

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DE ADSORVENTES OBTIDOS A PARTIR DE RESÍDUOS
AGROINDUSTRIAIS PARA A REMOÇÃO DOS INIBIDORES GERADOS NO
PRÉ-TRATAMENTO DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA**

JULIANA VIEIRA DE FREITAS

Aluna de Doutorado

CRISTIANE SANCHEZ FARINAS

Orientadora – Embrapa Instrumentação

São Carlos, Março de 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

JULIANA VIEIRA DE FREITAS

AVALIAÇÃO DE ADSORVENTES OBTIDOS A PARTIR DE RESÍDUOS
AGROINDUSTRIAIS PARA A REMOÇÃO DOS INIBIDORES GERADOS NO PRÉ-
TRATAMENTO DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos necessários para a obtenção de título de Doutora em Engenharia Química, área de concentração Pesquisa e Desenvolvimento de processos

Orientadora: CRISTIANE SANCHEZ FARINAS

São Carlos, Março de 2018

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE JULIANA VIEIRA DE FREITAS APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, EM 26 DE FEVEREIRO DE 2019.

BANCA EXAMINADORA:



Cristiane Sanchez Farinas
Orientadora, EMBRAPA/UFSCar



Luís Augusto Martins Ruotolo
UFSCar



Francisco Guilherme Esteves Nogueira
UFSCar



Stanley Endrigo Bilatto Rodrigues
EMBRAPA



Elaine Cristina Paris
EMBRAPA

Vieira de Freitas, Juliana

Avaliação de adsorventes obtidos a partir de resíduos agroindustriais para a remoção dos inibidores gerados no pré-tratamento da biomassa lignocelulósica / Juliana Vieira de Freitas. -- 2019.

133 f. : 30 cm.

Tese (doutorado)-Universidade Federal de São Carlos, campus São Carlos, São Carlos

Orientador: Cristiane Sanchez Farinas

Banca examinadora: Luís Augusto Martins Ruotolo, Francisco Guilherme Esteves Nogueira, Stanley Endrigo Bilatto Rodrigues, Elaine Cristina Paris
Bibliografia

1. sugarcane bagasse fly ash. 2. coconut shell activated carbon . 3. inhibitors removal. I. Orientador. II. Universidade Federal de São Carlos. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelo Programa de Geração Automática da Secretaria Geral de Informática (SIn).

DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A)

Bibliotecário(a) Responsável: Ronildo Santos Prado – CRB/8 7325

Dedico este trabalho a todos que
de alguma forma contribuíram
para a sua realização.

AGRADECIMENTOS

À minha família, aos meus pais Pedro e Sandra, aos meus avós Francisca e José, ao meu irmão Juninho e, em especial à minha tia Mazé, pela força e pelo apoio que me deram no andamento deste curso.

À minha orientadora, Dra. Cristiane Farinas, pela orientação, paciência, dedicação e todo o apoio que me deu durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Engenharia Química da UFSCar, Dr. Luis Augusto Martins Ruotolo e Dr. Francisco Guilherme Esteves Nogueira, por toda a contribuição e conhecimentos compartilhados para a realização deste trabalho.

Ao pessoal do Laboratório de Agroenergia da Embrapa Instrumentação, em especial à Mariana e Ariane, por conhecimentos compartilhados e auxílio na realização dos experimentos, e aos técnicos da unidade por toda a assistência.

Ao pessoal do Laboratório de Tecnologias Ambientais (LATEA) da UFSCar, em especial à Kamilla, pelo apoio na preparação da fuligem ativada usada neste trabalho e aos técnicos e alunos do Departamento de Engenharia Química da UFSCar, que de alguma forma contribuíram para a realização dos testes experimentais.

Ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Engenharia Química da UFSCar pela possibilidade de realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro concedido durante o curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por contribuir com este trabalho.

Às amigas que fiz em São Carlos pelas confraternizações, conselhos e companheirismo.

Ao Marcos Paulo Felizardo, que foi meu colega de pesquisa por 7 anos e quem me incentivou de alguma forma a iniciar este trajeto.

E a todos que de alguma forma puderam colaborar para que este trabalho pudesse ser concluído. MUITO OBRIGADA!

“Não é o conhecimento, mas o ato de aprender, não a posse, mas o ato de chegar lá, que concede a maior satisfação.”
Carl Friedrich Gauss

RESUMO

No processo de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica são gerados compostos fenólicos e furaldeídos que inibem as enzimas e leveduras utilizadas nas etapas de sacarificação e fermentação alcoólica. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar adsorventes de baixo custo para a remoção dos compostos inibidores gerados no pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar. Os materiais utilizados para a produção dos adsorventes foram a fuligem do bagaço de cana-de-açúcar e o carvão de casca de coco, ambos resíduos agroindustriais. Fuligens de duas usinas foram avaliadas (denominadas fuligem A e B), sendo realizada a ativação física da fuligem B e do carvão de casca de coco. Os adsorventes foram caracterizados pela estrutura de poros, grupos funcionais, carga da superfície e cristalinidade. Todos os adsorventes apresentaram características ácidas com baixos valores de pH_{pCZ} , entre 2 e 2,7 para a faixa de pHs avaliados (2 ao 10), exceto para o carvão ativado de casca de coco que foi negativo em toda a faixa de pHs. Entre os adsorventes avaliados, a fuligem B ativada e o carvão ativado de casca de coco se destacaram nas propriedades estruturais, contudo, todos os adsorventes avaliados foram efetivos na remoção de inibidores e proporcionaram o aumento de glicose na hidrólise enzimática da celulose, com ganhos de até 52%. Esse efeito positivo também foi observado na fermentação alcoólica realizada na presença do licor tratado, sendo que o carvão de casca de coco se destacou pela alta eficiência na remoção dos furaldeídos. Os resultados demonstraram que o uso de adsorventes obtidos a partir de resíduos agroindustriais, como a fuligem de bagaço de cana-de-açúcar e o carvão ativado de casca de coco, para remover os inibidores podem efetivamente aumentar a eficiência da hidrólise enzimática da biomassa lignocelulósica e da fermentação alcoólica, com desempenhos semelhantes aos do carvão ativado comercial.

Palavras chaves: fuligem de bagaço de cana-de-açúcar, carvão ativado de casca de coco, remoção de inibidores, hidrólise enzimática, fermentação alcoólica.

ABSTRACT

The pretreatment of lignocellulosic biomass generates phenolic compounds and furaldehydes that inhibit the enzymes and yeast used in the process of hydrolysis of cellulose and alcoholic fermentation. In this context, the aim of this work was to evaluate low-cost adsorbents for the removal of the inhibitors generated in the liquid hot water pretreatment (LHW) of sugarcane bagasse. The materials used to obtain the adsorbents were sugarcane bagasse fly ash and coconut shell charcoal, both agroindustrial residues. Fly ashes from two sugarcane mills were evaluated (named as fly ash A and B), and physical activation of the fly ash B and the coconut shell carbon was also performed. The adsorbents were characterized by pore structure, groups and surface charge, and crystallinity. The activation of the fly ash B resulted in an expressive increase in the surface area and the pore volume of the adsorbent. The structural properties of activated fly ash B showed features less microporous than coconut shell charcoal. All the values of pH_{pcz} of the adsorbents were between 2 and 2.7 for the range of pHs evaluated (2 to 10), except for coconut shell activated carbon that was negative throughout the pH range. Nevertheless, all the adsorbents assessed were effective on the removal of inhibitors and provided the increased glucose in the hydrolysis of cellulose, with gains up to 52%. This positive effect was also observed in the alcoholic fermentation carried out in the presence of the treated liquor, with the coconut shell coconut being very efficient in the removal of the furaldehydes. The results showed that the use of sugarcane bagasse fly ash and the coconut shell activated carbon to remove the inhibitors could increase the efficiency of the enzymatic hydrolysis of the lignocellulosic biomass and the alcoholic fermentation, with performance comparable to the one of commercial activated carbon.

Keywords: sugarcane bagasse fly ash, coconut shell activated carbon, inhibitors removal, enzymatic hydrolysis, alcoholic fermentation.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Conversão da biomassa vegetal em biorrefinarias	4
3.2 Tipos de pré-tratamento da biomassa	4
3.2.1 Pré-tratamentos hidrotérmicos	6
3.2.2 Inibidores gerados no pré-tratamento	7
3.2.3 Compostos fenólicos derivados de lignina	8
3.3 Adsorção.....	14
3.3.1 Adsorventes para a remoção de compostos fenólicos	17
3.3.2 Interações envolvidas na adsorção dos compostos fenólicos em carvão ativado	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1 Preparação da fuligem A	22
4.2 Preparação da fuligem B	22
4.3 Preparação do carvão ativado de casca de coco	22
4.4 Caracterização dos adsorventes	23
4.4.1 Área superficial e volume de poros	23
4.4.2 Difração de raios X.....	23
4.4.3 Determinação do potencial zeta.....	23
4.4.4 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	24
4.5 Ensaio de adsorção dos compostos fenólicos	24
4.5.1 Adsorção em batelada com amostras sintéticas	25
4.5.2 Determinação das isotermas e cinéticas.....	26
4.5.3 Adsorção em batelada com a fração líquida do pré-tratamento.....	27
4.5.4 Determinação dos compostos fenólicos.....	28
4.6 Ensaio de hidrólise enzimática.....	29
4.6.1 Testes de hidrólise da celuflok	29
4.6.2 Testes de hidrólise do bagaço hidrotérmico aplicando a fuligem A.....	30
4.6.3 Testes de hidrólise do bagaço hidrotérmico aplicando a fuligem B ativada e o carvão ativado de casca de coco	31

4.6.4 Testes de fermentação alcoólica.....	31
4.6.5 Determinação de glicose	32
4.6.6 Determinação de açúcares redutores totais (ART)	32
4.6.7 Determinação de HMF, furfural e etanol no HPLC	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1 Caracterização dos adsorventes	34
5.1.1 Estrutura dos poros	34
5.1.2 Potencial zeta.....	38
5.1.3 Grupos funcionais da superfície dos adsorventes	40
5.1.4 Estrutura dos adsorventes.....	42
5.2 Estudo de adsorção dos compostos fenólicos sintéticos.....	43
5.2.1 Testes preliminares para a escolha da carga de adsorvente utilizada no estudo de adsorção.....	44
5.2.2 Avaliação do efeito do pH na adsorção	44
5.2.3 Avaliação do efeito da temperatura na adsorção	46
5.2.4 Isotermas de adsorção	47
5.2.5 Cinéticas de adsorção dos compostos sintéticos	53
5.2.6 Estudo de adsorção de coquetel de inibidores.....	54
5.3 Estudo de inibição enzimática	58
5.4 Estudo de hidrólise enzimática após remoção de inibidores do coquetel.....	65
5.5 Estudo de hidrólise enzimática após remoção de inibidores do licor do pré-tratamento.....	68
5.5.1 Hidrólise enzimática do bagaço-de-cana inserindo a fuligem A no processo...	68
5.5.2 Hidrólise enzimática do bagaço-de-cana com o licor tratado pela fuligem A...	73
5.5.3 Estudo de reprodutibilidade de inibição do licor LHW	75
5.5.4 Hidrólise enzimática do bagaço-de-cana com o licor tratado pela fuligem B e fuligem B ativada.....	78
5.5.4 Hidrólise enzimática do bagaço-de-cana com o licor tratado pelo carvão ativado de casca de coco	81
5.6 Fermentação após detoxificação dos inibidores	84
5.7 Estudo de minimização da quantidade de adsorvente para tratar o licor do pré-tratamento do bagaço.....	88
6. CONCLUSÕES.....	92
7. SUGESTOES PARA TRABALHOS FUTUROS	94
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

Apêndice A – Absorbância do ácido tânico e da vanilina	109
Apêndice B – Isotermas de adsorção/dessorção de N ₂ dos adsorventes	110
Apêndice C – Distribuição de poros obtida pelo método BJH.	113
Apêndice D – Dedução da derivada da Equação 8 com relação a C ₁	116

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Pré-tratamento da biomassa e geração de inibidores.....	5
Figura 2 – Estrutura química da lignina.....	9
Figura 3 - Hidrólise de ligações β -O-4 durante o processo de explosão a vapor.....	9
Figura 4 – Mecanismo proposto de degradação da lignina no pré-tratamento hidrotérmico.....	10
Figura 5 - Estrutura química da (a) vanilina e do (b) ácido tânico.....	25
Figura 6 – Estufa utilizada para os experimentos realizados em tubos.....	26
Figura 7 – Isoterma de adsorção/dessorção de N ₂	35
Figura 8 – Distribuição de poros diferencial dos adsorventes obtida pelo método DFT.	36
Figura 9 – Potencial zeta dos adsorventes.	39
Figura 10 - FTIR dos adsorventes.....	41
Figura 11 – DRX dos adsorventes.	43
Figura 12 - Remoção dos compostos em relação ao teor de fuligem A em pH 5, 30 °C e 30 rpm.	44
Figura 13 – Efeito do pH na adsorção dos compostos fenólicos em fuligem A (a) e carvão ativado de casca de coco (b) para 2 e 1% (m/v) de adsorvente, respectivamente, 30 °C e 30 rpm.....	46
Figura 14 - Efeito da temperatura na adsorção dos compostos fenólicos em fuligem A (a) e carvão ativado de casca de coco (b) para 2 e 1% (m/v) de adsorvente, respectivamente, 30 °C e 30 rpm.	47
Figura 15–(a) Isoterma de vanilina e de (b) ácido tânico em fuligem A em pH 5, 30 °C e 30 rpm.	49
Figura 16–(a) Isoterma de vanilina e de (b) ácido tânico em fuligem B ativada em pH 5, 30 °C e 30 rpm.	49
Figura 17–(a) Isoterma de vanilina e de (b) ácido tânico em carvão ativado de casca de coco em pH 5, 30 °C e 30 rpm.	49
Figura 18–(a) Isoterma de vanilina e de (b) ácido tânico em CAC em pH 5, 30 °C e 30 rpm.	50

Figura 19 – Cinética de adsorção de vanilina (a) e ácido tânico (b) para 5% (m/v) de fuligem A em 30 °C, pH 5 e 30 rpm e Co de 3 g/L.	54
Figura 20 – Concentração de fenólicos do coquetel C1,0HF para diferentes carga de adsorvente. Condições experimentais: 30 °C, pH 5 e 30 rpm.	55
Figura 21 – Isotermas de equilíbrio para a adsorção do coquetel de fenólicos na fuligem B, fuligem B ativada e no carvão ativado de casca de coco.	55
Figura 22 – Hidrólise da celulose utilizando 3 FPU/g na presença de fenólicos sintéticos (1 e 3 g/L), HMF (1 g/L) e furfural (3 g/L).	59
Figura 23 – Estrutura dos compostos fenólicos sintéticos utilizados na hidrólise enzimática da celulose.	61
Figura 24 – Porcentagem de inibição da hidrólise da celulose na presença somente de ácido tânico e dos coquetéis em diferentes concentrações de ácido tânico.	63
Figura 25 - Hidrólise enzimática da celulose aumentando a carga enzimática para o controle (hidrólise em tampão sem inibidores) e na presença do coquetel (a) e a porcentagem de inibição (b).	65
Figura 26 – Hidrólise enzimática da celulose na presença do coquetel de inibidores tratado pela fuligem B ativada. Condições da reação: 3 FPU/g de enzima em 50 °C, pH 5, 24 h e 30 rpm. Controle: hidrólise em tampão sem inibidores.	66
Figura 27 – Hidrólise enzimática da celulose na presença do coquetel de inibidores tratado pelo carvão ativado de casca de coco. Condições da reação: 3 FPU/g de enzima em 50 °C, pH 5, 24 h e 30 rpm. Controle: hidrólise em tampão sem inibidores.	67
Figura 28 – Cinética de adsorção dos compostos fenólicos do licor na fuligem A para 5% (m/v) de adsorvente, 50 °C, pH 5 e 30 rpm.	69
Figura 29 – Hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar com a fuligem A inserida no processo em 50 °C, 30 rpm por 24h (B – bagaço de cana-de-açúcar, E – enzima, L – licor, F5 – fuligem A (5%), T – Tampão pH 5, E6h – enzima adicionada 6 h após a adsorção).	70
Figura 30 – Porcentagem de aumento na concentração de glicose adicionando a fuligem A ou o carvão ativado na hidrólise, em pH 5, 50 °C, 30 rpm por 24h.	73
Figura 31 – Hidrólise enzimática do bagaço LHW após a adsorção dos fenólicos do licor (L – Licor, LT _{FA} – Licor tratado pela fuligem A e LT _{CAC} – Licor tratado pelo carvão ativado).	74
Figura 32 - Adsorção de açúcares na fuligem A e no CAC.	75

Figura 33 – Liberação de glicose para 4 pré-tratamentos realizados nas mesmas condições (195 °C, 10 min.). Condições: 10% de sólidos (m/v), 50 °C, pH 5, 30 rpm, 24 h. Controle: hidrólise em tampão pH 5.	76
Figura 34 - Hidrólise enzimática do bagaço LHW após a adsorção dos fenólicos do licor com a fuligem B. L – Licor, LT _{FB} – Licor tratado com 5% (m/v) fuligem B. Fenólicos (g AGE/L)	78
Figura 35 – Adsorção do licor na fuligem B ativada em 30 °C, pH do licor (3,6) e 30 rpm para diferentes cargas de adsorvente.....	79
Figura 36 – Hidrólise enzimática do bagaço LHW após a adsorção dos fenólicos do licor com a fuligem B ativada. L – Licor, LT _{x%} – Licor tratado por 1, 2, 3, 4 e 5% de fuligem B ativada, respectivamente. Fenólicos (g AGE/L).	80
Figura 37 - Adsorção do licor PT3 no carvão ativado de casca de coco em 30 °C, pH do licor (3,6) e 30 rpm para diferentes cargas de adsorvente.	81
Figura 38 - Hidrólise enzimática do bagaço LHW após a adsorção dos fenólicos do licor com o carvão ativado de casca de coco (CACO). L – Licor, LT _{x%} – Licor tratado por 1, 2 e 3% de CACO, respectivamente. Fenólicos (g AGE/L).	82
Figura 39 - Hidrólise enzimática do bagaço aumentando a carga enzimática para o controle (hidrólise em tampão sem inibidores) e na presença do licor PT3.	84
Figura 40 - Fermentação alcoólica após hidrólise de celulose na presença do coquetel C1,0HF tratado com 2% de fuligem B ativada. Concentrações de HMF, furfural (FUR) e fenólicos totais (mg AGE/L) são apresentadas antes e depois da adsorção (ads). Controle: Fermentação da glicose obtida da hidrólise em tampão pH 5.	85
Figura 41 - Fermentação alcoólica da glicose na presença do licor do bagaço-de-cana LHW tratado com 5% (m/v) de carvão ativado comercial (CAC), 3% (m/v) de fuligem B ativada (FBA) e 2% (m/v) de carvão ativado de casca de coco (CACO). Controle: fermentação da glicose em tampão pH 4,6.	87
Figura 42 – Isotherma do licor PT3 na fuligem B ativada (a) e no carvão ativado de casca de coco (b).	90
Figura 43 - Absorbância do ácido tânico em diferentes concentrações.	109
Figura 44 – Absorbância da vanilina em diferentes concentrações.	109
Figura 45 – Isotherma de adsorção/dessorção da fuligem A.	110
Figura 46 - Isotherma de adsorção/dessorção da fuligem B.	110
Figura 47 - Isotherma de adsorção/dessorção da fuligem B ativada.....	111

Figura 48 - Isoterma de adsorção/dessorção do carvão ativado de casca de coco.	111
Figura 49 - Isoterma de adsorção/dessorção do carvão ativado comercial.	112
Figura 50 - Distribuição de poros BJH da fuligem A.....	113
Figura 51 - Distribuição de poros BJH da fuligem B.....	113
Figura 52 - Distribuição de poros BJH da fuligem B ativada.	114
Figura 53 - Distribuição de poros BJH do carvão ativado de casca de coco.....	114
Figura 54 - Distribuição de poros BJH do carvão ativado comercial.	115

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Efeitos dos pré-tratamentos na composição física/química ou estrutura da lignocelulose.....	6
Tabela 2 – Trabalhos encontrados sobre a inibição de enzimas do complexo celulolítico.....	11
Tabela 3 – Concentração de fenólicos utilizados nos coquetéis.	30
Tabela 4 – Propriedades estruturais dos poros dos adsorventes.....	37
Tabela 5 – Grupos funcionais correspondentes às bandas obtidas no FTIR dos adsorventes.....	42
Tabela 6 – Coeficiente de correlação (R^2) e critério de informação de Akaike (AICc) das equações das isotermas utilizadas para descrever os dados experimentais.	51
Tabela 7 – Parâmetros estimados das equações das isotermas utilizadas para descrever os dados experimentais.....	52
Tabela 8 - Constantes das isotermas de Langmuir, Freundlich e Redlich-Peterson para a adsorção do coquetel C1,0HF.....	57
Tabela 9 – Percentual de remoção dos fenólicos totais do licor em diferentes pHs (3,3 e 5) e temperatura de adsorção (30 e 50 °C) com 5% (m/v) de adsorvente.	68
Tabela 10 – Porcentagem de aumento de glicose e ART das hidrólises adicionando a fuligem ao processo.	72
Tabela 11 – Tempos despendidos para o aquecimento do reator PARR e concentrações de fenólicos liberados.	77
Tabela 12 - Concentrações de inibidores antes e após a adsorção. LT – licor tratado; CAC – carvão ativado comercial; FBA – Fuligem B ativada; CACO – carvão ativado de casca de coco.	86
Tabela 13 – Parâmetros utilizados para os cálculos da quantidade mínima de adsorvente em dois estágios.....	90

1. INTRODUÇÃO

No processamento da biomassa lignocelulósica para a produção de etanol de segunda geração (2G) e outros bioprodutos são gerados compostos que prejudicam as reações bioquímicas subsequentes de hidrólise enzimática e fermentação alcoólica à medida que a lignina e os açúcares vão sendo degradados (Mes-Hartree e Saddler, 1983; Olsson e Hahn-Hägerdal, 1996; Mosier *et al.*, 2005; Ko *et al.*, 2015). A degradação da lignina resulta na liberação de compostos fenólicos que podem inibir as enzimas durante a reação de hidrólise, bem como as leveduras no processo de fermentação alcoólica (Ximenes *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2011; Ximenes *et al.*, 2011; Mhlongo *et al.*, 2015; Malgas *et al.*, 2016; Qin *et al.*, 2016). Na degradação dos açúcares são gerados hydroximetilfurfural e furfural, que são inibidores das leveduras (Palmqvist *et al.*, 1996; Palmqvisti *et al.*, 1999; Michelin *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2013; Ximenes *et al.*, 2010; Ximenes *et al.*, 2011). Portanto, são necessários métodos para a remoção destes compostos inibidores, a fim de melhorar o rendimento do processo de produção do etanol 2G e outros bioprodutos em futuras biorrefinarias.

Dentre os métodos que vem sendo aplicados para a remoção destes compostos inibidores incluem-se os métodos biológicos, físicos e químicos (Mussato e Roberto, 2004). Métodos como a degradação biológica, por exemplo, podem ser prejudicados pela ação inibidora dos fenólicos quando as bactérias estão em contato com altas concentrações destes compostos, limitando o processo (Tziostzios *et al.*, 2005). Entre os métodos físicos, a evaporação a vácuo é uma alternativa, mas tem como desvantagem o aumento da concentração de compostos não-voláteis tóxicos (extrativos e derivados de lignina) (Mussato e Roberto, 2004). Em relação aos métodos físicos, a adsorção é uma técnica que está sendo cada vez mais aplicada para a remoção de compostos orgânicos e inorgânicos, tendo o carvão ativado como um dos adsorventes mais utilizados. Apesar de o carvão ativado ser um dos materiais mais promissores como adsorvente para remoção dos inibidores gerados no processamento da biomassa lignocelulósica, existem materiais alternativos que podem substituí-lo, reduzindo os custos de processo (Wong *et al.*, 2018).

Foram encontrados na literatura diversos trabalhos sobre materiais residuais/alternativos que podem ser utilizados como adsorventes de compostos fenólicos, mostrando-se tão efetivos quanto o carvão ativado convencional (Rengaraj *et al.*, 2002; Ahmaruzzaman e Sharma, 2005; Arellano-Cárdenas *et al.*, 2005;

Mukherjee *et al.*, 2007; Makrigianni *et al.*, 2015). A fuligem do bagaço de cana-de-açúcar é um exemplo de resíduo agroindustrial, cujo potencial para a aplicação como adsorvente para a remoção de fenol de solução aquosa já foi demonstrado (Gupta *et al.*, 1998; Sarkar e Acharya, 2006; Srivastava *et al.*, 2006; Srivastava *et al.*, 2008; Shah *et al.*, 2011). A fuligem é gerada após a carbonização incompleta do bagaço utilizado como combustível em caldeiras de usinas sucroalcooleiras (Lado *et al.*, 2016), possuindo alto teor de carbono não queimado (Batra *et al.*, 2008). Outro material que possui potencial para a adsorção de compostos fenólicos é o carvão ativado de casca de coco, uma vez que também é proveniente de um resíduo agroindustrial e diversos trabalhos já relataram a capacidade de adsorção de fenólicos para este adsorvente por processos físicos e/ou químicos (Singh *et al.*, 2008; Din *et al.*, 2009; Kurniawan *et al.*, 2010; Kulkarni *et al.*, 2013).

Apesar do potencial já demonstrado desses adsorventes originados de resíduos de materiais lignocelulósicos para a remoção de compostos fenólicos, ainda não há estudos que avaliem a sua aplicação no contexto de biorrefinarias visando à remoção dos compostos inibidores gerados na etapa de pré-tratamento da biomassa vegetal, justificando esta proposta de tese de doutorado.

2. OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho foi a avaliação de adsorventes obtidos a partir de resíduos agroindustriais para a remoção dos compostos fenólicos e furaldeídos gerados na etapa de pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar.

Para atingir objetivo principal, as seguintes etapas foram realizadas:

- a) Caracterização dos adsorventes (fuligem do bagaço de cana e carvão ativado de casca de coco) pelas medidas de área superficial específica (método BET), grupos funcionais superficiais pela técnica de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), carga superficial pela medida do potencial zeta e a cristalinidade por difratometria de raios X (DRX) a fim dar suporte aos resultados de adsorção dos compostos de interesse;
- b) Estudo da adsorção de compostos fenólicos sintéticos (vanilina e ácido tânico) em diferentes condições de pH e temperatura, bem como o levantamento das isotermas e das cinéticas de adsorção, a fim de entender o comportamento da adsorção de dois compostos modelos de degradação da biomassa lignocelulósica presentes no licor do pré-tratamento;
- c) Estudo de reação de hidrólise enzimática da celulose na presença de compostos fenólicos e furaldeídos, individualmente e em coquetéis;
- d) Remoção dos inibidores de um coquetel de compostos fenólicos e furaldeídos e avaliação do efeito da remoção nas etapas de hidrólise enzimática e fermentação alcoólica;
- e) Remoção de inibidores de amostras reais (licor/fração líquida) provenientes do pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar e posterior hidrólise enzimática com o licor tratado;
- f) Fermentação alcoólica na presença do licor tratado.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Conversão da biomassa vegetal em biorrefinarias

O uso de biomassa lignocelulósica em biorrefinarias está sendo considerado como uma alternativa sustentável para obter um amplo espectro de produtos comercializáveis e energia de fontes renováveis (Jong e Jungmeier, 2015). Em biorrefinarias, o etanol de segunda geração (2G) é um produto proveniente da biomassa residual da produção de etanol de primeira geração (1G). A biomassa vegetal geralmente é constituída, em peso seco, de 30-50% de celulose, 20-35% de hemicelulose e 12-20% de lignina, com baixos teores de compostos minerais (Wyman, 1999). As etapas do processo de produção de etanol 2G compreendem o pré-tratamento da biomassa, a hidrólise da celulose, a fermentação da glicose e açúcares produzidos na hidrólise e a separação do produto final, o etanol (Wyman, 1999; Kumar *et al.*, 2016). A produção de enzimas necessárias para a hidrólise da celulose também pode estar inserida neste processo (Kumar *et al.*, 2016).

Devido à elevada recalcitrância da biomassa, o processo de conversão enzimática requer uma etapa de pré-tratamento para aumentar a acessibilidade das enzimas, que possuem um custo elevado e estão entre os itens de maior custo da produção do etanol celulósico (Macrelli *et al.*, 2012). Para reduzir este custo, poderiam ser utilizadas estratégias de melhorias na etapa de pré-tratamento, na eficiência das enzimas ou redução do custo de produção das enzimas. Além disso, o uso de técnicas que possam reduzir a concentração dos inibidores gerados no processamento da biomassa também é uma alternativa para aumentar a eficiência da hidrólise, possibilitando também a redução da carga de enzima no processo.

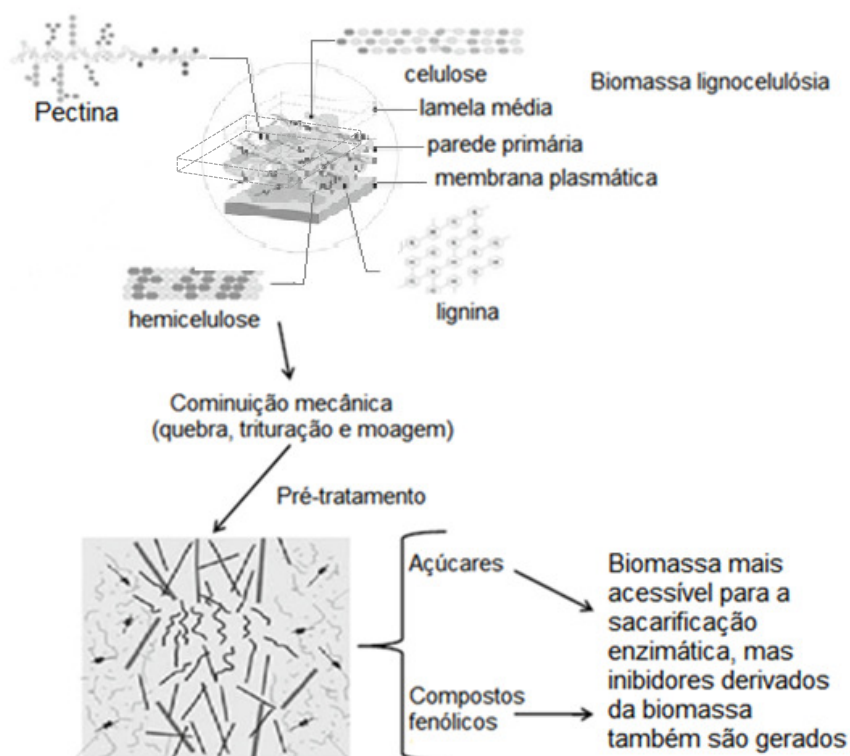
3.2 Tipos de pré-tratamento da biomassa

O pré-tratamento da biomassa tem o objetivo de melhorar a digestibilidade da biomassa para a etapa de hidrólise enzimática (Hendriks e Zeeman, 2009). O processo de pré-tratamento deve, idealmente, aumentar a eficiência da hidrólise enzimática, evitar a degradação ou perda de carboidratos, evitar a formação de produtos inibidores da hidrólise e fermentação e ter viabilidade econômica (Sun e Cheng, 2002). Dentre os diferentes tipos de pré-tratamentos da biomassa lignocelulósica, se incluem o pré-tratamento mecânico, térmico, a vapor, alcalino,

amônia e CO₂, combinações de tratamento térmico com os pré-tratamentos alcalino, oxidativo e alcalino-oxidativo (Hendriks e Zeeman, 2009) e o organosolv (Zhao *et al.*, 2009).

Durante os processos de pré-tratamento da biomassa podem ser gerados diversos tipos de compostos (Figura 1), que podem atuar como inibidores de enzimas na hidrólise e de leveduras na fermentação alcoólica. Dentre os principais compostos inibidores das reações bioquímicas incluem-se o furfural, o hidroximetilfurfural (HMF), provenientes da degradação da hemicelulose e celulose, respectivamente (Mes-Hartree e Saddler, 1983; Puls *et al.*, 1985; Palmqvist e Hahn-Hägerdal, 2000) e os compostos fenólicos provenientes da degradação da lignina (Puls *et al.*, 1985; Palmqvist e Hahn-Hägerdal, 2000; Hendriks e Zeeman, 2009).

Figura 1 – Pré-tratamento da biomassa e geração de inibidores.



Fonte: Adaptado de Duarte *et al.* (2012)

Os tipos e concentração dos inibidores gerados nos pré-tratamentos dependem da composição da biomassa e das condições de operação de cada pré-tratamento (Mosier *et al.*, 2005; Hendriks e Zeeman, 2009). A Tabela 1 apresenta um resumo dos principais efeitos dos diferentes pré-tratamentos na composição ou

estrutura da lignocelulose. Para os diferentes tipos de pré-tratamentos (Tabela 1) verifica-se que os efeitos são distintos, e para os métodos hidrotérmicos, a alteração da estrutura da lignina é menos relevante em relação aos demais.

Tabela 1 - Efeitos dos pré-tratamentos na composição física/química ou estrutura da lignocelulose.

	Maior acessibilidade da área de superfície	Descristalização de celulose	Remove hemicelulose	Remove lignina	Alteração da estrutura da lignina
Vapor/Explosão a vapor	+		+		-
Água quente líquida (batelada)	+	ND	+		-
Água quente líquida (pH controlado)	+	ND	+		ND
Água quente líquida (fluxo)	+	ND	+	-	+
Ácido diluído	+		+		+
Ácido através de fluxo	+		+	-	+
Explosão Fibra Amônia (AFEX)	+	+	-	-	+
Percolação com reciclo de amônia (ARP)	+	+	-	+	+
Hidróxido de cálcio	+	ND	-	+	+

Fonte: Adaptado de Mosier *et al.* (2005)

(+ : maior efeito; - : menor efeito; ND: não determinado)

3.2.1 Pré-tratamentos hidrotérmicos

Os pré-tratamentos hidrotérmicos são os tipos mais comumente utilizados nos processos de conversão da biomassa e estão sendo os mais estudados nas últimas pesquisas (Zhuang *et al.*, 2012; Michelin *et al.*, 2016; Zhuang *et al.*, 2016; Rasmussen *et al.*, 2017). Este tipo de processo consiste na modificação da estrutura

da biomassa vegetal utilizando água e temperaturas elevadas e podem ser classificados como pré-tratamento a vapor e aquoso (Overend e Chornet, 1987).

- Pré-tratamento a vapor: neste método a biomassa é colocada em um recipiente com vapor a alta temperatura (até 240°C) e pressão, por alguns minutos. Após um tempo, o vapor é liberado e a biomassa é resfriada. A diferença entre pré-tratamento a vapor e explosão a vapor é a despressurização rápida e resfriamento da biomassa ao final do pré-tratamento de explosão a vapor, que faz com que a água da biomassa ‘exploda’ (Hendriks e Zeeman, 2009). Quando a temperatura e/ou o tempo de exposição do material no reator são aumentados, ou seja, a severidade do pré-tratamento é elevada, as reações de hidrólise da celulose e da hemicelulose são favorecidas, provocando o início das reações de desidratação das pentoses e hexoses, com a formação de furfural e HMF, que prejudicam a etapa de fermentação alcoólica (Puls *et al.*, 1985; Ramos, 2003; Hendriks e Zeeman, 2009).

- Pré-tratamento com água quente líquida/hidrotérmico (LHW): neste processo, água quente na fase líquida é utilizada em vez de vapor. Para evitar a formação autocatalítica de inibidores durante o processo, o pH deve ser mantido entre 4 e 7. Comparado ao pré-tratamento a vapor, os produtos originados de hemicelulose e lignina solubilizadas estão presentes em concentrações mais baixas, devido à maior quantidade de água (Mosier *et al.*, 2005).

3.2.2 Inibidores gerados no pré-tratamento

Os compostos gerados no pré-tratamento podem ser divididos em 4 grupos: produtos de degradação de açúcar (1), produtos de degradação de lignina (2), compostos derivados da estrutura da lignocelulose (3) e íons de metais pesados (4) (Olsson e Hahn-Hägerdal, 1996).

(1) Os produtos da degradação de açúcar são formados principalmente de furanos, como o furfural e o 5-hidroximetilfurfural (HMF) (Mes-Hartree e Saddler, 1983). HMF é considerado menos tóxico que o furfural e sua concentração em hidrolisados geralmente é baixa devido a 3 fatores: baixa quantidade de hexose em hemicelulose, condições empregadas nos processos hidrolíticos, que normalmente não degradam hexoses em grandes quantidades e alta reatividade deste composto (Mussatto e Roberto, 2004).

(2) Os produtos de degradação da lignina incluem diversos compostos aromáticos e aromáticos policíclicos com uma grande variedade de constituintes (Palmqvist *et al.*, 1996). Os produtos de degradação da lignina são considerados mais tóxicos aos microrganismos que o furfural e HMF, mesmo quando apresentam concentrações baixas (Parajó *et al.*, 1998). Além dos microorganismos, estes compostos também são inibidores das enzimas utilizadas na etapa de hidrólise (Michelin *et al.*, 2016; Zhai *et al.*, 2016).

(3) Compostos derivados de extrativos (resinas ácidas, taninos e ácidos terpenos) e ácido acético derivado do grupo acetil presentes na hemicelulose são liberados durante o processo hidrolítico (Mussatto e Roberto, 2004).

(4) Os íons de metais pesados podem originar da corrosão dos equipamentos de hidrólise e podem inibir as enzimas (Mussatto e Roberto, 2004).

3.2.3 Compostos fenólicos derivados de lignina

A lignina (Figura 2) consiste de um heteropolímero aromático, que é derivado principalmente de três álcoois monômeros: p-cumaril, coniferil e sinapil. Estes monolignóis produzem as unidades de álcoois fenilpropanóides: p-hidróxifenil (H), guaiacil (G) e siringil (S), respectivamente, quando incorporados no polímero lignina (Boerjan *et al.*, 2003). Em gramíneas, como a cana-de-açúcar, e por consequência no bagaço, a lignina é composta por estas três unidades (Fernandez *et al.*, 1990).

A temperatura de degradação da lignina em condições neutras está em torno de 180 °C (Bobleter, 1994). No pré-tratamento hidrotérmico, a hidrólise das ligações mais termolábeis da lignina são favorecidas, principalmente as ligações β -O-4 (Figura 3), levando a formação de novas ligações e à fragmentação de partes da lignina, liberando os compostos fenólicos (Tanahashi, 1990). Os compostos fenólicos consistem de um anel aromático, que possuem ligação com grupos do tipo hidroxila, carboxila, metoxila e outras estruturas cíclicas não aromáticas (Palmqvist e Hahn-Hägerdal, 2000).

Um mecanismo de decomposição de alguns compostos derivados da lignina (fenólicos) no pré-tratamento hidrotérmico (LHW) foi proposto por Zhuang *et al.* (2012), como mostra a Figura 4 (como modelo de substrato os autores utilizaram o resíduo da fermentação em estado sólido do bagaço-de-cana).

Figura 2 – Estrutura química da lignina.

