



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**AVALIAÇÃO DE PRÉ-TRATAMENTOS QUÍMICOS NO BAGAÇO DE SISAL**

**Deivid Sousa de Figueiroa**

**Campina Grande - PB**

**2017**

**Deivid Sousa de Figueiroa**

**AVALIAÇÃO DE PRÉ-TRATAMENTOS QUÍMICOS NO BAGAÇO DE SISAL**

**Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Engenharia Química, área de concentração em Desenvolvimento de Processos Químicos.**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Líbia de Sousa Conrado Oliveira**

**Campina Grande - PB**

**2017**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

F475a Figueiroa, Deivid Sousa de.  
Avaliação de pré-tratamentos químicos no bagaço de sisal /  
Deivid Sousa de Figueiroa. – Campina Grande, 2017.  
110 f.: il. color.

Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade  
Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia,  
2017.  
"Orientação: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Líbia de Sousa Conrado Oliveira".  
Referências.

1. Biorrefinaria. 2. Biomassa. 3. Lignina. I. Oliveira, Líbia de  
Sousa Conrado. II. Título.

CDU 633.526.2-037.1(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**PARECER FINAL DO JULGAMENTO DA TESE  
DO ALUNO DEIVID SOUSA DE FIGUEIROA**

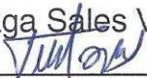
**TÍTULO:** Avaliação de Pré-tratamentos Químicos no Bagaço de Sisal

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**CONCEITO**

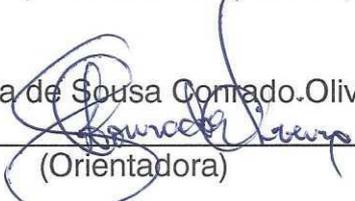
Prof. Luis Gonzaga Sales Vasconcelos (Doutor)

APROVADO

  
\_\_\_\_\_  
(Presidente da Sessão)

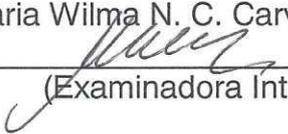
Prof<sup>a</sup>. Líbia de Sousa Corrado.Oliveira (Doutora)

APROVADO

  
\_\_\_\_\_  
(Orientadora)

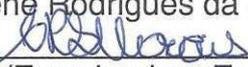
Prof<sup>a</sup>. Maria Wilma N. C. Carvalho (Doutora)

Aprovado

  
\_\_\_\_\_  
(Examinadora Interna)

Prof<sup>a</sup>. Crislene Rodrigues da Silva Moraes (Doutora)

Aprovado

  
\_\_\_\_\_  
(Examinadora Externa)

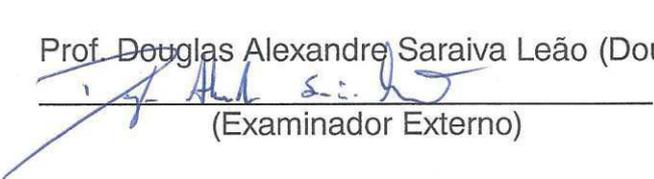
Prof. Fernando Fernandes Vieira (Doutor)

APROVADO

  
\_\_\_\_\_  
(Examinador Externo)

Prof. Douglas Alexandre Saraiva Leão (Doutor)

APROVADO

  
\_\_\_\_\_  
(Examinador Externo)

Campina Grande, 20 de fevereiro de 2017

## Dedicatória

*Dedico este trabalho à minha amada mãe Maria do Amparo, à minha esposa Emanuella e filha Isabella.*

## **Agradecimentos**

*“O verdadeiro homem mede a sua força, quando se defronta com o obstáculo.”*

Antoine de Saint-Exupéry

Agradeço...

À Deus por ter me concedido alcançar mais esse objetivo em minha vida;

Aos meus pais, Davino e Maria, por sempre estarem presentes em todos os momentos da minha caminhada;

À minha esposa Emanuella, pelo amor, apoio, paciência e incentivo irrestrito e fundamental durante todos esses anos;

À minha filha Isabella, por ser responsável pelo meu sorriso em momentos de incerteza;

Ao meu grande exemplo de professor e ser humano, a Profa. Dra. Líbia de Sousa Conrado Oliveira. Para mim é uma imensa honra e orgulho tê-la como orientadora. Não esqueço seus ensinamentos, seus preciosos conselhos e sua inestimável confiança. Muito Obrigado!

Aos amigos do Laboratório de Engenharia Bioquímica, pelas risadas, pelos almoços, pelas confraternizações, pelo companheirismo, pelo espírito de equipe, pela amizade, enfim, por terem me aceitado e acolhido tão bem. Somos de fato uma grande família!

Aos amigos que sempre me ajudaram nos aspectos técnicos e pessoais: Isabella, Sheila, Ruth, Giovanna, Rebeca, Douglas, Márcio e em especial para minha amiga e ouvinte Simone. Obrigado por todos os momentos compartilhados!

À Banca examinadora, meus respeitosos agradecimentos, pelas valorosas contribuições dadas ao meu trabalho, muito obrigado!

À UFCG e a CAPES pelo apoio técnico e financeiro;

Enfim, à todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Que venham novos desafios!

## Resumo

A etapa de pré-tratamentos (físicos, químicos e combinados) aplicados a biomassa vegetal vem sendo considerada determinante no tocante a potencialização do rendimento de produtos químicos de alto valor agregado e de subprodutos que são obtidos a partir do refino de materiais lignocelulósicos. Uma planta promissora para ser utilizada como substrato em biorrefinarias é o sisal, pois possui 90 % de açúcares fermentáveis e 10 % a mais de celulose que a cana-de-açúcar, além do que o Brasil é o maior produtor de sisal do mundo, sendo o seu bagaço obtido durante sua manufatura e descartado no campo, sem aplicações tecnológicas desenvolvidas para seu melhor aproveitamento. Dentre os métodos utilizados para pré-tratar biomassas estão os que fazem uso de agentes ácidos, alcalinos e oxidantes. Nesse contexto visando realizar um pré-tratamento efetivo no bagaço do sisal, foram aplicados pré-tratamentos nesta biomassa objetivando a desconstrução da barreira promovida pela recalcitrância inerente aos vegetais. Esses pré-tratamentos tem por finalidade a remoção da lignina, solubilização da hemicelulose e exposição da celulose. Neste trabalho foram avaliados pré-tratamentos ácido ( $H_2SO_4$ ) com concentração ácida a 1% temperatura  $120^{\circ}C$  por 1h , alcalino (NaOH) com concentração alcalina a 4% temperatura  $120^{\circ}C$  por 1h e oxidante (Fenton) com concentrações de  $FeSO_4$  e  $H_2O_2$  4,25 e 5000 mmol, respectivamente por 1h no bagaço do sisal. Para a determinação das condições ótimas para os pré-tratamentos aplicados, a biomassa submetida ao tratamento combinado (ácido-base) foi hidrolisada através de enzimas comerciais Celluclast 1.5L da Novozyme e beta-glicosidase da Proenzyme, obtendo rendimento de  $23.561 \text{ mg.L}^{-1}$  de glicose, para o pré-tratamento Fenton realizou-se o processo de hidrólise fazendo uso do tempo ótimo de 36 h obtendo-se a concentração de  $4987,28 \text{ mg.L}^{-1}$  de glicose . Para a avaliação dos pré-tratamentos e da hidrólise enzimática realizou-se a aplicação de planejamentos experimentais fatoriais. As biomassas foram caracterizadas através de protocolo físico-químico (Embrapa 236) e de técnicas instrumentais (TG/DTG e DRX) antes e depois da aplicação dos pré-tratamentos, o que evidenciou as mudanças estruturais causadas pelos mesmos.

Palavras chave: Biomassa; Lignina; Biorrefinaria.

## Abstract

The pre-treatment step (physical, chemical and combined) applied to plant biomass has been considered a determinant in the potentialization of the yield of high value-added chemical products and by-products that are obtained from the refining of lignocellulosic materials. A promising plant to be used as a substrate in biorefineries is sisal, as it has 90% fermentable sugars and 10% more cellulose than sugarcane, in addition to which Brazil is the largest sisal producer in the world, Being its bagasse obtained during its manufacture and discarded in the field, without applications technologies developed for its better use. Among the methods used to pre-treat biomass are those that use acid, alkaline and oxidizing agents. In this context, in order to perform an effective pretreatment in the sisal bagasse, pre-treatments were applied in this biomass aiming at the deconstruction of the barrier promoted by the recalcitrance inherent to the plants. These pre-treatments have the purpose of lignin removal, hemicellulose solubilization and cellulose exposure. In this work, acid ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) pre-treated with 1% acid concentration at  $120^\circ\text{C}$  for 1h, alkaline ( $\text{NaOH}$ ) with 4% alkaline concentration at  $120^\circ\text{C}$  for 1h and oxidant (Fenton) with  $\text{FeSO}_4$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$  concentrations 4,25 And 5000 mmol, respectively for 1 h in the sisal bagasse. To determine the optimum conditions for the pre-treatments applied, the biomass submitted to the combined treatment (acid-base) was hydrolyzed through the commercial enzymes Celluclast 1.5L of Novozyme and beta-glucosidase of Proenzyme, obtaining a yield of  $23,561 \text{ mg.L}^{-1}$  of glucose, for the Fenton pretreatment the hydrolysis process was carried out using the optimum time of 36 h obtaining the concentration of  $4987.28 \text{ mg.L}^{-1}$  of glucose. For the evaluation of the pre-treatments and the enzymatic hydrolysis, the experimental factorial designs were applied. For the evaluation of the pre-treatments and the enzymatic hydrolysis, the experimental design was applied to the factorial. The biomasses were characterized by physical-chemical protocol (Embrapa 236) and instrumental techniques (TG / DTG and XRD) before and after of the pre-treatments, which evidenced the structural changes caused by them.

Keywords: Biomass; Lignin; Biorrefinery.

## Lista de Figuras

Figura 1: Biorrefinaria.....	21
Figura 2: Principais produtos e co-produtos obtidos em biorrefinarias .....	22
Figura 3: Sisal ( <i>Agave Sisalana Perrine</i> ).....	23
Figura 4: Fibra do Sisal. ....	24
Figura 5: Produção de Sisal no Brasil .....	26
Figura 6: Beneficiamento da fibra do Sisal. ....	28
Figura 7: Hemicelulose. ....	29
Figura 8: Celulose .....	30
Figura 9: Lignina .....	30
Figura 10: Estrutura da biomassa lignocelulósica. ....	31
Figura 11: Representação da ação do pré-tratamento em materiais lignocelulósicos. .....	34
Figura 12: Modo de ação das enzimas do complexo celulolítico (EG - endoglucanase; CBH - celobiohidrolase; BG - $\beta$ -glicosidase). ....	44
Figura 13: Reações que ocorrem durante a hidrólise dos materiais lignocelulósicos. .....	45
Figura 14: Fluxograma da pesquisa. ....	47
Figura 15: Reator pressurizado .....	48
Figura 16: Reator Fenton .....	50
Figura 17: Diagrama de Pareto para o pré-tratamento ácido em termos de concentração de xilose. ....	60
Figura 18: Superfície de resposta para o tratamento ácido em termos de concentração de xilose. ....	62
Figura 19: Diagrama de Pareto para o pré-tratamento ácido em termos de concentração de glicose. ....	63
Figura 20: Superfície de resposta para o tratamento ácido em termos de concentração de glicose. ....	64
Figura 21: Cinética da glicose na hidrólise enzimática a partir do bagaço do Sisal tratado com soluções ácidas seguidas de básicas. ....	67
Figura 22: Diagrama de Pareto para a hidrólise enzimática em 48h. ....	69
Figura 23: Superfície de resposta para produção de glicose por hidrólise enzimática no tempo de 48h. ....	71

