidora para a levedura. A Figura 43b mostra o frasco Erlenmeyer após 24 horas de fermentação, onde as partículas estão completamente oxidadas e o meio também com aspecto viscoso e turvo.

Figure 42 shows, illustratively, the iron powder oxidation process in the calcium alginate particles with immobilized cells of *S. cerevisiae* with a cell concentration of 40 g/L. The calcium alginate particles with 10% (w/v) iron with the yeast cells immobilized after 20 minutes after the preparation period of the particles (Figure 42a). Figure 42b shows the immobilized particles after 24 hours of the immobilization process, where one can observe the beginning of the oxidation of iron powder in the particles.

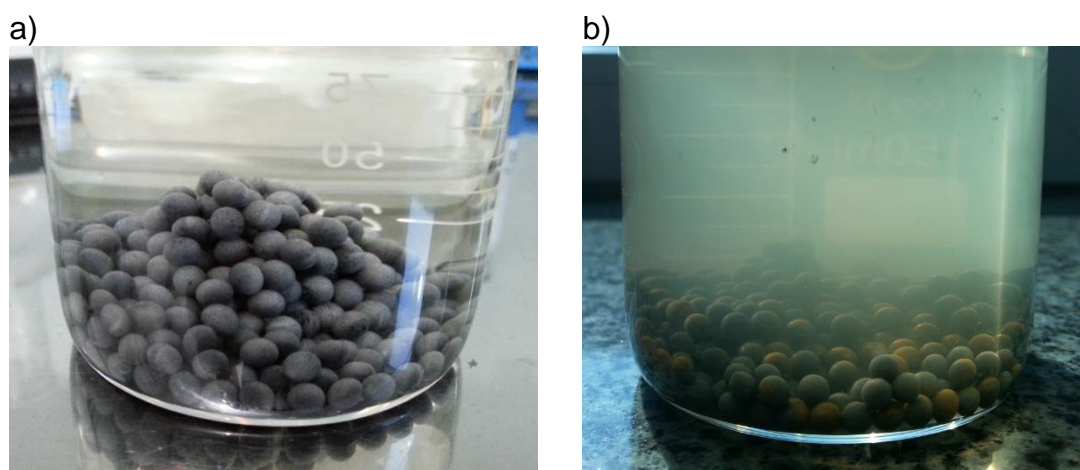


Figure 42. Photograph of the particles with *S. cerevisiae* X2180 immobilized on calcium alginate with iron powder.

Figure 43 shows photographs of fermentation in Erlenmeyer flasks with cells immobilized on calcium alginate with powdered iron treated with oleic acid. Figure 43a shows the fermentation after 12 hours, where already the medium with turbidity due to the oxidation and with foam formation is observed. This foam in addition to being undesirable in the fermentation may be inhibitory to the yeast. Figure 43b shows the Erlenmeyer flask after 24 hours of fermentation where the particles are completely oxidized and the medium also viscous and cloudy.

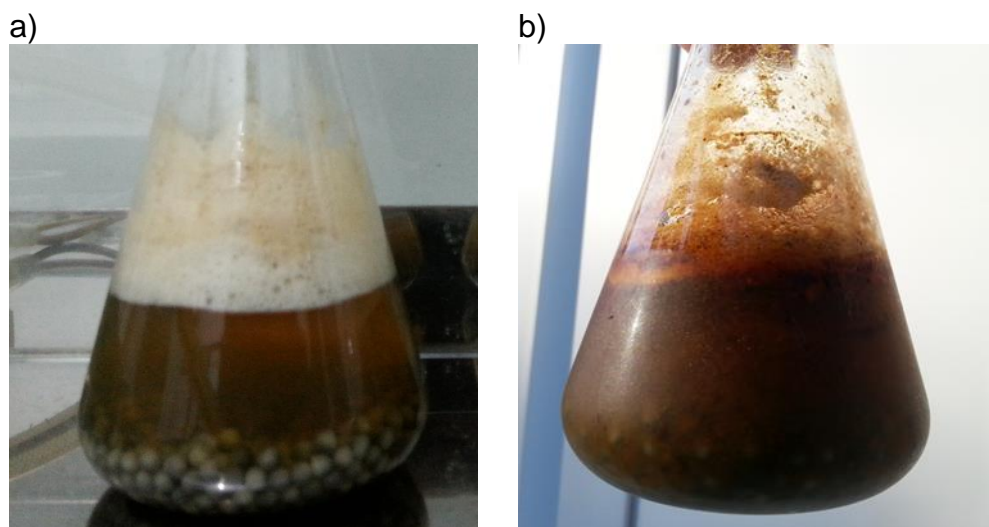


Figura 43. Imagens do sistema de fermentação para produção de etanol com a *S. cerevisiae* X-2180 imobilizada em alginato de cálcio com ferro em pó.

Como o uso do ferro em pó não apresentou boas características durante a fermentação, usou a magnetita como partícula magnética a ser dispersa no suporte. A Figura 44 apresenta os dados da fermentação para produção de etanol utilizando diferentes concentrações de células da *S. cerevisiae* X-2180 (40; 68 e 113 g/L) nas partículas de alginato de cálcio com 10 % de magnetita. Nestas condições as fermentações ocorreram com êxito. Em seis horas já havia consumido todo o açúcar e produzido etanol. Os rendimentos de etanol para as diferentes partículas foram: 96,00% (40 g/L de células/partículas) 94,96% (68 g/L de células/partículas) 97,05% (113 g/L de células/partículas). Os rendimentos foram bem próximos, mostrando que a concentração de células nas partículas não afetou a fermentação para produção de etanol.

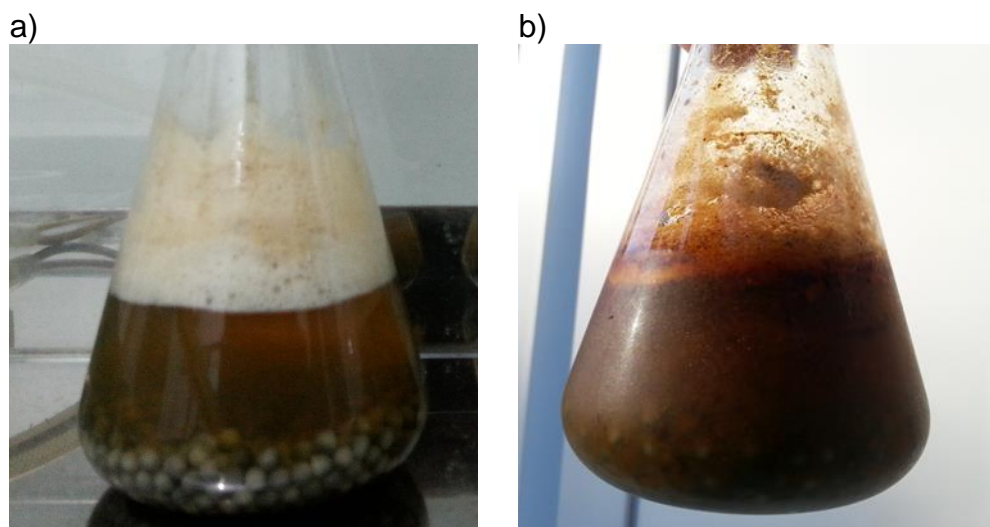


Figure 43. Images of the fermentation system for ethanol production with *S. cerevisiae* X-2180 immobilized on calcium alginate with iron powder.

As the use of iron powder did not show good characteristics during the fermentation, it used the magnetite as a magnetic particle to be dispersed in the support. Figure 44 shows the fermentation data for ethanol production using different concentrations of *S. cerevisiae* X-2180 cells (40, 68 and 113 g/L) in the calcium alginate particles with 10% magnetite. Under these conditions, the fermentations occurred successfully. In six hours, it had consumed all the sugar and produced ethanol. The yields of ethanol for the different particles were: 96.00% (40 g/L cells/ particles) 94.96% (68 g/L cells/ particles) 97.05% (113 g/ L cells/ Particles). Yields were very close, showing that the concentration of cells in the particles did not affect the fermentation for ethanol production.

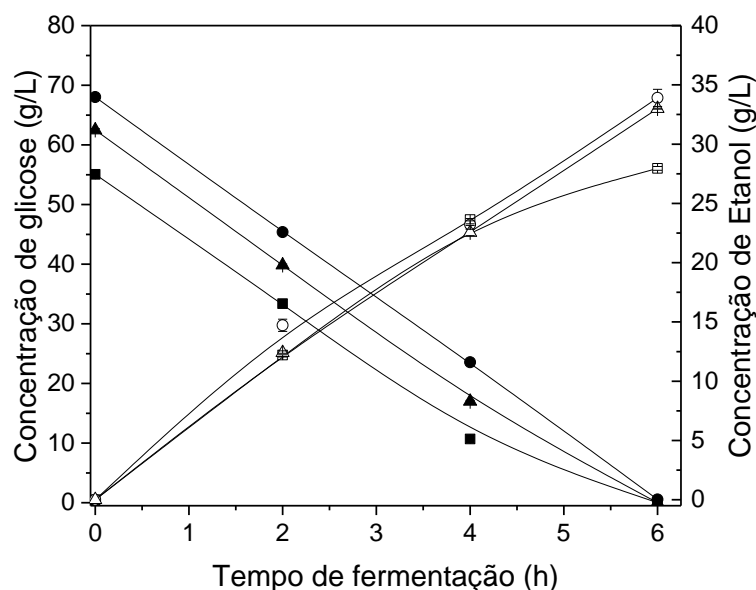


Figura 44. Fermentação para produção de etanol com as células da levedura *S. cerevisiae* X2180 imobilizada em suportes de alginato (5% m/v) com magnetita (10% m/v) em shaker a 30 °C, 120 rpm, usando diferentes concentrações de células nas partículas. Símbolos, 40 g/L de célula na partícula: ■– concentração de glicose; □- concentração de etanol; 68 g/L de célula na partícula: ●– concentração de glicose; ○- concentração de etanol; 113 g/L de células nas partículas: ▲– concentração de glicose; △- concentração de etanol.

Devido ao fato da fermentação para a produção de etanol ocorrer em um processo anaeróbico, realizou um estudo de fermentação em “shaker” sem agitação com os Erlenmeyers em modo estático (Figura 45). Avaliou duas concentrações de células (68 e 113 g/L) nas partículas com 10% (m/v) de magnetita. Ambas as fermentações apresentaram rendimentos semelhantes, 96,42% para as partículas com 68 g/L de células e 97,87% de rendimento de etanol para a concentração de 113 g/L de células nas partículas. De acordo com esses dados, pode concluir que a fermentação com as células imobilizadas em “shaker” em modo estático e com agitação (120 rpm) não influenciou no rendimento da fermentação para produção de etanol.

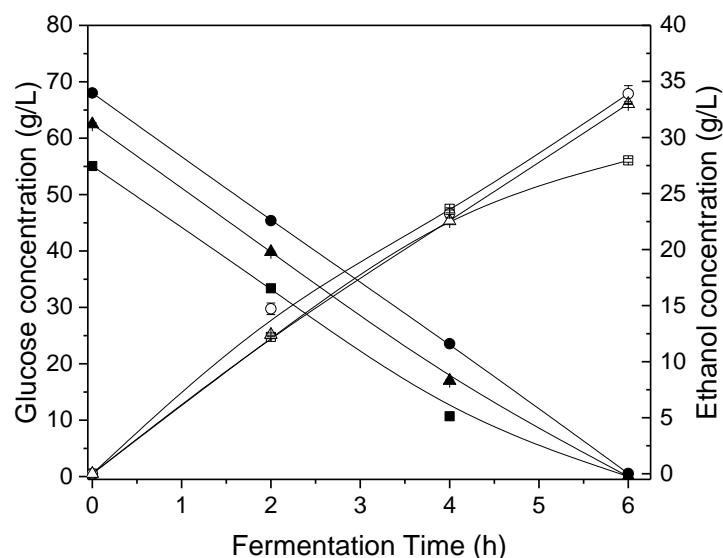


Figure 44. Fermentation for ethanol production with yeast cells *S. cerevisiae* X2180 immobilized on alginate supports (5% w / v) with magnetite (10% w / v) shaker at 30 ° C, 120 rpm, using different Concentrations of cells in the particles. Symbols, 40 g/L of cell in the particle: ■ - glucose concentration; □ - ethanol concentration; 68 g/L of cell in the particle: ● - glucose concentration; ○ - ethanol concentration; 113 g/L of cells in the particles: ▲ - glucose concentration; △ - ethanol concentration.

The fact that fermentation for the production of ethanol occurs in an anaerobic process, it performed a shaker fermentation study without agitation with the Erlenmeyers in static mode (Figure 45). Two concentrations of cells (68 and 113 g/L) were evaluated in the particles with 10% (m/v) magnetite. Both fermentations presented similar yields, 96.42% for the particles with 68 g/L of cells and 97.87% of ethanol yield for the concentration of 113 g/L of cells in the particles. According to these data, it can be concluded that fermentation with shaker immobilized cells in static and agitated mode (120 rpm) did not influence fermentation yield for ethanol production.

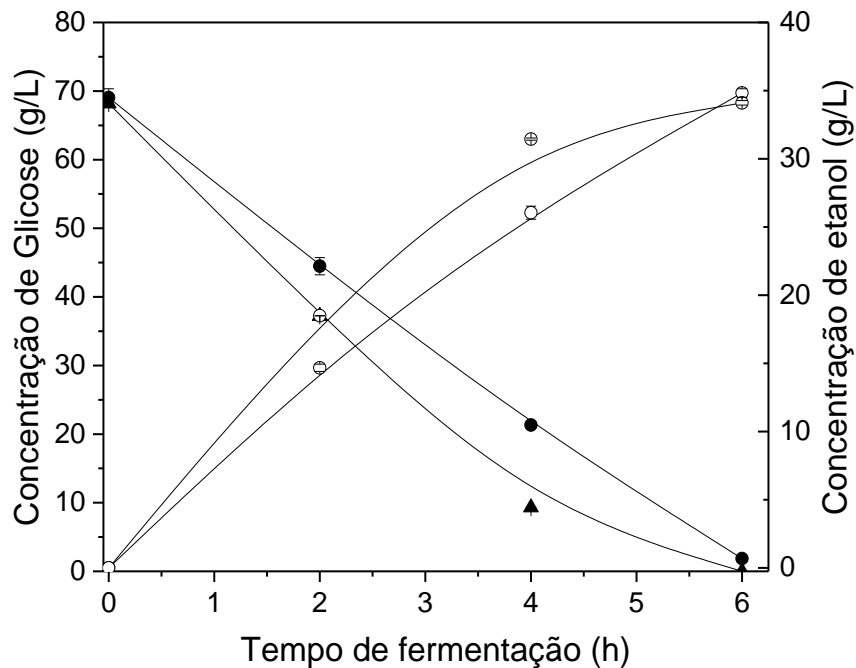


Figura 45. Fermentação para produção de etanol com as células da levedura *S. cerevisiae* X2180 imobilizada em suportes de alginato (5% m/v) com magnetita (10% m/v) em shaker a 30 °C em modo estático, usando diferentes concentrações de células nas partículas. Símbolos, 68 g/L de célula na partícula: ●– concentração de glicose; ○- concentração de etanol; 113 g/L de células nas partículas: ▲– concentração de glicose; △- concentração de etanol.

4.8 Fermentações para produção de etanol em Biorreator assistido por campo eletromagnético

As fermentações de produção de bioetanol no reator não convencional foram realizadas em um Biorreator Assistido por campo eletromagnético com linhas de campo na direção Axial (Figura 47) em relação ao fluxo do meio de fermentação. Este sistema é automatizado, sendo possível monitorar/ controlar diferentes variáveis de processo, entre as quais se encontram: temperatura de fermentação, fluxo de reciclo do substrato, indução eletromagnética e aquecimento das bobinas.

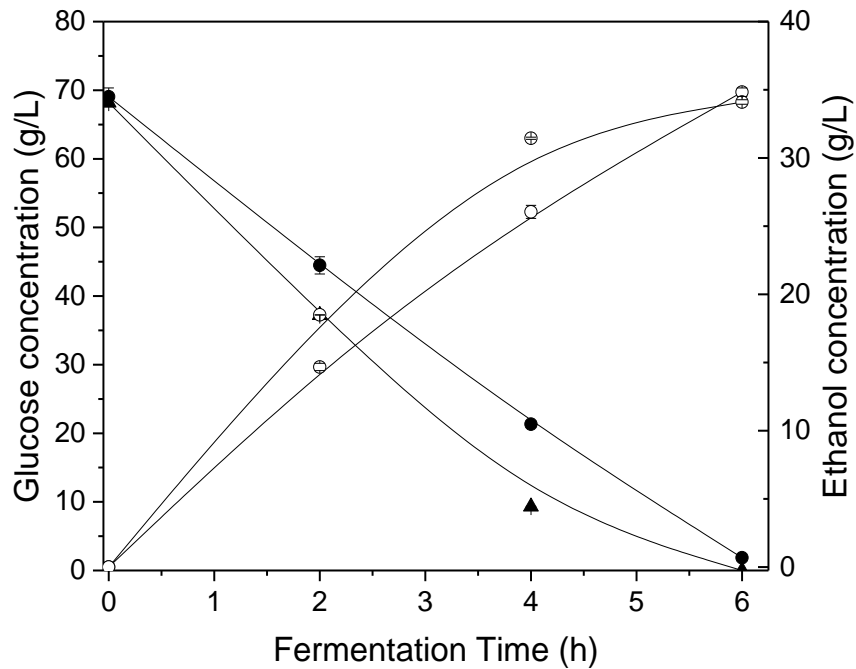


Figure 45. Fermentation for ethanol production with yeast cells *S. cerevisiae* X2180 immobilized on alginate supports (5% w/v) with magnetite (10% w/v) in shaker at 30 °C in static mode, using different Concentrations of cells in the particles. Symbols, 68 g/L of cell in the particle: ● - glucose concentration; ○ - ethanol concentration; 113 g/L of cells in the particles: ▲ - glucose concentration; Δ- ethanol concentration.

4.8 Fermentation for ethanol production in electromagnetic field assisted bioreactor

Bioethanol production fermentations in the unconventional reactor were performed in a Bioreactor assisted by electromagnetic field, with field lines in the axial direction (Figure 47) in relation to the flow of the fermentation medium. This system is automated, being possible to monitor/control different process variables, among which are: fermentation temperature, substrate recycle flow, electromagnetic induction and coil heating.

Antes de realizar os experimentos de fermentação, o sistema gerador de campos eletromagnéticos foi calibrado para verificar a distribuição de campo no reator Axial (Figura 47). Foi avaliado principalmente no interior das bobinas onde fica localizado o biorreator de fermentação (marcado com um ponto vermelho), a medição da intensidade de campo foi medida em relação à altura das bobinas (Figura 46a). A Figura 47b apresenta os perfis de campo eletromagnético no centro das bobinas, do sistema gerador de campo eletromagnético, para diferentes correntes e alturas do biorreator. Como pode ser observado, no centro deste sistema tem uma distribuição de campo eletromagnético homogênea. Condição ideal e relevante para uma interação adequada do campo eletromagnético com as células imobilizadas no leito do biorreator proporcionando uma uniformidade na distribuição de campo nas partículas com propriedade magnética.

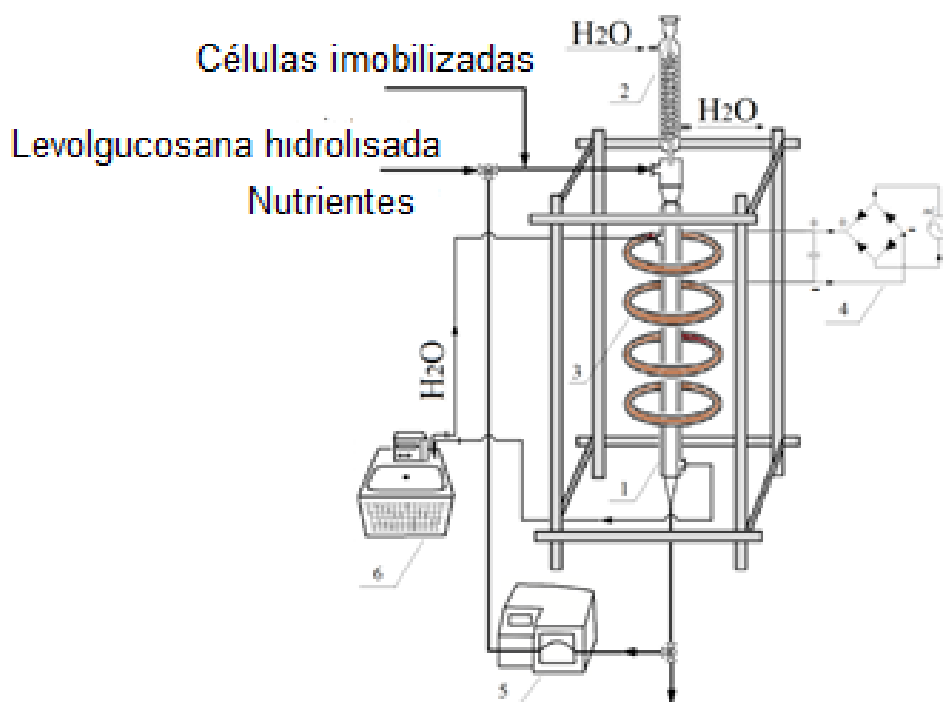


Figura 46. Sistema de fermentação no Biorreator Assistido por Campos eletromagnéticos – Sistema Axial: 1- biorreator de vidro com as células imobilizadas; 2- Condensador; 3- bobinas geradoras de campo eletromagnético; 4- variador de tensão; 5- bomba peristáltica para o reciclo do meio de fermentação; 6- banho termostático para controle de temperatura da fermentação.

Before performing the fermentation experiments, the electromagnetic field generator system was calibrated to verify the field distribution in the axial reactor (Figure 47). It was evaluated mainly inside the reels where the fermentation bioreactor is located (marked with a red dot); the field strength measurement was measured in relation to the bobbin height (Figure 46a). Figure 47b shows the electromagnetic field profiles at the center of the coils of the electromagnetic field generating system for different currents and heights of the bioreactor. As can be seen, at the center of this system has a homogeneous electromagnetic field distribution. An ideal and relevant condition for a suitable interaction of the electromagnetic field with the cells immobilized in the bed of the bioreactor providing uniformity in the field distribution in the particles with magnetic properties.

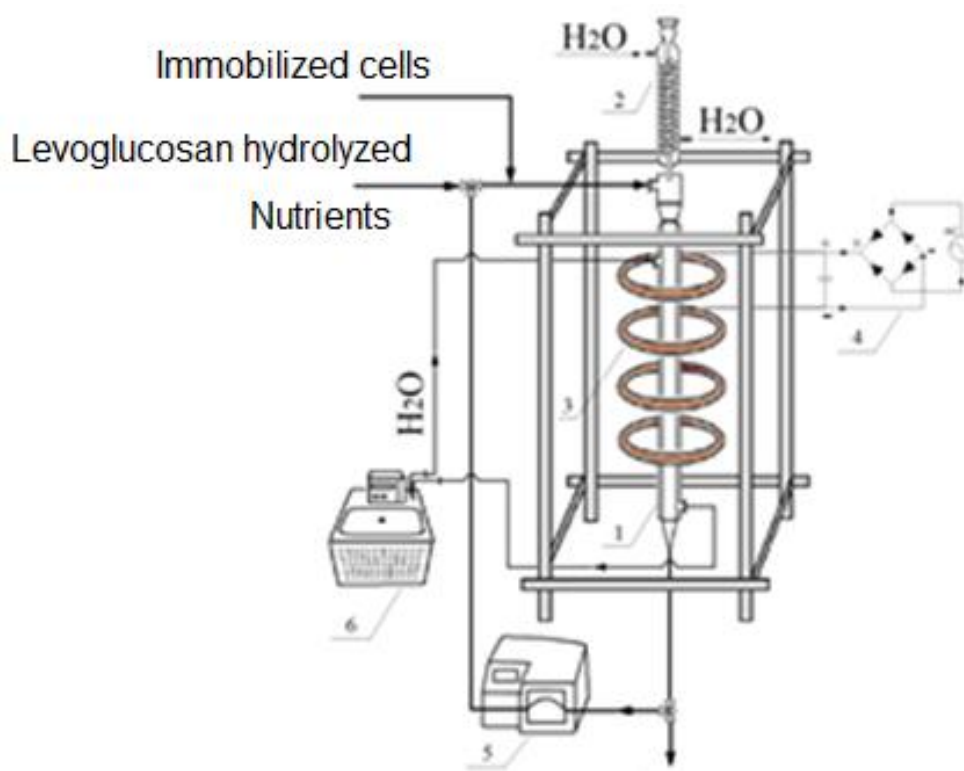


Figure 46. Fermentation system in the Bioreactor Assisted by Electromagnetic Fields - Axial System: 1- glass bioreactor with immobilized cells; 2- Condenser; 3- electromagnetic field generating coils; 4- voltage variator; 5 - peristaltic pump for the recycling of the fermentation medium; 6- Thermostatic bath for temperature control of fermentation.

Quando se aplica um campo magnético acima de 14 mT, ocorre o aquecimento das bobinas. O limite de temperatura de operação das bobinas foi predeterminado a 65 °C. Entretanto, durante as fermentações de etanol monitorou a temperatura das bobinas e do meio de fermentação localizado no interior do reator utilizando uma câmera de termovisor infravermelho (Figura 48). A cada duas horas foi fotografado o sistema para verificar se o aquecimento das bobinas afetava a temperatura do meio de fermentação (Figura 48a a Figura 48e). Como pode observar nas imagens, temperatura das bobinas alcançou a temperatura limite estabelecida (65 °C) e o reator de fermentação não sofreu influência dos efeitos da radiação térmica como consequência do aquecimento das bobinas, mantendo a temperatura de fermentação (30 °C).

As fermentações para avaliar o efeito do campo eletromagnético sobre a produção de etanol foram realizadas em um sistema com linhas de campo na direção axial, com intensidade de campo de 14 mT e com reciclo do meio (65 mL/ min). Neste sistema alcançou 97,34 % de rendimento de etanol utilizando glicose como fonte de carbono em 6 horas de fermentação (Figura 49). Enquanto que, quando se trabalhou no sistema de fermentação no reator sem a aplicação de campo (controle) o rendimento foi de 96,91 % em oito horas de fermentação.

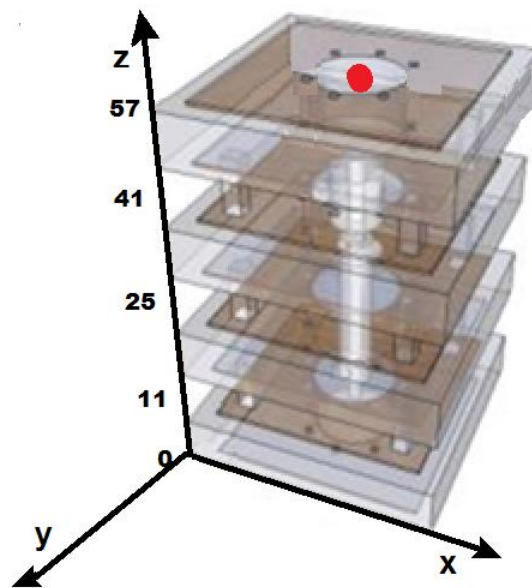
Essa melhoria na eficiência no rendimento da fermentação se deve ao fato de que quando se trabalha em um sistema de reciclo com leito fixo, expandido e estabilizado eletromagneticamente. Com isso, diminui problemas referentes a limitações de transferência de massa do meio líquido das células imobilizadas, variação na pressão do leito, possibilidade de operação com maior velocidade de fluidização e até mesmo em sistema contracorrente (Tuzmen et al., 2010).

When a magnetic field above 14 mT is applied, heating of the coils occurs. The operating temperature limit of the coils was predetermined at 65 °C. However, during fermentation to ethanol production the temperature of the coils and the fermentation medium located inside the reactor was monitored using an infrared thermal imager camera (Figure 48). Every two hours the system was photographed to check if the heating of the coils affected the temperature of the fermentation medium (Figure 48a to Figure 48e). As can be observed in the images, the temperature of the coils reached the established temperature limit (65 °C) and the fermentation reactor was not influenced by the effects of the thermal radiation as a consequence of heating the coils, maintaining the fermentation temperature (30 °C).

The fermentations to evaluate the effect of the electromagnetic field on the ethanol production were carried out in a system with field lines in the axial direction, with field intensity of 14 mT and with recycle of the medium (65 mL / min). In this system it reached 97.34% ethanol yield using glucose as the carbon source in 6 hours of fermentation (Figure 49). While, when working in the fermentation system in the reactor without field application (control) the yield was 96.91% in eight hours of fermentation.

This improvement in efficiency in fermentation yield is due that when working in a fixed, expanded and electromagnetically stabilized bed recycling system. Thus, reduce problems related to the mass transfer limitations of the liquid medium of the immobilized cells, variation in the bed pressure, possibility of operation with greater speed of fluidization and even in countercurrent system (Tuzmen et al., 2010).

a)



b)

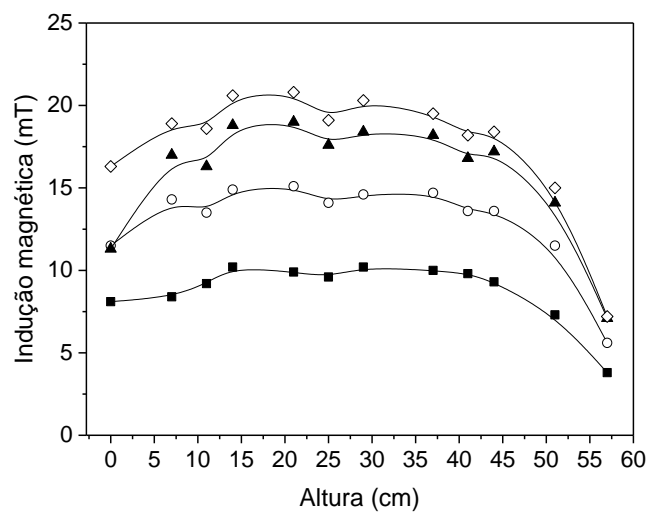
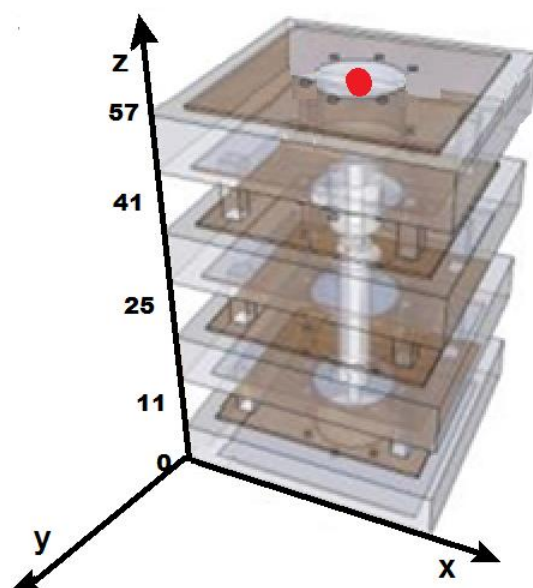


Figura 47. Distribuição da indução de campo eletromagnético no centro das bobinas em função da intensidade de campo em militesla (mT) e altura do reator Axial (cm). a) esquema do sistema de calibração; b) distribuição do campo no interior da bobina em função da corrente em Amperes (A). Símbolos: ■- 4 amperes; ○- 6 amperes; ▲- 8 amperes; ◇- 9 amperes.

a)



b)

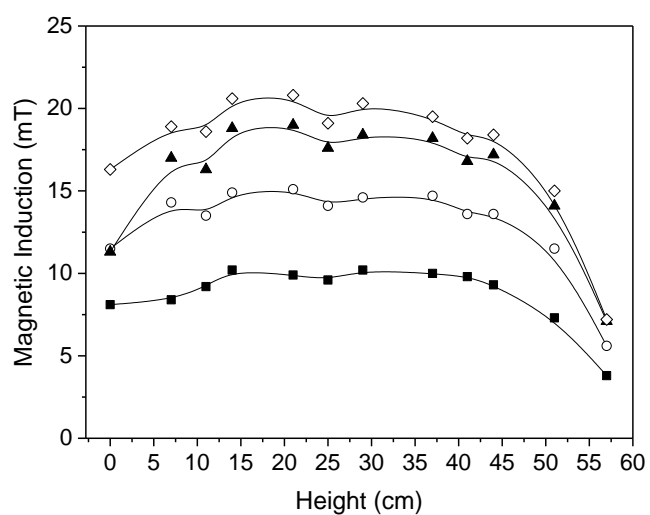


Figure 47. Distribution of the electromagnetic field induction in the center of the coils as a function of the field strength in militesla (mT) and height of the axial reactor (cm). A) scheme of the calibration system; B) distribution of the field inside the coil as a function of the current in Amperes (A). Symbols: ■- 4 amps; ○- 6 amps; ▲ - 8 amps; ◇- 9 amps.

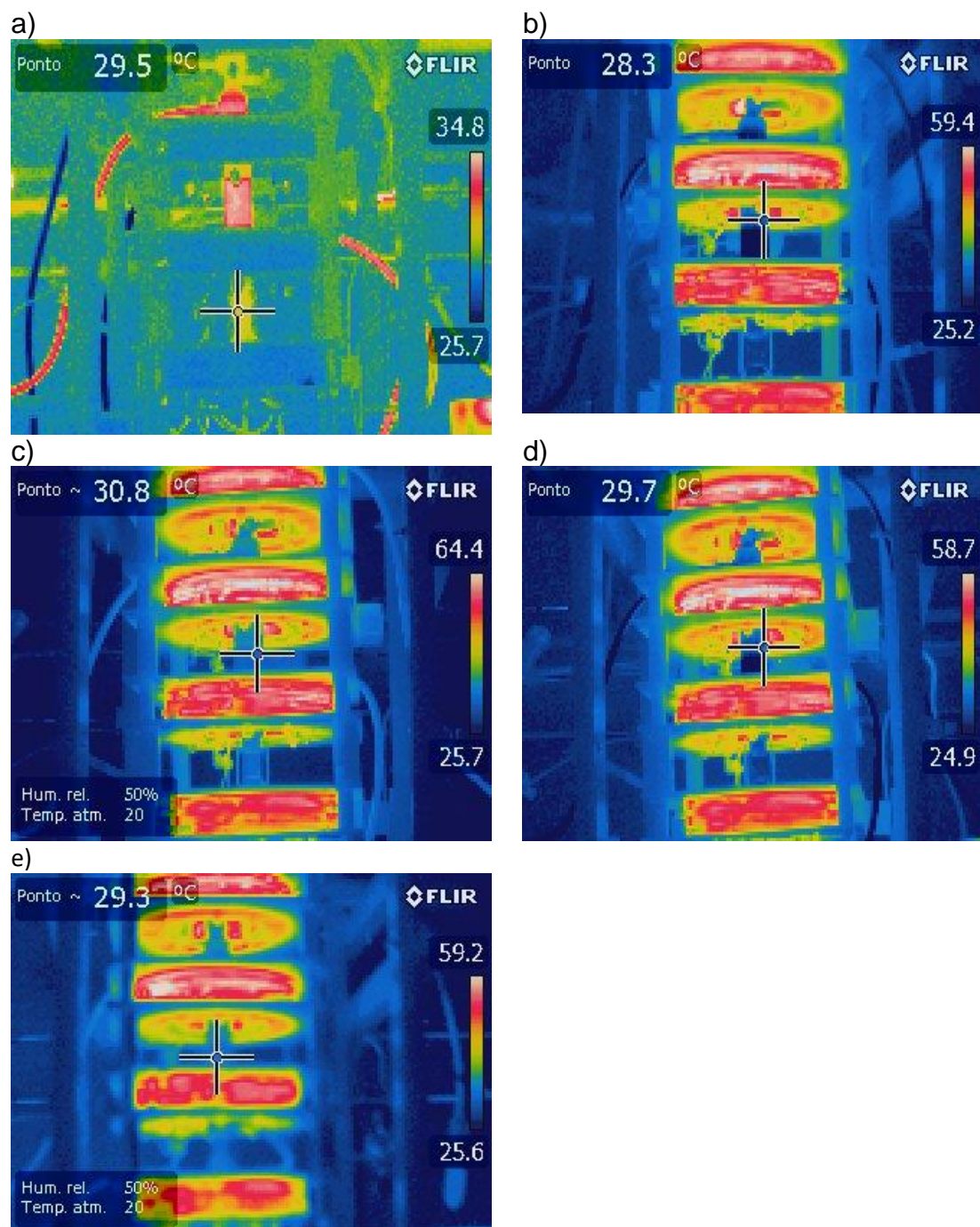


Figura 48. Fotografias tomadas em diferentes intervalos de tempo de fermentação utilizando câmera de termovisor para o monitoramento da temperatura do reator Axial durante as fermentações de etanol. Tempo de fermentação: a) 0 horas; b) 2 horas; c) 4 horas; d) 6 horas; e) 8 horas.

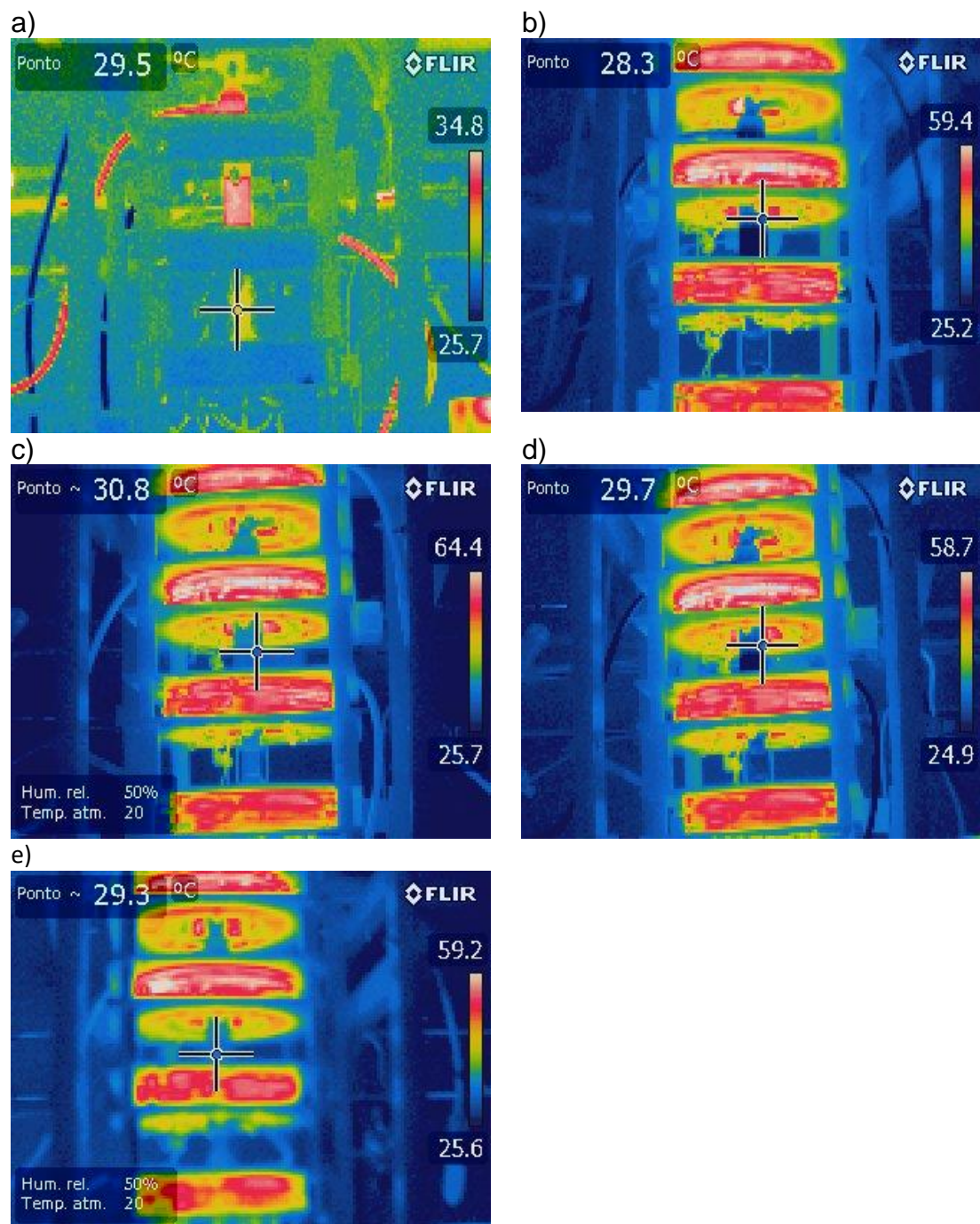


Figure 48. Photographs taken at different fermentation time intervals using a thermal imager camera to monitor the temperature of the Axial reactor during the fermentation to ethanol production. Fermentation time: a) 0 hours; b) 2 hours; c) 4 hours; d) 6 hours; e) 8 hours.

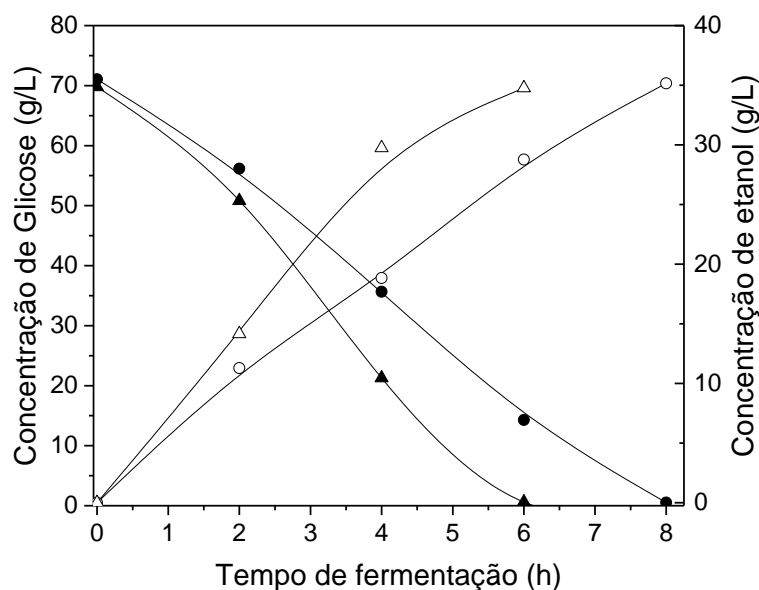


Figura 49. Fermentação para produção de etanol com as células da levedura *S. cerevisiae* X-2180 imobilizada em suportes de alginato (5% m/v) com magnetita (10% m/v) no reator de campo eletromagnético – sistema Axial. Símbolos: sem aplicação de campo (controle): ●- concentração de glicose (g/L); ○- concentração de etanol (g/L) e fermentação com campo eletromagnético (14 mT): ▲ concentração de glicose (g/L); △- concentração de etanol (g/L).

A Figura 50 mostra o consumo de glicose derivada do bio-óleo da pirólise do bagaço de cana-de-açúcar e a produção de etanol pela levedura *S. cerevisiae* X-2180. Pode observar que a levedura consumiu quase toda a glicose em 4 horas de fermentação. Os resultados mostram que a fermentação realizada em shaker e a fermentação realizada em biorreator assistido por campo eletromagnético apresentaram o mesmo comportamento. A concentração máxima de etanol produzida para as fermentações em shaker e no biorreator de leite fluidizado foi de 29,09 e 30,18 g/L, respectivamente, e o rendimento teórico foi 96,90% e 97,51% respectivamente. Para ambos os casos, em 6 horas de fermentação houve o consumo total de substrato.

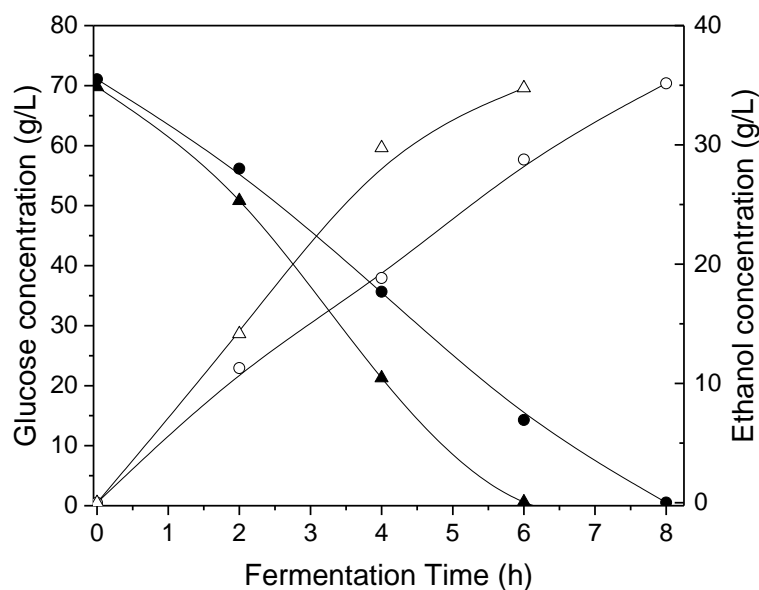


Figure 49. Fermentation for ethanol production with yeast cells *S. cerevisiae* X-2180 immobilized on alginate supports (5% m/v) with magnetite (10% m/v) in the electromagnetic field reactor - Axial system. Symbols: without field application (control): ● - glucose concentration (g/L); ○ concentration of ethanol (g/L) and fermentation with electromagnetic field (14 mT): ▲ concentration of glucose (g/L); △-ethanol concentration (g/L).