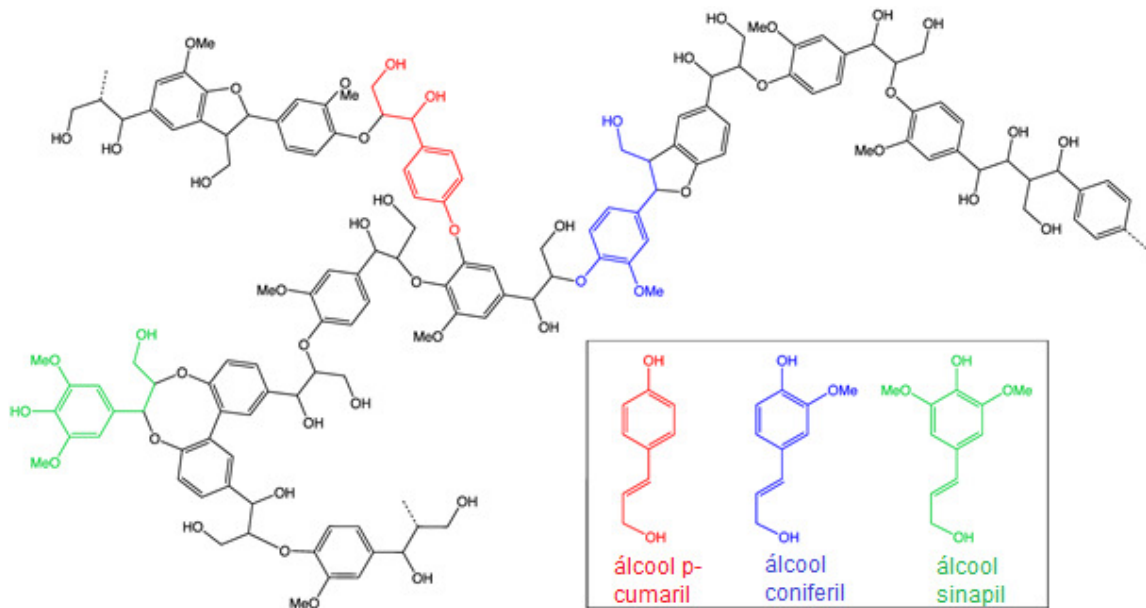


Figura 3 - Hidrólise de ligações β -O-4 durante o processo de explosão a vapor.

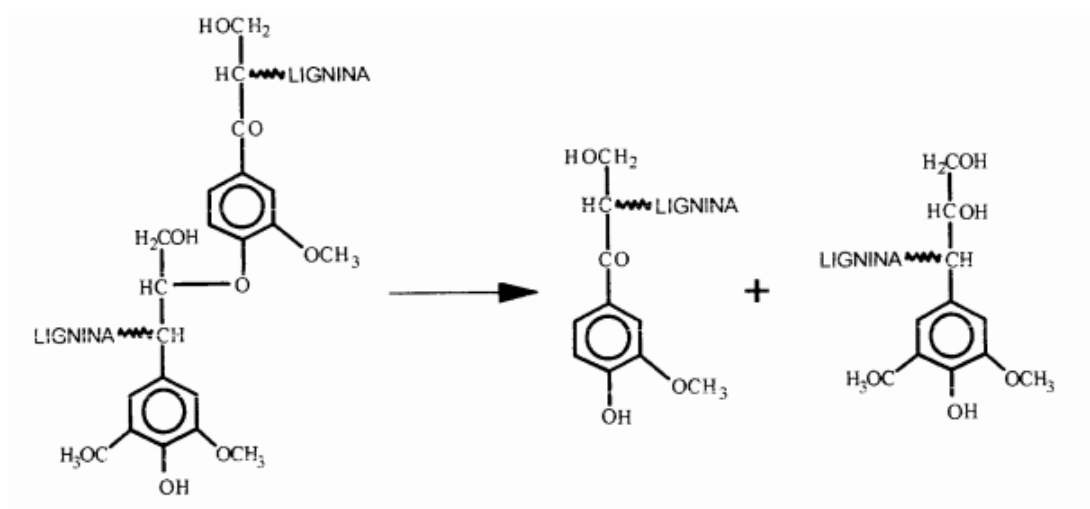
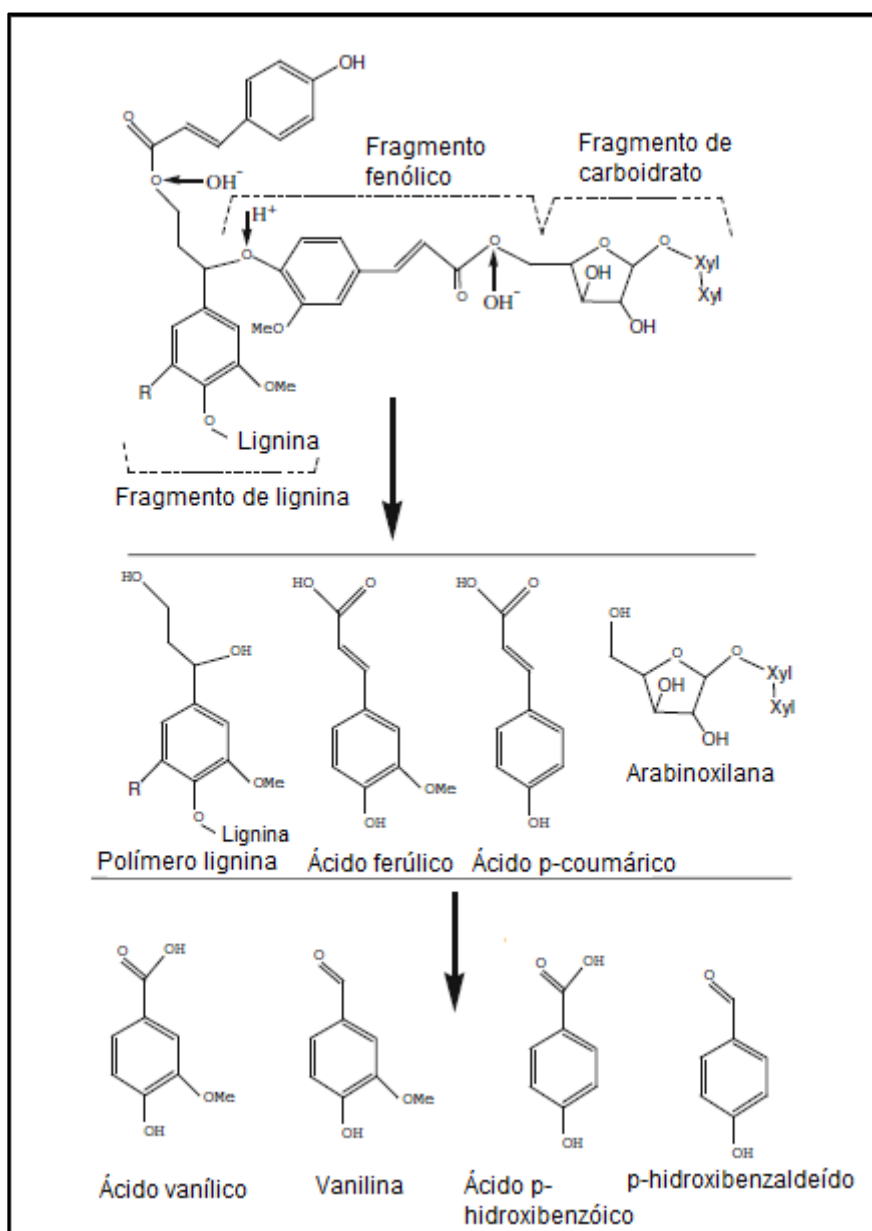


Figura 4 – Mecanismo proposto de degradação da lignina no pré-tratamento hidrotérmico.



Fonte: Adaptado de Zhuang *et al.* (2012)

O ácido ferúlico está ligado à lignina e a carboidratos com ligações éter e éster, respectivamente. Visto que o pré-tratamento LHW tem propriedades catalíticas ácido-base, no processo de degradação da biomassa, a clivagem das ligações éster do ácido ferúlico e polissacarídeos são realizadas liberando pequenas quantidades de ácido ferúlico. A clivagem das ligações éter entre ácido ferúlico e lignina pelo grupo ácido é esperada. Produtos como ácido ferúlico e ácido p-coumárico

poderiam ser em seguida decompostos por clivagem oxidativa a produtos como vanilina, ácido vanílico, 4-hidroxibenzaldeído e ácido 4-hidróxibenzóico (Zhuang *et al.*, 2012). Estes tipos de compostos fenólicos foram também encontrados em produtos de degradação de diferentes biomassas pré-tratadas hidrotermicamente: madeiras de pinho, Poplar, palha de milho (Du *et al.*, 2010), palha de arroz (Rajan e Carrier, 2016) e bagaço de cana (Martín *et al.*, 2002; Martín *et al.*, 2007).

O tipo de composto fenólico e a concentração dos fenólicos totais podem variar com os tipos de biomassa e de pré-tratamento e a concentração dos fenólicos totais, que depende da carga de sólidos utilizada no pré-tratamento e na hidrólise enzimática (Fenske *et al.*, 1998; Du *et al.*, 2010; Malgas *et al.*, 2016; Qin *et al.*, 2016). A concentração de fenólicos totais na fração líquida, para pré-tratamentos em meios aquosos, pode variar. Para a carga de sólidos entre 150 e 200 g/L, a faixa esperada de compostos fenólicos liberados está entre 2 e 16%, correspondente à faixa de 2-5 g/L (Ximenes *et al.*, 2011). Para o bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com água quente, por exemplo, a concentração de fenólicos totais pode variar de 1,4 a 2,4 g/L quando a temperatura de processo aumenta de 180 °C para 200 °C para 10% (m/v) de sólidos (Michelin *et al.*, 2016).

Vários trabalhos encontrados na literatura relatam a inibição de enzimas utilizadas pelos compostos fenólicos (Tabela 2).

Tabela 2 – Trabalhos encontrados sobre a inibição de enzimas do complexo celulolítico.

Matéria prima	Compostos inibidores	Enzimas avaliadas	Referência
Resíduo da produção de etanol de milho (wet cake)	Siringaldeído (55 mM), ácido trans-cinâmico (67 mM), ácido 4-hidroxibenzóico (67 mM) e a vanilina (66mM)	Celulase (Spezyme CP)+ β -glicosidase (Novozyme 188), β -glicosidase (Spezyme CP e Novozyme 188)	Ximenes <i>et al.</i> (2010)
Palha de milho pré-tratada com ácido	Ácido tânico e proantocianidinas (1mM); ácido 4-hidroxi-2-metilbenzoico, vanillina, álcool coniferílico, aldeído coniferílico, ácido ferúlico, álcool, 4-hidroxi-3-	Mix de enzimas: Cellobiohydrolase-I (60%), cellobiohydrolase-II (15%) ,	Tejirian e Xu (2011)

	metoxi- α -metilbenzil, siringaldeído, ácido gálico, galato metil, ácido elágico ácido elágico, epicatequina e flavonol (10 mM)	β 1,4- endoglucanase-I (5%), β 1,4- endoglucanase-II (6%) e β glicosidase (2%)	
Madeira Maple hidrotérmica	Compostos fenólicos totais (1,3 g/L)	Spezyme CP, Multifect Pectinase e Novozyme 188	Kim <i>et al.</i> (2011)
--	Ácido tânico (polímero) e ácidos gálico, ferúlico, transcinâmico, p- coumárico, sinápico e 4- hidroxibenzóico (monômeros), vanilina e siringaldeído (0,2 % massa de fenol/volume de enzima).	Spezyme CP e Novozyme 188	Ximenes <i>et al.</i> (2011)
--	Ácidos acético e fórmico (75 mM); furfural and 5-Hidroximetilfurfural (30 mM); 4-hidroxibenzaldeído, 4-ácido hidroxibenzoico, 4-hidroxiacetofenona, siringaldeído, vanillina, 4-hidroxi-3- metoxi-cinamalaldeído (coniferílico aldeído, ácido cinâmico e ácido tânico(1 mM)	β glicosidase I, Celobiohidrolase I e Endoglucase II	Mhlongo <i>et al.</i> (2015)
--	Ácido acético, ácido fórmico, ácido levulínico, furfural, HMF, ácido p- coumárico, vanilina ácido gálico, ácido vanílico e a lignina (1 e 2 g/L)	α -galactosidasas, β -mananase, mananase e β - manosidasas	Malgas <i>et al.</i> (2016)

Fonte: Autor

(--: utilizaram apenas compostos sintéticos para avaliar a inibição das enzimas)

Ximenes *et al.* (2010) avaliaram a inibição de enzimas por fenólicos e oligossacarídeos liberados durante o pré-tratamento hidrotérmico e a hidrólise do resíduo da produção de etanol de milho. Alguns compostos fenólicos encontrados foram o siringaldeído, ácido trans-cinâmico, ácido 4-hidroxibenzóico e a vanilina. Os autores constataram que dos compostos fenólicos analisados, a vanilina foi o inibidor mais significativo da mistura de celulase comercial e β -glicosidase. Siringaldeído e

ácido trans-cinâmico foram moderadamente inibitórios e o ácido 4-hidroxibenzóico foi o menos inibidor.

Com o intuito de fazer um estudo comparativo, Tejirian e Xu (2011) utilizaram uma série de compostos fenólicos simples e oligoméricos, a fim de representar ou simular os compostos de lignina ou seus produtos de degradação na inibição enzimática. Os autores verificaram que celulasas individuais mostraram distinta sensibilidade para estes compostos e os fenólicos oligoméricos (ácido tânico e protoancianidinas) apresentaram maior efeito inibitório que os fenólicos simples.

Kim *et al.* (2011) identificaram os principais inibidores solúveis gerados durante o pré-tratamento hidrotérmico (LHW) de madeira de pinho. Os compostos gerados foram o ácido acético, HMF, furfural, e compostos fenólicos. Foi verificado que os compostos fenólicos foram potentes inibidores de celulase, apesar das baixas concentrações de 5 mg/ml ou menor. Seus estudos verificaram que uma forma destes compostos afetarem a atividade enzimática é por meio da precipitação das enzimas durante a reação de hidrólise.

Ximenes *et al.* (2011) avaliaram o efeito inibitório e/ou desativador de ácido tânico (oligomérico) e ácidos gálico, ferúlico, transcinâmico, p-coumárico, sinápico e 4-hidroxibenzóico (monômeros), vanilina e siringaldeído em celulasas. Os resultados mostraram que o ácido tânico foi o maior inibidor para todas as atividades enzimáticas testadas.

Mhlongo *et al.* (2015) investigaram a função de compostos inibidores como ácidos acético e fórmico (75 mM), furfural e HMF (30 mM) e compostos fenólicos (4-hidróxibenzaldeído, ácido 4-hidroxibenzóico, 4-hidroxiacetofenona, siringaldeído, vanilina, 4-hidroxi-3-metoxi-cinemaleído e ácido tânico (1mM), associado à lignocelulose na inibição/desativação de celobiohidrolase (CBH1), endoglucanase (EG2) e β -glicosidade (BGL1). Os autores verificaram que ácido tânico e ácidos fracos resultaram em inibições severas das celulasas.

Malgas *et al.* (2016) fizeram ensaios de inibição de enzimas mananases utilizando os licores do pré-tratamento e de cada composto isolado, entre eles: ácido acético, ácido fórmico, ácido levulínico, furfural, HMF, ácido p-coumárico, vanilina ácido gálico, ácido vanílico e a lignina. Foi concluído que os derivados de lignina foram os que mais atenuaram as atividades das enzimas para 0,2% de concentração dos compostos fenólicos (massa de fenol/volume de enzima).

Visto que estes inibidores alteram significativamente o desempenho da ação das enzimas, mesmo em baixas concentrações, são necessários métodos para a sua remoção, e estes devem ser eficientes e de baixo custo. Com a redução desses compostos inibidores, é possível reduzir a carga de enzimas, uma vez que as enzimas possuem custo elevado no processo (Johnson, 2016).

Segundo Taherzadeh *et al.*, (2000) para a minimização de inibidores em hidrolisados provenientes da biomassa existem 4 abordagens: (1) evitar a formação de inibidores; (2) desintoxicar o hidrolisado antes da hidrólise enzimática e/ou fermentação; (3) desenvolver espécies de microrganismos e/ou enzimas capazes de resistir a inibidores; (4) converter compostos tóxicos em produtos que não interferem no metabolismo/ação enzimática. Existem diferentes métodos disponíveis a fim de atingir estes objetivos, e entre eles está a adsorção, que é uma técnica eficiente de remoção de compostos tóxicos de soluções aquosas, se comparada aos outros tratamentos que são utilizados (Mukherjee *et al.*, 2007).

3.3 Adsorção

Em geral, a adsorção consiste do acúmulo de moléculas de um adsorbato na superfície de um adsorvente. Este fenômeno de superfície é controlado por interações complexas entre os três componentes envolvidos: o adsorvente, o adsorbato e o solvente e ocasionalmente, entre o adsorbato e o solvente também podem existir uma maior força de atração, prejudicando a adsorção (Furuya *et al.*, 1997). Quando um fluido multicomponente está em contato com uma superfície sólida (adsorvente), determinados componentes da mistura (adsorbatos) se concentram na superfície devido a diferenças nas forças de atração intermoleculares entre o fluido e o sólido. O processo reverso, no qual as moléculas adsorvidas são removidas da superfície para a fase fluida é chamada dessorção. Adsorção e dessorção são etapas vitais em um processo adsortivo quando o adsorvente é utilizado repetidas vezes para a realização da separação de uma mistura fluida (Garside, 1994).

Os tipos de adsorção estão divididos em 3 classes principais: troca iônica, adsorção física e química. A troca iônica envolve forças eletrostáticas de ligação de espécies iônicas para os locais de carga oposta à superfície de um adsorvente, com deslocamento subsequente destas espécies por outro adsorbato iônico de grande afinidade eletrostática. A adsorção física resulta da ação de forças de van der Waals, que são compostas de forças de dispersão de London e forças

eletrostáticas clássicas. A adsorção química (quimissorção) envolve a reação entre o adsorbato e o adsorvente resultando em uma mudança na configuração química do adsorbato. A ligação de moléculas de adsorbato ao grupo funcional em superfícies adsorventes também podem resultar em interações específicas que não resultam em transformações do adsorbato. Estas interações exibem uma variação de energias de ligação, variando de valores normalmente associados com adsorção física para altas energias envolvidas na quimissorção (Slejko, 1985).

As características mais importantes que distinguem a fisissorção e a quimissorção estão a seguir (Bansal e Goyal, 2005):

- a) Fisissorção é em geral um fenômeno com baixo grau de especificidade, enquanto a quimissorção é dependente da reatividade do adsorvente e adsorbato;
- b) Moléculas quimissorvidas são ligadas às partes reativas da superfície, e a adsorção é necessariamente limitada a uma monocamada;
- c) Na adsorção física não há dissociação das moléculas adsorvidas e é significativa, em sua maioria, em baixas temperaturas. A quimissorção é possível em ampla faixa de temperaturas e pode haver dissociação das moléculas quimissorvidas;
- d) A energia da quimissorção é da mesma ordem de magnitude como a mudança de energia em uma reação química;
- e) A adsorção física é rápida, não ativada e reversível. A quimissorção pode ser ativada, lenta e irreversível.

Para representar o estado de equilíbrio de um sistema de adsorção, são utilizadas as isotermas de adsorção, no qual podem ser fornecidas diversas informações a respeito do adsorbato, do adsorvente e do processo. Diversas equações têm sido utilizadas para representar as isotermas, nos quais os modelos utilizados neste trabalho estão descritos a seguir:

- Isoterma de Langmuir

Baseia-se nas suposições que a energia de adsorção é constante e independente da cobertura da superfície, que a adsorção ocorre nos locais sem interação entre moléculas de adsorbato e que a adsorção máxima ocorre quando a superfície é coberta por uma monocamada de adsorbato (Slejko, 1985). Para

isotermas sólidos-líquidos a equação é usualmente escrita da seguinte forma (Equação 1):

$$q = \frac{Q \cdot K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e} \quad (1)$$

q é a quantidade de soluto adsorvido por unidade de massa de adsorvente, Q é a capacidade limite da adsorção, C_e é a concentração de soluto na fase líquida residual no equilíbrio e K_L é a constante da isoterma.

- Isoterma de Freundlich

Este modelo é consistente com superfícies heterogêneas e distribuição exponencial de energias locais. Freundlich em 1926 estabeleceu que os dados de equilíbrio de adsorção foram melhores descritos pela equação 2 (Slejko,1985).

$$q = K_F \cdot C_e^{\frac{1}{n}} \quad (2)$$

K_F e n são constantes características e C_e é a concentração de soluto na fase líquida residual no equilíbrio.

- Isoterma de Redlich-Peterson

Esta isoterma é uma combinação das isotermas de Langmuir e Freundlich e pode ser aplicada à sistemas homogêneos ou heterogêneos. Esta equação (Equação 3) dá melhores ajustes em muitos casos, exceto para os casos em que o valor de b é superior a 1 (Foo e Hameed, 2010).

$$q = \frac{K \cdot C_e}{1 + a \cdot C_e^b} \quad (3)$$

K , a e b são os parâmetros da isoterma de Redlich-Peterson. O parâmetro b apresenta valores entre 0 e 1. Quando b tende a 1, a isoterma se reduz à forma da isoterma de Langmuir e quando tende a 0, a isoterma se reduz à forma de Freundlich.

3.3.1 Adsorventes para a remoção de compostos fenólicos

A disponibilidade de uma extensa variedade de materiais adsorventes é um fator importante para o desenvolvimento de estudos da adsorção. Entre estes materiais estão: zeólitas, carvões ativados, alumina, sílica gel e resinas de troca iônica. Desta forma, novas estruturas adsorventes ou modificações físico-químicas de materiais existentes estão continuamente sendo introduzidas (Garside, 1994).

Um dos materiais mais utilizados para a adsorção é o carvão ativado, e este tem utilidade para uma grande variedade de compostos (Lin e Juang, 2009). O carvão ativado, em amplo sentido, é um termo que inclui extensa faixa de materiais carbonáceos amorfos que exibem um alto grau de porosidade e uma extensa área de superfície (Figueiredo *et al.*, 1999; Bansal e Goyal, 2005). São obtidos por combustão, pirólise de uma variedade de substâncias carbonáceas (Bansal e Goyal, 2005). Apesar das boas qualidades associadas à adsorção, possui desvantagens de alto custo de regeneração, alto custo de fabricação e geração de finos de carvão, devido à frágil natureza de carvões utilizados para a remoção de espécies orgânicas (Ahmaruzzaman e Sharma, 2005; Lin *et al.*, 2011)

A seleção de um material para a produção de um carvão ativado é baseada principalmente nos seguintes fatores: baixo conteúdo de material inorgânico, facilidade de ativação, disponibilidade e baixo custo e baixa degradação sob armazenamento (Rodríguez-Reinoso, 1997 apud Dabrowski, 2005).

Carvões ativados são geralmente preparados em duas etapas principais: carbonização do material abaixo de 800 °C em atmosfera inerte e ativação do produto carbonizado, que pode ser física ou química. A ativação física acontece geralmente entre 800 e 1000 °C após a carbonização, utilizando agentes ativantes como o vapor, dióxido de carbono ou uma mistura desses compostos. A ativação química ocorre pela impregnação do precursor com reagentes antes da etapa de carbonização, e após este processo, o produto final é lavado para retirar os produtos químicos remanescentes (Marsh e Rodríguez-Reinoso, 2006). Logo, qualquer material carbonáceo pode ser convertido em carvão ativado, embora suas propriedades finais sejam diferentes, dependendo da natureza do material usado, do agente ativante e das condições do processo. Seu maior constituinte é o carbono (85-95%), seguido de outros elementos como hidrogênio, nitrogênio, enxofre e oxigênio. Estes

heteroátomos são derivados do material *in natura* ou estão associados ao procedimento de produção do carvão e outras preparações (Bansal e Goyal, 2005).

A constituição do material precursor e a forma de preparação do carvão ativado têm influência nas suas características finais. Suhas *et al.* (2016) relataram sobre a influência da formação da porosidade e o conteúdo de lignina, celulose e hemicelulose no material precursor. A lignina é citada como a maior participante na formação de carvões e carvões ativados e a microporosidade é devido à celulose, enquanto que todos os componentes presentes (lignina, celulose e hemicelulose) contribuem para formação de poros do carvão (Cagnon *et al.*, 2009). Outros autores reportaram que a celulose é a maior responsável pela porosidade e a área de superfície (Sharma *et al.*, 2004).

Nos últimos anos, pesquisas sobre a produção de adsorventes alternativos têm se fortalecido, e estudos sobre vários adsorventes de baixo custo que têm boas capacidades de adsorção e de remoção de fenóis indesejados de águas contaminadas têm tido especial atenção (Wong *et al.*, 2018). Materiais como bagaço de cana, lama vermelha, zeólitas, argila, ou determinados resíduos de operações industriais, tais como cinzas voláteis, carvão e resíduos da indústria agrícola são classificados como adsorventes de baixo custo (Lin e Juang, 2009).

A borra de café foi estudada com material alternativo por Silva, Franca e Oliveira (2010) para a remoção dos compostos fenólicos de efluentes industriais. O café após ser torrado e moído tem a possibilidade de ser processado, por meio de extrações exaustivas com água aquecida, seguidas de secagem por aspersão para a produção de café solúvel. O sólido resultante desta exaustão é constituído de um material carbonáceo pré-pirolisado, que apresenta alto potencial para o uso como adsorvente. Seus resultados mostraram que a borra de café tratada com KOH e HNO₃ tiveram eficiência de adsorção de 93 e 98%, respectivamente, e uma capacidade de adsorção de 9-10 mg/g de fenólicos.

Mukherjee *et al.* (2007) fizeram um estudo comparativo entre três tipos de adsorventes carbonáceos na remoção de fenólicos: fuligem de bagaço de cana, carvão vegetal de madeira e carvão ativado. Seus resultados mostraram que o grau de remoção do carvão vegetal e da fuligem de bagaço de cana se mostraram comparáveis ao de remoção obtido pelo carvão ativado.

A semente de palma, que é um resíduo gerado do setor agrícola, foi avaliada por Rengaraj *et al.* (2002). Foi constatado que o carvão ativado de semente

de palma foi eficaz na remoção de fenol de águas residuárias. A remoção utilizando a semente de palma como adsorvente aumentou com o tempo de contato e alcançou o equilíbrio em 3 h, enquanto que para o carvão ativado comercial, o tempo requerido foi de 6 h. A capacidade de remoção atingiu 18,3 mg/g para o tamanho de partícula de 20-50 mesh, e foi muito superior que a capacidade do carvão ativado comercial.

Arellano-Cárdenas *et al.* (2005) avaliaram a capacidade de adsorção de 3,4 diclorofenol, 2,5 diclorofenol e fenol em heteroestrutura de argila porosa (PCH). Os resultados mostraram que houve maior adsorção para clorofenóis comparados aos fenóis.

Ahmaruzzaman e Sharma (2005) estudaram o potencial de diferentes tipos de adsorventes para a remoção de fenol, p-clorofenol e p-nitrofenol, dentre eles o carvão residual (residual samla coal), carvão residual tratado com ácido fosfórico (H_3PO_4) e o coque de petróleo, casca de arroz, casca de arroz carbonizada e pó de carvão. Os autores verificaram que as capacidades de sorção para os adsorventes estudados seguiram a ordem: fenol < p-clorofenol < p-nitrofenol. A capacidade de remoção do carvão residual aumentou após o tratamento com H_3PO_4 e este material proporcionou os melhores resultados entre os adsorventes estudados.

Makrigianni *et al.*, (2015) avaliaram o uso de carvão ativado produzido a partir de resíduos de pneu para a adsorção de poluentes orgânicos, fenol e azul de metileno de solução aquosa e constataram que o adsorvente produzido apresentou uma boa eficiência na remoção destes compostos.

Pela revisão apresentada, constata-se que é de grande interesse a investigação de materiais adsorventes alternativos, associando as vantagens de baixo custo de obtenção/fabricação com a alta capacidade de remoção dos compostos fenólicos.

3.3.2 Interações envolvidas na adsorção dos compostos fenólicos em carvão ativado

A estrutura porosa do carvão ativado é tridispersa, consistindo de micro-, meso- e macroporos, onde cada um destes poros tem sua função específica no processo de adsorção. Os poros possuem tamanhos menores de 1 nanômetro a centenas de nanômetros (Bansal e Goyal, 2005). Esta estrutura é constituída basicamente de microcristais de grafite empilhados numa orientação randômica e os

microporos são formados pelos espaços entre os cristais. Os anéis aromáticos condensados nos cristais de grafite proporcionam a hidrofobicidade da superfície microporosa (Furuya *et al.*, 1997).

De acordo com Dobrowski *et al.* (2005), a capacidade de adsorção de compostos aromáticos em carvão ativado em fase líquida depende de um número de fatores:

- A natureza física do adsorvente – estrutura de poro, conteúdo de cinzas, grupos funcionais;
- A natureza do adsorbato, seu pka, grupos funcionais presentes, polaridade, massa molecular, tamanho;
- As condições de solução como pH, força iônica e a concentração do soluto.

A capacidade de adsorção do carvão ativado é determinada pela sua estrutura física, mas é fortemente influenciada pela sua estrutura química (Bansal e Goyal, 2005). Assim, o carvão ativado é um potente adsorvente, devido as suas características de alta área superficial e por possuir uma grande variedade de grupos funcionais em sua superfície. Sua estrutura é constituída basicamente de uma base grafítica, em que os vértices e as bordas acomodam uma série de elementos como o oxigênio, nitrogênio e hidrogênio, que constituem os grupos funcionais (Figueiredo *et al.*, 1999). A quantidade e forma química destes elementos dependem da origem do carvão, suas preparações e condições de tratamento (Dąbrowski *et al.*, 2005; László, 2005).

Os grupos funcionais atribuem o caráter ácido ou básico da superfície do carvão. Isto é determinado pelo oxigênio contido nos grupos carboxílicos, lactonas, fenóis, carbonilas, éter ou quinonas e os elétrons deslocalizados da estrutura grafítica, que também influenciam as propriedades da superfície do carvão dependendo do pH da solução aquosa (László, 2005). Para alguns autores, foi encontrado que para adsorção de compostos fenólicos é aconselhável que a superfície tenha caráter básico (Ania *et al.*, 2002; László *et al.*, 2003; Terzyk, 2003; Villacañas *et al.*, 2006) como, por exemplo, a presença de pironas, cromenos e cetonas (Montes-Morán *et al.*, 2004).

No processo de adsorção de fenóis em carvão ativado, são propostas as seguintes interações: (a) interações doador-receptor de elétrons entre anéis aromáticos fenólicos e a superfície de oxigênio de grupos básicos; (b) efeito de dispersão entre anéis aromáticos e elétrons π da estrutura grafítica e a atração

eletrostática e repulsão quando íons estão presentes (Laszló, *et al.*, 2003; Menéndez, 1992 apud Ania *et al.*, 2002).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais escolhidos para a adsorção dos compostos fenólicos gerados no pré-tratamento da biomassa foram os seguintes resíduos agroindustriais: a fuligem resultante da queima incompleta do bagaço de cana-de-açúcar e o carvão de casca de coco. Foram avaliadas fuligens provenientes de duas usinas da região, denominadas aqui de fuligem A e B.

4.1 Preparação da fuligem A

A fuligem A foi fornecida pela usina do grupo Zilor, localizada na cidade de Lençóis Paulista – SP. A fuligem fornecida foi peneirada em peneira de 1 mm para a separação das impurezas. Partículas menores que 1 mm foram moídas com o auxílio de um pistilo e peneiradas em peneira de 300 μm , sendo selecionadas as partículas menores que 300 μm para a utilização como adsorvente. Este adsorvente foi denominado fuligem A no restante do trabalho.

4.2 Preparação da fuligem B

A fuligem B foi fornecida pela usina Ipiranga, localizada na cidade de Descalvado-SP. A amostra foi peneirada em peneira de 1 mm para a separação das impurezas. A fuligem B foi ativada fisicamente com fluxo de 150 mL/min de CO_2 em forno tubular horizontal a 800 $^\circ\text{C}$, por 2 h, no qual, o processo de ativação da fuligem consistiu do aquecimento e o resfriamento com fluxo de N_2 . Amostras ativadas e não ativadas foram moídas com o auxílio de um pistilo e peneiradas em peneira de 300 μm , sendo selecionadas as partículas menores que 300 μm para a utilização como adsorvente. Estes adsorventes foram denominados fuligem B e fuligem B ativada.

4.3 Preparação do carvão ativado de casca de coco

O carvão de casca de coco foi ativado na Universidade Federal de Lavras. O processo de ativação física foi realizado com fluxo de 150 mL/min de CO_2 em forno tubular horizontal a 800 $^\circ\text{C}$, por 3 h. Assim que fornecida para o nosso grupo de pesquisa, a amostra foi moída em moinho de facas, peneirada em peneira de 300

μm , sendo selecionadas as partículas menores que $300 \mu\text{m}$. Em seguida, a amostra foi lavada com HCl 1M e após a lavagem com ácido, foi lavado novamente com água por 5 vezes (até pH da solução de lavagem entre 5-6) e seco em estufa a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h. O adsorvente foi denominado carvão ativado de casca de coco (CACO).

4.4 Caracterização dos adsorventes

Os adsorventes caracterizados foram a fuligem A, fuligem B, fuligem B ativada, carvão ativado de casca de coco e o carvão ativado comercial.

4.4.1 Área superficial e volume de poros

A distribuição de poros dos adsorventes foi analisada em um porosímetro da Micromeritics, modelo Asap 2020 (Micromeritics USA), empregando-se a técnica de adsorção/dessorção de nitrogênio a 77 K. A área superficial foi calculada pela equação de Brunauer, Emmett y Teller (BET). A área de superfície de microporos e volume foram medidos pelo método t-plot. O volume de mesoporos foi calculado pela diferença entre o volume total de poros (obtido na pressão $P/P_0=0,99$) e o volume de microporos. A distribuição total de poros foi obtida utilizando o método da teoria do funcional da densidade (DFT) aplicado às isotermas de adsorção com o software ASAP 2020.

4.4.2 Difração de raios X

A cristalinidade dos adsorventes foi determinada pelo método de difração de raios X (DRX), utilizando um difratômetro da Shimadzu XRD 6000 (Japão). A intensidade relativa foi gravada em uma escala de difração (2θ) $^\circ$ 5-80, usando um feixe incidente de Cu $K\alpha$ ($\lambda = 0,1546 \text{ nm}$). A velocidade de varredura foi de 2° min^{-1} , com tensão e corrente do tubo de raios-X de 30 kV e 30 mA, respectivamente.

4.4.3 Determinação do potencial zeta

Para a determinação do potencial zeta, 10 mg de adsorvente foram adicionados a 10 mL de água destilada, com pHs variando de 1 à 10, sendo as

soluções ajustadas com NaOH ou HCl. O pH das soluções de suspensão com os adsorventes foram medidos em equipamento Zetasizer Nano Zs da marca Malvern Instruments.

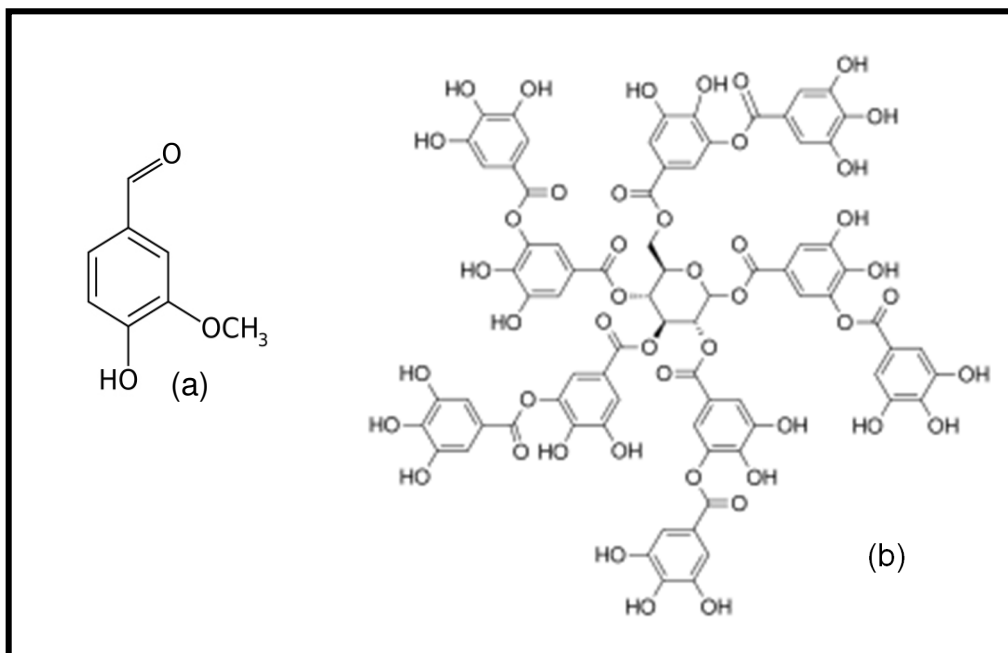
4.4.4 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os grupos funcionais dos adsorventes foram determinados por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). As partículas dos adsorventes foram misturadas com KBr em pó nas seguintes proporções: 1:100 (fuligem A e carvão ativado comercial) e 1:400 (fuligem B, fuligem B ativada e o carvão ativado de casca de coco) (amostra:KBr). Após esta mistura, o pó resultante foi colocado numa prensa para a formação da pastilha, a qual foi utilizada para a obtenção do espectro infravermelho. O equipamento utilizado foi um espectrômetro de infravermelho médio com Transformada de Fourier marca Bruker (Alemanha), modelo Vertex 70, na faixa de 400 e 4000 cm^{-1} .

4.5 Ensaio de adsorção dos compostos fenólicos

De acordo com os trabalhos apresentados pelos autores Malgas *et al.*, (2016), Ximenes *et al.*, (2011) e Qin *et al.*, (2016), a vanilina está entre os inibidores de enzimas celulolíticas, e os resultados de Ximenes *et al.*, (2011) mostraram que o maior inibidor para todas as atividades enzimáticas testadas foi o ácido tânico. A vanilina é um composto monomérico e o ácido tânico, oligomérico, assim, estes compostos foram escolhidos para o estudo da adsorção das soluções sintéticas, em concentração de 3 g/L, que está na faixa de concentração média encontrada dos compostos fenólicos totais no licor do pré-tratamento de diferentes biomassas (Ximenes *et al.*, 2011). As estruturas da vanilina e do ácido tânico estão apresentadas na Figura 5.

Figura 5 - Estrutura química da (a) vanilina e do (b) ácido tânico.

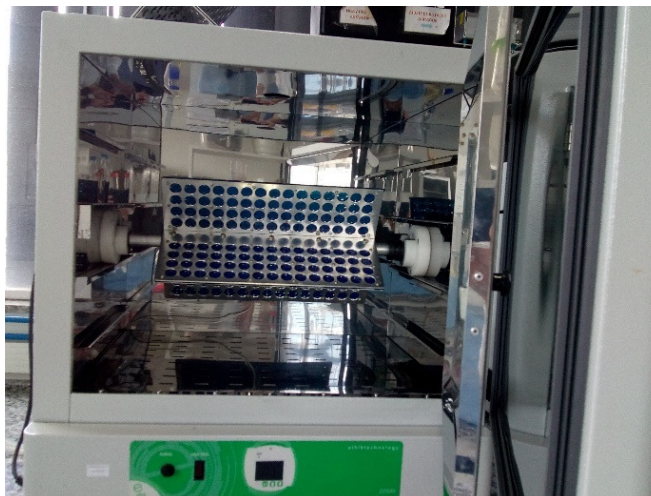


4.5.1 Adsorção em batelada com amostras sintéticas

Os ensaios de adsorção das amostras sintéticas foram realizados a fim de se ter um conhecimento do comportamento prévio da adsorção de dois dos principais compostos fenólicos inibidores das enzimas. Primeiramente, foram realizados ensaios preliminares variando as cargas de fuligem A e carvão ativado comercial em 2, 5 e 8% (m/v), em tampão pH 5 e 30 °C. Para o carvão ativado de casca de coco foi testada a carga de 1% e esta foi determinada para os ensaios de adsorção.

Neste estudo prévio de adsorção das amostras sintéticas foram avaliados os efeitos do pH e da temperatura de adsorção. Os pHs variaram de 2 a 6 em 30 °C e as temperaturas de adsorção de 30 a 50 °C em pH 5, para a 2% de adsorvente. Visto que as condições de hidrólise enzimática são pH 5 e 50 °C, as condições máximas de pH e temperatura avaliados na adsorção foram determinadas até 6 para o pH da solução e 50 °C para a temperatura de adsorção. Todos estes ensaios foram realizados em tubos de 5 mL, por 24h e 30 rpm, em estufa da marca Ethik Technology (Figura 6), a qual possui um eixo na posição horizontal que permite a acomodação das amostras em movimento rotatório de 360° e assim, promove a mistura das soluções durante o processo.

Figura 6 – Estufa utilizada para os experimentos realizados em tubos.