Figura 24: Acompanhamento cinético de consumo de peróxido no pré-tratamento Fenton do bagaço de sisal. ....	72
Figura 25: Diagrama de Pareto para o pré-tratamento Fenton em termos de $Fe^{3+}$ ...	75
Figura 26: Superfície de resposta para o pré-tratamento Fenton em termos de $Fe^{3+}$ . .....	76
Figura 27: Diagrama de Pareto para o pré-tratamento Fenton em termos de conversão de $H_2O_2$ . ....	77
Figura 28: Superfície de resposta para o pré-tratamento Fenton em termos de $H_2O_2$ . .....	79
Figura 29: Difractogramas das amostras de bagaço de sisal antes e após os pré-tratamentos. ....	81
Figura 30: Curvas TG/DTG do bagaço de sisal <i>in natura</i> , obtidas em atmosfera de $N_2$ com taxa de aquecimento de $10^\circ C/min$ , da temperatura ambiente até $1000^\circ C$ .....	84
Figura 31: Curvas TG/DTG do bagaço de sisal após pré-tratamento ácido, obtidas em atmosfera de $N_2$ com taxa de aquecimento de $10^\circ C/min$ , da temperatura ambiente até $1000^\circ C$ . ....	87
Figura 32: : Curvas TG/DTG do bagaço de sisal após pré-tratamento ácido seguido de básico, obtidas em atmosfera de $N_2$ com taxa de aquecimento de $10^\circ C/min$ , da temperatura ambiente até $1000^\circ C$ . ....	88
Figura 33: Curvas TG/DTG do bagaço de sisal após pré-tratamentos Fenton 01 - 04, obtidas em atmosfera de $N_2$ com taxa de aquecimento de $10^\circ C/min$ , da temperatura ambiente até $1000^\circ C$ . ....	90
Figura 34: Curvas TG/DTG do bagaço de sisal após pré-tratamentos Fenton 05 - 07, obtidas em atmosfera de $N_2$ com taxa de aquecimento de $10^\circ C/min$ , da temperatura ambiente até $1000^\circ C$ .....	92
Figura 35: Curva de Calibração $H_2O_2$ . ....	109
Figura 36: Curva de calibração para determinação de Fe. ....	109

## Lista de Tabelas

Tabela 1: Métodos de pré-tratamentos de materiais lignocelulósicos.....	35
Tabela 2: Principais Sistemas de Processos Oxidativos Avançados.....	37
Tabela 3: Potencial de oxidação de alguns agentes oxidantes. ....	38
Tabela 4: Matriz de planejamento do pré-tratamento ácido.....	49
Tabela 5: Matriz do planejamento experimental $2^2$ com 3 repetições no ponto central e variáveis de entrada no planejamento para o pré-tratamento.....	50
Tabela 6: Níveis codificados e reais das variáveis independentes para o planejamento. ....	54
Tabela 7: Matriz de planejamento fatorial $2^2$ .....	55
Tabela 8: Caracterização físico-química do bagaço <i>in natura</i> e pré-tratado ** (ácido seguido de básico).....	57
Tabela 9: Planejamento experimental para o tratamento ácido.....	59
Tabela 10: ANOVA para o pré-tratamento ácido em termos de xilose. ....	61
Tabela 11: ANOVA para o pré-tratamento ácido em termos de glicose.....	63
Tabela 12: Concentração teórica de glicose para cada condição trabalhada. ....	66
Tabela 13: Valores da concentração de glicose (mg/L) durante a hidrólise do bagaço de Sisal no hidrolisado .....	67
Tabela 14: Matriz de planejamento da hidrólise enzimática após tratamento ácido seguido de básico. ....	69
Tabela 15: Análise de variância (ANOVA) para o licor hidrolisado em 48 horas.....	70
Tabela 16: Concentração residual de peróxido e de ferro oxidado para cada experimento. ....	73
Tabela 17: Análise de variância (ANOVA) para o processo Fenton em termos de $Fe^{3+}$ .....	75
Tabela 18: Análise de variância (ANOVA) para o processo Fenton em termos de conversão de $H_2O_2$ .....	78
Tabela 20: Valores da concentração de glicose e xilose (mg/L) durante a hidrólise do bagaço de Sisal no hidrolisado .....	80
Tabela 21: Intensidade das fases amorfa e cristalina da celulose contida no bagaço de sisal antes e após os pré-tratamentos.....	82
Tabela 22: Índice de cristalinidade para as amostras do bagaço de sisal antes e após os pré-tratamentos .....	82

Tabela 23: Dados obtidos através das curvas TG/DTG para o bagaço de sisal <i>in natura</i> .....	86
Tabela 24: Dados obtidos através das curvas TG/DTG para o bagaço de sisal após o pré-tratamento ácido. ....	87
Tabela 25: Dados obtidos através das curvas TG/DTG para o bagaço de sisal após o pré-tratamento ácido seguido de básico.....	89
Tabela 26: Matriz de planejamento para o pré-tratamento Fenton .....	89
Tabela 27: Dados obtidos através das curvas TG/DTG para o bagaço de sisal após os pré-tratamentos Fenton 01 - 04. ....	91
Tabela 28: Dados obtidos através das curvas TG/DTG para o bagaço de sisal após o pré-tratamento Fenton (pontos centrais) .....	93

## Lista de Siglas

BG - Betaglicosidase  
CBHs - Celobiohidrolases  
CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência  
CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento  
DNS - Ácido 3,5 dinitrosalicílico  
DQO - Demanda Química de Oxigênio  
DRX - Difração de raios-X  
DTG - Derivada da análise termogravimétrica  
EG - Endoglucanase  
FPU - Filter Paper Units  
HMF - Hidroximetilfurfural  
HPLC - High Performance Liquid Chromatography  
LEB - Laboratório de Engenharia Bioquímica  
MME - Ministério de Minas e Energia  
MQ - Média Quadrática  
PROALCOOL - Programa Nacional do Alcool  
QM - Quadrado Médio  
TG - Termogravimetria

## Sumário

1.	Introdução .....	16
2.	Objetivo Geral .....	19
2.1	Objetivos Específicos .....	19
3.	Fundamentação Teórica.....	21
3.1	Biorrefinarias .....	21
3.2	Sisal (Agave Sisalana Perrine).....	22
3.2.1	Aspectos sociais e econômicos do cultivo do Sisal .....	24
3.2.2	Panorama do Sisal no ano de 2015.....	26
3.3	Bagaço do Sisal .....	27
3.4	Materiais Lignocelulósicos .....	29
3.5	Pré-tratamentos .....	32
3.6	Tipos de pré-tratamentos .....	33
3.6.1	Pré-tratamentos químicos .....	35
3.7	Processos Oxidativos Avançados (POAs).....	36
3.7.1	Processo Oxidativo Avançado Fenton.....	38
3.8	Processos de Hidrólise .....	42
3.8.1	Hidrólise ácida.....	42
3.8.2	Hidrólise enzimática .....	43
4.	Metodologia.....	47
4.1	Caracterização do bagaço do Sisal: umidade, cinzas, celulose, hemicelulose e lignina .....	47
4.2	Pré-tratamento físico .....	48
4.3	Pré-tratamento ácido.....	48
4.4	Pré-tratamento básico (ácido seguido de básico).....	49
4.5	Pré-tratamento Fenton .....	49

4.5.1	Quantificação de Peróxido .....	51
4.5.2	Quantificação de Ferro .....	51
4.6	Técnicas termoanalíticas .....	53
4.7	Determinação da atividade enzimática .....	53
4.8	Caracterização por Difratoimetria de Raios X (DRX).....	53
4.9	Hidrólise enzimática .....	54
4.9.1	Determinação de pentoses e hexoses nos processos de hidrólise .....	55
5.	Resultados e Discussão .....	57
5.1	Caracterização físico-química do material lignocelulósico .....	57
5.2	Pré-tratamento ácido .....	58
5.2.1	Análise estatística para o pré-tratamento ácido .....	60
5.3	Pré-tratamento ácido seguido de básico .....	65
5.3.1	Hidrólise enzimática após o tratamento ácido seguido de básico .....	66
5.1.3.	Análise estatística para a hidrólise enzimática após o tratamento ácido seguido de básico .....	68
5.4	Pré-tratamento Fenton .....	72
5.4.1.	Análise estatística para o pré-tratamento Fenton .....	73
5.4.2.	Hidrólise enzimática após o pré-tratamento Fenton.....	79
5.5	Caracterização instrumental do material lignocelulósico .....	81
5.5.1	Difração de Raios-X .....	81
5.5.2	Comportamento Térmico .....	83
6.	Considerações Finais .....	96
7.	Referências bibliográficas .....	99
8.	ANEXO I – Curvas de calibração de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Fe <sup>2+</sup> e Fe <sup>3+</sup> .....	109

# **Introdução**

## 1. Introdução

O Brasil tem recebido grande destaque no meio econômico mundial por conta da alta produção no setor agroindustrial, como consequência torna-se um dos maiores produtores de resíduos oriundos deste tipo de atividade. Nesse contexto, a reutilização destes compostos é importante para melhorar sua disposição no meio ambiente contribuindo para a redução da poluição ambiental, além disso, é uma forma de agregar valor a esses subprodutos.

As biorrefinarias fazem parte da agenda de PD&I da maioria dos países desenvolvidos e em desenvolvimento como o Brasil, mobilizando grandes quantias de recursos e esforços públicos e privados voltados para o aproveitamento integral da biomassa para agregar valor às cadeias produtivas e reduzir os impactos ambientais (EMBRAPA, 2016).

Os processos agroindustriais geram resíduos lignocelulósicos. Estes são constituídos basicamente por celulose, hemicelulose e lignina, além de pequenas quantidades de outros componentes. A celulose e a hemicelulose, tratadas por métodos físico-químicos e/ou biológicos, decompõem-se em hexoses e pentoses. Os produtos derivados desses açúcares de maior potencial industrial são ácidos carboxílicos (como lático e succínico), etanol, sorbitol, butanol, etc. Tais compostos poderão ser utilizados como solventes, combustíveis, monômeros para plásticos, intermediários químicos para a indústria farmacêutica e de química fina em geral (EMBRAPA, 2016).

Existem muitos desafios a serem superados em todas as etapas do processo para que a produção seja economicamente viável. A etapa de pré-tratamento das biomassas lignocelulósicas tem como maior desafio a elaboração de mecanismos capazes de desconstruir a barreira estrutural causada pela recalcitrância promovida pela lignina. Assim, antes da hidrólise enzimática existe a necessidade de realizar-se pré-tratamentos na biomassa vegetal a fim de expor os polissacarídeos estruturais presentes na matriz vegetal à ação das enzimas hidrolíticas (LARRAN *et al.*, 2015).

Nas biorrefinarias, de forma geral, haverá produtos de grande volume e de baixo valor econômico unitário como, por exemplo, os biocombustíveis. Em contrapartida, haverá também produtos de pequeno volume, mas de alto valor agregado como especialidades químicas, aditivos, dentre outros. (EMBRAPA, 2016).

O Sisal (*Agave Sisalana Perrine*) é um tipo de biomassa que apresenta grande potencial de utilização em biorrefinarias, pois possui 90% de açúcares fermentáveis e 10% a mais de celulose quando é equiparada à composição da cana-de-açúcar (FAPESP, 2009).

No Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal de Campina Grande (LEB | UFCG) vem sendo desenvolvidos vários trabalhos visando a utilização de diversos tipos de biomassas. A fibra do Sisal teve sua potencialidade estudada por Leão (2014), onde foi constatada a relevância da aplicação de tratamentos que antecedem a hidrólise.