Figure 50 shows the glucose consumption derived from the bio-oil of the pyrolysis of the sugarcane bagasse and the ethanol production by the yeast *S. cerevisiae* X-2180. Can observed that the yeast consumed almost all the glucose in 4 hours of fermentation. The results show that the fermentation carried out in shaker and the fermentation performed in an assisted bioreactor showed the same behavior. The maximum concentration of ethanol produced for the shaker fermentations and the fluidized bed bioreactor was 29.09 and 30.18 g/L, respectively, and the theoretical yield was 96.90% and 97.51% respectively. For both cases, in 6 hours of fermentation there was total consumption of substrate.

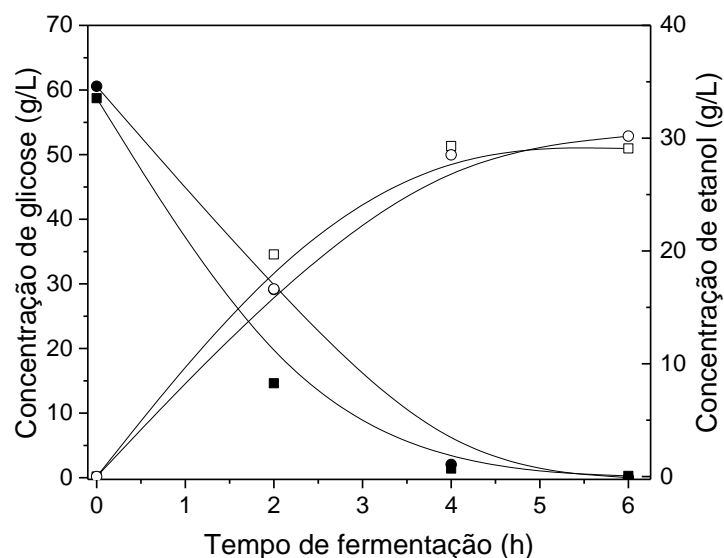


Figura 50. Fermentação para produção de etanol com as células da levedura *S. cerevisiae* X-2180 imobilizada em suportes de alginato (5% m/v) com magnetita (10% m/v) usando a levoglucosana hidrolisada em glicose. Símbolos, reator de campo eletromagnético–sistema Axial (14 mT): ■- concentração de levoglucosana hidrolisada (g/L); □- concentração de etanol (g/L); fermentação no shaker: ● concentração levoglucosana hidrolisada (g/L); ○- concentração de etanol (g/L).

Os rendimentos de produção de etanol alcançados neste trabalho estão de acordo com os encontrados na literatura (Inova et al., 1996; Ivanova et al., 2011; Brady et al., 1996; Gabardo et al., 2012) utilizando a glicose como substrato e usando as células imobilizadas em alginato de cálcio com propriedades magnéticas em biorreatores assistidos por campo eletromagnético. Os rendimentos teóricos para a produção de etanol encontrado por estes trabalhos variam entre 73 a 96% de rendimento. Neste trabalho foi encontrado um rendimento de 97,34% usando glicose como fonte de carbono, em 6 horas de fermentação, valor este dentro da faixa encontrada na literatura.

Nas fermentações usando a levoglucosana hidrolisada do bio-óleo da pirólise do bagaço de cana alcançou um rendimento de 0,495 e 0,498 g de etanol/g de glicose para as fermentações realizadas em “shaker” e no biorreator de leito fluidizado, respectivamente.

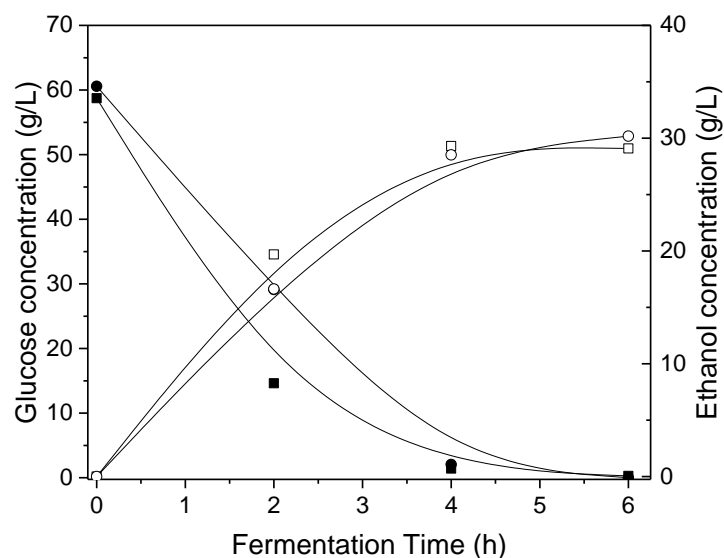


Figure 50. Fermentation for ethanol production with yeast cells *S. cerevisiae* X-2180 immobilized on alginate supports (5% w/v) with magnetite (10% w/v) using glucose-hydrolyzed levoglucosan. Symbols, electromagnetic field reactor-Axial system (14 mT): ■ concentration of hydrolyzed levoglucosan (g/L); □ - concentration of ethanol (g/L); Fermentation in the shaker: ● hydrolyzed levoglucosan concentration (g/L); ○ - concentration of ethanol (g/L).

The ethanol yields achieved in this work are in agreement with those found in the literature (Inova et al., 1996; Ivanova et al., 2011; Brady et al., 1996; Gabardo et al., 2012) using glucose as substrate and using cells immobilized in calcium alginate magnetic properties in bioreactors assisted by the electromagnetic field. The theoretical yields for the production of ethanol found by these works range from 73 to 96% yield. In this work, a yield of 97.34% was obtained using glucose as carbon source, in 6 hours of fermentation, this value within the range found in the literature.

In fermentations using the hydrolyzed levoglucosan extracted from the bio-oil of the rapid pyrolysis of sugarcane bagasse was obtain a yield of 0.495 g and 0.498 g of ethanol/ g glucose for the fermentations carried out in the shaker and in the fluidized bed bioreactor, respectively.

Este rendimento é semelhante ao rendimento encontrado por Lian et al. (2010) que observaram um rendimento de 0,50 g de etanol/ g açúcares de derivados do bio-óleo, porém este rendimento foi em 20 horas de fermentação, enquanto neste trabalho, a máxima produção de etanol foi alcançada em 6 horas de fermentação.

Os valores obtidos neste trabalho foram maior que do que os encontrados reportados na literatura. Yu e Zhang (2003) que reportaram um rendimento máximo de 0,45 g de etanol/g de glicose oriunda da pirólise da celulose e com tempo de fermentação de 24 horas em frasco Erlenmeyer a 30 °C e com agitação (150 rpm). Bennett et al. (2009) alcançaram rendimento de 0,46 g de etanol/g de glicose.

This yield is similar to the yield found by Lian et al. (2010) which observed a yield of 0.50 g of ethanol/g sugars of bio-oil derivatives, but this yield was in 20 hours of fermentation, while in this work the maximum ethanol production was achieved in 6 hours of fermentation.

The values obtained in this study were higher than those found in the literature. Yu and Zhang (2003) reported a maximum yield of 0.45 g of ethanol/ g glucose from cellulose pyrolysis and fermentation time of 24 hours in Erlenmeyer flask at 30 °C and with stirring (150 rpm). Bennett et al. (2009) achieved yield of 0.46 g ethanol/ g glucose.

5. CONCLUSÕES

O tratamento ácido da biomassa resultou em maiores rendimentos de levoglucosana como ilustrado a seguir: lavagem HNO_3 < lavagem HNO_3 + impregnação H_2SO_4 (0.2%) < CH_3COOH (10% v/v) em relação ao bagaço de cana-de-açúcar sem tratamento, isto é, aumentou a formação de levoglucosana em 1,6 vezes < 7 vezes < 9 vezes em relação ao bagaço sem tratamento, respectivamente.

O uso do biorreator assistido por campo eletromagnético favoreceu o processo de produção de bioetanol em 2 horas de fermentação em biorreator de leito fluidizado estabilizado magneticamente, usando glicose como fonte de carbono.

Os açúcares derivados do bio-óleo, após hidrólise, podem ser fermentados para produção de etanol utilizando biorreatores de leitos fluidizados e estabilizados eletromagneticamente, alcançando um rendimento teórico de 97% de etanol. Estes dados são animadores, pois confirmam que a fermentação usando açúcares pirolíticos é uma tecnologia eficiente para a produção de etanol usando o bagaço de cana-de-açúcar.

5. CONCLUSIONS

Acid treatment of biomass resulted in higher yields of levoglucosan as illustrated below: HNO_3 washing < HNO_3 washing + H_2SO_4 impregnation (0.2%) < CH_3COOH (10% v/v) relative to untreated sugarcane bagasse. Increased the formation of levoglucosan in 1.6 times < 7 times < 9 times in relation to the untreated bagasse, respectively.

The use of the bioreactor assisted by electromagnetic field favored the process of bioethanol production in 2 hours of fermentation in a magnetically stabilized fluidized bed bioreactor, using glucose as carbon source.

Sugars derived from the bio-oil after hydrolysis can be fermented for ethanol production using electromagnetically stabilized fluidized bed bioreactors to achieve a theoretical yield of 97% ethanol. These data are encouraging because they confirm that fermentation using pyrolytic sugars is an efficient technology for the production of ethanol using sugarcane bagasse.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Desenvolver uma cepa capaz de metabolizar diretamente a levoglucosana para a formação de bioetanol sem a necessidade de realizar a hidrólise da levoglucosana em glicose.

Avaliar diferentes concentrações de células imobilizadas em partículas de alginato de cálcio, bem como estudar diferentes tamanhos de partículas para serem usadas no biorreator de leito fluidizado estabilizado magneticamente.

6. SUGGESTIONS FOR FUTURE WORK

To develop a strain capable of directly metabolizing levoglucosan for the formation of bioethanol without the need to carry out the hydrolysis of levoglucosan in glucose.

Evaluate different concentrations of immobilized cells in calcium alginate particles, as well as study different particle sizes for use in the magnetically stabilized fluid bed bioreactor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aboyade, A.O., Görgens, J.F., Carrier, M., Meyer, E.L., Knoetze, J.H., 2013. Thermogravimetric study of the pyrolysis characteristics and kinetics of coal blends with corn and sugarcane residues. *Fuel Process. Technol.* 106, 310–320.
- Adrados, A. (2016) Influence of temperature and residence time in the pyrolysis of woody biomass waste in a continuous screw reactor. *Biomass and Bioenergy*, 1-8.
- Alvarez, D.C., Perez, V.H., Alegre, R. M., Justo, O. R. (2006) Effect of magnetic field on nisin production by *Lactococcus lactis*. *Process Biochemistry*, 41, 967-1973.
- Arni, S.A., Bosio, B., Arato, E. (2010). Syngas from sugarcane pyrolysis: An experimental study for fuel cell applications. *Renewable Energy* 35, 29–35.
- Asadullah, M., Rahman, M.A., Ali, M.M., Rahman, M.S., Motin, M.A., Sultan, M.B., Alam, M.R. (2007) Production of bio-oil from fixed bed pyrolysis of bagasse. *Fuel* 86, 2514–2520.
- Asgher, M., Ahmad, Z., Iqbal, H.M.N. (2013) Alkali and enzymatic delignification of sugarcane bagasse to expose cellulose polymers for saccharification and bio-ethanol production. *Industrial Crops and Products* 44, 488–495.
- ASTM Standard C33, 2001 (2008), "Standard Test Methods for Rubber Compounding Materials Determination of Particle Size Distribution of Recycled Vulcanizate Particulate Rubber" ASTM International, West Conshohocken, PA, 2008, DOI: 10.1520/D5644-01R08E01, www.astm.org.

- ASTM Standard C33, 2007, " Standard Test Methods for Direct Moisture Content Measurement of Wood and Wood-Base Materials" ASTM International, West Conshohocken, PA, 2007, DOI: 10.1520/D4442-07, www.astm.org.
- Badr, H.R., Toledo, R., Hamdy, M.K. (2001) Continuous acetone-ethanol-butanol fermentation by immobilized cells of *Clostridium acetobutylicum*. *Biomass and Bioenergy* 20, 119-132.
- Balat, M., Balat, H., Oz, C. (2008) Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science* 34, 551–573.
- Bennett, N.M., Helle, S.S., Duff, S.J.B. (2009) Extraction and hydrolysis of levoglucosan from pyrolysis oil. *Bioresource Technology* 100, 6059–6063.
- Birol, G., Doruker, P., Kirdar, B., Onsan, Z.I., Ulgen, K. (1998) "Mathematical description of ethanol fermentation by immobilized *Saccharomyces cerevisiae*" *Process Biochemistry* 33, 763–771.
- Bridgwater, A.V. (2003) Renewable fuels and chemicals by thermal processing of biomass. *Chemical Engineering Journal* 91, 87–102.
- Bridgwater, A.V. (2012) Review of fast pyrolysis of biomass and product upgrading. *Biomass and bioenergy*, 38, 68-94.
- Bridgwater, A.V. Meier, D. Radlein, D. (1999) An overview of fast pyrolysis of biomass. *Organic Geochemistry* 30, 1479 -1493.
- Cai, W., Liu, R. (2016) Performance of a commercial-scale biomass fast pyrolysis plant for bio-oil production. *Fuel* 182, 677–686.
- Cardona, C.A., Sánchez, Ó.J. (2007) Fuel ethanol production: process design trends and integration opportunities. *Bioresour. Technol.*, 98, 2415–2457.
- Carrier, M., Hugo, T., Gorgens, J., Knoetze, H. (2011) Comparison of slow and vacuum pyrolysis of sugar cane bagasse. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 90, 18–26.
- Chan JK, Duff SJ. (2010) Methods for mitigation of bio-oil extract toxicity. *Bioresour Technol.* 101(10) 3755-3759.
- David, G.F. (2012) Proposta tecnológica de reuso de glicerina residual da produção de Biodiesel. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 127.
- David, G.F., Perez, V.H., Justo, O.R., Cubides, D.C., Cardona, C.A., Hristov, J. (2016) Glycerol bioconversion in unconventional magnetically assisted

- bioreactor seeking whole cell biocatalyst (intracellular lipase) production. *Chemical Engineering Research and Design* 111, 243–252.
- Dewangan, A., Pradhan, D., Singh R.K. (2016) Co-pyrolysis of sugarcane bagasse and low-density polyethylene: Influence of plastic on pyrolysis product yield. *Fuel* 185, 508–516.
- Dobele, G., Dizhbite, T., Rossinskaja, G., Telysheva, G., Meier, D., Radtke, S., Faix, O. (2003) Pre-treatment of biomass with phosphoric acid prior to fast pyrolysis A promising method for obtaining 1,6- anhydrosaccharides in high yields. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 68-69, 197 -211
- Drummond, A.R.F., Drummond, I.W. (1996) Pyrolysis of Sugar Cane Bagasse in a Wire-Mesh Reactor. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 35, 1263-1268.
- Duarte, J.C. (2011) Estudo da imobilização de células de *Saccharomyces cerevisiae* em suportes no processo de fermentação alcoólica. Dissertação de mestrado, Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas. Campinas – São Paulo.
- Dussan, K. J., Cardona, C. A., Giraldo, O. H., Gutiérrez, L. F., e Pérez, V. H. (2010). Analysis of a reactive extraction process for biodiesel production using a lipase immobilized on magnetic nanostructures. *Bioresour. Technol.*, 101, 9542–9.
- Gabardo, S., Rech, R., Ayub, M.A.Z. (2012) Performance of different immobilized-cell systems to efficiently produce ethanol from whey: fluidized batch, packed-bed and fluidized continuous bioreactors. *J Chem Technol Biotechnol*, 87 (8) 1194-201.
- Ganatsios, V., Koutinas, A.A., Bekatorou, A., Kanellaki, M., Nigam, P. (2014) Promotion of maltose fermentation at extremely low temperatures using a cryo tolerant *Saccharomyces cerevisiae* strain immobilized on porous cellulosic material. *Enzyme and Microbial Technology* 66, 56–59.
- García-Peréz, M., Chaala, A., Roy, C. (2002) Vacuum pyrolysis of sugarcane bagasse. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 65, 111–136.
- Ghorbani, F., Younesi, H., Sari, A.E., Najafpour, G. (2011) Cane molasses fermentation for continuous ethanol production in an immobilized cells reactor by *Saccharomyces cerevisiae*. *Renewable Energy* 36, 503-509.

- Gonçalves, G. da C., Pereira, N.C., Veit, M.T. (2016) Production of bio-oil and activated carbon from sugarcane bagasse and molasses. *Biomass and Bioenergy* 85, 178-186.
- Hoi, L.W.S., Martincigh, B.S., 2013. Sugar cane plant fibres: Separation and characterization. *Ind. Crop. Prod.* 47, 1– 12.
- Hristov, J. (2010) Magnetic field assisted fluidization – a unified approach. Part 8. Mass transfer: magnetically assisted bioprocesses. *Reviews in Chemical Engineering.* 26(3-4), 55-128.
- Hristov, J., Perez, V.H. (2011) Critical analysis of data concerning *Saccharomyces cerevisiae* free-cell proliferations and fermentations assisted by magnetic and electromagnetic fields *International Review of Chemical Engineering*, 3, 1-18.
- Hunt, R., Zavalin, A., Bhatnagar, A., Chinnasamy, S., Das, K. (2009). Electromagnetic Biostimulation of Living Cultures for Biotechnology, Biofuel and Bioenergy Applications. *Int. J. Mol. Sci*, 10, 4515-4558.
- Jarboe, L.R., Wen, Z., Choi, D.W. (2011) Hybrid thermochemical processing: Fermentation of pyrolysis-derived bio-oil. *Applied Microbiology and Biotechnology* 91, 1519.
- Jiang, L., Zheng, A., Zhao, Z., He, F., Li, H. (2015) Comprehensive utilization of glycerol from sugarcane bagasse pretreatment to fermentation. *Bioresource Technology* 196,194–199.
- Jin, H., Liu, R., He, Y. (2012) Kinetics of Batch Fermentations for Ethanol Production with Immobilized *Saccharomyces cerevisiae* Growing on Sweet Sorghum Stalk Juice. *Procedia Environmental Sciences* 12, 137 – 145.
- Justo, O.R., Pérez, V.H., Alvarez, D.C., Alegre, R.M. (2005) Growth of *Escherichia coli* Under Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 134.
- Kan, T., Strezov, V., Evans, T.J. (2016) Lignocellulosic biomass pyrolysis: A review of product properties and effects of pyrolysis parameters. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 57, 1126–1140.
- Ko, J.K., Um, Y., Woo, H.M., Kim, K.H., Lee, S-M. (2016). Ethanol production from lignocellulosic hydrolysates using engineered *Saccharomyces*

- cerevisiae* harboring xylose isomerase-based pathway. *Bioresource Technology* 209, 290–296.
- Kourkoutas, Y., Bekatorou, A., Banat, I.M, Marchant, R., Koutinas, A.A. (2004) Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review. *Food Microbiology* 21, 377–397
- Kuzhiyil, N., Dalluge, D., Bai,X., Kim, K.H., Brown, R.C. (2012) Pyrolytic Sugars from Cellulosic Biomass. *ChemSusChem* 5, 2228 – 2236.
- Layton, D.S., Ajjarapu, A., Choi, D.W., Jarboe, L.R. (2011) Engineering ethanologenic *Escherichia coli* for levoglucosan utilization. *Bioresour Technol.* 102(17) 8318-22.
- Li, Q., Steele, P.H., Mitchell, B., Ingram, L.L., Yu, F. (2013) The addition of water to extract maximum levoglucosan from the bio-oil produced via fast pyrolysis of pretreated Loblolly Pinewood. *BioResources* 8 (2), 1868-1880.
- Lian, J., Chen, S., Zhou, S, Wang, Z., O'Fallon J, Li, C.Z., Garcia-Perez, M. (2010) Separation, hydrolysis and fermentation of pyrolytic sugars to produce ethanol and lipids. *Bioresour Technol.* 101(24) 9688-99.
- Lian, J., Garcia-Perez, M., Chen, S. (2013) Fermentation of levoglucosan with oleaginous yeasts for lipid production. *Bioresource Technology* 133, 183–189.
- Liaw, S-S., Perez, V.H., Zhou, S., Rodriguez-Justo, O., Garcia-Perez, M. (2014) Py-GC/MS studies and principal component analysis to evaluate the impact of feedstock and temperature on the distribution of products during fast pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 109, 140–151.
- Liaw, S-S., Zhou, S., Wu, H., Garcia-Perez, M. (2013) Effect of pretreatment temperature on the yield and properties of bio-oils obtained from the auger pyrolysis of Douglas fir wood. *Fuel* 103, 672–682.
- Liu, C.Z., Wang, F., Ou-Yang, F. (2009) Ethanol fermentation in a magnetically fluidized bed reactor with immobilized *Saccharomyces cerevisiae* in magnetic particles. *Bioresource Technology* 100, 878–882.
- Lopes, P., Borzani, W., Rodrigues, J., Ratusznei, S. (2010). Influência de campo magnético na fermentação alcoólica descontínua. *Braz. J. Food Technol.*, 13(1), 38-51.
- Medina, K.J.D. (2013) Produção de bioetanol a partir de hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar empregando as leveduras

- Scheffersomyces* (*Pichia*) *stipitis* NRRL Y-7124 e *Candida shehatae* UFMG HM 52.2 visando à aplicação em bioprocessos com campo eletromagnético. Universidade de São Paulo. Lorena.
- Mesa, L.D.R.M. (2011) Estudo da Pirólise de Cana-de-Açúcar Integral. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica. Campinas São Paulo.
- Mesa-Pérez, J.M., Rocha, J.D., Barbosa-Cortez, L.A., Penedo-Medina, M., Luengo, C.A., Cascarosa, E. (2013) Fast oxidative pyrolysis of sugar cane straw in a fluidized bed reactor. *Applied Thermal Engineering* 56, 167-175.
- Mishra, A., Sharma, A.K., Sharma, S., Bagai, R., Mathur, A.S., Gupta, R.P., Tuli, D.K. (2016) Lignocellulosic ethanol production employing immobilized *Saccharomyces cerevisiae* in packed bed reactor. *Renewable Energy*, 1-7.
- Montoya, J.I., Valdés, C., Chejne, F., Gómez, C.A., Blanco, A., Marrugo, G., Osorio, J., Castillo, E., Aristobulo, J., Acero, J. (2015) Bio-oil production from Colombian bagasse by fast pyrolysis in a fluidized bed: an experimental study. *J Anal Appl Pyrol* 112, 379–87.
- Moraes, M.S.A., Georges, F., Almeida, S.R., Damasceno, F.C., Maciel, G.P. da S., Zini, C.A., Jacques, R.A., Caramão, E.B. (2012) Analysis of products from pyrolysis of Brazilian sugar cane straw. *Fuel Processing Technology* 101, 35–43.
- Motaung, T.E., Anandjiwala, R.D., 2015. Effect of alkali and acid treatment on thermal degradation kinetics of sugar cane bagasse. *Ind. Crop. Prod.* 74, 472-477.
- Mourant, D., Wang, Z., He, M., Wang, X.S., Garcia-Perez, M., Ling, K., Li, C-Z. (2011) Mallee wood fast pyrolysis: Effects of alkali and alkaline earth metallic species on the yield and composition of bi-oil. *Fuel*, 90, 2915-2922.
- Munasinghe, P.C., Khanal, S.K. (2010) Biomass-derived syngas fermentation into biofuels: Opportunities and challenges. *Bioresource Technology* 101, 5013–5022.
- Najafpour, G., Younesi, H., Ismail, K.S.K. (2004) Ethanol fermentation in an immobilized cell reactor using *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology* 92, 251–260.

- Novák, J., Strasák, L., Fojt, L., Slaninová, I., Vetterl, V. (2007). Effects of low-frequency magnetic fields on the viability of yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioelectrochemistry*, 70, 115-121.
- Ortiz, A.P., Segura, F.J.N., Jabalera, R.S., Paula, M.M. da S., Campo, E.A.D., Gutiérrez, J.S., Bretado, M.A.E., Collins-Martínez, V. (2013) Low temperature sugar cane bagasse pyrolysis for the production of high purity hydrogen through steam reforming and CO₂ capture. *International Journal of Hydrogen Energy* 38, 12580-12588.
- Oudenhoven, R.G., Westerhof, R.J.M., Kersten, S.R.A. (2015) Fast pyrolysis of organic acid leached wood, straw, hay and bagasse: Improved oil and sugar yields. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 116, 253–262.
- Patwardhan, P.R., Satrio, J.A., Brown, R.C., Shanks, B.H., 2010. Influence of inorganic salts on the primary pyrolysis products of cellulose. *Bioresour. Technol.*101, 4646–4655.
- Pecha, B., Arauzo, P., Garcia-Perez, M. (2015) Impact of combined acid washing and acid impregnation on the pyrolysis of Douglas fir wood. *Analytical and Applied Pyrolysis. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 114, 127–137.
- Pelaez-Samaniego, M.R., Yadama, V., Lowell, E., Amidon T.E., Chaffee, T.L., (2013) Hot water extracted wood fiber for production of wood plastic composites (WPCs). *Holzforschung* 67 (2) 193–200.
- Perez, V.H., Reyes, A.F., Justo, O.R., Alvarez, D.C., Alegre, R.M. (2007) Bioreactor Coupled with Electromagnetic Field Generator: Effects of Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields on Ethanol Production by *Saccharomyces cereWisiae*. *Biotechnol. Prog.*, 23, 1091-1094.
- Qi, Z., Jie, C., Tiejun, W., Ying, X. (2007) Review of biomass pyrolysis oil properties and upgrading research. *Energy Conversion and Management* 48, 87–92.
- Rattanapan, Z., Limtong, S., Phisalaphong, M. (2011) Ethanol production by repeated batch and continuous fermentations of blackstrap molasses using immobilized yeast cells on thin-shell silk cocoons. *Applied Energy* 88, 4400–4404.
- Rocha, G.J. de M., Nascimento, V.M., Gonçalves, A.R., Silva, V.F.N., Martín, C. (2015) Influence of mixed sugarcane bagasse samples evaluated by

- elemental and physical–chemical composition. *Industrial Crops and Products*. 64, 52–58
- Sarkar, N., Ghosh, S.K., Bannerjee, S., Aikat, K. (2012) Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy* 37, 19-27.
- Sarkar, N., Ghosh, S.K., Bannerjee, S., Aikat, K. (2012) Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy* 37, 19-27.
- Shahsavarani H., Hasegawa D., Yokota D., Sugiyama M., Kaneko Y., Boonchird C., Harashima S. (2013) Enhanced bio-ethanol production from cellulosic materials by semi-simultaneous saccharification and fermentation using high temperature resistant *Saccharomyces cerevisiae* TJ14. *J. Biosci. Bioeng.*;115(1):20–23.
- Soccol, C.R., Vandenberghe, L.P.S., Medeiros, A.B.P., Karp, S.G., Buckeridge, M., Ramos, L.P., Pitarelo, A.P., Ferreira-Leitão, V., Gottschalk, L.M.F., Ferrara, M.A., Bon, E.B.S., Moraes, L.M.P., Araújo, J.A., Torres, F.A.G. Bioethanol from lignocelluloses: Status and perspectives in Brazil. *Bioresource Technology* 101 (2010) 4820–4825.
- Solar, J., Marco, I. de, Caballero, B.M., Lopez-Uriónabarrenechea, A., Rodríguez, N., Agirre, I., Adrados, A. (2016) Influence of temperature and residence time in the pyrolysis of woody biomass waste in a continuous screw reactor. *Biomass and Bioenergy*. 1-8.
- Tran, D.T., Pole, I.Y., Lin, C.W. (2013) Developing co-culture system of dominant cellulolytic *Bacillus* sp. THLA0409 and dominant ethanolic *Klebsiella oxytoca* THLC0409 for enhancing ethanol. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. production from lignocellulosic materials.
- Tsai, W.T., Lee, M.K., Chang, Y.M. (2006) Fast pyrolysis of rice straw, sugarcane bagasse and coconut shell in an induction-heating reactor. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 76, 230–237.
- Tuzmen, N. Akdogan, F., Kalburcu, T., Akgol, S., Liu, C-Z. (2012) Development of the magnetic beds for dye ligand affinity chromatography and application to magnetically stabilized bed system. *Process Biochem.*, 45, 556-562.
- Wang, H., Livingstin, D., Srinivasan, R., Li, Q., Seteele, P., Yu, D., 2012. Detoxification and fermentation of pyrolytic sugars for ethanol production. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 168, 1568-1583.

- Wang, Z., Zhou, S., Pecha, B., Westerhof, R.J.M., Garcia-Perez, M., 2014. Effect of Pyrolysis Temperature and Sulfuric Acid During the Fast Pyrolysis of Cellulose and Douglas Fir in an Atmospheric Pressure Wire Mesh Reactor. *Energy Fuels* 28, 5167–5177.
- Yang, H., Yan, R., Chen, H., Lee, D.H., Zheng, C., 2007. Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel* 86, 1781–1788.
- Yu, Z., Zhang, H. (2003) Ethanol fermentation of acid-hydrolyzed cellulosic pyrolysate with *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology* 90 95–100.
- Yu, Z., Zhang, H. (2003) Pretreatments of cellulose pyrolysate for ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia* sp. YZ-1 and *Zymomonas mobilis*. *Biomass Bioenergy*, 24, 257-262.
- Zhang, X., Yanga, W., Dong, C. (2013) Levoglucosan formation mechanisms during cellulose pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 104, 19–27.
- Zhou, S., Wang, Z., Liaw, S.S., Li, C.Z., Garcia-Perez, M. (2013) Effect of sulfuric acid on the pyrolysis of Douglas fir and hybrid poplarwood: Py-GC/MS and TG studies. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 104, 117–130.
- Zhou, Z., Mourant, D., Lievens, C., Wang, Y., Li, C., Garcia-Perez, M. (2013b) Effect of sulfuric acid concentration on the yield and properties of the bio-oils obtained from the auger and fast pyrolysis of Douglas Fir. *Fuel* 104, 536–546.
- Zhuang, X.L., Zhang, H.X., Tang, J.J. (2001) Levoglucosan kinase involved in citric acid fermentation by *Aspergillus niger* CBX-209 using levoglucosan as sole carbon and energy source. *Biomass and Bioenergy* 21, 53–60.

APÊNDICE A

Tabelas com os compostos da pirólise do bagaço de cana não tratado, bagaço de cana tratado com ácido acético, bagaço de cana submetido à lavagem com HNO_3 em diferentes temperaturas de pirólise (350; 400; 450; 500; 550 e 600 °C) para os respectivos tratamentos do bagaço de cana.

APPENDIX A

Tables with pyrolysis compounds of untreated sugarcane bagasse, sugarcane bagasse treated with acetic acid and cane bagasse washed with HNO₃ at different pyrolysis temperatures (350, 400, 450, 500, 550 and 600 °C) for each treatment of sugarcane bagasse.

Tabela A1. Compostos condensáveis da pirólise-CG/MS do bagaço de cana.

Pico	Compostos	TR	Formula	m/z	MM
1	Dióxido de carbono	1.59	CO ₂	44	44
2	Ácido propanoico, 2-oxo-	1.79	C ₃ H ₄ O ₃	43	88
3	Acetaldeido	1.84	C ₂ H ₄ O	43	44
4	Ácido acético	2.51	C ₂ H ₄ O ₂	43	60
5	2-Propanone, 1-hidroxi-	2.66	C ₃ H ₆ O ₂	43	74
6	ni	-	-	-	-
7	1,2-Etanediol, monoacetato	3.96	C ₄ H ₈ O ₃	43	104
8	Ácido propanoico, 2-oxo-, metil ester	4.31	C ₄ H ₆ O ₃	43	102
9	Furfural	5.12	C ₅ H ₄ O ₂	96	96
10	2-Furanmetanol	5.7	C ₅ H ₆ O ₂	41	98
11	2-Ciclopenteno-1-one, 2-hidroxi-	7.26	C ₅ H ₆ O ₂	98	98
12	ni	7.91	-	-	-
13	Ácido butanedioico, metil-	8.12	C ₅ H ₈ O ₄	86	132
14	2,4(3H,5H)-Furandione, 3-metil-	9.04	C ₅ H ₆ O ₃	114	114
15	1,2-Ciclopentanedione, 3-metil-	9.83	C ₆ H ₈ O ₂	112	112
16	ni	10.54	-	-	-
17	2,5-Dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanone	11,19	C ₆ H ₈ O ₃	43	128
18	Fenol, 2-metoxi-	11.26	C ₇ H ₈ O ₂	109	124
19	ni	-	-	-	-
20	ni	12.78	-	-	-
21	Fenol, 3,4-dimetil-	13.26	C ₈ H ₁₀ O	107	122
22	Fenol, 2-metoxi-4-metil-	13.76	C ₈ H ₁₀ O ₂	123	138
23	ni	13.92	-	-	-
24	Benzofurano, 2,3-dihidro-	14.51	C ₈ H ₈ O	120	120
25	1,4:3,6-Dianidro- α -D-glucopiranosose	15.27	C ₆ H ₈ O ₄	69	144
26	Fenol, 4-etil-2-metoxi-	15.75	C ₉ H ₁₂ O ₂	137	152
27	2-Metoxi-4-vinilfenol	16.57	C ₉ H ₁₀ O ₂	135	150
28	Fenol, 2,6-dimetoxi-	17.46	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	154
29	Vanilina	18.65	C ₈ H ₈ O ₃	151	152
30	Fenol, 2-metoxi-4-(1-propenil)-, (E)-	19.5	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164
31	Fenol, 2-metoxi-4-propil-	19.84	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	137	166
32	Fenol, 3-metoxi-2,4,6-trimetil-	20.46	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	151	166
33	Levogluosana	21.77	C ₆ H ₁₀ O ₅	60	162
34	3',5'-Dimetoxiacetofenone	21.91	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	165	180
35	ni	-	-	-	-
36	Benzaldehyde, 4-hidroxi-3,5-dimetoxi-	23.86	C ₉ H ₁₀ O ₄	182	182
37	ni	-	-	-	-
38	Fenol, 2,6-dimetoxi-4-(2-propenil)-	24.42	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194	194
39	Etanone, 1-(4-hidroxi-3,5-dimetoxifenil)-	25.15	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	181	196
40	Desaspidinol	25.8	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	167	210
41	ni	26.7	-	-	-
42	ni	28.72	-	-	-
43	3,5-Dimetoxi-4-hidroxicinnamaldehyde	29.43	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	208	208

TR - tempo de retenção (min); **m/z** – razão massa-carga dos espectros de massa; **MM**- massa molecular (kg/ kmol); **ni** – não identificado.

Table A1. Py-GC/MS condensable compounds of the sugarcane bagasse.

Peak n°	Compound	TR	Formula	m/z	mw
1	Carbon dioxide	1,59	CO ₂	44	44
2	Propanoic acid, 2-oxo-	1,79	C ₃ H ₄ O ₃	43	88
3	Acetaldehyde	1,84	C ₂ H ₄ O	43	44
4	Acetic acid	2,51	C ₂ H ₄ O ₂	43	60
5	2-Propanone, 1-hydroxy-	2,66	C ₃ H ₆ O ₂	43	74
6	ni				
7	1,2-Ethanediol, monoacetate	3,96	C ₄ H ₈ O ₃	43	104
8	Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester	4,31	C ₄ H ₆ O ₃	43	102
9	Furfural	5,12	C ₅ H ₄ O ₂	96	96
10	2-Furanmethanol	5,7	C ₅ H ₆ O ₂	41	98
11	2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-	7,26	C ₅ H ₆ O ₂	98	98
12	ni	7,91			
13	Butanedioic acid, methyl-	8,12	C ₅ H ₈ O ₄	86	132
14	2,4(3H,5H)-Furandione, 3-methyl-	9,04	C ₅ H ₆ O ₃	114	114
15	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	9,83	C ₆ H ₈ O ₂	112	112
16	ni	10,54			
17	ni	11,06			
18	Phenol, 2-methoxy-	11,26	C ₇ H ₈ O ₂	109	124
19	ni				
20	ni	12,78			
21	Phenol, 3,4-dimethyl-	13,26	C ₈ H ₁₀ O	107	122
22	Phenol, 2-methoxy-4-methyl-	13,76	C ₈ H ₁₀ O ₂	123	138
23	ni	13,92			
24	Benzofuran, 2,3-dihydro-	14,51	C ₈ H ₈ O	120	120
25	1,4:3,6-Dianhydro-à-d-glucopyranose	15,27	C ₆ H ₈ O ₄	69	144
26	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	15,75	C ₉ H ₁₂ O ₂	137	152
27	2-Methoxy-4-vinylphenol	16,57	C ₉ H ₁₀ O ₂	135	150
28	Phenol, 2,6-dimethoxy-	17,46	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	154
29	Vanillin	18,65	C ₈ H ₈ O ₃	151	152
30	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (E)-	19,5	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164
31	Phenol, 2-methoxy-4-propyl-	19,84	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	137	166
32	Phenol, 3-methoxy-2,4,6-trimethyl-	20,46	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	151	166
33	Levoglucosan	21,77	C ₆ H ₁₀ O ₅	60	162
34	3',5'-Dimethoxyacetophenone	21,91	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	165	180
35	ni				
36	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy-	23,86	C ₉ H ₁₀ O ₄	182	182
37	ni				
38	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	24,42	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194	194
39	Ethanone, 1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-	25,15	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	181	196
40	Desaspidinol	25,8	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	167	210
41	ni	26,7			
42	ni	28,72			
43	3,5-Dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde	29,43	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	208	208

Rt – retention time (min); m/z - mass-to-charge ratio in the mass spectrum; MW- molecular weight (kg/ kmol); ni – not identified.

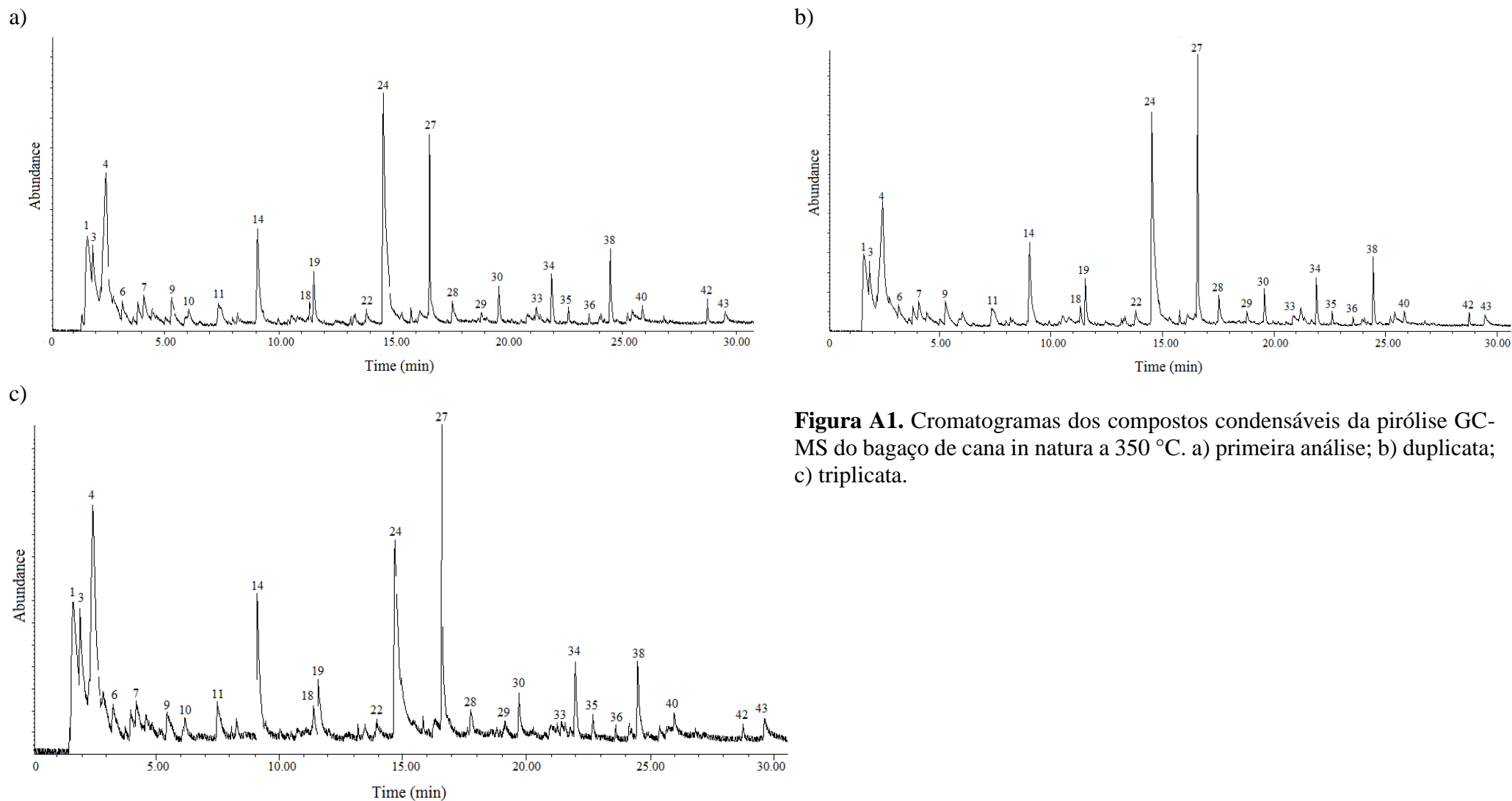


Figura A1. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC-MS do bagaço de cana in natura a 350 °C. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

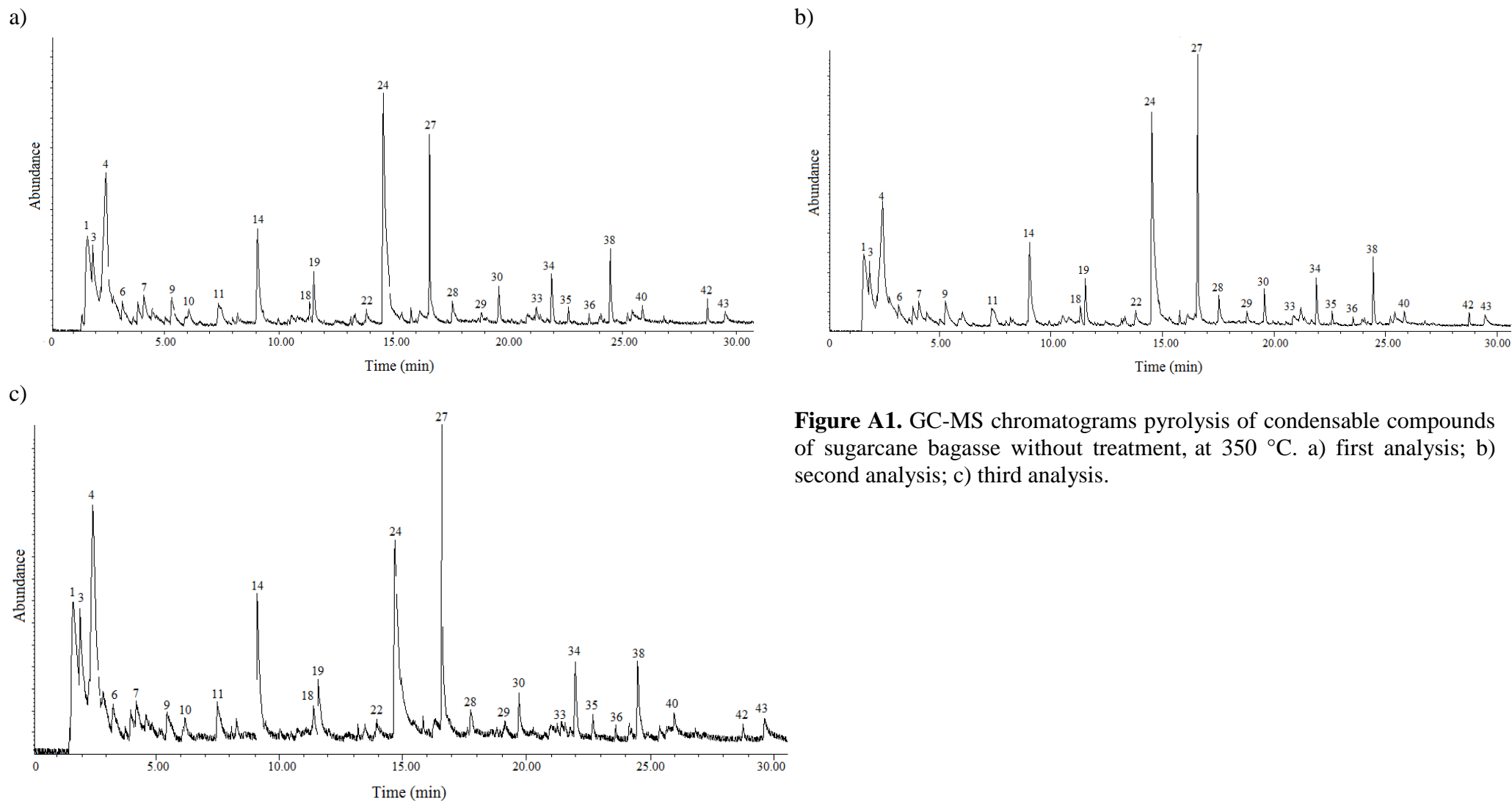


Figure A1. GC-MS chromatograms pyrolysis of condensable compounds of sugarcane bagasse without treatment, at 350 °C. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A2. Bagaço de cana in natura submetido à pirólise CG/MS a 350 °C em triplicata.