4.5.2 Determinação das isotermas e cinéticas

Foram obtidas isotermas e cinéticas de adsorção para as amostras sintéticas, todos realizados em pH 5, 30 °C e 30 rpm. Para os ensaios de adsorção também foi utilizado como adsorvente o carvão ativado, a fim de ter um comparativo da capacidade atingida pelos adsorventes em relação a um adsorvente comercial.

Para as isotermas, as faixas de concentrações utilizadas para a vanilina em carvão ativado comercial foram de 1,85 a 9,56 g/L e de 0,20 a 8,30 g/L em fuligem A e carvão ativado de casca de coco. Para o ácido tânico foram de 0,28 a 5,50 g/L em carvão ativado comercial e 0,20 a 6,80 g/L em fuligem A e carvão ativado de casca de coco. As condições utilizadas foram de 30 °C, pH 5 e 30 rpm, utilizando 1% (m/v) de adsorvente. Também foram obtidas isotermas de adsorção de um coquetel de fenólicos e furanos. Este coquetel foi preparado adicionando (g/L): vanilina (0,10), 4-hidroxibenzaldeído (0,22), catecol (0,035), e os ácidos tânico (1,00), ferúlico (0,40), 4-hidroxibenzóico (0,022) e p-coumárico (1,00), 5-hidroximetilfurfural (1,00) and furfural (3,00). As concentrações de monoméricos foram baseadas em proporções encontradas na literatura sobre o bagaço hidrotérmico (Pinto *et al.*, 2018; Martín *et al.*, 2002). As isotermas de adsorção do coquetel foram realizadas variando a carga de fuligem B e fuligem B ativada, de 0,5 à 8 (m/v) e de 0,5 à 5% (m/v) de carvão ativado de casca de coco em 30 °C, pH 5, 30 rpm por 24 h, onde foram quantificados os compostos fenólicos totais. As cinéticas foram realizadas com 3 g/L de concentração inicial de vanilina e ácido tânico para 5% (m/v) de fuligem A.

A concentração na fase sólida, isto é, a capacidade de adsorção (q) foi calculada a partir do balanço de massa (Equação 4) após o equilíbrio ter sido alcançado.

$$q = V \cdot \frac{C_o - C_e}{m} \quad (4)$$

Na Equação (4), C_o e C_e (g/L) são as concentrações inicial e de equilíbrio do adsorbato, respectivamente. V o volume da solução (L) e m a massa do adsorvente (g). Esta equação também foi utilizada para representar os dados da cinética de adsorção. Os ajustes aos dados experimentais das isotermas obtidas foram feitos a partir dos modelos de Langmuir (Eq. 1), Freundlich (Eq. 2), e Redlich-Peterson (Eq. 3). Para estes ajustes foi utilizado o software Origin 8.0.

Para encontrar os melhores modelos de isoterma que representam os dados experimentais foi utilizado o critério de Informação de Akaike corrigido (AICc), que tem sido comumente adotado para a escolha de modelos de isoterma de adsorção (Andrade *et al.*, 2018; Maia *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2019). Foi utilizado o AICc ao invés do AIC puro devido ao pequeno tamanho de amostras utilizadas ($N/p < 40$) (Bonate, 2011). O AICc está representado pela Equação 5, em que o menor valor obtido entre diferentes modelos de um mesmo conjunto de dados experimentais corresponde ao melhor que pode ser utilizado para descrevê-los.

$$AICc = N \cdot \ln \left(\sum_{i=1}^N \frac{(Y_i - \hat{Y}_i)^2}{N} \right) + 2p + \frac{2p(p+1)}{N-p-1} \quad (5)$$

N é o número de observações experimentais, Y_i é o valor observado, \hat{Y}_i é o valor predito, p é o número total de parâmetros estimados pelo modelo + 1.

4.5.3 Adsorção em batelada com a fração líquida do pré-tratamento

Além das amostras sintéticas, foram realizados testes de adsorção com a amostra líquida proveniente do pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar. O bagaço a 10% de umidade foi moído e partículas entre 1 e 2 mm foram utilizadas no pré-tratamento. O bagaço foi pré-tratado com água quente (LHW) na proporção de 1:10 (m/v), nas condições de 195 °C por 10 minutos (Silva *et al.*, 2011) em reator

PARR, volume 5,5 L, no laboratório de desenvolvimento e automação de bioprocessos (Ladabio 1) DEQ-UFSCar. Depois de realizado o pré-tratamento do bagaço, a amostra líquida (licor) foi separada da amostra sólida por filtração à vácuo e mantida em congelador (-18 °C) para posteriores ensaios. Foram realizados vários pré-tratamentos de acordo com a necessidade dos experimentos. Foram feitos testes de adsorção com a fração líquida nas condições de 30 e 50 °C, pH original do licor e pH 5, com 5% (m/V) de adsorvente em rotações de 30 rpm por 24h, para a escolha das melhores condições de aplicação do adsorvente. Estes testes de adsorção também foram feitos com carvão ativado comercial. Após as adsorções, as amostras foram centrifugadas por 5 minutos em 12000 rpm a 4°C. O sobrenadante foi separado da fração sólida para a posterior leitura da concentração de fenólicos ao final do processo.

4.5.4 Determinação dos compostos fenólicos

A leitura das concentrações das amostras sintéticas, quando monocomponente no sobrenadante, foram medidas por relações lineares de Beer-Lambert. Os comprimentos de onda correspondentes foram verificados em espectrofotômetro UV visível Shimadzu, modelo UV-1600 para a determinação dos picos de absorbância e posteriormente a construção das curvas de calibração. Para a vanilina foram obtidos mais de uma banda de absorbância, então estes foram testados e o comprimento de onda que melhor representou uma concentração conhecida foi escolhido para as leituras. Os comprimentos de onda utilizados foram de 232 nm e 279 nm para a vanilina e o ácido tânico, respectivamente. As figuras das absorbâncias obtidas para os fenólicos sintéticos estão mostradas no apêndice A.

A leitura de compostos fenólicos totais foi necessária para as amostras multicomponentes no sobrenadante (licor proveniente do bagaço pré-tratado). As concentrações foram determinadas por Folin-Ciocateau usando o ácido gálico como padrão. Em cubetas apropriadas, colocou-se na seguinte ordem: 20 µL de amostra + 1,58 mL de água destilada + 100 µL de Folin-Ciocateau, esperou-se 3 minutos e em seguida acrescentou-se 300 µL de solução de carbonato de sódio anidro (20%) e esperou-se 25 minutos para realizar as leituras. As absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro Genesis 10 UV Scanning a 765 nm. O conteúdo de fenólicos totais

no licor foi expresso em g ácido gálico equivalentes por L de solução (g AGE/L) (Xu e Chang, 2009).

4.6 Ensaio de hidrólise enzimática

Neste trabalho, primeiramente avaliou-se a inibição da Cellic CTec2 (231 FPU/mL and 85 mg protein/mL; Novozymes Latin America (Araucaria, Brazil)) por fenólicos sintéticos através da hidrólise da celulose comercial (Celuflok 200, São Paulo, Brazil). Em seguida, foi realizada a redução na concentração de compostos fenólicos gerados do pré-tratamento do bagaço-de-cana hidrotérmico para melhorar a eficiência da hidrólise enzimática do bagaço.

4.6.1 Testes de hidrólise da celuflok

Os testes de hidrólise da celuflok foram realizados na presença de fenólicos sintéticos individuais (vanilina, 4-hidroxibenzaldeído, catecol e os ácidos tânico, ferúlico, 4-hidroxibenzóico e p-coumárico) para 1 e 3 g/L e dos furaldeídos HMF e furfural em 1 e 3 g/L, respectivamente. Para um estudo de inibição, compostos fenólicos foram avaliados em coquetéis preparados com as concentrações de monoméricos a partir de proporções encontradas na literatura sobre o bagaço hidrotérmico (Pinto *et al.*, 2018; Martín *et al.*, 2002). Os coquetéis foram preparados variando a concentração de ácido tânico (0,5; 1; 1,5; 2 g/L) em relação aos monoméricos com concentrações fixadas e também foi avaliado individualmente a fim de encontrar algum efeito sinérgico destes compostos na hidrólise. As concentrações utilizadas nos coquetéis estão dispostas na Tabela 3. Os coquetéis foram denominados C0; C0,5; C1,0; C1,5; e C2,0, conforme a concentração de ácido tânico utilizada.

Foram feitos testes de hidrólise adicionando HMF (1 g/L) e furfural (3 g/L) no coquetel C1,0, sendo chamado de C1,0HF. Após o estudo de inibição, foram realizados testes de hidrólise com o coquetel C1,0HF tratado pela fuligem B ativada eo carvão ativado de casca de coco. O coquetel C1,0HF foi escolhido porque tem a concentração de fenólicos totais próxima da concentração liberada em licores do pré-tratamento hidrotérmico da biomassa (Ximenes *et al.*, 2010). Este coquetel foi tratado

com cargas de 0,5, 1 e 2% de fuligem B ativada e 1, 2 e 3% do carvão ativado de casca de coco, sendo em seguida utilizado para a hidrólise enzimática da celuflok.

Tabela 3 – Concentração de fenólicos utilizados nos coquetéis.

Composto	Concentração (g/L)
Catecol	0,035
4-hidróxibenzaldeído	0,220
Acido 4-hidroxibenzóico	0,022
Vanilina	0,100
Ácido p-coumárico	1,000
Ácido ferúlico	0,400
Acido tânico	0,0 (C0) 0,50 (C0,5); 1,00 (C1,0); 1,50 (C1,5); 2,00 (C2,0)

4.6.2 Testes de hidrólise do bagaço hidrotérmico aplicando a fuligem A

Após o bagaço-de-cana ser pré-tratado com água quente à 195 °C por 10 min (Silva *et al.*, 2011), este foi seco em estufa à 50 °C até chegar à umidade final de 7-10%. Após este procedimento, o bagaço foi moído em moinho de facas, e em seguida, foi peneirado em peneira de 0,5 mm. Partículas menores que 0,5 mm foram utilizadas na hidrólise.

O processo de hidrólise enzimática do bagaço hidrotérmico foi realizado de duas maneiras: (1) incluindo a fuligem no processo de hidrólise para a redução dos inibidores na mesma batelada, no qual as condições foram: 10% de substrato (m/v), 5 % de fuligem (m/v), carga enzimática de 3 FPU de Cellic CTec2/g de substrato (Novozymes, Brasil), com o pH do licor justado para 5; (2) e a hidrólise enzimática utilizando o licor previamente tratado pela fuligem, no qual a adsorção dos fenólicos do licor foi realizada a 30 °C, no pH original do licor (pH 3,3) e 30 rpm com 5% (m/v) de adsorvente e em seguida a hidrólise enzimática utilizando o licor tratado e pH ajustado para 5 nas mesmas condições (10% de substrato e 3 FPU de enzima/g de substrato). Os testes foram realizados em tubos de 5 mL, com volume de líquido de 2 mL, nas condições de 50 °C e 30 rpm por 24h em estufa da marca Ethik Technology.

4.6.3 Testes de hidrólise do bagaço hidrotérmico aplicando a fuligem B ativada e o carvão ativado de casca de coco

O processo de pré-tratamento do bagaço foi análogo ao do item 4.4.2. Os testes da hidrólise enzimática foram realizados para o licor previamente tratado por adsorção dos fenólicos totais do licor. Para a escolha da carga de adsorvente foi realizada a adsorção variando a carga de adsorvente de 0,5 à 5% de adsorvente, em 30 °C, pH do licor (3,3), 30 rpm por 24 h. Foram determinadas as concentrações de compostos fenólicos totais e açúcares redutores totais no sobrenadante. Com base nos resultados de adsorção, as cargas de fuligem ou de carvão ativado de casca de coco utilizadas para tratar o licor antes da hidrólise foram testadas de acordo com as porcentagens de remoção obtidas. A hidrólise enzimática do bagaço foi realizada utilizando o licor tratado e pH ajustado para 5 nas condições (10% de substrato e 3 FPU de enzima/g de substrato). Os testes foram realizados em tubos de 5 mL, com volume de líquido de 2 mL, nas condições de 50 °C e 30 rpm por 24 h em estufa da marca Ethik Technology.

4.6.4 Testes de fermentação alcoólica

Foram feitos testes de fermentação do hidrolisado de celuflok e na presença do licor do pré-tratamento do bagaço-de-cana. Os hidrolisados de celuflok foram realizados na presença do coquetel C1,0HF tratado com 2% de fuligem B ativada e foram obtidos utilizando 6 FPU/g de Cellic Ctec2, usando as mesmas condições descritas anteriormente (tampão citrato de sódio 50 mM, pH 5, 50 °C, 24 h). Após hidrólise, o pH dos hidrolisados foi ajustado para 4,6 por adição de HCl (1M). Para os licores, utilizaram-se 3% de fuligem B ativada e 2% de carvão ativado de casca de coco. Nestes licores tratados foram dissolvidos 14 g/L de glicose e o pH dos licores foram ajustados para 4,6 como descrito anteriormente.

As fermentações foram realizadas adicionando a seguinte composição do meio de cultura (g/L): KH_2PO_4 (5,6), $\text{MgSO}_4\text{H}_2\text{O}$ (1,4), ureia (5,32), extrato de levedura (6,8) e *Saccharomyces cerevisiae* liofilizada comercial (15) (Sonego *et al.*, 2014). Para o licor foi utilizada a concentração de 2 g/L de levedura. As fermentações foram realizadas em frasco de enlermayer de 250 ml a 34 °C por 8 h. Os experimentos

foram realizados em duplicata. Considerando apenas etanol no meio, a eficiência de fermentação (E) foi definida pela Equação 6.

$$E = \frac{C_{et}}{0.511.C_g} \cdot 100 \quad (6)$$

C_{et} é a concentração de etanol (MM = 46 g/mol), C_g é a concentração inicial de glicose (MM = 180 g/mol) e 0,511 é o fator de rendimento de etanol estequiométrico obtido pela reação: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$.

4.6.5 Determinação de glicose

A concentração de glicose foi determinada por meio de uma reação enzimática GOD-POD, utilizando um kit de determinação de glicose Liquiform da marca Labtest. Em tubos de ensaio foram colocadas 10 µL de amostra + 1 mL do reagente, esta mistura foi colocada em banho a 37 °C por 10 minutos. O mesmo procedimento foi feito para o padrão de glicose, no qual a concentração de glicose foi calculada utilizando as equações 7 e 8:

$$\text{Glicose} = \text{ABS teste} \cdot \text{fator de calibração} \quad (7)$$

$$\text{Fator de calibração} = \frac{100}{\text{ABS padrão}} \quad (8)$$

As leituras foram feitas em cubetas de 1 mL em espectrofotômetro Genesis 10 UV Scanning a 505 nm e a concentração de glicose é dada em mg/dL.

4.6.6 Determinação de açúcares redutores totais (ART)

Os açúcares redutores foram medidos em microplacas usando metodologia adaptada de Miller (1959). Foram colocados em cada poço da microplaca de fundo cônico: 100 µL de amostra + 100 µL de DNS. As microplacas foram colocadas em termomixer da Eppendorf para aquecimento por 5 minutos em 100 °C e 300 rpm. Em seguida, foram colocadas na geladeira para o resfriamento por 10

minutos. As amostras foram transferidas para a microplaca de fundo arredondado e as absorvâncias foram medidas em 540 nm.

4.6.7 Determinação de HMF, furfural e etanol no HPLC

HMF, furfural e etanol foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Varian Prostar). Para remover as partículas suspensas, as amostras foram filtradas usando filtros de membrana PTFE (0,45 µm). O procedimento usado para medir HMF e furfural seguiu o procedimento descrito por Pinto *et al.*, (2018), usando uma coluna C18 (Microsorb-MV 100, 250 × 4,6 mm, 5 µm de tamanho de partícula) juntamente com um detector UV-Vis 274 nm e a ~20 °C. As concentrações de etanol e glicose após a fermentação foram determinadas de acordo com o método descrito por Gouveia *et al.*, (2009), usando um detector de índice de refração e uma coluna Varian Metacarb 87P (30 x 7,8 mm).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

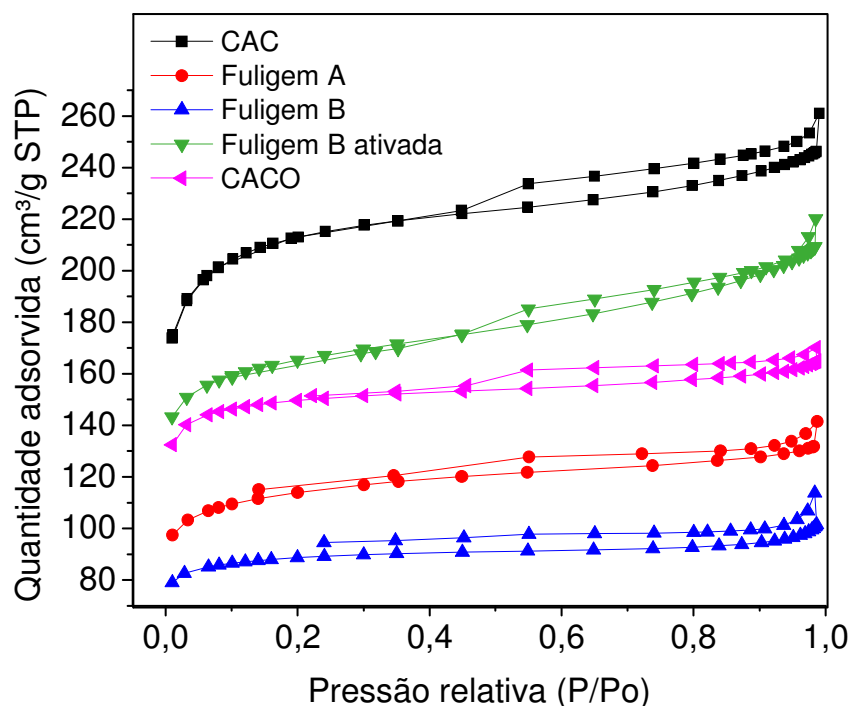
5.1 Caracterização dos adsorventes

Neste trabalho foram avaliados dois tipos de materiais provenientes de resíduos agroindustriais: a fuligem do bagaço de cana-de-açúcar e o carvão ativado de casca de coco. Em relação à fuligem, dois materiais provenientes de diferentes usinas foram avaliados, denominados aqui como Fuligem A e Fuligem B. Além disso, o efeito do processo de ativação física foi avaliado para a fuligem B, sendo este adsorvente denominado Fuligem B ativada. Os resultados da caracterização destes adsorventes foram comparados aos obtidos para o carvão ativado comercial (CAC).

5.1.1 Estrutura dos poros

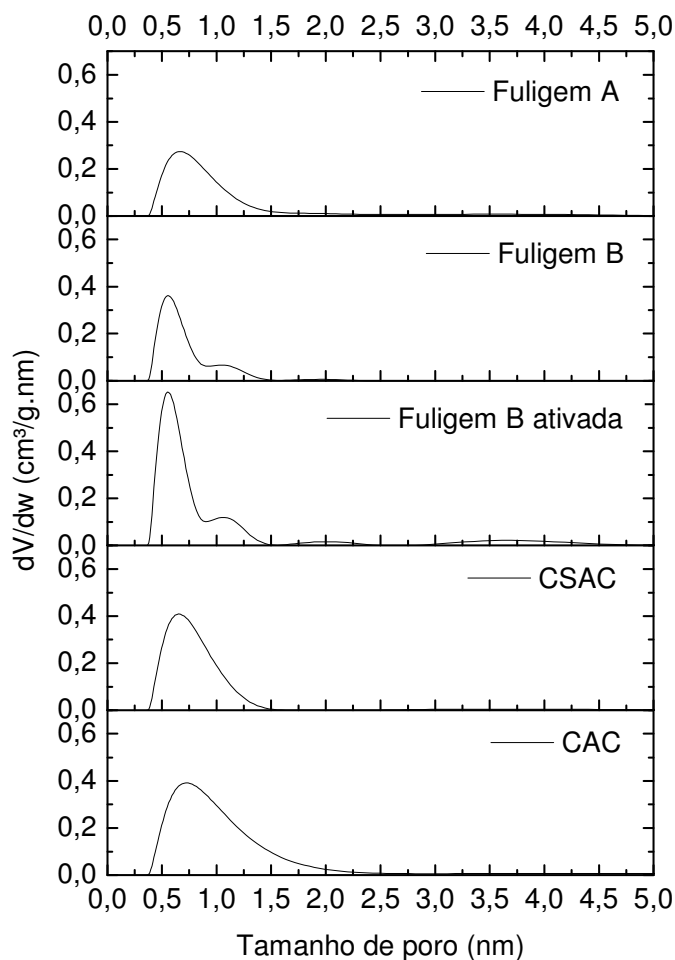
A Figura 7 mostra a isoterma de adsorção/dessorção de N_2 . Os gráficos originais das isotermas obtidos pelo software do SAIEUS (Micrometrics, USA) estão apresentados no Apêndice B. Os dados mostram que há a formação da histerese à alta pressão relativa P/P_0 , indicando que há presença de mesoporos na superfície dos adsorventes. Entre as fuligens de diferentes usinas, a fuligem A apresentou maior volume preenchido do que a fuligem B. Em relação ao efeito do processo de ativação, a fuligem B, como esperado, teve o volume de N_2 preenchido aumentado após a ativação, atingindo os valores mais próximos aos do carvão ativado comercial (CAC). O carvão ativado de casca de coco (CACO) apresentou menores volumes em relação ao carvão ativado comercial e a fuligem B ativada.

Todas as isotermas apresentaram a forma de adsorção/dessorção similar à do carvão ativado comercial. De acordo com Bansal e Goyal (2005), as isotermas de materiais que apresentam mesoporosidade bem desenvolvida, apresentam comportamentos em que a histerese termina à pressão de vapor relativa de 0,4, ou seja, quando um dos pontos da dessorção coincide com um dos pontos da adsorção na pressão de vapor relativa por volta de 0,4, como mostram as isotermas de adsorção/dessorção.

Figura 7 – Isoterma de adsorção/dessorção de N₂.

A Figura 8 mostra a distribuição de poros dos adsorventes obtidas pelo método DFT comparados ao carvão ativado comercial. As distribuições de poros obtidas pelo método BJH estão dispostas no apêndice C. De acordo com a IUPAC (1985), as dimensões dos microporos são até 2 nm, dos mesoporos entre 2 e 50 nm e de macroporos são maiores que 50 nm. A principal constituição dos adsorventes é de microporos (de 0 a 2 nm de tamanho) para todos os materiais. Os dados mostram que os adsorventes mostraram predominância de poros entre 0,5 e 1,5 nm, com diferentes volumes de poros. Após a ativação da fuligem B, o volume de microporos (mostrado na Tabela 4) foi aumentado em 72%. Na distribuição de poros não é possível visualizar a distribuição de poros maiores que 2 nm. Estas distribuições foram obtidas pelo método BJH e estão mostradas no Apêndice C. Para as fuligens, por exemplo, nas Figuras 51 e 52 (Apêndice C), a distribuição de poros obtida pelo método BJH mostra claramente o aumento do volume mesoporos. Por exemplo, para poros de 10 nm o volume de poros foi aumentado aproximadamente 6 vezes após a fuligem B ser ativada.

Figura 8 – Distribuição de poros diferencial dos adsorventes obtida pelo método DFT.



Na Tabela 4 estão apresentados os resultados da caracterização da estrutura das fuligens e do carvão ativado de casca de coco (CACO) comparado ao do carvão ativado comercial (CAC). Os valores das relações (S_{mic}/S_{BET} , V_{mic}/V_T , V_{ext}/V_T ; %) das propriedades micro e mesoporosas estão sobrescritos aos respectivos valores.

A fuligem A apresentou área de 431 m²/g e a porcentagem de volume de mesoporos foi significativa em relação ao CAC, indicando que este adsorvente tem capacidade para adsorção de moléculas maiores, como o ácido tânico (com diâmetro cinético de 1,6 nm), por exemplo.

A fuligem B apresentou baixa área de superfície e as suas propriedades foram inferiores às da fuligem A. Isto que pode estar relacionado às diferenças nos tipos de cana e/ou os tipos de caldeira utilizados para sua carbonização. O desenvolvimento de poros das fuligens foi menos intenso que do carvão ativado

comercial. Isso pode ser explicado pelo fato do carvão ativado ser geralmente preparado em duas etapas: a carbonização do material em atmosfera inerte, seguida de um processo de ativação do produto carbonizado. Já as fuligens foram produzidas a partir da queima do bagaço, envolvendo apenas o processo de carbonização do material.

Tabela 4 – Propriedades estruturais dos poros dos adsorventes.

Propriedade	Fuligem A	Fuligem B	Fuligem B ativada	CACO	CAC
Área de superfície BET (m ² /g) (S _{BET})	431	311	576	574	794
Área de microporo (m ² /g) (S _{mic})	325 ⁷⁶	259 ⁸³	438 ⁷⁶	493 ⁸⁶	678 ⁸⁵
Volume total de poro (cm ³ /g) (V _T)	0,20	0,15	0,32	0,25	0,35
Volume de microporo (cm ³ /g) (V _{mic})	0,13 ⁶⁵	0,11 ⁷³	0,19 ⁵⁹	0,20 ⁸⁰	0,27 ⁷⁷
Volume de mesoporos (cm ³ /g) (V _{mes})	0,07 ³⁵	0,04 ²⁷	0,13 ⁴¹	0,05 ²⁰	0,08 ²³
Diâmetro médio de poro (nm)	1,89	1,99	2,22	1,77	1,80

Para melhorar a área superficial da fuligem B, a ativação física em 800 °C por 2 h com CO₂ foi realizada e após este processo, os valores das propriedades estruturais como volume total e volume de microporo praticamente dobraram. Como esperado, o percentual de microporosidade da fuligem B após a ativação foi reduzido, visto que as reações do carbono e CO₂ ($C + CO_2 \rightarrow 2CO$) desbloqueiam os poros, promovendo a sua expansão (Dąbrowski *et al.*, 2005). Este comportamento é confirmado pelo aumento do diâmetro de poro de 12% e do aumento do volume de mesoporos. A presença de mesoporos é importante para facilitar a difusão das moléculas para o interior dos microporos e aumentar a cobertura da superfície microporosa (Hsieh e Teng, 2000). Logo, a estrutura de poros das fuligens indica que há uma boa disponibilidade para adsorção de moléculas volumosas (como o ácido

tânico). Comparada ao carvão ativado comercial, a proporção de área microporosa da fuligem B ativada foi inferior.

O carvão ativado de casca de coco apresenta microporosidade significativa, e o seu volume de mesoporos é mais baixo em comparação com os outros adsorventes preparados aqui, sendo o mais próximo da fuligem B como recebida. A área BET do carvão ativado de casca de coco foi semelhante ao da fuligem B ativada estão sobrescritos. Comparado ao CAC, obteve área superficial inferior, mas com proporções microporosas e mesoporosas semelhantes.

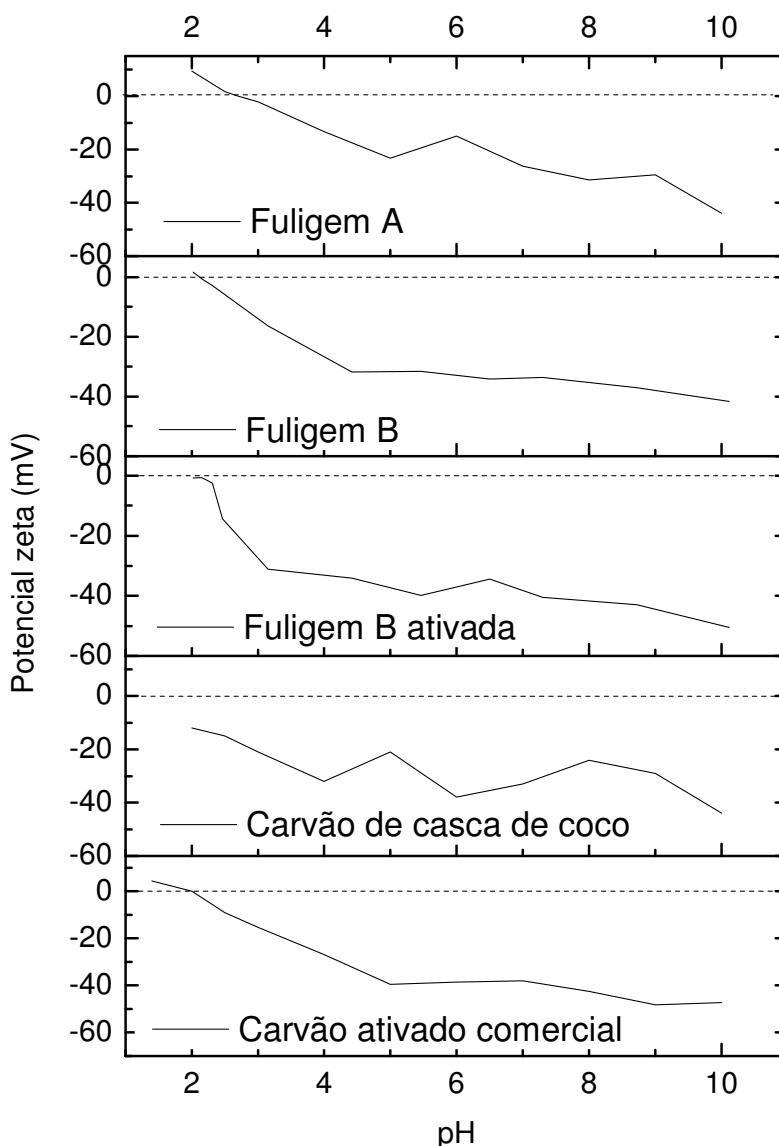
No geral, valores da área BET dos adsorventes foram inferiores aos do carvão ativado comercial, assim como as propriedades microporosas (área de microporo e volume de microporo).

Resultados semelhantes de área superficial e volume total de poro da fuligem A foram encontrados no trabalho de Juang *et al.* (2002) para o bagaço-de-cana carbonizado a 750 °C por 2 h (80,6% burn-off). Os autores obtiveram uma área superficial de 446 m²/g e volume de poros de 0,28 cm³/g. As áreas superficiais de fuligens podem variar bastante de acordo com o tipo de cana e o tipo de caldeira utilizada, como discutido anteriormente. Por exemplo, Lado *et al.*, (2016) encontrou uma área superficial de 240 m²/g para a fuligem como recebida de uma usina de açúcar e etanol da região de Ribeirão Preto (SP). Esta área foi aumentada para 491 m²/g com tratamento térmico sob fluxo de N₂ em 800 °C por 1 h. Logo, utilizar a fuligem como recebida nem sempre será viável, sendo necessário realizar algum tratamento para melhorar as suas propriedades estruturais. Efeitos semelhantes ao encontrado neste trabalho para a fuligem B ativada foram encontrados para Lado *et al.*, (2017) ativando a fuligem usando KOH. Para o carvão ativado de coco, área semelhante (próxima de 600 m²/g) quando o carvão de coco foi ativado com CO₂ por 2 h (Yoshizawa *et al.*, 2000).

5.1.2 Potencial zeta

A Figura 9 mostra os potenciais zeta das fuligens e do carvão ativado de casca de coco comparados ao do carvão ativado comercial (CAC).

Figura 9 – Potencial zeta dos adsorventes.



Os resultados mostram que a carga é zero (pH_{pcz}) aproximadamente nos pHs 2,7 para a fuligem A, 2,0 para a fuligem B, B ativada e o CAC. O carvão ativado de casca de coco foi negativo em toda a faixa de pH avaliada. Comparando os pontos de carga zero dos adsorventes, verifica-se a fuligem A possui uma superfície levemente menos ácida que os outros adsorventes. Logo, sugere-se que a superfície da fuligem B e B ativada, do carvão ativado de casca de coco e do CAC são bastante similares no que se refere às atrações eletrostáticas entre as superfícies destes adsorventes e os compostos fenólicos.

Abaixo do pH_{pcz} (pH em carga zero), o adsorvente está carregado positivamente e a adsorção de ânions é favorecida e acima, o adsorvente está

carregado negativamente e a adsorção de cátions é favorecida (Vieira *et al.*, 2009). Visto que os compostos fenólicos são naturalmente ácidos fracos, é esperado que a afinidade da superfície do adsorvente para pHs acima do pH_{pcz} decresça, pois estes compostos tendem a desprotonar com o aumento do pH. Assim, a concentração de íons OH^- na solução tende a aumentar devido a desprotonação dos ácidos fracos, causando repulsão entre a superfície do adsorvente e as moléculas de soluto.

5.1.3 Grupos funcionais da superfície dos adsorventes

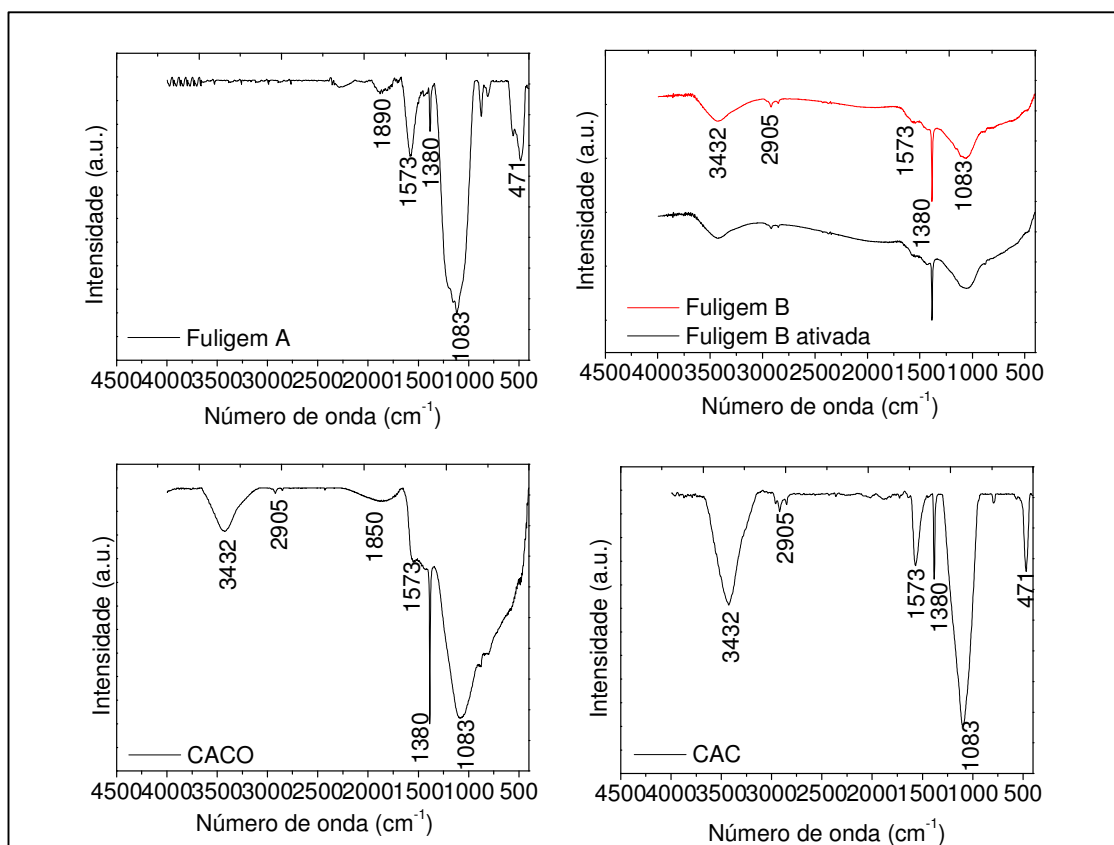
A Figura 10 mostra o espectro de infravermelho com transformada de Fourier das fuligens e do carvão ativado de casca de coco (CACO) comparados ao carvão ativado comercial (CAC). Os possíveis grupos funcionais das bandas correspondentes estão listados na Tabela 5. O espectro de infravermelho de todos os adsorventes é característico de materiais carbonáceos, como sugerem os trabalhos que foram usados como referências de bandas semelhantes. De acordo com Dabrowski *et al.* (2005) e László (2005), a origem dos grupos funcionais é influenciada pela origem do material, pelo processo de ativação ou o tipo de tratamento.

Todos os adsorventes apresentaram a maioria das bandas semelhantes ao do carvão ativado comercial, sendo que não foram encontradas bandas em 2905 cm^{-1} e 3432 cm^{-1} para a fuligem A. Essas bandas (2905 e 3432 cm^{-1}) são caracterizadas por vibrações de estiramento de grupos alifáticos CH_2 e grupos hidroxílicos O-H, respectivamente (Biniak *et al.*, 1997). Nota-se que entre as fuligens A e B houve pequena alteração na intensidade das bandas e tipo dos grupos funcionais. Como mencionado também no item de estrutura dos poros, isto pode estar relacionado ao tipo de bagaço carbonizado. Após a ativação da fuligem B, como esperado, não houve alteração dos grupos funcionais, visto que foi realizada apenas uma ativação física. Os espectros das fuligens mostram que as bandas mais relevantes foram características de grupos ácidos, assim como do carvão ativado de casca de coco (Figura 10).

O oxigênio contido nos grupos da superfície dos materiais adsorventes como carboxílicos, lactonas, fenóis, carbonilas, éter ou quinonas determinam a acidez ou basicidade da superfície do carvão e influenciam as suas propriedades, dependendo do pH da solução aquosa (László, 2005). A fuligem A foi o único adsorvente que não apresentou a banda de 3432 cm^{-1} . Se levar em conta que as

quantidades dos grupos ácidos podem estar relacionadas com o grau de acidez dos adsorventes, pode-se sugerir que a fuligem A tenha uma superfície menos ácida comparada aos demais adsorventes. Desta forma, esses resultados estão de acordo com o potencial zeta mostrado anteriormente (Figura 9), que mostra que a fuligem B e B ativada, o CACO e o CAC são levemente mais ácidos.

Figura 10 - FTIR dos adsorventes.



Foi relatado que a presença de grupos básicos é desejável para a adsorção de compostos fenólicos (László *et al.*, 1997; Ania *et al.*, 2002; László *et al.*, 2003; Terzyc, 2003; Villacañas *et al.*, 2006). Os adsorventes apresentaram apenas a banda em 1573 cm⁻¹ correspondente aos grupos básicos como dicetonas e quinonas. Portanto, considerando as atrações eletrostáticas, sugere-se que os compostos fenólicos sejam mais atraídos à fuligem A, visto que ela possui menor quantidade de grupos ácidos comparada aos outros adsorventes.

Tabela 5 – Grupos funcionais correspondentes às bandas obtidas no FTIR dos adsorventes.

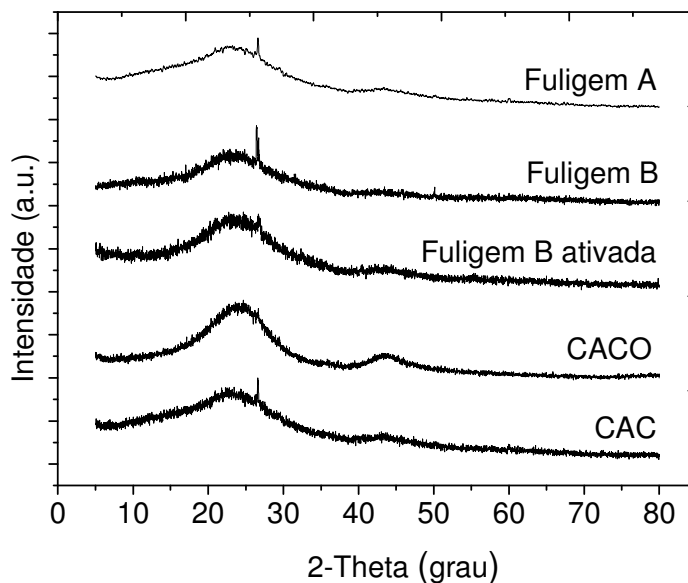
Número de onda (cm⁻¹)	Grupos funcionais	Referências
471	Espécies alifáticas (C-H)	(Ishizaki e I., 1981; Biniak <i>et al.</i> , 1997)
1083	Vibrações CO e OH de estruturas fenólicas	(Ishizaki e I., 1981; Biniak <i>et al.</i> , 1997) (Li <i>et al.</i> , 2011)
1380	Grupos carboxílicos	
1573; 1890	Vibrações de C=O em porções de i) carboxílicos, ester, lactonas; ii) quinonas e/ou estruturas íons-radicaís e iii) sistemas conjugados como estruturas dicetonas, cetoester e ceto-enol	(Biniak <i>et al.</i> , 1997) (Ishizaki e I., 1981; Biniak <i>et al.</i> , 1997)
2905	Vibrações de estiramento de grupos alifáticos (CH ₂)	(Biniak <i>et al.</i> , 1997)
3432	Grupos hidroxílicos (O-H)	(Biniak <i>et al.</i> , 1997)

Grupos semelhantes aos obtidos para a fuligem foram encontrados por Lado *et al.*, (2016). Kurniawan *et al.* (2010) e Singh *et al.* (2008) utilizaram o carvão ativado de casca de coco para a adsorção de fenóis. Bandas semelhantes para o carvão ativado de casca de coco avaliado aqui foram encontradas nos trabalhos desses autores.