Diante do exposto, este trabalho propõe a avaliação de pré-tratamentos químicos no bagaço do Sisal, que é um subproduto do processo de desfibramento do Sisal, para que o mesmo possa ser utilizado em processos onde os seus açúcares fermentescíveis, provenientes da hidrólise da celulose, possam ser melhor explorados através da aplicação de pré-tratamentos químicos e potencialmente convertidos em diversos produtos, visto que ainda não foram encontrados relatos sobre esta biomassa na literatura.

# **Objetivos**

## **2. Objetivo Geral**

Avaliar o efeito de pré-tratamento químicos (ácido/base e Fenton) aplicados ao bagaço do Sisal, visando a deslignificação desta biomassa.

### **2.1 Objetivos Específicos**

- Realizar a caracterização lignocelulósica do bagaço do sisal;
- Obter, por meio de caracterização físico-química (difração de raios-x; comportamento térmico), as características estruturais e morfológicas da biomassa antes e depois dos pré-tratamentos;
- Aplicar os pré-tratamentos: Ácido; Ácido seguido de Básico e Fenton químico;
- Submeter o material com maior teor de lignina removida ao processo de hidrólise enzimática;
- Determinar as concentrações de açúcares por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE.

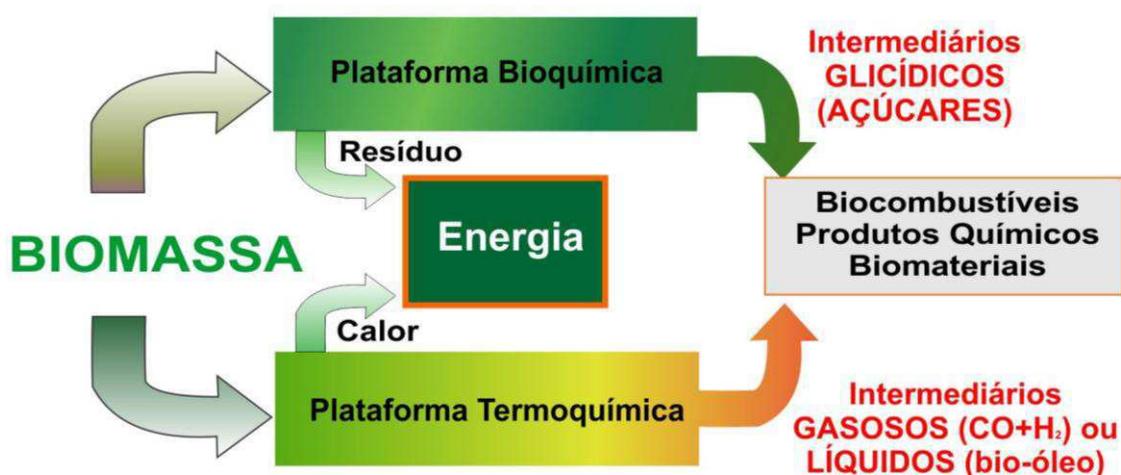
# **Fundamentação Teórica**

### 3. Fundamentação Teórica

#### 3.1 Biorrefinarias

Os conceitos que definem os termos “biorrefinaria” e “química verde” se baseiam no aproveitamento da biomassa vegetal objetivando a obtenção de cadeias com valores equivalentes às que são provenientes dos derivados do petróleo, mas que acarretem menores impactos ambientais. A otimização do uso da biomassa busca a utilização de sistemas integrados (matérias-primas, processos, tecnologias, produtos e resíduos) sustentáveis, de acordo com parâmetros técnicos que levam em conta, entre outros aspectos, os balanços de massa e de energia, o ciclo de vida, o desenvolvimento socioeconômico regional, a geração e o consumo dos produtos e serviços de forma distribuída e a mitigação da emissão de gases do efeito estufa (EMBRAPA, 2016). A Figura 1 ilustra os principais processos executados em uma biorrefinaria.

Figura 1: Biorrefinaria



Fonte: (LADEBIO, 2009)

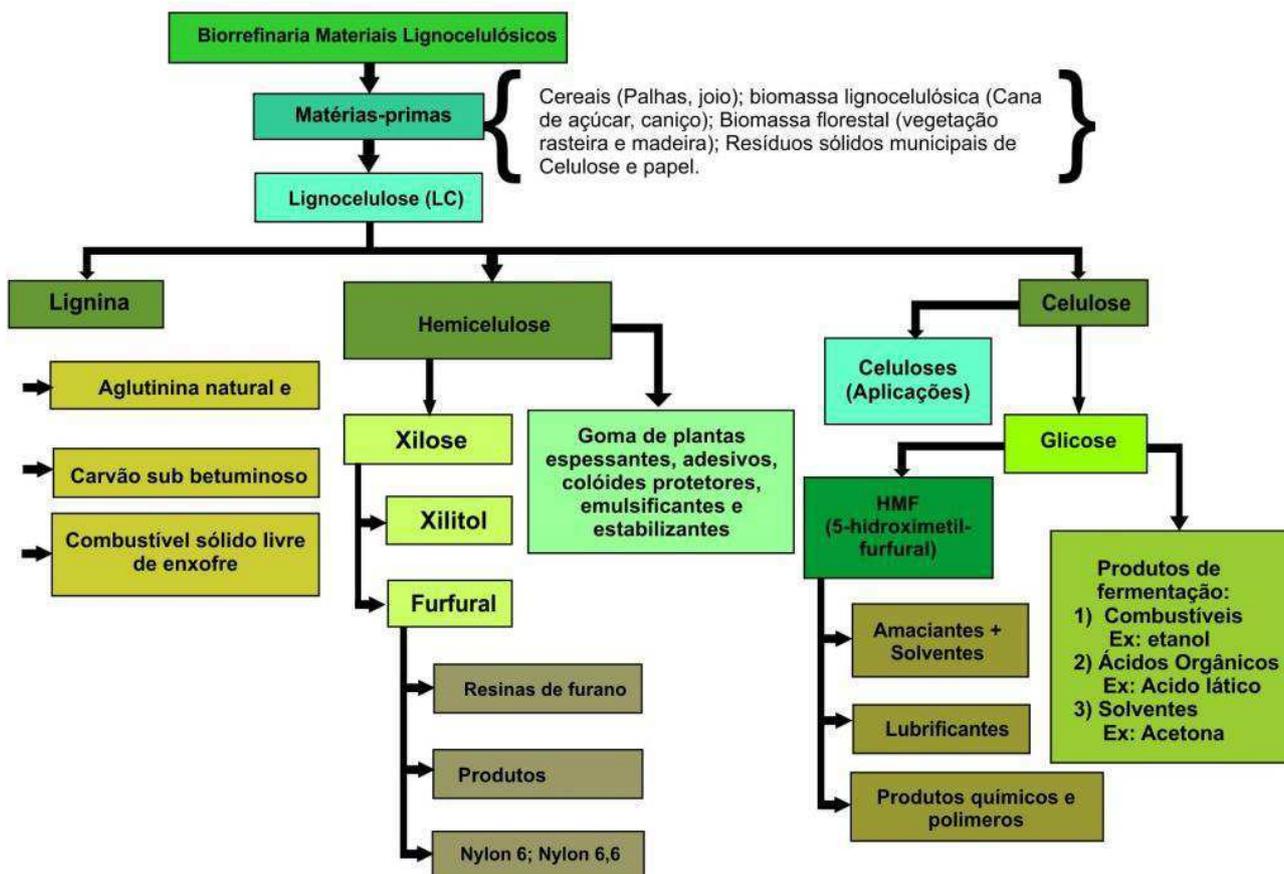
As biorrefinarias podem ser classificadas de acordo com:

- Tipo de plataforma utilizada;
- Tipos de produtos a serem produzidos;
- Tipos de matéria-prima e processos de conversão.

Dentre os principais fatores de separação destes tipos de biorrefinaria, pode-se agrupar os produtos em dois grupos principais, os produtos energéticos (bioetanol, biodiesel e combustíveis sintéticos) e os materiais (químicos, comida, ração, etc); o tipo de biomassa pode a obtida das culturas energéticas, das culturas alimentares ou ainda dos resíduos (agroindústrias, florestais ou industriais); os processos de conversão, podem ser bioquímicos (fermentação e conversão enzimática), termoquímicos (pirólise e gaseificação), químicos (hidrólise ácida, transesterificação, etc.) e mecânicos (fracionamento, pressão, etc.), assim pode-se notar que a classificação das biorrefinarias são complexas e com muitas vertentes, deste modo a sobreposição dos fatores citados pode e deve ocorrer visando a maior diversidade possível (IEA BIOENERGY, 2010).

Diversos produtos podem e devem ter sua produção explorada através das biorrefinarias (Figura 2), estes podem ser: químicos (combustíveis, adesivos, detergentes, tintas, lubrificantes, ácidos e etc.), materiais (fibras, papel, gomas e etc.) ou alimentícios (rações, glúten e etc.) (GHATAK, 2011).

Figura 2: Principais produtos e co-produtos obtidos em biorrefinarias



Conhecida popularmente sob o nome de Agave ou Sisal, esta planta no meio científico é chamada *Agave Sisalana Perrine* e é originária do México. Integrante do gênero agave da família *Amaryllidaceae*, pode ser cultivada em locais de baixa pluviosidade. Sendo uma planta semi-xerófila, adaptou-se com tranquilidade aos espaços áridos do território nordestino (SILVA e BELTRÃO, 1999).

A Figura 3 ilustra a planta denominada Sisal.

Figura 3: Sisal (*Agave Sisalana Perrine*)



Fonte: (BENIGNO, 2009).

Pinto (1969), realizou algumas considerações a respeito da estrutura do Sisal, afirmando que a planta possui folhas rígidas, lisas, de cor verde brilhante, em forma de espada de 10 a 15 cm de largura por 1 a 2 metros de comprimento; na extremidade da folha encontra-se um espinho redondo, marrom de 20 a 25 cm de comprimento. Cada planta desenvolve de 10 a 40 folhas por ano. Essas folhas têm uma inclinação variada em relação ao plano vertical da planta. O peso da folha varia de 300 a 1500 gramas com uma média de 550 gramas. O teor da fibra por peso de folha verde é também variável de 2,5 a 7% devido ao seu variado grau de umidade no momento da preparação da fibra. As folhas jovens têm um percentual de produção de fibra menos elevado que as mais desenvolvidas.

### 3.2.1 Aspectos sociais e econômicos do cultivo do Sisal

A partir do Sisal, obtêm-se a principal fibra dura produzida no mundo, correspondendo a aproximadamente 70% da produção comercial de todas as fibras desse tipo. No Brasil, o cultivo do Sisal se concentra na região Nordeste, sendo os estados da Bahia, Paraíba e Rio Grande do Norte os principais produtores, com 93,5, 3,5 e 3,0%, respectivamente, da produção nacional (Mattoso *et al.*, 1997). A agaveicultura se concentra em áreas de pequenos produtores, com predomínio do trabalho familiar. O Sisal, além de constituir fonte de renda e emprego para um grande contingente de trabalhadores, é um importante agente de fixação do homem à região semi-árida nordestina, sendo, em algumas dessas regiões, a única alternativa de cultivo com resultados econômicos satisfatórios. A fibra do Sisal, beneficiada ou industrializada, representa cerca de 80 milhões de dólares em divisas para o Brasil, além de gerar mais de meio milhão de empregos diretos e indiretos por meio de sua cadeia de serviços, que começa com as atividades de manutenção das lavouras, colheita, desfibramento e beneficiamento da fibra e termina com a industrialização e confecção de artesanato (BAHIA, 1980), (SILVA e BELTRÃO, 1999). A Figura 4 ilustra a fibra do Sisal.