Pico n°	350°C			Média (Área pico/ mg)	STDEV
	1 (0.300 mg)	2 (0.697mg)	3 (0.277mg)		
1	336900253	176859831	209434841	241064975	84578858
2	-	-	-	-	-
3	67022673	32148154	44341513	47837446	17698141
4	138879240	75599301	82119004	98865848	34805607
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	38195170	20234983	23552502	27327552	9556690
8	-	-	-	-	-
9	24144423	15605829	10724458	16824904	6792531
10	-	-	-	-	-
11	16731447	10843634	9315321,3	12296801	3915801
12	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-
14	69531810	40393422	45824697	51916643	15495008
15	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	4987290	2907242,5	3329740,1	3741424,2	1099437
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	1056886.667	605255.3802	700888.0866	653071.7334	67622.53523
23	-	-	-	-	-
24	202947010	107353693	106531267	138943990	55429767
25	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-
27	39877990	24848201	26203292	30309828	8313926
28	9261940	5188665,7	6263057,8	6904554,5	2111049
29	5417270	3406682,9	3791061,4	4205004,8	1067299
30	6927133,3	4113038,7	3989880,9	5010017,6	1661412
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	10396153	7075241	6039014,4	7836802,9	2276213
34	5989100	3114166,4	4070079,4	4391115,3	1464107
35	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-
38	19413327	10267746	11494440	13725171	4964124
39	-	-	-	-	-
40	6451146,7	3567627	4030981,9	4683251,9	1548471
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	5744230	2963018,7	3536465,7	4081238,1	1468457

Table A2. Cane bagasse without treatment and pyrolysis CG/MS at 350 °C

Picon°	350°C			Average	STDEV
	1 (0.300 mg)	2 (0.697mg)	3 (0.277mg)		
1	336900253	176859831	209434841	241064975	84578858
2	-	-	-	-	-
3	67022673	32148154	44341513	47837446	17698141
4	138879240	75599301	82119004	98865848	34805607
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	38195170	20234983	23552502	27327552	9556690
8	-	-	-	-	-
9	24144423	15605829	10724458	16824904	6792531
10	-	-	-	-	-
11	16731447	10843634	9315321,3	12296801	3915801
12	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-
14	69531810	40393422	45824697	51916643	15495008
15	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	4987290	2907242,5	3329740,1	3741424,2	1099437
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	1056886.667	605255.3802	700888.0866	653071.7334	67622.53523
23	-	-	-	-	-
24	202947010	107353693	106531267	138943990	55429767
25	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-
27	39877990	24848201	26203292	30309828	8313926
28	9261940	5188665,7	6263057,8	6904554,5	2111049
29	5417270	3406682,9	3791061,4	4205004,8	1067299
30	6927133,3	4113038,7	3989880,9	5010017,6	1661412
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	10396153	7075241	6039014,4	7836802,9	2276213
34	5989100	3114166,4	4070079,4	4391115,3	1464107
35	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-
38	19413327	10267746	11494440	13725171	4964124
39	-	-	-	-	-
40	6451146,7	3567627	4030981,9	4683251,9	1548471
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	5744230	2963018,7	3536465,7	4081238,1	1468457

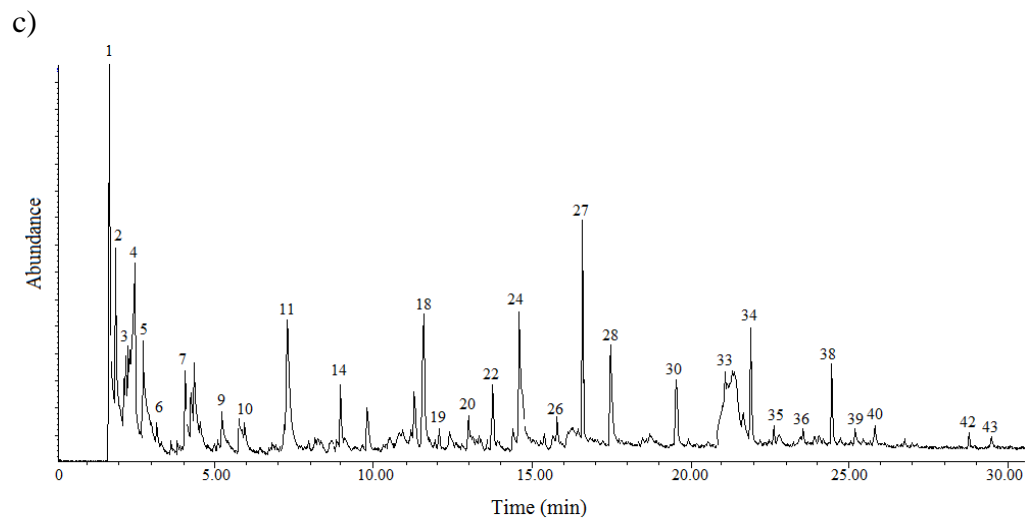
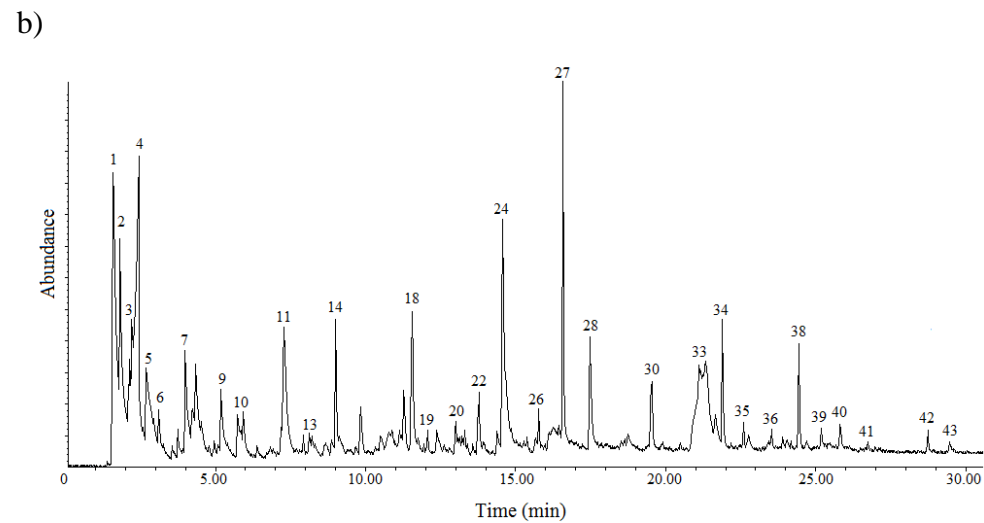
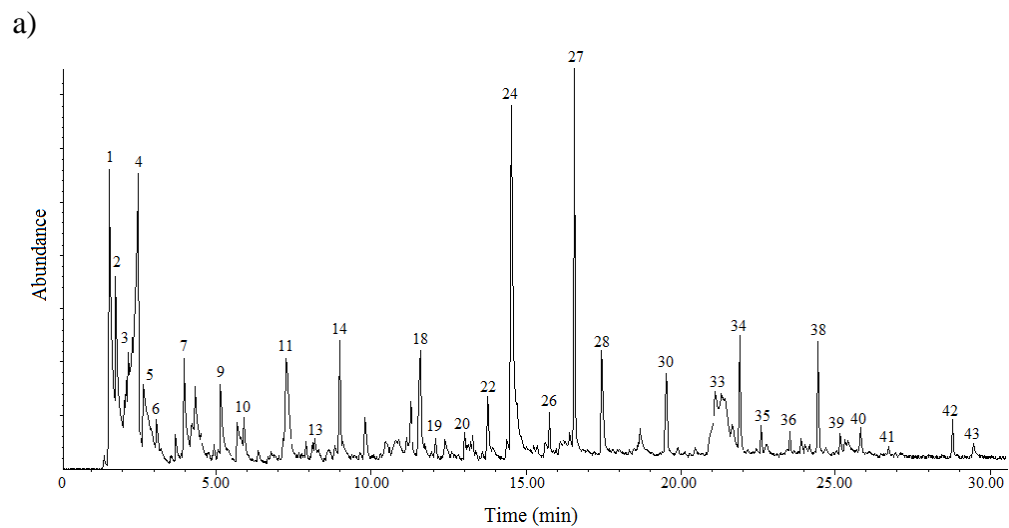


Figura A2. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC-MS do bagaço de cana in natura a 400 °C. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

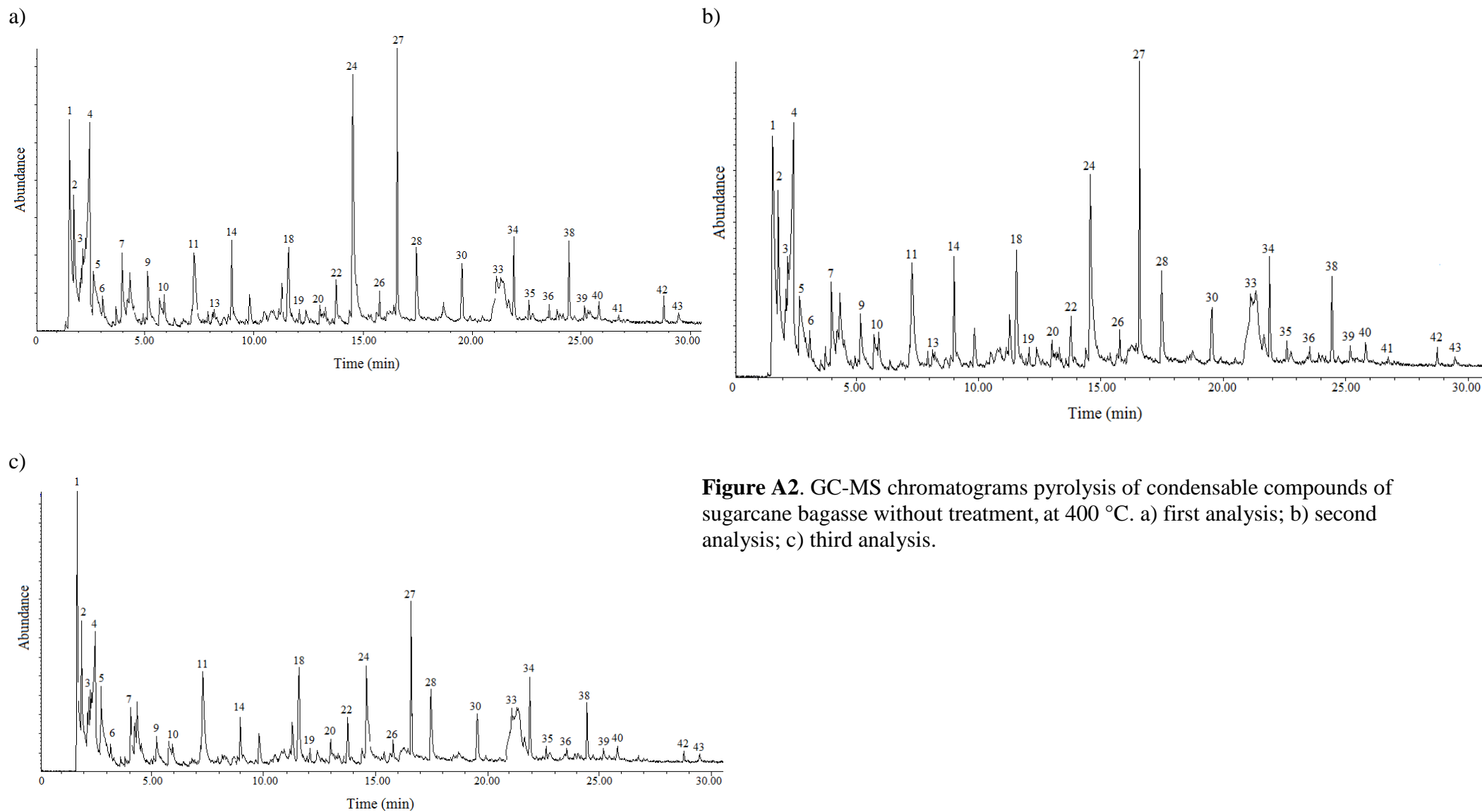


Figure A2. GC-MS chromatograms pyrolysis of condensable compounds of sugarcane bagasse without treatment, at 400 °C. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A3. Bagaço de cana não tratado submetido à pirólise CG/MS a 400 °C em triplicata.

Peak n°	400°C			Média (Área pico/ mg)	STDEV
	1 (0.547mg)	2 (0.468mg)	3 (0.590 mg)		
1	470490012,8	395691523,5	290403189,8	385528242	90472565,84
2	74221872,03	77613425,21	51064866,1	67633387,78	14448619,01
3	13629149,91	17630493,59	12278120,34	14512587,95	2783401,144
4	138417610,6	116463382,5	58120506,78	104333833,3	41500008,35
5	114873914,1	125310149,6	95709110,17	111964391,3	15013473,14
6	-	-	-	-	-
7	59019387,57	52317138,89	31751181,36	47695902,6	14209350,31
8	-	-	-	-	-
9	23592420,48	18744262,82	11541452,54	17959378,61	6063702,618
10	3465961,609	2316756,41	2427738,983	2736819,001	633889,5724
11	44643369,29	43984427,35	34680616,95	41102804,53	5571527,717
12	-	-	-	-	-
13	885776,9653	1076175,214	483981,3559	815311,1783	302320,131
14	33001228,52	31551153,85	14753633,9	26435338,75	10142600,77
15	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	10820270,57	8054782,051	7506803,39	8793952,003	1776103,979
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	5109380.256	4356788.462	4360620.339	4608929.685	433407.1422
23	-	-	-	-	-
24	136786738,6	80313914,53	39111889,83	85404180,98	49035977,9
25	-	-	-	-	-
26	6539140,768	5141869,658	3946501,695	5209170,707	1297629,151
27	38312574,04	29079408,12	17265035,59	28219005,92	10550115,53
28	21445594,15	20675470,09	18481777,97	20200947,4	1537833,03
29	-	-	-	-	-
30	8024420,475	4245544,872	3445016,949	5238327,432	2445801,928
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	88868085,92	82087331,2	86095913,56	85683776,89	3409112,955
34	7084989,031	6578643,162	5460176,271	6374602,822	831401,5105
35	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-
38	18177740,4	12955771,37	9353969,492	13495827,09	4436606,632
39	5138111,517	3439401,709	2566461,017	3714658,081	1307735,113
40	6653550,274	5867301,282	4551594,915	5690815,491	1062033,196
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	3102087,751	1941698,718	1551252,542	2198346,337	806643,3299

Table A3. Sugarcane bagasse without treatment and pyrolysis CG/MS at 400 °C

Peak n°	400°C in nature			Average	STDEV
	1 (0.547mg)	2 (0.468mg)	3 (0.590 mg)		
1	470490012,8	395691523,5	290403189,8	385528242	90472565,84
2	74221872,03	77613425,21	51064866,1	67633387,78	14448619,01
3	13629149,91	17630493,59	12278120,34	14512587,95	2783401,144
4	138417610,6	116463382,5	58120506,78	104333833,3	41500008,35
5	114873914,1	125310149,6	95709110,17	111964391,3	15013473,14
6	-	-	-	-	-
7	59019387,57	52317138,89	31751181,36	47695902,6	14209350,31
8	-	-	-	-	-
9	23592420,48	18744262,82	11541452,54	17959378,61	6063702,618
10	3465961,609	2316756,41	2427738,983	2736819,001	633889,5724
11	44643369,29	43984427,35	34680616,95	41102804,53	5571527,717
12	-	-	-	-	-
13	885776,9653	1076175,214	483981,3559	815311,1783	302320,131
14	33001228,52	31551153,85	14753633,9	26435338,75	10142600,77
15	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	10820270,57	8054782,051	7506803,39	8793952,003	1776103,979
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	5109380.256	4356788.462	4360620.339	4608929.685	433407.1422
23	-	-	-	-	-
24	136786738,6	80313914,53	39111889,83	85404180,98	49035977,9
25	-	-	-	-	-
26	6539140,768	5141869,658	3946501,695	5209170,707	1297629,151
27	38312574,04	29079408,12	17265035,59	28219005,92	10550115,53
28	21445594,15	20675470,09	18481777,97	20200947,4	1537833,03
29	-	-	-	-	-
30	8024420,475	4245544,872	3445016,949	5238327,432	2445801,928
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	88868085,92	82087331,2	86095913,56	85683776,89	3409112,955
34	7084989,031	6578643,162	5460176,271	6374602,822	831401,5105
35	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-
38	18177740,4	12955771,37	9353969,492	13495827,09	4436606,632
39	5138111,517	3439401,709	2566461,017	3714658,081	1307735,113
40	6653550,274	5867301,282	4551594,915	5690815,491	1062033,196
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	3102087,751	1941698,718	1551252,542	2198346,337	806643,3299

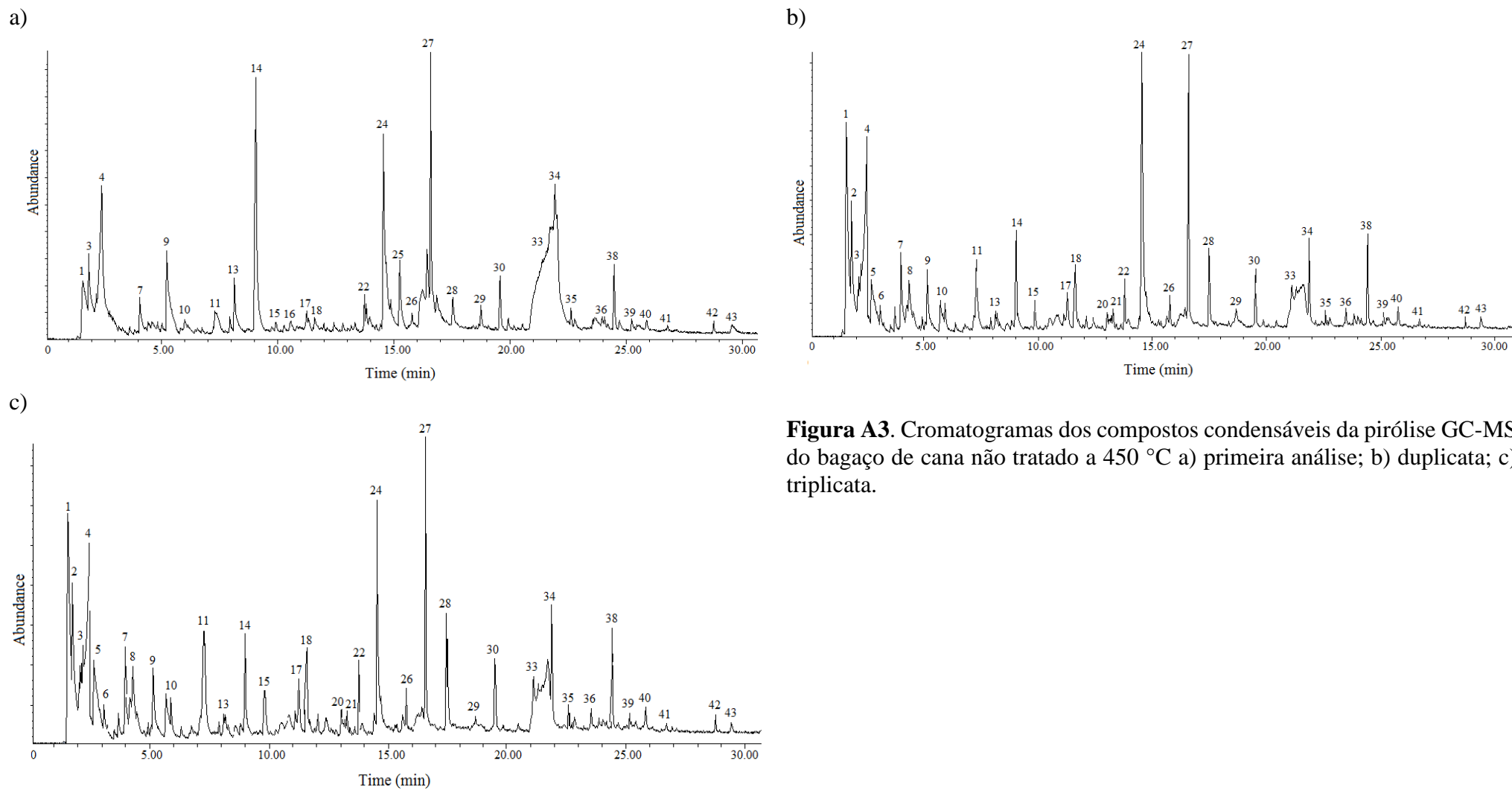


Figura A3. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC-MS do bagaço de cana não tratado a 450 °C a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

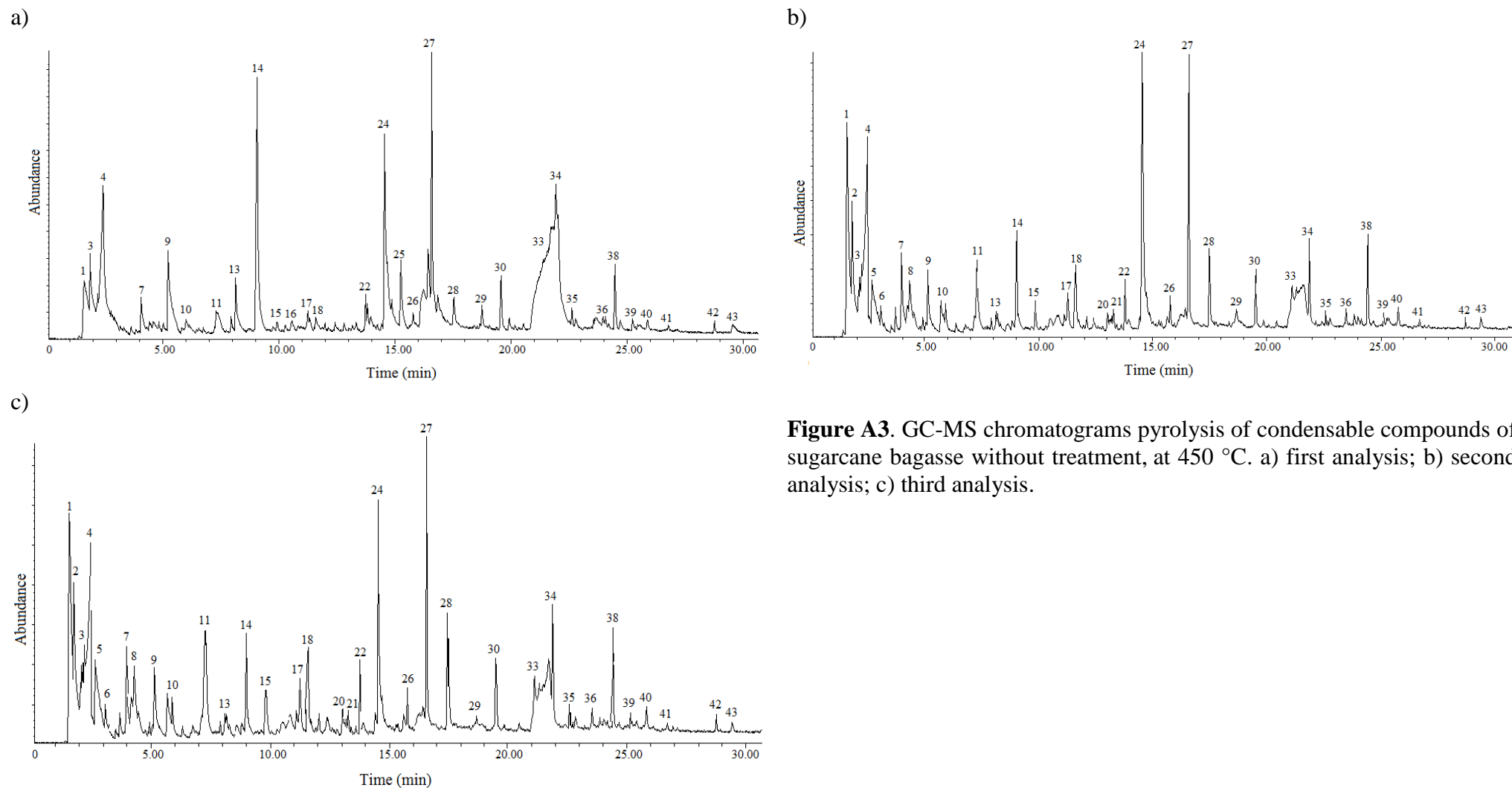


Figure A3. GC-MS chromatograms pyrolysis of condensable compounds of sugarcane bagasse without treatment, at 450 °C. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A4. Bagaço de cana não tratado submetido à pirólise CG/MS a 450 °C em triplicata.

Peak n°	450°C			Média	STDEV
	1 (0.585 mg)	2 (0.551 mg)	3 (0.738 mg)	(Área pico/ mg)	
1	391626406,8	479044294	391181159,9	420617286,9	50599762,15
2	75060748,72	93545573,5	71655395,66	80087239,29	11778971,82
3	11916649,57	8611254,083	19819254,74	13449052,8	5758994,22
4	111433012	153029087,1	109877383,5	124779827,5	24476938,04
5	122071405,1	116625197,8	123077108,4	120591237,1	3471305,307
6	-	-	-	-	-
7	52096632,48	62512711,43	49181029,81	54596791,24	7008675,275
8	60470176,07	60065043,56	60364452,57	60299890,73	210141,0512
9	18942562,39	20359990,93	20615788,62	19972780,65	901315,8994
10	2819107,692	3112072,595	3414827,913	3115336,067	297873,5186
11	36686981,2	38555464,61	36591704,61	37278050,14	1107298,608
12	-	-	-	-	-
13	1233567,521	1885994,555	1300608,401	1473390,159	358894,7069
14	28827781,2	45421068,97	28578120,6	34275656,92	9653017,138
15	10395295,73	11503435,57	11549937,67	11149556,32	653622,5182
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	187317.9487	228094.3739	199894.3089	205102.2105	20881.1
23	-	-	-	-	-
24	82510215,38	161871851,2	79953302,17	108111789,6	46575128,76
25	-	-	-	-	-
26	6193085,47	7723874,773	6617655,827	6844872,023	790284,3619
27	29996514,53	43133722,32	28766295,39	33965510,75	7963694,958
28	21121740,17	25051782,21	22641663,96	22938395,45	1981752,961
29	2134964,103	5472479,129	4008840,108	3872094,447	1672954,324
30	4826176,068	8665809,437	4809654,472	6100546,659	2221598,092
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	90800820,51	108899165,2	94927540,65	98209175,44	9484954,658
34	6231179,487	7784515,426	6355134,146	6790276,353	863263,9749
35	-	-	-	-	-
36	2861005,128	5047156,08	3163569,106	3690576,771	1184532,315
37	-	-	-	-	-
38	13745688,89	21450945,55	14205783,2	16467472,55	4321941,011
39	3504470,085	4779176,044	3869193,767	4050946,632	656501,6358
40	6180023,932	8255306,715	6691819,783	7042383,477	1081143,3
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	2113825,641	3626087,114	1828546,07	2522819,609	966046,3241

Table A4. Sugarcane bagasse without treatment and pyrolysis CG/MS at 450 °C

Peak n°	450°C in nature			Average	STDEV
	1 (0.585 mg)	2 (0.551 mg)	3 (0.738 mg)		
1	391626406,8	479044294	391181159,9	420617286,9	50599762,15
2	75060748,72	93545573,5	71655395,66	80087239,29	11778971,82
3	11916649,57	8611254,083	19819254,74	13449052,8	5758994,22
4	111433012	153029087,1	109877383,5	124779827,5	24476938,04
5	122071405,1	116625197,8	123077108,4	120591237,1	3471305,307
6	-	-	-	-	-
7	52096632,48	62512711,43	49181029,81	54596791,24	7008675,275
8	60470176,07	60065043,56	60364452,57	60299890,73	210141,0512
9	18942562,39	20359990,93	20615788,62	19972780,65	901315,8994
10	2819107,692	3112072,595	3414827,913	3115336,067	297873,5186
11	36686981,2	38555464,61	36591704,61	37278050,14	1107298,608
12	-	-	-	-	-
13	1233567,521	1885994,555	1300608,401	1473390,159	358894,7069
14	28827781,2	45421068,97	28578120,6	34275656,92	9653017,138
15	10395295,73	11503435,57	11549937,67	11149556,32	653622,5182
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	187317,9487	228094,3739	199894,3089	205102,2105	20881,1
23	-	-	-	-	-
24	82510215,38	161871851,2	79953302,17	108111789,6	46575128,76
25	-	-	-	-	-
26	6193085,47	7723874,773	6617655,827	6844872,023	790284,3619
27	29996514,53	43133722,32	28766295,39	33965510,75	7963694,958
28	21121740,17	25051782,21	22641663,96	22938395,45	1981752,961
29	2134964,103	5472479,129	4008840,108	3872094,447	1672954,324
30	4826176,068	8665809,437	4809654,472	6100546,659	2221598,092
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	90800820,51	108899165,2	94927540,65	98209175,44	9484954,658
34	6231179,487	7784515,426	6355134,146	6790276,353	863263,9749
35	-	-	-	-	-
36	2861005,128	5047156,08	3163569,106	3690576,771	1184532,315
37	-	-	-	-	-
38	13745688,89	21450945,55	14205783,2	16467472,55	4321941,011
39	3504470,085	4779176,044	3869193,767	4050946,632	656501,6358
40	6180023,932	8255306,715	6691819,783	7042383,477	1081143,3
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	2113825,641	3626087,114	1828546,07	2522819,609	966046,3241

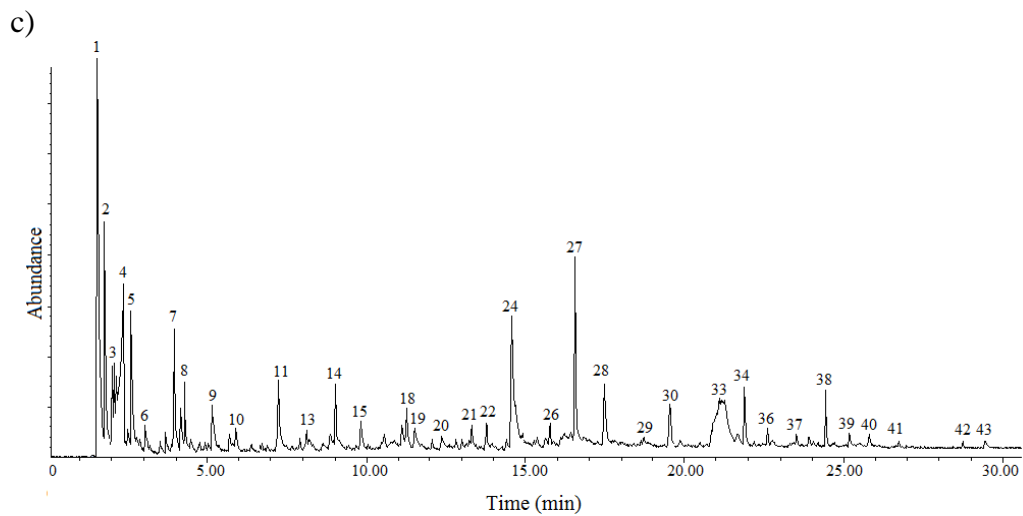
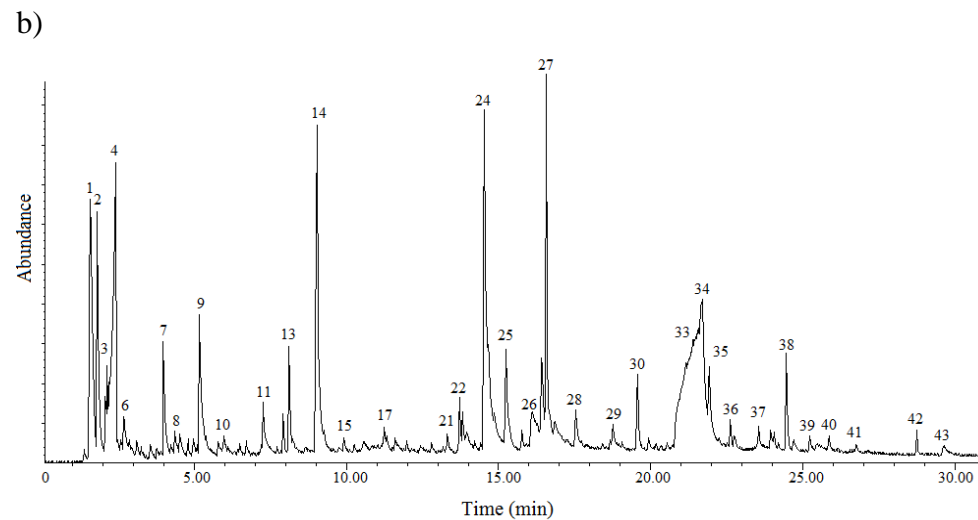
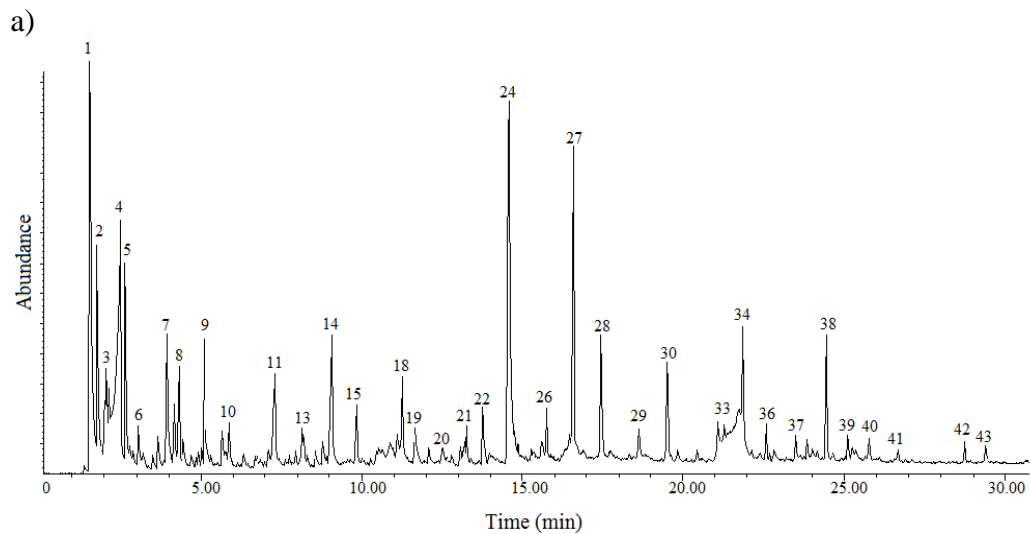


Figura A4. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC-MS do bagaço de cana não tratado a 500 °C. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

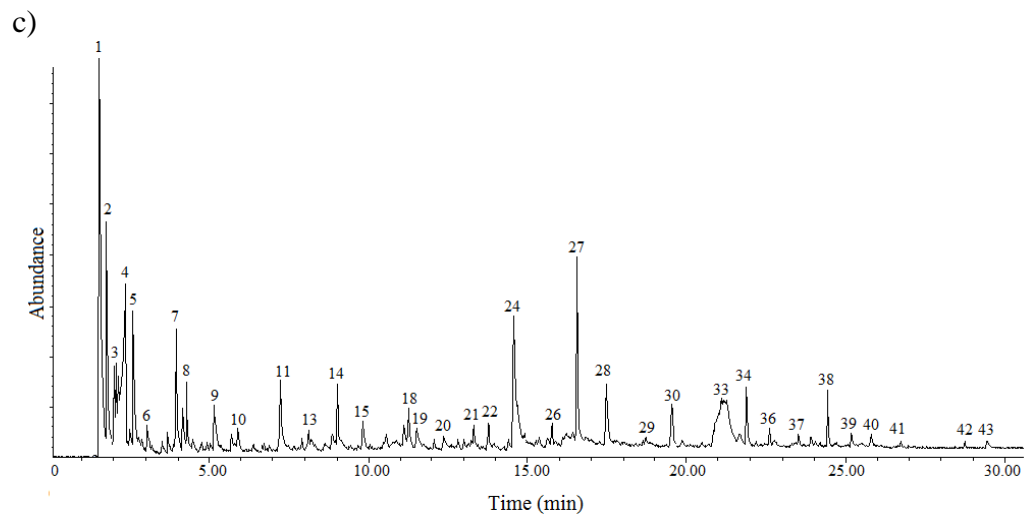
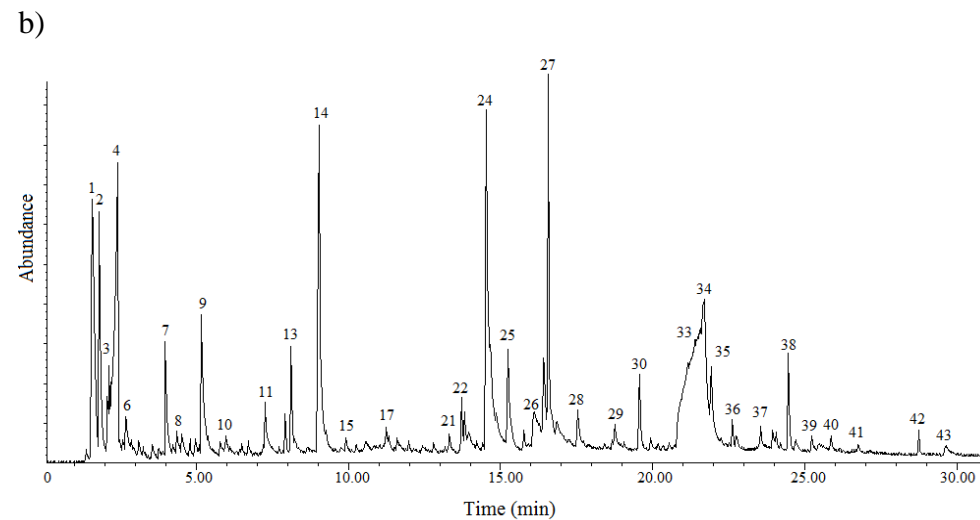
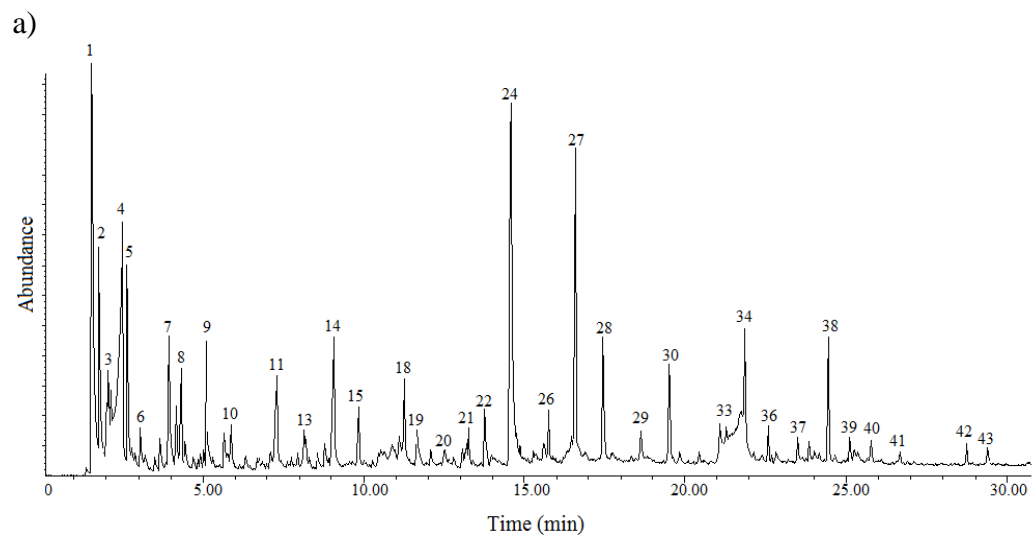


Figure A4. GC-MS chromatograms pyrolysis of condensable compounds of sugarcane bagasse without treatment, at 500 °C. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A5. Bagaço de cana não tratado submetido à pirólise CG/MS a 500 °C em triplicata.