5.1.4 Estrutura dos adsorventes

Os difratogramas de raios X das fuligens e do carvão ativado de casca de coco comparados ao do carvão ativado comercial (CAC) estão mostrados na Figura 11.

Figura 11 – DRX dos adsorventes.



A região que se refere ao amplo pico (de 15° a 30°) significa que a estrutura dos adsorventes é de material microcristalino desordenado, juntamente com pequenas quantidades de sílica e/ou alumina amorfa (Purnomo *et al.*, 2011). A formação de estruturas cristalinas em carvões ativados não é comum e apesar de possuírem de 2 a 4 camadas micro-grafíticas, não são normalmente ordenadas em tamanho ou orientação (Valix *et al.*, 2008; Adinaveen *et al.*, 2013). O maior pico dos difratogramas foi obtido em 26°, que revela a presença de quartzo na superfície do adsorvente (Lanning *et al.*, 1958), com menor intensidade para o carvão ativado de casca de coco e para a fuligem B ativada. Os dados obtidos neste trabalho apresentaram comportamentos semelhantes aos resultados da difração de raios X de carvão de bagaço de cana-de-açúcar reportados por Valix *et al.* (2008), Purnomo *et al.* (2011) e Adinaveen *et al.* (2013) e carvão ativado de pneu (Makrigianni *et al.*, 2015).

5.2 Estudo de adsorção dos compostos fenólicos sintéticos

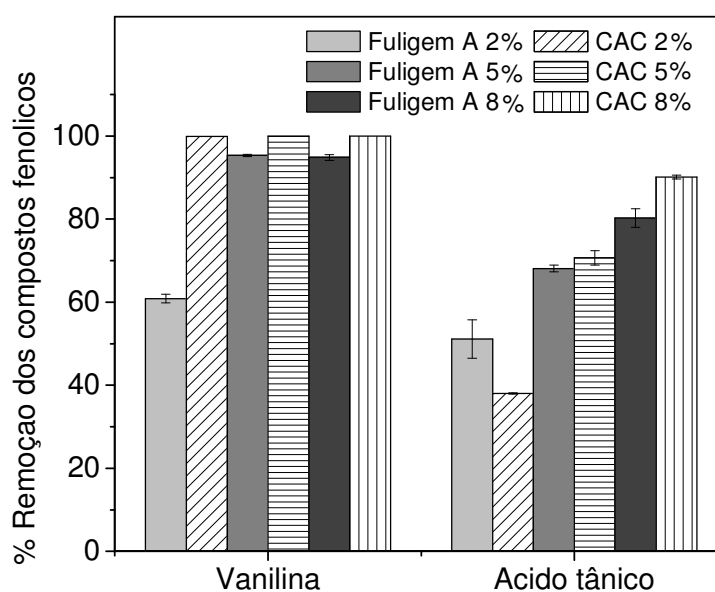
Foi realizado um estudo de adsorção de soluções sintéticas de dois compostos fenólicos representantes da degradação da lignina, sendo um monômero (vanilina) e o outro um oligômero (ácido tânico), a fim de ter um indicativo do comportamento da adsorção destes dois compostos. A vanilina (monômero) e o ácido tânico (oligômero) estão entre os inibidores de enzimas celulolíticas (Ximenes *et al.*,

2011; Malgas *et al.*, 2016; Qin *et al.*, 2016). Primeiramente foram feitos testes preliminares variando a carga de fuligem A. A concentração inicial utilizada nos testes preliminares dos compostos sintéticos foi de 3 g/L, que está na faixa de concentração média encontrada dos compostos fenólicos totais do licor do pré-tratamento hidrotérmico de diferentes biomassas (Ximenes *et al.*, 2011). O estudo do pH, da temperatura e cinética de adsorção também foram realizados nesta concentração. Em seguida foi realizado o estudo da isoterma e da cinética de adsorção.

5.2.1 Testes preliminares para a escolha da carga de adsorvente utilizada no estudo de adsorção

Primeiramente, foram feitos testes preliminares variando a carga de fuligem A utilizando 2, 5 e 8% (m/v). A Figura 12 mostra a influência da carga de adsorvente na adsorção de vanilina e ácido tânico, nas concentrações iniciais de 3 g/L em tampão pH 5, 30 °C, por 24 h. A fim de comparar a capacidade da fuligem em relação a um adsorvente comercial, também fizeram-se testes com o carvão ativado.

Figura 12 - Remoção dos compostos em relação ao teor de fuligem A em pH 5, 30 °C e 30 rpm.



Os resultados mostram que para a adsorção de vanilina, entre as cargas testadas, 5% de fuligem A foi suficiente para a remoção quase completa e para 2%

de adsorvente, a remoção foi razoável, de 60%. Para o ácido tânico as porcentagens de remoção foram menores comparadas à da vanilina e a remoção máxima foi de 80% para 8% da fuligem A. Diferente da fuligem, o carvão ativado comercial (CAC) removeu completamente a vanilina para todas as cargas testadas. Já para o ácido tânico, a diferença entre os adsorventes foi pequena.

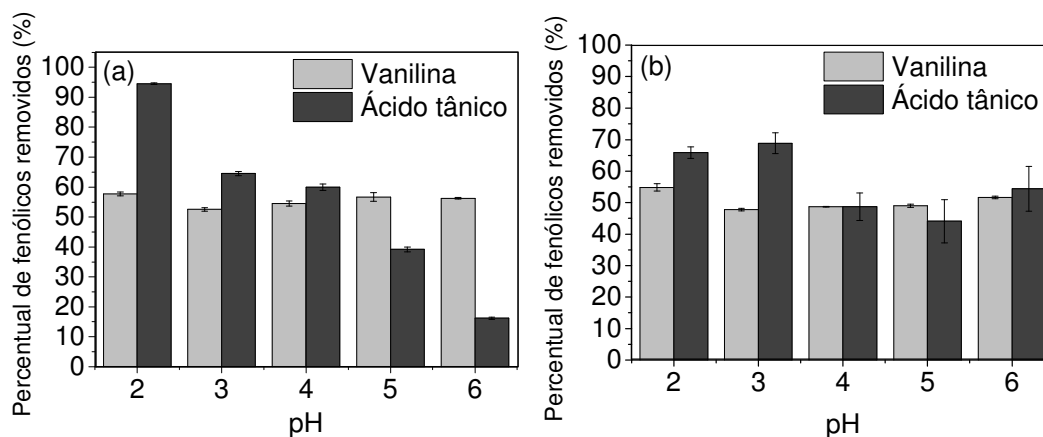
O carvão ativado de casca de coco também foi avaliado neste trabalho. Visto que a área superficial deste adsorvente foi superior comparada à da fuligem A, foi testada uma carga menor, de 1% na adsorção, para as mesmas condições anteriores. As remoções encontradas foram de 49% de vanilina e 40% de ácido tânico. Assim foi determinado que as cargas utilizadas no estudo seguinte de pH e temperatura de adsorção foram de 2% para a fuligem A e de 1% para o carvão ativado de casca de coco.

5.2.2 Avaliação do efeito do pH na adsorção

A Figura 13 mostra a influência do pH na adsorção de vanilina e ácido tânico na fuligem A e no carvão ativado de casca de coco, utilizando 2 e 1% (m/v) de adsorvente, respectivamente, na temperatura de 30 °C e 30 rpm depois de 24 h. Nota-se que a adsorção de vanilina (Figura 5a) foi pouco afetada pelo pH para os dois adsorventes, mantendo o mesmo perfil de adsorção para a faixa de pH estudada. Para o ácido tânico (Figura 5b) houve uma redução significativa da adsorção quando se aumentou o pH de 2 ao 6 para a fuligem A, no qual, em pH 2, a adsorção foi a mais eficiente (95%) e em pH 6 a remoção foi de apenas 16%. No entanto, para o carvão ativado de casca de coco a queda na adsorção foi menos relevante, com remoções aproximadas de 66% para os pHs 2 e 3.

O ácido tânico está em sua forma molecular em $\text{pH} \leq 4,5$, acima desse valor as moléculas começam a ionizar e em pH 7 estão completamente ionizadas, sendo que em pH 6 o grau de dissociação do ácido tânico é de 93% (An e Dultz, 2007). Como mostrado anteriormente no potencial zeta (Figura 9), a superfície da fuligem A tende a ser negativa em soluções de pH acima de 2,7 e o carvão ativado de casca de coco é totalmente negativo na faixa pHs avaliados (2 ao 10). Portanto, a adsorção do ácido tânico nestes adsorventes, até o pH 6, pode ter sido prejudicada pela dissociação das moléculas na solução, causando a sua repulsão com a superfície dos adsorventes que estariam sendo desprotonados para os pHs acima do pH_{pcz} .

Figura 13 – Efeito do pH na adsorção dos compostos fenólicos em fuligem A (a) e carvão ativado de casca de coco (b) para 2 e 1% (m/v) de adsorvente, respectivamente, 30 °C e 30 rpm.



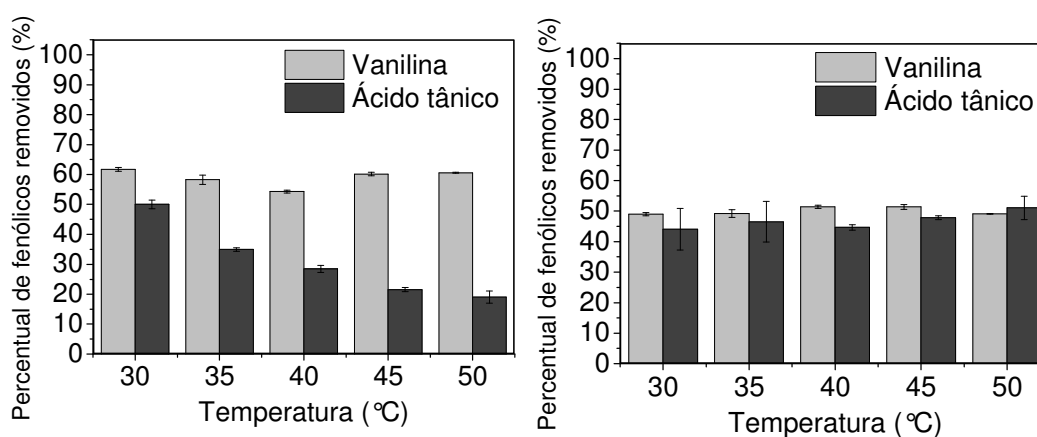
Resultados semelhantes foram observados por Xiao *et al.* (2012) na adsorção de vanilina em resina modificada por grupos acetamino e hidroxilas. Os autores testaram pHs de 0 à 14 e verificaram que até o pH 5,31 não foi observada alteração na capacidade de adsorção de vanilina. A proporção do estado molecular da vanilina se manteve inalterada até o pH 5,31 (indicando que não houve desprotonação das moléculas até este ponto). Acima de 5,31 a capacidade de adsorção caiu bruscamente, não havendo adsorção para pHs acima de 10. Singh e Kushwaha (2013) observaram que na adsorção de ácido tânico em carvão ativado comercial de coco para diferentes pHs (2 ao 10), as mais altas eficiências de remoção foram encontradas para os pHs 2 e 3, e para pHs maiores que 3 ocorreu a redução da adsorção, como ocorrido neste trabalho. Os autores afirmaram que o processo de adsorção é prejudicado pela presença de íons OH^- na solução em valores altos de pH.

5.2.3 Avaliação do efeito da temperatura na adsorção

A Figura 14 mostra os resultados da adsorção de vanilina e ácido tânico na fuligem A e em carvão ativado de casca de coco. A adsorção ocorreu com 3 g/L de concentração inicial em diferentes temperaturas (30 a 50 °C) para 2% (m/v) de fuligem A e 1% (m/v) de carvão ativado de casca de coco em pH 5 por 24 h. Nota-se que os compostos apresentaram comportamentos distintos com o aumento da temperatura de adsorção. A temperatura quase não afetou a adsorção de vanilina utilizando ambos os adsorventes. A adsorção de ácido tânico na fuligem A apenas

decreceu com o aumento da temperatura de 30 até 50 °C e a adsorção do ácido tânico no carvão ativado de casca de coco não foi alterada com a temperatura. O aumento da temperatura de adsorção poderia prejudicar a adsorção, como ocorrido para a adsorção de ácido tânico na fuligem A. Para as outras amostras, o aumento da temperatura poderia estar facilitando a difusão das moléculas para o interior do adsorvente. Estudos mais detalhados de isoterma e cinética de adsorção em diferentes temperaturas seriam necessários para esclarecer estas informações..

Figura 14 - Efeito da temperatura na adsorção dos compostos fenólicos em fuligem A (a) e carvão ativado de casca de coco (b) para 2 e 1% (m/v) de adsorvente, respectivamente, 30 °C e 30 rpm.



A adsorção física do ácido tânico na fuligem A pode estar sendo prejudicada pelo aumento da temperatura, pois a maior energia vibracional das moléculas adsorvidas poderia aumentar a probabilidade da dessorção. Estudos mais detalhados de isotermas de adsorção em diferentes temperaturas seriam necessários para demonstrar estas hipóteses. Cavancanti *et al.* (2009) relataram resultados semelhantes da adsorção do fenol utilizando argila esmectítica organofílica ao do ácido tânico na fuligem A. O aumento da temperatura de 30 para 40°C desfavoreceu o processo adsortivo, pois neste caso a solubilidade da solução de fenol em água foi facilitada, deslocando o equilíbrio para a dessorção.

5.2.4 Isotermas de adsorção

Ensaio de adsorção dos componentes sintéticos foram realizados utilizando diferentes concentrações de soluto até que fosse alcançado o equilíbrio da

adsorção para cada condição. Os testes foram realizados na temperatura de 30 °C, pH 5, 30 rpm, utilizando 1% (m/v) de adsorvente. Os parâmetros obtidos das equações de ajuste estão dispostos na Tabela 6. As Figuras 15, 16, 17 e 18 mostram as isotermas de adsorção da vanilina e do ácido tânico nas fuligens A e B ativada, no carvão ativado de casca de coco e no carvão ativado comercial, respectivamente. Para os ajustes, foram utilizadas as equações de Langmuir, Freundlich e Redlich-Peterson. Os parâmetros de ajuste das equações de isoterma estão na Tabela 6 e os parâmetros estimados pelas equações de isoterma estão na Tabela 7. De acordo com os ajustes, os melhores R^2 foram distintos entre as condições estudadas. A fim de encontrar a melhor equação de ajuste foram determinados os valores do critério de informação de Akaike corrigido (AICc). Os valores indicam que a isoterma de Freundlich é a melhor isoterma para descrever a maioria das isotermas obtidas experimentalmente, com exceção das isotermas de adsorção de vanilina em carvão ativado de casca de coco e de ácido tânico em fuligem A e em carvão ativado comercial.

Nota-se que todas as isotermas obtidas são côncavas ao eixo de concentração, ou seja, são favoráveis e grandes quantidades de soluto podem ser adsorvidas em baixas concentrações de adsorvente.

O modelo de Freundlich forneceu uma boa descrição da adsorção de vanilina tanto pela fuligem A fuligem B ativada e o carvão ativado comercial e ácido tânico em carvão ativado de casca de coco (Figuras 15a, 16a, 18a e 17b), sugerindo que os sítios de interações mais fortes foram ocupados primeiro. Todos os modelos utilizados descreveram bem os dados experimentais para a adsorção de ácido tânico nas fuligens A e B ativada (Figuras 15b e 16b) e no carvão ativado de casca de coco (Figura 17b) (R^2 entre 0,96 e 0,99). Os coeficientes de correlação obtidos para os modelos de isoterma aplicados à adsorção de vanilina em carvão ativado de casca de coco e no carvão ativado comercial foram inferiores a 0,90. Contudo, a adsorção de vanilina em CAC foi bem descrita por Freundlich, sendo ambas com bons ajustes aos dados por Redlich-Peterson (Figuras 17a e 18a). A isoterma de Langmuir mostrou bom ajuste aos dados experimentais para a vanilina em carvão ativado de casca de coco e para adsorção de ácido tânico na fuligem A e em carvão ativado comercial (Figuras 17a, 17b e 18b), sugerindo a cobertura significativa de monocamada do adsorbato na superfície do adsorvente.

Figura 15—(a) Isoterma de vanilina e de (b) ácido tânico em fuligem A em pH 5, 30 °C e 30 rpm.

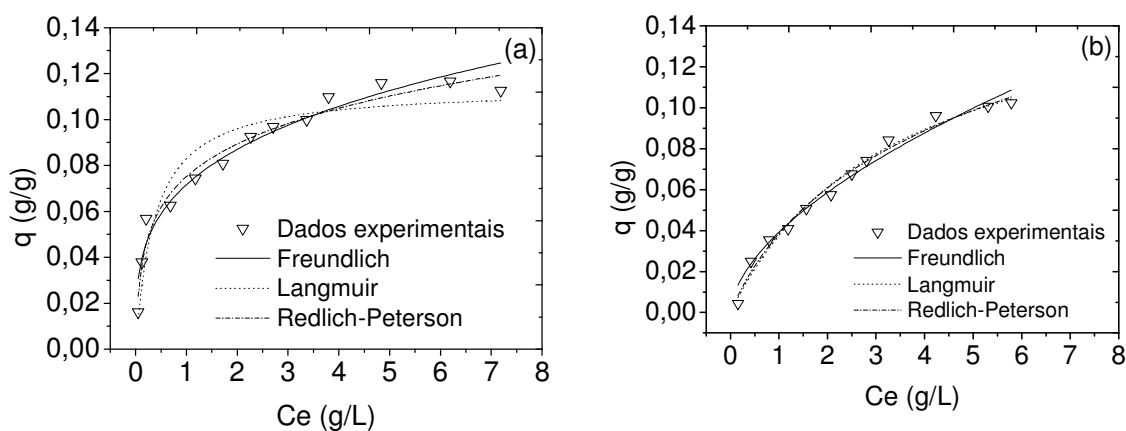


Figura 16—(a) Isoterma de vanilina e de (b) ácido tânico em fuligem B ativada em pH 5, 30 °C e 30 rpm.

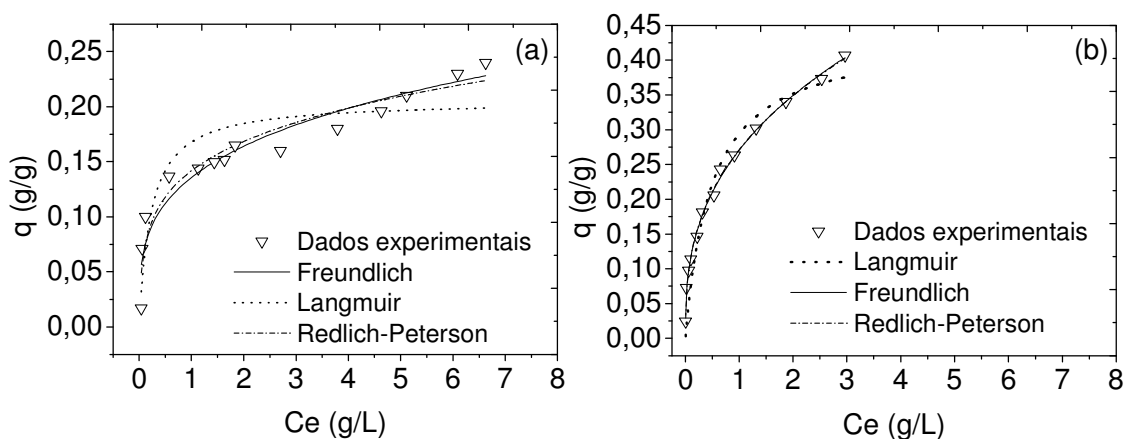


Figura 17—(a) Isoterma de vanilina e de (b) ácido tânico em carvão ativado de casca de coco em pH 5, 30 °C e 30 rpm.

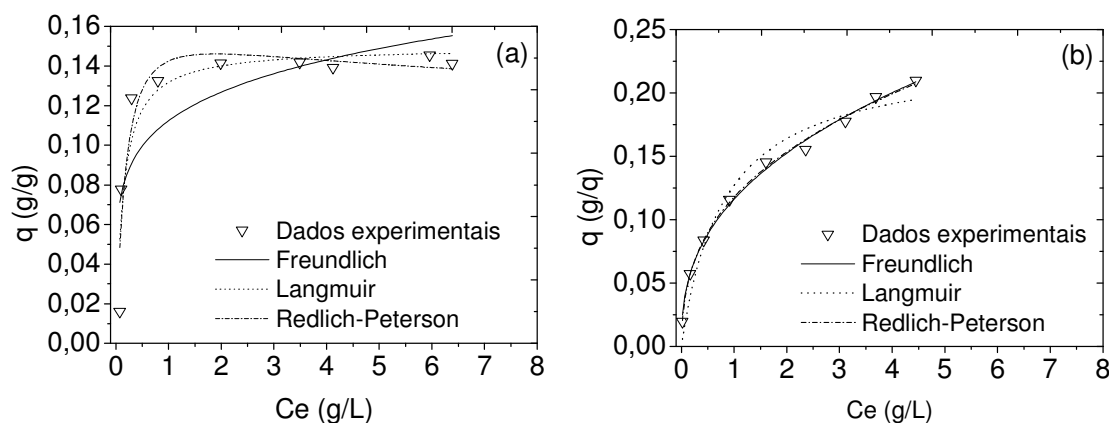
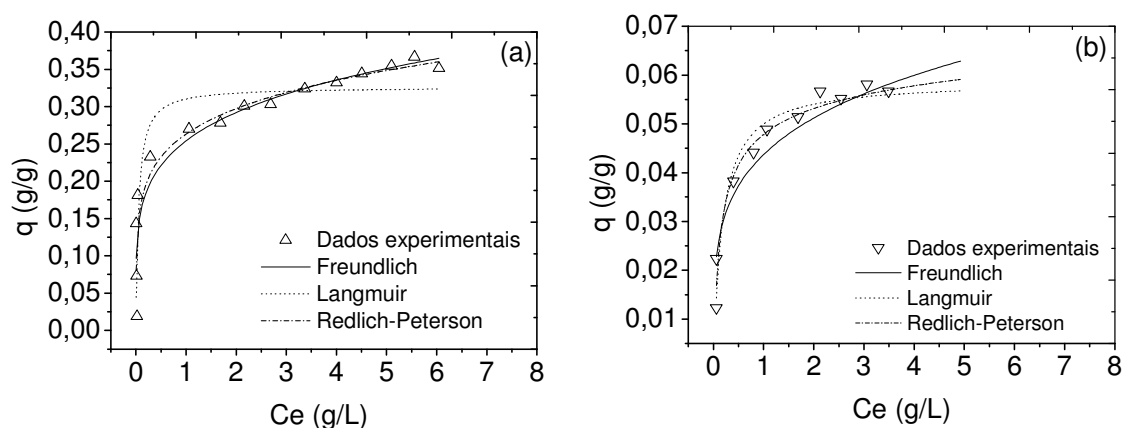


Figura 18—(a) Isoterma de vanilina e de (b) ácido tânico em CAC em pH 5, 30 °C e 30 rpm.



A linearidade das isotermas diminuiu à medida que o valor n dos modelos de Freundlich aumentaram. Neste trabalho, a linearidade das isotermas diminuiu na ordem: ácido tânico em fuligem A > ácido tânico em carvão ativado de casca de coco > ácido tânico em fuligem B ativada > > vanilina em fuligem B ativada \approx vanilina em fuligem A > ácido tânico em CAC \approx vanilina em CAC \approx vanilina em carvão ativado de casca de coco. No caso do modelo de Langmuir, a afinidade das isotermas foi o inverso, como pode ser observado a partir dos valores K crescentes dos modelos (Tabela 7).

Embora o modelo de Langmuir não tenha proporcionado um bom ajuste para a adsorção de vanilina em carvão ativado, o valor de K foi consistente, uma vez que a vanilina mostrou alta afinidade por este adsorvente (Figura 18a).

Os valores de AICc indicaram que o modelo da isoterma de Redlich-Peterson não é o mais apropriado, porém, todos os dados de adsorção poderiam ser descritos por este modelo. Este modelo se reduz à isoterma de Langmuir quando o valor do parâmetro b está próximo de um. O valor mais alto de b ($1,10 \pm 0,09$) foi obtido para a adsorção de vanilina em carvão ativado de casca de coco. A adsorção de ácido tânico em CAC também mostrou potencial para a sua redução à isoterma de Langmuir (com um valor de b de $0,91 \pm 0,04$).

Tabela 6 – Coeficiente de correlação (R^2) e critério de informação de Akaike (AICc) das equações das isotermas utilizadas para descrever os dados experimentais.

Parâmetro	Modelo	Amostra							
		Fuligem A		Fuligem B ativada		CACO		CAC	
		Vanilina	Ácido tânico	Vanilina	Ácido tânico	Vanilina	Ácido tânico	Vanilina	Ácido tânico
R^2	Langmuir	0,90	0,99	0,82	0,95	0,84	0,96	0,82	0,95
	Freundlich	0,95	0,98	0,92	0,99	0,60	0,99	0,89	0,90
	*R-P	0,96	0,98	0,91	0,99	0,85	0,99	0,88	0,96
AICc	Langmuir	-111,04	-127,24	-73,21	-80,07	-64,72	-68,66	-81,94	-140,40
	Freundlich	-121,75	-121,57	-80,75	-111,49	-56,01	-88,66	-95,85	-120,59
	*R-P	-122,10	-123,61	-77,30	-108,71	-60,04	-83,45	-93,08	-135,00

*Redlich-Peterson

As capacidades máximas de adsorção de vanilina e ácido tânico na fuligem A foram semelhantes e no caso da fuligem B ativada, para o ácido tânico a capacidade máxima foi maior (Figuras 15 e 16). Estes resultados sugerem que as propriedades da estrutura dos poros das fuligens (mostradas na Tabela 4) favorecem a adsorção de oligômeros e monômeros. Curiosamente, as capacidades máximas de adsorção do ácido tânico nas fuligens foram maiores que o valor encontrado para o carvão ativado (Figura 18b). Como esperado, obteve-se a maior capacidade máxima de adsorção (0,35 g/g) para a vanilina em carvão ativado (Figura 17a). Isso pode ser explicado pela alta área superficial e área microporos deste adsorvente, uma vez que a vanilina é uma molécula monomérica com um tamanho de 0,72 x 0,52 nm (Xiao *et al.*, 2012).

A capacidade máxima de adsorção do ácido tânico na fuligem B ativada foi quase o dobro da capacidade máxima de adsorção deste composto no carvão ativado de casca de coco. Embora estes adsorventes apresentaram área superficial muito semelhantes, o volume de mesoporos da fuligem B ativada é o dobro do volume do carvão ativado de casca de coco (Tabela 4). Uma possível explicação é que mesoporosidade mais expressiva da fuligem B ativada pode ter facilitado a adsorção do ácido tânico, visto que este composto tem uma estrutura relativamente grande.

Tabela 7 – Parâmetros estimados das equações das isotermas utilizadas para descrever os dados experimentais.

Amostra	Modelo	*K_L, K_F ou K	Q (g/g)	n	**a (L/g)	B
<i>Vanilina em fuligem A</i>	Langmuir	2,68±0,71	0,11±0,00	-	-	-
	Freundlich	0,00	-	3,56±0,30	-	-
	Redlich-Peterson	0,99±0,55	-	-	12,10±7,60	0,80±0,04
<i>Ácido tânico em fuligem A</i>	Langmuir	0,29±0,04	0,11±0,01	-	-	-
	Freundlich	0,00	-	1,72±0,10	-	-
	Redlich-Peterson	0,06±0,02	-	-	0,50±0,04	0,82±0,21
<i>Vanilina em fuligem B ativada</i>	Langmuir	4,49±1,94	0,20±0,01	-	-	-
	Freundlich	0,13±0,00	-	3,54±0,46	-	-
	Redlich-Peterson	3,78±5,25	-	-	25,66±38,46	0,77±0,07
<i>Ácido tânico em fuligem B ativada</i>	Langmuir	2,06±0,43	0,43±0,03	-	-	-
	Freundlich	0,27±0,00	-	2,71±0,07	-	-
	Redlich-Peterson	49,98±79,86	-	-	183±296	0,64±0,01
<i>Vanilina em CA de casca de coco</i>	Langmuir	7,42±2,44	0,15±0,01	-	-	-
	Freundlich	0,11±0,01	-	5,72±1,92	-	-
	Redlich-Peterson	0,84±0,29	-	-	4,91±2,31	1,10±0,09
<i>Ácido tânico em CA de casca de coco</i>	Langmuir	1,23±0,29	0,23±0,01	-	-	-
	Freundlich	0,01±0,00	-	2,54±0,09	-	-
	Redlich-Peterson	3,26±3,03	-	-	26,71±26,13	0,63±0,02
<i>Vanilina em CAC</i>	Langmuir	19,32±7,35	0,32±0,01	-	-	-
	Freundlich	0,00	-	4,98±0,66	-	-
	Redlich-Peterson	32,30±43,65	-	-	121,8±183,5	0,83±0,05
<i>Ácido tânico em CAC</i>	Langmuir	5,69±1,08	0,06±0,00	-	-	-
	Freundlich	0,00	-	4,39±0,56	-	-
	Redlich-Peterson	0,50±0,14	-	-	9,50±3,00	0,91±0,04

*Unidades das constantes dos modelos são L/g de soluto para Langmuir, (g de soluto/g de adsorvente).(L/g de soluto)^{1/n} para Freundlich e L/g de adsorvente para Redlich-Peterson. **Unidade da constante “a” de Redlich-Peterson é L/g de soluto.

As áreas superficiais e microporosas dos adsorventes foram inferiores às do carvão ativado (Tabela 4). Portanto, não era esperado que a capacidade máxima de adsorção do ácido tânico no CAC fosse menor do que nos outros adsorventes. Uma explicação é que o tamanho da molécula de ácido tânico (1,6 nm) (Hsieh e Teng, 2000) poderia ter resultado em um efeito de exclusão por tamanho (Tabela 4), o que poderia ter limitado a área disponível para adsorção desta molécula. Para a Fuligem A, outra explicação em conjunto com a primeira, pode ter ocorrido que a menor quantidade de bandas de grupos funcionais ácidos neste adsorvente que facilitou a adsorção do ácido tânico. É possível que os grupos funcionais ácidos do carvão ativado possam ter dificultado a adsorção de ácido tânico, uma vez que os grupos ácidos produzem "clusters" que podem bloquear o transporte de moléculas para os microporos (Villacañas *et al.*, 2006). Esta última hipótese não se aplica aos outros adsorventes, uma vez que as superfícies destes e do CAC foram muito parecidas em questão de grupos e cargas. Este efeito não foi notado no caso da vanilina, que poderia ser explicado pela alta área superficial de carvão ativado disponível para a adsorção de pequenas moléculas. O efeito de exclusão por tamanho já foi observado anteriormente para a adsorção de ácido tânico em carvão ativado constituído principalmente por microporos menores que 1,5 nm (Liu *et al.*, 2012).

5.2.5 Cinéticas de adsorção dos compostos sintéticos

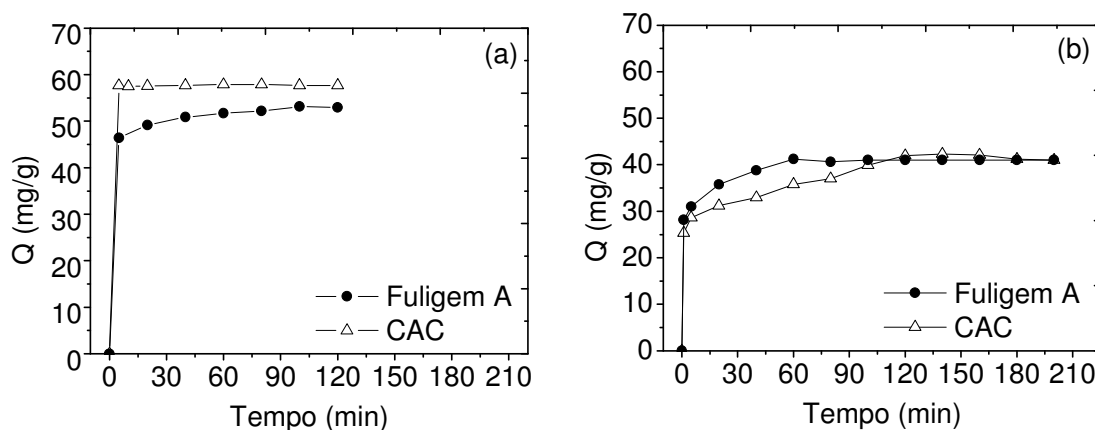
A Figura 19 apresenta as cinéticas de adsorção de vanilina e ácido tânico na fuligem A, respectivamente. As cinéticas foram realizadas em 30 °C, pH 5, 30 rpm, com concentração inicial (C_0) de 3 g/L de soluto e 5% (m/v) de adsorvente.

Nota-se que adsorção de vanilina em carvão ativado comercial é mais rápida, sendo o processo praticamente instantâneo. Em apenas 5 min a capacidade de adsorção de vanilina, de 57 mg/g chegou ao equilíbrio, com 97% de redução da concentração inicial. Para a fuligem A, apesar de ser mais lenta, em apenas 5 min foi adsorvida a maior parte da concentração inicial (80%), e a adsorção do restante a ser adsorvido é mais lento, chegando ao equilíbrio em 100 minutos, com 92% de remoção.

Para o ácido tânico (Figura 19b), a adsorção na fuligem chega ao equilíbrio em 60 min, com capacidade de 41 mg de ácido tânico/g de adsorvente. A adsorção de ácido tânico em carvão ativado comercial chegou ao equilíbrio após 120

min de adsorção, com a mesma capacidade de adsorção da fuligem A, no entanto, levou o dobro do tempo para chegar ao equilíbrio.

Figura 19 – Cinética de adsorção de vanilina (a) e ácido tânico (b) para 5% (m/v) de fuligem A em 30 °C, pH 5 e 30 rpm e C_0 de 3 g/L.



Curiosamente, a adsorção de ácido tânico na fuligem A foi mais rápida. Isto pode ter ocorrido devido à maior disponibilidade de mesoporos da fuligem A que poderiam facilitar a difusão das moléculas para o interior dos poros do adsorvente. A alta taxa de adsorção de vanilina no carvão ativado pode ser explicada pela alta área de superfície específica deste adsorvente, o que proporcionou maior probabilidade de contato com as pequenas moléculas de vanilina, sem influência do tamanho dos poros. Comportamento semelhante foi relatado para a adsorção de fenol e ácido tânico em carvão mesoporoso (CMK-3), CMK-3 ativado e carvão ativado (Liu *et al.*, 2012).

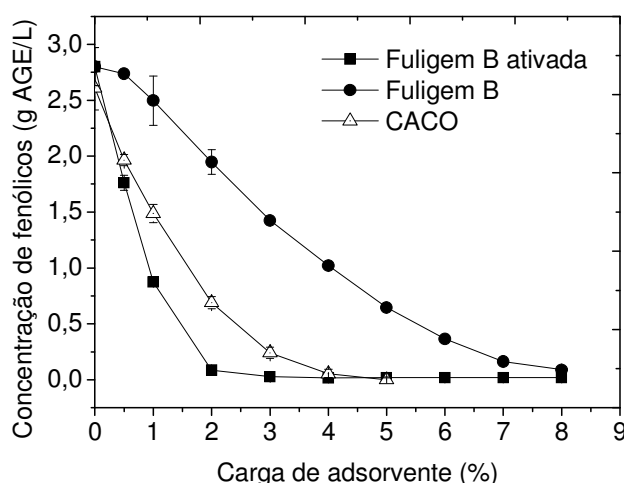
Dada as caracterizações, a cinética de adsorção não foi realizada para os outros adsorventes porque o mesmo comportamento em relação à adsorção de vanilina e ácido tânico já era esperado.

5.2.6 Estudo de adsorção de coquetel de inibidores

Após o estudo de adsorção de compostos individuais, foi realizado um estudo de adsorção de um coquetel de fenólicos, HMF e furfural a fim de reproduzir o licor LHW do pré-tratamento da biomassa. O coquetel foi preparado em proporções de fenólicos monoméricos baseadas nas concentrações encontradas nos trabalhos

de Martín *et al.* (2002) e Pinto *et al.* (2018) sobre os componentes do licor do bagaço de cana-de-açúcar obtido pelo pré-tratamento hidrotérmico juntamente com 1 g/L de ácido tânico, 1 g/L de HMF e 3 g/L de furfural, denominado C1,0HF (Tabela 3; item 4.6.1). A concentração de fenólicos totais deste coquetel (2,78 g/L) é próxima da concentração encontrada na literatura para licores originais de diferentes biomassas pré-tratadas hidrotermicamente (Ximenes *et al.*, 2010). Neste estudo de adsorção foram avaliadas as isotermas deste coquetel variando a carga de fuligem B ativada de 0,5 a 8% (m/v) e de carvão ativado de casca de coco de 0,5 a 5% (m/v). Os resultados da adsorção dos fenólicos do coquetel estão mostrados na Figura 20.

Figura 20 – Concentração de fenólicos do coquetel C1,0HF para diferentes carga de adsorvente. Condições experimentais: 30 °C, pH 5 e 30 rpm.



Foram obtidas isotermas de equilíbrio mostradas para fuligem B como recebida e ativada e para o carvão de casca de coco (Figura 21). As isotermas foram descritas por Langmuir, Freundlich e Redlich-Peterson, cujos parâmetros são mostrados na Tabela 8.

Surpreendentemente, quase todos os compostos fenólicos foram removidos usando-se 4 vezes menos fuligem após a ativação. Enquanto a eficiência máxima de remoção dos fenólicos (99%) foi alcançada para a carga de 2% (m/v) da fuligem ativada. Para a fuligem sem qualquer tratamento, foi necessário 8% (m/v). Para apenas 2% de carvão ativado de casca de coco foi removido 72% dos fenólicos totais do coquetel, indicando que este adsorvente tem boa capacidade para a

adsorção de compostos fenólicos. As cargas de 1, 2 e 3% deste adsorvente correspondem às remoções de 43, 72 e 91% de fenólicos totais.

Figura 21 – Isotermas de equilíbrio para a adsorção do coquetel de fenólicos na fuligem B, fuligem B ativada e no carvão ativado de casca de coco.