Figura 4: Fibra do Sisal.



Fonte: (PEREIRA, 2012).

Segundo Chand, Tiwary (1998), o Sisal é uma fibra natural muito forte que é usada na fabricação de cordas. Também pode ser utilizado na produção de fios, de carpetes, de tapetes e de diversos produtos artesanais. A concorrência com os

---

produtos sintéticos diminuiu a demanda internacional da fibra para usos tradicionais, mas com o desenvolvimento de outras tecnologias, o Sisal pode ser utilizado na indústria de celulose e papel, substituindo as fontes tradicionais de madeira. Recentemente o Sisal tem sido utilizado em processos da indústria têxtil; na indústria automobilística, reforçando peças de plástico; na fabricação de barcos, móveis, caixas d'água e tubulações; na construção civil, aumentando a resistência das misturas de cimento.

Outros dois aspectos vantajosos da fibra do Sisal são o fato de ela não ser usada como fonte de alimento e, ao mesmo tempo, apresentar alto teor de celulose, cerca de 10% a mais do que o bagaço de cana. Considerando também a hemicelulose, a fibra de Sisal tem cerca de 90% de material gerador de açúcares fermentáveis, que formam etanol a partir do processo de fermentação (VASCONCELOS, 2009).

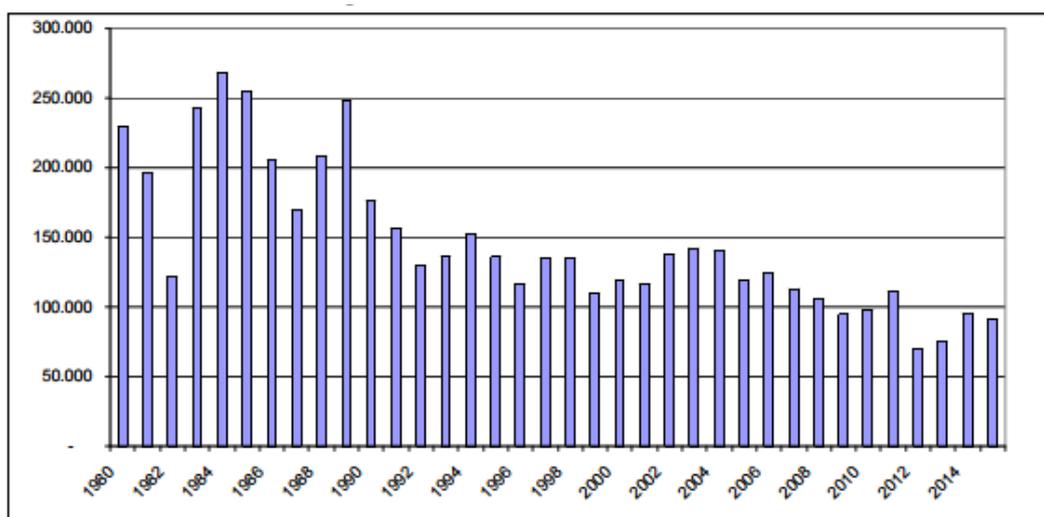
O Brasil é hoje um dos maiores produtores e exportadores de fibras e manufaturados de Sisal do mundo e o cultivo ocorre em 112 municípios do Nordeste, sendo a Bahia o maior produtor nacional de fibra de Sisal, concentrando 95% da produção Sisaleira do país. No entanto, a atividade econômica desenvolvida em torno desta cultura é realizada sob baixos níveis de produtividade e ganhos sociais bastante limitados.

De acordo com a CONAB (2015), o Brasil produziu, no ano de 2004, aproximadamente 139,700 toneladas de fibra seca de Sisal, o que representa 4% da folha seca; em consequência, os resíduos sólidos gerados a partir do desfibramento representam 14% da folha seca, totalizando cerca de 489,000 toneladas, quantitativo este que deve ser analisado para que surjam propostas para uma melhor destinação. Durante o processo de desfibramento, somente 4% da folha do Sisal é beneficiada no formato de fibra, os 96% representam os resíduos obtidos durante o processamento da biomassa, onde 16% são resíduos sólidos e 80% líquidos. A composição dos resíduos sólidos e líquidos gerados consiste em suco ou seiva vegetal, partículas de tecidos parenquimatosos e pedaços de folhas e fibras de tamanhos variados. Aos resíduos (sólidos e líquidos) provenientes desse processo, empiricamente denomina-se bagaço, sendo o mesmo, nos últimos anos, descartado nos campos (SINDIFIBRAS, 2012).

### 3.2.2 Panorama do Sisal no ano de 2015

Segundo a CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), a produção brasileira de Sisal em 2015 foi de 91,1 mil toneladas. Tal volume é 4,7 % inferior às 95,4 mil toneladas verificadas em 2014, como pode ser observado na Figura 5, quebrando a sequência de crescimento verificada nos dois últimos anos.

Figura 5: Produção de Sisal no Brasil



Fonte: (CONAB, 2015)

As exportações brasileiras do complexo Sisal em 2015 totalizaram US\$ 123,9 milhões de dólares. É o maior volume de divisas do complexo desde 1980 – início da série. Tais receitas são 7% superiores às obtidas em 2014, que foram de US\$ 115,6 milhões. O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de Sisal. Estima-se que 80% da produção brasileira de Sisal destinam-se ao mercado externo. Em termos quantitativos, as exportações totalizaram de 66,2 mil toneladas, inferiores em 5% às 69,6 mil toneladas exportadas em 2014, interrompendo a série de crescimento verificada nos últimos dois anos. Tal retração foi compensada por um forte aumento havido no valor FOB médio obtido, sobretudo da fibra beneficiada de Sisal que subiu 17% em dólares, fora valorização cambial ocorrida no período.

A receita cambial gerada pela cultura do Sisal fez ingressar mais de R\$ 400 milhões na combatida economia do Território do Sisal. Considerando o volume transacionado no mercado interno estimado em cerca de até R\$ 80 milhões, pode se

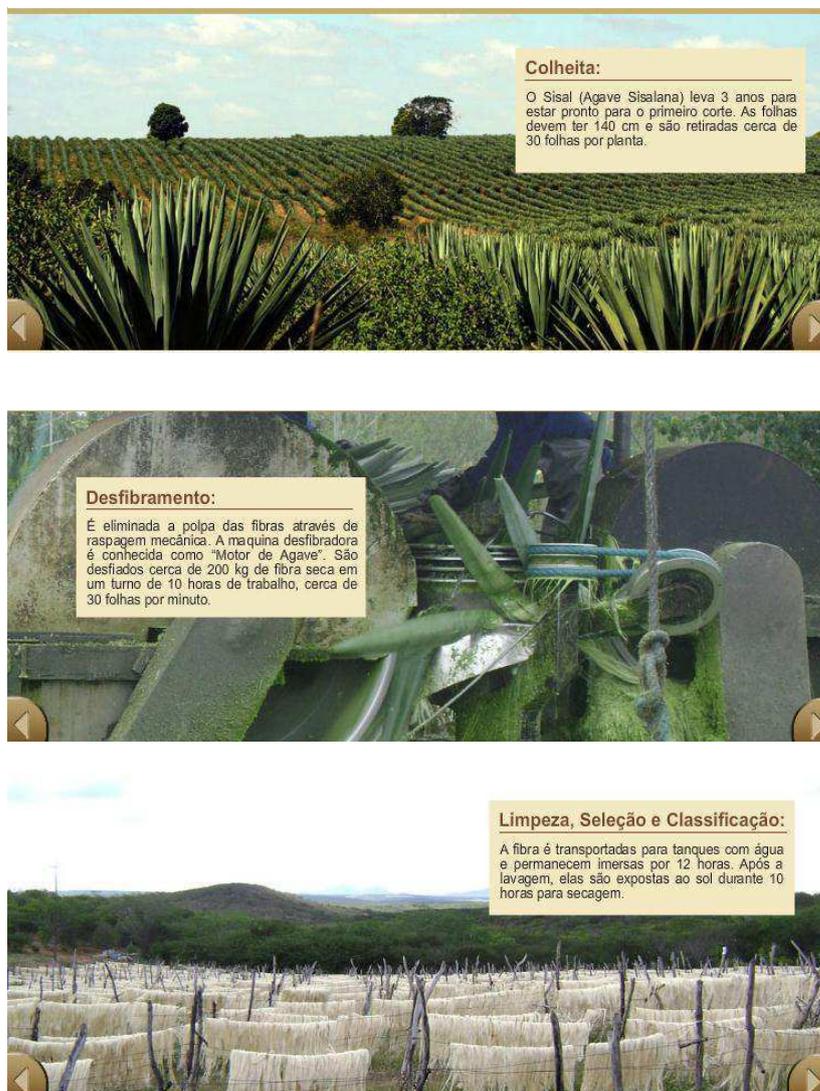
inferir que o valor bruto da produção da cadeia do Sisal alcançou em 2015 a cifra de aproximadamente R\$ 500 milhões. Aludidas cifras são de pequena participação no valor bruto da Produção Agrícola Brasileira e nas Exportações Agrícolas. Todavia, é de alta relevância socioeconômica e ambiental para os cerca de 140 municípios que compõem o território do Sisal, no semi-árido brasileiro, região tida como a mais pobre do Estado da Bahia, cujo IDH médio é de 0,589, e que tem no Sisal uma das únicas culturas possíveis, e é a maior geradora de empregos e renda na região, pela qual cerca de 35 mil produtores diretos, típicos agricultores familiares; três mil “motores” e 60 “batedeiras”. Indústrias de beneficiamento, comercialização e exportação, onde se estima que 1/3 (400 a 500 mil pessoas) dos habitantes vivam em função da produção e da extração do ouro do sertão: o Sisal brasileiro, que em 2015 trouxe preços remuneradores aos agentes econômicos da cadeia produtiva (CONAB, 2015).

### **3.3 Bagaço do Sisal**

Leão (2014) avaliou em seu trabalho a potencialidade da produção de bioetanol a partir da fibra do Sisal, o que chamou atenção para as características superiores que esta biomassa apresenta quando é comparada às da cana-de-açúcar, como citado anteriormente. A literatura que descreve as características do bagaço do Sisal se apresenta de forma bem sucinta, fato que evidencia a necessidade de trabalhos de proponham possibilidades de aproveitamento deste resíduo, uma vez que somente a fibra tem seu beneficiamento estabelecido.

O equipamento que realiza o processo de desfibramento do Sisal chama-se “motor-paraíba” ou “motor de agave”. A Figura 6 detalha os processos que são desenvolvidos durante o beneficiamento da fibra do Sisal:

Figura 6: Beneficiamento da fibra do Sisal.



Fonte: (COSIBRA, 2016).

Apenas 4% da folha do Sisal são aproveitados para a retirada da fibra, atualmente o produto principal em termos industriais e comerciais.

Para Silva e Beltrão (1999), o bagaço é o resíduo do desfibramento do Sisal e é constituído por 80% de suco e seiva vegetal, 15% de partículas de tecido parenquimatoso esmagado (mucilagem) e 1% de pedaços da folha e fibras de diferentes tamanhos (bucha). Grande parte deste material é jogada fora, sendo abandonado no campo, mas poderia ser reaproveitada na fertilização de lavouras. A indústria farmacêutica desenvolve produtos a partir do suco como a hecogenina e a inulina (ANDRADE, ORNELAS e BRANDÃO, 2012). Mas, segundo a Embrapa

algodão, quase a totalidade deste resíduo é descartada aleatoriamente no campo, prejudicando assim o meio ambiente.