Peak n°	500 °C			Média	STDEV
	1 (0.878 mg)	2 (0.451 mg)	3 (0.875 mg)	(Área pico/ mg)	
1	364596904,3	419972811,5	334719907	373096541	43257338,1
2	85042448,75	94269603,1	69324425,48	82878825,78	12612550,1
3	27926572,89	29674709,53	21632526,11	26411269,51	4229809,309
4	127015662,9	95286858,09	86430723,57	102911081,5	21339655,85
5	88031146,92	97296144,12	81518638,22	88948643,09	7928667,768
6	-	-	-	-	-
7	63815082	61629760,53	47978457,32	57807766,62	8582272,334
8	49354144,65	49941512,2	36848064,97	45381240,6	7395780,214
9	23608497,72	19458984,48	19469298,09	20845593,43	2392750,862
10	1905625,285	1063266,075	1560822,93	1509904,763	423481,7046
11	24330656,04	26282294,9	21299117,2	23970689,38	2511015,134
12	-	-	-	-	-
13	3346602,506	1598299,335	1409775,796	2118225,879	1067973,377
14	52033104,78	34169383,59	34684573,25	40295687,21	10168165,2
15	12293906,61	12548512,2	10897276,43	11913231,74	889005,0044
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	12363080,87	11230547,67	10825580,89	11473069,81	796924,8917
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	281297.2665	245620.8426	249173.2484	258697.1192	19652.73243
23	-	-	-	-	-
24	145690097,9	83526372,51	78935620,38	102717363,6	37286199,51
25	-	-	-	-	-
26	9065693,622	7235503,326	7529761,783	7943652,91	982791,1928
27	40508403,19	31578115,3	29166085,35	33750867,95	5975172,302
28	23716797,27	21821164,08	19032336,31	21523432,55	2356379,993
29	5488919,134	2408847,007	2607596,178	3501787,44	1723773,357
30	8851615,034	5097935,698	5999529,936	6649693,556	1959479,954
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	88733223,23	93405022,17	75176498,09	91069122,7	3303460,71
34	6546359,909	6074339,246	5222736,306	5947811,82	670821,6997
35	-	-	-	-	-
36	4960366,743	3337330,377	3068877,707	3788858,276	1023396,685
37	-	-	-	-	-
38	19556923,69	13212798,23	13000845,86	15256855,93	3725475,545
39	5404297,267	4167656,319	3827896,815	4466616,8	829634,0293
40	6560126,424	5347297,118	5046028,025	5651150,522	801479,0444
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	3346259,681	2205512,195	2073363,057	2541711,645	699884,9949

Table A5. Sugarcane bagasse without treatment and pyrolysis CG/MS at 500 °C

Peak n°	500°C in nature			Average	STDEV
	1 (0.878 mg)	2 (0.451 mg)	3 (0.875 mg)		
1	364596904,3	419972811,5	334719907	373096541	43257338,1
2	85042448,75	94269603,1	69324425,48	82878825,78	12612550,1
3	27926572,89	29674709,53	21632526,11	26411269,51	4229809,309
4	127015662,9	95286858,09	86430723,57	102911081,5	21339655,85
5	88031146,92	97296144,12	81518638,22	88948643,09	7928667,768
6	-	-	-	-	-
7	63815082	61629760,53	47978457,32	57807766,62	8582272,334
8	49354144,65	49941512,2	36848064,97	45381240,6	7395780,214
9	23608497,72	19458984,48	19469298,09	20845593,43	2392750,862
10	1905625,285	1063266,075	1560822,93	1509904,763	423481,7046
11	24330656,04	26282294,9	21299117,2	23970689,38	2511015,134
12	-	-	-	-	-
13	3346602,506	1598299,335	1409775,796	2118225,879	1067973,377
14	52033104,78	34169383,59	34684573,25	40295687,21	10168165,2
15	12293906,61	12548512,2	10897276,43	11913231,74	889005,0044
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	12363080,87	11230547,67	10825580,89	11473069,81	796924,8917
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	281297.2665	245620.8426	249173.2484	258697.1192	19652.73243
23	-	-	-	-	-
24	145690097,9	83526372,51	78935620,38	102717363,6	37286199,51
25	-	-	-	-	-
26	9065693,622	7235503,326	7529761,783	7943652,91	982791,1928
27	40508403,19	31578115,3	29166085,35	33750867,95	5975172,302
28	23716797,27	21821164,08	19032336,31	21523432,55	2356379,993
29	5488919,134	2408847,007	2607596,178	3501787,44	1723773,357
30	8851615,034	5097935,698	5999529,936	6649693,556	1959479,954
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	88733223,23	93405022,17	75176498,09	91069122,7	3303460,71
34	6546359,909	6074339,246	5222736,306	5947811,82	670821,6997
35	-	-	-	-	-
36	4960366,743	3337330,377	3068877,707	3788858,276	1023396,685
37	-	-	-	-	-
38	19556923,69	13212798,23	13000845,86	15256855,93	3725475,545
39	5404297,267	4167656,319	3827896,815	4466616,8	829634,0293
40	6560126,424	5347297,118	5046028,025	5651150,522	801479,0444
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	3346259,681	2205512,195	2073363,057	2541711,645	699884,9949

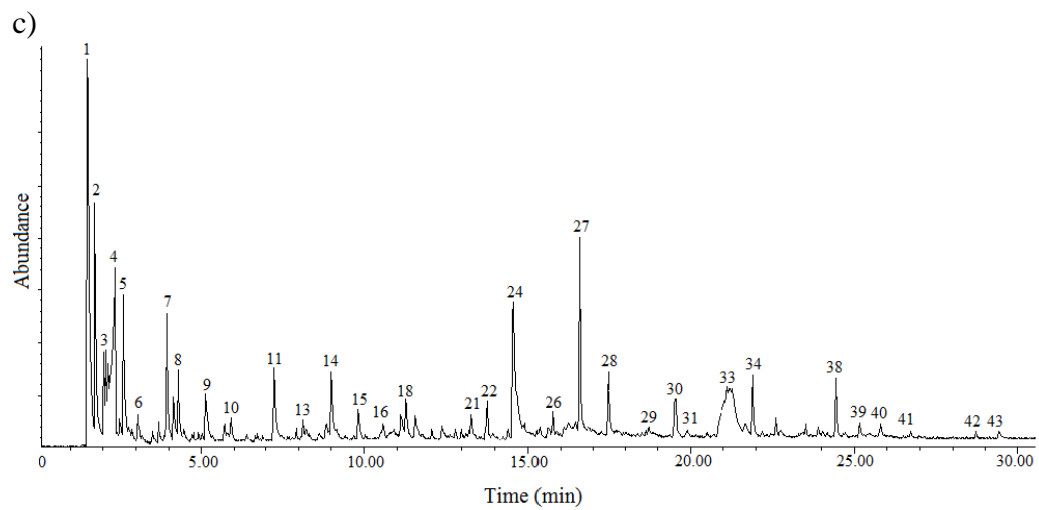
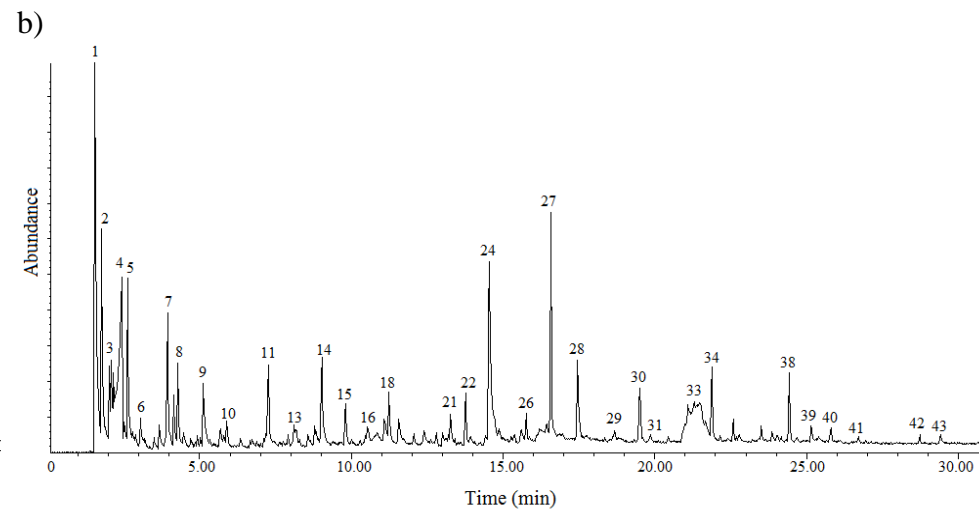
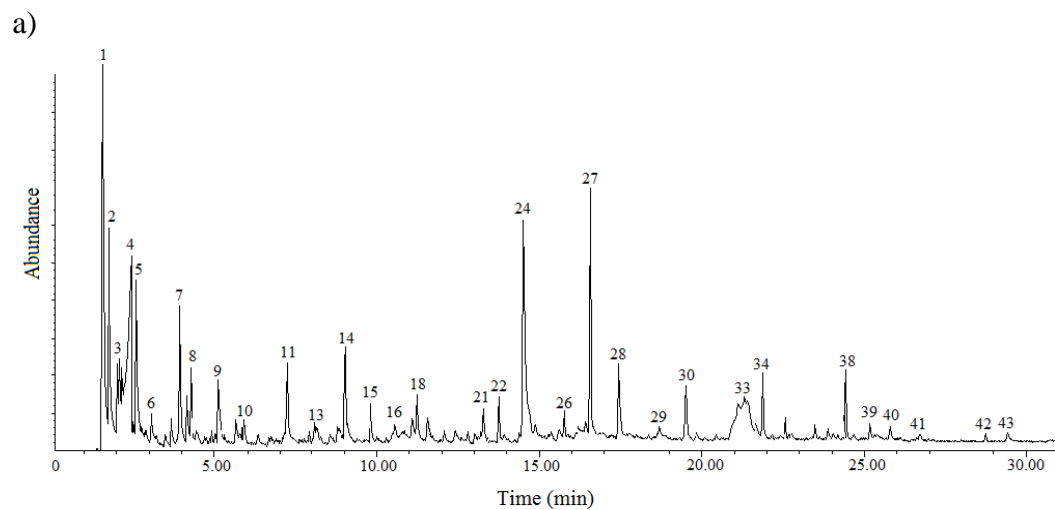


Figura A5. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC-MS do bagaço de cana não tratado a 550 °C. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

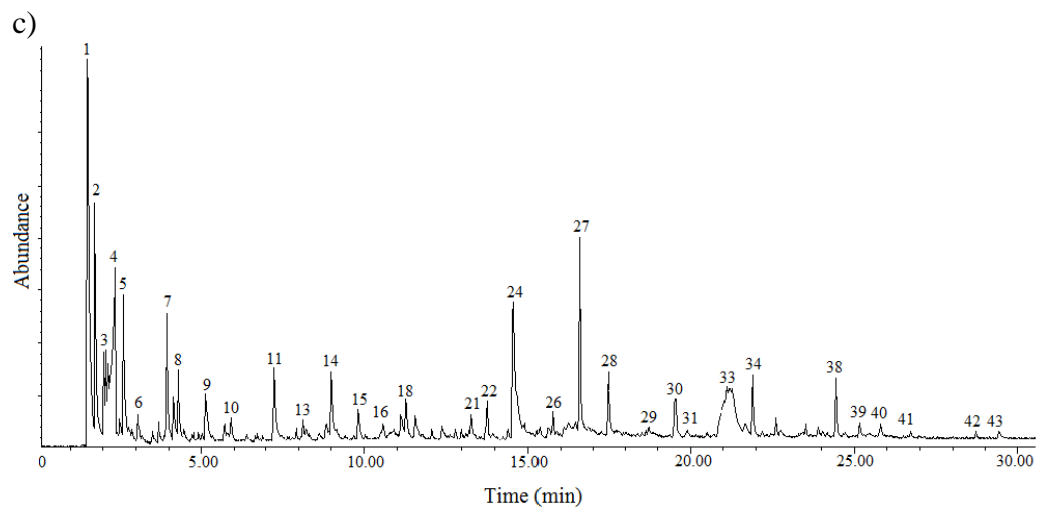
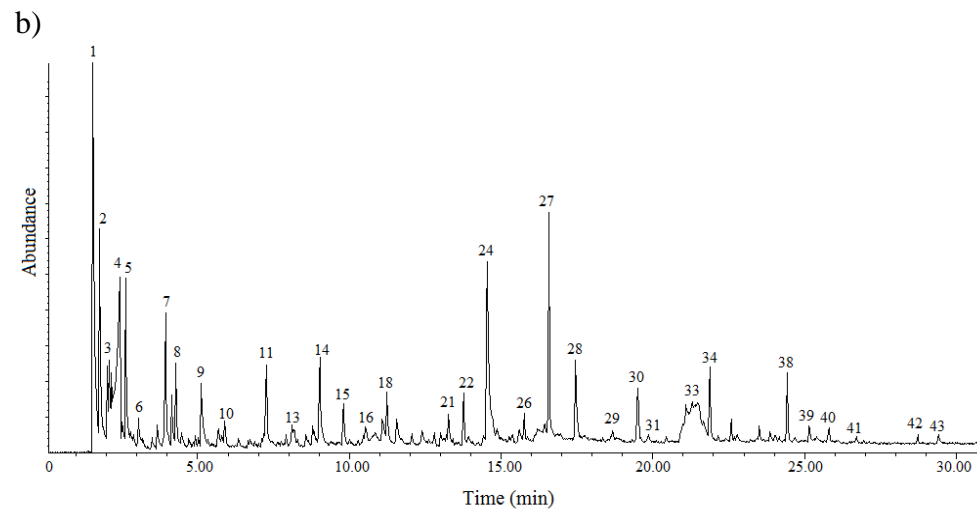
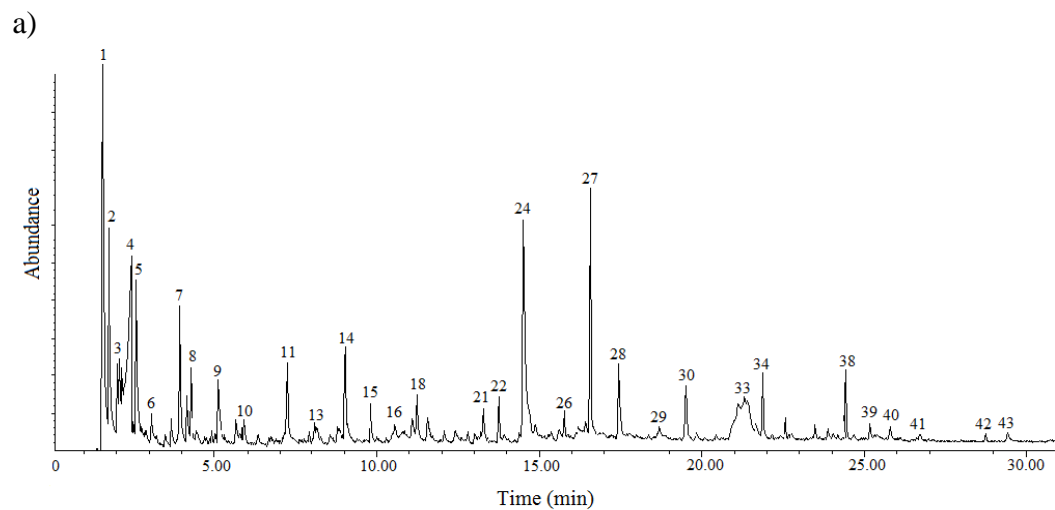


Figure A5. GC-MS chromatograms pyrolysis of condensable compounds of sugarcane bagasse without treatment, at 550 °C. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A6. Bagaço de cana não tratado submetido à pirólise CG/MS a 550 °C em triplicata.

Pico n°	550 °C			Média	STDEV
	1 (0.569 mg)	2 (0.652 mg)	3 (0.355 mg)	(Área pico/ mg)	
1	419406421,8	349476026,1	475405115,5	414762521,1	63092854,2
2	94099291,74	82135473,93	111557402,8	95930722,83	14796218,43
3	27773339,19	26260141,1	26143898,59	26725792,96	909061,5529
4	114191253,1	92288381,9	110478062	105652565,6	11721689,4
5	91622300,53	76587167,18	101569180,3	89926216	12577073,26
6	-	-	-	-	-
7	60812328,65	52154354,29	66493901,41	59820194,78	7221073,332
8	42029159,93	40214369,63	49343974,65	43862501,4	4833040,208
9	25780702,99	19600766,87	21202087,32	22194519,06	3207271,919
10	1590760,984	1030452,454	1072808,451	1231340,63	311986,7803
11	21581015,82	534306,7485	25554698,59	15890007,05	13446028,69
12	-	-	-	-	-
13	2132355,009	22521076,69	2368735,211	9007388,969	11703793,65
14	44980367,31	34761069,02	38311332,39	39350922,91	5188359,637
15	11347381,37	10180952,45	12520890,14	11349741,32	1169970,629
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	9925247,803	9810720,859	10995501,41	10243823,36	653486,0559
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	205000	207546.0123	221850.7042	211465.5722	9083.433852
23	-	-	-	-	-
24	109979314,6	81892294,48	93787157,75	95219588,94	14098193,82
25	-	-	-	-	-
26	6387702,988	5992854,294	6604225,352	6328260,878	309989,7834
27	33819091,39	28557363,5	33129878,87	31835444,59	2859740,407
28	19351892,79	19493053,68	21730529,58	20191825,35	1334424,828
29	3455984,183	2520980,061	2665754,93	2880906,391	503265,1293
30	6516351,494	5261245,399	5992132,394	5923243,096	630382,526
31	2751282,953	2478104,294	3137470,423	2788952,557	331293,1813
32	-	-	-	-	-
33	82082240,77	83721756,13	98258546,48	88020847,8	8903923,764
34	5577516,696	5594648,773	6416118,31	5862761,26	479297,8154
35	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-
38	15124202,11	13216656,44	14508177,46	14283012,01	973502,5585
39	4325692,443	4071237,73	4691284,507	4362738,227	311678,9919
40	5163527,241	5129188,65	5819047,887	5370587,926	388757,0415
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	2848356,766	2184664,11	2874442,254	2635821,043	390931

Table A6. Sugarcane bagasse without treatment and pyrolysis CG/MS at 550 °C

Peak n°	550°C in nature			Average	STDEV
	1 (0.569 mg)	2 (0.652 mg)	3 (0.355 mg)		
1	419406421,8	349476026,1	475405115,5	414762521,1	63092854,2
2	94099291,74	82135473,93	111557402,8	95930722,83	14796218,43
3	27773339,19	26260141,1	26143898,59	26725792,96	909061,5529
4	114191253,1	92288381,9	110478062	105652565,6	11721689,4
5	91622300,53	76587167,18	101569180,3	89926216	12577073,26
6	-	-	-	-	-
7	60812328,65	52154354,29	66493901,41	59820194,78	7221073,332
8	42029159,93	40214369,63	49343974,65	43862501,4	4833040,208
9	25780702,99	19600766,87	21202087,32	22194519,06	3207271,919
10	1590760,984	1030452,454	1072808,451	1231340,63	311986,7803
11	21581015,82	534306,7485	25554698,59	15890007,05	13446028,69
12	-	-	-	-	-
13	2132355,009	22521076,69	2368735,211	9007388,969	11703793,65
14	44980367,31	34761069,02	38311332,39	39350922,91	5188359,637
15	11347381,37	10180952,45	12520890,14	11349741,32	1169970,629
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	9925247,803	9810720,859	10995501,41	10243823,36	653486,0559
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	205000	207546.0123	221850.7042	211465.5722	9083.433852
23	-	-	-	-	-
24	109979314,6	81892294,48	93787157,75	95219588,94	14098193,82
25	-	-	-	-	-
26	6387702,988	5992854,294	6604225,352	6328260,878	309989,7834
27	33819091,39	28557363,5	33129878,87	31835444,59	2859740,407
28	19351892,79	19493053,68	21730529,58	20191825,35	1334424,828
29	3455984,183	2520980,061	2665754,93	2880906,391	503265,1293
30	6516351,494	5261245,399	5992132,394	5923243,096	630382,526
31	2751282,953	2478104,294	3137470,423	2788952,557	331293,1813
32	-	-	-	-	-
33	82082240,77	83721756,13	98258546,48	88020847,8	8903923,764
34	5577516,696	5594648,773	6416118,31	5862761,26	479297,8154
35	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-
38	15124202,11	13216656,44	14508177,46	14283012,01	973502,5585
39	4325692,443	4071237,73	4691284,507	4362738,227	311678,9919
40	5163527,241	5129188,65	5819047,887	5370587,926	388757,0415
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	2848356,766	2184664,11	2874442,254	2635821,043	390931

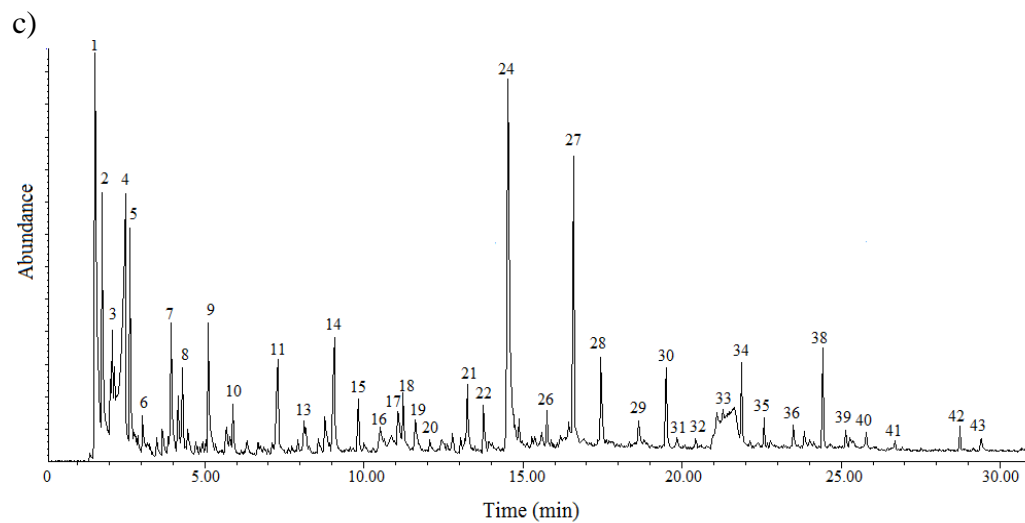
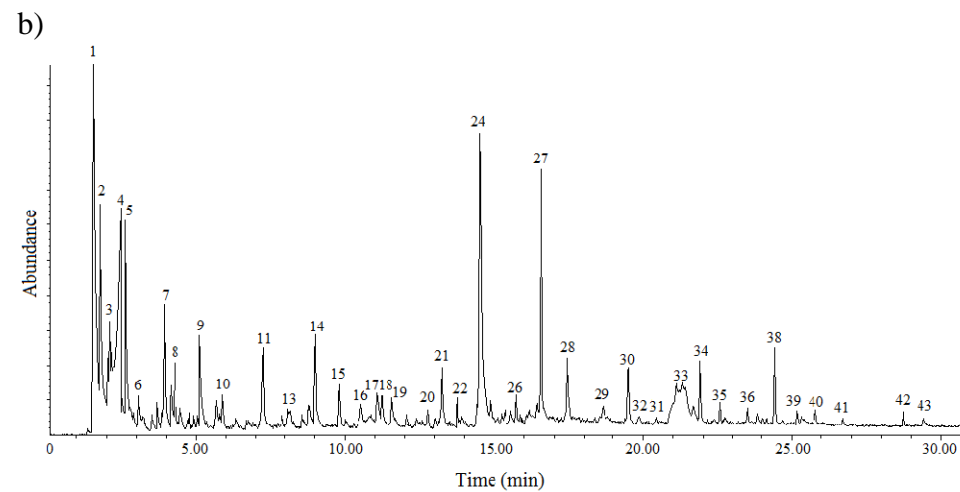
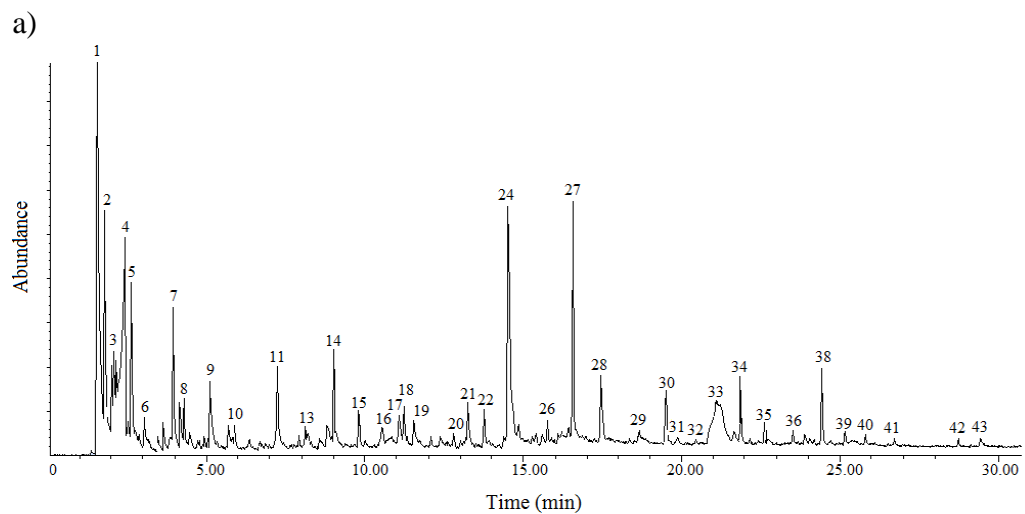


Figura A6. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC-MS do bagaço de cana não tratado a 600 °C a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

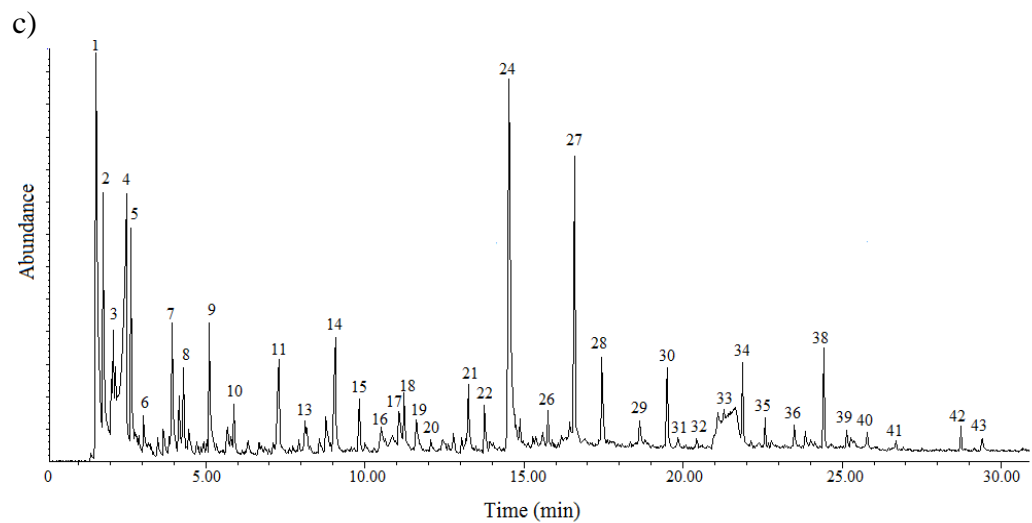
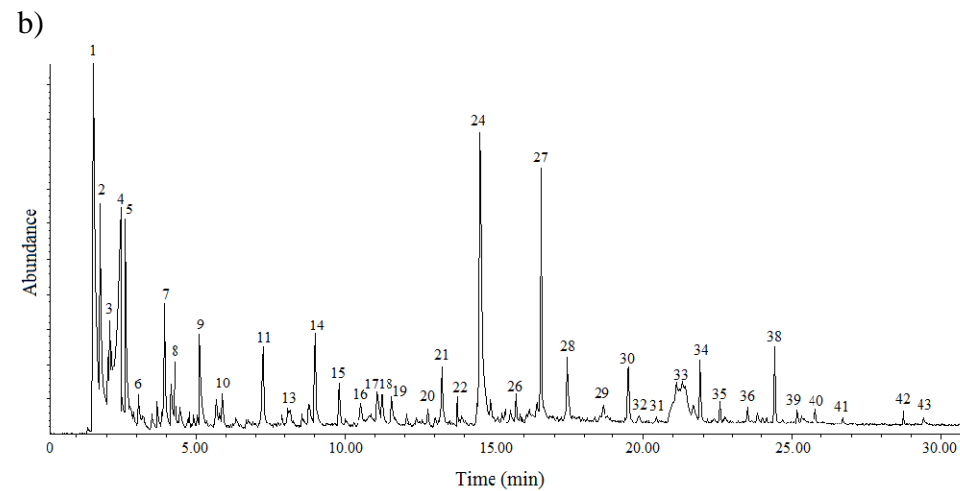
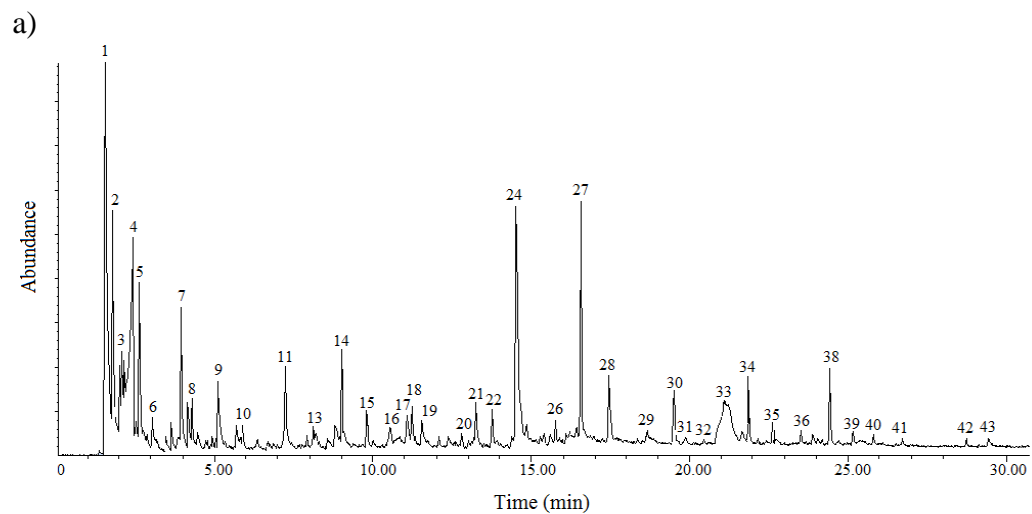


Figure A6. GC-MS chromatograms pyrolysis of condensable compounds of sugarcane bagasse without treatment, at 600 °C. a) first analysis; b) second analysis;c) third analysis.

Tabela A7. Bagaço de cana não tratado submetido à pirólise CG/MS a 600 °C em triplicata.

Pico n°	600 °C			Média	STDEV
	1 (0.553 mg)	2 (0.607 mg)	3 (0.823 mg)	(Área pico/ mg)	
1	410576622,1	477322827	360952397,3	416283948,8	58394772,12
2	87929698,01	99444288,3	88228363,3	91867449,87	6563433,605
3	28823922,24	37870688,63	34374515,19	33689708,69	4562095,515
4	108322188,1	139938285	128669983	125643485,4	16023862,28
5	90436775,77	108278683,7	80375516,4	93030325,29	14131226,43
6	-	-	-	-	-
7	52572139,24	55076138,39	57386142,16	55011473,26	2407652,844
8	35638746,84	37832952,22	41054894,29	38175531,12	2724276,699
9	21621150,09	28329481,05	22758810,45	24236480,53	3589994,113
10	1285631,103	1876820,428	1430244,228	1530898,587	308179,622
11	20820164,56	25026051,07	24486235,72	23444150,45	2288411,377
12	-	-	-	-	-
13	1810674,503	1533156,507	2387346,294	1910392,435	435738,2211
14	38906426,76	40857326,19	41713688,94	40492480,63	1438754,478
15	9914558,77	12031500,82	11452793,44	11132951,01	1094113,933
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	7321245,931	7737200,988	8361617,254	7806688,058	523654,9072
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	3724209.765	4095565.074	4429931.956	4083235.598	353022.6123
22	3724209.765	4095565.074	4429931.956	4083235.598	353022.6123
23	-	-	-	-	-
24	110431135,6	147283560,1	143010631,8	133575109,2	20156813,08
25	331229,6564	410416,804	416883,3536	386176,6047	47695,17173
26	4568690,778	5720757,825	5958307,412	5415918,672	743272,3457
27	29162075,95	34540891,27	34290652,49	32664539,9	3035802,229
28	15499258,59	15764084,02	16130961,12	15798101,24	317222,1614
29	3526189,873	4863998,353	5309817,74	4566668,655	928243,3965
30	5612556,962	6727935,75	7398459,295	6579650,669	902138,0908
31	4527969,259	2470031,301	3063546,78	3353849,113	1059237,34
32	1524056.058	1717708.402	1972651.276	1738138.579	224994.3588
33	61580198,92	65765950,58	73336313,49	66894154,33	5958707,094
34	4722900,542	4830490,939	4926760,632	4826717,371	101982,4194
35	-	-	-	-	-
36	3758772,152	3854220,758	4303230,863	3972074,591	290733,4972
37	-	-	-	-	-
38	13975122,97	15579515,65	15497445,93	15017361,52	903537,3571
39	3505070,524	3564677,1	4040635,48	3703461,035	293518,6378
40	4342126,582	4852112,026	4558691,373	4584309,994	255956,097
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	2573285,714	2408151,565	2818820,17	2600085,816	206641,8639

Table A7. Sugarcane bagasse without treatment and pyrolysis CG/MS at 600 °C

Peak n°	600°C in nature			Average	STDEV
	1 (0.553 mg)	2 (0.607 mg)	3 (0.823 mg)		
1	410576622,1	477322827	360952397,3	416283948,8	58394772,12
2	87929698,01	99444288,3	88228363,3	91867449,87	6563433,605
3	28823922,24	37870688,63	34374515,19	33689708,69	4562095,515
4	108322188,1	139938285	128669983	125643485,4	16023862,28
5	90436775,77	108278683,7	80375516,4	93030325,29	14131226,43
6	-	-	-	-	-
7	52572139,24	55076138,39	57386142,16	55011473,26	2407652,844
8	35638746,84	37832952,22	41054894,29	38175531,12	2724276,699
9	21621150,09	28329481,05	22758810,45	24236480,53	3589994,113
10	1285631,103	1876820,428	1430244,228	1530898,587	308179,622
11	20820164,56	25026051,07	24486235,72	23444150,45	2288411,377
12	-	-	-	-	-
13	1810674,503	1533156,507	2387346,294	1910392,435	435738,2211
14	38906426,76	40857326,19	41713688,94	40492480,63	1438754,478
15	9914558,77	12031500,82	11452793,44	11132951,01	1094113,933
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	7321245,931	7737200,988	8361617,254	7806688,058	523654,9072
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	3724209.765	4095565.074	4429931.956	4083235.598	353022.6123
22	3724209.765	4095565.074	4429931.956	4083235.598	353022.6123
23	-	-	-	-	-
24	110431135,6	147283560,1	143010631,8	133575109,2	20156813,08
25	331229,6564	410416,804	416883,3536	386176,6047	47695,17173
26	4568690,778	5720757,825	5958307,412	5415918,672	743272,3457
27	29162075,95	34540891,27	34290652,49	32664539,9	3035802,229
28	15499258,59	15764084,02	16130961,12	15798101,24	317222,1614
29	3526189,873	4863998,353	5309817,74	4566668,655	928243,3965
30	5612556,962	6727935,75	7398459,295	6579650,669	902138,0908
31	4527969,259	2470031,301	3063546,78	3353849,113	1059237,34
32	1524056.058	1717708.402	1972651.276	1738138.579	224994.3588
33	61580198,92	65765950,58	73336313,49	66894154,33	5958707,094
34	4722900,542	4830490,939	4926760,632	4826717,371	101982,4194
35	-	-	-	-	-
36	3758772,152	3854220,758	4303230,863	3972074,591	290733,4972
37	-	-	-	-	-
38	13975122,97	15579515,65	15497445,93	15017361,52	903537,3571
39	3505070,524	3564677,1	4040635,48	3703461,035	293518,6378
40	4342126,582	4852112,026	4558691,373	4584309,994	255956,097
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	2573285,714	2408151,565	2818820,17	2600085,816	206641,8639

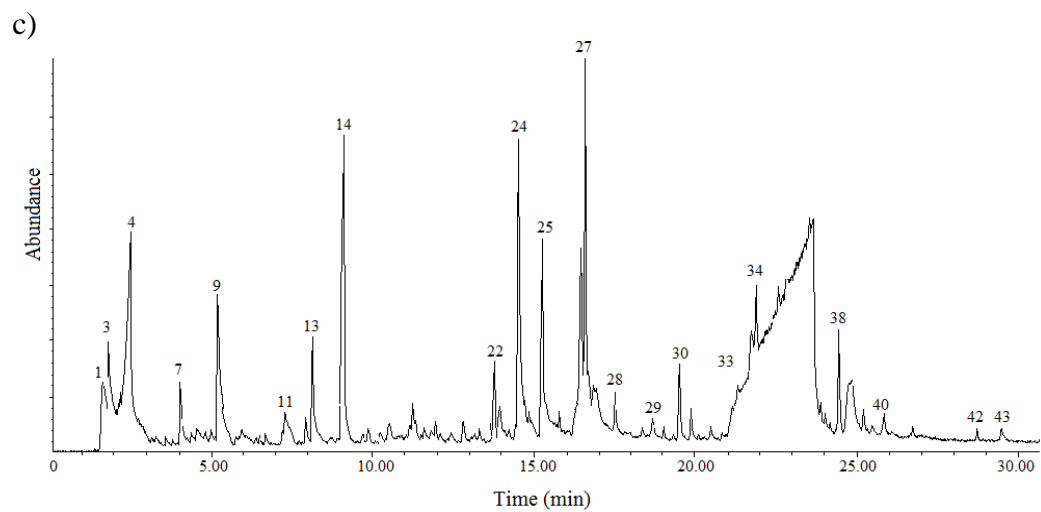
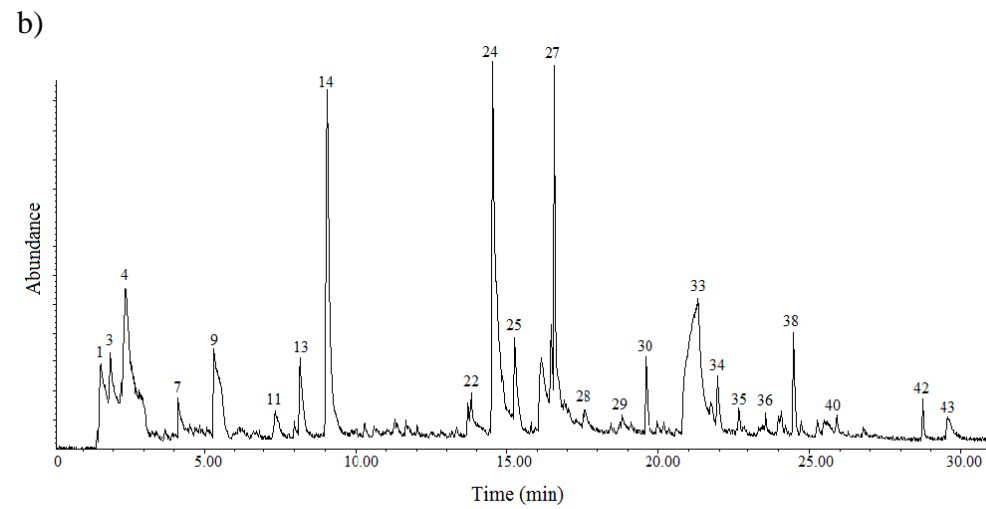
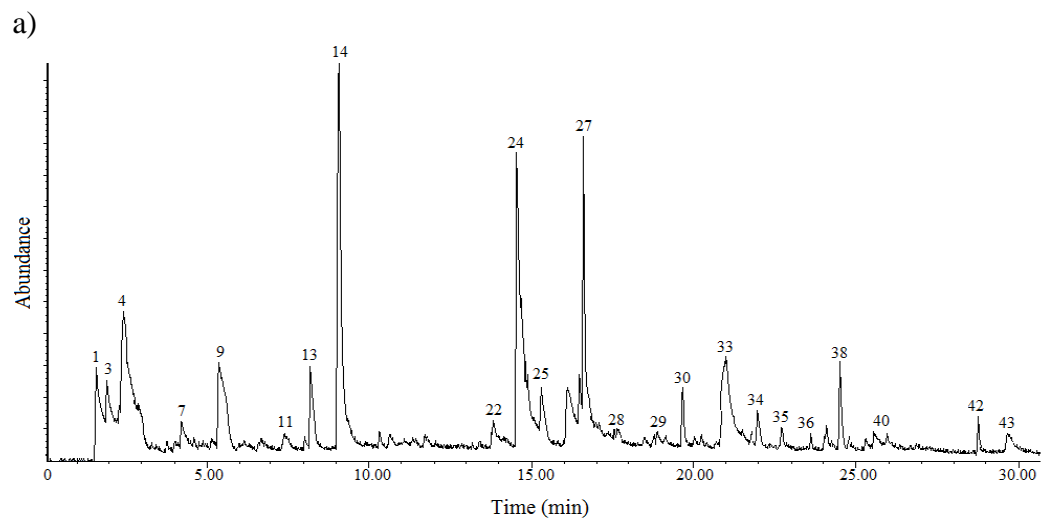


Figura A7. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC-MS do bagaço de cana com lavado com HNO_3 a $350\text{ }^\circ\text{C}$. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

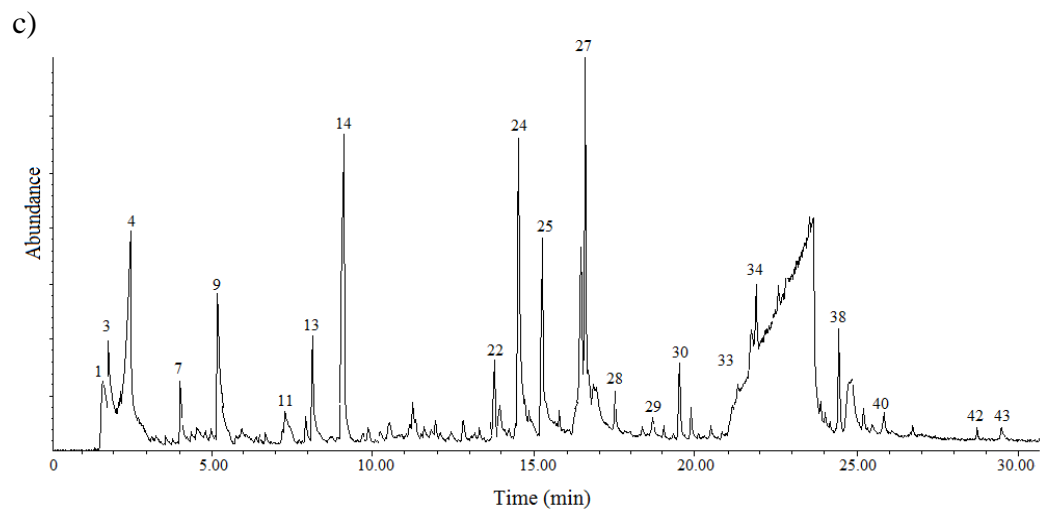
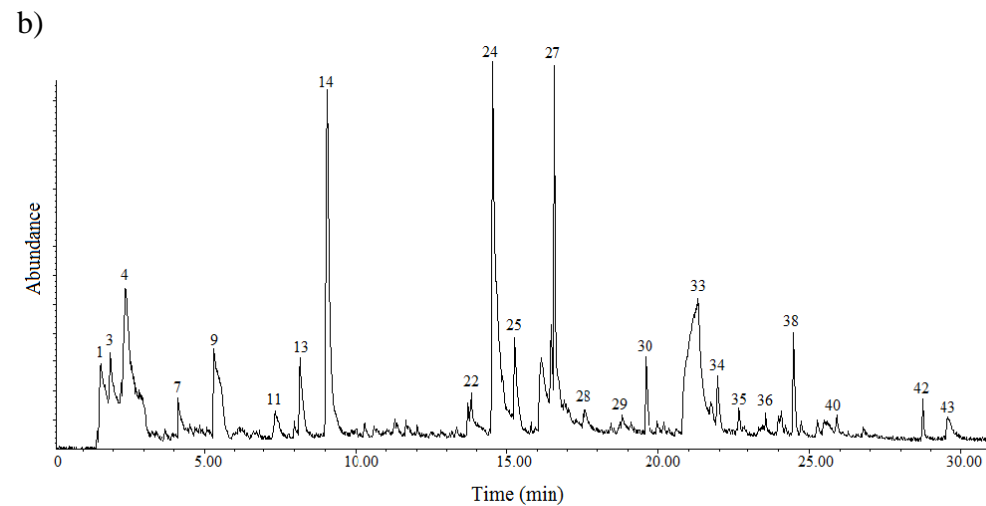
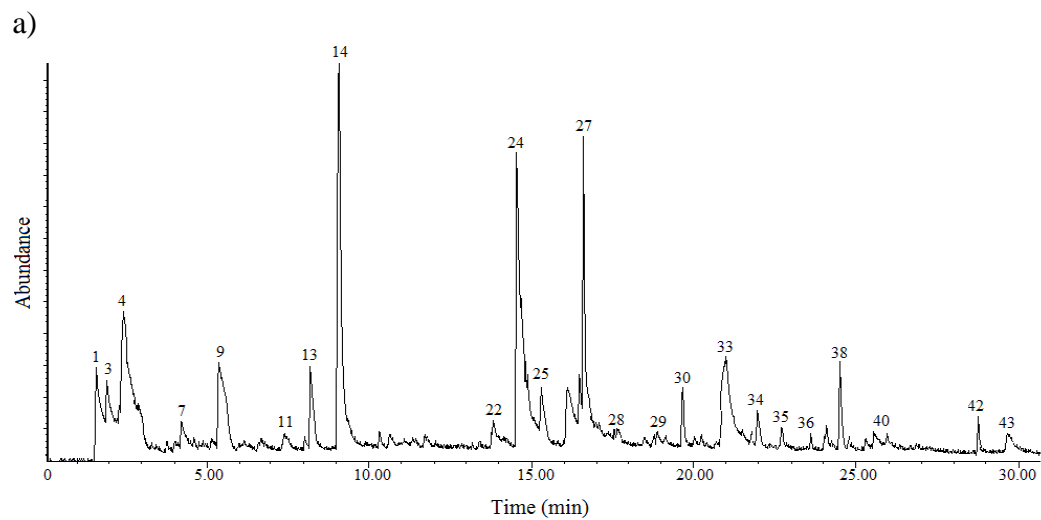


Figure A7. GC-MS chromatograms pyrolysis of condensable compounds of sugarcane bagasse washed with HNO_3 at 350°C . a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela 8. Bagaço de cana lavado com HNO₃ e submetido à pirólise CG/MS a 350 °C em triplicata.