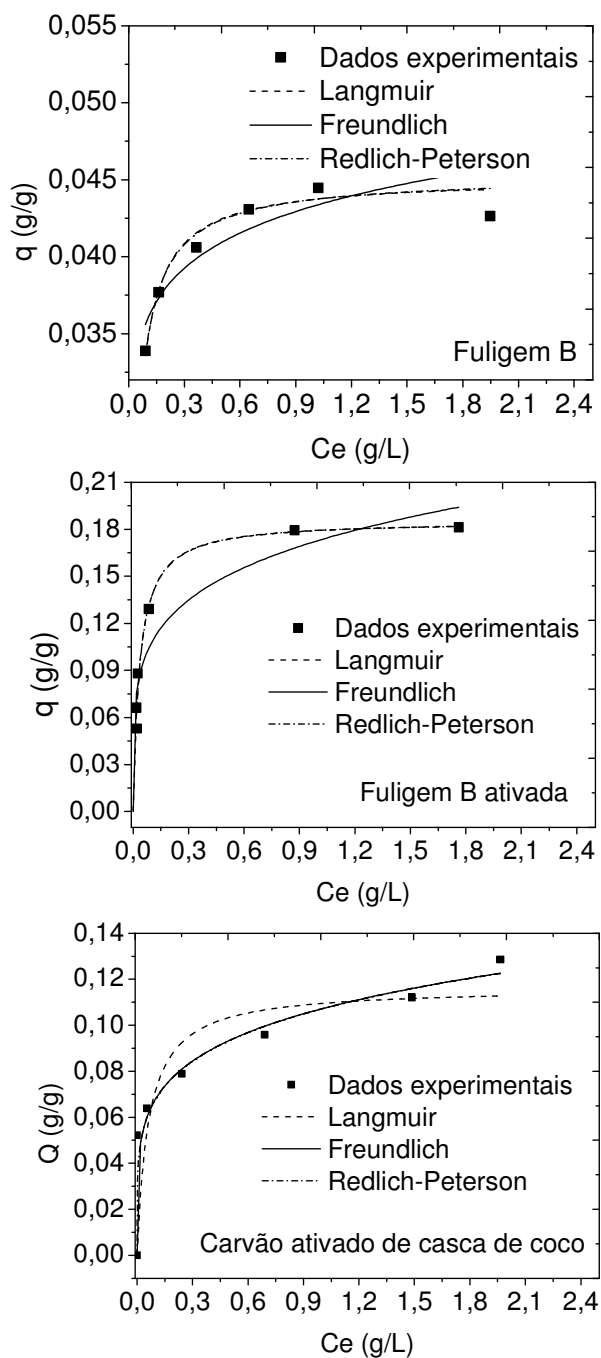


Tabela 8 - Constantes das isotermas de Langmuir, Freundlich e Redlich-Peterson para a adsorção do coquetel C1,0HF.

Amostra	Modelo	R ²	*K _L , K _F ou K	Q (g/g)	n	**a (L/g)	b
C1,0HF na fuligem B	Langmuir	0,91	32,22±4,96	0,04±0,00			
	Freundlich	0,80	0,04±0,00		12,26±2,57		
	Redlich-Peterson	0,97	1,50±0,61			33,36±14,37	1,00±0,04
C1,0HF em fuligem B ativada	Langmuir	0,99	28,05±3,05	0,18±0,00			
	Freundlich	0,93	0,17±0,01		4,86±0,80		
	Redlich-Peterson	0,89	5,16±1,15			27,85±6,78	1,00±0,05
C1,0HF em carvão ativado de casca de coco	Langmuir	0,85	16±15	0,11±0,01			
	Freundlich	0,98	0,10±0,01		5,04±2,62		
	Redlich-Peterson	0,98	1,5E6±2,6E12			1,4E7±2,4E13	0,80±0,29

*Unidades das constants dos modelos são L/g of solute para Langmuir, g de soluto/g de adsorvente . (L/g)^{1/n} para Freundlich e L/g de adsorvente para Redlich-Peterson. **Unidade da constante “a” de Redlich-Peterson é L/g de soluto.

Para a capacidade máxima de adsorção (Q) das isotermas nas fuligens, a mesma tendência anterior foi observada (aumento de 4,5 vezes) (Figura 21). Em ambas as isotermas, os dados foram melhores descritos pelo modelo de Langmuir e Redlich-Peterson. Como observado, os coeficientes de correlação foram consistentes e as capacidades máximas de adsorção (Q) do modelo de Langmuir foram semelhantes às obtidas experimentalmente. Os valores b de Redlich-Peterson foram iguais a 1, indicando que este modelo reduz a Langmuir. Portanto, esses resultados sugerem que é possível uma significativa cobertura de monocamada na adsorção dos fenólicos adsorvidos.

Para a isoterma dos fenólicos no carvão ativado de casca de coco, de acordo com a Tabela 8, o melhor coeficiente de correlação obtido foi para a isoterma

de Freundlich. Este resultado foi confirmado pelo número de AICc, que determina que o menor valor obtido representa a isoterma mais adequada. Foram obtidos os valores de -108,99, -133,31 e -127,46 para Langmuir, Freundlich e Redlich-Peterson, respectivamente, confirmando que Freundlich é o mais apropriado, seguido de Redlich-Peterson. O AICc não foi calculado para a fuligem B ativada, pois está claro que o modelo de Langmuir é o mais adequado, sendo confirmado pelo ajuste de Redlich-Peterson. Comparando os adsorventes, as isotermas mostram que a fuligem B ativada tem maior afinidade com os fenólicos do coquetel que o carvão ativado de casca de coco. Embora as áreas superficiais destes adsorventes foram muito próximas, a fuligem B ativada possui um volume de mesoporos maior, que deve ter facilitado a adsorção do coquetel, já que os grupos funcionais e cargas foram muito semelhantes. O notável aumento da adsorção para a fuligem após a ativação foi devido à melhoria das suas propriedades. O diâmetro de poros foi aumentado em 12%, indicando que os poros foram desbloqueados por ativação de CO₂, e as propriedades texturais dos poros como área superficial específica (S_{BET}) e de microporos (S_{mic}) tiveram um grande aumento (Tabela 2), favorecendo a adsorção. A presença de poros de tamanhos grandes é necessária para melhor adsorção de moléculas oligoméricas como o ácido tânico, que pertence ao coquetel C1,0HF neste trabalho. Além disso, o aumento de volume de poros da fuligem B de 3,25 após a ativação (Tabela 4) favorece a adsorção de moléculas como o ácido tânico.

Outro comportamento muito importante revelado pelas isotermas é o aumento de sua concavidade após a ativação da fuligem. Esse comportamento significa que a afinidade entre os compostos adsorventes e fenólicos aumenta provavelmente devido às mudanças na textura. O aumento da concavidade e afinidade da isoterma tem um enorme impacto no projeto de adsorvedores em batelada, uma vez que a quantidade necessária para a adsorção é drasticamente reduzida.

5.3 Estudo de inibição enzimática

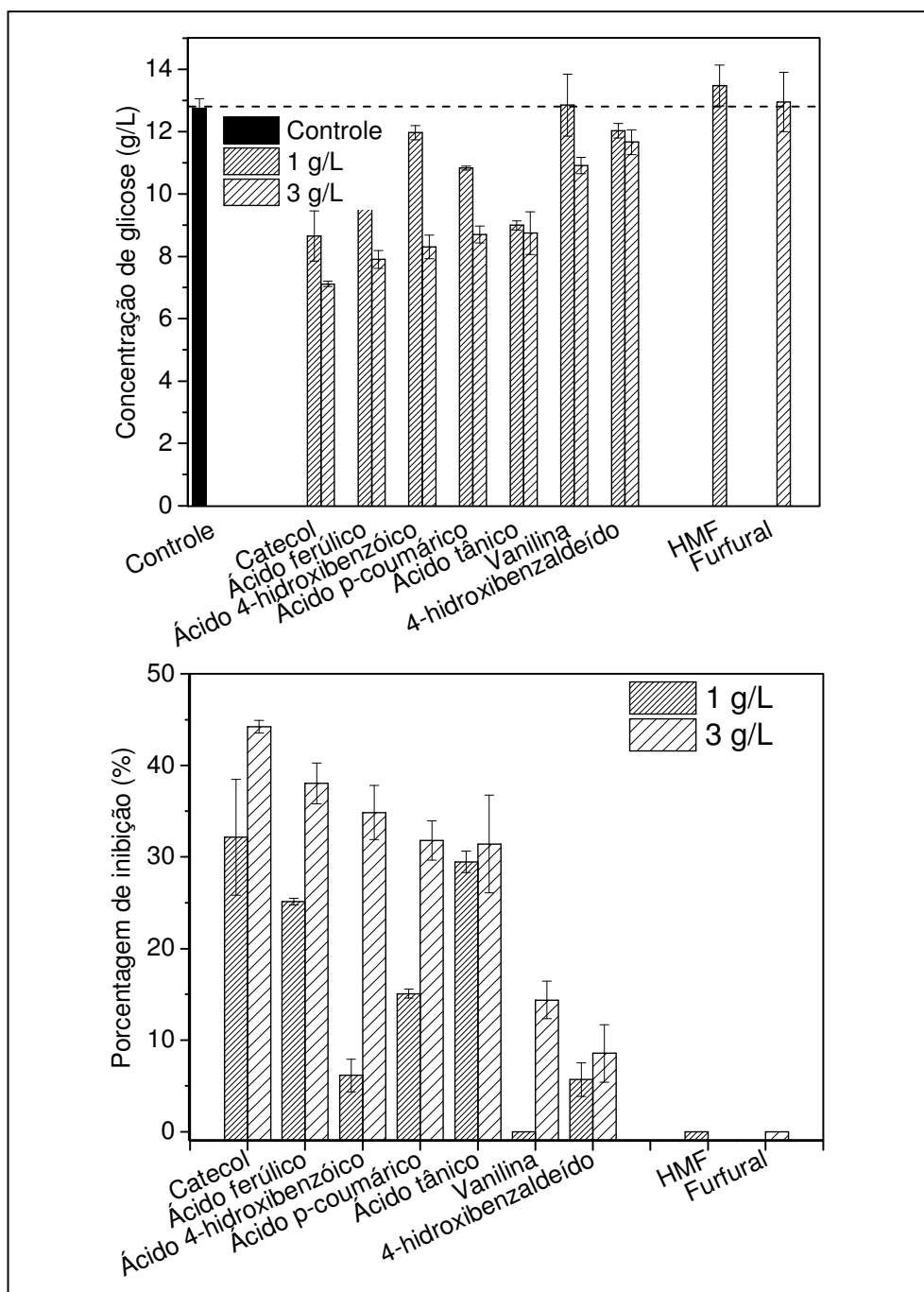
Hidrólises de celulose comercial (celuflok) na presença de fenólicos sintéticos (catecol, 4-hidroxibenzaldeído, vanilina e os ácidos 4-hidroxibenzoico, p-coumárico, ferúlico e tânico) e furaldeídos (furfural e HMF) (Figura 23) utilizando um preparado enzimático comercial de celulasas (Cellic Ctec2[®]) foram realizadas. Esses

compostos foram avaliados individualmente e em coquetéis. Quando individuais, os compostos foram avaliados nas concentrações de 1 e 3 g/L para os compostos fenólicos, de 1 g/L para HMF e 3 g/L para o furfural. Para as hidrólises na presença dos coquetéis, primeiramente, foi realizado um estudo de inibição com os coquetéis de compostos com concentrações de fenólicos apenas. Os coquetéis foram preparados adicionando os fenólicos monoméricos (concentrações apresentadas a Tabela 3; item 4.6.1) e o ácido tânico foi avaliado em diferentes concentrações nos coquetéis, de 0 a 2 g/L, totalizando 5 coquetéis. Os coquetéis foram denominados conforme foi aumentada a concentração de ácido tânico (C0; C0,5; C1,0; C1,5 e C2,0). Também foram realizadas hidrólises da celulose na presença do ácido tânico sozinho variando de 0 a 2 g/L. Os testes foram realizados com 10% (m/v) de celulose, 3 FPU/g celulose da enzima em tampão citrato de sódio 50 mM pH 5 a 50 °C e 30 rpm.

Na Figura 22 estão dispostas as concentrações de glicose obtidas a partir da hidrólise da celulose na presença dos fenólicos individuais e as respectivas porcentagens de inibição. Os resultados mostram que os maiores inibidores fenólicos foram o catecol e os ácidos ferúlico, p-coumárico e o tânico, para 1 e 3 g/L, e o ácido 4-hidroxibenzóico foi inibitório apenas em 3 g/L. Em 3 g/L o catecol reduziu 44% a concentração de glicose e o ácido tânico reduziu 31%. Interessantemente, a vanilina em 3 g/L promoveu inibição equivalente à do ácido p-coumárico em 1 g/L. O 4-hidroxibenzaldeído provocou pouca alteração na liberação de glicose, proporcionando apenas 6% de redução para as duas concentrações avaliadas. A vanilina em 1 g/L e os furanos HMF e furfural não foram inibitórios nas condições avaliadas.

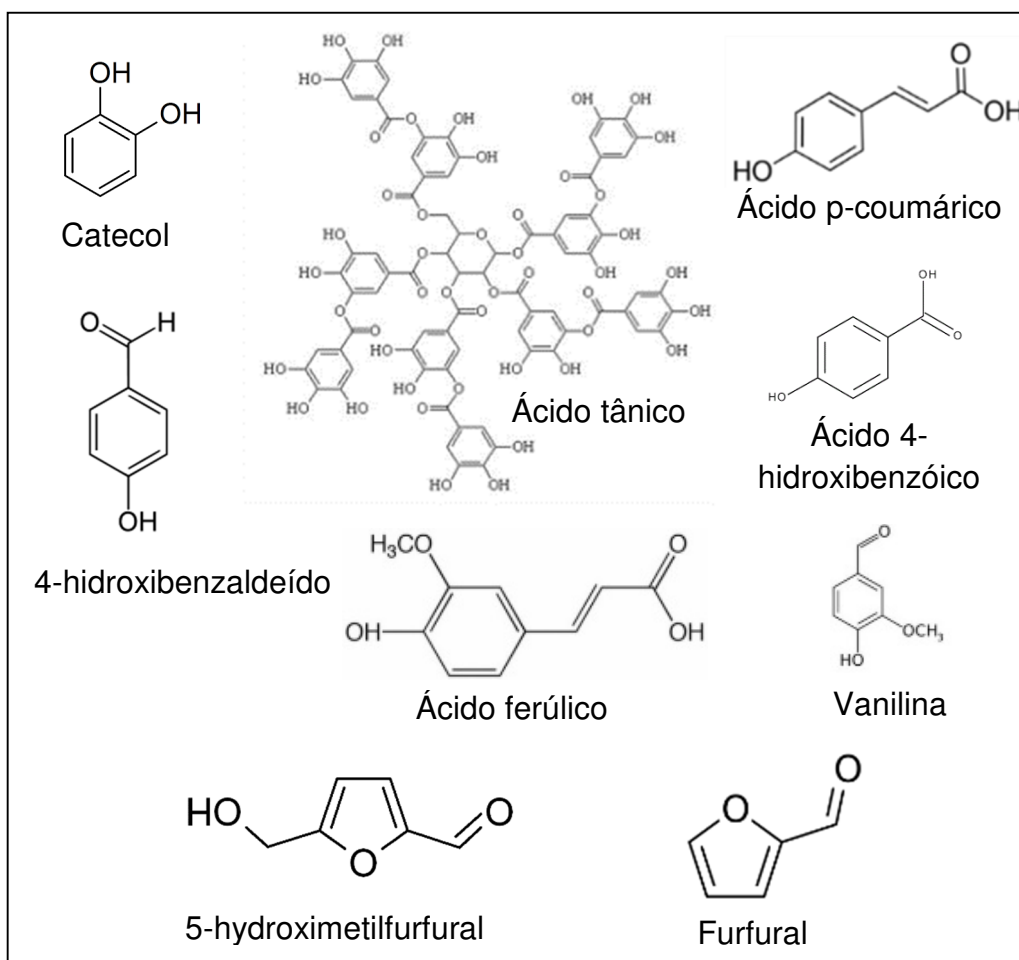
Observa-se que os maiores inibidores testados do preparado enzimático comercial Cellic Ctec2, exceto o catecol, apresentam em comum o grupo carboxila, que estão presentes nos ácidos ferúlico, 4-hidroxibenzóico e o p-coumárico. Os outros fenólicos que tiveram menores influências na hidrólise enzimática foram o 4-hidroxibenzaldeído e a vanilina, cujo grupo funcional presente em ambos é o aldeído e a vanilina possui uma metoxila (Figura 23). Diante dessas informações, pode-se sugerir que os grupos carboxílicos podem exercer maior influência na inibição das enzimas do complexo celulolítico e os grupos aldeído e a metoxila que estão presentes na vanilina podem ser menos severos.

Figura 22 – Hidrólise da celulose utilizando 3 FPU/g na presença de fenólicos sintéticos (1 e 3 g/L), HMF (1 g/L) e furfural (3 g/L).



Para o catecol não era esperada tal inibição, contudo, estudos mais elaborados são necessários para desvendar este mecanismo. Uma tendência similar foi observada na produção de enzimas fibrolíticas, em que o catecol inibiu as atividades de carboximetilcelulase, xilanase, b-glicosidase e acetilesterase em apenas 0,11 g/L. Comparado com o ácido p-cumárico e ferúlico, compostos usados aqui, o catecol também foi o mais severo (Paul *et al.*, 2003).

Figura 23 – Estrutura dos compostos fenólicos sintéticos utilizados na hidrólise enzimática da celulose.



O efeito dos compostos fenólicos oligoméricos na hidrólise enzimática foi avaliada também por Rasmussen *et al.*, (2017). Os autores fizeram o pré-tratamento hidrotérmico da palha de trigo, no qual os compostos presentes no licor do pré-tratamento foram fracionados com diferentes solventes, e foi verificado que a fração que continha principalmente os fenólicos oligoméricos acarretou uma queda brusca na liberação de glicose. Os autores também propuseram novas estruturas de fenólicos oligoméricos liberados no pré-tratamento, onde eles destacaram que muitas das estruturas encontradas são aceptores de Michael, que estão suscetíveis para ataques nucleofílicos em aminoácidos nas proteínas. Isto pode explicar o efeito negativo destes compostos sobre a atividade das enzimas.

Mhlongo *et al.* (2015) testaram atividades de β -glicosidase, celobiohidrolase e endoglucanase na presença de diferentes tipos de fenólicos (4-

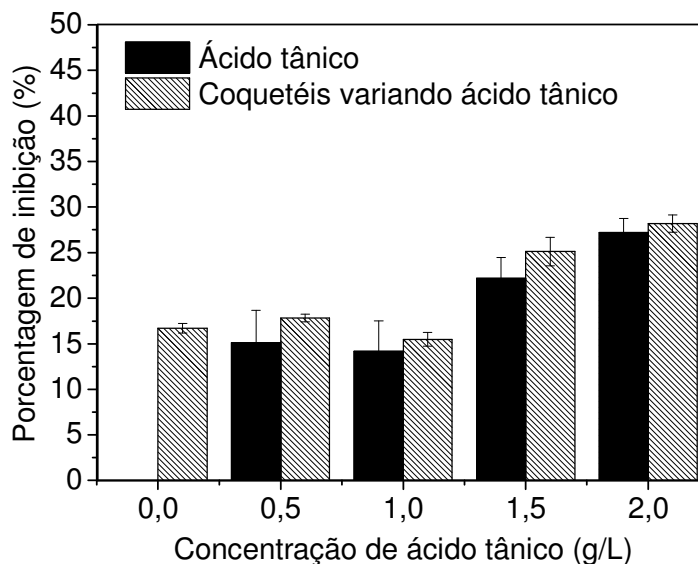
hidroxibenzaldeído, 4-ácido hidroxibenzoico, 4-hidroxiacetofenona, siringaldeído, vanillina, 4-hidroxi-3-metoxi-cinamalaldeído e ácido cinâmico) e ácido tânico na concentração de 1 mM. Entre os fenólicos, o ácido tânico foi o maior inibidor e desativador das enzimas após 24 h de incubação.

Ximenes *et al.* (2011) fizeram a hidrólise de papel de filtro e Carboximetilcelulose (CMC) utilizando uma mistura de celulase+ β -glicosidase na presença de vanilina, siringaldeído e ácidos tânico, gálico, ferúlico, transcinâmico, p-coumárico, sinápico e 4-hidroxibenzóico. Os resultados mostraram que apenas o ácido tânico reduziu a liberação de glicose para 1h de incubação, com 60% de inibição, enquanto os demais tiveram pouco ou nenhum efeito na hidrólise. Após 24 h de incubação, o principal desativador das celulases foi o ácido tânico, com 80% de desativação. Para a vanilina e o ácido 4-hidroxibenzóico pouco efeito foi observado, de 15 e 18% de desativação, respectivamente.

Para os furanos, em trabalhos anteriores também foi verificada pouca influência destes compostos sobre as enzimas. Kim *et al.* (2011) verificaram que 4,1 g/L de HMF+furfural, que foram liberados do pré-tratamento hidrotérmico de Maple, não causaram efeito na hidrólise de Solka Flock para 15 FPU de Spezyme CP. Mhlongo *et al.* (2015) testaram atividades de β -glicosidase, celobiohidrolase e endoglucanase na presença de HMF e furfural em 30 mM (3,78 e 2,88 g/L, respectivamente). Pouca influência foi verificada, sendo que a celobiohidrolase foi moderadamente desativada após 24 h de incubação na presença destes compostos. Cantarella *et al.* (2004) também não observaram alteração na hidrólise enzimática de biomassa utilizando preparações da Novozymes e Celluclast na presença dos furanos.

Em seguida dos testes de hidrólise para fenólicos individuais, foram realizados testes de hidrólise em coquetéis de compostos fenólicos, onde foi variada a concentração de ácido tânico nas soluções, assim como a hidrólise variando o ácido tânico individualmente, com o intuito de verificar se poderia ser encontrado algum efeito sinérgico destes compostos. A Figura 24 mostra a porcentagem de inibição em diferentes concentrações de ácido tânico isolado e na presença dos coquetéis variando o ácido tânico.

Figura 24 – Porcentagem de inibição da hidrólise da celulose na presença somente de ácido tânico e dos coquetéis em diferentes concentrações de ácido tânico.



Para a hidrólise na presença do ácido tânico individual, os resultados mostraram que a porcentagem de inibição aumentou conforme o aumento da sua concentração de 0,5 para 2 g/L, bem como ocorreu para o coquetel de fenólicos, não promovendo alteração da hidrólise na presença dos fenólicos monoméricos juntamente com o ácido tânico em relação ao ácido tânico sozinho. Logo, não foi observado algum efeito sinérgico dos compostos monoméricos associado ao composto oligomérico. Para 0,5 g/L de ácido tânico (C0,5), a redução de glicose foi de 17% e para 2 g/L (C2) foi em torno de 28%.

Curiosamente, o componente presente em maior concentração no coquetel A é o ácido p-coumárico em 1 g/L, o qual proporcionou inibição de $15 \pm 0,5\%$, similar à inibição encontrada quando utilizado sozinho, de $17 \pm 2,1$ (sem diferença para o teste de Tukey a 95% de confiança) (Figura 22). Logo, não aparece efeito sinérgico para esses inibidores, visto que a inibição deveria ter algum efeito de interação do p-coumárico quando misturados com os outros compostos.

O possível efeito sinérgico de alguns compostos também foi estudado por Cantarella *et al.* (2004). Os autores testaram o siringaldeído, o 4-hidroxibenzaldeído e a vanilina com 0,5, 1 e 2 g/L, respectivamente, em conjunto na

hidrólise enzimática, e também não foi verificado o efeito sinérgico destes compostos.

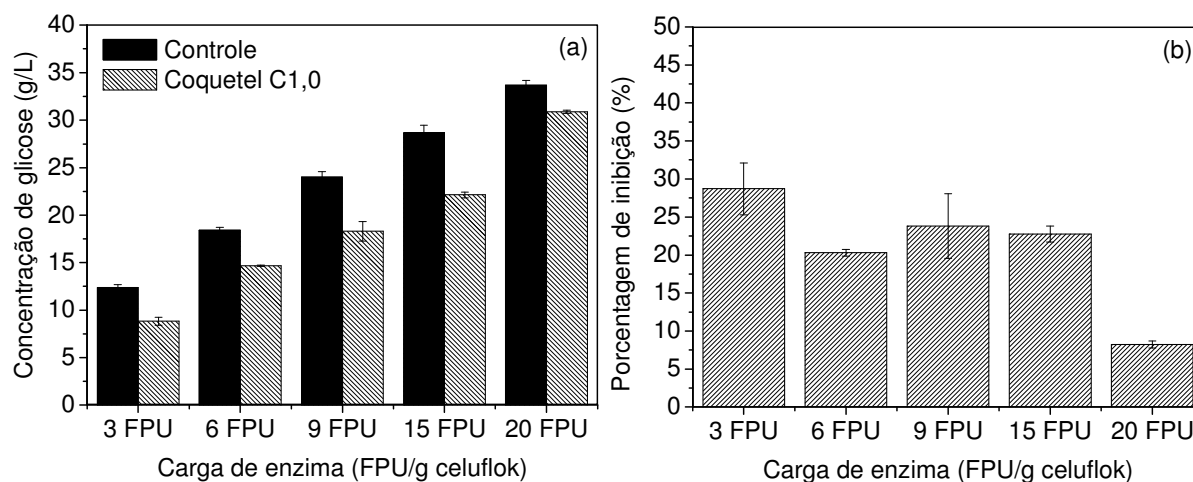
Embora não foi possível ser demonstrado aqui, em situações reais é provável que haja o efeito sinérgico dos compostos fenólicos do pré-tratamento na inibição das enzimas. A lignina é um material complexo e centenas de compostos podem ser liberados durante a sua degradação (Martín *et al.*, 2002; Du *et al.*, 2010; Rajan e Carrier, 2016). Então, não são conhecidos com exatidão quais são todos os componentes e concentrações presentes no licor do pré-tratamento da biomassa que podem interagir no processo de inibição, sendo complexo de reproduzir o seu comportamento.

Testes de hidrólise aumentando a carga enzimática foram realizados, em seguida, adicionando 6, 9, 15 e 20 FPU/g celulose. Foi escolhido o coquetel C1,0, que apresenta concentração de fenólicos totais próxima de valores encontrados em licores do pré-tratamento da biomassa (Ximenes *et al.*, 2010). Esses dados foram comparados ao controle, que é a hidrólise da celulose sem inibidores. Os resultados estão mostrados na Figura 25.

A Figura 25 revela que a maior inibição é obtida usando 3 FPU/g da enzima (28%) e então permanece praticamente o mesmo perfil para concentrações de enzima variando de 6 a 15 FPU/g. Uma expressiva redução da inibição é observada usando 20 FPU/g, embora não tenha sido suficiente para zerar a inibição. Curiosamente, a concentração de glicose liberada usando uma carga enzimática de 9 FPU/g na presença de inibidores é equivalente a aquela obtida usando 6 FPU/g em tampão (18 g/L de glicose), indicando assim que na presença de inibidores, a carga da enzima deve aumentar em 50% para obter o mesmo rendimento de glicose (Figura 25a). Em resumo, os resultados mostram como esses inibidores podem ser prejudiciais à atividade enzimática e quão importante é a remoção de compostos fenólicos para minimizar a carga enzimática no processo de hidrólise da biomassa lignocelulósica.

Também foram realizados testes de hidrólise com 3 FPU/g de enzima para o coquetel C1,0 adicionando HMF (1 g/L) e furfural (3 g/L), chamado subsequentemente de C1,0HF (utilizado no estudo de adsorção do item 5.2.6), no entanto, também não foi observada alteração na hidrólise enzimática com a presença dos furanos. Este coquetel foi utilizado para os experimentos de detoxificação para a hidrólise enzimática da celulose e testes posteriores de fermentação alcoólica.

Figura 25 - Hidrólise enzimática da celulose aumentando a carga enzimática para o controle (hidrólise em tampão sem inibidores) e na presença do coquetel (a) e a porcentagem de inibição (b).



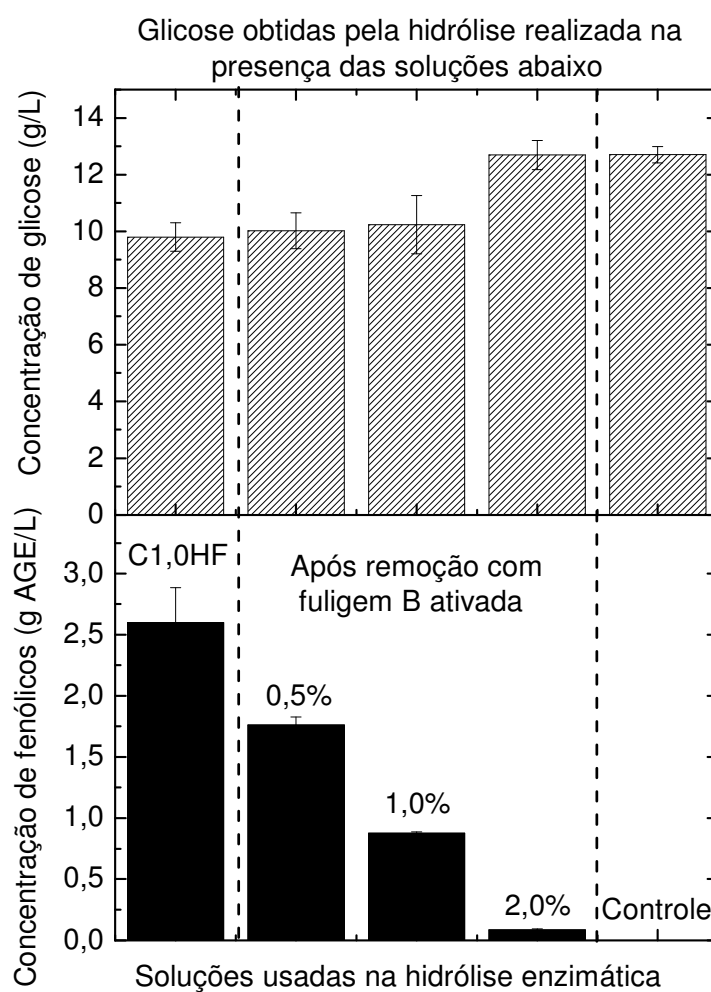
5.4 Estudo de hidrólise enzimática após remoção de inibidores do coquetel

A remoção dos inibidores do coquetel C1,0HF antes da etapa de hidrólise enzimática da celulose utilizando diferentes cargas de fuligem B ativada e de carvão ativado de casca de coco foi realizada para minimizar os seus efeitos negativos na hidrólise. A adsorção dos inibidores utilizando a fuligem B ativada foi avaliada com 0,5, 1,0 e 2,0% (m/v), que correspondem às remoções de 32, 66 e 97% dos fenólicos totais, respectivamente. Também foi realizada a adsorção dos inibidores em carvão ativado de casca de coco com 1, 2 e 3% (m/v), que correspondem às remoções de 43, 74 e 91% dos fenólicos, respectivamente. As hidrólises foram realizadas com 10% de celulose (m/v), 3 FPU/g de enzima em 50 °C, pH 5 e 30 rpm. A remoção dos compostos fenólicos e sua influência na liberação de glicose são mostradas nas Figuras 26 e 27.

Observa-se que à medida que a dosagem de fuligem B ativada aumenta, a mesma tendência é observada para a produção de glicose (Figura 26). A hidrólise enzimática utilizando o coquetel tratado com 2% (m/v) deste adsorvente assegura a concentração máxima de glicose obtida na ausência de inibidores (solução tampão) como controle. A fuligem B ativada apresentou alta capacidade de adsorção dos principais inibidores enzimáticos (97%), melhorando a eficiência da hidrólise enzimática em 20%. Assim, pode-se sugerir que a fuligem B ativada poderia ser uma alternativa de adsorvente para remover compostos fenólicos da degradação da

biomassa, a fim de minimizar seus efeitos sobre a atividade da enzima durante a hidrólise da celulose.

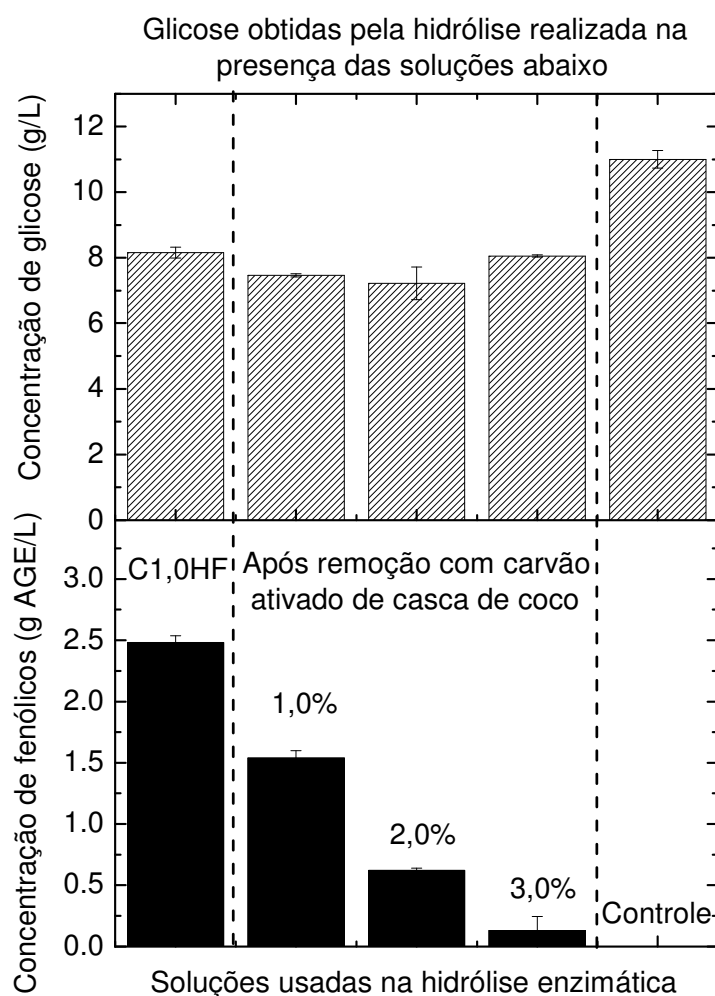
Figura 26 – Hidrólise enzimática da celulose na presença do coquetel de inibidores tratado pela fuligem B ativada. Condições da reação: 3 FPU/g de enzima em 50 °C, pH 5, 24 h e 30 rpm. Controle: hidrólise em tampão sem inibidores.



Para a hidrólise realizada na presença do coquetel tratado pelo carvão ativado de casca de coco (Figura 27) não ocorreu o esperado. Embora a concentração dos fenólicos totais do coquetel C1,0HF foi reduzida a 0,24 g AGE/L usando 3% desse adsorvente, a concentração de glicose não foi aumentada (91% de remoção). Para as cargas de 1 e 2% de carvão ativado de casca de coco houve uma leve queda no rendimento da hidrólise. Esse teste foi repetido e foi obtido o mesmo comportamento. Uma hipótese para estes resultados é de que o carvão ativado de casca de coco

poderia estar liberando algum composto que poderia estar ajudando na inibição das enzimas, visto que houve uma pequena queda na hidrólise. Ou que a carga de 3% de carvão ativado de coco ainda não seria suficiente para chegar a uma concentração que não afetasse a hidrólise. Caso fosse a segunda hipótese, seria necessário 4% de CACO para remover 98% dos fenólicos totais, quantidade similar à obtida pela fuligem B ativada.

Figura 27 – Hidrólise enzimática da celulose na presença do coquetel de inibidores tratado pelo carvão ativado de casca de coco. Condições da reação: 3 FPU/g de enzima em 50 °C, pH 5, 24 h e 30 rpm. Controle: hidrólise em tampão sem inibidores.



5.5 Estudo de hidrólise enzimática após remoção de inibidores do licor do pré-tratamento

5.5.1 Hidrólise enzimática do bagaço-de-cana inserindo a fuligem A no processo

Primeiramente foram feitos ensaios de adsorção dos fenólicos totais do licor do bagaço pré-tratado LHW no pH original do licor ($3,3 \pm 0,3$) e em pH 5, para temperaturas de 30 e 50 °C. A concentração inicial de compostos fenólicos obtidos do pré-tratamento LHW foi de $2,01 \pm 0,06$ g AGE/L. Estas condições foram testadas, pois uma das propostas deste trabalho é a inclusão da fuligem no processo de hidrólise do bagaço-de-cana. Assim, é necessário conhecer o comportamento da adsorção dos compostos presentes no licor em diferentes condições de adsorção para escolher qual a melhor maneira de realizar o processo. Como a hidrólise é realizada em pH 5, foi feita a adsorção no pH do licor e no pH 5 para verificar se o ajuste do pH poderia alterar a adsorção. A temperatura também foi testada, pois caso a temperatura de 50 °C reduzisse a capacidade de adsorção, não seria viável realizar a adsorção dos compostos inibidores durante a hidrólise enzimática. Visto que 5% (m/v) de fuligem A proporcionou boa capacidade de remoção dos fenólicos sintéticos, esta carga foi testada para o licor. As médias dos resultados estão dispostas na Tabela 9.

Não houve variação significativa das porcentagens de remoção variando o pH e a temperatura de adsorção, logo foram mostradas as médias de todas as condições. A fuligem A obteve um alto percentual de remoção dos fenólicos totais, sendo apenas 12% inferior à capacidade do carvão ativado (CAC).

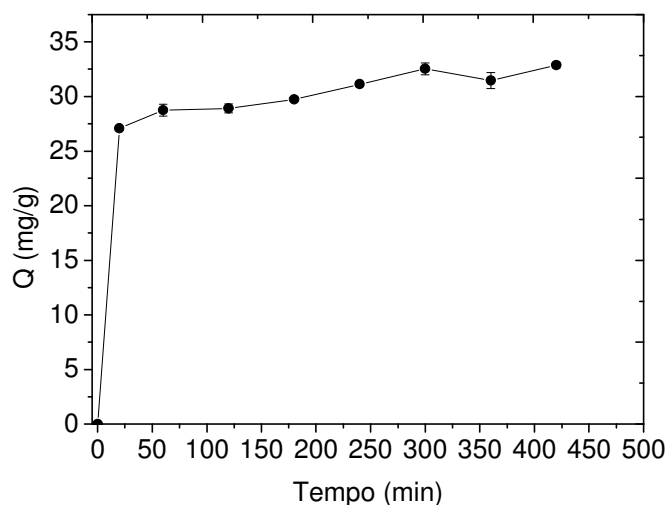
Tabela 9 – Percentual de remoção dos fenólicos totais do licor em diferentes pHs (3,3 e 5) e temperatura de adsorção (30 e 50 °C) com 5% (m/v) de adsorvente.

Adsorvente	% remoção
Fuligem A	$86,03 \pm 1,32$
CAC	$98,16 \pm 0,14$

Diante destas informações, foi possível elaborar um procedimento para a inserção da fuligem no processo de hidrólise, a fim de reduzir a concentração dos

inibidores, ou seja, o processo de hidrólise consiste do produto gerado do pré-tratamento juntamente com a fuligem A (B+E+F+L). Primeiramente, foi realizada a cinética de adsorção dos compostos na fuligem A, com 5% (m/v) de fuligem, em pH do licor ajustado para 5, 50 °C e 30 rpm. O resultado está mostrado na Figura 28.

Figura 28 – Cinética de adsorção dos compostos fenólicos do licor na fuligem A para 5% (m/v) de adsorvente, 50 °C, pH 5 e 30 rpm.



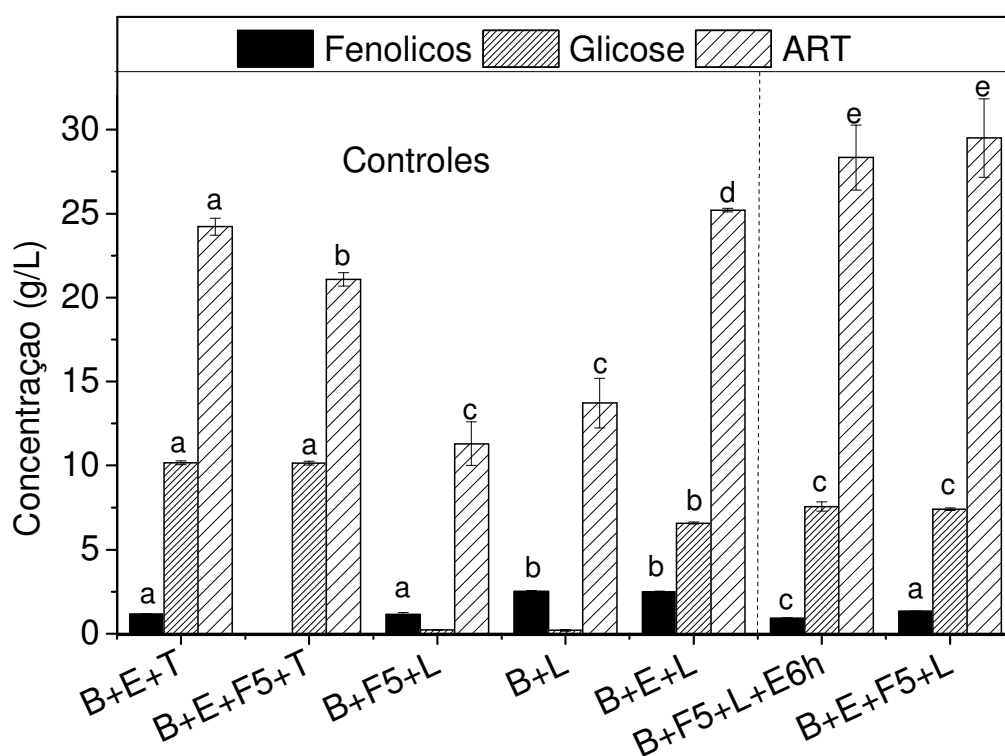
O resultado da cinética mostra que a adsorção chegou à sua capacidade máxima, de $32,86 \pm 0,27$ mg/g, em 5 horas de processo (300 minutos) e a concentração de compostos fenólicos removida foi de 86%. É necessário conhecer o tempo de adsorção de equilíbrio dos compostos fenólicos presentes no licor, pois uma alternativa deste procedimento é realizar a adsorção antes de adicionar a enzima no processo, para que a solução (bagaço+fuligem+licor) tenha a concentração de inibidores reduzida à concentração mínima possível antes do início da hidrólise.