### 3.4 Materiais Lignocelulósicos

Material celulósico ou lignocelulósico é um termo genérico para descrever os constituintes principais na maioria dos vegetais, ou seja, celulose ( $(C_6H_{10}O_5)_x$  (Figura 7), hemicelulose ( $(C_5H_8O_4)_m$  (Figura 8), lignina ( $(C_9H_{10}O_3(OCH_3))_n$  (Figura 9) e extrativos, cuja composição depende não apenas do tipo de vegetal, mas também de condições de crescimento da parte da planta escolhida, da idade de colheita, etc (Wiselogel *et al.*, 1996). A maior porção de carboidratos dos materiais lignocelulósicos é composta por polímeros de celulose e hemicelulose, com menor quantidade de outros açúcares. A combinação de celulose e hemicelulose se dá o nome de holocelulose. Estes componentes representam cerca de 90% da massa seca do material. Os 10% restantes consiste em extrativos e cinzas (BALAT, 2010).

A celulose (Figura 7) é uma das principais macromoléculas presentes nas biomassas lignocelulósicas podendo ser encontrada em diversas fontes: espécies de vegetais e organismos primitivos, tais como algas marinhas e bactérias (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). É um homopolímero constituído por monômeros de glicose unidos por ligações  $\beta$ -1,4 glicosídicas e de conformação linear devido às ligações equatoriais entre monômeros.

A hemicelulose (Figura 8) é composta por polissacarídeos amorfos de baixa massa molecular. É uma estrutura heteropolissacarídea ramificada formada principalmente por D-xilose com pequenas quantidades de L-arabinose, D-glicose, D-manose, D-galactose, ácido glucurônico e ácido manurônico. Na região central da molécula se encontra xilose seguida de várias ramificações de ramnose, arabinose e hexoses (glicose, manose e galactose), ácidos urônicos (ácidos  $\alpha$ -D-glucurônico,  $\alpha$ -D- 4-O-metilgalacturônico e  $\alpha$ -D-galacturônico) e radicais acetila (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). Os componentes mais importantes devido à sua abundância são as xilanas e as glucomanas.

A lignina (Figura 9) é uma macromolécula amorfa e ramificada. Agindo como “cola”, a lignina preenche os espaços entre e em torno da celulose e hemicelulose, por isso tem o papel de suporte na estrutura da. Além disso, confere ao material

lignocelulósico rigidez, força e flexibilidade, atuando como barreira física, protegendo a madeira contra degradação enzimática, microbiana e ao ataque de insetos e patógenos (HENDRIKS; 2009).

Figura 8: Celulose

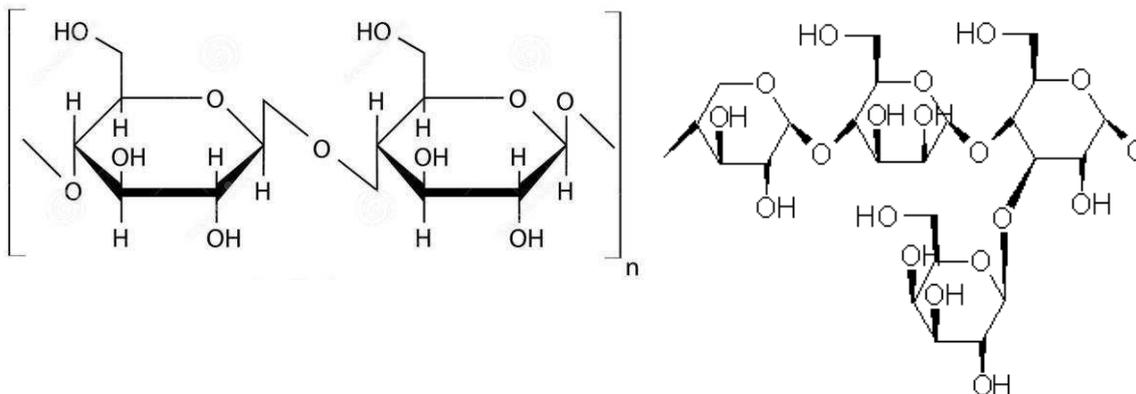
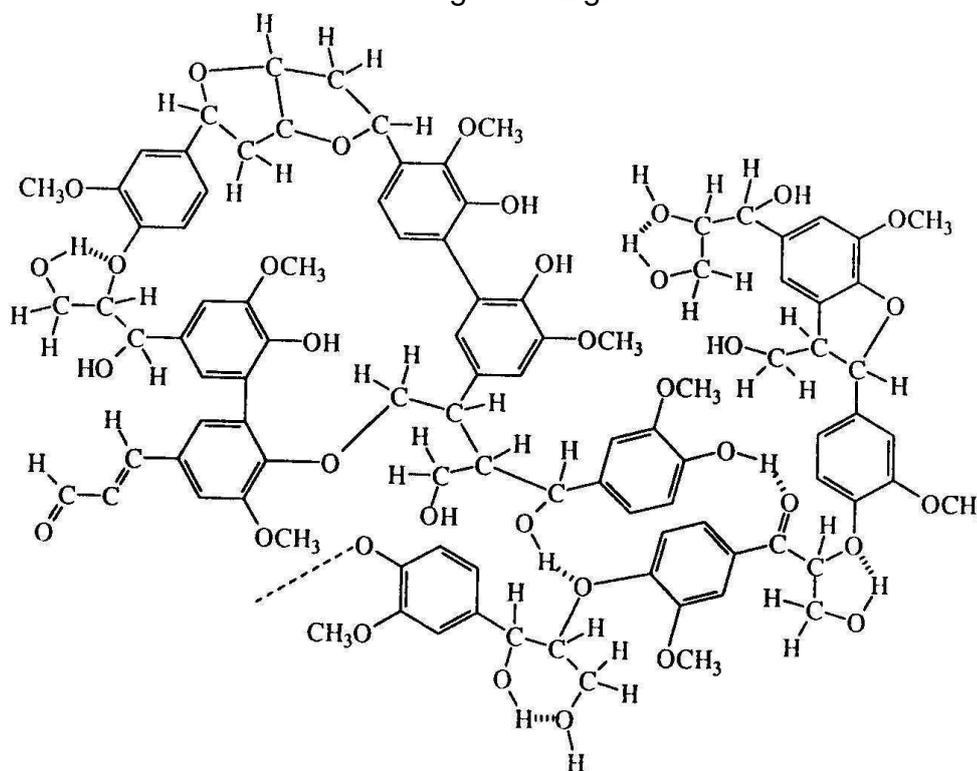


Figura 9: Lignina



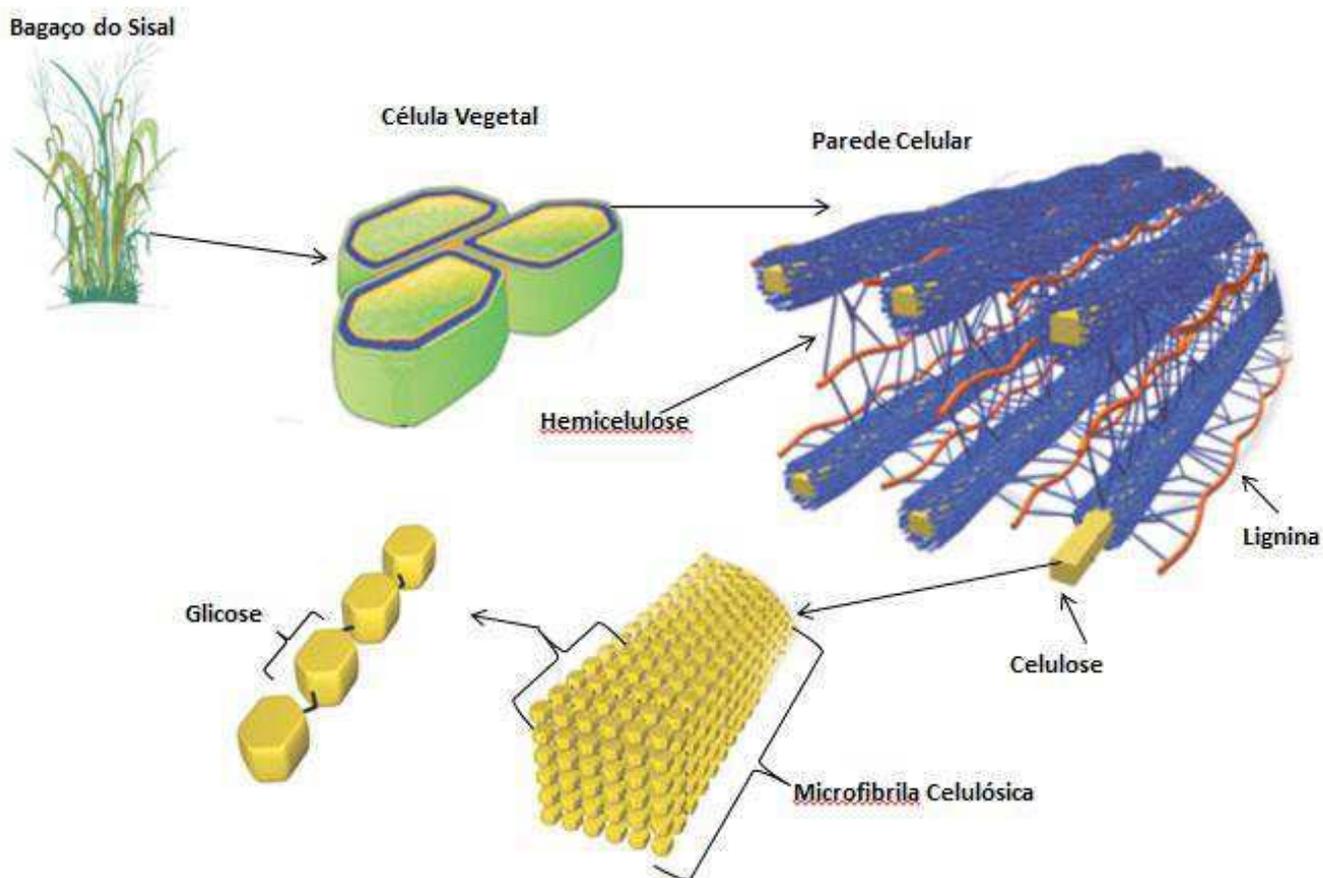
Fonte (Figuras 7, 8 e 9): (BALAT, 2010).

A composição química dos materiais lignocelulósicos é um fator crucial que afeta diretamente na produção de biocombustíveis durante o processo de conversão. A composição química e estrutural desses materiais varia bastante devido a fatores genéticos e influências ambientais (BALAT, 2010).

Segundo Sankar (2012), a celulose é um polissacarídeo linear onde predomina a estrutura cristalina. Trata-se de um homopolímero de unidades repetidas de glicose ligadas por  $\beta$ -1, 4 ligações glicosídicas.

As cadeias de celulose são empacotadas em unidades chamadas de microfibrilas, que são estabilizadas por meio de ligações de hidrogênio (BRODEUR, 2011); (HENDRIKS e ZEEMAN, 2009). A Figura 10 mostra a estrutura recalcitrante da biomassa lignocelulósica.

Figura 10: Estrutura da biomassa lignocelulósica.



Fonte: Adaptado de (KONDO, 1997).