Pico n°	350°C +HNO ₃			Média	STDEV
	1 (0.450 mg)	2 (0.445 mg)	3 (0.649 mg)	(Área pico/ mg)	
1	92684060	110991177,5	163076440,7	122250559,4	36521939,63
2	-	-	-	-	-
3	22646666,67	31156833,71	53577383,67	35793628,01	15978179,17
4	62140224,44	67429496,63	107413312,8	78994344,62	24753230,37
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	17411004,44	21708719,1	38827326,66	25982350,07	11329724,42
8	-	-	-	-	-
9	38682964,44	42061146,07	58818884,44	46520998,32	10783391,4
10	-	-	-	-	-
11	2935426,667	6737440,449	12571577,81	7414814,976	4853656,293
12	-	-	-	-	-
13	8811882,222	9446435,955	12059459,17	10105925,78	1721303,032
14	102612324,4	100892640,4	129356352,9	110953772,6	15960280,34
15	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-
24	84657166,67	107135352,8	80955855,16	90916124,88	14167654,81
25	1110044,444	1922103,371	5349685,67	2793944,495	2250271,015
26	-	-	-	-	-
27	16951824,44	22210959,55	28788041,6	22650275,2	5930325,272
28	1515473,333	2747035,955	7552272,727	3938260,672	3189827,421
29	2103522,222	2444334,831	3261204,931	2603020,661	594931,2631
30	4658860	5079040,449	5465377,504	5067759,318	403377,0804
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	-	86455132,6	77641112,5	82048122,53	6232453,385
34	1784493,333	2226728,09	3616366,718	2542529,38	955896,3677
35	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-
38	9189260	10834287,64	13526750,39	11183432,68	2189721,992
39	-	-	-	-	-
40	2355337,778	2678053,933	5878331,279	3637240,996	1947537,078
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	4635720	4150492,135	2614244,992	3800152,376	1055293,211

Table 8. Sugarcane bagasse washed with HNO₃ and pyrolysis CG/MS at 350 °C

Peak n°	350°C +HNO ₃			Average	STDEV
	1 (0.450 mg)	2 (0.445 mg)	3 (0.649 mg)		
1	92684060	110991177,5	163076440,7	122250559,4	36521939,63
2	-	-	-	-	-
3	22646666,67	31156833,71	53577383,67	35793628,01	15978179,17
4	62140224,44	67429496,63	107413312,8	78994344,62	24753230,37
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	17411004,44	21708719,1	38827326,66	25982350,07	11329724,42
8	-	-	-	-	-
9	38682964,44	42061146,07	58818884,44	46520998,32	10783391,4
10	-	-	-	-	-
11	2935426,667	6737440,449	12571577,81	7414814,976	4853656,293
12	-	-	-	-	-
13	8811882,222	9446435,955	12059459,17	10105925,78	1721303,032
14	102612324,4	100892640,4	129356352,9	110953772,6	15960280,34
15	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-
24	84657166,67	107135352,8	80955855,16	90916124,88	14167654,81
25	1110044,444	1922103,371	5349685,67	2793944,495	2250271,015
26	-	-	-	-	-
27	16951824,44	22210959,55	28788041,6	22650275,2	5930325,272
28	1515473,333	2747035,955	7552272,727	3938260,672	3189827,421
29	2103522,222	2444334,831	3261204,931	2603020,661	594931,2631
30	4658860	5079040,449	5465377,504	5067759,318	403377,0804
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	-	86455132,6	77641112,5	82048122,53	6232453,385
34	1784493,333	2226728,09	3616366,718	2542529,38	955896,3677
35	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-
38	9189260	10834287,64	13526750,39	11183432,68	2189721,992
39	-	-	-	-	-
40	2355337,778	2678053,933	5878331,279	3637240,996	1947537,078
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	4635720	4150492,135	2614244,992	3800152,376	1055293,211

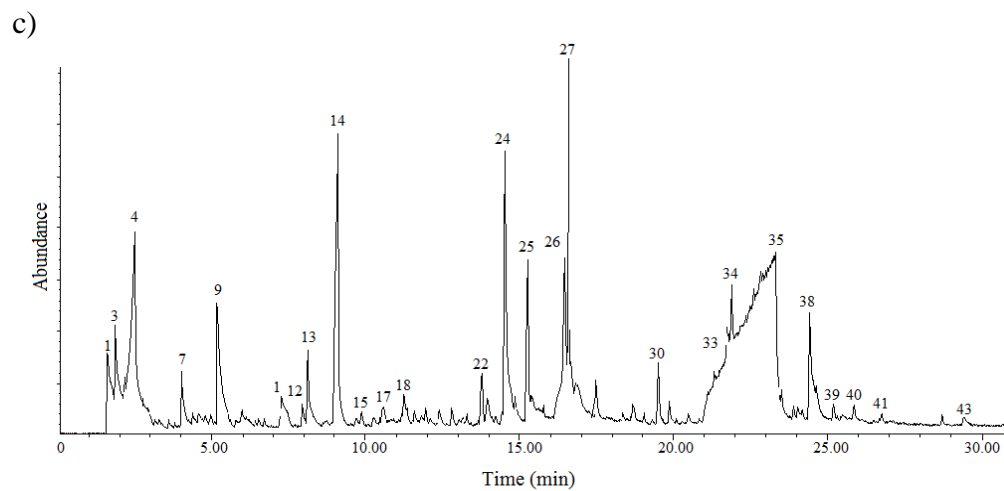
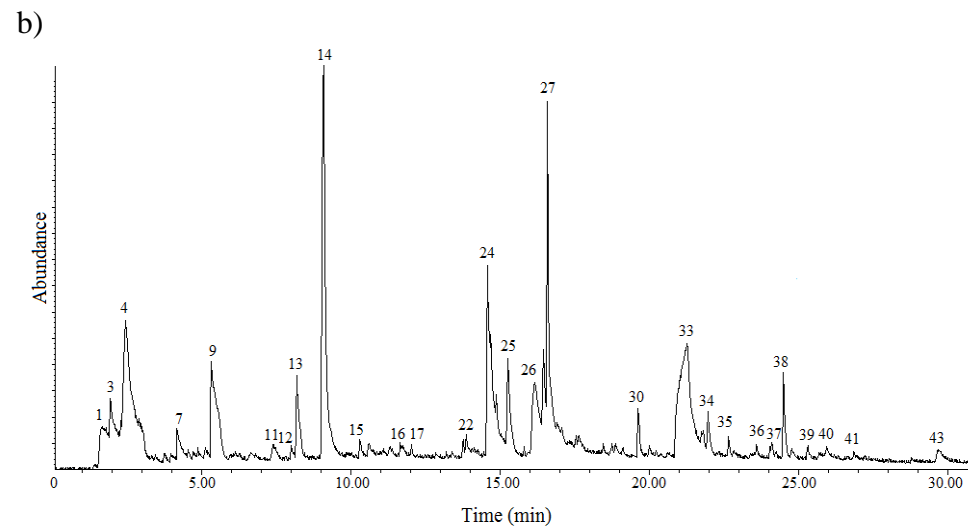
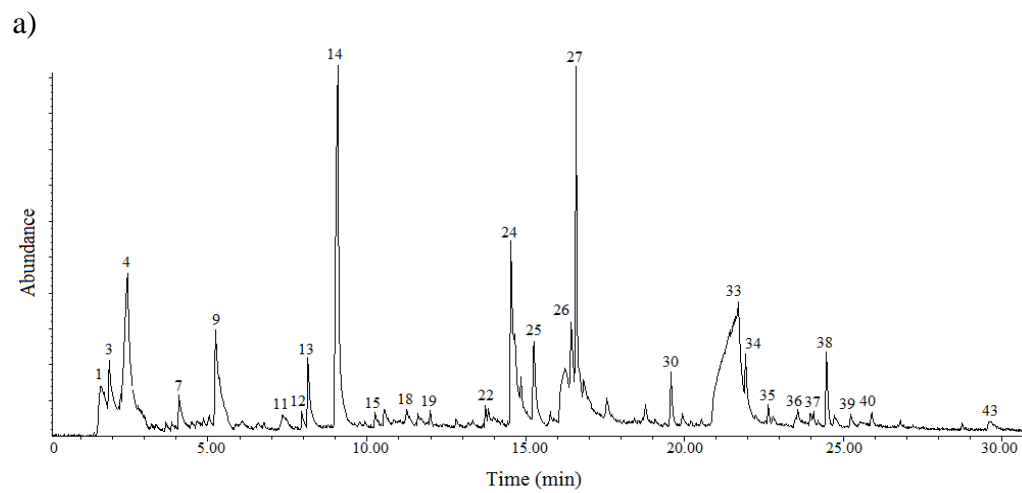


Figura A8. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC-MS do bagaço de cana lavado com HNO_3 a $400\text{ }^\circ\text{C}$. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

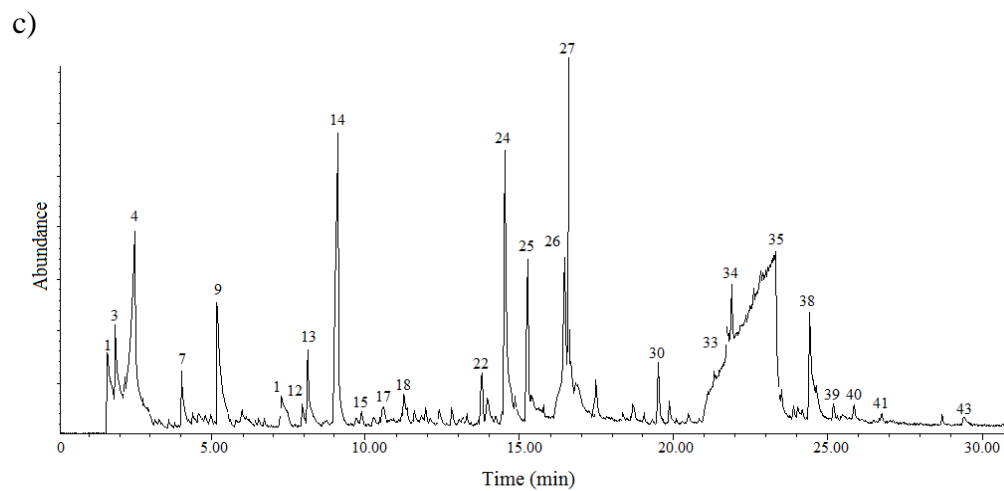
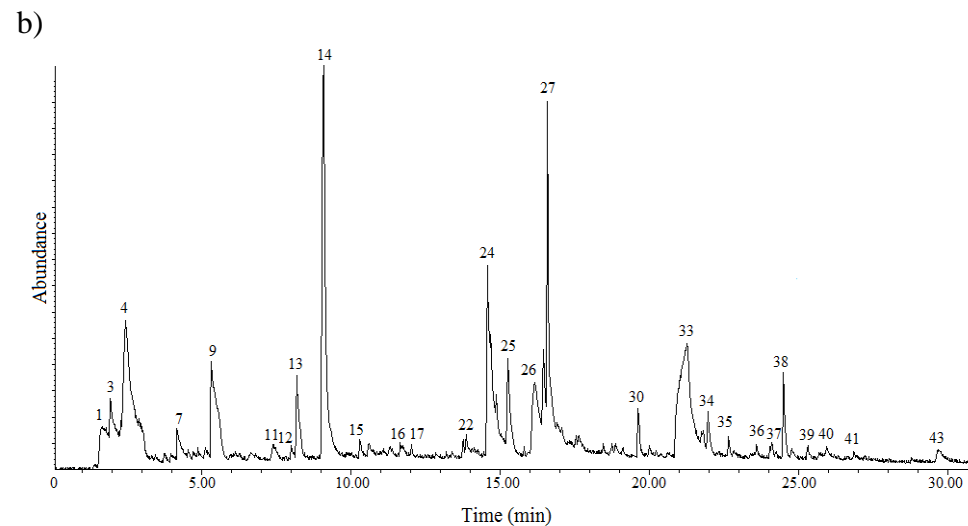
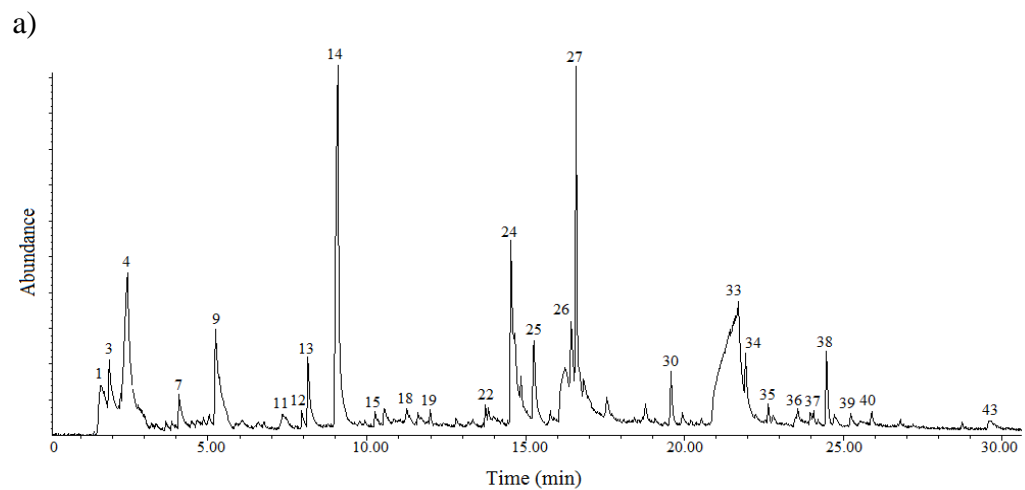


Figure A8. GC-MS chromatograms pyrolysis of condensable compounds of sugarcane bagasse washed with HNO_3 at 400 °C. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A9. Bagaço de cana lavado com HNO₃ e submetido à pirólise CG/MS a 400 °C em triplicata.

Pico n°	400°C +HNO ₃			Média	STDEV
	1 (0.354 mg)	2 (0.682 mg)	3 (0.688 mg)	(Área pico/ mg)	
1	139897223,2	50346266,86	146960255,8	112401248,6	53857099,6
2	-	-	-	-	-
3	46864090,4	17502244,87	52163078,49	38843137,92	18670701,8
4	114403706,2	48200504,4	104027305,2	88877171,95	35607034,23
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	32698531,07	1331199,413	38249787,79	24093172,76	19906900,46
8	-	-	-	-	-
9	62850906,78	30824994,13	62062607,56	51912836,16	18266859,74
10	-	-	-	-	-
11	8298618,644	2681407,625	13267764,53	8082596,935	5296483,474
12	-	-	-	-	-
13	11742110,17	6814533,724	9389395,349	9315346,414	2464622,657
14	177421435	81577683,28	133166356,1	130721824,8	47968614,6
15	1733768,362	1398021,994	3384693,314	2172161,223	1063417,585
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-
24	95768432,2	43719793,26	74324670,06	71270965,17	26158345,5
25	3267940,678	1391651,026	3627952,035	2762514,58	1200771,504
26	1370220,339	430237,5367	2032640,988	1277699,621	805198,2786
27	37375680,79	15177958,94	27749562,5	26767734,08	11131383,75
28	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-
30	6282553,672	2451505,865	4697337,209	4477132,249	1924993,375
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	88000947,21	92869127,12	-	90435037,17	3442323,023
34	3312163,842	1248972,141	3272614,826	2611250,269	1179933,179
35	-	-	-	-	-
36	3863370,056	1282155,425	3372401,163	2839308,882	1370696,093
37	-	-	-	-	-
38	14703528,25	6353492,669	12106494,19	11054505,03	4273263,908
39	3166183,616	1583791,789	3907822,674	2885932,693	1187091,119
40	4677118,644	1909362,17	5122148,256	3902876,357	1740714,493
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	3762062,147	1927608,504	2258860,465	2649510,372	977630,0701

Table A9. Sugarcane bagasse washed with HNO₃ and pyrolysis CG/MS at 400 °C

Peak n°	400°C +HNO ₃			Average	STDEV
	1 (0.354 mg)	2 (0.682 mg)	3 (0.688 mg)		
1	139897223,2	50346266,86	146960255,8	112401248,6	53857099,6
2	-	-	-	-	-
3	46864090,4	17502244,87	52163078,49	38843137,92	18670701,8
4	114403706,2	48200504,4	104027305,2	88877171,95	35607034,23
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	32698531,07	1331199,413	38249787,79	24093172,76	19906900,46
8	-	-	-	-	-
9	62850906,78	30824994,13	62062607,56	51912836,16	18266859,74
10	-	-	-	-	-
11	8298618,644	2681407,625	13267764,53	8082596,935	5296483,474
12	-	-	-	-	-
13	11742110,17	6814533,724	9389395,349	9315346,414	2464622,657
14	177421435	81577683,28	133166356,1	130721824,8	47968614,6
15	1733768,362	1398021,994	3384693,314	2172161,223	1063417,585
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-
24	95768432,2	43719793,26	74324670,06	71270965,17	26158345,5
25	3267940,678	1391651,026	3627952,035	2762514,58	1200771,504
26	1370220,339	430237,5367	2032640,988	1277699,621	805198,2786
27	37375680,79	15177958,94	27749562,5	26767734,08	11131383,75
28	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-
30	6282553,672	2451505,865	4697337,209	4477132,249	1924993,375
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	88000947,21	92869127,12	-	90435037,17	3442323,023
34	3312163,842	1248972,141	3272614,826	2611250,269	1179933,179
35	-	-	-	-	-
36	3863370,056	1282155,425	3372401,163	2839308,882	1370696,093
37	-	-	-	-	-
38	14703528,25	6353492,669	12106494,19	11054505,03	4273263,908
39	3166183,616	1583791,789	3907822,674	2885932,693	1187091,119
40	4677118,644	1909362,17	5122148,256	3902876,357	1740714,493
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	3762062,147	1927608,504	2258860,465	2649510,372	977630,0701

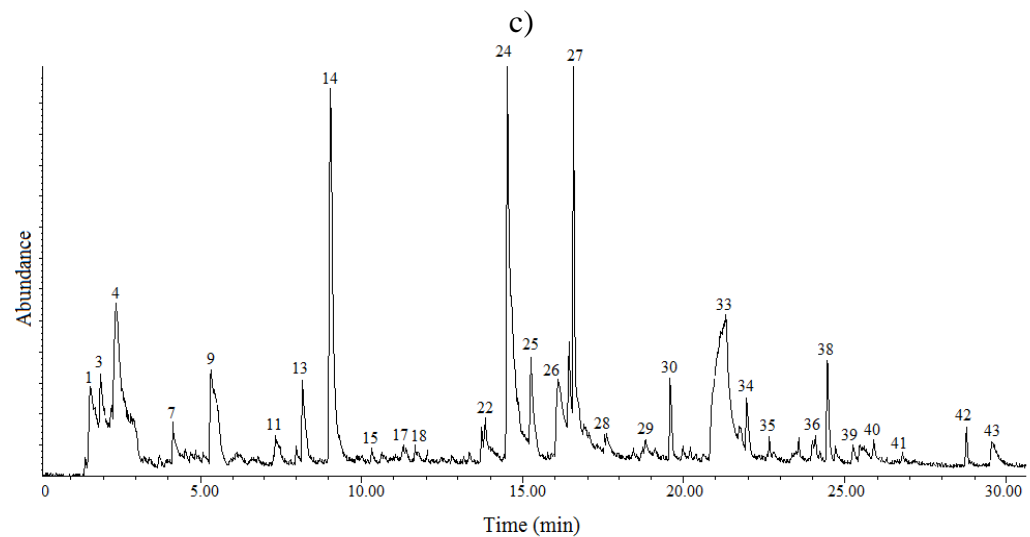
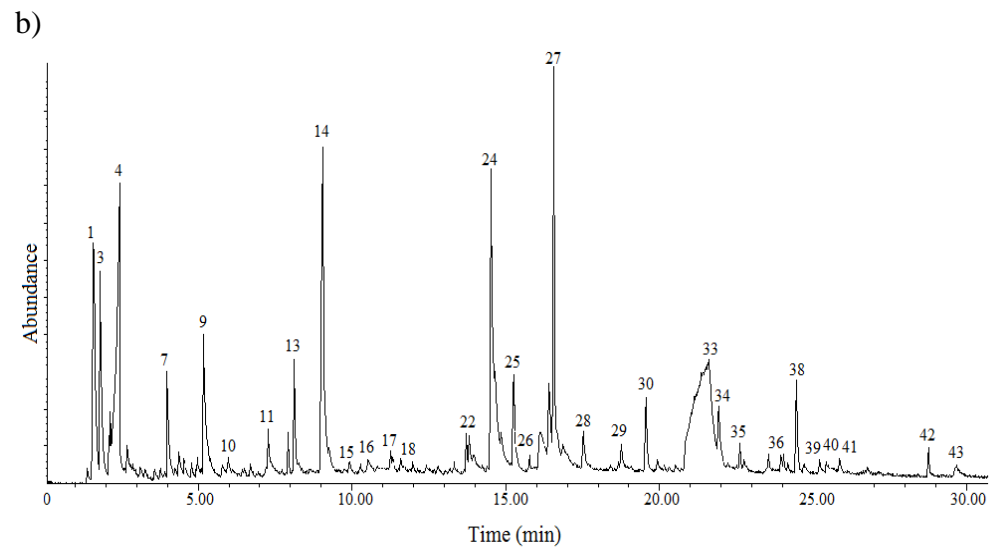
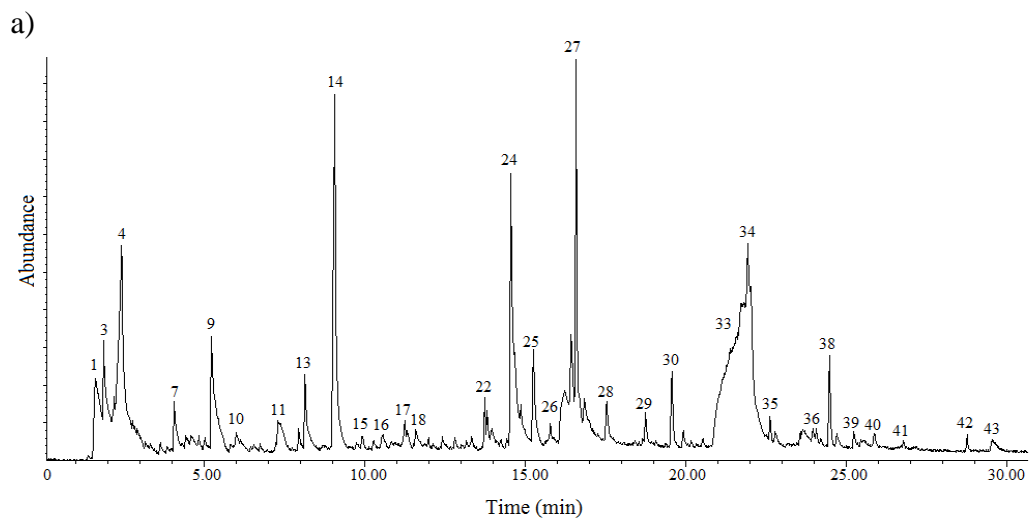


Figura A9. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC-MS do bagaço de cana lavado com HNO_3 a $450\text{ }^\circ\text{C}$. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

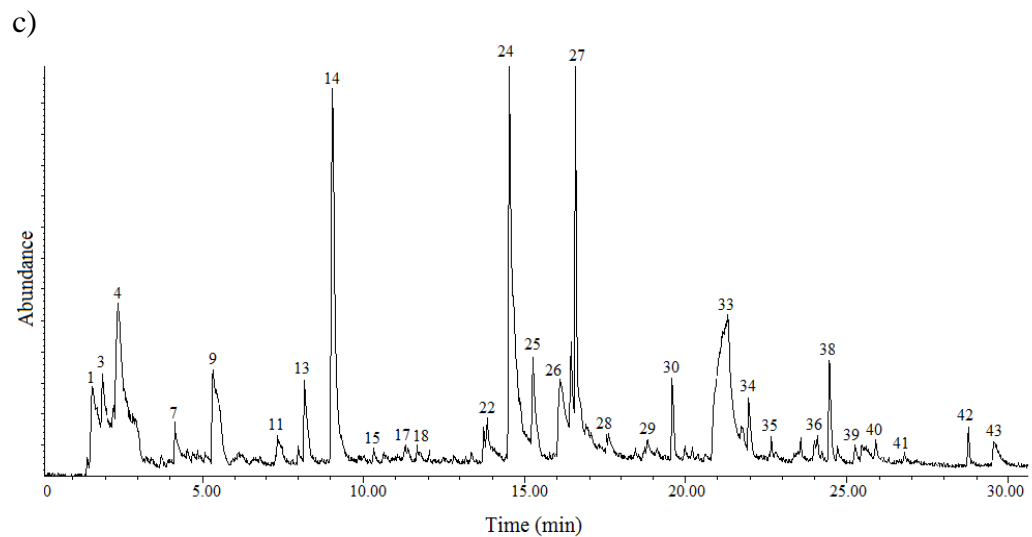
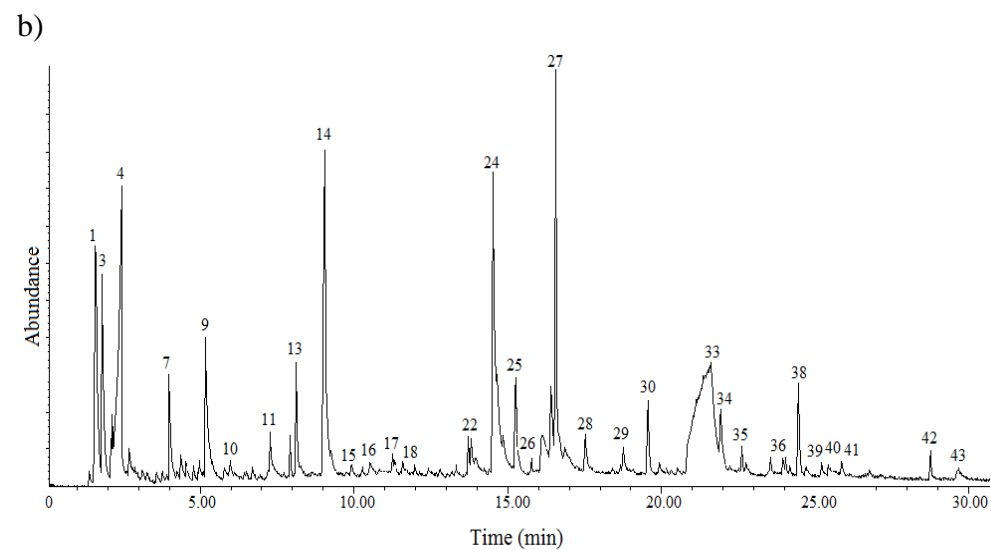
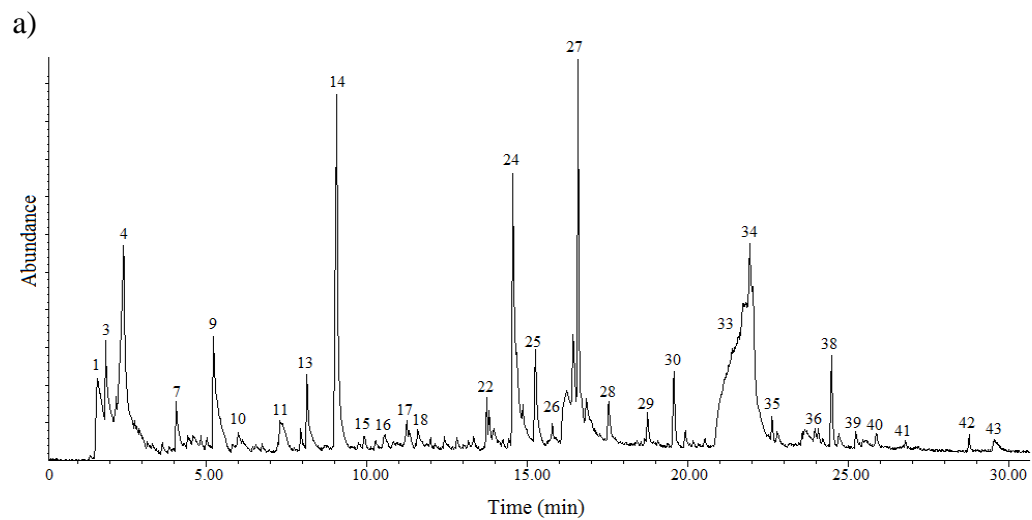


Figure A9. GC-MS chromatograms pyrolysis of condensable compounds of sugarcane bagasse washed with HNO_3 at 450°C . a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A10. Bagaço de cana lavado com HNO₃ e submetido à pirólise CG/MS a 450 °C em triplicata.

Pico n°	450°C +HNO ₃			Média	STDEV
	1 (0.375 mg)	2 (0.367 mg)	3 (0.482 mg)	(Área pico/ mg)	
1	184569832	239075899,2	225276419,1	216307383,4	28338322,82
2	-	-	-	-	-
3	60159752	79072934,6	69766896,27	69666527,62	9456990,772
4	115898829,3	97252779,29	110460139	107870582,5	9588959,669
5	32829453,33	21095768,39	27018321,58	26981181,1	5866930,64
6	-	-	-	-	-
7	38685096	46803959,13	44715804,98	43401620,04	4215957,326
8	-	-	-	-	-
9	60450925,33	46795438,69	63908609,96	57051657,99	9048835,369
10	-	-	-	-	-
11	16273258,67	11793193,46	14986139	14350863,71	2306605,1
12	-	-	-	-	-
13	10384565,33	9850643,052	9934663,9	10056624,1	287095,7463
14	140461488	127732738,4	141653342,3	136615856,2	7716052,485
15	3820549,333	3335081,744	4222989,627	3792873,568	444600,4532
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	113210.6667	74400.54496	210172.1992	132594.4703	69930.56845
23	-	-	-	-	-
24	108902898,7	123325523,2	95959929,46	109396117,1	13689462,3
25	3164096	3076220,708	5118417,012	3786244,574	1154531,538
26	2111773,333	2008975,477	3214819,502	2445189,437	668498,0756
27	35143144	38024978,2	37590134,85	36919419,02	1553588,392
28	6873178,667	5259978,202	9167755,187	7100304,018	1963764,162
29	3583037,333	4351212,534	4465458,506	4133236,125	479897,9766
30	6511053,333	8702760,218	6950898,34	7388237,297	1159458,404
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	167168922,7	168170092,6	154586902,5	163308639,3	7569815,363
34	3825256	3316076.294	121937.7593	3570666.147	360044.4228
35	-	-	-	-	-
36	4043125,333	4923814,714	4823338,174	4596759,407	482085,9877
37	-	-	-	-	-
38	14465904	15768297	15146460,58	15126887,19	651417,0872
39	4151498,667	3278634,877	4716122,407	4048751,984	724230,8057
40	5342613,333	4286239,782	6166205,394	5265019,503	942381,7048
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	3609032	2762980,926	3517128,631	3296380,519	464217,5152

Table A10. Sugarcane bagasse washed with HNO₃ and pyrolysis CG/MS at 450 °C

Peak n°	450°C +HNO ₃			Average	STDEV
	1 (0.375 mg)	2 (0.367 mg)	3 (0.482 mg)		
1	184569832	239075899,2	225276419,1	216307383,4	28338322,82
2	-	-	-	-	-
3	60159752	79072934,6	69766896,27	69666527,62	9456990,772
4	115898829,3	97252779,29	110460139	107870582,5	9588959,669
5	32829453,33	21095768,39	27018321,58	26981181,1	5866930,64
6	-	-	-	-	-
7	38685096	46803959,13	44715804,98	43401620,04	4215957,326
8	-	-	-	-	-
9	60450925,33	46795438,69	63908609,96	57051657,99	9048835,369
10	-	-	-	-	-
11	16273258,67	11793193,46	14986139	14350863,71	2306605,1
12	-	-	-	-	-
13	10384565,33	9850643,052	9934663,9	10056624,1	287095,7463
14	140461488	127732738,4	141653342,3	136615856,2	7716052,485
15	3820549,333	3335081,744	4222989,627	3792873,568	444600,4532
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	113210.6667	74400.54496	210172.1992	132594.4703	69930.56845
23	-	-	-	-	-
24	108902898,7	123325523,2	95959929,46	109396117,1	13689462,3
25	3164096	3076220,708	5118417,012	3786244,574	1154531,538
26	2111773,333	2008975,477	3214819,502	2445189,437	668498,0756
27	35143144	38024978,2	37590134,85	36919419,02	1553588,392
28	6873178,667	5259978,202	9167755,187	7100304,018	1963764,162
29	3583037,333	4351212,534	4465458,506	4133236,125	479897,9766
30	6511053,333	8702760,218	6950898,34	7388237,297	1159458,404
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	167168922,7	168170092,6	154586902,5	163308639,3	7569815,363
34	3825256	3316076.294	121937.7593	3570666.147	360044.4228
35	-	-	-	-	-
36	4043125,333	4923814,714	4823338,174	4596759,407	482085,9877
37	-	-	-	-	-
38	14465904	15768297	15146460,58	15126887,19	651417,0872
39	4151498,667	3278634,877	4716122,407	4048751,984	724230,8057
40	5342613,333	4286239,782	6166205,394	5265019,503	942381,7048
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	3609032	2762980,926	3517128,631	3296380,519	464217,5152

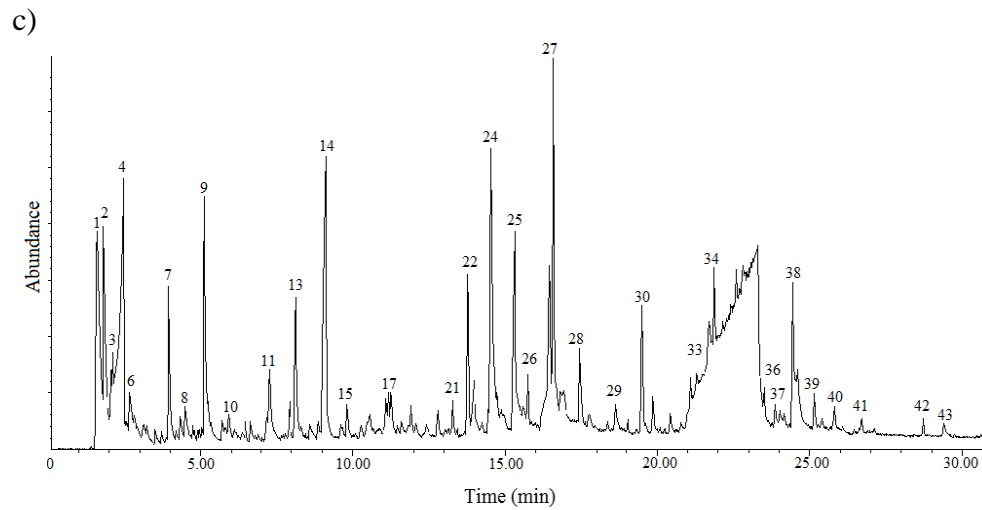
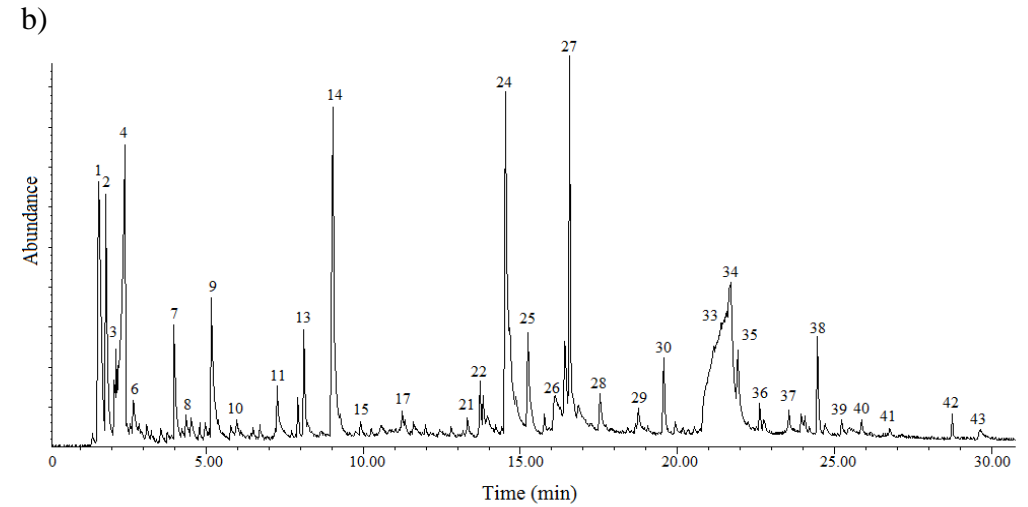
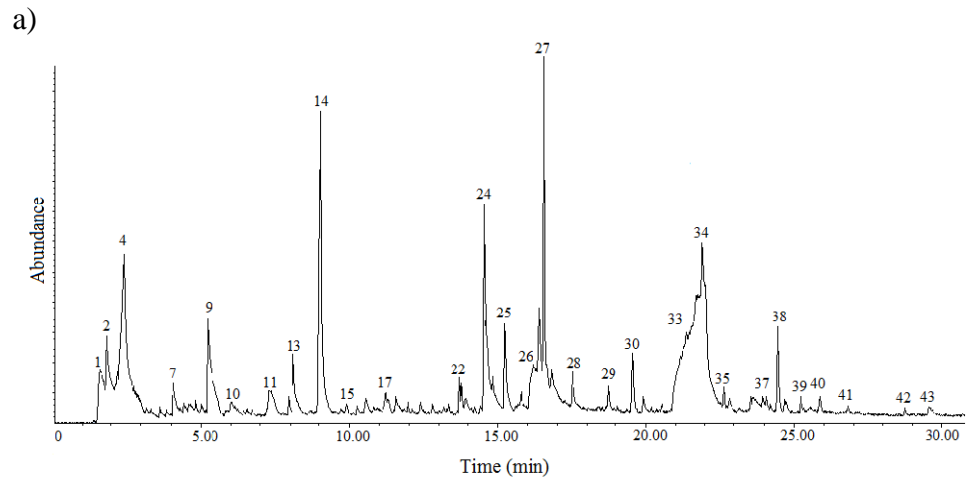
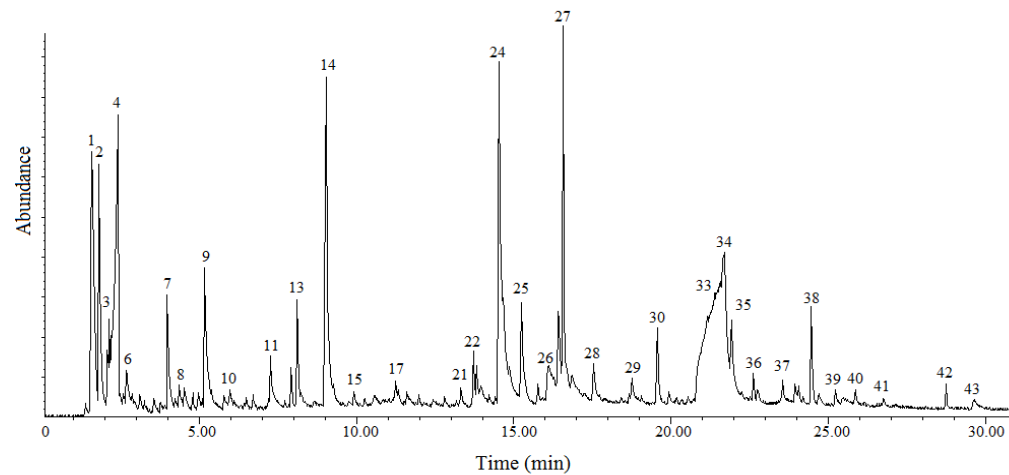
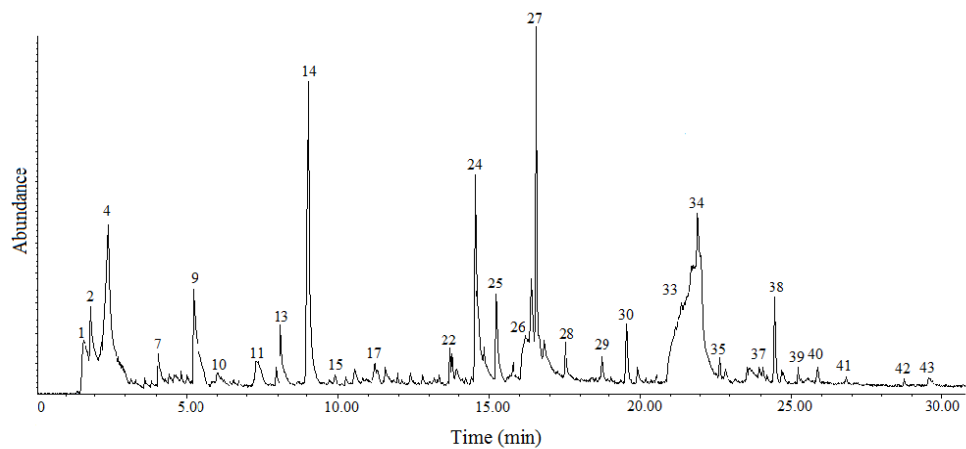


Figura A10. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC-MS do bagaço de cana lavado com HNO_3 a $500\text{ }^\circ\text{C}$. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

a)

b)
258



c)

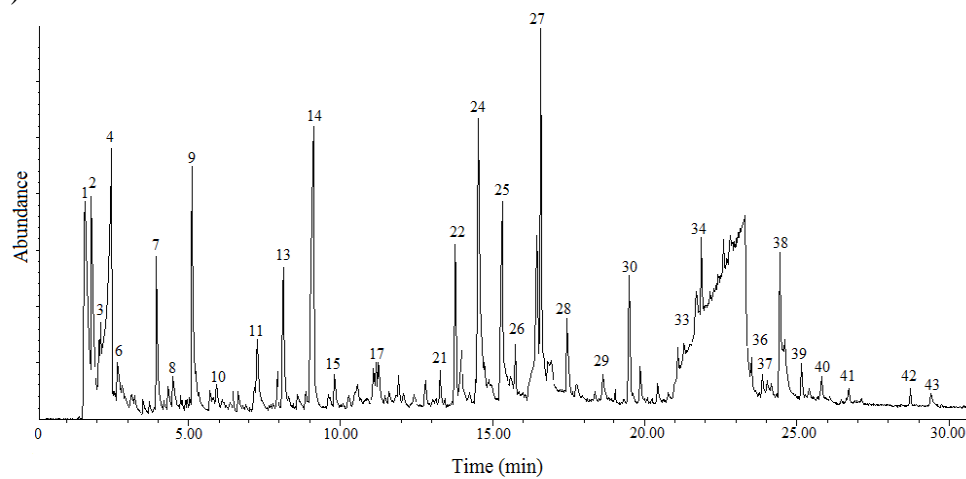


Figure A10. GC-MS chromatograms pyrolysis of condensable compounds of sugarcane bagasse washed with HNO_3 at $500\text{ }^\circ\text{C}$. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A11. Bagaço de cana lavado com HNO₃ e submetido à pirólise CG/MS a 500 °C em triplicata.