Para os experimentos de hidrólise enzimática foram utilizadas cargas de 10% (m/v) bagaço pré-tratado (LHW), 5% (m/v) de fuligem A, 3 FPU/g de coquetel enzimático CelliCTec2 juntamente com licor do pré-tratamento LHW em pH ajustado para 5 (com concentração inicial de compostos fenólicos de $2,01 \pm 0,06$ g AGE/L) em pH 5, 50 °C e 30 rpm por 24h. A fuligem A foi adicionada ao processo com o objetivo de adsorver os compostos fenólicos e assim reduzir a interação destes com as enzimas.

Foram utilizadas duas alternativas para o experimento da reação de hidrólise: 1) a adsorção e hidrólise ocorrendo simultaneamente, sendo a enzima

adicionada no início do processo e 2) a adsorção dos fenólicos realizada previamente à hidrólise, na qual a enzima foi adicionada após 6 h de processo de adsorção. Na Figura 29 estão apresentadas, de forma geral, as concentrações de fenólicos, glicose e açúcares redutores. Foi realizado o teste de Tukey a 95% de confiança, e para as mesmas letras os tratamentos não diferem entre si. Para o teste estatístico foram comparados os tratamentos: B+E+T e B+E+F5+T; B+F5+L e B+L; B+E+L e B+E+F5+L; B+E+L e B+F5+L+E6h e B++EF5+L e B+F5+L+E6h (B – bagaço de cana-de-açúcar, E – enzima, L – licor, F5 – fuligem A (5%), T – Tampão pH 5, E6h – enzima adicionada 6 h após a adsorção).

Figura 29 – Hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar com a fuligem A inserida no processo em 50 °C, 30 rpm por 24h (B – bagaço de cana-de-açúcar, E – enzima, L – licor, F5 – fuligem A (5%), T – Tampão pH 5, E6h – enzima adicionada 6 h após a adsorção).



Na hidrólise do bagaço em tampão (B+E+T), foram obtidas concentrações de 10 g/L de glicose e 24 g/L de açúcares redutores totais. Adicionando a fuligem a estes ensaios (B+E+F5+T) nota-se que houve uma pequena redução de $24,22 \pm 0,5$ para $21,08 \pm 0,4$ g/L (13%) de açúcares redutores totais, mas

para a glicose não houve influência, confirmada pelo teste de Tukey. A redução dos açúcares pode ter ocorrido devido à presença de alguns grupos hidrofílicos na superfície da fuligem A que permitem a adsorção de uma pequena parcela destes componentes. O mesmo ocorreu para as amostras B+F5+L e B+L, onde nota-se que quando a fuligem está em contato com os açúcares e os compostos fenólicos na mesma solução, há uma maior afinidade entre a fuligem e os fenólicos que entre a fuligem e os açúcares redutores, já que houve uma redução pequena nas médias das concentrações, de 9% para açúcares redutores, e para os fenólicos totais foi de 43%. No entanto, não houve diferença estatística para os açúcares redutores de acordo com o teste de Tukey.

A amostra do controle B+L não liberou quantidade relevante de glicose, de $0,20 \pm 0,05$ g/L, no entanto, a concentração de açúcares redutores totais foi de $13,73 \pm 1,48$ g/L. Após adicionada a enzima na concentração de 3 FPU/g, as concentrações de ART aumentaram para $25,20 \pm 0,16$ /L e de glicose para $6,58 \pm 0,06$, como já era esperado.

Para as hidrólises do bagaço adicionando a fuligem no processo (B+E+F5+L e B+F5+L+E6h), a concentração de glicose e de açúcares redutores totais foram levemente aumentados em relação à hidrólise controle (B+E+L). As porcentagens de aumento em relação ao controle (B+E+L) estão dispostas na Tabela 10.

O aumento pouco expressivo na concentração de glicose e açúcares redutores (Tabela 10) pode ter ocorrido porque as concentrações finais de compostos fenólicos ainda não foram reduzidas o suficiente para ter um maior impacto no aumento da concentração dos açúcares. As concentrações de fenólicos totais foram reduzidas até $0,92 \pm 0,03$ g AGE/L para B+F5+L+E6h e $1,32 \pm 0,03$ g AGE/L para B+E+F5+L, com reduções de 63 e 48%, respectivamente, tendo como controle a concentração de fenólicos final da amostra B+E+L, que foi de $2,52 \pm 0,05$ g AGE/L.

A adsorção dos compostos fenólicos na hidrólise foi menor quando comparada à adsorção dos compostos na presença do licor somente (86%). A carga de sólidos na hidrólise quando somados o bagaço e a fuligem totalizam 15% e isto poderia estar dificultando a agitação do meio, contribuindo para a redução da eficiência da adsorção dos compostos fenólicos. Embora a redução dos fenólicos não tenha sido tão eficiente, a concentração de glicose foi aumentada de forma a ter diferença estatística.

Tabela 10 – Porcentagem de aumento de glicose e ART das hidrólises adicionando a fuligem ao processo.

	Glicose	ART
B+F5+L+E6h	15±4%	12±8%
B+E+F5+L	13±1%	17±9%

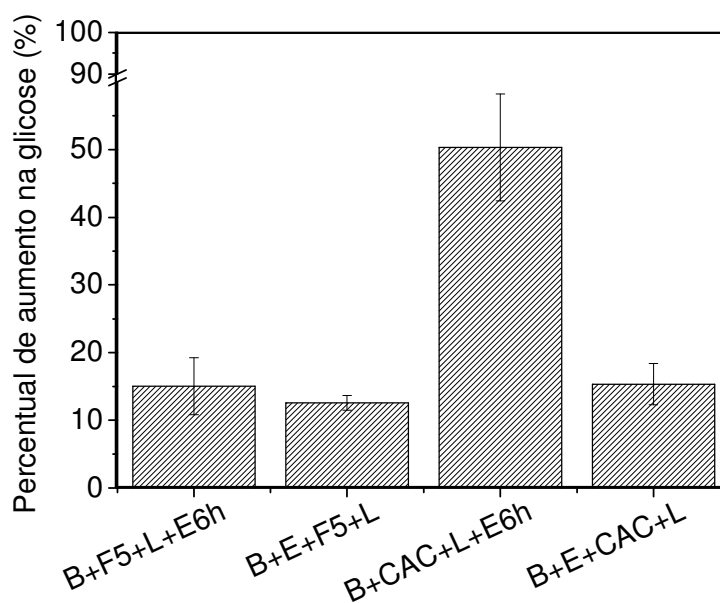
A fim de reduzir o problema de transferência de massa no processo, fizeram-se testes com uma carga de fuligem menor, de 2,5% (m/v), nas mesmas condições apresentadas anteriormente, no entanto, não foi encontrada melhora na concentração de glicose e nem de ART, visto que a remoção de fenólicos foi de apenas 37% ao final da hidrólise.

Até aqui foram feitas duas tentativas de redução de inibição dos fenólicos adicionando a fuligem na hidrólise enzimática. No entanto, não foram encontradas melhoras relevantes na concentração de glicose com as reduções de fenólicos obtidas. De modo a entender se é possível alcançar melhoras expressivas na concentração de glicose utilizando os procedimentos testados com um adsorvente comercial, foram feitos testes adicionando o carvão ativado na carga de 5%, nas mesmas condições de hidrólise utilizadas. Embora seja a mesma carga utilizada de fuligem, o carvão ativado é mais denso e ocupa menos volume na solução de hidrólise enzimática. Os resultados estão mostrados na Figura 30.

A adição do carvão ativado na hidrólise proporcionou um aumento médio de 50% na concentração de glicose quando a enzima foi adicionada após 6 h de processo. Ainda que o carvão ativado tenha melhor capacidade de adsorção que a fuligem A, a hipótese de que a agitação estaria sendo comprometida pelo volume de fuligem no reator não poderia ser descartada.

O carvão ativado reduziu a concentração de fenólicos totais ao final do processo para $0,55 \pm 0,03$ g AGE/L quando a enzima foi adicionada no início e para $0,52 \pm 0,01$ g AGE/L quando a enzima foi adicionada após 6 horas. Esta melhora da hidrólise após 6 horas de processo para o CAC pode ser devido à menor concentração de fenólicos totais no momento de adição da enzima, pois a adsorção necessita de determinado tempo para remover os fenólicos até a concentração necessária para atenuar a inibição.

Figura 30 – Porcentagem de aumento na concentração de glicose adicionando a fuligem A ou o carvão ativado na hidrólise, em pH 5, 50 °C, 30 rpm por 24h.



O aumento de glicose liberada para a enzima adicionada no início do processo utilizando a fuligem foi semelhante quando utilizado o CAC. Estes resultados sugerem que a inibição das enzimas pode ocorrer imediatamente quando são diluídas no licor, pois ainda não houve o tempo necessário para a adsorção eficiente dos fenólicos. Para a fuligem, quando a enzima é adicionada após 6 h inicia-se a hidrólise, a agitação da solução melhora e conseqüentemente a adsorção do licor também pode estar melhorando. Assim, para a fuligem não faz diferença se a enzima é adicionada 6 horas depois, visto que o processo de adsorção pode estar melhorando com o início do processo de hidrólise, e a inibição da enzima já pode ter ocorrido.

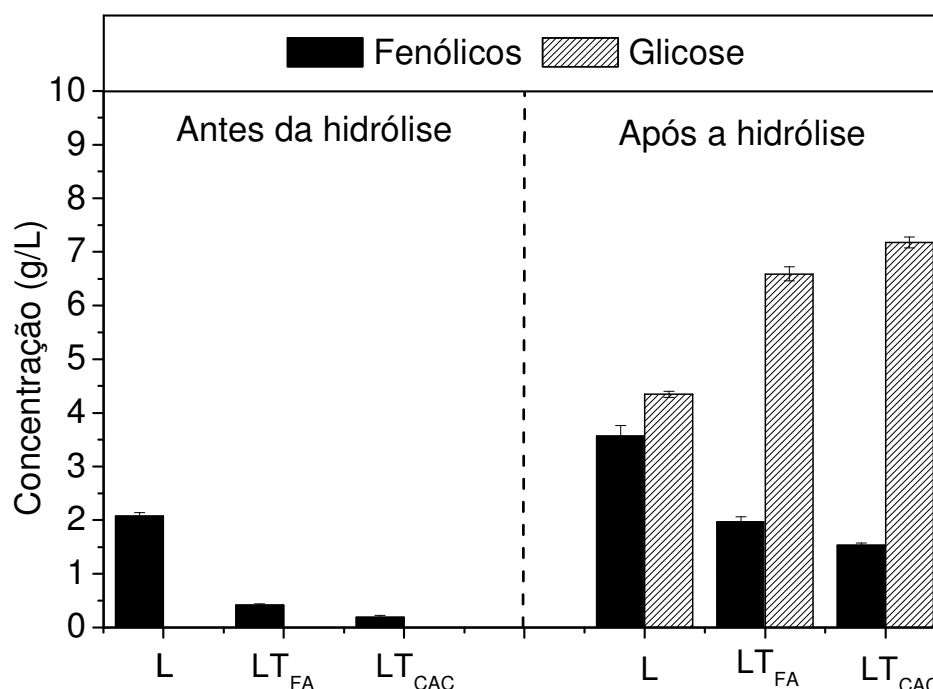
Já que não foi satisfatório a adição da fuligem na hidrólise, mas a adsorção dos fenólicos do licor foi eficiente quando realizada separadamente, foi adotada outra estratégia: a adsorção dos fenólicos do licor antes da hidrólise em duas etapas separadas. Os resultados estão mostrados no item a seguir.

5.5.2 Hidrólise enzimática do bagaço-de-cana com o licor tratado pela fuligem A

Antes da etapa de hidrólise foi realizada a adsorção dos compostos fenólicos do licor utilizando 5% (m/v) de fuligem A em 30 °C e 30 rpm até o equilíbrio.

Após a adsorção, o licor foi separado da fuligem A e o pH foi ajustado para pH 5 para do início da hidrólise enzimática. A adsorção também foi realizada utilizando o carvão ativado comercial (CAC), seguido da hidrólise enzimática usando o licor tratado, para fins comparativos. Os resultados obtidos para a adsorção de compostos fenólicos e a hidrólise enzimática usando os licores tratados são mostrados na Figura 31.

Figura 31 – Hidrólise enzimática do bagaço LHW após a adsorção dos fenólicos do licor (L – Licor, LT_{FA} – Licor tratado pela fuligem A e LT_{CAC} – Licor tratado pelo carvão ativado).

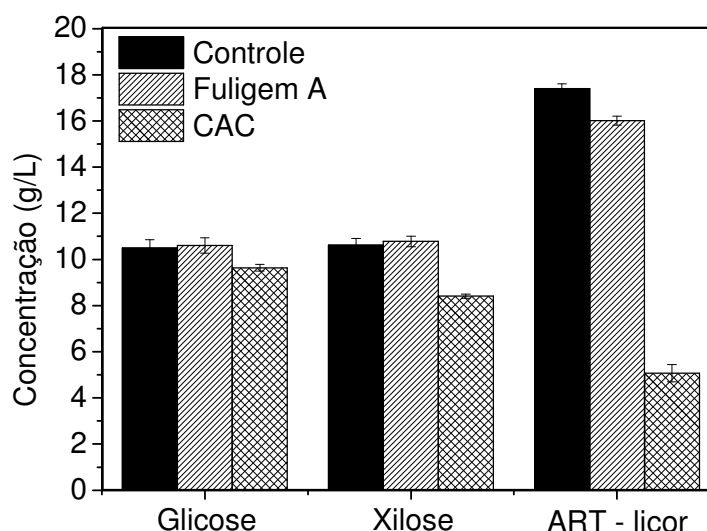


A concentração inicial de compostos fenólicos totais no licor foi $2,08 \pm 0,06$ g AGE/L. As porcentagens de remoção de cerca de 80% e 90% foram obtidas usando a fuligem do bagaço de cana-de-açúcar e o CAC, respectivamente. A hidrólise enzimática do bagaço de cana de cana pré-tratada LHW utilizando uma solução tampão foi realizada, resultando em uma concentração de glicose de $10,08 \pm 0,91$ g/L após 24 h de hidrólise. Assim, a presença dos inibidores enzimáticos no licor resultou em uma concentração de glicose 57% menor (L), quando comparada à hidrólise em tampão. Quando a concentração de fenólicos no licor foi reduzida por adsorção na fuligem, a hidrólise enzimática começou com uma concentração de

fenólicos de 0,42 g AGE/L, resultando em um aumento substancial de 52% na glicose liberada. Essa melhoria foi comparável ao aumento de 65% alcançado usando o carvão ativado comercial.

Um aspecto importante a ser considerado durante a seleção de um adsorvente para a remoção de inibidores do processo de conversão de biomassa é que a perda de açúcar deve ser evitada e/ou minimizada durante a adsorção. A fim de investigar a possível perda de açúcares, um conjunto de experimentos de adsorção foi realizado com glicose, xilose, bem como o licor LHW usando a fuligem A e carvão ativado comercial para comparação usando 5% (m/v) de adsorvente (Figura 32). Os resultados mostraram que não houve adsorção de açúcares puros de glicose e xilose ao usar a fuligem como adsorvente. Também para o licor LHW, apenas uma pequena diferença foi observada (8%) ao comparar a concentração inicial de ART com a adsorção em fuligem. Em contraste, para o carvão ativado comercial, a perda de açúcares no licor devido à adsorção foi de 71%. Tais resultados sustentam as vantagens do uso da fuligem para a remoção de compostos fenólicos gerados no pré-tratamento da biomassa.

Figura 32 - Adsorção de açúcares na fuligem A e no CAC.

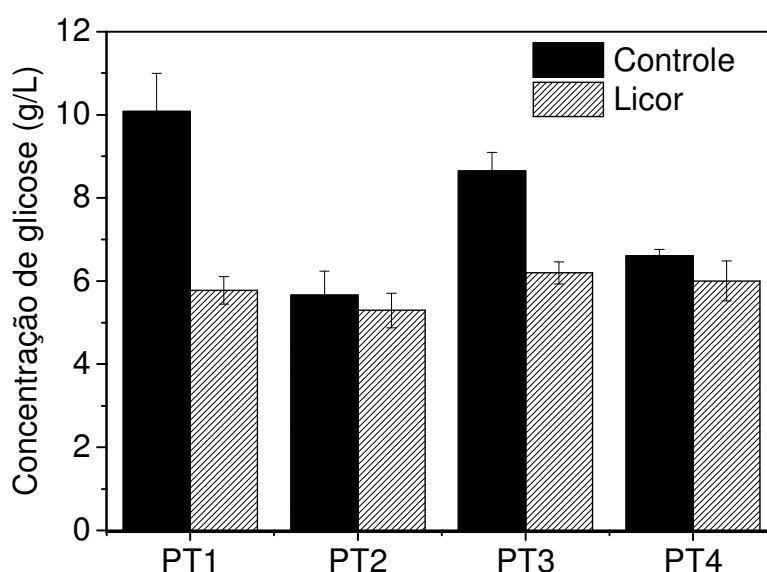


5.5.3 Estudo de reprodutibilidade de inibição do licor LHW

Foi realizado um estudo reprodutibilidade de inibição para diferentes pré-tratamentos do bagaço de cana-de-açúcar nas mesmas condições (195 °C, 10 min)

com a hidrólise enzimática do bagaço no licor e em tampão, nas condições de 10% de sólidos, 3 FPU/g de bagaço, pH 5, e 50 °C. Os licores e bagaços utilizados foram correspondentes aos pré-tratamentos realizados. Os resultados estão mostrados na Figura 33.

Figura 33 – Liberação de glicose para 4 pré-tratamentos realizados nas mesmas condições (195 °C, 10 min.). Condições: 10% de sólidos (m/v), 50 °C, pH 5, 30 rpm, 24 h. Controle: hidrólise em tampão pH 5.



Fazendo um comparativo entre os pré-tratamentos, nota-se que para a hidrólise realizada no licor do PT2 e PT4 não houve inibição e houve variação na redução de glicose para a hidrólise realizada no PT3 comparada ao PT1 para o controle. Estes resultados sugerem haver variabilidade no pré-tratamento do bagaço.

Embora as condições dos pré-tratamentos foram as mesmas, o reator utilizado necessita de uma rampa de aquecimento para atingir a temperatura de 195 °C. Uma hipótese para os resultados não terem reprodutibilidade de inibição é a variação no tempo de aquecimento do reator, logo as amostras poderiam sofrer alterações no mecanismo de degradação da biomassa durante o pré-tratamento. Visto que a biomassa inicia a sua degradação por volta de 180 °C (Bobleter, 1994) e o tempo do pré-tratamento pode influenciar na degradação da biomassa, foram comparados os tempos despendidos para o aquecimento total do reator até chegar à

temperatura de 195 °C, o tempo de aquecimento de 180 à 195 °C e a concentração de fenólicos totais obtida. Os dados estão dispostos na Tabela 11.

Tabela 11 – Tempos despendidos para o aquecimento do reator PARR e concentrações de fenólicos liberados.

Pré- tratamento	Tempo total de aquecimento (min)	Tempo de 180 até 195 °C (min)	Fenólicos totais (g AGE/L)
PT1	80	20	2,08±0,06
PT2	66	16	2,51±0,23
PT3	67	16	2,73±0,04
PT4	57	9	2,64±0,15

O tempo de aquecimento do pré-tratamento 1 (PT1) foi o mais longo comparado aos outros pré-tratamentos, que interessantemente liberou a menor concentração de fenólicos totais. O PT1 possui 4 minutos a mais de aquecimento após ter atingido 180 °C comparado ao PT2 e ao PT3 e 11 minutos a mais comparado ao PT4. Visto que o pré-tratamento acontece em tempos curtos, (10 minutos neste trabalho) 4 minutos de aquecimento acima de 180 °C é um tempo significativo e poderia causar variações expressivas nas concentrações e tipos de inibidores gerados. Essas hipóteses podem ser confirmadas pela variação da concentração de fenólicos totais liberados, mostrados na Tabela 11.

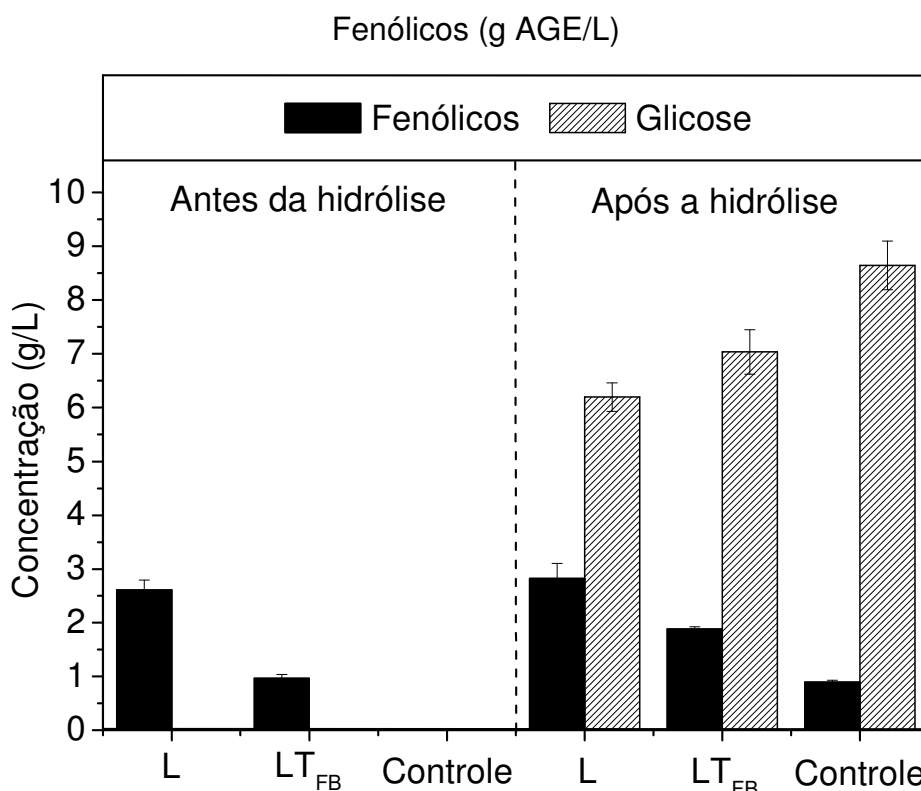
Embora os pré-tratamentos 2 e o 3 apresentaram condições de aquecimento bem próximas, uma hipótese para a variação da hidrólise enzimática seria a própria heterogeneidade e complexidade da estrutura lignocelulósica, que poderiam contribuir para a não reprodutibilidade dos produtos gerados e conseqüentemente alteraria o comportamento da hidrólise enzimática. De acordo com Wyman *et al.* (2005), a estrutura completa da biomassa e as composições da lignina que se unem às fibras celulósicas formando uma estrutura de compósito não é totalmente conhecida. Outra hipótese para esses resultados seria a adsorção improdutiva da enzima na lignina, que poderia estar mascarando o efeito de inibição do licor.

A fim de dar continuidade ao estudo da remoção dos compostos fenólicos do licor para melhora da hidrólise enzimática e a fermentação, foram realizados testes de adsorção do licor PT3 e a hidrólise enzimática com o licor tratado pela fuligem B e B ativada e o carvão ativado de casca de coco, os resultados estão mostrados a seguir.

5.5.4 Hidrólise enzimática do bagaço-de-cana com o licor tratado pela fuligem B e fuligem B ativada

Assim como a fuligem A, foi realizada a hidrólise enzimática do bagaço com o licor tratado por 5% (m/v) de fuligem B. Embora o percentual de remoção dos fenólicos do licor da fuligem B foi inferior ao da fuligem A, foi necessário verificar se o processo seria melhorado utilizando este adsorvente. Os resultados estão mostrados na Figura 34.

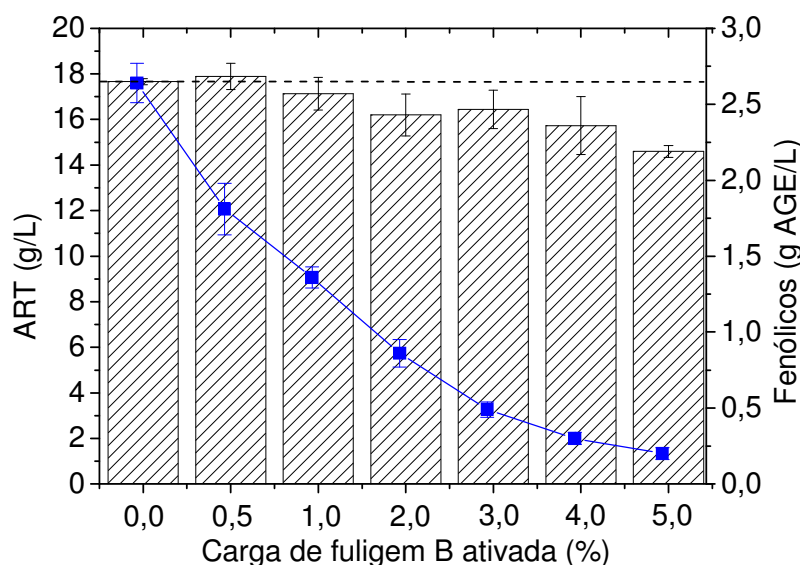
Figura 34 - Hidrólise enzimática do bagaço LHW após a adsorção dos fenólicos do licor com a fuligem B. L – Licor, LT_{FB} – Licor tratado com 5% (m/v) fuligem B.



Nota-se que aplicando a fuligem B para tratar o licor não houve uma melhora expressiva na concentração de glicose (15%), com remoção de 60% dos

fenólicos totais. Como verificado nos resultados das propriedades estruturais, a fuligem B apresentou baixa área de superfície (Tabela 4), logo, 5% deste material foi ineficiente para tratar o licor. A fim de melhorar as suas propriedades, foi realizada a sua ativação física com CO₂ por 2 h em 800 °C. O processo de ativação aumentou 1,5 vezes a remoção dos fenólicos totais do licor (PT3), atingindo um percentual de 93% de remoção, utilizando 5% (m/v) de adsorvente a 30 °C, pH do licor (3,6) e 30 rpm. Com o intuito de escolher a carga mais adequada para tratar o licor, foram feitos testes da carga de fuligem B ativada variando de 0,5 a 5% (m/v) na adsorção do licor, nas mesmas condições de anteriormente. Os resultados estão dispostos na Figura 35.

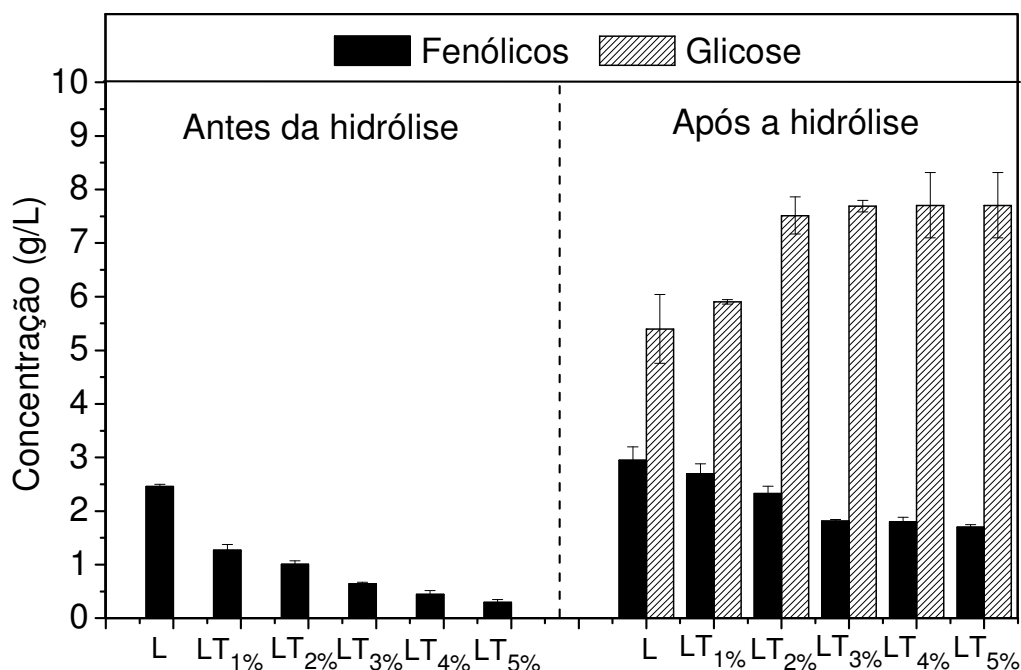
Figura 35 – Adsorção do licor na fuligem B ativada em 30 °C, pH do licor (3,6) e 30 rpm para diferentes cargas de adsorvente.



A máxima eficiência de remoção de fenólicos ($93\pm 2\%$) foi atingida para a maior carga testada, de 5%, e a remoção de ART foi de $17\pm 1\%$. A remoção de açúcares redutores ao longo da variação da carga de adsorvente pode estar atribuída aos grupos funcionais hidrofílicos presentes na superfície da fuligem (Tabela 5), que podem ter favorecido a afinidade da superfície da fuligem com os açúcares redutores. Com o intuito de escolher a melhor carga para tratar o licor, foram escolhidas as cargas de adsorvente a partir de 1%. Observa-se que com 3% de fuligem ativada foram removidos $82\pm 2\%$ de fenólicos, que foi a porcentagem de remoção atingida por

5% (m/v) de fuligem A e que proporcionou melhora da hidrólise enzimática. Os resultados da hidrólise estão mostrados na Figura 36.

Figura 36 – Hidrólise enzimática do bagaço LHW após a adsorção dos fenólicos do licor com a fuligem B ativada. L – Licor, LT_{x%} – Licor tratado por 1, 2, 3, 4 e 5% de fuligem B ativada, respectivamente. Fenólicos (g AGE/L).



Os resultados da hidrólise mostraram que 2% deste adsorvente foi suficiente para atingir a concentração máxima de glicose que poderia ser obtida ($7,69 \pm 0,11$) comparada ao controle, reduzindo a concentração de fenólicos totais para 1,12 g/L (60% de remoção) antes da hidrólise. Para fins comparativos, na hidrólise realizada como controle utilizando tampão ao invés de licor, a concentração de glicose foi de $7,62 \pm 0,38$ g/L. Para 2% de fuligem B ativada, foram removidos apenas 9% de açúcares redutores totais, que foi semelhante à quantidade removida pela fuligem A na carga de 5%.

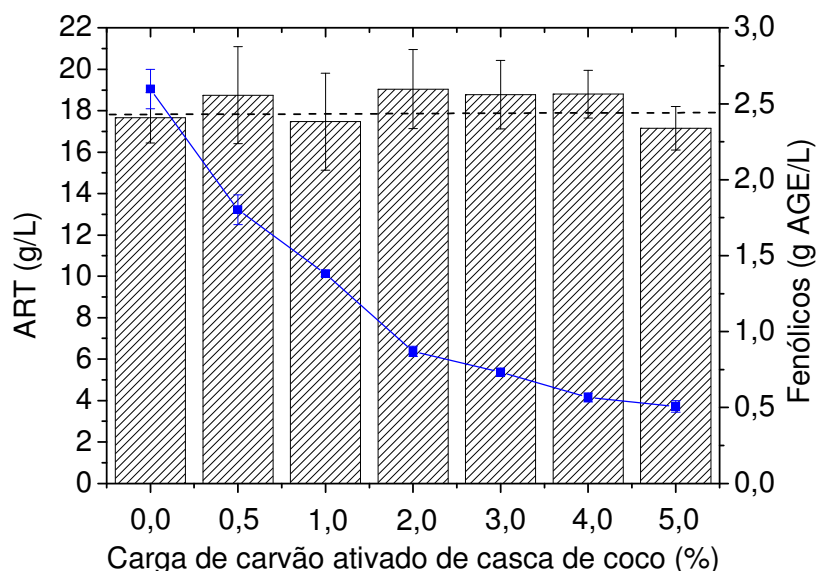
Interessantemente, a mesma quantidade de fenólicos removidos pela fuligem B comparada à da fuligem B ativada (60%) não proporcionou a mesma melhora na eficiência da hidrólise enzimática do bagaço, sendo de 15% para a fuligem B e de 28% para a fuligem B ativada. Isso pode ter ocorrido porque a fuligem B após a ativação removeu os fenólicos que foram os maiores inibidores da enzima. A ativação da fuligem promoveu o alargamento dos poros e conseqüentemente pode

ter favorecido a adsorção de fenólicos de tamanhos maiores (oligoméricos), os quais têm sido relatados como potentes inibidores de enzima (Tejirian e Xu, 2011; Ximenes *et al.*, 2011; Rasmussen *et al.*, 2017). Portanto, o tipo de fenólicos removidos do licor é um fator considerável para garantir a redução de inibição da enzima na hidrólise enzimática.

5.5.4 Hidrólise enzimática do bagaço-de-cana com o licor tratado pelo carvão ativado de casca de coco

Embora o resultado obtido anteriormente para a hidrólise utilizando o coquetel de inibidores tratado pelo carvão ativado de casca de coco não tenha sido positivo, foi testado o uso deste adsorvente para o tratamento do licor do pré-tratamento PT3, já que foi constatado que tem boa capacidade de adsorção de compostos fenólicos. Para a adsorção do licor também foram testadas cargas de adsorvente de 0,5 a 5% (m/v). Os resultados estão mostrados na Figura 37.

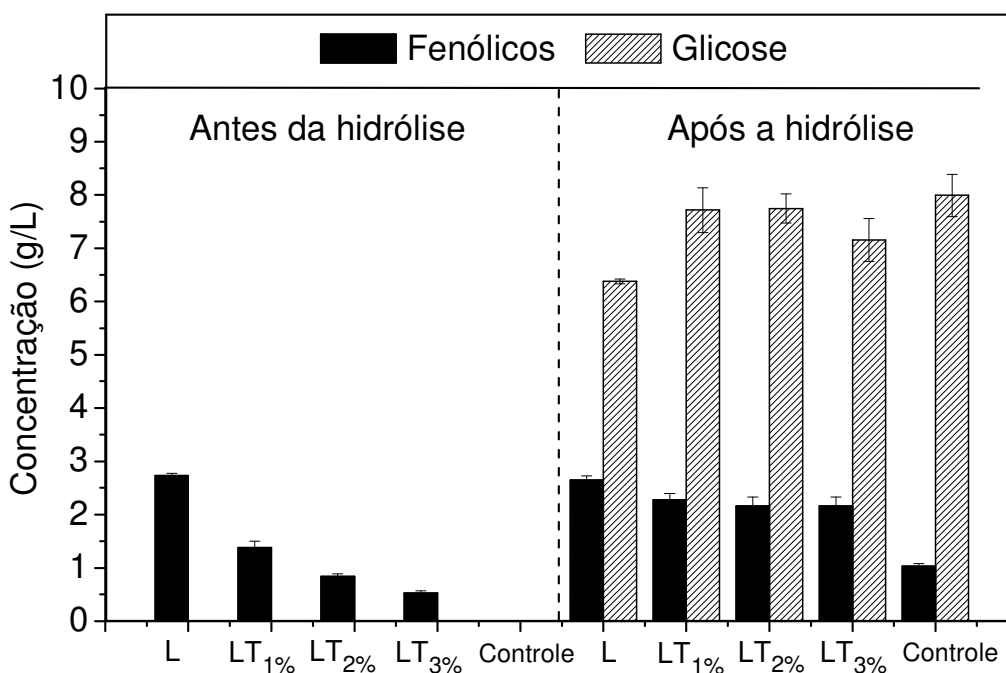
Figura 37 - Adsorção do licor PT3 no carvão ativado de casca de coco em 30 °C, pH do licor (3,6) e 30 rpm para diferentes cargas de adsorvente.



Os resultados mostraram que não houve adsorção de açúcares redutores totais, independente da carga de adsorvente utilizada. Sobretudo, foi verificado também que este adsorvente não tem afinidade com glicose e nem xilose,

visto que não houve adsorção destes compostos uma vez que não houve adsorção destes compostos isolados. Para os fenólicos do licor, cargas de 1 2 e 3% de adsorvente removeram 50, 67 e 73% dos fenólicos totais, respectivamente, com pouca variação na remoção quando se aumentou a carga até 5% de adsorvente, atingindo 81% de remoção para esta última carga. Desta forma, foram escolhidas as cargas de 1, 2 e 3% para tratar o licor antes de utilizá-lo na hidrólise enzimática do bagaço-de-cana. A hidrólise enzimática do bagaço foi realizada nas mesmas condições da hidrólise modelo (50°C, pH 5, 30 rpm) com 3 FPU/g substrato). Os resultados estão mostrados na Figura 38.

Figura 38 - Hidrólise enzimática do bagaço LHW após a adsorção dos fenólicos do licor com o carvão ativado de casca de coco (CACO). L – Licor, LT_{x%} – Licor tratado por 1, 2 e 3% de CACO, respectivamente. Fenólicos (g AGE/L).



Nota-se que apenas 1% de carvão ativado de casca de coco (CACO) foi o suficiente para a concentração de glicose atingir o valor obtido com controle realizado somente com tampão. Houve 28% de aumento na concentração de glicose em relação a hidrólise na presença do licor, com 50% de remoção dos fenólicos totais. Quando utilizado 3% deste adsorvente, aparentemente o rendimento de glicose foi inferior, entretanto não houve diferença estatística desta amostra em relação às amostras

LT1% e LT2% para o teste de Tukey a 95% de confiança. Logo, utilizar o CACO para remoção dos compostos fenólicos antes da hidrólise enzimática pode ser tão eficiente quanto usar a fuligem.

Outros estudos relataram melhorias na hidrólise enzimática após a remoção de compostos fenólicos do licor de pré-tratamento. Kim *et al.* (2011) encontraram que o uso de carvão ativado para remover fenóis do licor de pré-tratamento líquido de maple aumentou o rendimento de hidrólise em 20%. Kim *et al.* (2011) removeram fenóis de hardwood pré-tratada com vapor usando XAD-7, o que aumentou o rendimento de hidrólise em 25%. Zhai *et al.* (2016) também relataram rendimentos aumentados na hidrólise de poplar e lodgepole pré-tratados a vapor, quando os fenólicos foram removidos usando carvão ativado.