Segundo alguns autores (SANKAR, 2012); (OGEDA e PETRI, 2010); (BRODEUR, 2011), a hemicelulose é um heteropolímero curto e muito ramificado, formado principalmente por pentoses (D-xilose e L-arabinose), hexoses (D-glicose, D-manose, D-galactose) e, ácido glucurônico e manurônico. A hemicelulose atua fazendo ligações entre a lignina e as fibras de celulose conferindo rigidez e

promovendo a integração da rede celulose-hemicelulose-lignina. Estudos realizados por HENDRIKS (2009), mostraram que a solubilidade dos diferentes componentes da hemicelulose, em ordem decrescente, corresponde a: manose, xilose, glicose, arabinose e galactose. A solubilização do material cresce com o aumento da temperatura e dependência de outros fatores como a umidade dos componentes e o pH.

A lignina é um polímero de estrutura predominantemente amorfa, formado por redes tridimensionais compostas por unidades fenilpropano interligadas. Dentre suas características mais relevantes está a rigidez da parede celular da planta, sua tensão oxidativa e a resistência contra ataque microbiano, devido à sua natureza hidrofóbica (OGEDA,, 2010); (BRODEUR, 2011); (SANKAR, 2012).

A principal fonte de carbono para fermentação microbiana é a glicose, bem como outros açúcares (sacarose e maltose), além de outros compostos orgânicos mais complexos, como por exemplo, amido e celulose (PELCZAR, 1980). Para isso, é interessante que a glicose deva estar disponível para o microrganismo no substrato em quantidade suficiente a proporcionar um crescimento inicial da população microbiana, mas não o bastante para impedir que o microrganismo seja capaz de metabolizar a fonte indutora, a celulose, daí a necessidade de submeter esses tipos de materiais lignocelulósicos à pré-tratamentos.

### **3.5 Pré-tratamentos**

Os materiais lignocelulósicos apresentam uma estrutura complexa e compacta se fazendo necessário submeter esta biomassa à pré-tratamentos físicos e/ou químicos antes da sua hidrólise, para que seja viabilizada sua conversão nos mais variados produtos. Esta etapa é responsável pela remoção de lignina e solubilização da hemicelulose e também da mesma lignina, redução da cristalinidade da celulose e aumento da porosidade do material, de maneira a tornar a celulose suscetível à hidrólise (RABELO, 2010).

O pré-tratamento de uma biomassa lignocelulósica consiste em uma das etapas operacionais mais relevantes em termos de custo direto, além de influenciar consideravelmente os custos das etapas anteriores e subsequentes do processo. Basicamente, o pré-tratamento relaciona-se às operações de preparação de matéria-prima, bem como à hidrólise da celulose, geração de produtos inibidores à

hidrólise enzimática e fermentação alcoólica, concentrações sacarídicas dos hidrolisados produzidos, purificação de produtos intermediários, tratamento de resíduos, agitação mecânica e geração de energia (LEE, YU e WONG, 1994); (LYND, ELANDER e WYMAN, 1996). Neste contexto, deve-se buscar uma perfeita integração entre as diversas operações.

De modo geral, o pré-tratamento deve ser muito eficiente em termos de rendimento, seletividade, funcionalidade (garantindo acessibilidade da celulose aos agentes hidrolíticos), simplicidade operacional, segurança, higiene industrial e atributos ambientais, enquanto consiste em reduzido consumo de insumos químicos, energia e utilidades (BAUDEL, 2006).

Os principais objetivos do pré-tratamento, SEGUNDO HSU, (1996) são:

- Reduzir o grau de cristalinidade da celulose;
- Dissociar o complexo lignina-celulose;
- Aumentar a área superficial da biomassa;
- Preservar as hexoses, maximizando os rendimentos em açúcares;
- Evitar ou minimizar a formação de compostos inibidores do processo, tanto na etapa de hidrólise quando na etapa de fermentação.

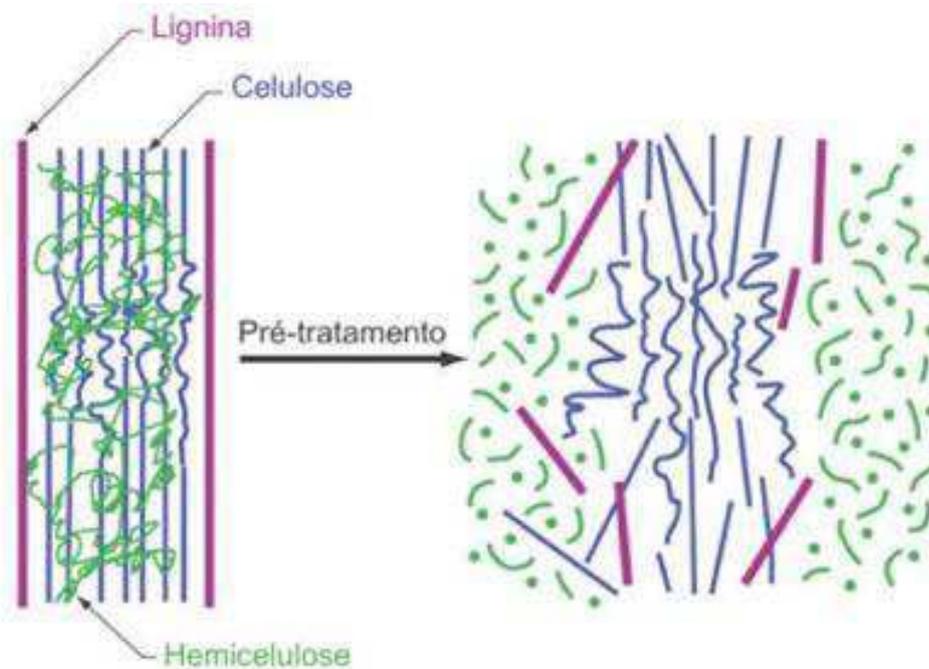
### **3.6 Tipos de pré-tratamentos**

Para a utilização de biomassa lignocelulósica como substrato em processos biotecnológicos que envolvam hidrólise, é necessário que a glicose contida no material esteja disponível para o ataque microbiológico. Para isso, se faz necessário um pré-tratamento neste tipo de material, afim de reduzir a recalcitrância do mesmo e aumentar o rendimento de uma possível hidrólise enzimática.

Esta etapa é um fator imprescindível para o aumento da seletividade à formação de produtos como o etanol, no caso de uma posterior fermentação. Para definição do pré-tratamento apropriado para determinada biomassa, vários aspectos físicos e químicos devem ser levados em consideração, pois a estrutura do material pode aumentar ou diminuir os efeitos do pré-tratamento no processo.

A Figura 11 conota de forma resumida e generalizada o efeito dos pré-tratamentos na biomassa lignocelulósica.

Figura 11: Representação da ação do pré-tratamento em materiais lignocelulósicos.



Fonte: Santos *et al.* 2012.

Dentre os pré-tratamentos existentes, os mais utilizados são os físicos, os químicos e os biológicos, que podem estar combinados entre si. A Tabela 1 mostra os tipos de pré-tratamentos mais relevantes na literatura, destacando seu modo de operação como também os tipos de mudanças que esses processos causam na estrutura da biomassa lignocelulósica.

Tabela 1: Métodos de pré-tratamentos de materiais lignocelulósicos.

Método	Operações	Tipo de Mudança	Referências
Físico	Moagem e trituração (bola, energia vibratória, rolo duplo, pressão, martelo); radiação (raios de elétrons, raios $\gamma$ , microondas); altas temperaturas (pirólises, explosão à vapor).	Aumento da área superficial e tamanho dos poros da partícula, diminuição do grau de polimerização.	Azuma <i>et al.</i> , (1985), Koullas <i>et al.</i> (1992), RAMOS <i>et al.</i> (1993).
Químico	Bases, ácidos, gases, agentes oxidantes e redutores, solventes orgânicos.	Deslignificação, diminuição do grau de polimerização e cristalinidade da celulose associada com o inchaço da amostra, aumento da porosidade.	FARID <i>et al.</i> (1983), SZCZODRAK <i>et al.</i> (1986), BES <i>et al.</i> (1989).
Biológico	Bolor branco ( <i>Pleurotus</i> , <i>Pycnoporus</i> , <i>Ischnoderma</i> , <i>Phlebia</i> , <i>etc.</i> ).	Deslignificação, diminuição do grau de polimerização da celulose e hemicelulose.	ROLZ <i>et al.</i> (1986), MES-HARTREE <i>et al.</i> (1987).
Combinado	Tratamento alcalino associado com explosão à vapor, moagem acompanhada com tratamento alcalino ou tratamento ácido.	Degradação da hemicelulose, deslignificação, aumento da área superficial e tamanho dos poros.	PURI e PEARCE (1989)

Fonte: (SZCZODRAK e FIEDURECK, 1996).

### 3.6.1 Pré-tratamentos químicos

#### 3.6.1.1 Pré-tratamento ácido

Existem várias formas de aplicação do pré-tratamento ácido, temos como exemplos as possibilidades da aplicação de soluções ácidas concentradas ou diluídas, sendo o ácido sulfúrico o mais utilizado nestes processos (GUEDES, 2010).

Segundo Sun e Cheng (2002), pode-se conduzir o pré-tratamento ácido com duas possibilidades de operação: altas temperaturas, acima de 160 °C, por um curto intervalo de tempo ou temperaturas mais baixas, aproximadamente 120 °C, por 30 a

90 minutos. A condução do pré-tratamento em condições mais brandas apresenta a vantagem de hidrolisar a hemicelulose convertendo-a em xilose e outros açúcares.

Neste tipo de pré-tratamento químico, a biomassa seca é misturada à solução ácida em proporções que variam de 1% a 3%. A conversão da hemicelulose é eficiente (cerca de 90%) e conduz a uma alta recuperação dos carboidratos monoméricos. A biomassa tratada apresenta melhor digestibilidade ácida ou enzimática. Uma desvantagem deste tratamento está associada à necessidade de um pós-tratamento de neutralização da acidez. Outra desvantagem é a formação de produtos de degradação dos açúcares como o furfural (PALMQVIST e HAHN-HAGERDAL, 2000); (SOARES e ROSSELL, 2007).

### **3.6.1.2 Pré-tratamento ácido seguido de básico**

Neste tipo de pré-tratamento químico utiliza-se soluções alcalinas diluídas em condições operacionais moderadas de temperatura e pressão. A reação com álcalis, além de neutralizar a acidez, provoca um inchamento da biomassa levando ao aumento da porosidade, assim como à diminuição da cristalinidade e do grau de polimerização com a quebra das ligações lignina-carboidrato. Em alguns casos, esse pré-tratamento pode ser conduzido à temperatura ambiente, porém demandam tempos reacionais elevados, da ordem de horas, dias ou semanas (SUN e CHENG, 2002); (SUN, 2004).

Geralmente para os tratamentos básicos são utilizadas soluções de hidróxidos de sódio e de cálcio, existindo ainda a possibilidade de utilização de amônia. De acordo com estudos realizados por Rabelo (2008), tratamentos em meios alcalinos geram produtos menos nocivos às leveduras, não promovem a degradação dos carboidratos, além da baixa formação de inibidores.

## **3.7 Processos Oxidativos Avançados (POAs)**

Os processos oxidativos avançados são aqueles que se baseiam na formação de radicais hidroxila, cujo potencial de oxidação é elevado ( $E^\circ=2,8V$ ). Tal radical tem a capacidade de reagir com quase todas as classes de compostos orgânicos (SOUZA, 2005). São processos limpos e não seletivos, podendo degradar vários compostos independente da presença de outros.

São técnicas bastante eficientes para destruição química de compostos orgânicos, sendo esta sua grande vantagem, uma vez que os tratamentos convencionais (adsorção, filtração, etc) geralmente utilizados apenas transferem o poluente de fase, quando o mais interessante é degradá-lo. Se a reação de oxidação for extensa, a total mineralização do composto pode ser atingida (DANTAS, 2005).