Pico n°	500°C +HNO ₃			Média	STDEV
	1 (0.383 mg)	2 (0.415 mg)	3 (0.541 mg)	(Área pico/ mg)	
1	246253219,3	219381183,1	338009966,7	267881456,4	62201547,84
2	57045864,23	72467532,53	95603497,23	75038964,66	19407008,09
3	6244308,094	10920737,35	16475848,43	11213631,29	5122054,72
4	125416456,9	86119472,29	116000961,2	109178963,5	20517504,48
5	-	22039113,25	45043408,5	33541260,88	16266493,17
6	-	-	-	-	-
7	38499060,05	44777392,77	59520020,33	47598824,39	10790762,26
8	-	-	-	-	-
9	67041778,07	38729836,14	49521192,24	51764268,82	14288633,88
10	-	-	-	-	-
11	16309989,56	11299672,29	21026992,61	16212218,15	4864397,144
12	-	-	-	-	-
13	10135154,05	7851684,337	15695325,32	11227387,9	4034279,003
14	150144665,8	104753491,6	129834342	128244166,4	22737329,84
15	3455877,285	3313595,181	8163238,447	4977570,304	2759786,62
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	112086.162	76185.54217	368552.6802	94135.85202	25385.57165
23	-	-	-	-	-
24	105358135,8	115963720,5	94987341,96	105436399,4	10488408,26
25	2889201,044	2908472,289	6831428,835	4209700,723	2270503,593
26	2184770,235	1983383,133	7901338,262	4023163,877	3360106,638
27	37369297,65	29058667,47	34488064,7	33638676,61	4219921,634
28	7725229,765	5027662,651	15269582,26	9340824,89	5308657,081
29	2893851,175	4196301,205	5065545,287	4051899,222	1093024,601
30	6458689,295	6161093,976	7807051,756	6808945,009	877099,5111
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	154097271,5	160500836,1	-	157299053,8	4528003,955
34	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-
36	4137349,869	4343477,108	6466940,85	4982589,276	1289611,107
37	-	-	-	-	-
38	16380783,29	12841219,28	17107308,69	15443103,75	2282391,707
39	4157313,316	1976518,072	8049530,499	4727787,296	3076434,691
40	5890866,841	3718773,494	7540247,689	5716629,341	1916686,017
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	3457490,862	2385065,06	3335079,482	3059211,801	587027,6892

Table A11. Sugarcane bagasse washed with HNO₃ and pyrolysis CG/MS at 500 °C

Peak n°	500°C +HNO ₃			Average	STDEV
	1 (0.383 mg)	2 (0.415 mg)	3 (0.541 mg)		
1	246253219,3	219381183,1	338009966,7	267881456,4	62201547,84
2	57045864,23	72467532,53	95603497,23	75038964,66	19407008,09
3	6244308,094	10920737,35	16475848,43	11213631,29	5122054,72
4	125416456,9	86119472,29	116000961,2	109178963,5	20517504,48
5	-	22039113,25	45043408,5	33541260,88	16266493,17
6	-	-	-	-	-
7	38499060,05	44777392,77	59520020,33	47598824,39	10790762,26
8	-	-	-	-	-
9	67041778,07	38729836,14	49521192,24	51764268,82	14288633,88
10	-	-	-	-	-
11	16309989,56	11299672,29	21026992,61	16212218,15	4864397,144
12	-	-	-	-	-
13	10135154,05	7851684,337	15695325,32	11227387,9	4034279,003
14	150144665,8	104753491,6	129834342	128244166,4	22737329,84
15	3455877,285	3313595,181	8163238,447	4977570,304	2759786,62
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	112086.162	76185.54217	368552.6802	94135.85202	25385.57165
23	-	-	-	-	-
24	105358135,8	115963720,5	94987341,96	105436399,4	10488408,26
25	2889201,044	2908472,289	6831428,835	4209700,723	2270503,593
26	2184770,235	1983383,133	7901338,262	4023163,877	3360106,638
27	37369297,65	29058667,47	34488064,7	33638676,61	4219921,634
28	7725229,765	5027662,651	15269582,26	9340824,89	5308657,081
29	2893851,175	4196301,205	5065545,287	4051899,222	1093024,601
30	6458689,295	6161093,976	7807051,756	6808945,009	877099,5111
31	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-
33	154097271,5	160500836,1	-	157299053,8	4528003,955
34	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-
36	4137349,869	4343477,108	6466940,85	4982589,276	1289611,107
37	-	-	-	-	-
38	16380783,29	12841219,28	17107308,69	15443103,75	2282391,707
39	4157313,316	1976518,072	8049530,499	4727787,296	3076434,691
40	5890866,841	3718773,494	7540247,689	5716629,341	1916686,017
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	3457490,862	2385065,06	3335079,482	3059211,801	587027,6892

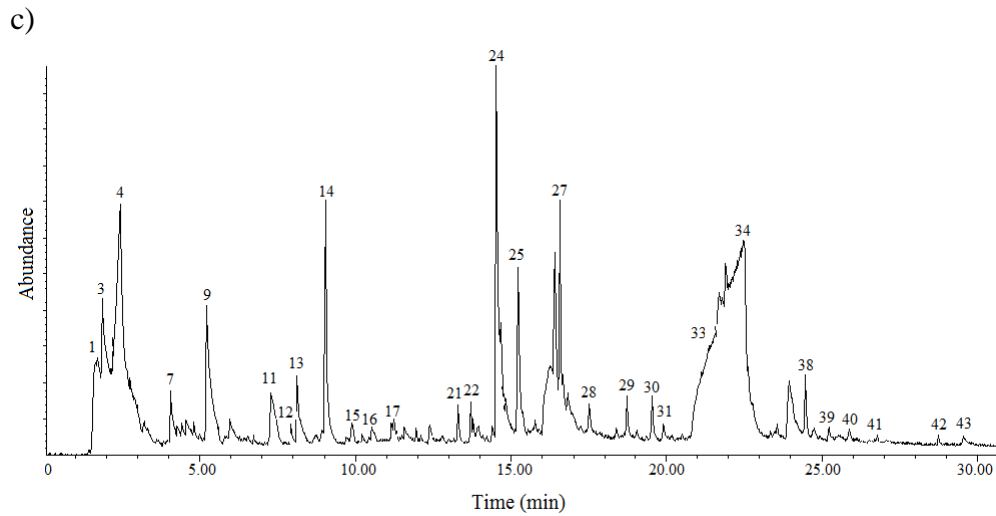
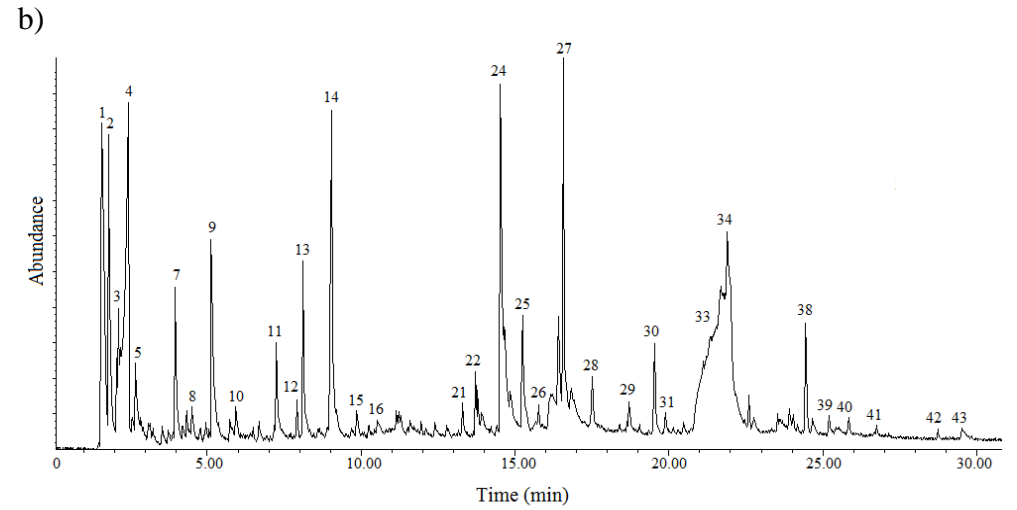
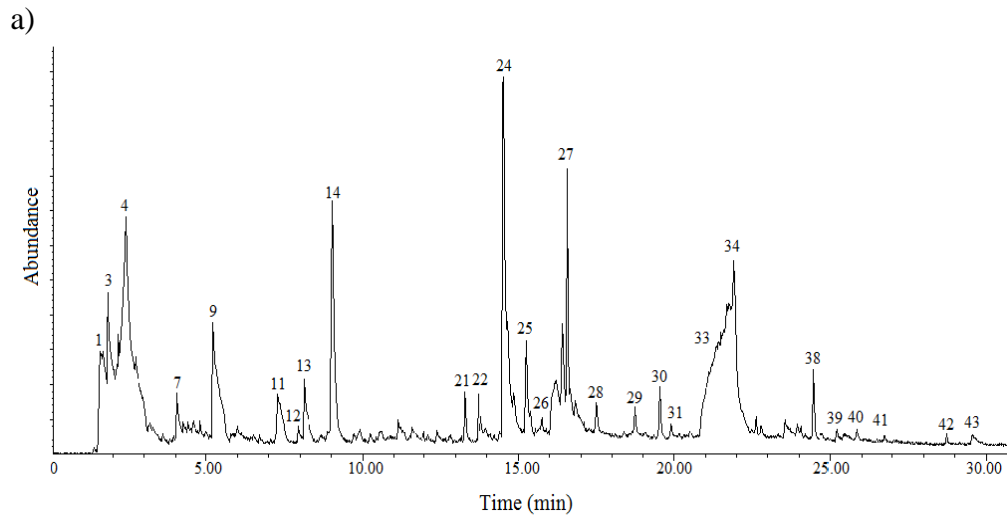


Figura A11. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC-MS do bagaço de cana lavado com HNO_3 a $550\text{ }^\circ\text{C}$. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

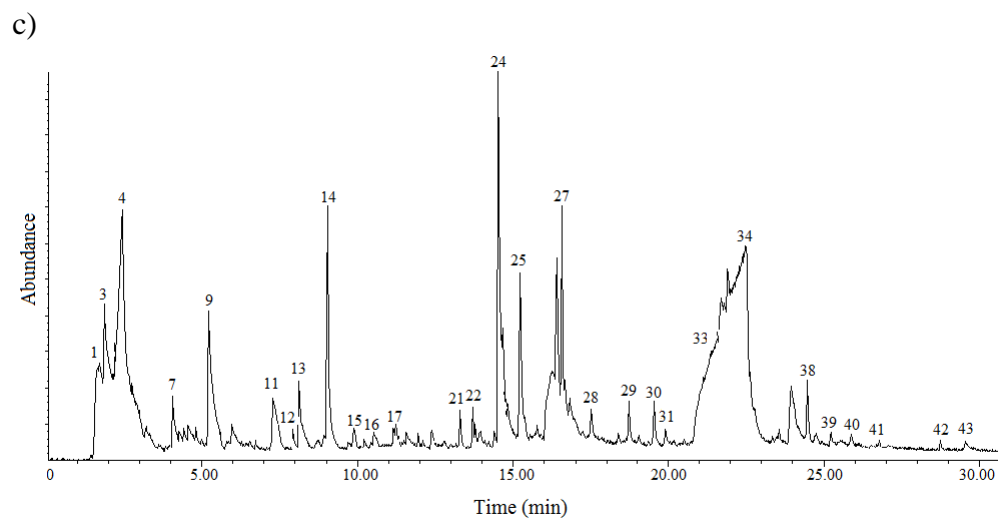
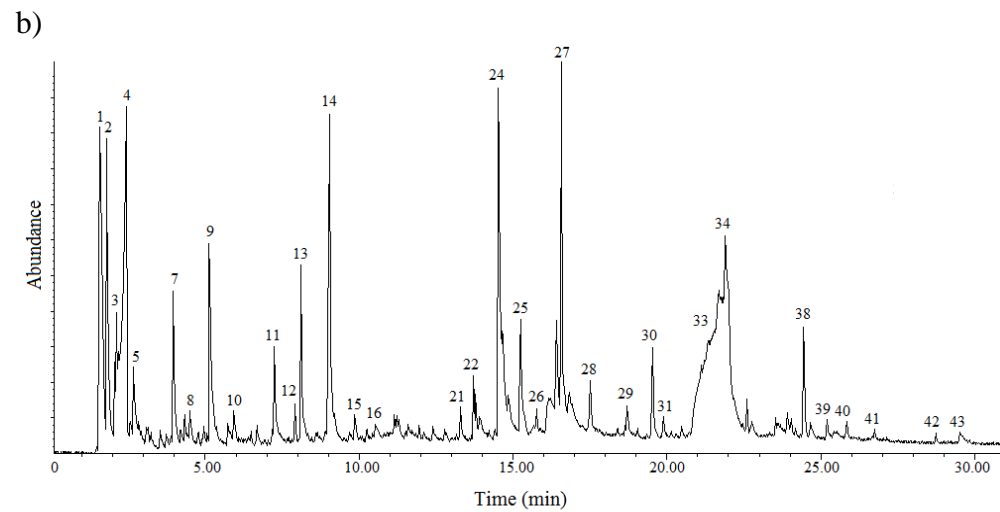
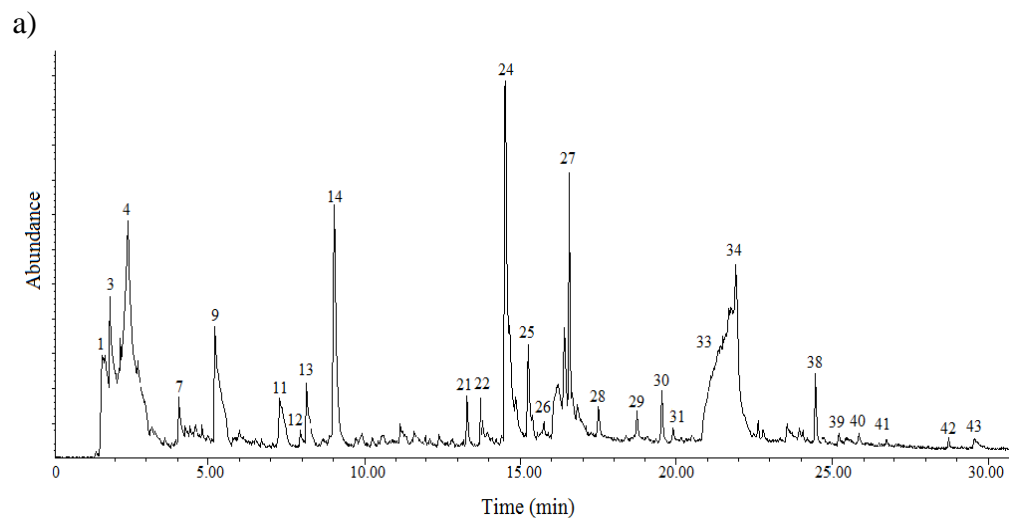


Figure A11. GC-MS chromatograms pyrolysis of condensable compounds of sugarcane bagasse washed with HNO₃ at 550 ° C. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A12. Bagaço de cana lavado com HNO₃ e submetido à pirólise CG/MS a 550 °C em triplicata.

Pico n°	550 °C + HNO ₃			Média	STDEV
	1 (0.606 mg)	2 (0.494 mg)	3 (0.522 mg)	(Área pico/ mg)	
1	159753799	227244415	276098437	221032217	58420563,7
2	-	79854670	-	79854670	-
3	45624623,8	17418520,2	56765011,5	39936051,8	20280692,3
4	106743314	93978299,6	134500912	111740842	20718397,4
5	-	38223623,5	-	38223623,5	-
6	-	-	-	-	-
7	27282476,9	43816661,9	31377369,7	34158836,2	8610878,91
8	-	-	-	-	-
9	56787297	43439002	56456350,6	52227549,9	7612904,27
10	-	-	-	-	-
11	17559123,8	13925400,8	21553839,1	17679454,6	3815642,44
12	-	-	-	-	-
13	7452397,69	10794095,1	7323295,02	8523262,62	1967657,78
14	73237374,6	93092046,6	71080724,1	79136715,1	12133682,1
15	5608922,44	4861113,36	4606965,52	5025667,11	520853,023
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	48290.429	113089.069	50593.8697	70657.7892	36764.6104
23	-	-	-	-	-
24	105449950	100224978	101602082	102425670	2708100,4
25	1849915,84	2297408,91	3060070,88	2402465,21	611879,42
26	1208617,16	2327904,86	1086130,27	1540884,1	684325,96
27	14079830	27944275,3	22129241,4	21384448,9	6962165,43
28	2512773,93	5254006,07	3189791,19	3652190,4	1427917,43
29	2102953,8	3916799,6	1998785,44	2672846,28	1078553,5
30	3094674,92	6235356,28	2643009,58	3991013,59	1956733,49
31	2205891,09	4366447,37	2869727,97	3147355,48	1106710,73
32	-	-	-	-	-
33	-	135497574,9	123821379,3	129659477,1	8256317,079
34	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-
38	6924574,26	13202929,1	6758034,48	8961845,96	3673829,59
39	2160452,15	3332560,73	2084796,93	2525936,6	699580,437
40	2209663,37	3972449,39	2577704,98	2919939,25	929890,78
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	2137853,14	2535206,48	2248902,3	2307320,64	205016,942

Table A12. Sugarcane bagasse washed with HNO₃ and pyrolysis CG/MS at 550 °C

Peak n°	550°C +HNO ₃			Average	STDEV
	1 (0.606 mg)	2 (0.494 mg)	3 (0.522 mg)		
1	159753799	227244415	276098437	221032217	58420563,7
2	-	79854670	-	79854670	-
3	45624623,8	17418520,2	56765011,5	39936051,8	20280692,3
4	106743314	93978299,6	134500912	111740842	20718397,4
5	-	38223623,5	-	38223623,5	-
6	-	-	-	-	-
7	27282476,9	43816661,9	31377369,7	34158836,2	8610878,91
8	-	-	-	-	-
9	56787297	43439002	56456350,6	52227549,9	7612904,27
10	-	-	-	-	-
11	17559123,8	13925400,8	21553839,1	17679454,6	3815642,44
12	-	-	-	-	-
13	7452397,69	10794095,1	7323295,02	8523262,62	1967657,78
14	73237374,6	93092046,6	71080724,1	79136715,1	12133682,1
15	5608922,44	4861113,36	4606965,52	5025667,11	520853,023
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	48290.429	113089.069	50593.8697	70657.7892	36764.6104
23	-	-	-	-	-
24	105449950	100224978	101602082	102425670	2708100,4
25	1849915,84	2297408,91	3060070,88	2402465,21	611879,42
26	1208617,16	2327904,86	1086130,27	1540884,1	684325,96
27	14079830	27944275,3	22129241,4	21384448,9	6962165,43
28	2512773,93	5254006,07	3189791,19	3652190,4	1427917,43
29	2102953,8	3916799,6	1998785,44	2672846,28	1078553,5
30	3094674,92	6235356,28	2643009,58	3991013,59	1956733,49
31	2205891,09	4366447,37	2869727,97	3147355,48	1106710,73
32	-	-	-	-	-
33	-	135497574,9	123821379,3	129659477,1	8256317,079
34	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-
36	-	-	-	-	-
37	-	-	-	-	-
38	6924574,26	13202929,1	6758034,48	8961845,96	3673829,59
39	2160452,15	3332560,73	2084796,93	2525936,6	699580,437
40	2209663,37	3972449,39	2577704,98	2919939,25	929890,78
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	2137853,14	2535206,48	2248902,3	2307320,64	205016,942

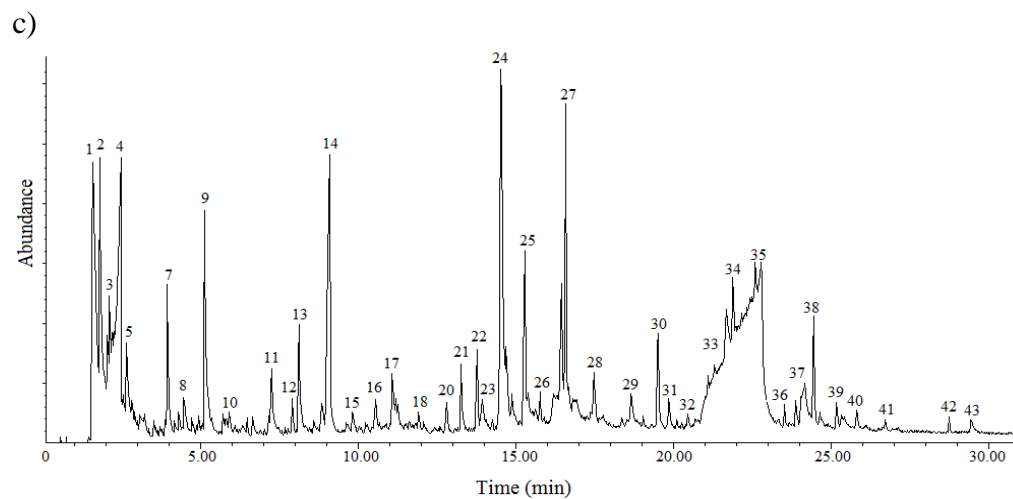
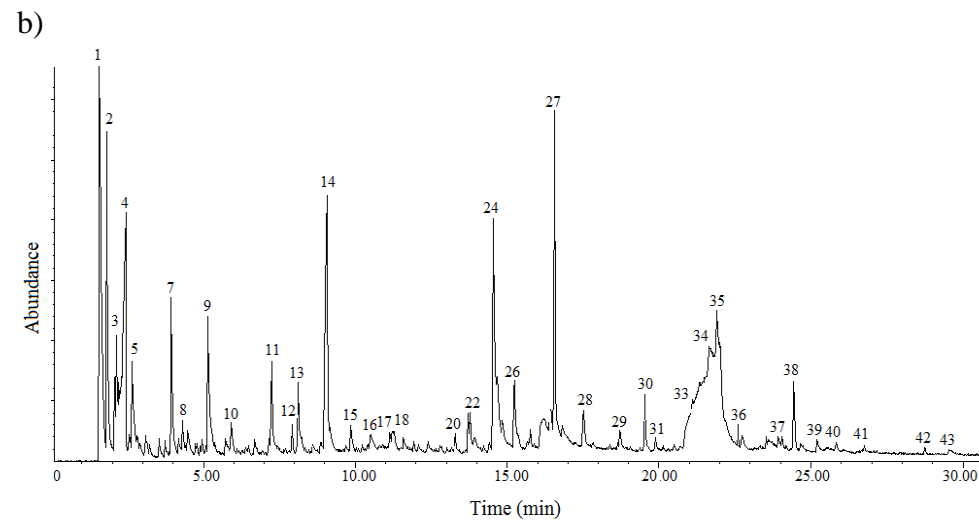
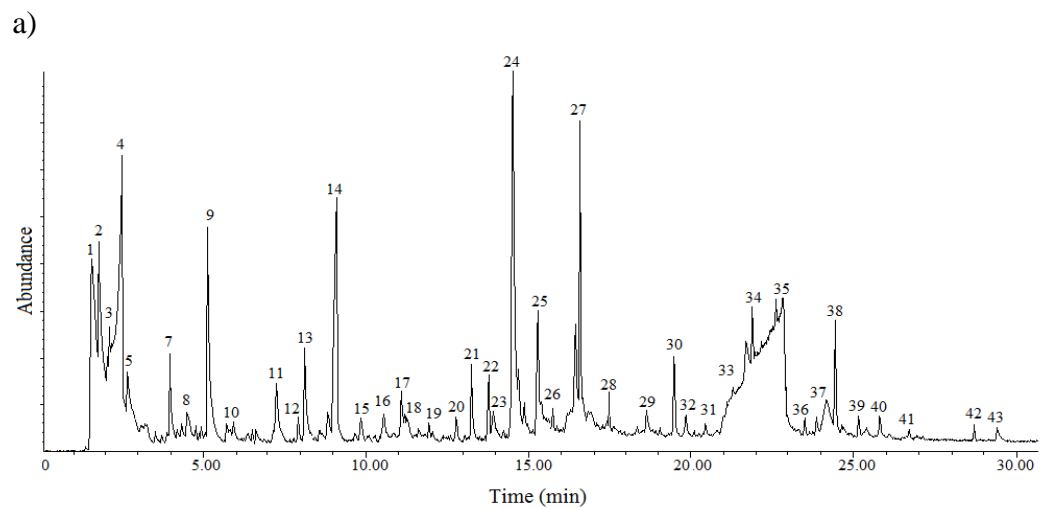


Figura A12. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC/MS do bagaço de cana lavado com HNO₃ a 600 °C. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

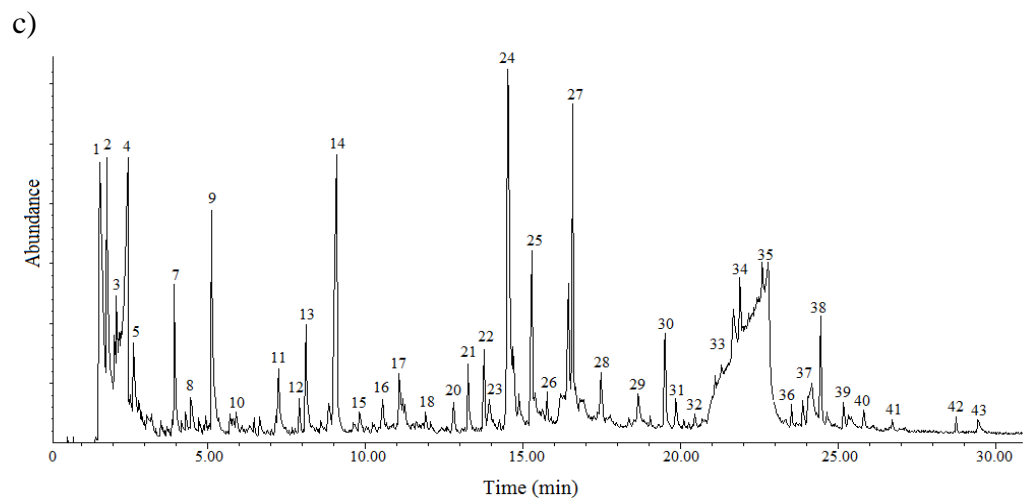
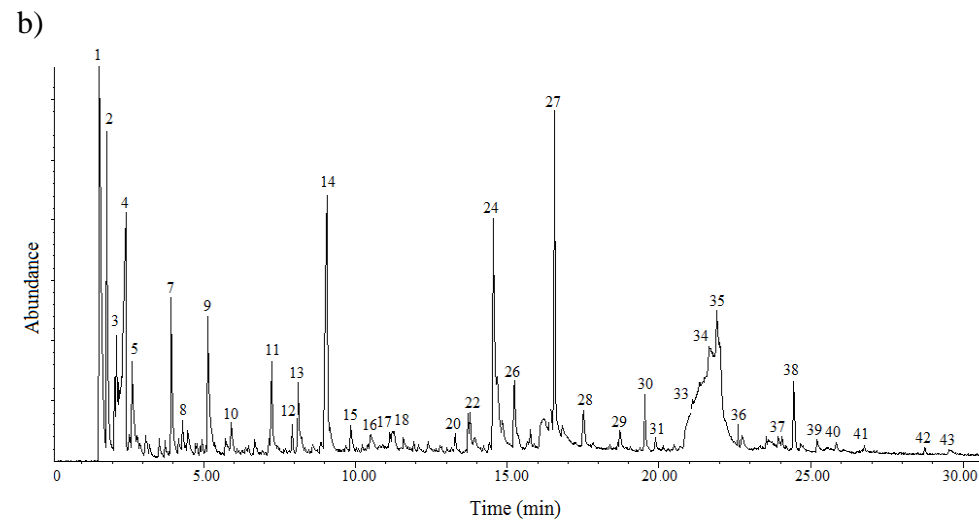
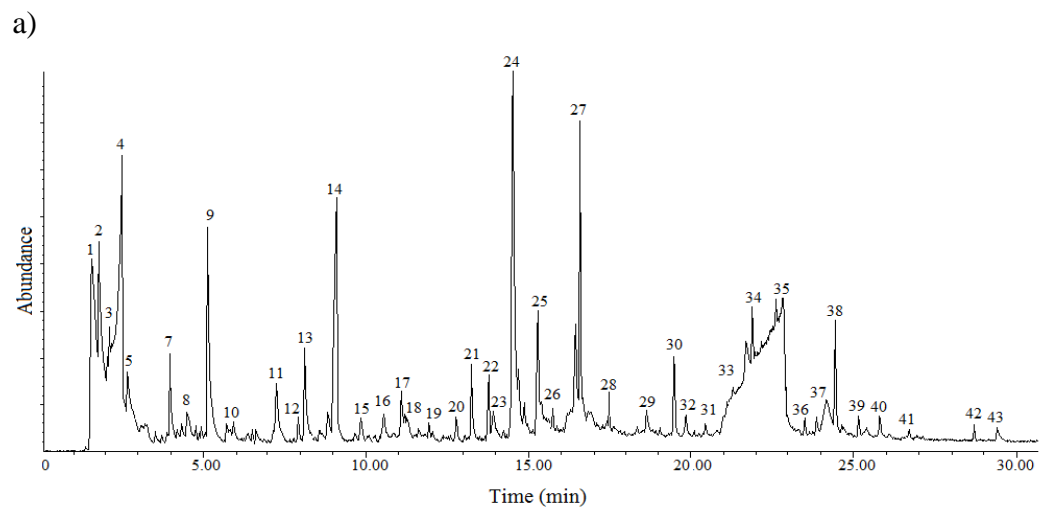


Figure A12. GC/MS chromatograms pyrolysis of condensable compounds of sugarcane bagasse washed with HNO₃ at 600 ° C. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A13. Bagaço de cana lavado com HNO₃ e submetido à pirólise CG/MS a 600 °C em triplicata.

Peak n°	600 °C + HNO ₃			Média	STDEV
	1 (0.702 mg)	2 (0.330 mg)	3 (0.538 mg)	(Área pico/ mg)	
1	318334644	401747658	459246734	393109679	70852066,4
2	79542109,7	140842021	102738546	107707559	30950575,2
3	-	-	-	-	-
4	141135103	147357270	171448465	153313612	16010418,3
5	50542085,5	73521727,3	64756537,2	62940116,6	11597004,9
6	-	-	-	-	-
7	34745252,1	79533039,4	45547862,5	53275384,7	23372471,4
8	-	-	-	-	-
9	62551515,7	59224854,5	84350215,6	68708861,9	13647550,2
10	-	-	-	-	-
11	19764283,5	29477590,9	25268529,7	24836801,4	4871024,26
12	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-
14	104205499	163291842	113202743	126900028	31835683
15	6306686,61	10156927,3	6295332,71	7586315,53	2226222,31
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	2962907,41	5724030,3	3741568,77	4142835,49	1423626,06
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	18793770,7	17990454,5	17707273,2	18163832,8	563617,05
22	3705062,68	5803742,42	5471342,01	4993382,37	1128028,47
23	-	-	-	-	-
24	130619647	140835361	170505848	147320285	20718782,2
25	3383625,36	3101151,52	12857628,3	6447468,37	5553157,67
26	2972992,88	3825881,82	3782310,41	3527061,7	480331,982
27	27862760,7	2479845,45	28458816	19600474	14829894,2
28	7122962,96	10808581,8	8557310,41	8829618,4	1857837,54
29	3634290,6	4907006,06	5609306,69	4716867,78	1001142,63
30	6006555,56	7713515,15	7440332,71	7053467,81	916883,912
31	5039002,85	5644606,06	7693856,88	6125821,93	1391308,38
32	2452725,07	3213069,7	3353901,49	3006565,42	484781,132
33	142935334,1	-	115710992,6	129323163,3	13612170,77
34	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-
36	4156774,93	5126690,91	5784156,13	5022540,66	818674,449
37	-	-	-	-	-
38	14323398,9	17950572,7	16131429,4	16135133,7	1813589,77
39	4170062,68	5764306,06	5574156,13	5169508,29	870751,341
40	5142034,19	4668909,09	4723280,67	4844741,32	258894,488
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	2942891,74	2718742,42	3473375,46	3045003,21	387540,734

Table A13. Sugarcane bagasse washed with HNO₃ and pyrolysis CG/MS at 600 °C

Peak n°	600°C +HNO ₃			Average	STDEV
	1 (0.702 mg)	2 (0.330 mg)	3 (0.538 mg)		
1	318334644	401747658	459246734	393109679	70852066,4
2	79542109,7	140842021	102738546	107707559	30950575,2
3	-	-	-	-	-
4	141135103	147357270	171448465	153313612	16010418,3
5	50542085,5	73521727,3	64756537,2	62940116,6	11597004,9
6	-	-	-	-	-
7	34745252,1	79533039,4	45547862,5	53275384,7	23372471,4
8	-	-	-	-	-
9	62551515,7	59224854,5	84350215,6	68708861,9	13647550,2
10	-	-	-	-	-
11	19764283,5	29477590,9	25268529,7	24836801,4	4871024,26
12	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-
14	104205499	163291842	113202743	126900028	31835683
15	6306686,61	10156927,3	6295332,71	7586315,53	2226222,31
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	2962907,41	5724030,3	3741568,77	4142835,49	1423626,06
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	18793770.7	17990454.5	17707273.2	18163832.8	563617.05
22	3705062.68	5803742.42	5471342.01	4993382.37	1128028.47
23	-	-	-	-	-
24	130619647	140835361	170505848	147320285	20718782,2
25	3383625,36	3101151,52	12857628,3	6447468,37	5553157,67
26	2972992,88	3825881,82	3782310,41	3527061,7	480331,982
27	27862760,7	2479845,45	28458816	19600474	14829894,2
28	7122962,96	10808581,8	8557310,41	8829618,4	1857837,54
29	3634290,6	4907006,06	5609306,69	4716867,78	1001142,63
30	6006555,56	7713515,15	7440332,71	7053467,81	916883,912
31	5039002,85	5644606,06	7693856,88	6125821,93	1391308,38
32	2452725.07	3213069.7	3353901.49	3006565.42	484781.132
33	142935334,1	-	115710992,6	129323163,3	13612170,77
34	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-
36	4156774,93	5126690,91	5784156,13	5022540,66	818674,449
37	-	-	-	-	-
38	14323398,9	17950572,7	16131429,4	16135133,7	1813589,77
39	4170062,68	5764306,06	5574156,13	5169508,29	870751,341
40	5142034,19	4668909,09	4723280,67	4844741,32	258894,488
41	-	-	-	-	-
42	-	-	-	-	-
43	2942891,74	2718742,42	3473375,46	3045003,21	387540,734

Tabela A14. Compostos condensáveis da Pirólise CG/MS do bagaço de cana tratado com ácido acético.

Peak nº	Compounds	TR	Formula	m/z	mw
1	Carbon dioxide	1,59	CO ₂	44	44
2	Propanoic acid, 2-oxo-	1,79	C ₃ H ₄ O ₃	43	88
3	Acetaldehyde	1,84	C ₂ H ₄ O	43	44
4	Acetic acid	2,51	C ₂ H ₄ O ₂	43	60
5	2-Propanone, 1-hydroxy-	2,66	C ₃ H ₆ O ₂	43	74
6	1,2-Ethanediol, monoacetate	3,96	C ₄ H ₈ O ₃	43	104
7	Furfural	5,12	C ₅ H ₄ O ₂	96	96
8	2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-	7,26	C ₅ H ₆ O ₂	98	98
9	Butanedioic acid, methyl-	8,12	C ₅ H ₈ O ₄	86	132
10	2,4(3H,5H)-Furandione, 3-methyl-	9,04	C ₅ H ₆ O ₃	114	114
11	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	9,83	C ₆ H ₈ O ₂	112	112
12	Phenol, 2-methoxy-	11,26	C ₇ H ₈ O ₂	109	124
13	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	11,19	C ₆ H ₈ O ₃	43	128
14	Phenol, 3,4-dimethyl-	13,26	C ₈ H ₁₀ O	107	122
15	ni				
16	Phenol, 2-methoxy-4-methyl-	13,76	C ₈ H ₁₀ O ₂	123	138
17	ni				
18	Benzofuran, 2,3-dihydro-	14,51	C ₈ H ₈ O	120	120
19	1,4:3,6-Dianhydro- α -D-glucopyranose	15,27	C ₆ H ₈ O ₄	69	144
20	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	15,75	C ₉ H ₁₂ O ₂	137	152
21	2-Methoxy-4-vinylphenol	16,57	C ₉ H ₁₀ O ₂	135	150
22	ni				
23	Phenol, 2,6-dimethoxy-	17,46	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	154
24	Vanillin	18,65	C ₈ H ₈ O ₃	151	152
25	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (E)-	19,5	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164
26	Phenol, 2-methoxy-4-propyl-	19,84	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	137	166
27	Phenol, 3-methoxy-2,4,6-trimethyl-	20,46	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	151	166
28	Levoglucozan	21,77	C ₆ H ₁₀ O ₅	60	162
29	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	24,42	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194	194
30	ni				
31	Ethanone, 1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-	25,15	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	181	196
32	Desaspidinol	25,8	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	167	210
33	3,5-Dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde	29,43	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	208	208

TR - tempo de retenção (min); m/z – razão massa-carga dos espectros de massa; MM- massa molecular (kg/ kmol); ni – não identificado.

Table A14. Condensable compounds of CG/MS pyrolyse of sugarcane bagasse treated with acetic acid.

Peak n°	Compounds	TR	Formula	m/z	mw
1	Carbon dioxide	1,59	CO ₂	44	44
2	Propanoic acid, 2-oxo-	1,79	C ₃ H ₄ O ₃	43	88
3	Acetaldehyde	1,84	C ₂ H ₄ O	43	44
4	Acetic acid	2,51	C ₂ H ₄ O ₂	43	60
5	2-Propanone, 1-hydroxy-	2,66	C ₃ H ₆ O ₂	43	74
6	1,2-Ethanediol, monoacetate	3,96	C ₄ H ₈ O ₃	43	104
7	Furfural	5,12	C ₅ H ₄ O ₂	96	96
8	2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-	7,26	C ₅ H ₆ O ₂	98	98
9	Butanedioic acid, methyl-	8,12	C ₅ H ₈ O ₄	86	132
10	2,4(3H,5H)-Furandione, 3-methyl-	9,04	C ₅ H ₆ O ₃	114	114
11	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	9,83	C ₆ H ₈ O ₂	112	112
12	Phenol, 2-methoxy-	11,26	C ₇ H ₈ O ₂	109	124
13	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	11,19	C ₆ H ₈ O ₃	43	128
14	Phenol, 3,4-dimethyl-	13,26	C ₈ H ₁₀ O	107	122
15	ni				
16	Phenol, 2-methoxy-4-methyl-	13,76	C ₈ H ₁₀ O ₂	123	138
17	ni				
18	Benzofuran, 2,3-dihydro-	14,51	C ₈ H ₈ O	120	120
19	1,4:3,6-Dianhydro-à-d-glucopyranose	15,27	C ₆ H ₈ O ₄	69	144
20	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	15,75	C ₉ H ₁₂ O ₂	137	152
21	2-Methoxy-4-vinylphenol	16,57	C ₉ H ₁₀ O ₂	135	150
22	ni				
23	Phenol, 2,6-dimethoxy-	17,46	C ₈ H ₁₀ O ₃	154	154
24	Vanillin	18,65	C ₈ H ₈ O ₃	151	152
25	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (E)-	19,5	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	164
26	Phenol, 2-methoxy-4-propyl-	19,84	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	137	166
27	Phenol, 3-methoxy-2,4,6-trimethyl-	20,46	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	151	166
28	Levoglucofan	21,77	C ₆ H ₁₀ O ₅	60	162
29	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	24,42	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194	194
30	ni				
31	Ethanone, 1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)	25,15	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	181	196
32	Desaspidinol	25,8	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	167	210
33	3,5-Dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde	29,43	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	208	208

Rt – retention time (min); m/z - mass-to-charge ratio in the mass spectrum; MW- molecular weight (kg/ kmol); ni – not identified.

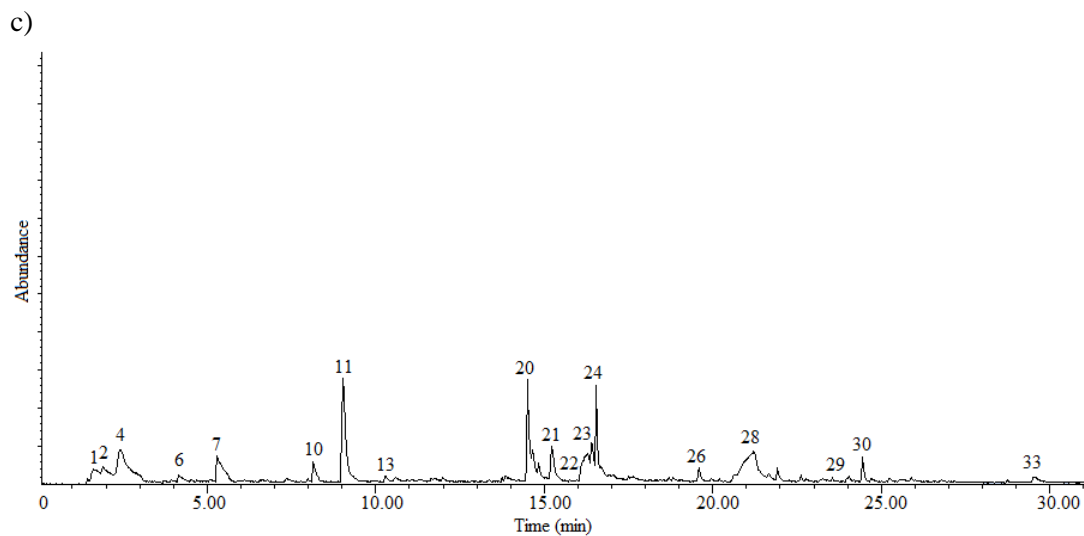
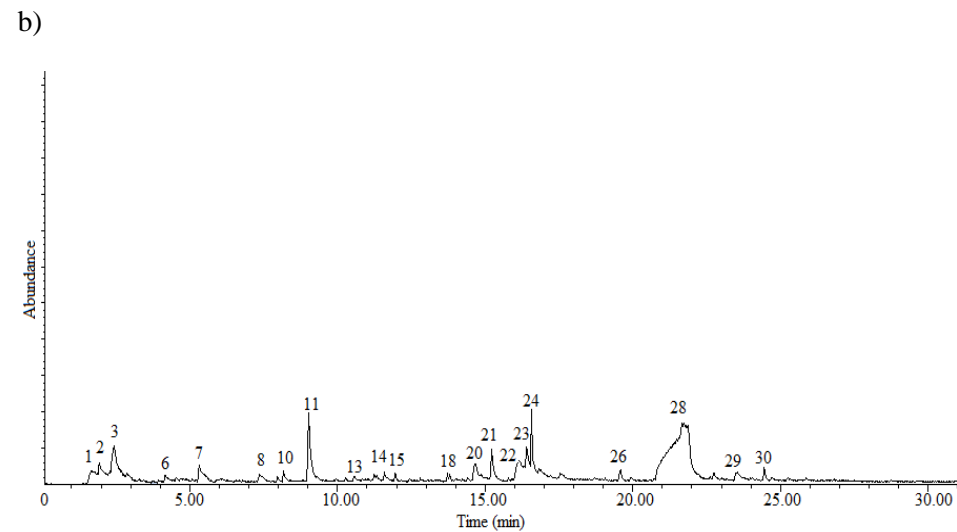
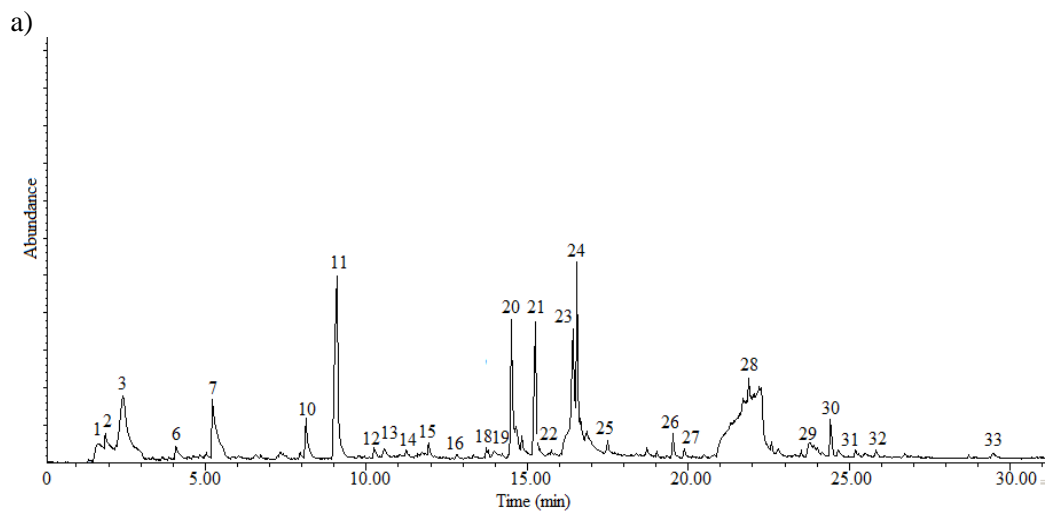


Figura A14. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC/MS do bagaço de cana tratado com ácido acético a 350 °C. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

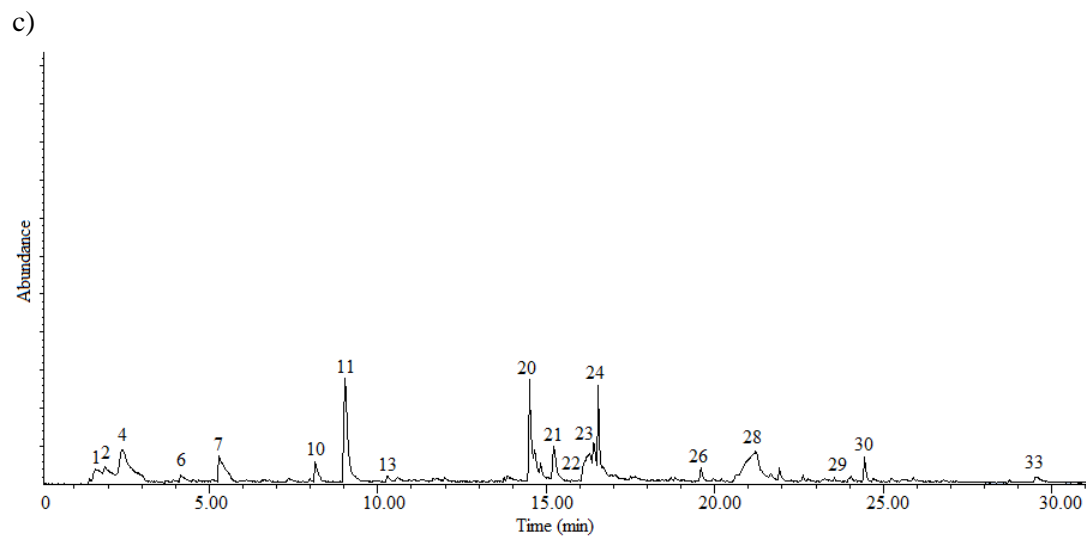
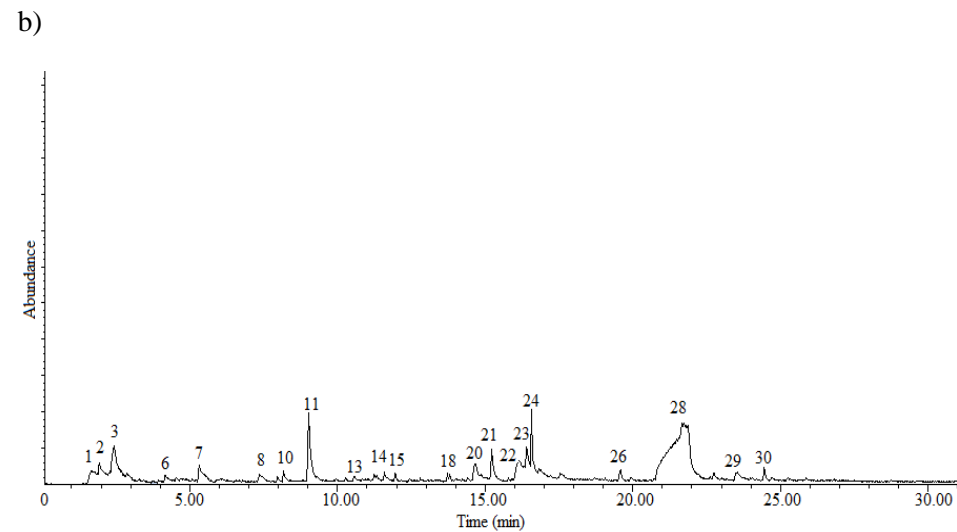
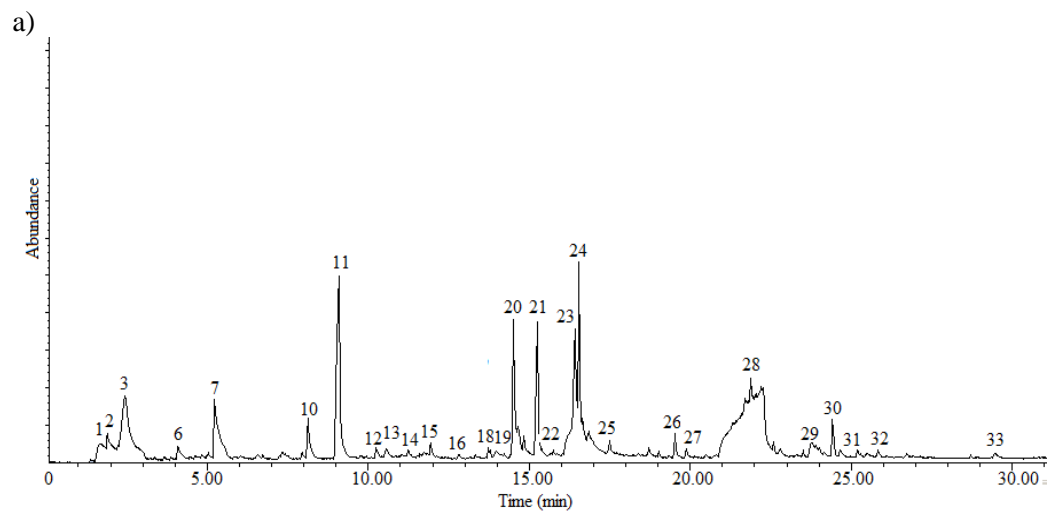


Figure A14. GC/MS chromatograms of condensable compounds of the acetic acid treated sugarcane bagasse at 350 °C. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A15. Bagaço de cana tratado com ácido acético submetido à pirólise CG/MS a 350 °C em triplicata.