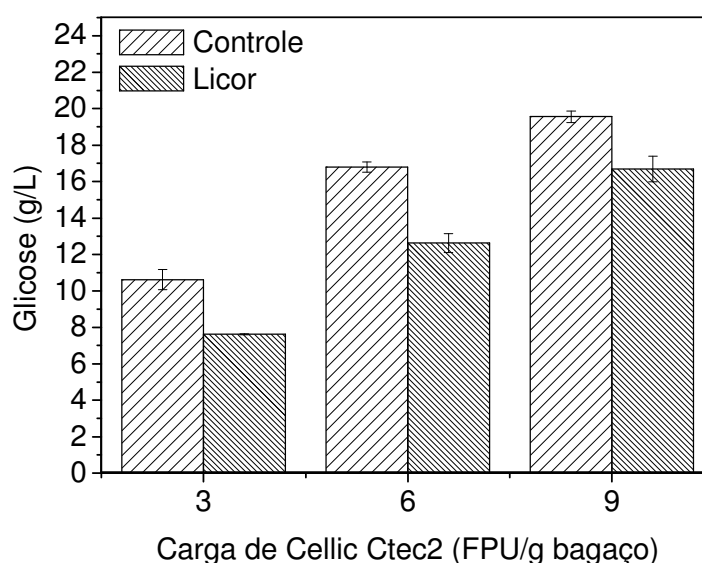
As melhorias na hidrólise enzimática após a remoção de fenólicos podem ser explicadas pela redução nos efeitos inibitórios dos compostos na atividade das enzimas celulolíticas. González-Bautista *et al.* (2017) avaliaram as atividades de endoglucanase e xilanase na presença de diferentes concentrações de compostos fenólicos liberados durante a sacarificação do bagaço de cana-de-açúcar. A atividade da endoglucanase mostrou 64% de inibição em 50 µg/mL de compostos fenólicos, enquanto que a atividade da xilanase mostrou 77% de inibição a 100 µg/mL de fenólicos. A fim de reduzir os efeitos inibitórios dos compostos fenólicos, foram adicionados PVP e PEG (polímeros) ao processo de produção enzimática, com efeitos positivos na liberação de açúcares redutores, porque a ligação dos polímeros aos compostos fenólicos atuou para proteger a enzimas.

Após os estudos de hidrólise com o licor tratado, foi realizado um estudo de hidrólise do bagaço no licor PT3 aumentando a carga de enzima até 9 FPU/g. Os resultados estão mostrados na Figura 39.

Curiosamente, ocorreu o mesmo comportamento que foi obtido para as hidrólises da celulose na presença do coquetel C1,0HF (Figura 25), onde a glicose obtida para 6 FPU/g sem inibidores (condição controle) foi equivalente aquela obtida para 9 FPU/g na presença de inibidores (do licor). Estes resultados significam também que para o mesmo rendimento de glicose, seria necessário 50% a mais de enzima na hidrólise se o licor PT3 não fosse tratado, já que a hidrólise com o licor PT3 tratado poderia ser similar à hidrólise controle. Apesar da necessidade de reduzir os efeitos inibitórios dos fenólicos a fim de melhorar as reações de hidrólise enzimática da biomassa lignocelulósica, a implementação da maioria das opções tecnológicas

reportadas na literatura provavelmente não seria economicamente viável em processos industriais de grande escala. Portanto, é necessário encontrar estratégias mais econômicas para mitigar os efeitos dos inibidores das reações bioquímicas envolvidas na conversão de biomassa lignocelulósica.

Figura 39 - Hidrólise enzimática do bagaço aumentando a carga enzimática para o controle (hidrólise em tampão sem inibidores) e na presença do licor PT3.



Neste trabalho, verificou-se que a remoção de compostos fenólicos do licor de pré-tratamento de LHW usando a fuligem de bagaço de cana-de-açúcar e o carvão ativado de casca de coco foi muito eficiente e proporcionou um aumento significativo na glicose liberada durante a reação de hidrólise enzimática. A fuligem é um material residual gerado nas caldeiras da usina de cana-de-açúcar após a carbonização incompleta do bagaço-de-cana, que é usado como combustível nas caldeiras para a produção de energia (Lado *et al.*, 2016). Mostramos aqui que estes adsorventes são de baixo custo, ou sem custo como a fuligem A, com eficiência comparável à de um carvão ativado comercial para a remoção de compostos fenólicos de licor de pré-tratamento LHW de bagaço de cana-de-açúcar.

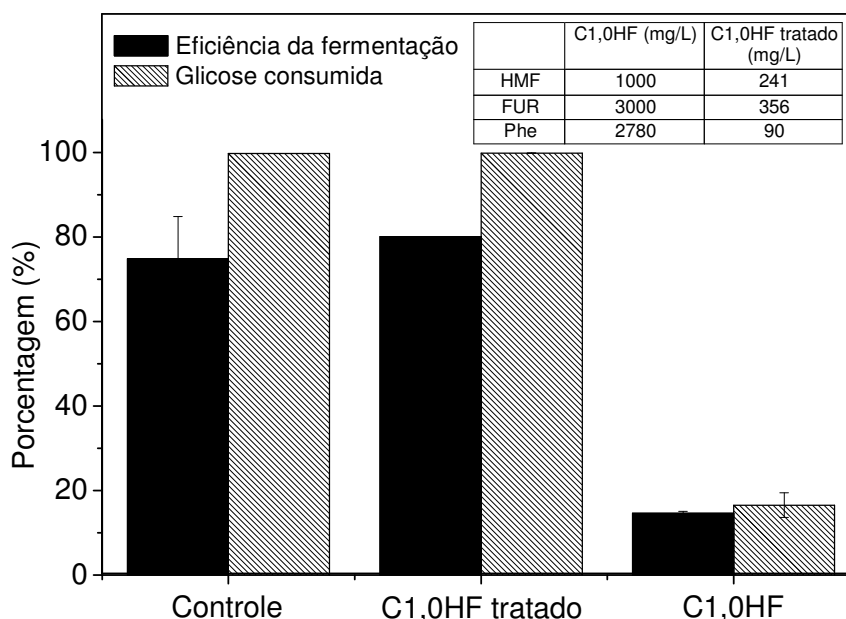
5.6 Fermentação após detoxificação dos inibidores

Primeiramente foi realizada a fermentação alcoólica de um hidrolisado obtido de celulose na presença de um coquetel de inibidores (C1,0HF). Este coquetel

foi tratado com 2% de fuligem B ativada (carga previamente escolhida com base no estudo de adsorção do item 5.4.2). Após a remoção dos fenólicos, foi realizada a hidrólise da celulose na presença deste coquetel tratado com 6 FPU/g de enzima, nas mesmas condições realizadas anteriormente (50 °C, pH 5, 24 h, 30 rpm) e em seguida foi realizada a fermentação a 34 °C por 8 h. A Figura 40 mostra a porcentagem de glicose consumida e da eficiência da fermentação e a concentração dos inibidores antes e após a adsorção.

Figura 40 - Fermentação alcoólica após hidrólise de celulose na presença do coquetel C1,0HF tratado com 2% de fuligem B ativada. Concentrações de HMF, furfural (FUR) e fenólicos totais (mg AGE/L) são apresentadas antes e depois da adsorção (ads). Controle: Fermentação da glicose obtida da hidrólise em tampão pH

5.



A adsorção de fenólicos, HMF e furfural presentes no coquetel C1,0HF na fuligem B ativada anteriormente à hidrólise enzimática promoveu 97, 76 e 88% de remoção, respectivamente. A remoção desses compostos evitou a inibição da levedura resultando num aumento notável da eficiência da fermentação (5,5 vezes) comparado com a fermentação do hidrolisado produzido na presença do coquetel C1,0HF.

As concentrações de 0,090 g AGE/L de compostos fenólicos, 0,241 e 0,356 g/L de HMF e furfural, respectivamente, após a adsorção do coquetel C1,0HF em fuligem B ativada não interferiram na fermentação alcoólica para esta condição. Portanto, a detoxificação deve garantir que o composto inibidor deve ser reduzido a uma concentração mínima que não interfira no processo de produção de etanol. Neste trabalho foi possível garantir a capacidade da fuligem B ativada para a remoção de compostos fenólicos e furaldeídos presentes no hidrolisado da biomassa lignocelulósica utilizada na produção de etanol.

Em seguida, foi realizada a fermentação da glicose na presença do licor do pré-tratamento da biomassa (PT4). Este licor foi tratado com 3% (m/v) da fuligem B ativada, 2% (m/v) do carvão ativado de casca de coco e 5% do carvão ativado comercial e fermentações foram realizadas nestes licores tratados, bem como para um controle sem inibidores, que é a fermentação da glicose em tampão pH 4,6. As cargas de 3% de fuligem B ativada e 2% de carvão ativado de casca de coco foram escolhidas a fim de assegurar uma detoxificação eficiente antes do processo de fermentação. A concentração de fenólicos totais, HMF e furfural do licor antes e após a adsorção do licor estão na Tabela 12. A fermentação dos licores tratados foi realizada com 14 g/L de glicose inicial e 2 g/L de levedura.

Tabela 12 - Concentrações de inibidores antes e após a adsorção. LT – licor tratado; CAC – carvão ativado comercial; FBA – Fuligem B ativada; CACO – carvão ativado de casca de coco.

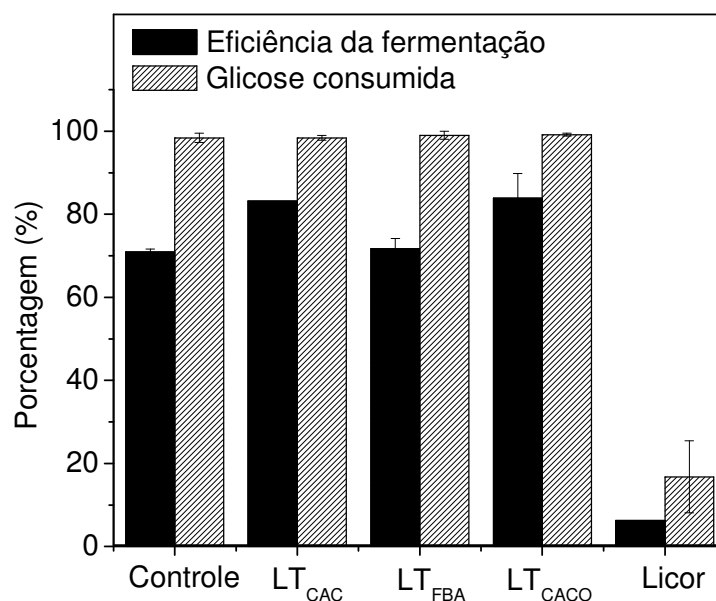
	Fenólicos totais (g AGE/L)	HMF (g/L)	Furfural (g/L)
Licor (inicial)	2,64±0,15	0,21	0,66
LT - FBA 3%	0,93±0,04	0,02	0,12
LT - CACO 2%	1,40±0,01	0,00	0,00
LT - CAC 5%	0,19±0,01	0,00	0,00

A Tabela 12 mostra que a fuligem B ativada e o carvão ativado de casca de coco foram eficientes para remover os inibidores da fermentação. Embora a fuligem B ativada tenha removido 90% de HMF e 82% de furfural, o carvão ativado de casca de coco em menor carga (2%) foi mais eficiente para a adsorção dos furaldeídos.

Como esperado, o carvão ativado removeu praticamente todos os fenólicos (93% de remoção) e completamente o HMF e o furfural. Os resultados da fermentação (Figura 41) mostram que houve pouquíssima produção de etanol na presença do licor original. Estas remoções promoveram um aumento de 11 e 14 vezes na eficiência da fermentação, usando a fuligem B ativada e o carvão ativado de casca de coco, respectivamente, sendo este último comparável ao carvão ativado comercial. A eficiência do etanol produzido pelo licor tratado com o carvão ativado de casca de coco foi superior à eficiência do etanol produzido pela fuligem B ativada e curiosamente, foi superior ao controle.

Figura 41 - Fermentação alcoólica da glicose na presença do licor do bagaço-de-cana LHW tratado com 5% (m/v) de carvão ativado comercial (CAC), 3% (m/v) de fuligem B ativada (FBA) e 2% (m/v) de carvão ativado de casca de coco (CACO).

Controle: fermentação da glicose em tampão pH 4,6.



Pelos resultados da Tabela 12, pode-se inferir que os fenólicos foram menos tóxicos para a levedura, uma vez que sobrou 1,3 g/L na solução tratada pelo carvão ativado de casca de coco e a levedura conseguiu realizar a fermentação de forma satisfatória. Uma hipótese para as fermentações realizadas na presença dos licores tratados por carvão ativado de coco e comercial serem maiores que o controle é de que a levedura pode estar consumindo outros tipos de açúcares redutores

presentes no licor, pois no controle há somente glicose e tampão sem inibidores. Outra hipótese para a melhora destas eficiências é que outros furaldeídos não foram completamente removidos pela fuligem B ativada ou que algum outro composto inibidor presente no licor foi melhor removido por estes adsorventes do que pela fuligem B ativada.

Resultados semelhantes foram encontrados por Miyafuji *et al.*, (2003) e Yoshioka *et al.*, (2018). Os autores encontraram que sem a detoxificação de hidrolisados, não foi viável realizar a fermentação alcoólica. Miyafuji *et al.*, (2003) verificaram que a remoção de compostos fenólicos e furanos de um hidrolisado obtido a partir de spruce chips com carvão de madeira aumentou a fermentabilidade da glicose usando *Saccharomyces cerevisiae*. Yoshioka *et al.*, (2018) utilizaram como adsorvente a lignina residual formada após a SSCF (sacarificação simultânea e co-fermentação). Os autores aplicaram a detoxificação do licor do pré-tratamento de *Eucalyptus globulus* antes do processo de hidrólise e realizando a adsorção, hidrólise e a fermentação simultaneamente, onde o bioetanol só foi produzido para os métodos utilizados, usando *Zymomonas mobilis* geneticamente modificada, após a detoxificação do licor ou colocando o adsorvente no processo SSCF.

Portanto, o uso da adsorção tem se mostrado uma técnica adequada para melhorar a produção de etanol, bem como o uso de adsorventes alternativos, que minimizariam os custos para o processo. Assim, a fuligem e o carvão ativado de casca de coco mostraram que podem ser adsorventes promissores para esta aplicação.

5.7 Estudo de minimização da quantidade de adsorvente para tratar o licor do pré-tratamento do bagaço

A fuligem B como recebida pela usina apresentou baixa área de superfície, e desta forma poderia ser requerida alta carga de adsorvente no processo, tornando inviável a sua utilização como adsorvente. A ativação física da fuligem foi essencial para alcançar os resultados desejados, e apenas 2% deste adsorvente foi necessário para aumentar a eficiência da hidrólise enzimática. A fuligem é produzida em quantidades relativamente pequenas na usina, o processo de ativação requer custos e ainda há uma perda de aproximadamente 30% da massa de fuligem utilizada na ativação. Sendo assim, a menor quantidade de fuligem ativada pode ser desejável

para o processo de adsorção dos fenólicos do licor. Outro aspecto importante é que minimizando a carga de fuligem na adsorção, reduz-se também a remoção dos açúcares redutores totais. Assim como a fuligem, o carvão de casca de coco também passou pelo processo de ativação física, logo, também é interessante que sua carga seja minimizada no processo. A carga de adsorvente pode ser reduzida se forem utilizadas estratégias de bateladas em multiestágios.

É possível estimar a quantidade mínima de adsorvente, considerando que as isotermas obtidas para o licor PT3 em fuligem B ativada e do carvão ativado de casca de coco seguiram a forma de Freundlich ($R^2 = 0,98$ e $0,99$, respectivamente) (Figura 42), utilizando o balanço de massa a seguir para dois estágios de adsorção.

$$W = W_1 + W_2 = \frac{V \cdot (C_0 - C_1)}{C_1^{\frac{1}{n}}} + \frac{V \cdot (C_1 - C_2)}{C_2^{\frac{1}{n}}} \quad (9)$$

V é o volume de solução.

C_0 é a concentração inicial de fenólicos.

C_1 é a concentração de fenólicos de saída do estágio 1

C_2 é a concentração de fenólicos de saída do estágio 2.

W é a massa de adsorvente.

n é um parâmetro da isoterma de Freundlich.

Derivando-se a Equação 9 com relação a C_1 e igualando-se a zero, $(dW_{total}/dC_1) = 0$, obtém-se o ponto de mínimo da função para W, resultando na Equação 10. A dedução da derivada desta equação está apresentada no Apêndice D.

$$\left(\frac{C_1}{C_2}\right)^{\frac{1}{n}} = 1 + \frac{(C_0 - C_1) \cdot \left(\frac{1}{n}\right)}{C_1} \quad (10)$$

Primeiro determinou-se C_1 com a Equação 10, fixando C_2 (concentração final) de acordo com as concentrações obtidas para reduzir a inibição na hidrólise (0,86 g/L para a fuligem ativada e 1,38 g/L para o carvão ativado de casca de coco) e depois W_1 e W_2 com a equação 9 e conseqüentemente, W. A solução da Equação 10 é implícita e foi resolvida com o auxílio do Solver. Os parâmetros utilizados para a

resolução da Equação 10 e os parâmetros da isoterma de Freundlich estão mostrados na Tabela 13.

Figura 42 – Isotherma do licor PT3 na fuligem B ativada (a) e no carvão ativado de casca de coco (b).

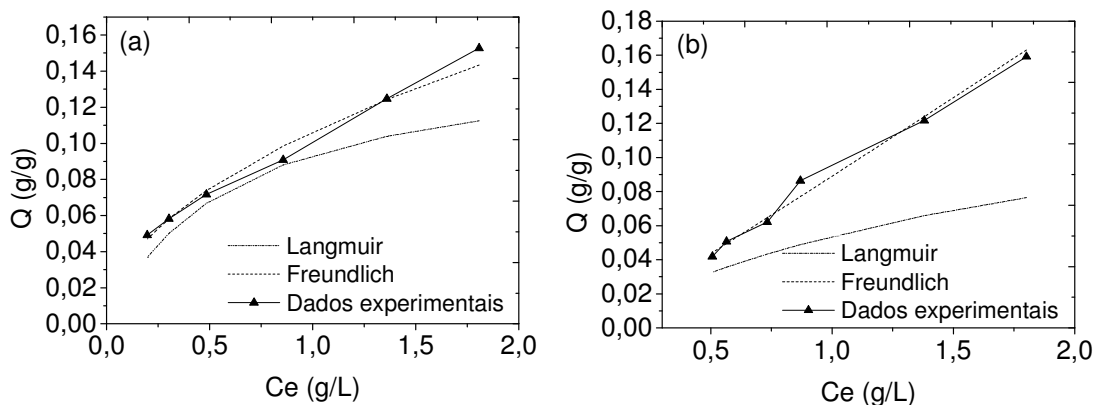


Tabela 13 – Parâmetros utilizados para os cálculos da quantidade mínima de adsorvente em dois estágios.

Parâmetros	Fuligem B ativada	Carvão ativado de casca de coco
Co de fenólicos totais do licor	2,6 g/L	2,6 g/L
V	0,002 L	0,002 L
1/n	0,504	1,0282
K	1,06E-1 L/g	0,089 g/g.(L/g) ^{1/n}

O volume utilizado para os cálculos foi de um tubo de 2 mL, e a carga de adsorvente calculada está expressa em porcentagem. Utilizando os parâmetros encontrados na isoterma de Freundlich, as quantidades de fuligem ativada encontradas utilizando as Equações 9 e 10 foram de 1,1% de adsorvente no primeiro estágio para atingir 1,33 g/L e 0,5% no segundo estágio para atingir 0,86 g/L. Estes resultados mostram que é possível diminuir a quantidade total de adsorvente na adsorção de 2 para 1,6%, que significa uma redução de 20% de fuligem ativada.

Para o carvão ativado de casca de coco, 1% foi a carga ideal para a melhora da hidrólise enzimática, entre as cargas testadas. Realizando os cálculos de

minimização, para o primeiro estágio seria necessário 0,5% de adsorvente para atingir 1,78 g/L, e 0,3% para atingir 1,38 g/L no segundo estágio de adsorção, que foi a concentração mínima encontrada para reduzir a inibição da hidrólise, totalizando 0,8% de adsorvente requerido para dois estágios de adsorção. Ou seja, assim como a fuligem, a carga de adsorvente também poderia ser reduzida em 20%.

Neste trabalho, verificou-se que a remoção de compostos fenólicos do licor de pré-tratamento de LHW usando fuligem de bagaço de cana-de-açúcar e o carvão ativado de casca de coco foi muito eficiente e proporcionou um aumento significativo na glicose liberada durante a reação de hidrólise enzimática. Mostramos aqui que tanto a fuligem quanto o carvão de casca de coco ativados são adsorventes de baixo custo com eficiência comparável à de um carvão ativado comercial para a remoção de compostos fenólicos do licor do pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar LHW.

O uso proposto destes adsorventes para a remoção dos inibidores gerados no pré-tratamento da biomassa lignocelulósica também pode contribuir para a implementação de diferentes configurações de processo dentro da biorrefinaria. A eficiência melhorada das reações de hidrólise enzimática para produzir açúcares simples poderia permitir uma melhor eficiência do processo de fermentação para obter etanol ou outros bioprodutos. Além disso, a remoção de fenólicos também pode ser aplicada para melhorar o uso dos açúcares de pentoses presentes no licor em aplicações distintas. Esta configuração contribuiria para o uso dos açúcares da fração hemicelulósica, o que é crucial para o uso eficiente da biomassa vegetal na biorrefinaria (Dodd e Cann, 2009). O uso de açúcares como plataforma para obter biocombustíveis e diferentes bioprodutos empregando química verde e sustentável é considerado como a rota mais promissora para alcançar as demandas atuais de uma futura economia de bioprodutos.

6. CONCLUSÕES

A remoção dos compostos fenólicos gerados durante o processo de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica é necessária para minimizar a inibição das enzimas e leveduras e assim, melhorar a eficiência da hidrólise enzimática e a fermentação alcoólica. Neste trabalho, demonstramos que os adsorventes avaliados (fuligem do bagaço de cana-de açúcar e carvão ativado de casca de coco) podem proporcionar remoção altamente eficaz de compostos fenólicos do licor de pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana. Os adsorventes foram capazes de adsorver compostos fenólicos monoméricos e oligoméricos. Esta característica é essencial, porque os licores derivados de diferentes tipos de matéria-prima lignocelulósica e diferentes processos de pré-tratamento irão conter uma variedade de compostos fenólicos com diferentes tamanhos e cargas. O licor proveniente do pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar previamente tratado antes da hidrólise enzimática com a fuligem A proporcionou um aumento de 52% na concentração de glicose, comparável aos resultados obtidos com carvão ativado comercial. O uso da fuligem B ativada e o carvão ativado de casca de coco promoveram um aumento de 28% na concentração de açúcar liberada na hidrólise, utilizando um licor com inibição equivalente. Para o processo de fermentação na presença do licor, foi crucial o tratamento dos licores pela adsorção, reduzindo a concentração de compostos inibidores, sendo que foi mais eficiente utilizando o carvão ativado de casca de coco comparado à fuligem B ativada.

Ativar a fuligem fisicamente é uma alternativa quando o material não apresenta uma área de superfície suficiente para a remoção eficiente dos compostos fenólicos do licor e também para poder reduzir a quantidade de adsorvente na adsorção. Embora a adsorção dos compostos fenólicos do licor seja uma etapa a mais no processo, devem ser levados em conta os ganhos de reutilizar o licor do pré-tratamento para aproveitar os açúcares de pentoses, melhor aproveitamento da enzima na hidrólise, gerando maior concentração de glicose para a fermentação e melhora também no processo de fermentação, visto que as leveduras também são inibidas pelos compostos fenólicos.

Portanto, o uso fuligem, bem como o carvão ativado de casca de coco como adsorvente para a remoção de fenólicos e furaldeídos é altamente atrativo, especialmente porque os materiais precursores são resíduos, reduzindo custos

envolvidos na aquisição do adsorvente. Os resultados relatados aqui poderiam potencialmente contribuir para a implementação de processamento industrial de larga escala mais eficiente da lignocelulose de biomassa para produzir açúcares ou outros bioprodutos, em conformidade com o conceito de biorrefinaria.

7. SUGESTOES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar a regeneração dos adsorventes utilizando solventes para realizar a dessorção dos compostos;
- Realizar a análise por espectroscopia de fotoelétrons por raios X (XPS) para quantificar os grupos funcionais da superfície dos adsorventes;
- Avaliar tratamentos químicos para aumentar a afinidade entre os adsorventes e os inibidores do licor;
- Realizar a detoxificação do hidrolisado antes da fermentação alcoólica;
- Avaliar a fermentação da xilose com o licor tratado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADINAVEEN, T.; KENNEDY, L. JOHN; VIJAYA, J. JUDITH; SEKARAN, G. Studies on structural, morphological, electrical and electrochemical properties of activated carbon prepared from sugarcane bagasse. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 19, n. 5, p. 1470-1476, 9/25/ 2013. ISSN 1226-086X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1226086X13000154> >.

AHMARUZZAMAN, M.; SHARMA, D. K. Adsorption of phenols from wastewater. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 287, n. 1, p. 14-24, 7/1/ 2005. ISSN 0021-9797. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979705000858> >.

AN, J.-H.; DULTZ, S. Adsorption of tannic acid on chitosan-montmorillonite as a function of pH and surface charge properties. **Applied Clay Science**, v. 36, n. 4, p. 256–264, May 2007. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.clay.2006.11.001> >.

ANDRADE, J. R.; DA SILVA, M. G. C.; GIMENES, M. L.; VIEIRA, M. G. A. Bioadsorption of trivalent and hexavalent chromium from aqueous solutions by sericin-alginate particles produced from Bombyx mori cocoons | SpringerLink. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 26, p. 25967-25982, 2018. Disponível em: < <https://link-springer-com.ez31.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s11356-018-2651-5> >.

ANIA, C. O.; PARRA, J. B.; PIS, J. J. Effect of texture and surface chemistry on adsorptive capacities of activated carbons for phenolic compounds removal. **Fuel Processing Technology**, v. 77-78, p. 337-343, 2002. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378382002000723> >.

ARELLANO-CÁRDENAS, S.; GALLARDO-VELÁZQUEZ, TZAYHRÍ; OSORIO-REVILLA, GUILLERMO; LÓPEZ-CORTÉZ, MA. DEL SOCORRO; GÓMEZ-PEREA, BRENDA. Adsorption of Phenol and Dichlorophenols from Aqueous Solutions by Porous Clay Heterostructure (PCH). **Sociedad Química de México**, México, v. 49, n. 3, p. 287-291, 2005. ISSN 1870-249X. Disponível em: < <http://www.jmcs.org.mx/PDFS/V49/N3/05-Arellano.pdf> >.

BANSAL, R. C.; GOYAL, M. **Activated Carbon Adsorption**. Boca Raton: CRC Press, 2005. 497 p.

BATRA, V. S.; URBONAITE, S.; SVENSSON, G. Characterization of unburned carbon in bagasse fly ash. **Fuel**, v. 87, p. 2972-2976, 2008. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016236108001506> >.

BINIAK, S.; SZYMAŃSKI, G.; SIEDLEWSKI, J.; ŚWITKOWSKI, A. The characterization of activated carbons with oxygen and nitrogen surface groups. **Carbon**, v. 35, n. 12, p. 1799-1810, 1997. ISSN 12. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008622397000961> >.

BOBLETER, O. Hydrothermal degradation of polymers derived from plants. **Progress in Polymer Science**, v. 19, n. 5, p. 797-841, 1994/01/01 1994. ISSN 0079-6700. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0079670094900337> >.

BOERJAN, W.; RALPH, J.; BAUCHER, M. Lignin biosynthesis. **Annu Rev Plant Biol**, v. 54, p. 519-46, 2003. ISSN 1543-5008 (Print)1543-5008. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.134938> >.

BONATE, P. L. **Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling and Simulation**. San Antonio: Springer, 2011.

CAGNON, B.; XAVIER, PY; GUILLOT, ANDRÉ; STOECKLIC, FRITZ; CHAMBATD, GÉRARD. Contributions of hemicellulose, cellulose and lignin to the mass and the porous properties of chars and steam activated carbons from various lignocellulosic precursors. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 292–298, January 2009 2009. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.009> >.

CANTARELLA, M.; CANTARELLA, L.; GALLIFUCO, A.; SPERA, A.; ALFANI, F. Effect of inhibitors released during steam-explosion treatment of poplar wood on subsequent enzymatic hydrolysis and SSF. **Biotechnol. Prog**, v. 20, p. 200-206, 2004.

DIN, A. T. M.; HAMEED, B. H.; AHMAD, A. L. Batch adsorption of phenol onto physiochemical-activated coconut shell. **Journal of Hazardous Materials**, v. 161, p. 1522-1529, 2009. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

DODD, D.; CANN, I. Enzymatic deconstruction of xylan for biofuel production. **Global Change Biology Bioenergy**, v. 1, n. 1, p. 2-17, FEB 2009 2009. ISSN 1757-1693.

DU, B. W.; SHARMA, L. N.; BECKER, C.; CHEN, S. F.; MOWERY, R. A.; VAN WALSUM, G. P.; CHAMBLISS, C. K. Effect of Varying Feedstock-Pretreatment Chemistry Combinations on the Formation and Accumulation of Potentially Inhibitory

Degradation Products in Biomass Hydrolysates. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 107, n. 3, p. 430-440, Oct 2010. ISSN 0006-3592. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000282304100004 > .

DUARTE, G. C.; MOREIRA, LEONORA RIOS S.; JARAMILLO, PAULA MARCELA D.; FILHO, EDIVALDO. Biomass-Derived Inhibitors of Holocellulases. **BioEnergy Research**, v. 5, p. 768-777, 2012. Disponível em: < <http://link.springer.com/article/10.1007/s12155-012-9182-6> > .

DAŁBROWSKI, A.; PODKOŚCIELNY, P.; HUBICKI, Z.; BARCZAK, M. Adsorption of phenolic compounds by activated carbon—a critical review. **Chemosphere**, v. 58, n. 8, p. 1049-1070, 2005. ISSN 8. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653504008641> > .

FENSKE, J. J.; GRIFFIN, D. A.; PENNER, M. H. Comparison of aromatic monomers in lignocellulosic biomass prehydrolysates. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 20, p. 364-368, 1998. Disponível em: < <http://link.springer.com/article/10.1038%2Fsj.jim.2900543#page-1> > .

FERNANDEZ, N.; ROLAND MÖRCK; SUSANNA CHRISTI JOHNSRUD; KNUT P. KRINGSTAD. Carbon-13 NMR Study on Lignin from Bagasse. **Holzforschung - International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood**, v. 44, n. 1, p. 35-38, 1990. ISSN 1437-434X. Disponível em: < <http://www.degruyter.com/downloadpdf/j/hfsg.1990.44.issue-1/hfsg.1990.44.1.35/hfsg.1990.44.1.35.xml> > .

FIGUEIREDO, J. L.; PEREIRA, M. F. R.; FREITAS, M. M. A.; ÓRFÃO, J. J. M. Modification of the surface chemistry of activated carbons. **Carbon**, v. 37, n. 9, p. 1379-1389, // 1999. ISSN 0008-6223. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008622398003339> > .

FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal**, v. 156, n. 1, p. 2–10, 1 January 2010 2010. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2009.09.013> > .

FURUYA, E. G.; CHANG, H. T.; MIURA, Y.; NOLL, K. E. A fundamental analysis of the isotherm for the adsorption of phenolic compounds on activated carbon. **Separation and purification technology**, v. 11, n. 2, p. 69-78, 1997. ISSN 2. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383586696010015> > .

GARSDALE, J. **Separation Technology: the next ten years**. Warwickshire: Institution of Chemical Engineers, 1994.

GONZÁLEZ-BAUTISTA, E.; SANTANA-MORALES, JUAN CARLOS; RÍOS-FRÁNQUEZ, FRANCISCO JAVIER; POGGI-VARALDO, HÉCTOR MARIO; RAMOS-VALDIVIA, ANA CARMELA; CRISTIANI-URBINA, ELISEO. Phenolic compounds inhibit cellulase and xylanase activities of *Cellulomonas flavigena* PR-22 during saccharification of sugarcane bagasse. **Fuel**, v. 196, p. 32–35, 15 May 2017 2017. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2017.01.080> >.

GOUVEIA, E. R.; NASCIMENTO, RENATA TRAJANO DO; SOUTO-MAIOR, ANA MARIA; ROCHA, GEORGE JACKSON DE MORAES. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Quim. Nova**, v. 32, n. 6, p. 1500-1503, 2009.

GUPTA, V. K.; SHARMA, S.; YADAV, I. S.; MOHAN, D. Utilization of bagasse fly ash generated in the sugar industry for the removal and recovery of phenol and p-nitrophenol from wastewater. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 71, n. 2, p. 180-186, Feb 1998. ISSN 0268-2575. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000072105600011 >.

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. v. 100, n. 1, p. 10–18, January 2009 2009. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.027> >.

HSIEH, C.-T.; TENG, H. Influence of mesopore volume and adsorbate size on adsorption capacities of activated carbons in aqueous solutions. **Carbon**, v. 38, n. 6, p. 863-869, 2000. ISSN 0008-6223. Disponível em: < <http://www.deepdyve.com/lp/elsevier/influence-of-mesopore-volume-and-adsorbate-size-on-adsorption-yNx8smbuSt> >.

ISHIZAKI, C.; I., M. Surface oxide structures on a commercial activated carbon. **Carbon**, Caracas, p. 409-412, 1981. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0008622381900233> >.

IUPAC. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984). **Pure & Applied Chemistry**, v. 57, n. 4, p. 603-619, 1985. ISSN 1365-3075. Disponível em: < <http://www.iupac.org/publications/pac/57/4/0603/pdf/> >.

JOHNSON, E. Integrated enzyme production lowers the cost of cellulosic ethanol. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 10, p. 164-174, 2016. ISSN 1932-1031. Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bbb.1634/pdf> >.

JONG, E. D.; JUNGMEIER, G. Chapter 1 - Biorefinery Concepts in Comparison to Petrochemical Refineries. **Industrial Biorefineries & White Biotechnology**, p. 3-33, 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

JUANG, R.-S.; WU, F.-C.; TSENG, R.-L. Characterization and use of activated carbons prepared from bagasses for liquid-phase adsorption. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 201, n. 1–3, p. 191–199, 2002. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0927-7757\(01\)01004-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0927-7757(01)01004-4) >.

KIM, Y.; XIMENES, EDUARDO; MOSIER, NATHAN S.; LADISCH, MICHAEL R. Soluble inhibitors/deactivators of cellulase enzymes from lignocellulosic biomass. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 48, n. 4, p. 408-415, 2011/04/07/ 2011. ISSN 0141-0229. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022911000251> >.

KO, J. K.; KIM, Y.; XIMENES, E.; LADISCH, M. R. Effect of liquid hot water pretreatment severity on properties of hardwood lignin and enzymatic hydrolysis of cellulose. **Biotechnology Bioengineering**, v. 112, n. 2, p. 252-62, Feb 2015. ISSN 0006-3592. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/bit.25349> >.

KULKARNI, S. J.; TAPRE, RAVI W.; PATIL, SUHAS V.; SAWARKAR, MUKESH B. Adsorption of phenol from wastewater in fluidized bed using coconut shell activated carbon. **Procedia Engineering**, v. 51, p. 300-307, 2013/01/01/ 2013. ISSN 1877-7058. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877705813000416> >.

KUMAR, R.; TABATABAEI, MEISAM; KARIMI, KEIKHOSRO; HORVÁTH, ILONA SÁRVÁRI. Recent updates on lignocellulosic biomass derived ethanol - A review. **Biofuel Research Journal**, v. 3, n. 1, p. 347-356, 2016. Disponível em: < http://www.biofueljournal.com/article_13498_2338.html >.

KURNIAWAN, T. A.; WAIHUNG, LO; REPOB, EVELIINA; SILLANPAA, MIKA ET. Removal of 4-chlorophenol from contaminated water using coconut shell waste pretreated with chemical agents. **J Chem Technol Biotechnol**, v. 85, p. 1616-1627, 2010.

LADO, J. J.; ZORNITTA, R. L.; CALVI, F. A.; MARTINS, M.; ANDERSON, M. A.; NOGUEIRA, F. G. E.; RUOTOLO, L. A. M. Enhanced capacitive deionization desalination provided by chemical activation of sugar cane bagasse fly ash electrodes. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 126, p. 143-153, 2017. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

LADO, J. J.; ZORNITTA, R. L.; CALVI, F. A.; TEJEDOR-TEJEDOR, M. ISABEL; ANDERSON, M. A.; RUOTOLO, L. A. M. Study of sugar cane bagasse fly ash as electrode material for capacitive deionization. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 120, p. 389-398, 2016. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

LANNING, F. C.; PONNAIYA, B. W. X.; CRUMPTON, C. F. The Chemical Nature of Silica in Plants. **Plant Physiol**, v. 33, n. 5, p. 339-343, Sep 1958. ISSN 0032-0889 (Print)1532-2548 (Electronic). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

LI, L.; LIU, S.; LIU, J. Surface modification of coconut shell based activated carbon for the improvement of hydrophobic VOC removal. **Journal of Hazardous Materials**, v. 192, n. 2, p. 683-690, 2011. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

LIN, H. et al. Artificial construction and characterization of a fungal consortium that produces cellulolytic enzyme system with strong wheat straw saccharification. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 22, p. 10569-10576, Nov 2011. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852411012053> >.

LIU, F.; WANG, B.; ZHUANG, R. Y.; ZHOU, Q. F.; ZHAO, Y. H. Adsorption of tannic acid and phenol on mesoporous carbon activated by CO₂. **Chemical Engineering Journal**, v. 183, p. 244–252, 15 February 2012 2012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2011.12.069> >.

LÁSZLÓ, K. Adsorption from aqueous phenol and aniline solutions on activated carbons with different surface chemistry. **Colloids and surface A: physicochemical and engineering aspects**, v. 265, n. 1-3, p. 32-39, 2005. ISSN 1–3. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775705002591> >.

LÁSZLÓ, K.; BÓTA, A.; NAGYU, L. G. Characterization of activated carbons from waste materials by adsorption from aqueous solutions. **Carbon**, v. 35, n. 5, p. 593-598, // 1997. ISSN 0008-6223.

LÁSZLÓ, K.; PODKOSCIELNY, P.; DABROWSKI, A. Heterogeneity of Polymer-Based Active Carbons in Adsorption of Aqueous Solutions of Phenol and 2,3,4-Trichlorophenol. **Langmuir**, v. 19, p. 5287-5294, 2003. Disponível em: < http://www.researchgate.net/publication/231675101_Heterogeneity_of_Polymer-

Based_Active_Carbons_in_Adsorption_of_Aqueous_Solutions_of_Phenol_and_234-Trichlorophenol >.

MACRELLI, S.; MOGENSEN, J.; ZACCHI, G. Techno-economic evaluation of 2nd generation bioethanol production from sugar cane bagasse and leaves integrated with the sugar-based ethanol process. **Biotechnology for Biofuels**, v. 5, n. 1, p. 22, 2012-04-13 2012. ISSN 1754-6834. Disponível em: < <https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/1754-6834-5-22> >.

MAIA, G. S.; ANDRADE, J. R.; SILVA, M. G. C.; VIEIRA, M. G. A. Adsorption of diclofenac sodium onto commercial organoclay: Kinetic, equilibrium and thermodynamic study. **Powder Technology**, v. 345, p. 140-150, 2019. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

MAKRIGIANNI, V.; GIANNAKAS, ARIS; DELIGIANNAKIS, YIANNIS; KONSTANTINOY, IOANNIS. Adsorption of phenol and methylene blue from aqueous solutions by pyrolytic tire char: Equilibrium and kinetic studies. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 3, n. 1, p. 574–582, March 2015 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2015.01.006> >.

MALGAS, S.; DYK, SUSAN VAN; SAGARAN, ABBOO; PLETSCHE, BRETT I. The inhibitory effects of various substrate pre-treatment by-products and wash liquors on mannanolytic enzymes. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 123, p. 132–140, January 2016 2016. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcatb.2015.11.014> >.

MARSH, H.; RODRÍGUEZ-REINOSO, F. Activated Carbon. In: (Ed.): Elsevier Science & Technology Books, 2006.

MARTÍN, C.; GALBE, M.; NILVEBRANT, N. O.; JONSSON, L. J. Comparison of the fermentability of enzymatic hydrolyzates of sugarcane bagasse pretreated by steam explosion using different impregnating agents. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 98, p. 699-716, Spr 2002. ISSN 0273-2289. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000175257800061 >.