São classificados em heterogêneos quando o catalisador da formação de hidroxila se encontra no estado sólido, e homogêneos (TEIXEIRA e JARDIM, 2004). Os principais sistemas de POAs são encontrados na Tabela a seguir (Tabela 2).

Tabela 2: Principais Sistemas de Processos Oxidativos Avançados.

Presença de Radiação	Sistemas Homogêneos	Sistemas Heterogêneos
Sim	O <sub>3</sub> /UV H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV Ultrassom (US) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /US UV/US Feixe de elétrons	TiO <sub>2</sub> /O <sub>3</sub> /UV TiO <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV
Não	O <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /OH <sup>-</sup> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Fe <sup>2+</sup> (FENTON)	Eletro-Fenton

FONTE: (TEIXEIRA e JARDIM, 2004).

O radical hidroxila é formado a partir de oxidantes como o peróxido de hidrogênio e o ozônio. Na Tabela 3, observa-se o potencial padrão de oxidação de diversos agentes oxidantes e fica evidente a superioridade do radical hidroxila em relação aos demais agentes (ASGHAR, 2015).

Tabela 3: Potencial de oxidação de alguns agentes oxidantes.

<b>Agente Oxidante</b>	<b>Potencial de Oxidação (eV)</b>
Radical hidroxila	2,80
Ozônio	2,07
Peróxido de hidrogênio	1,77
Radical peridróxido	1,70
Íon permanganato	1,67
Dióxido de Cloro	1,50
Cloro	1,36
Oxigênio	1,23

Fonte: (TELLES, 2010).

### 3.7.1 Processo Oxidativo Avançado Fenton

Descoberto por Henry John Horstman Fenton no final do século XIX, a reação Fenton é utilizada para oxidação de contaminantes e tratamento de efluentes (SALGADO, 2009). Ocorre pela formação de radical hidroxila a partir da oxirredução do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) catalisada por íons de ferro divalente (GEWHER, 2013). O processo pode ser representado pela Equação (1):



Os íons férricos, presentes na reação, são excelentes coagulantes, o que faz o Fenton realizar dupla função no tratamento, fato que tem chamado a atenção de pesquisadores (TOSATO J.R. e HALASZ, 2011). Além disso, o potencial deste processo oxidativo para o tratamento de efluentes está ligado à sua simplicidade, uma vez que a reação ocorre à temperatura e pressão ambientes (FIOREZE, 2014).

É relatado por vários autores a importância do pH na eficiência da reação Fenton. O pH ideal para o processo está em torno de 3. Assim, a primeira etapa da técnica consiste no ajuste do pH, seguido da reação, neutralização e da coagulação/precipitação (MACHADO, 2007).

---

O processo Fenton tem sido utilizado com sucesso na degradação de efluentes têxteis, surfactantes, lixiviados de aterro e efluentes de papelão (SALGADO, 2009).

A reação de Fenton degrada não seletivamente a matéria orgânica, através da formação de radicais livres e altamente reativos de hidroxilas provenientes da solução com concentrações variadas de ferro e peróxido de oxigênio, o que se assemelha muito ao metabolismo dos microorganismos classificados como basidiomicetos lignocelulolíticos, pois os mesmos têm a capacidade de degradar seletivamente os componentes poliméricos da biomassa (lignina e hemicelulose) e são divididos em duas categorias: fungos de podridão branca e fungos de podridão parda (ARANTES, 2012).

Esta peculiaridade da reação Fenton, de se assemelhar com o metabolismo dos basidiomicetos lignocelulolíticos, faz com que este tipo de reação tenha potencial de ser aplicada como um vigoroso pré-tratamento em biomassas recalcitrantes, como é o caso do bagaço do sisal, não havendo relatos de sua aplicação para este fim até o momento.

A exposição a fungos de podridão branca, como *Phanerochaete Chrysosporium*, ou fungos de podridão parda, como *Gloeophyllum trabeum*, são exemplos de um pré-tratamento químico vivo, uma vez que esses microorganismos, durante seu metabolismo produzem reações químicas similares à solução de Fenton (ferro/peróxido) (ARANTES, 2010). Estes fungos têm enzimas tais como peroxidases e alguns íons de ferro nos centros catalíticos, que degradam lentamente lignina através da decomposição catalítica do peróxido de hidrogênio pelo íon ferroso, gerando radicais hidroxila, também conhecidos como Fentonquímica (VILLA, 2008), (JUNG, 2015).

A reação de Fenton ou reagente de Fenton é uma solução de peróxido de hidrogênio e um catalisador de ferro que é usada na oxidação de impurezas ou águas residuais. O reagente pode ser usado na destruição de compostos orgânicos como o tricloroetileno (TCE) e o percloroetileno. Foi desenvolvida na década de 1890 por Henry John Horstman Fenton como reagente analítico (FENTON, 1894).

Na tentativa de imitar os fungos de podridão branca e parda, a solução química de Fenton fornece uma oxidação não seletiva de compostos orgânicos (VALASKOVA e BALDRIAN, 2006). A solução Fenton tem o potencial de fornecer um pré-tratamento eficiente para a produção de biocombustíveis (MICHASKA, 2012).

### 3.7.1.1 A reação de Fenton

Em 1894, o cientista H. J.H. Fenton relatou que íons ferrosos, na presença de peróxido de hidrogênio, promoviam a oxidação do ácido málico (HUANG, DONG e TANG, 1993). Essa descoberta deu início ao estudo contínuo da reação de Fenton. Porém, somente a partir da década de 60 do século passado, tal processo passou a ser aplicado como um Processo Oxidativo Avançado para a destruição de compostos orgânicos recalcitrantes (NEYENS e BAYENS, 2003).

A reação de Fenton depende, essencialmente, de três fatores: pH, concentração de peróxido de hidrogênio e concentração de  $\text{Fe}^{2+}$  (ou  $\text{Fe}^{3+}$ ). A otimização desses fatores é fundamental para o bom desempenho do processo. Também é importante considerar outras características da reação, tais como, temperatura e quantidade de constituintes orgânicos e inorgânicos. Esses parâmetros determinam a eficiência da reação global e a relação mútua entre eles define a produção e o consumo de radicais hidroxila. Quando a concentração de  $\text{Fe}^{2+}$  excede a de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , o tratamento tende a apresentar um efeito de coagulação química. Já quando ocorre o contrário, o tratamento tem efeito de oxidação química (NEYENS e BAYENS, 2003).

Segundo Wang (2016), o pH do meio deve ser mantido ácido para que a reação Fenton ocorra. Além disso, pHs acima de 3,0 devem ser evitados para que o íon férrico não precipite e reduza a capacidade catalítica. Contudo, o pH não deve descer a níveis abaixo de 2,5 a fim de que não haja altas concentrações de  $\text{H}^+$  que sequestrariam os radicais hidroxila e diminuiria a eficiência do processo.

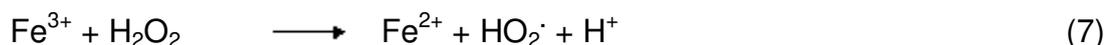
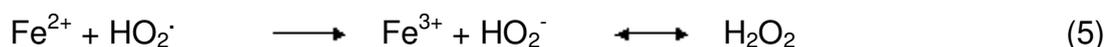
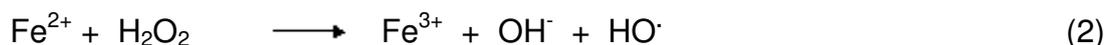
Na literatura, alguns autores (CHEN, 2001); (ZHANG, 2005), sugerem que o pH ótimo para um melhor rendimento da reação Fenton é próximo a 3,0. Entretanto,

cabe ressaltar que não existe um pH ideal para a reação de Fenton e sim uma faixa de pH, que varia de 3,0 - 4,0.

Segundo Utset (2000), a formação de radicais hidroxila em pH maior que 3,0 tem sido questionada, apontando a existência de complexos  $\text{Fe}^{2+}(\text{H}_2\text{O})^{2+}$  como responsáveis pelo ataque de moléculas orgânicas. Em pH de operação maior que 4,0, a velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio decresce, porque diminuem as espécies de ferro livre na solução devido à formação de complexos de ferro com a matéria orgânica e devido também à precipitação de hidróxidos de ferro (LIN e LO, 1997). Em pH menor que 2,0 ocorre a formação de  $(\text{Fe}^{2+}(\text{H}_2\text{O}))^{2+}$ , que reage mais lentamente com peróxido de hidrogênio, produzindo uma menor quantidade de radicais hidroxila e reduzindo a eficiência de degradação (SALGADO, 2013).

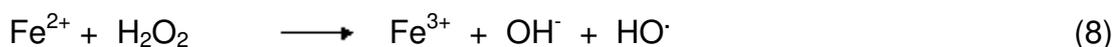
#### 2.4.2.3.2. Mecanismo da reação de Fenton

O mecanismo de geração catalítica de radicais hidroxila, foi provado e aceito desde 1971, está descrito em seguida representado pelas Equações de (2) à (13) (FLAHERTY, 1992).



Com o excesso de íons  $\text{Fe}^{2+}$  ocorrem preferencialmente as reações (2) e (3); Com o excesso de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em meio ácido ocorrem preferencialmente as reações (2), (4) e (5) e as reações (6) e (7) são desprezíveis. Para concentrações semelhantes de  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  ocorrem apenas as reações (2), (3), (4) e (5). Em 1949 Mertz e Waters demonstraram que a oxidação da matéria orgânica com reagente de Fenton

pode ocorrer através de um mecanismo de reação em cadeia na qual a etapa limitante é a formação de radicais hidroxila (FLAHERTY e HUANG, 1992).



No que diz respeito à cinética da reação, os estudos realizados anteriormente estão condicionados quer pelo tipo de substrato orgânico presente no efluente, quer pelas condições em que se realiza a oxidação. No entanto, é consensual que a temperatura, a quantidade de matéria orgânica, as concentrações de peróxido e de ferro influenciam a velocidade de reação. Vários estudos indicam que a reação global com reagente de Fenton é de primeira ordem em relação à concentração de substrato orgânico no efluente, no caso de tratamento de efluentes (GUEDES, 1998).

### 3.8 Processos de Hidrólise

#### 3.8.1 Hidrólise ácida

Este tratamento tende a gerar elevadas quantidades de açúcares, obtidas da fração hemicelulósica (BAUDEL, 2006). Os ácidos mais empregados neste tratamento são  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{HF}$ ,  $\text{CH}_3\text{COOH}$  e  $\text{HNO}_3$ . Rossell (2002), utilizou um ácido fraco para atuar como um forte solvente da lignina, que é exatamente o agente restritivo da hidrólise, em altas temperaturas para facilitar o rápido acesso a celulose e hemicelulose, podendo ser considerado um pré-tratamento e um processo de hidrólise em união, o que facilita o processo de hidrólise. A retirada do açúcar formado deve ser feita imediatamente após a hidrólise, e resfriado para que não

haja alterações estruturais do complexo celulose-hemicelulose-lignina determinadas pelo pré-tratamento (SANTOS, 2012). A retirada do açúcar formado deve ser imediatamente após a hidrólise e resfriado para que não haja uma degradação deste carboidrato, principalmente em pentoses. Sendo logo em seguida neutralizado para estabilizar o açúcar obtido (BAUDEL, 2006).

Os rendimentos da hidrólise ácida quando comparados com a hidrólise enzimática podem ser considerados baixos, como pode ser comprovado através de estudos realizados por Leão (2014), Nunes (2015), entre outros. Além de ter um desempenho inferior à hidrólise enzimática, o tratamento ácido gera uma grande quantidade de efluentes que necessitam ser neutralizados antes de serem descartados na rede de esgoto, tornando assim o processo mais oneroso.