Pico n°	350 °C			Média (Área pico/ mg)	STDEV
	1 (0,637mg)	2 (0,432 mg)	3 (0,536 mg)		
1	81034307,69	84244479,17	76792419,78	80690402,21	3737913,927
2	23881136,58	29031476,85	2219615,672	18377409,7	14228043,86
3	3285806,907	3464453,704	2857421,642	3202560,751	311960,6112
4	57381626,37	56189761,57	52980391,79	55517259,91	2276380,971
5	15358979,59	16360430,56	11269930,97	14329780,37	2696800,842
6	20058273,16	17898918,98	15026264,93	17661152,35	2524416,058
7	54655408,16	24409601,85	35930714,55	38331908,19	15265205,47
8	4578708,006	5378993,056	2732337,687	4230012,916	1357345,704
9	9900150,706	3731076,389	7011555,97	6880927,688	3086610,972
10	130693370,5	69778224,54	95533128,73	98668241,25	30578349,36
11	1114751,962	1847599,537	1478567,164	1480306,221	366426,8824
12	1107018,838	2153400,463	825906,7164	1362108,673	699544,8731
13	2780210,361	3072020,833	1715531,716	2522587,637	713997,7465
14	7750737,834	685729,1667	449798,5075	2962088,503	4148769,412
15	0	0	0	0	0
16	883448,9796	1591909,722	457514,9254	977624,5424	573031,1215
17	0	0	0	0	0
18	49266381,48	24517847,22	43055156,72	38946461,8	12875694,83
19	4809731,554	2203446,759	2145671,642	3052949,985	1521691,691
20	842205,6515	1143483,796	443130,597	809606,6816	351312,7817
21	21520416,01	15280706,02	15109513,06	17303545,03	3652920,396
22	0	0	0	0	0
23	2216759,812	4147740,741	1580897,388	2648465,98	1336768,066
24	1672872,841	516171,2963	1602630,597	1263891,578	648496,4983
25	3567759,812	2248194,444	3349541,045	3055165,1	707323,1843
26	4027384,615	2593571,759	2013554,104	2878170,16	1036641,461
27	1378863,422	887687,5	1177916,045	1148155,656	246936,6462
28	221031854	222341560,2	180664559,7	208012658	23693199,27
29	9403822,606	4991724,537	7872945,896	7422831,013	2240224,296
30	0	0	0	0	0
31	2972932,496	2029381,944	1419307,836	2140540,759	782754,5003
32	3509233,909	2506453,704	2192361,94	2736016,518	687795,2163
33	2124718,995	588231,4815	3201651,119	1971533,865	1313426,745

Table A15. Bagasse treated with acetic acid subjected to pyrolysis CG/MS at 350 °C

Peak n°	350°C			Average	STDEV
	1 (0,637mg)	2 (0,432 mg)	3 (0,536 mg)		
1	81034307,69	84244479,17	76792419,78	80690402,21	3737913,927
2	23881136,58	29031476,85	2219615,672	18377409,7	14228043,86
3	3285806,907	3464453,704	2857421,642	3202560,751	311960,6112
4	57381626,37	56189761,57	52980391,79	55517259,91	2276380,971
5	15358979,59	16360430,56	11269930,97	14329780,37	2696800,842
6	20058273,16	17898918,98	15026264,93	17661152,35	2524416,058
7	54655408,16	24409601,85	35930714,55	38331908,19	15265205,47
8	4578708,006	5378993,056	2732337,687	4230012,916	1357345,704
9	9900150,706	3731076,389	7011555,97	6880927,688	3086610,972
10	130693370,5	69778224,54	95533128,73	98668241,25	30578349,36
11	1114751,962	1847599,537	1478567,164	1480306,221	366426,8824
12	1107018,838	2153400,463	825906,7164	1362108,673	699544,8731
13	2780210,361	3072020,833	1715531,716	2522587,637	713997,7465
14	7750737,834	685729,1667	449798,5075	2962088,503	4148769,412
15	0	0	0	0	0
16	883448,9796	1591909,722	457514,9254	977624,5424	573031,1215
17	0	0	0	0	0
18	49266381,48	24517847,22	43055156,72	38946461,8	12875694,83
19	4809731,554	2203446,759	2145671,642	3052949,985	1521691,691
20	842205,6515	1143483,796	443130,597	809606,6816	351312,7817
21	21520416,01	15280706,02	15109513,06	17303545,03	3652920,396
22	0	0	0	0	0
23	2216759,812	4147740,741	1580897,388	2648465,98	1336768,066
24	1672872,841	516171,2963	1602630,597	1263891,578	648496,4983
25	3567759,812	2248194,444	3349541,045	3055165,1	707323,1843
26	4027384,615	2593571,759	2013554,104	2878170,16	1036641,461
27	1378863,422	887687,5	1177916,045	1148155,656	246936,6462
28	221031854	222341560,2	180664559,7	208012658	23693199,27
29	9403822,606	4991724,537	7872945,896	7422831,013	2240224,296
30	0	0	0	0	0
31	2972932,496	2029381,944	1419307,836	2140540,759	782754,5003
32	3509233,909	2506453,704	2192361,94	2736016,518	687795,2163
33	2124718,995	588231,4815	3201651,119	1971533,865	1313426,745

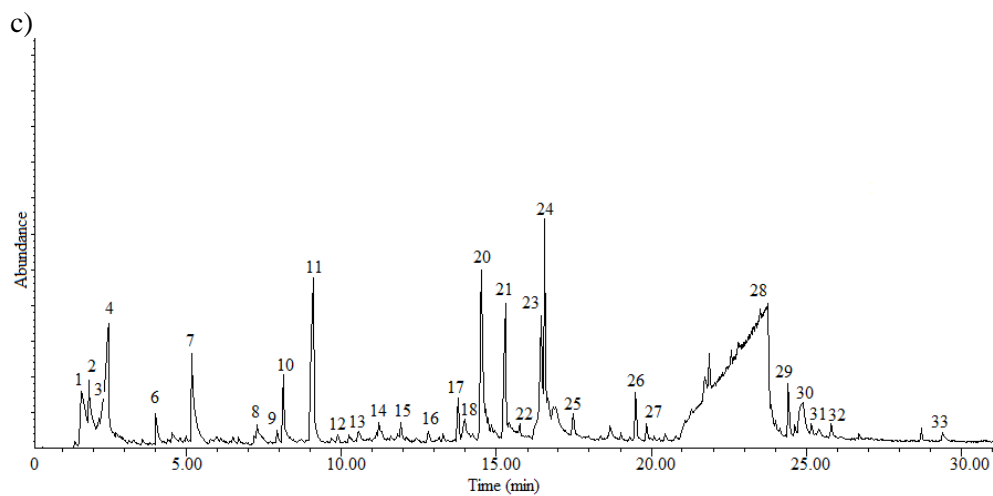
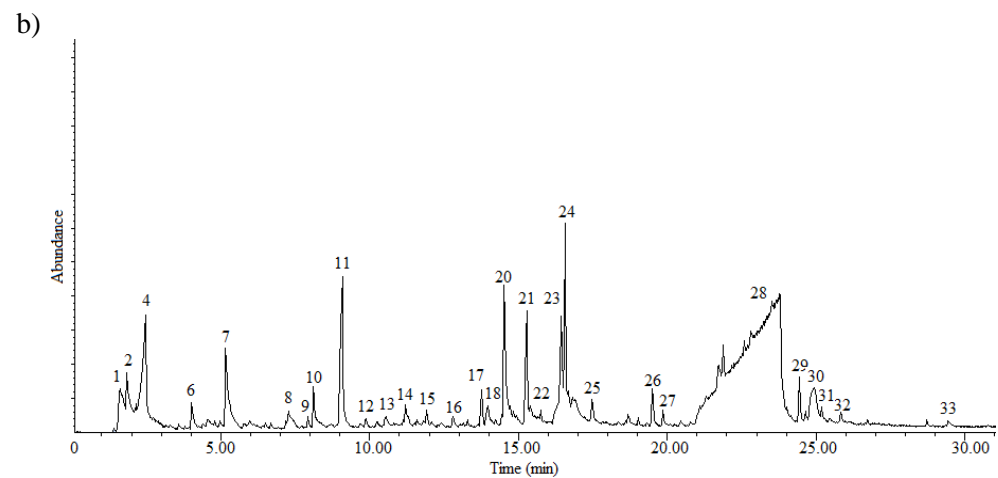
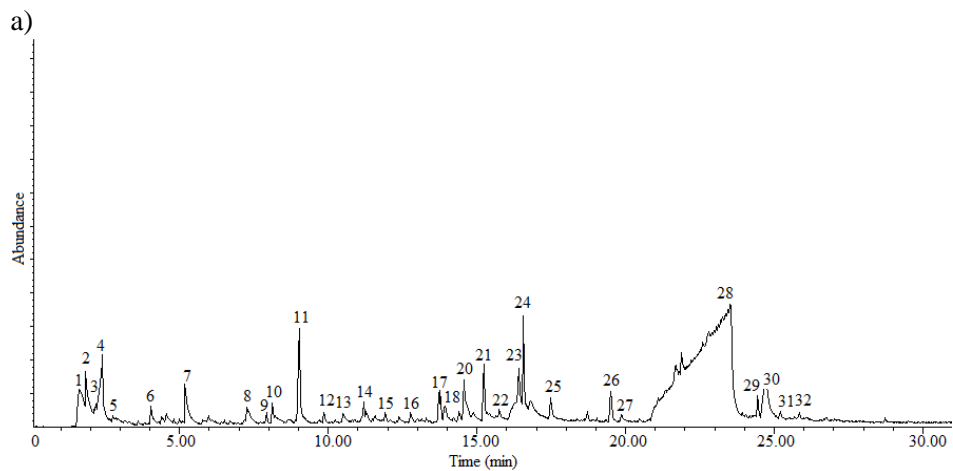


Figura A15. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC/MS do bagaço de cana tratado com ácido acético a 400 °C. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

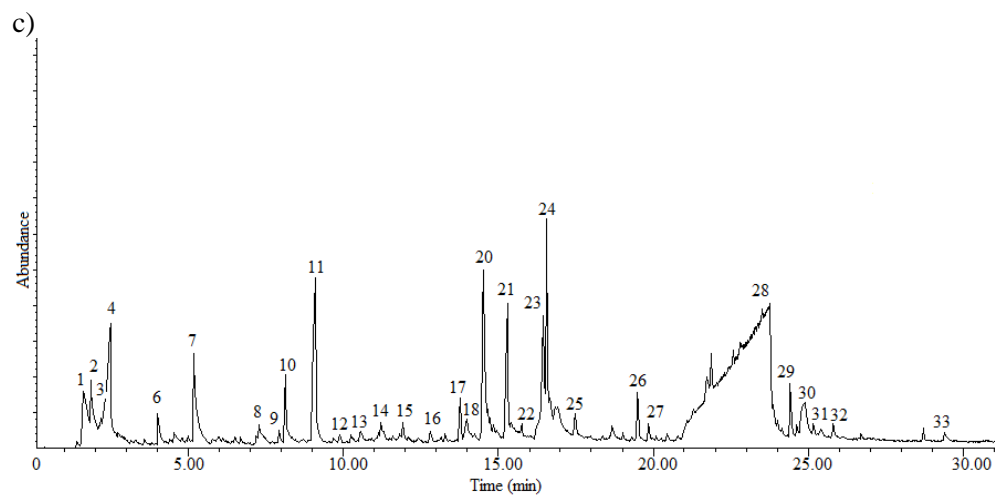
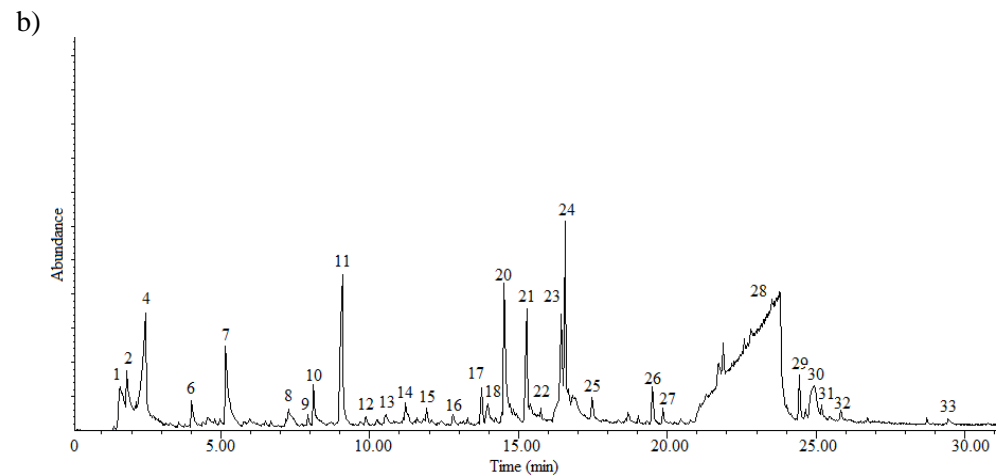
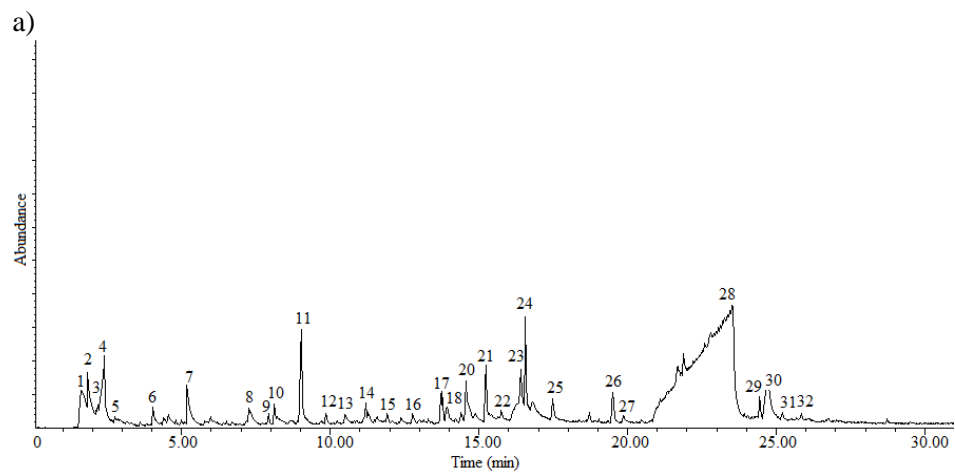


Figure A15. GC/MS chromatograms of condensable compounds of the acetic acid treated sugarcane bagasse at 400 °C. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A16. Bagaço de cana tratado com ácido acético submetido à pirólise CG/MS a 400 °C em triplicata.

Pico n°	400°C			Média (Área pico/ mg)	STDEV
	1 (0,484 mg)	2 (0,681 mg)	3 (0,576 mg)		
1	184134463	152100724	198931175	178388787	23938095
2	839925,62	40489377	50649807	30659703	26319630
3	210295,45	79960098	4019586,8	28063327	44984262
4	696479,34	9136484,6	92827003	34219989	50930296
5	163353,31	121411,16	20696623	6993795,9	11867015
6	408816,12	25699370	31502870	19203685	16533466
7	33691789	51167893	62521481	49127054	14522794
8	14125647	10725239	11570255	12140380	1770444,7
9	3922103,3	6754465,5	13034167	7903578,5	4663450,5
10	63305300	92566612	114580585	90150832	25722864
11	5466956,6	3445039,6	3816276	4242757,4	1076314
12	4057766,5	2544005,9	3224739,6	3275504	758156,05
13	145464,88	6035560,9	6085864,6	4088963,5	3415262,6
14	138295,45	1241212,9	10987951	4122486,6	5971186
15	0	0	0	0	0
16	5639128,1	2862371,5	4274144,1	4258547,9	1388444
17	0	0	0	0	0
18	36233326	58172198	77419795	57275107	20607884
19	3006938	4350716,6	5562413,2	4306689,3	1278306,4
20	2777547,5	1966086,6	2544810,8	2429481,6	417843,03
21	19411847	22304651	28691484	23469327	4748186,1
22	0	0	0	0	0
23	9555326,4	22304651	7055343,8	12971774	8178595,4
24	1075043,4	2300168,9	3796489,6	2390567,3	1362973,3
25	2711082,6	3918072	6069366,3	4232840,3	1701125,1
26	5140221,1	5825903,1	7763861,1	6243328,4	1360718,4
27	1604838,8	1903801,8	2747798,6	2085479,7	592743,13
28	846157363,6	732070652	821268137,2	799832050,9	59988113,73
29	7176584,7	10415615	12791955	10128052	2818708,1
30	0	0	0	0	0
31	4308673,6	4290298,1	5126208,3	4575060	477396,88
32	4385018,6	4892185	5742628,5	5006610,7	686000,05
33	748933,88	2266218,8	3247605,9	2087586,2	1258877,5

Table A16. Bagasse treated with acetic acid subjected to pyrolysis CG/MS at 400 °C

Peak n°	400°C			Average	STDEV
	1 (0,484 mg)	2 (0,681 mg)	3 (0,576 mg)		
1	184134463	152100724	198931175	178388787	23938095
2	839925,62	40489377	50649807	30659703	26319630
3	210295,45	79960098	4019586,8	28063327	44984262
4	696479,34	9136484,6	92827003	34219989	50930296
5	163353,31	121411,16	20696623	6993795,9	11867015
6	408816,12	25699370	31502870	19203685	16533466
7	33691789	51167893	62521481	49127054	14522794
8	14125647	10725239	11570255	12140380	1770444,7
9	3922103,3	6754465,5	13034167	7903578,5	4663450,5
10	63305300	92566612	114580585	90150832	25722864
11	5466956,6	3445039,6	3816276	4242757,4	1076314
12	4057766,5	2544005,9	3224739,6	3275504	758156,05
13	145464,88	6035560,9	6085864,6	4088963,5	3415262,6
14	138295,45	1241212,9	10987951	4122486,6	5971186
15	0	0	0	0	0
16	5639128,1	2862371,5	4274144,1	4258547,9	1388444
17	0	0	0	0	0
18	36233326	58172198	77419795	57275107	20607884
19	3006938	4350716,6	5562413,2	4306689,3	1278306,4
20	2777547,5	1966086,6	2544810,8	2429481,6	417843,03
21	19411847	22304651	28691484	23469327	4748186,1
22	0	0	0	0	0
23	9555326,4	22304651	7055343,8	12971774	8178595,4
24	1075043,4	2300168,9	3796489,6	2390567,3	1362973,3
25	2711082,6	3918072	6069366,3	4232840,3	1701125,1
26	5140221,1	5825903,1	7763861,1	6243328,4	1360718,4
27	1604838,8	1903801,8	2747798,6	2085479,7	592743,13
28	846157363,6	732070652	821268137,2	799832050,9	59988113,73
29	7176584,7	10415615	12791955	10128052	2818708,1
30	0	0	0	0	0
31	4308673,6	4290298,1	5126208,3	4575060	477396,88
32	4385018,6	4892185	5742628,5	5006610,7	686000,05
33	748933,88	2266218,8	3247605,9	2087586,2	1258877,5

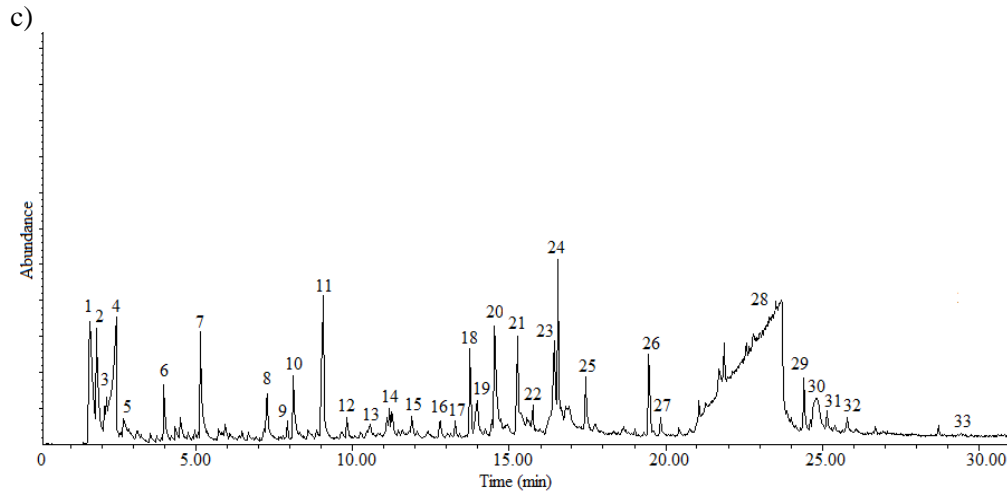
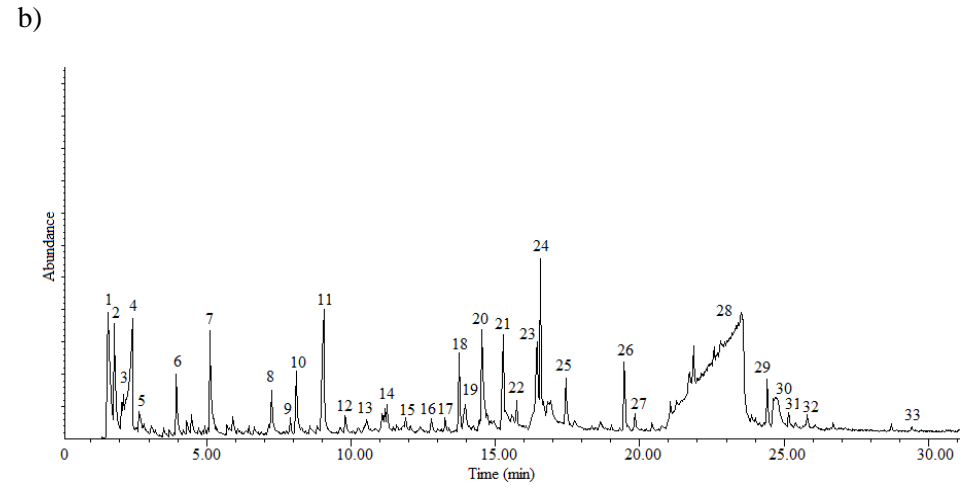
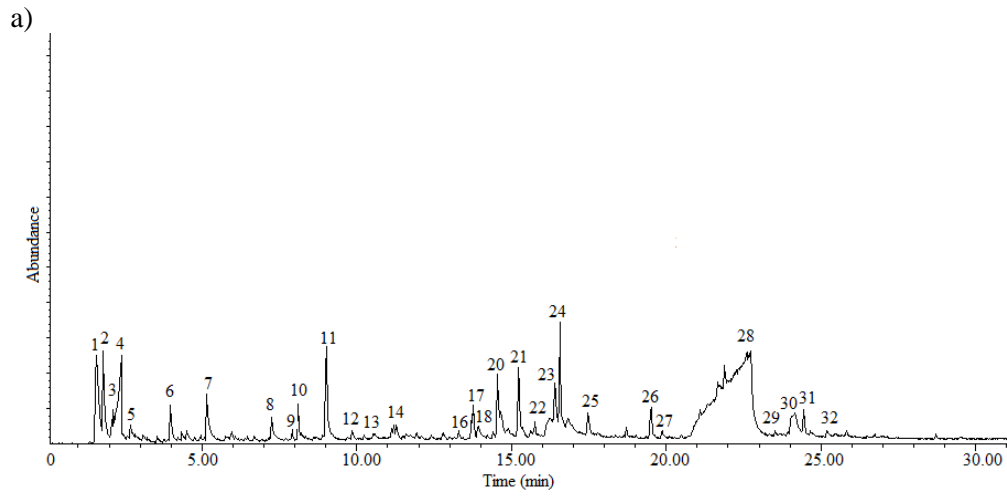


Figura X16. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC/MS do bagaço de cana tratado com ácido acético a 450 °C. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

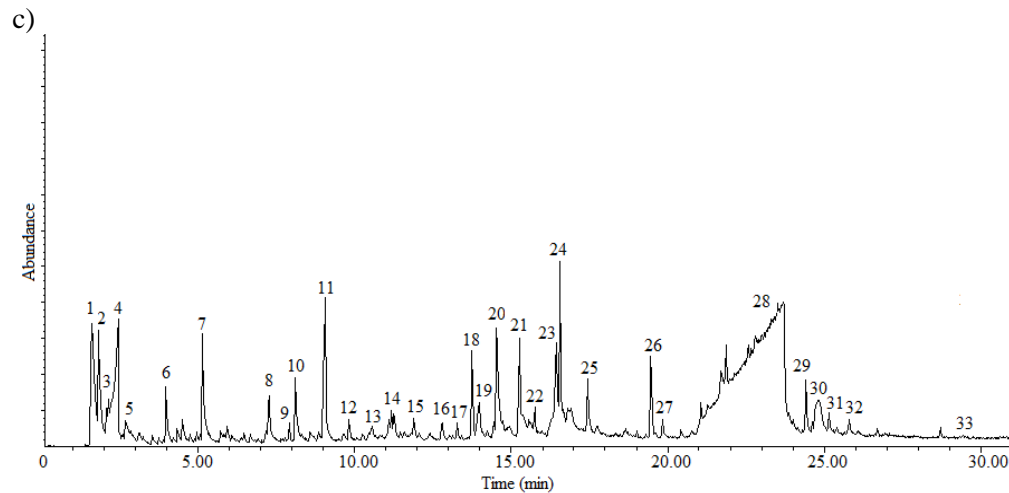
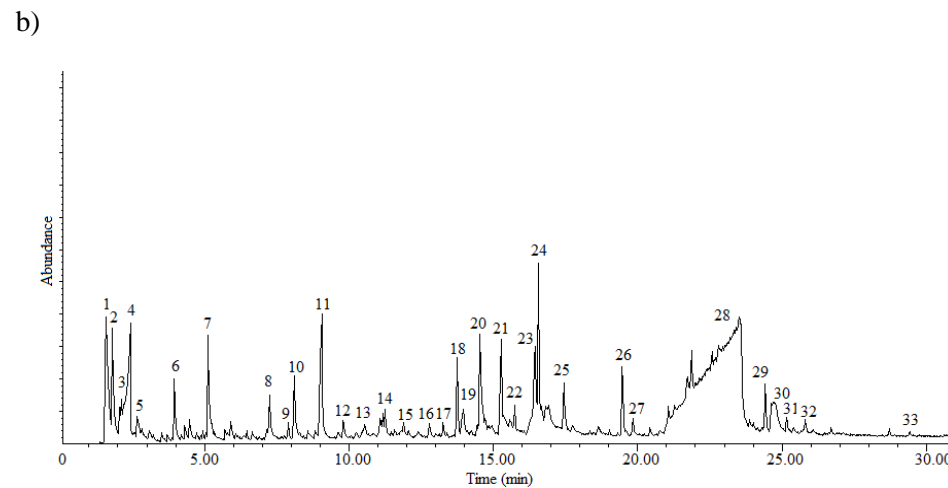
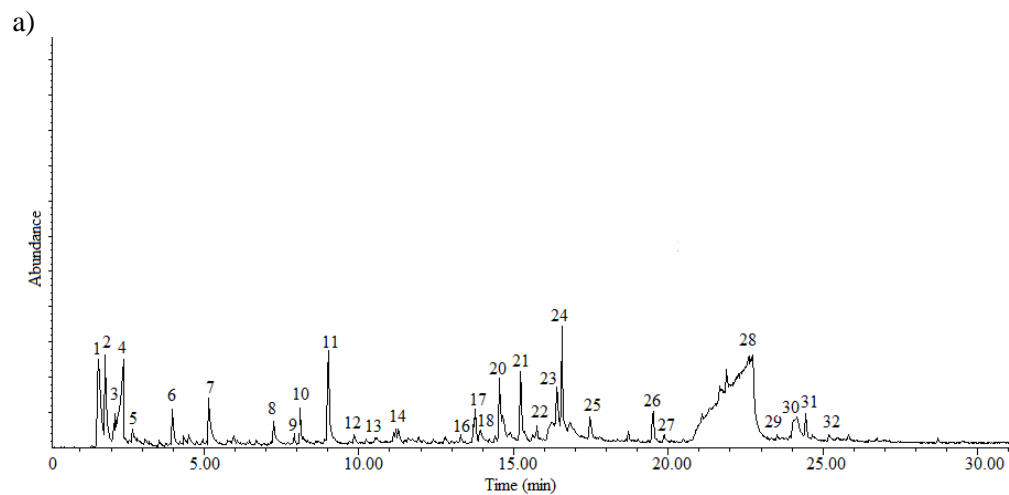


Figure X16. GC/MS chromatograms of condensable compounds of the acetic acid treated sugarcane bagasse at 450 °C. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A17. Bagaço de cana tratado com ácido acético submetido à pirólise CG/MS a 450 ° C

Pico n°	450°C			Média (Área pico/ mg)	STDEV
	1 (0,378 mg)	2 (0,627 mg)	3 (0,655 mg)		
1	257083365	2,4E+08	2,3E+08	239960090,1	15441537,98
2	77734519	6,7E+07	6,1E+07	68530801,63	8630747,756
3	5280113,8	6618841	6271537	6056830,557	694709,7257
4	74790807	8E+07	7,1E+07	75080131,04	4387652,525
5	27422833	3E+07	2,7E+07	28082681,53	1626925,486
6	38332542	3,6E+07	3E+07	35051820,77	4184432,048
7	36847807	3,3E+07	2,9E+07	32914637,33	3813676,494
8	14548741	1,3E+07	1,3E+07	13487619,71	956462,1816
9	7262722,2	8662895	7247739	7724451,963	812749,8102
10	76943503	7,5E+07	7,2E+07	74721438,14	2249817,735
11	6626677,2	6587801	6803995	6672824,435	115248,5057
12	6289431,2	6874388	5907095	6356971,144	487170,5262
13	5566021,2	4685443	5703513	5318325,841	552386,7806
14	693076,72	842019	709791	748295,566	81596,08765
15	0	0	0	0	0
16	8007820,1	9053442	8130435	8397232,336	571591,4122
17	0	0	0	0	0
18	43137542	4,5E+07	4,5E+07	44492340,79	1175549,162
19	4166396,8	3745078	3923918	3945130,844	211458,8831
20	5007666,7	6263823	5473557	5581682,295	635020,0242
21	27417172	2,3E+07	1,9E+07	23005213,47	4190529,818
22	0	0	0	0	0
23	10786058	1,3E+07	1,3E+07	12464405,52	1453668,612
24	2259320,1	2451033	1993334	2234562,65	229851,7452
25	4333172	4352582	3370661	4018805,055	561393,0517
26	5718547,6	6964033	6313585	6332055,282	622948,3416
27	2386600,5	2635805	2384085	2468830,483	144610,0076
28	608396793,7	658462606,1	678826815,3	648562071,7	36243791,5
29	9750230,2	1E+07	9411470	9801844,84	418575,5281
30	0	0	0	0	0
31	4937822,8	6263810	6373289	5858307,169	799040,0802
32	4427481,5	5220834	5328933	4992416,146	492224,2506
33	1509224,9	1392616	1299737	1400525,967	104967,5158

Table A17. Bagasse treated with acetic acid subjected to pyrolysis CG/MS at 450 °C

Peak n°	450°C			Average	STDEV
	1 (0,378 mg)	2 (0,627 mg)	3 (0,655 mg)		
1	257083365	2,4E+08	2,3E+08	239960090,1	15441537,98
2	77734519	6,7E+07	6,1E+07	68530801,63	8630747,756
3	5280113,8	6618841	6271537	6056830,557	694709,7257
4	74790807	8E+07	7,1E+07	75080131,04	4387652,525
5	27422833	3E+07	2,7E+07	28082681,53	1626925,486
6	38332542	3,6E+07	3E+07	35051820,77	4184432,048
7	36847807	3,3E+07	2,9E+07	32914637,33	3813676,494
8	14548741	1,3E+07	1,3E+07	13487619,71	956462,1816
9	7262722,2	8662895	7247739	7724451,963	812749,8102
10	76943503	7,5E+07	7,2E+07	74721438,14	2249817,735
11	6626677,2	6587801	6803995	6672824,435	115248,5057
12	6289431,2	6874388	5907095	6356971,144	487170,5262
13	5566021,2	4685443	5703513	5318325,841	552386,7806
14	693076,72	842019	709791	748295,566	81596,08765
15	0	0	0	0	0
16	8007820,1	9053442	8130435	8397232,336	571591,4122
17	0	0	0	0	0
18	43137542	4,5E+07	4,5E+07	44492340,79	1175549,162
19	4166396,8	3745078	3923918	3945130,844	211458,8831
20	5007666,7	6263823	5473557	5581682,295	635020,0242
21	27417172	2,3E+07	1,9E+07	23005213,47	4190529,818
22	0	0	0	0	0
23	10786058	1,3E+07	1,3E+07	12464405,52	1453668,612
24	2259320,1	2451033	1993334	2234562,65	229851,7452
25	4333172	4352582	3370661	4018805,055	561393,0517
26	5718547,6	6964033	6313585	6332055,282	622948,3416
27	2386600,5	2635805	2384085	2468830,483	144610,0076
28	608396793,7	658462606,1	678826815,3	648562071,7	36243791,5
29	9750230,2	1E+07	9411470	9801844,84	418575,5281
30	0	0	0	0	0
31	4937822,8	6263810	6373289	5858307,169	799040,0802
32	4427481,5	5220834	5328933	4992416,146	492224,2506
33	1509224,9	1392616	1299737	1400525,967	104967,5158

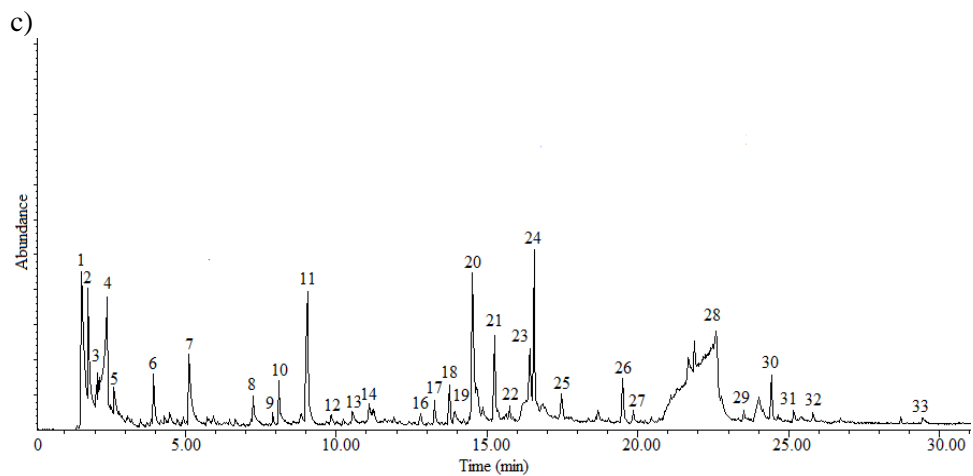
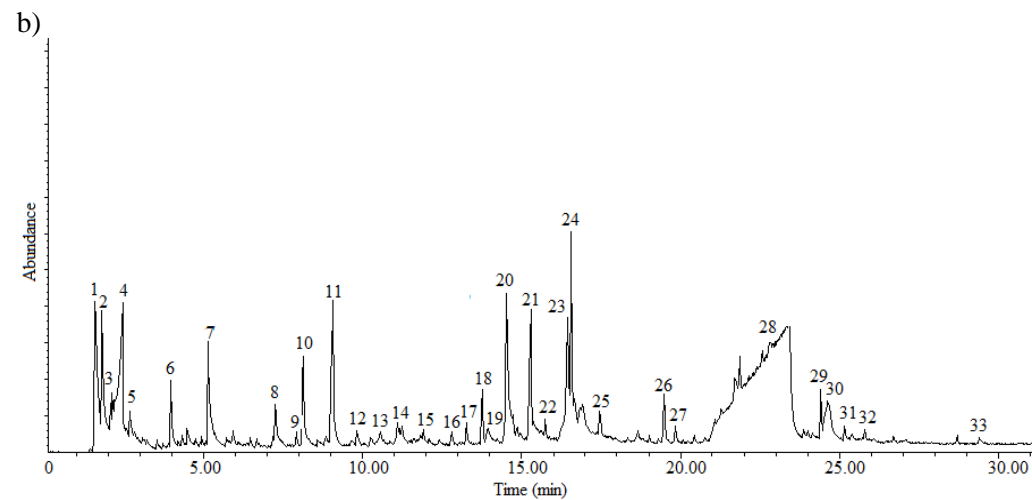
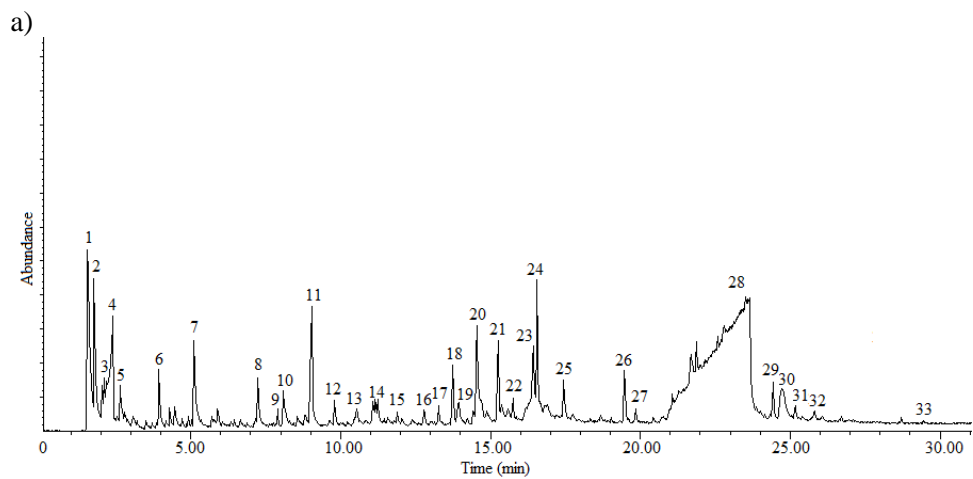


Figura A17. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC/MS do bagaço de cana tratado com ácido acético a 500 °C. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

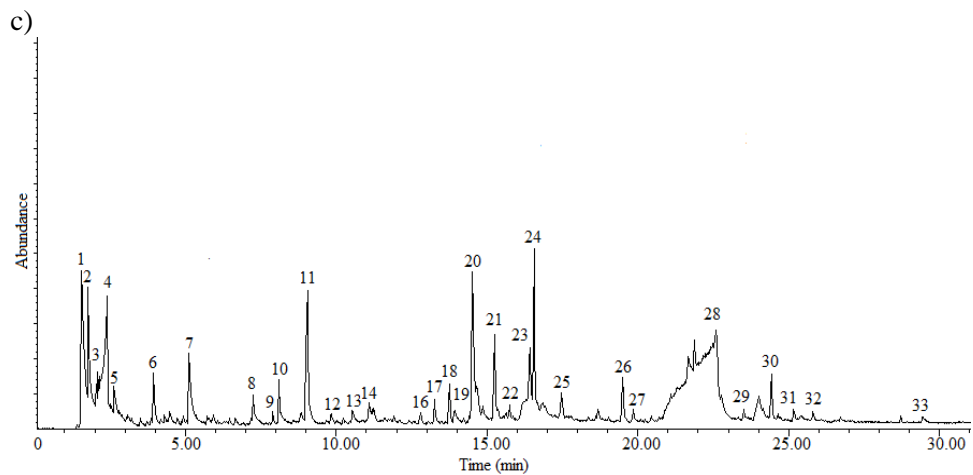
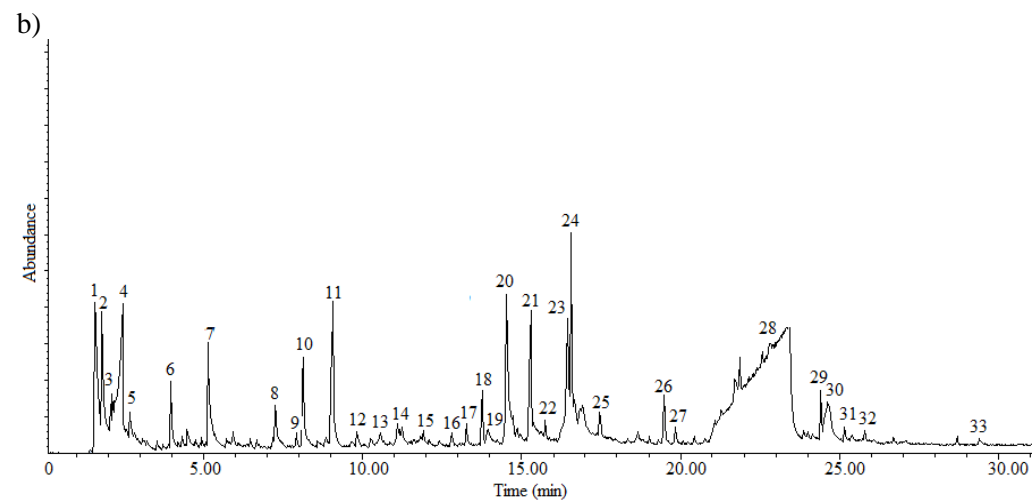
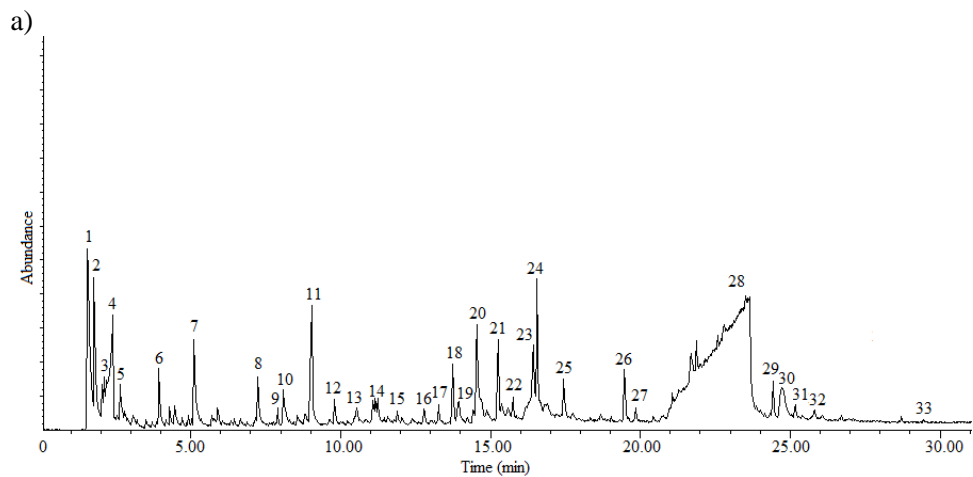


Figure A17. GC/MS chromatograms of condensable compounds of the acetic acid treated sugarcane bagasse at 500 °C. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A18. Bagaço de cana tratado com ácido acético submetido à pirólise CG/MS a 500 °C em triplicata.