MARTÍN, CARLOS; KLINKE, HELENE B.; MARCET, MARCELO; GARCÍA, LUIS; HERNÁNDEZ, ENA; THOMSEN, ANNE BELINDA. Study of the phenolic compounds formed during pretreatment of sugarcane bagasse by wet oxidation and steam explosion. **Holzforschung**, v. 61, n. 5, p. 483-487, 2007. ISSN 1437434X. Disponível em: < <http://www.degruyter.com/downloadpdf/j/hfsg.2007.61.issue-5/hf.2007.106/hf.2007.106.xml> >.

MES-HARTREE, M.; SADDLER, J. N. The nature of inhibitory materials present in pretreated lignocellulosic substrates which inhibit the enzymatic hydrolysis of cellulose. **Biotechnology Letters**, v. 5, n. 8, p. 531-536, 1983. Disponível em: < <http://link.springer.com/article/10.1007%2FBF01184944#page-1> >.

MHLONGO, SIZWE I.; HAAN, RIAAN DEN; VILJOEN-BLOOM, MARINDA; ZYL, WILLEM H. VAN. Lignocellulosic hydrolysate inhibitors selectively inhibit/deactivate cellulase performance. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 81, p. 16–22, December 2015 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2015.07.005> >.

MICHELIN, MICHELE; XIMENES, EDUARDO; POLOZELI, MARIA DE L. T. DE MORAES; LADISCH, MICHAEL R. Effect of phenolic compounds from pretreated sugarcane bagasse on cellulolytic and hemicellulolytic activities. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 275–278, January 2016 2016. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.120> >.

MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426–428, 1959.

MIYAFUJI, H.; DANNER, H.; NEUREITER, M.; THOMASSER, C.; BVOCHORA, J.; SZOLAR, O.; & BRAUN, R. Detoxification of wood hydrolysates with wood charcoal for increasing the fermentability of hydrolysates. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 32, n. 3-4, p. 396-400, 2003. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

MOHAN, S. V.; NIKHIL, G. N.; CHIRANJEEVI, P.; REDDY, C. N.; ROHIT, M. V.; KUMAR, A. N.; SARKAR, O. Waste biorefinery models towards sustainable circular bioeconomy: Critical review and future perspectives. **Bioresource Technology**, v. 215, p. 2-12, Sep 2016. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000377935100002 >.

MONTES-MORÁN, M. A.; SUÁREZ, D.; MENÉNDEZ, J. A.; FUENTE, E. On the nature of basic sites on carbon surfaces: an overview. **Carbon**, v. 42, n. 7, p. 1219–1225, 2004. ISSN 7. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008622304000144> >.

MOSIER, NATHAN; WYMAN, CHARLES; DALE, BRUCE; ELANDER, RICHARD; LEE, Y. Y.; HOLTZAPPLE, MARK; LADISCH, MICHAEL. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**,

v. 96, n. 6, p. 673-686, 4// 2005. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852404002536> >.

MUKHERJEE, SOMNATH; KUMAR, SUNIL; MISRA, AMAL K.; FAN, MAOHONG. Removal of phenols from water environment by activated carbon, bagasse ash and wood charcoal. **Chemical Engineering Journal**, v. 129, n. 1–3, p. 133-142, 5/1/ 2007. ISSN 1385-8947. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894706004529> >.

MUSSATO, S. I.; ROBERTO, I. C. Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolyzates for use in fermentative processes: a review. **Bioresource Technology**, v. 93, n. 1, p. 1–10, May 2004. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2003.10.005> >.

OLIVEIRA, M. F.; DA SILVA, M. G. C.; VIEIRA, M. G. A. Equilibrium and kinetic studies of caffeine adsorption from aqueous solutions on thermally modified Verde-lodo bentonite. **Applied Clay Science**, v. 168, p. 366-373, 2019.

OLSSON, L.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 18, n. 5, p. 312-331, 4// 1996. ISSN 0141-0229. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0141022995001573> >.

OVEREND, R. P.; CHORNET, E. Fractionation of lignocellulosics by steam aqueous pretreatments. **Phil. Trans. R. Soc. Lond**, v. 321, p. 523-536, 1987. Disponível em: < <http://rsta.royalsocietypublishing.org/content/321/1561/523> >.

PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. **Bioresource Technology**, v. 74, n. 1, p. 25-33, 8// 2000. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852499001613> >.

PAUL, S. S.; KAMRA, D. N.; SASTRY, V. R.; SAHU, N. P.; KUMAR, A. Effect of phenolic monomers on biomass and hydrolytic enzyme activities of an anaerobic fungus isolated from wild nil gai (*Baselophus tragocamelus*). **Lett Appl Microbiol**, v. 36, n. 6, p. 377-81, 2003. ISSN 0266-8254 (Print)0266-8254. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

PINTO, A. S. S.; RIBEIRO, M. P. A.; FARINAS, C. S. Fast spectroscopic monitoring of inhibitors in the 2G ethanol process. **Bioresource Technology**, v. 250, p. 148-154, 2018/02/01/ 2018. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852417320072> >.

PULS, JURGEN; POUTANEN, KAISA; KORNER, HANS-ULRICH; VIKARI LIISA. Biotechnical utilization of wood carbohydrates after steaming pretreatment. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 22, p. 416-423, 1985. Disponível em:

<

<http://download.springer.com/static/pdf/251/art%253A10.1007%252F00252783.pdf?originUrl=http%3A%2F%2Flink.springer.com%2Farticle%2F10.1007%2F00252783&token2=exp=1478105153~acl=%2Fstatic%2Fpdf%2F251%2Fart%25253A10.1007%252F00252783.pdf%3ForiginUrl%3Dhttp%253A%252F%252Flink.springer.com%252Farticle%252F10.1007%252F00252783~hmac=6b4b9b848ebf53575a78e3eefc9ad6b70f29d5ce012ba22f5dac8b7229ed0bdc> >.

PURNOMO, C. W.; SALIM, C.; HINODE, H. Preparation and characterization of activated carbon from bagasse fly ash. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 91, n. 1, p. 257–262, May 2011 2011. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2011.02.017> >.

QIN, LEI; LI, WEN-CHAO; LIU, LI; ZHU, JIA-QING; LI, XIA; LI, BING-ZHI; YUAN, YING-JIN. Inhibition of lignin-derived phenolic compounds to cellulase. **Biotechnology for Biofuels**, v. 9, n. 70, 2016-03-22 2016. ISSN 1754-6834. Disponível em: <
<https://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13068-016-0485-2> >.

RAJAN, K.; CARRIER, D. J. Insights into exo-Cellulase inhibition by the hot water hydrolyzates of rice straw. **American Chemical Society**, v. 4, n. 7, p. 3627-3633, June 14, 2016 2016. Disponível em: <
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acssuschemeng.5b01778> >.

RASMUSSEN, H; TANNER, D.; SØRENSEN, H. R.; MEYER, A. S. New degradation compounds from lignocellulosic biomass pretreatment: routes for formation of potent oligophenolic enzyme inhibitors. **Green Chemistry**, v. 19, p. 464-473, 2016/09/16 2017. Disponível em: <
<http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/gc/c6gc01809b#!divAbstract> >.

RENGARAJ, S.; MOON, SEUNG-HYEON; SIVABALAN, R.; ARABINDOO, B.; MURUGESAN, V. Agricultural solid waste for the removal of organics: adsorption of phenol from water and wastewater by palm seed coat activated carbon. **Waste Management**, v. 22, n. 5, p. 543-548, 8// 2002. ISSN 0956-053X. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956053X01000162> >.

SARKAR, M.; ACHARYA, P. K. Use of fly ash for the removal of phenol and its analogues from contaminated water. **Waste Management**, v. 26, n. 6, p. 559-570, 2006. ISSN 0956-053X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000237669500002 >.

SHAH, B.; TAILOR, R.; SHAH, A. Adaptation of Bagasse Fly Ash, a Sugar Industry Solid Waste into Zeolitic Material for the Uptake of Phenol. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 30, n. 3, p. 358-367, Oct 2011. ISSN 1944-7442. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000295116200011 >.

SHARMA, R. K.; WOOTEN, JAN B.; BALIGA, VICKI L.; LIN, XU HAO; CHAN, W. GEOFFREY; HAJALIGOL, MOHAMMAD R. Characterization of chars from pyrolysis of lignin. **Fuel**, v. 83, n. 11–12, p. 1469–1482, August 2004 2004. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2003.11.015> >.

SHELDON, R. A. Green and sustainable manufacture of chemicals from biomass: state of the art. **Green Chemistry**, v. 16, n. 3, p. 950-963, 2014. ISSN 1463-9262. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000332039200001 >.

SILVA, V. F.; ARRUDA, P. V.; FELIPE, M. G.; GONCALVES, A. R.; ROCHA, G. J. Fermentation of cellulosic hydrolysates obtained by enzymatic saccharification of sugarcane bagasse pretreated by hydrothermal processing. **Industrial Microbiology Biotechnology**, v. 38, p. 809–817, 2011.

SINGH, K. P.; MALIK, AMRITA; SINHA S; OJHA P. Liquid-phase adsorption of phenols using activated carbons derived from agricultural waste material. **Journal of Hazardous Materials**, v. 150, n. 3, 2008. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

SINGH, S.; KUSHWAHA, J. P. Tannic acid adsorption/desorption study onto/from commercial activated carbon. **Desalination and Water Treatment**, v. 52, p. 3301-3311, 2013. Disponível em: < https://www.researchgate.net/publication/262576544_Tannic_acid_adsorptiondesorption_study_ontofrom_commercial_activated_carbon >.

SONEGO , JORGE L. S.; LEMOS , DIEGO A.; RODRIGUEZ, GUILHERME Y.; CRUZ, ANTONIO J. G.; BADINO, ALBERTO C. Extractive Batch Fermentation with CO₂ Stripping for Ethanol Production in a Bubble Column Bioreactor: Experimental and Modeling. **Energy Fuels**, v. 28, n. 12, p. 7552-7559, November 21, 2014 2014. Disponível em: < <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ef5018797> >.

SRIVASTAVA, V. C.; PRASAD, B.; MISHRA, I. M.; MALL, I. D.; SWAMY, M. M. Prediction of breakthrough curves for sorptive removal of phenol by bagasse fly ash packed bed. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 47, n. 5, p. 1603-

1613, Mar 2008. ISSN 0888-5885. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000253509700033 >.

SRIVASTAVA, V. C.; SWAMY, M. M.; MALL, I. D.; PRASAD, B.; MISHRA, I. M. Adsorptive removal of phenol by bagasse fly ash and activated carbon: Equilibrium, kinetics and thermodynamics. **Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 272, n. 1-2, p. 89-104, Jan 2006. ISSN 0927-7757. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000234794800013 >.

SUHAS; GUPTA, V. K.; CARROTT, P. J. M.; SINGH, RANDHIR; CHAUDHARY, MONIKA; KUSHWAHA, SARITA. Cellulose: A review as natural, modified and activated carbon adsorbent. **Bioresource Technology**, v. 216, p. 1066–1076, 2016.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review ☆. **Bioresource Technology**, v. 83, n. 1, p. 1–11, May 2002 2002. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00212-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7) >.

TANAHASHI, M. Characterization and Degradation Mechanisms of Wood Components by Steam Explosion and Utilization of Exploded Wood. **Wood Research**, v. 77, p. 49-117, 1990. Disponível em: < <http://repository.kulib.kyoto-u.ac.jp/dspace/bitstream/2433/53271/1/KJ00000017898.pdf> >.

TEJIRIAN, A.; XU, F. Inhibition of enzymatic cellulolysis by phenolic compounds. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 48, n. 3, p. 239-247, 3/7/ 2011. ISSN 0141-0229. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022910002553> >.

TERZYC, A. P. Further insights into the role of carbon surface functionalities in the mechanism of phenol adsorption. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 268, n. 2, p. 301–329, 15 December 2003 2003. Disponível em: < [https://doi.org/10.1016/S0021-9797\(03\)00690-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9797(03)00690-8) >.

TERZYK, A. P. Further insights into the role of carbon surface functionalities in the mechanism of phenol adsorption. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 268, n. 2, p. 301-329, 2003. ISSN 2. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979703006908> >.

TZIOSTZIOS, G.; TELIOU, M.; KALTSOUNI, V.; LYBERATOS, G.; VAYENAS, D. V. Biological phenol removal using suspended growth and packed bed reactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 26, n. 1, p. 65–71, 1 November 2005 2005. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2005.06.006> >.

VALIX, M.; CHEUNG, W. H.; ZHANG, K. Role of chemical pre-treatment in the development of super-high surface areas and heteroatom fixation in activated carbons prepared from bagasse. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 116, n. 1-3, p. 513-523, Dec 2008. ISSN 1387-1811. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000261133600072 >.

VIEIRA, P. ADRIANA; SANTANA, SIRLENE A. A.; BEZERRA, CÍCERO W. B.; SILVA, HILDO A. S.; CHAVES, JOSÉ A. P.; MELO, JÚLIO C. P.; SILVA FILHO, EDSON C. DA; AIROLDI, CLAUDIO. Kinetics and thermodynamics of textile dye adsorption from aqueous solutions using babassu coconut mesocarp. **Journal of Hazardous Materials**, v. 166, n. Issues 2–3, p. 1272–1278, 30 July 2009 2009. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.12.043> >.

VILLACAÑAS, F.; PEREIRA, MANUEL FERNANDO R.; ÓRFÃO, JOSÉ J. M.; FIGUEIREDO, JOSÉ L. Adsorption of simple aromatic compounds on activated carbons. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 293, n. 1, p. 128–136, 1 January 2006 2006. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2005.06.032> >.

WONG , S. ; NGADI, NORZITA; INUWA, IBRAHIM M.; HASSAN, ONN. Recent advances in applications of activated carbon from biowaste for wastewater treatment: A short review. **Journal of Cleaner Production**, v. 175, p. 361-375, 2018. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

WYMAN, C. E. Biomass Ethanol: Technical Progress, Opportunities, and Commercial Challenges. **Energy Environ.**, v. 24, p. 189-226, 1999.

WYMAN, C. E.; DALE, BRUCE E.; ELANDER, RICHARD T.; HOLTZAPPLE, MARK; LADISCH, MICHAEL R.; LEE, Y. Y. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 18, p. 1959-1966, 2005/12/01/ 2005. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852405000635> >.

XIAO, G. Q.; LONG, L. P.; WANG, J. L. Synthesis of the water-compatible p-acetaminophen resin and its adsorption performances for vanillin in aqueous solution. **Chinese Chemical Letters**, v. 23, n. 1, p. 123–126, January 2012 2012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccllet.2011.10.007> >.

XIMENES, EDUARDO; KIM, YOUNGMI; MOSIER, NATHAN; DIEN, BRUCE; LADISCH, MICHAEL. Inhibition of cellulases by phenols. **Enzyme and Microbial**

Technology, v. 46, n. 3–4, p. 170-176, 3/5/ 2010. ISSN 0141-0229. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022909002543> >.

XIMENES, EDUARDO; KIM, YOUNGMI; MOSIER, NATHAN; DIEN, BRUCE; LADISCH, MICHAEL R. Deactivation of cellulases by phenols. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 48, n. 1, p. 54-60, 2011.

XU, B. X.; CHANG, S. K. C. Total Phenolic, Phenolic Acid, Anthocyanin, Flavan-3-ol, and Flavonol Profiles and Antioxidant Properties of Pinto and Black Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as Affected by Thermal Processing. v. 57, n. 11, p. 4754–4764, May 14, 2009 2009. Disponível em: < <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf900695s> >.

YOSHIOKA , KOICHI; DAIDAI, MASAKAZU; MATSUMOTO, YOSHIHIRO; MIZUNO, RIE; KATSURA, YOKO; HAKOGI, TATSUYA; YANASE, HIDESHI; WATANABE, TAKASHI. Self-Sufficient Bioethanol Production System Using a Lignin-Derived Adsorbent of Fermentation Inhibitors. **ACS Sustainable Chem. Eng.**, v. 6, n. 3, p. 3070-3078, January 8, 2018 2018. Disponível em: < <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acssuschemeng.7b02915> >.

YOSHIZAWA, N.; MARUYAMA, K.; YAMADA, Y.; ZIELINSKA-BLAJET, M. XRD evaluation of CO₂ activation process of coal- and coconut shell-based carbons. **Fuel**, v. 79, n. 12, p. 1461-1466, 2000.

ZHAI, R.; HU, J.; SADDLER, J. N. What Are the Major Components in Steam Pretreated Lignocellulosic Biomass That Inhibit the Efficacy of Cellulase Enzyme Mixtures? **American Chemical Society**, v. 4, n. 6, p. 3429-3436, April 25, 2016 2016. Disponível em: < <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acssuschemeng.6b00481> >.

ZHUANG, X.; QIANG, YU; WANG, WEN; QI, WEI; TAN, XUESONG; YUAN, ZHENHONG. Decomposition Behavior of Hemicellulose and Lignin in the Step-Change Flow Rate Liquid Hot Water | SpringerLink. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 168, n. 1, p. 206-218, 2012. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12010-011-9468-8> >.

ZHUANG, XINSHU; WANG, WEN; YU, QIANG; QI, WEI; WANG, QIONG; TAN, XUESONG; ZHOU, GUIXIONG; YUAN, ZHENHONG. Liquid hot water pretreatment of lignocellulosic biomass for bioethanol production accompanying with high valuable products. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 68-75, 2016/01/01/ 2016. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852415011578> >.

Apêndice A – Absorbância do ácido tânico e da vanilina

Figura 43 - Absorbância do ácido tânico em diferentes concentrações.

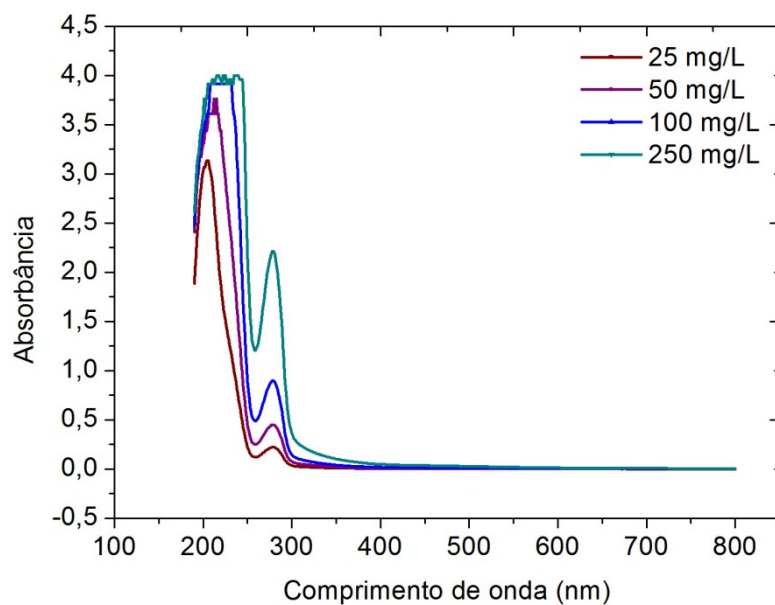
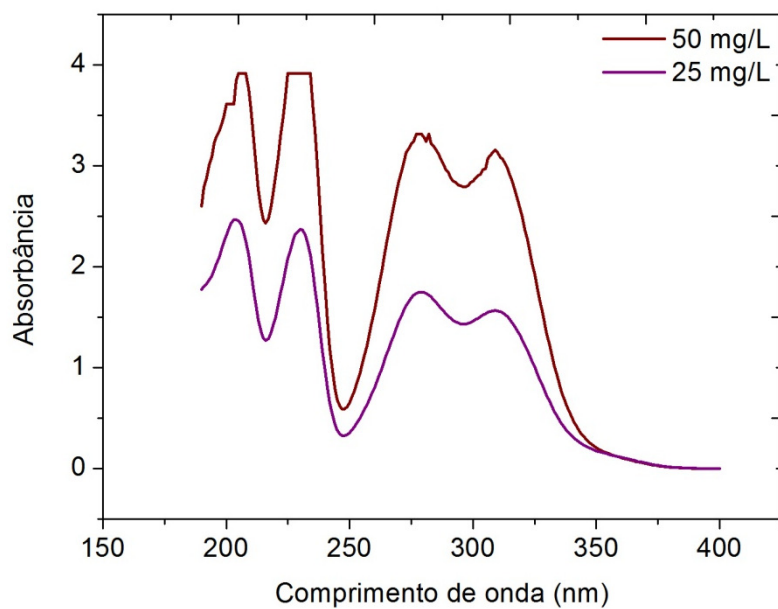


Figura 44 – Absorbância da vanilina em diferentes concentrações.



Apêndice B – Isotermas de adsorção/dessorção de N₂ dos adsorventes

Figura 45 – Isoterma de adsorção/dessorção da fuligem A.

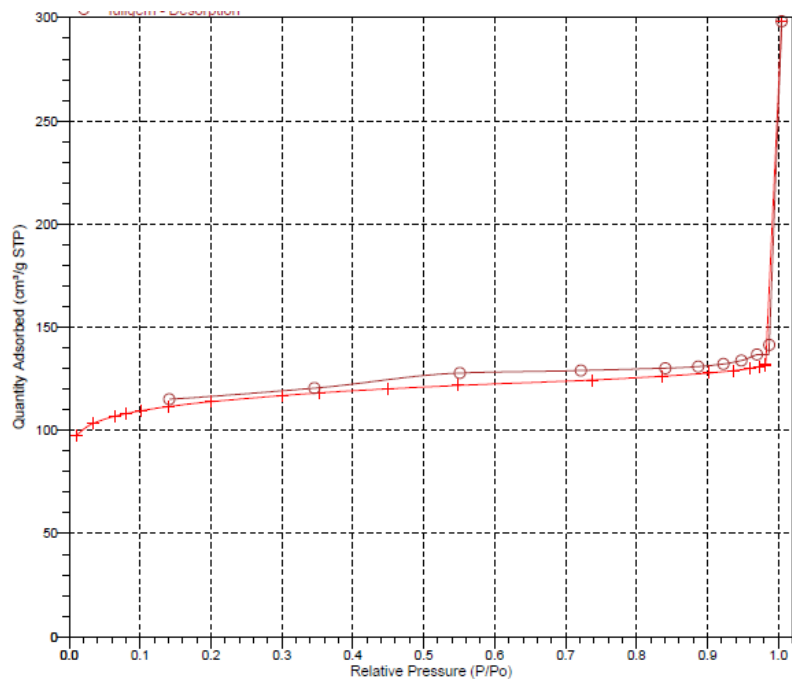


Figura 46 - Isoterma de adsorção/dessorção da fuligem B.

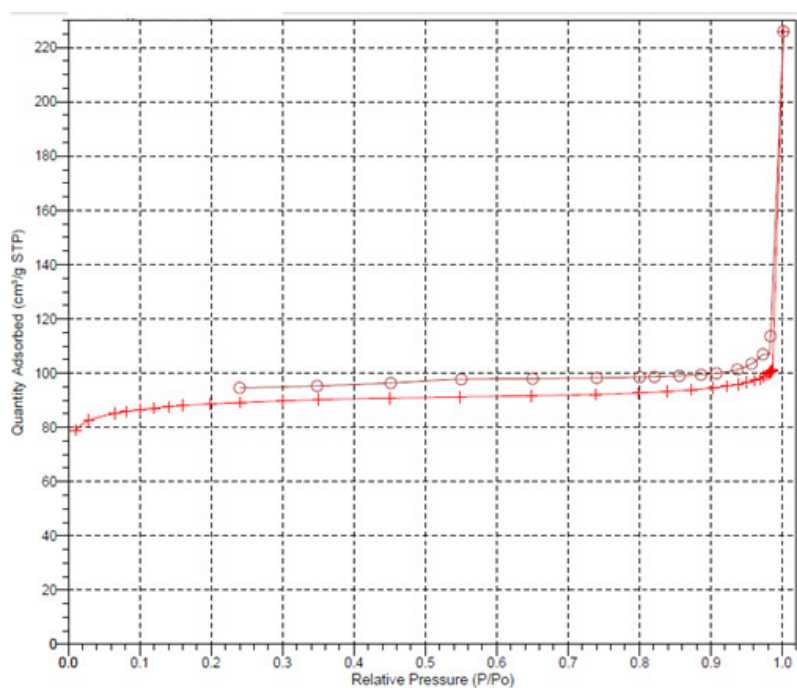


Figura 47 - Isoterma de adsorção/dessorção da fuligem B ativada.

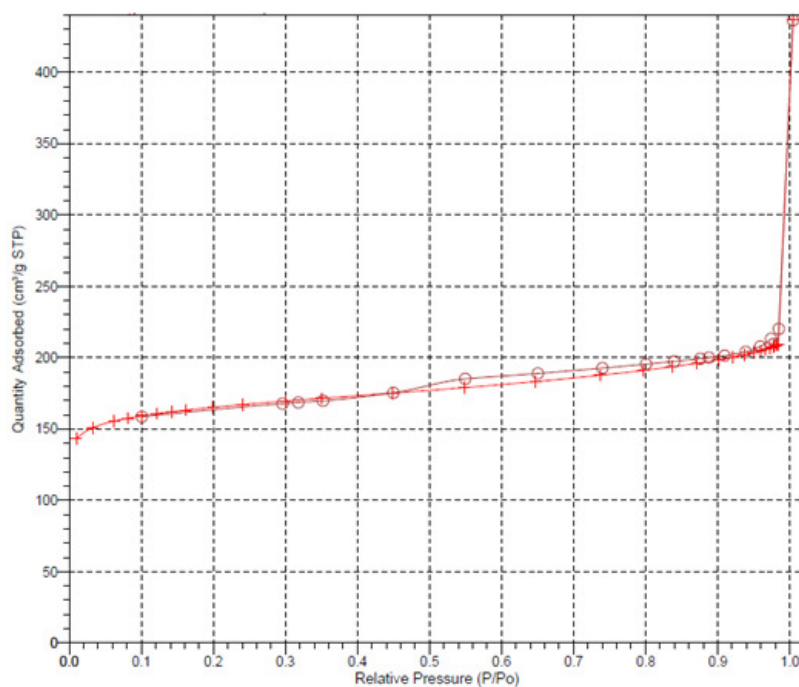


Figura 48 - Isoterma de adsorção/dessorção do carvão ativado de casca de coco.

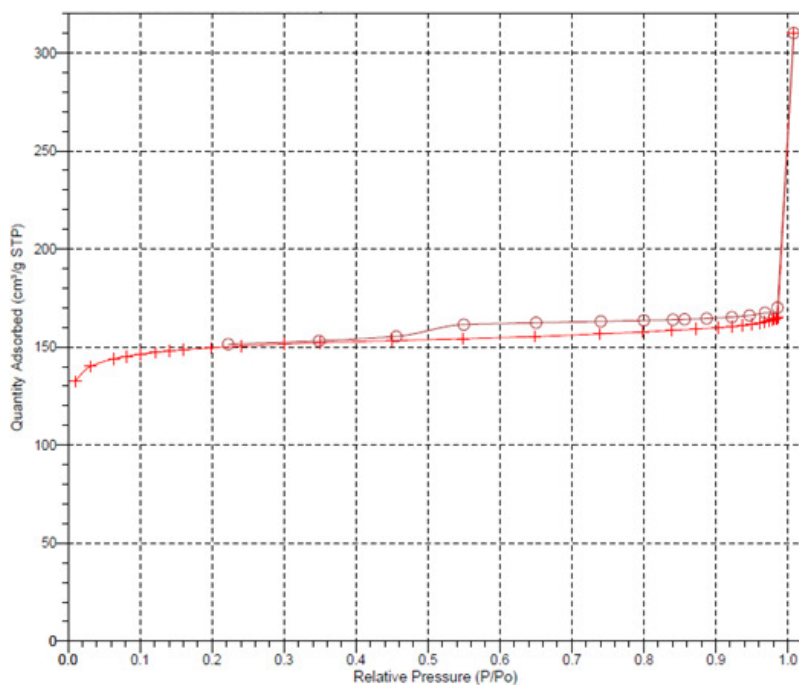
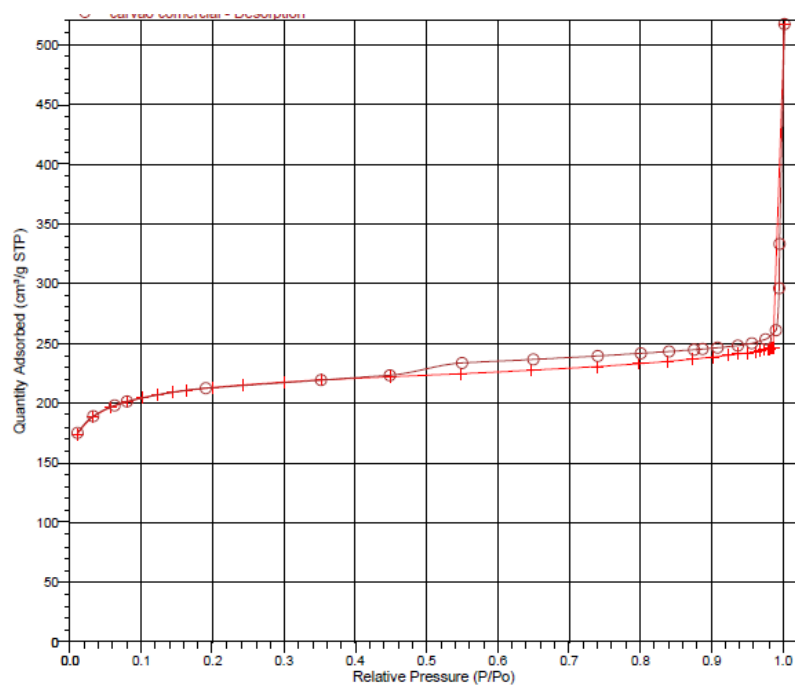


Figura 49 - Isoterma de adsorção/dessorção do carvão ativado comercial.



Apêndice C – Distribuição de poros obtida pelo método BJH.

Figura 50 - Distribuição de poros BJH da fuligem A.

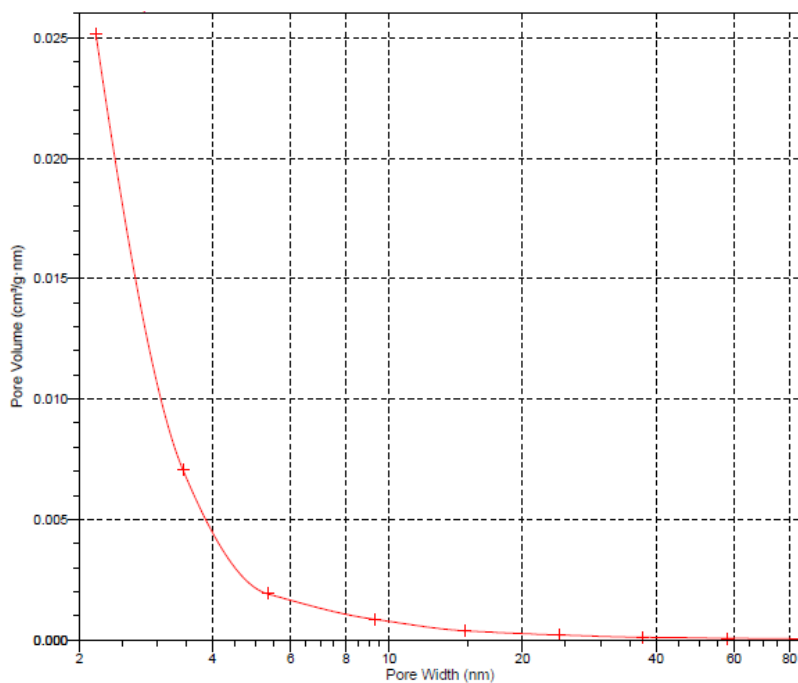


Figura 51 - Distribuição de poros BJH da fuligem B.

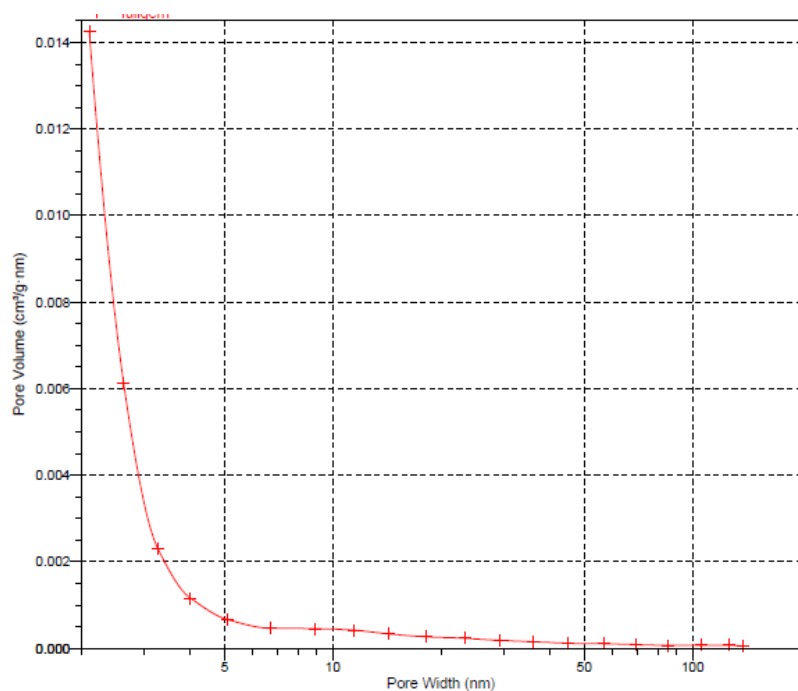


Figura 52 - Distribuição de poros BJH da fuligem B ativada.

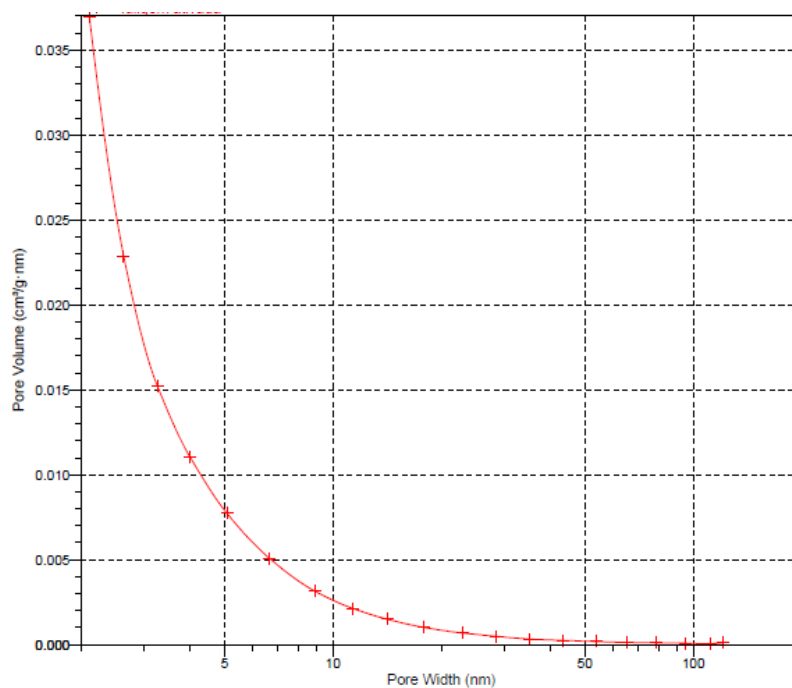


Figura 53 - Distribuição de poros BJH do carvão ativado de casca de coco.

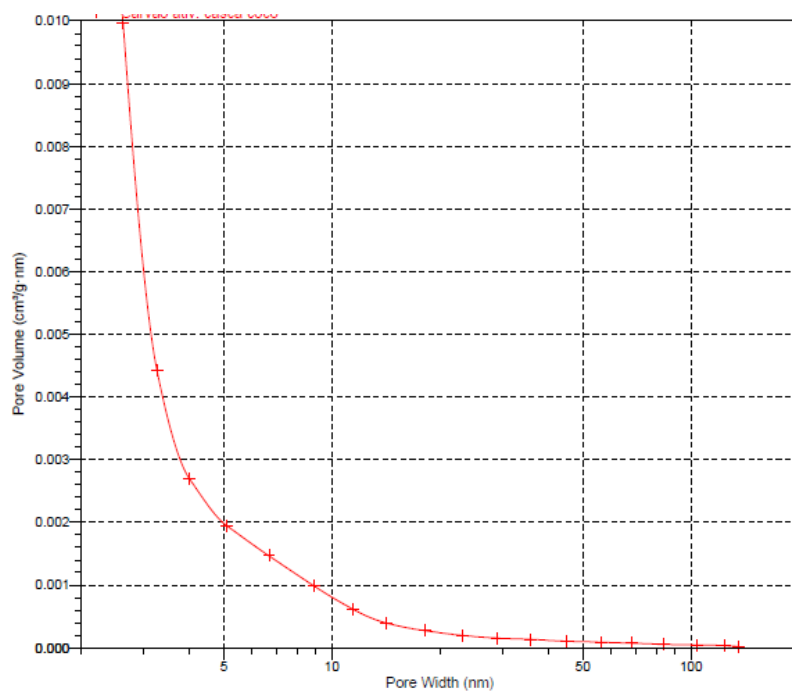
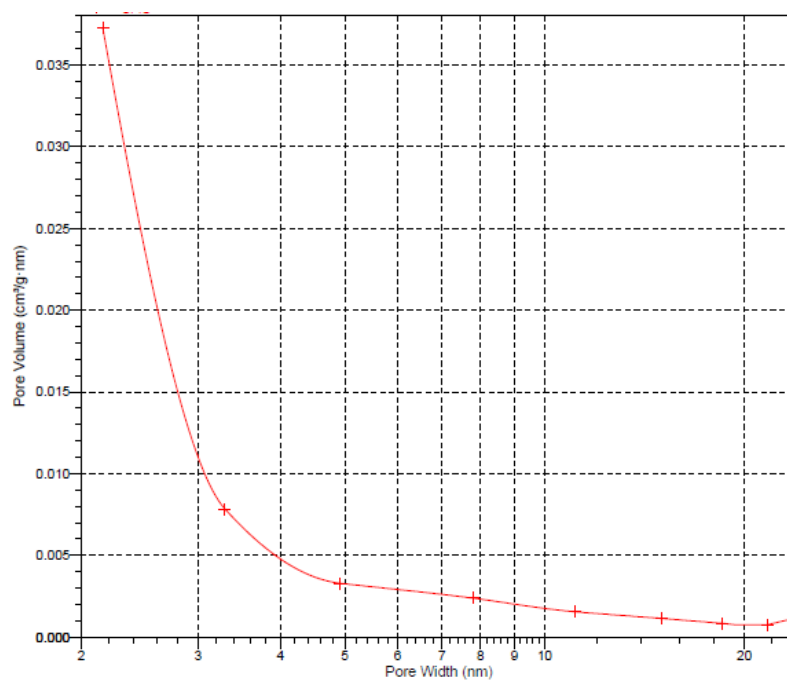


Figura 54 - Distribuição de poros BJH do carvão ativado comercial.



Apêndice D – Dedução da derivada da Equação 8 com relação a C_1 .

$$f = W = W_1 + W_2 = \frac{V \cdot (C_0 - C_1)}{C_1^{\frac{1}{n}}} + \frac{V \cdot (C_1 - C_2)}{C_2^{\frac{1}{n}}}$$

$$\frac{\partial f}{\partial C_1} = - \frac{C_1^{\frac{1}{n}-1} \cdot V \cdot (C_0 - C_1)}{n} + V \cdot C_2^{-\frac{1}{n}} + V \cdot (-1) \cdot C_1^{-\frac{1}{n}} = 0$$

Dividindo por V:

$$\frac{\partial f}{\partial C_1} = - \frac{C_1^{\frac{1}{n}-1} \cdot (C_0 - C_1)}{n} + C_2^{-\frac{1}{n}} + (-1) \cdot C_1^{-\frac{1}{n}} = 0$$

Dividindo por $C_1^{-\frac{1}{n}}$:

$$\frac{\partial f}{\partial C_1} = - \frac{(C_0 - C_1)^{\frac{1}{n}}}{C_1} - 1 + \left(\frac{C_1}{C_2}\right)^{\frac{1}{n}} = 0$$

Rearranjando:

$$\left(\frac{C_1}{C_2}\right)^{\frac{1}{n}} = 1 + \frac{(C_0 - C_1) \cdot \frac{1}{n}}{C_1}$$