Pico n°	500 °C			Média (Área pico/ mg)	STDEV
	1 (0,648 mg)	2 (0,678 mg)	3 (0,655 mg)		
1	263903634,3	230050755,2	222563497,7	238839295,7	22026814,48
2	66376342,59	57041812,68	55050099,24	59489418,17	6046819,545
3	13074783,95	13104064,9	8027778,626	11402209,16	2922379,237
4	62519470,68	85031851,03	90986490,08	79512603,93	15014638,35
5	31539558,64	29954308,26	29481836,64	30325234,51	1077842,601
6	28532074,07	9825817,109	27516491,6	21958127,6	10519152,54
7	29675916,67	31793911,5	35527845,8	32332557,99	2962916,414
8	12821953,7	13623557,52	13284497,71	13243336,31	402383,9782
9	3567572,531	10820932,15	9838242,748	8075582,477	3934848,774
10	60776095,68	64245523,6	74858856,49	66626825,26	7337164,724
11	7158401,235	7098190,265	6034512,977	6763701,492	632212,9849
12	5079674,383	4100415,929	2878879,389	4019656,567	1102617,888
13	4611297,84	4247908,555	3896534,351	4251913,582	357398,5748
14	1355668,21	0	0	451889,4033	782695,4059
15	0	0	0	0	0
16	5932493,827	5573489,676	5342981,679	5616321,727	297080,9344
17	0	0	0	0	0
18	34797961,42	59659706,49	65052222,9	53169963,6	16137461,28
19	4292952,16	4598336,283	4872000	4587762,815	289668,688
20	4299924,383	3484463,127	2517261,069	3433882,859	892407,3595
21	17488203,7	21571222,71	20554306,87	19871244,43	2125486,246
22	0	0	0	0	0
23	10673134,26	6493150,442	5340488,55	7502257,75	2805886,8
24	1382578,704	2508721,239	3716233,588	2535844,51	1167063,851
25	2597833,333	4498306,785	5626589,313	4240909,81	1530696,115
26	4864476,852	5681963,127	5657369,466	5401269,815	465038,9509
27	1744077,16	2164470,501	2360291,603	2089613,088	314853,5914
28	655265642	572953427,7	609115807,6	612444959,1	41256970,21
29	7160925,926	9572237,463	10574600	9102587,796	1754628,387
30	0	0	0	0	0
31	4631608,025	4311008,85	4037911,45	4326842,775	297164,8372
32	4052311,728	4063659,292	4002038,168	4039336,396	32795,73401
33	743228,3951	2062480,826	3497432,061	2101047,094	1377506,797

Tabela A18. Bagasse treated with acetic acid subjected to pyrolysis CG/MS at 500 °C

Peak n°	500°C			Average	STDEV
	1 (0,648 mg)	2 (0,678 mg)	3 (0,655 mg)		
1	263903634,3	230050755,2	222563497,7	238839295,7	22026814,48
2	66376342,59	57041812,68	55050099,24	59489418,17	6046819,545
3	13074783,95	13104064,9	8027778,626	11402209,16	2922379,237
4	62519470,68	85031851,03	90986490,08	79512603,93	15014638,35
5	31539558,64	29954308,26	29481836,64	30325234,51	1077842,601
6	28532074,07	9825817,109	27516491,6	21958127,6	10519152,54
7	29675916,67	31793911,5	35527845,8	32332557,99	2962916,414
8	12821953,7	13623557,52	13284497,71	13243336,31	402383,9782
9	3567572,531	10820932,15	9838242,748	8075582,477	3934848,774
10	60776095,68	64245523,6	74858856,49	66626825,26	7337164,724
11	7158401,235	7098190,265	6034512,977	6763701,492	632212,9849
12	5079674,383	4100415,929	2878879,389	4019656,567	1102617,888
13	4611297,84	4247908,555	3896534,351	4251913,582	357398,5748
14	1355668,21	0	0	451889,4033	782695,4059
15	0	0	0	0	0
16	5932493,827	5573489,676	5342981,679	5616321,727	297080,9344
17	0	0	0	0	0
18	34797961,42	59659706,49	65052222,9	53169963,6	16137461,28
19	4292952,16	4598336,283	4872000	4587762,815	289668,688
20	4299924,383	3484463,127	2517261,069	3433882,859	892407,3595
21	17488203,7	21571222,71	20554306,87	19871244,43	2125486,246
22	0	0	0	0	0
23	10673134,26	6493150,442	5340488,55	7502257,75	2805886,8
24	1382578,704	2508721,239	3716233,588	2535844,51	1167063,851
25	2597833,333	4498306,785	5626589,313	4240909,81	1530696,115
26	4864476,852	5681963,127	5657369,466	5401269,815	465038,9509
27	1744077,16	2164470,501	2360291,603	2089613,088	314853,5914
28	655265642	572953427,7	609115807,6	612444959,1	41256970,21
29	7160925,926	9572237,463	10574600	9102587,796	1754628,387
30	0	0	0	0	0
31	4631608,025	4311008,85	4037911,45	4326842,775	297164,8372
32	4052311,728	4063659,292	4002038,168	4039336,396	32795,73401
33	743228,3951	2062480,826	3497432,061	2101047,094	1377506,797

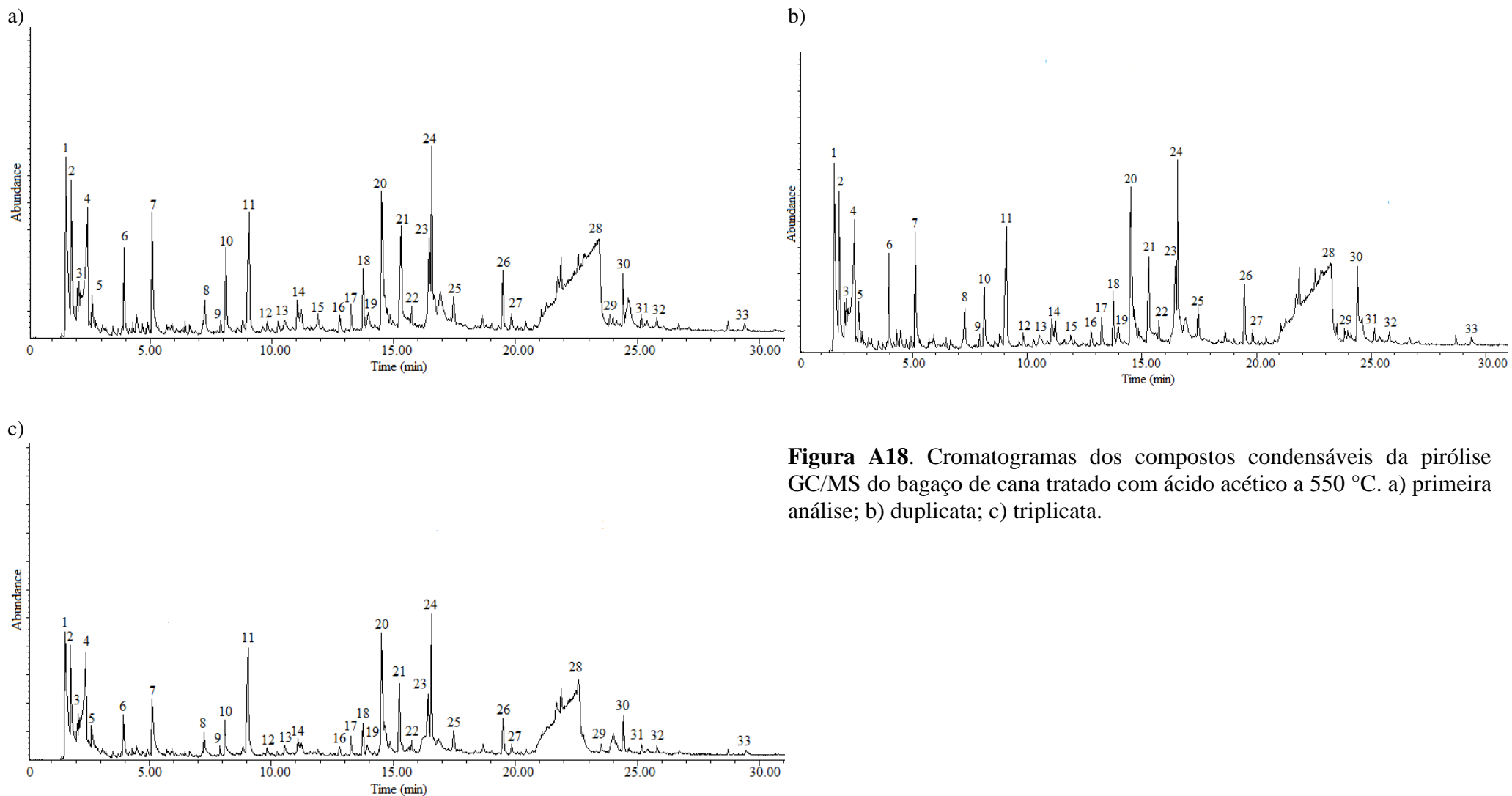


Figura A18. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC/MS do bagaço de cana tratado com ácido acético a 550 °C. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

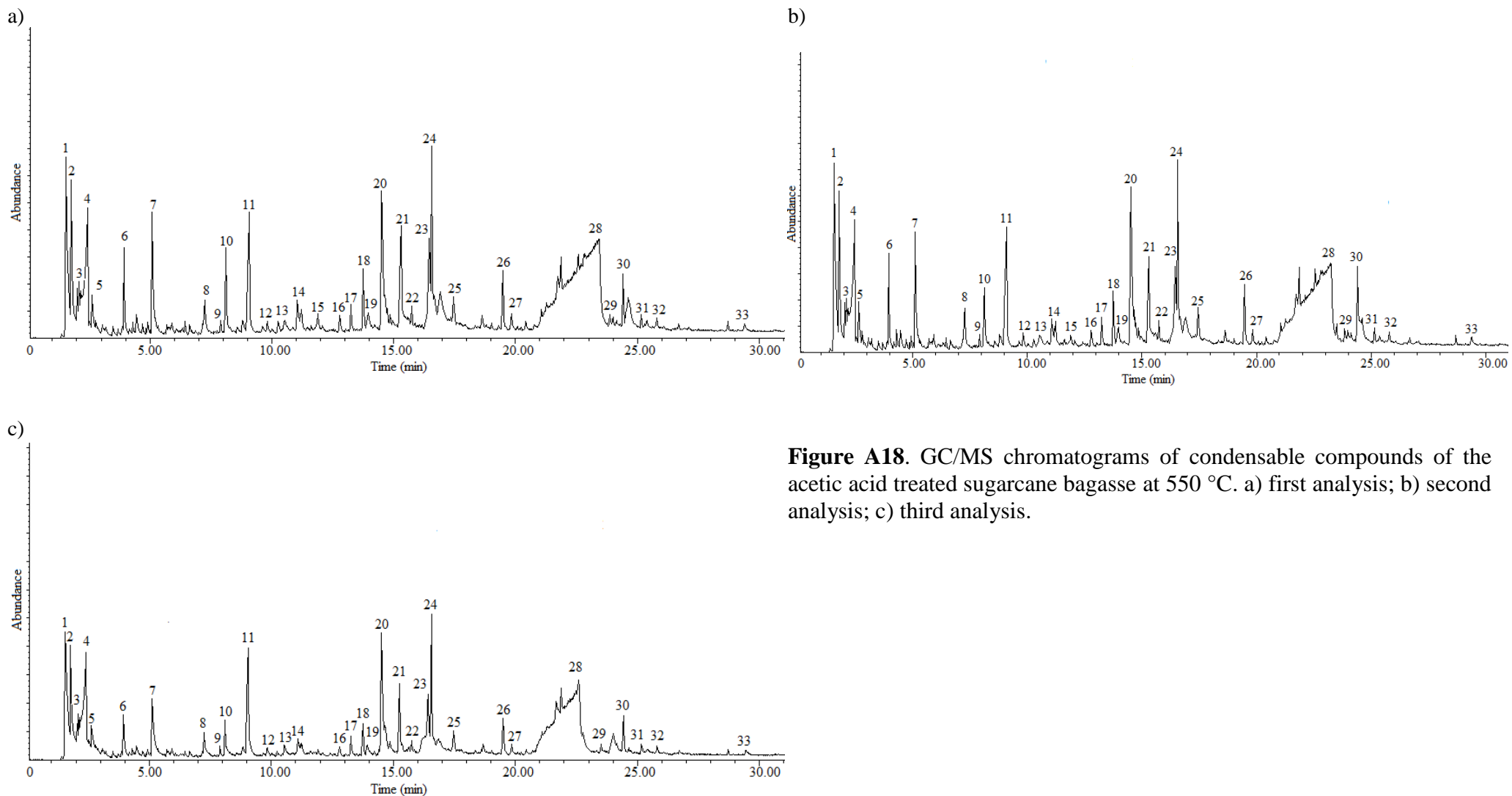


Figure A18. GC/MS chromatograms of condensable compounds of the acetic acid treated sugarcane bagasse at 550 °C. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A19. Bagaço de cana tratado com ácido acético submetido à pirólise CG/MS a 550 °C em triplicata.

-	550°C			Média (Área pico/ mg)	STDEV
	Pico n°	1 (0,645 mg)	2 (0,666 mg)		
1	280284790,7	279077298,8	284875731,5	281412607	3059319,003
2	75982444,96	80763397,9	62948254,05	73231365,64	9220692,253
3	20923908,53	18854615,62	10494423,42	16757649,19	5521910,089
4	93496902,33	97824719,22	91243048,65	94188223,4	3344852,836
5	35188671,32	33984917,42	30890630,63	33354739,79	2217235,062
6	49103930,23	50223581,08	32977068,47	44101526,59	9650315,07
7	40586378,29	36989106,61	43538565,77	40371350,22	3280020,064
8	12168824,81	13751121,62	11062581,98	12327509,47	1351276,051
9	15699221,71	10314548,05	7748918,919	11254229,56	4057595,298
10	86940637,21	90034117,12	85350138,74	87441631,02	2381839,512
11	5181961,24	5772241,742	5416900,901	5457034,628	297179,7513
12	4830503,876	5180947,447	3892836,036	4634762,453	665990,8261
13	4789657,364	5080501,502	3626551,351	4498903,406	769347,8785
14	2290182,946	2152180,18	1341965,766	1928109,631	512283,7724
15	0	0	0	0	0
16	7850257,364	6994740,24	5076837,838	6640611,814	1420218,002
17	0	0	0	0	0
18	79355545,74	93278069,07	90188679,28	87607431,36	7311381,169
19	5237434,109	4316262,763	3351861,261	4301852,711	942869,0141
20	2675621,705	5225486,486	3375416,216	3758841,469	1317464,912
21	27556789,15	29696487,99	25072857,66	27442044,93	2313949,877
22	0	0	0	0	0
23	8527382,946	11058630,63	7192535,135	8926182,904	1963658,486
24	4415382,946	4388870,871	2746873,874	3850375,897	955752,7183
25	7260978,295	6472956,456	3169868,468	5634601,073	2170581,653
26	8175567,442	7285295,796	5433007,207	6964623,482	1399118,369
27	665975,1938	3010974,474	324430,6306	1333793,433	1462486,019
28	579610851,2	504019918,9	565835448,6	549822072,9	40259389,11
29	13358706,98	15400333,33	11507625,23	13422221,85	1947131,148
30	0	0	0	0	0
31	4773767,442	5422171,171	4603963,964	4933300,859	431803,1286
32	4823660,465	5245451,952	4624918,919	4898010,445	316877,3437
33	2856590,698	3299741,742	2921254,054	3025862,164	239380,1465

Table A19. Bagasse treated with acetic acid subjected to pyrolysis CG / MS at 550 ° C

-	550°C			Average	STDEV
	Peak n°	1 (0,645 mg)	2 (0,666 mg)		
1	280284790,7	279077298,8	284875731,5	281412607	3059319,003
2	75982444,96	80763397,9	62948254,05	73231365,64	9220692,253
3	20923908,53	18854615,62	10494423,42	16757649,19	5521910,089
4	93496902,33	97824719,22	91243048,65	94188223,4	3344852,836
5	35188671,32	33984917,42	30890630,63	33354739,79	2217235,062
6	49103930,23	50223581,08	32977068,47	44101526,59	9650315,07
7	40586378,29	36989106,61	43538565,77	40371350,22	3280020,064
8	12168824,81	13751121,62	11062581,98	12327509,47	1351276,051
9	15699221,71	10314548,05	7748918,919	11254229,56	4057595,298
10	86940637,21	90034117,12	85350138,74	87441631,02	2381839,512
11	5181961,24	5772241,742	5416900,901	5457034,628	297179,7513
12	4830503,876	5180947,447	3892836,036	4634762,453	665990,8261
13	4789657,364	5080501,502	3626551,351	4498903,406	769347,8785
14	2290182,946	2152180,18	1341965,766	1928109,631	512283,7724
15	0	0	0	0	0
16	7850257,364	6994740,24	5076837,838	6640611,814	1420218,002
17	0	0	0	0	0
18	79355545,74	93278069,07	90188679,28	87607431,36	7311381,169
19	5237434,109	4316262,763	3351861,261	4301852,711	942869,0141
20	2675621,705	5225486,486	3375416,216	3758841,469	1317464,912
21	27556789,15	29696487,99	25072857,66	27442044,93	2313949,877
22	0	0	0	0	0
23	8527382,946	11058630,63	7192535,135	8926182,904	1963658,486
24	4415382,946	4388870,871	2746873,874	3850375,897	955752,7183
25	7260978,295	6472956,456	3169868,468	5634601,073	2170581,653
26	8175567,442	7285295,796	5433007,207	6964623,482	1399118,369
27	665975,1938	3010974,474	324430,6306	1333793,433	1462486,019
28	579610851,2	504019918,9	565835448,6	549822072,9	40259389,11
29	13358706,98	15400333,33	11507625,23	13422221,85	1947131,148
30	0	0	0	0	0
31	4773767,442	5422171,171	4603963,964	4933300,859	431803,1286
32	4823660,465	5245451,952	4624918,919	4898010,445	316877,3437
33	2856590,698	3299741,742	2921254,054	3025862,164	239380,1465

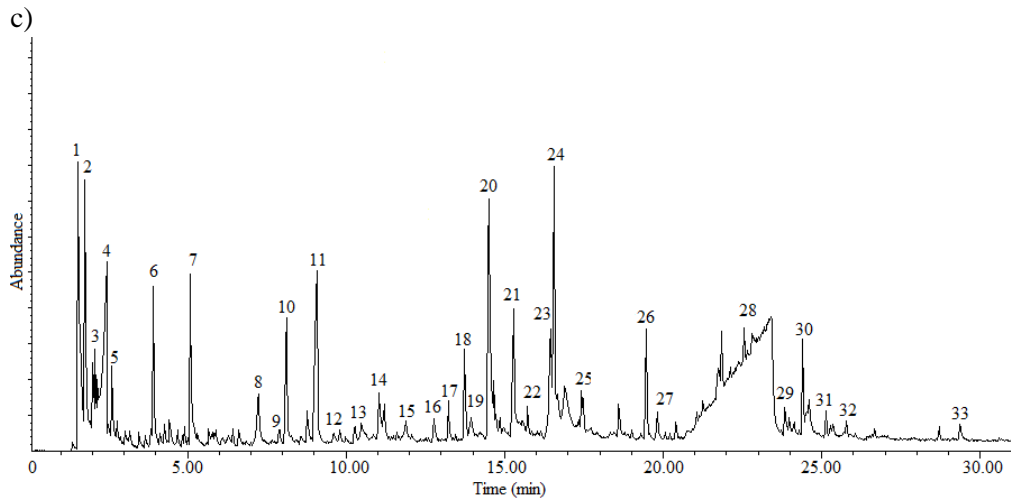
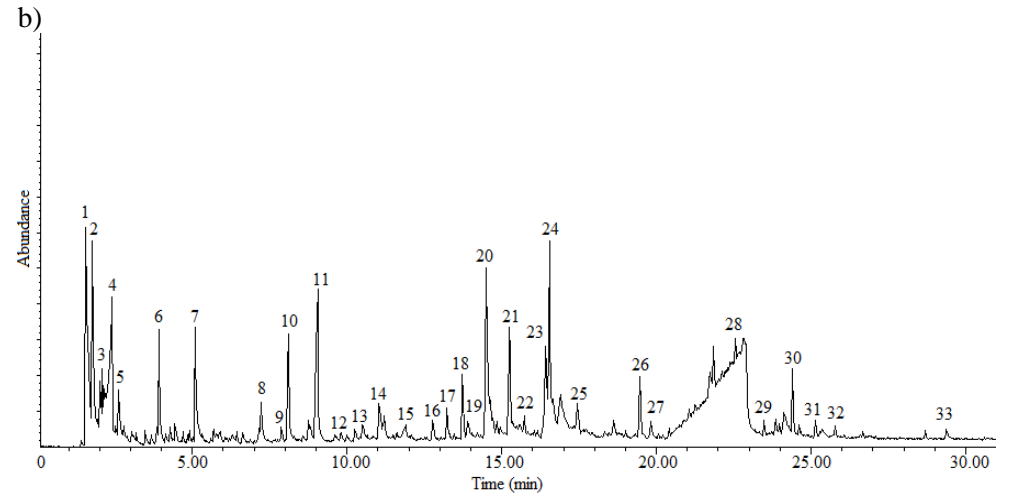
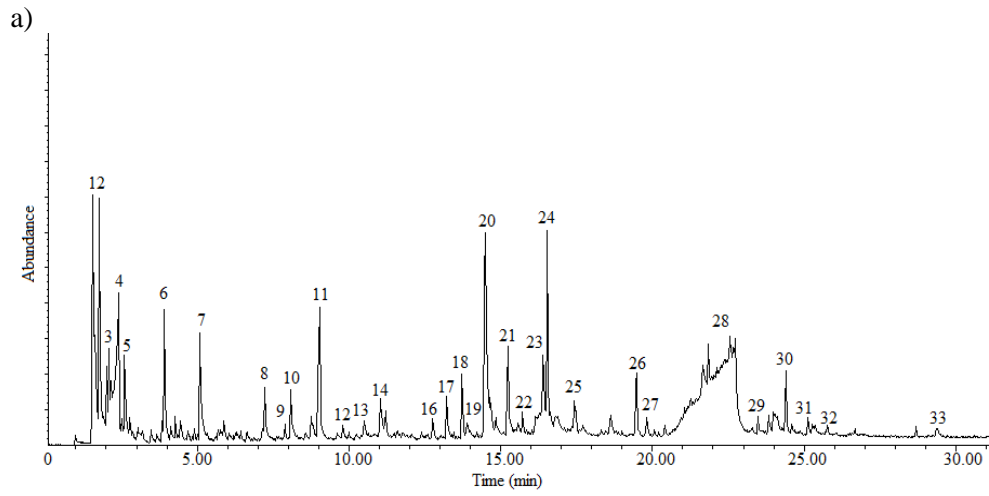


Figura A19. Cromatogramas dos compostos condensáveis da pirólise GC/MS do bagaço de cana tratado com ácido acético a 600 °C. a) primeira análise; b) duplicata; c) triplicata.

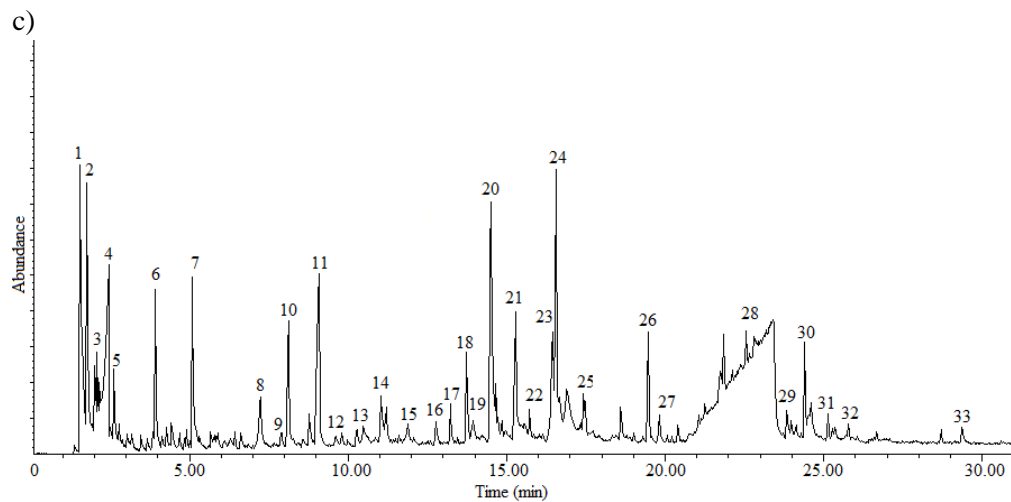
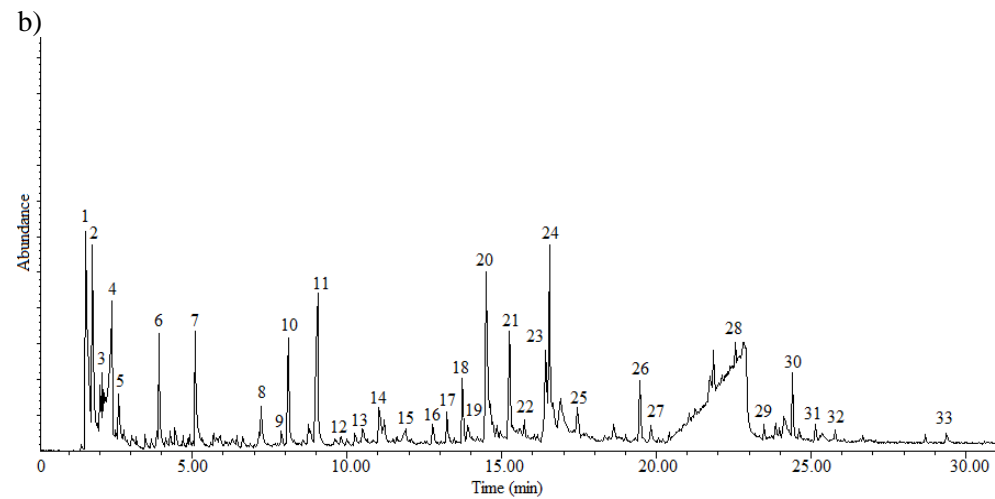
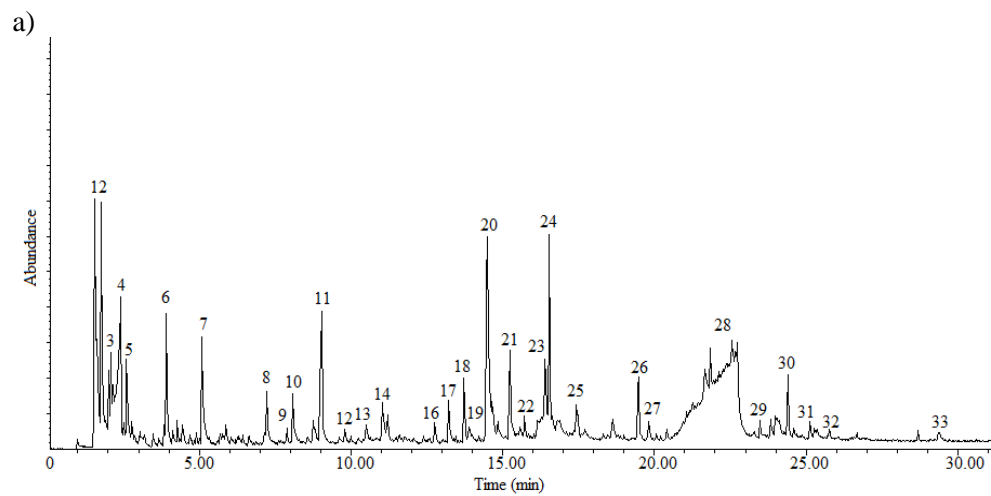


Figure A19. GC/MS chromatograms of condensable compounds of the acetic acid treated sugarcane bagasse at 600 °C. a) first analysis; b) second analysis; c) third analysis.

Tabela A20. Bagaço de cana tratado com ácido acético submetido à pirólise CG/MS a 600 °C em triplicata.

Pico n°	600 °C			Média (Área pico/ mg)	STDEV
	1 (0,359 mg)	2 (0,488 mg)	3 (0,407 mg)		
1	423254421	323666338	442200565	396373774,6	63675093,9
2	146424454	94352991,8	141803199	127526881,6	28822200,2
3	2810752,1	1676551,23	2958633,91	2481979,075	701429,09
4	137803248	96796295,1	159236248	131278597,1	31727200,3
5	63807164	33965323,8	50446339,1	49406275,73	14948082,2
6	90809713	60020356,6	104364818	85064962,61	22723543,7
7	49646290	40941280,7	49427130,2	46671566,88	4963783,05
8	22658607	13889725,4	21218933,7	19255755,44	4702539,07
9	10354187	19345155,7	29071776,4	19590372,93	9361204,01
10	119812852	96709674,2	159009383	125177303,3	31494387,4
11	8980598,9	6269731,56	7425471,74	7558600,729	1360328,24
12	8330080,8	4880407,79	8925329,24	7378605,935	2183878,58
13	5078615,6	4750893,44	8735000	6188169,681	2211698,21
14	4426066,9	2788008,2	4477830,47	3897301,839	961025,055
15	0	0	0	0	0
16	10590011	7755215,16	15953368,6	11432864,95	4163559,97
17	0	0	0	0	0
18	166532426	93016297,1	154088730	137879151	39347403,2
19	5430955,4	5097643,44	7732027,03	6086875,3	1434457,17
20	7176799,4	4570375	8843253,07	6863475,838	2153601,75
21	43202343	30545409,8	50739990,2	41495914,21	10204861,2
22	0	0	0	0	0
23	13458357	8810487,7	14314764,1	12194536,13	2961789,37
24	8331055,7	5182360,66	11307968,1	8273794,808	3063205,12
25	12080521	8184651,64	17196587,2	12487253,25	4519714,5
26	11166677	8155704,92	16205852,6	11842744,79	4067434,11
27	5842437,3	3634547,13	7473167,08	5650050,511	1926528,04
28	636958908,1	556270459	613058609,3	602095992,1	41446238,49
29	21026008	16631432,4	0	12552480,24	11090610,7
30	0	0	0	0	0
31	9751376	6739983,61	12063395,6	9518251,743	2669351,79
32	5719284,1	4957051,23	7897599,51	6191311,62	1526045,06
33	6464156	3880944,67	6138702,7	5494601,121	1406909,85

Table A20. Bagasse treated with acetic acid subjected to pyrolysis CG / MS at 600 °C

Peak	600°C			Average	STDEV
	1 (0,359 mg)	2 (0,488 mg)	3 (0,407 mg)		
1	423254421	323666338	442200565	396373774,6	63675093,9
2	146424454	94352991,8	141803199	127526881,6	28822200,2
3	2810752,1	1676551,23	2958633,91	2481979,075	701429,09
4	137803248	96796295,1	159236248	131278597,1	31727200,3
5	63807164	33965323,8	50446339,1	49406275,73	14948082,2
6	90809713	60020356,6	104364818	85064962,61	22723543,7
7	49646290	40941280,7	49427130,2	46671566,88	4963783,05
8	22658607	13889725,4	21218933,7	19255755,44	4702539,07
9	10354187	19345155,7	29071776,4	19590372,93	9361204,01
10	119812852	96709674,2	159009383	125177303,3	31494387,4
11	8980598,9	6269731,56	7425471,74	7558600,729	1360328,24
12	8330080,8	4880407,79	8925329,24	7378605,935	2183878,58
13	5078615,6	4750893,44	8735000	6188169,681	2211698,21
14	4426066,9	2788008,2	4477830,47	3897301,839	961025,055
15	0	0	0	0	0
16	10590011	7755215,16	15953368,6	11432864,95	4163559,97
17	0	0	0	0	0
18	166532426	93016297,1	154088730	137879151	39347403,2
19	5430955,4	5097643,44	7732027,03	6086875,3	1434457,17
20	7176799,4	4570375	8843253,07	6863475,838	2153601,75
21	43202343	30545409,8	50739990,2	41495914,21	10204861,2
22	0	0	0	0	0
23	13458357	8810487,7	14314764,1	12194536,13	2961789,37
24	8331055,7	5182360,66	11307968,1	8273794,808	3063205,12
25	12080521	8184651,64	17196587,2	12487253,25	4519714,5
26	11166677	8155704,92	16205852,6	11842744,79	4067434,11
27	5842437,3	3634547,13	7473167,08	5650050,511	1926528,04
28	636958908,1	556270459	613058609,3	602095992,1	41446238,49
29	21026008	16631432,4	0	12552480,24	11090610,7
30	0	0	0	0	0
31	9751376	6739983,61	12063395,6	9518251,743	2669351,79
32	5719284,1	4957051,23	7897599,51	6191311,62	1526045,06
33	6464156	3880944,67	6138702,7	5494601,121	1406909,85

APÊNDICE B

Curva de calibração de biomassa da levedura *S. cerevisiae* vs. a densidade óptica medida a 600 nm usada para determinação da quantidade de células no meio de fermentação para produção de etanol.

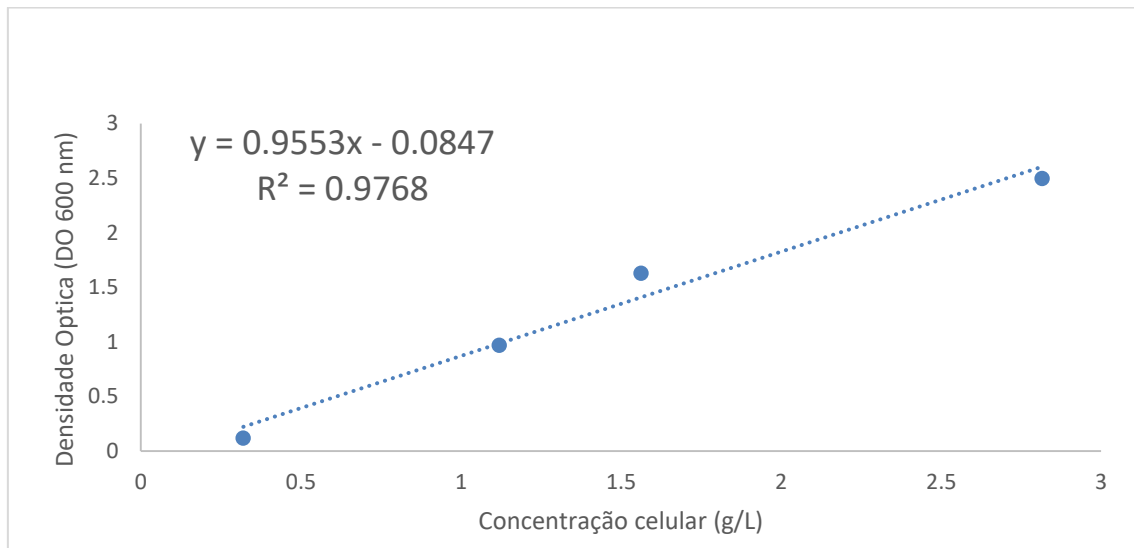


Figura B1. Curva de calibração da biomassa celular vs. Densidade Óptica.

APPENDIX B

Figure of the biomass yeast *S. cerevisiae* calibration curve versus the optical density measured at 600 nm used to determine the amount of cells in the ethanol fermentation medium.

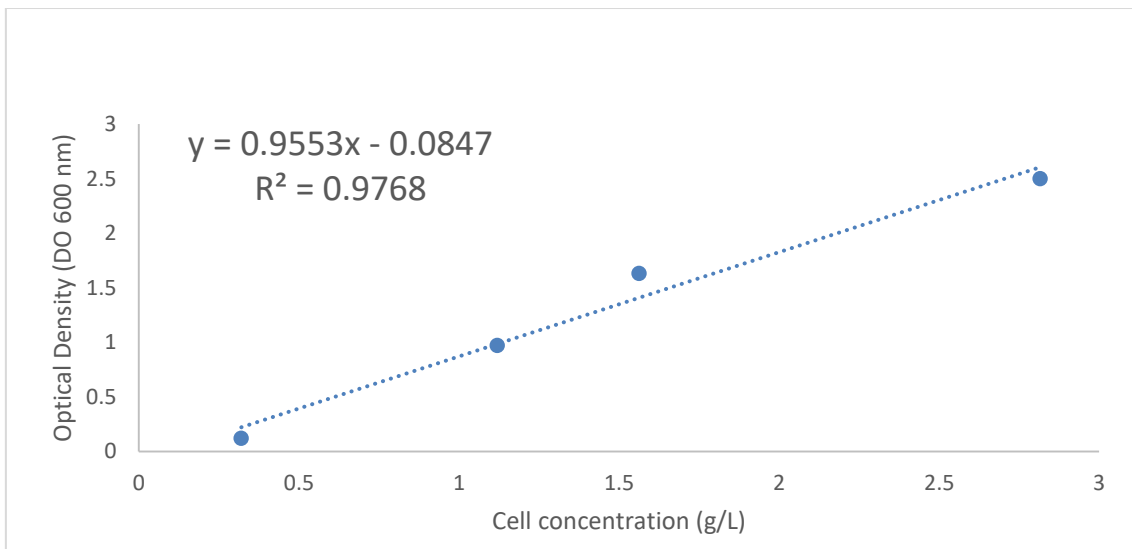


Figure B1. Calibration curve of cell biomass vs. Optical density.

APÊNDICE C

Curva de calibração para a determinação de consumo de açúcares (glicose e levogluosana) e formação de bioetanol.

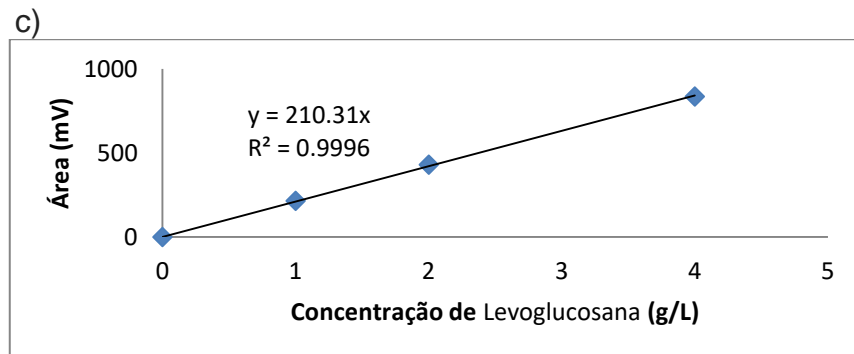
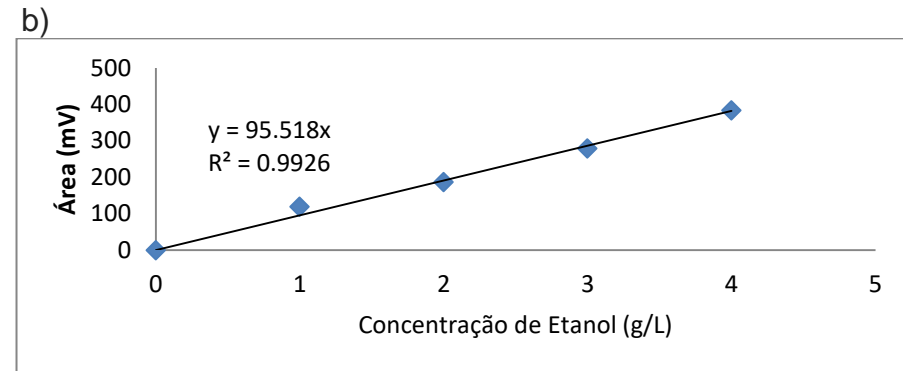
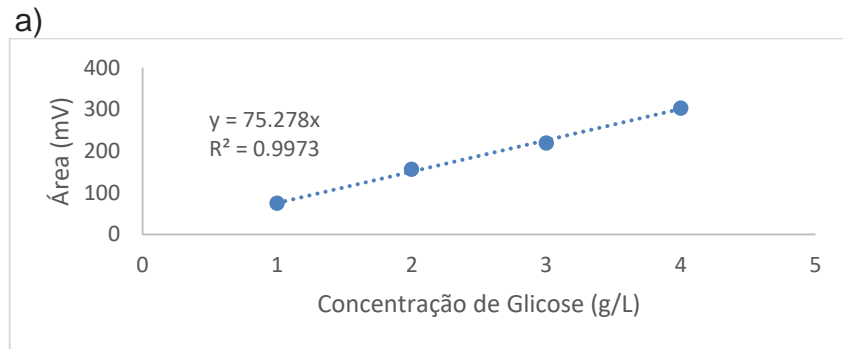


Figura C1. Curvas de calibração usadas para determinar a concentração (g/L) dos substratos e produtos por cromatografia líquida (HPLC) a) Glicose; b) etanol; c) Levogluosana.

APPENDIX C

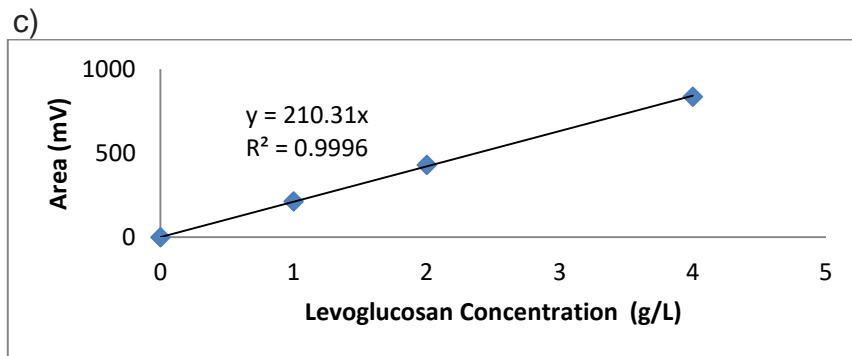
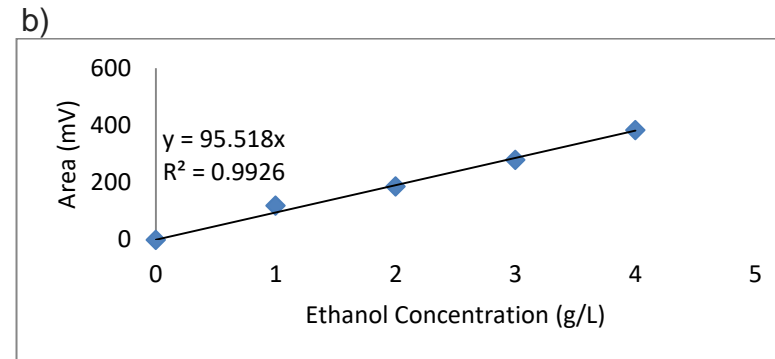
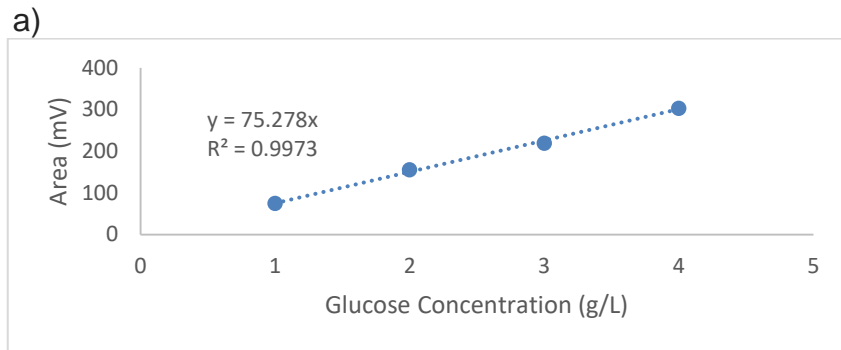


Figure C1. Calibrations curves used to determine substrates and products concentration (g/L) by Liquid Chromatography (HPLC) a) glucose; b) ethanol; c) levoglucosan.

APÊNDICE D

Primeiro paper publicado sobre o assunto deste trabalho de tese de doutorado.

APPENDIX D

First paper published on the subject of this doctoral thesis work.