### **3.8.2 Hidrólise enzimática**

A hidrólise enzimática da celulose é catalisada por enzimas altamente específicas que são chamadas de celulasas. Na realidade, a hidrólise completa da celulose requer uma ação de um complexo enzimático composto por pelo menos três grandes grupos de celulasas atuando em sinergia: endoglucanases, que clivam randomicamente as ligações internas da região amorfa, liberando oligossacarídeos com terminações redutoras e não redutoras livres; exoglucanases, subdivididas em celobiohidrolases, que são responsáveis pela hidrólise dos terminais redutores e não redutores, e glucanohidrolases, que são capazes de liberar moléculas de glicose diretamente dos terminais do polímero; e  $\beta$ -glucosidases, que hidrolisam a celobiose (dímero de glicose) e oligossacarídeos solúveis de baixo grau de polimerização a glicose (ARANTES, 2010).

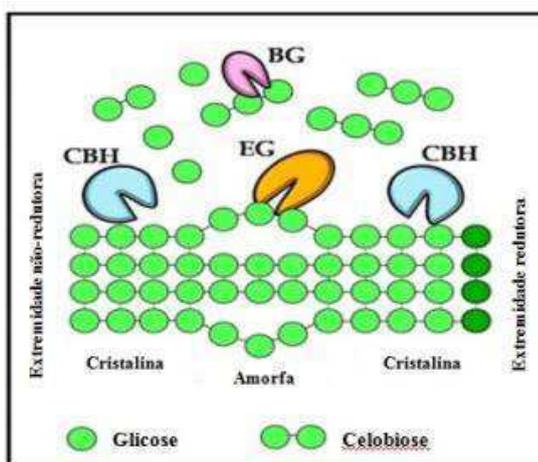
No decorrer do processo de hidrólise enzimática, a celulose, que é o principal material contido na biomassa lignocelulósica, é degradada pelas enzimas celulasas produzindo açúcares fermentáveis que podem ser fermentados para produção de etanol de segunda geração (SILVA e BELTRÃO, 1999).

Os fatores positivos do processo enzimático são sua condução em condições brandas, um custo utilidade relativamente baixo (SUN e CHENG, 2002), além de permitir maiores rendimentos, possibilitar a fermentação simultânea à

sacarificação (processo SSF – simultâneos saccharification and fermentation) e apresentar baixo custo de manutenção (não há problema de corrosão). A hidrólise enzimática é uma reação heterogênea catalisada pelas celulases, sendo distinguida por um substrato insolúvel (celulose) e um catalisador solúvel (enzimas). A completa hidrólise da celulose requer a ação combinada de múltiplas enzimas (celulases) com diferentes especificidades ao substrato (KOVACS, 2009).

As celulases são denominadas enzimas altamente específicas e podem ser divididas em três grupos: as endoglucanases (EC 3.2.1.4), que clivam aleatoriamente ligações internas  $\beta$ -1-4 da região amorfa; as exoglucanases/celobiohidrolases (EC 3.2.1.91), que atuam nas extremidades das cadeias de celulose para liberar celobiose, e  $\beta$ -glicosidases (EC 3.2.1.21), que catalisam a hidrólise da celobiose em 17 unidades de glicose (KUMAR, 2008); (SERPA e POLIKARPOV, 2011). As enzimas do complexo celulolítico são classificadas pela Enzyme Commission (EC) com a codificação 3.2.1.x, no qual o valor de x varia com a celulase avaliada (HENRISSAT, 1991). Essas enzimas individualmente não hidrolisam a celulose com eficiência, sendo necessária uma ação complementar das outras enzimas do complexo. O sinergismo entre endoglucanase, exoglucanases e  $\beta$ -glicosidase potencializa a hidrólise da fibra celulósica. Na Figura 12 pode-se visualizar o modo de ação praticado pelo complexo celulolítico.

Figura 12: Modo de ação das enzimas do complexo celulolítico (EG - endoglucanase; CBH - celobiohidrolase; BG -  $\beta$ -glicosidase).

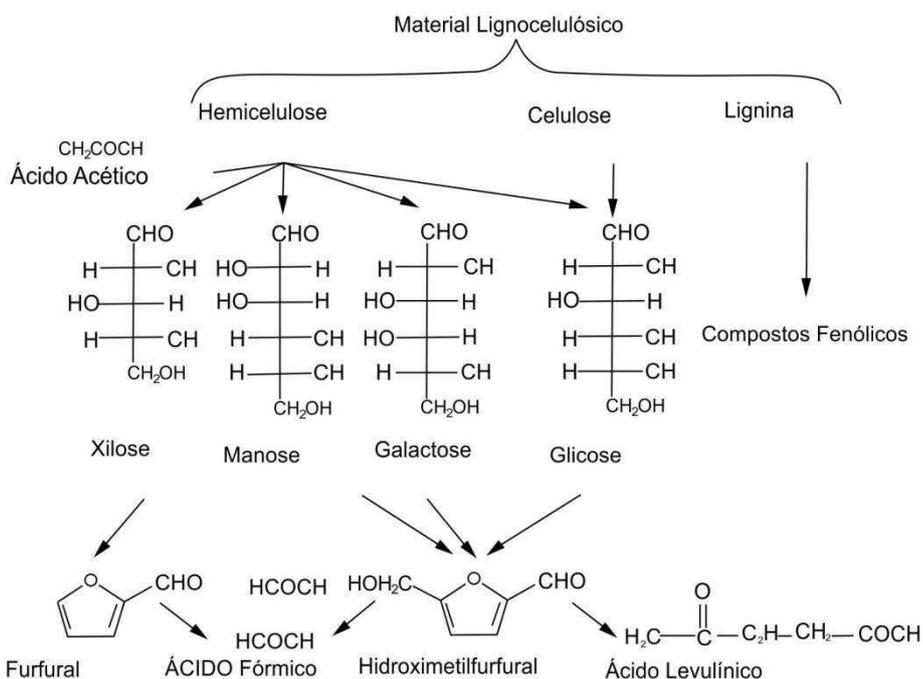


Fonte: Adaptado de (LYND, 2002).

A obtenção de um produto de qualidade por meio do processo de hidrólise enzimática de resíduos agroindustriais tem sido o objetivo de diversos trabalhos. Exemplos de estudos utilizando resíduos nesse processo são: resíduos da laranja lima (SILVA, 2016); potencialidades de obtenção de etanol a partir da fibra do Sisal (LEÃO, 2014); avaliação do uso da argila vermiculita como catalisador na hidrólise do bagaço da cana-de-açúcar (NUNES, 2015); entre outros.

De acordo com a Figura 13, os principais produtos de degradação dos carboidratos provenientes da hidrólise da celulose e hemicelulose são os furfurais e ácidos fracos, tais como o fórmico e o acético. Os efeitos inibitórios destes compostos são mais estudados sobre leveduras devido ao interesse na utilização de hidrolisados de resíduos lignocelulósicos em processos fermentativos.

Figura 13: Reações que ocorrem durante a hidrólise dos materiais lignocelulósicos.



Fonte: (PALMQVIST e HAHN-HAGERDAL, 2000)

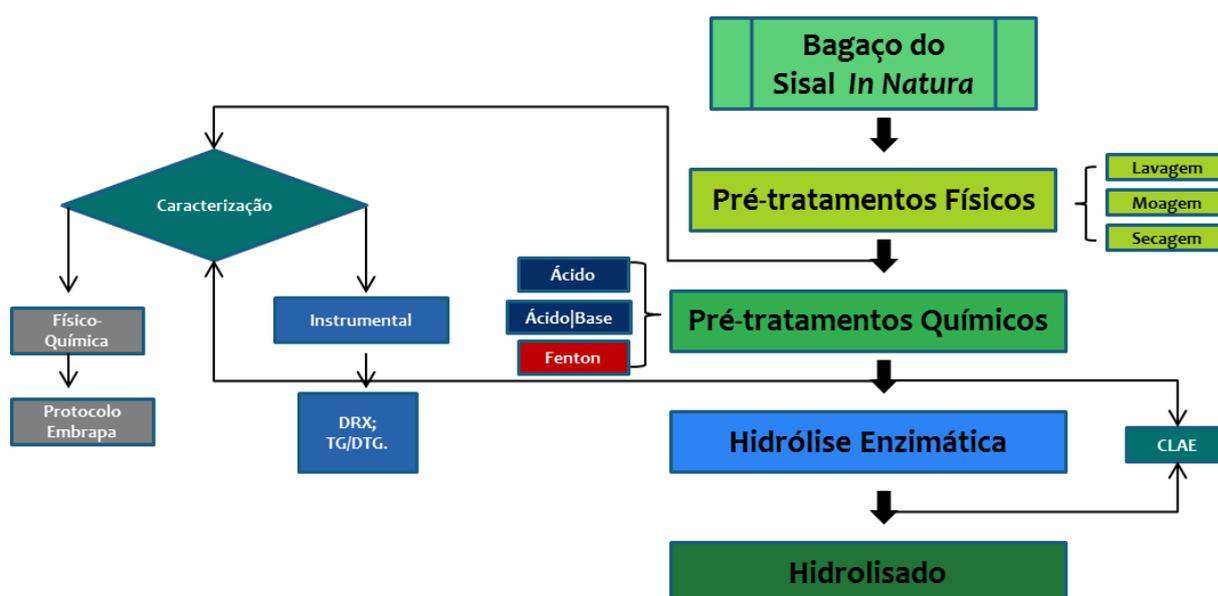
# **Metodologia**

## 4. Metodologia

Essa pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Engenharia Bioquímica pertencente à Unidade Acadêmica de Engenharia Química da Universidade Federal de Campina Grande (LEB/UAEQ/UFCG). O bagaço do sisal utilizado no presente trabalho foi fornecido pela fazenda Montevidéu localizada na Zona Rural do município de Nova Floresta - PB.

A Figura 14 detalha todas as etapas do trabalho em formato de fluxograma.

Figura 14: Fluxograma da pesquisa.



### 4.1 Caracterização do bagaço do Sisal: umidade, cinzas, celulose, hemicelulose e lignina

A caracterização do bagaço do Sisal: umidade, cinzas, celulose, hemicelulose e lignina, foi realizada no presente trabalho utilizando a metodologia usada para análise de materiais lignocelulósicos baseada nas normas citadas no Documento 236 da Embrapa (MORAIS, 2010).

## 4.2 Pré-tratamento físico

Antes da realização dos experimentos, as amostras do bagaço foram lavadas com bastante água com o intuito de retirar resíduos como a areia, por exemplo. Em seguida, a biomassa passou por processo de secagem em temperatura aproximada de 65°C em estufa de circulação de ar. A cada 8 horas as amostras foram pesadas até que a massa permanecesse constante. Por fim, as amostras foram moídas em moinho de facas.

## 4.3 Pré-tratamento ácido

No presente trabalho foi realizado um pré-tratamento químico do bagaço do Sisal, em um reator pressurizado, Figura 15, com controle de pressão e temperatura.

Figura 15: Reator pressurizado



O pré-tratamento ácido foi realizado em reator pressurizado: pesou-se uma alíquota de 50g de bagaço de Sisal e colocou-se no reator. Posteriormente de acordo com as concentrações de ácido e temperaturas estabelecidas na matriz de planejamento experimental, adicionou-se 500 mL de uma solução  $H_2SO_4$ , ajustou-se a temperatura do reator e manteve-a constante por uma hora para que ocorresse a reação. Em seguida, o material foi filtrado, na sequência lavado até a água de lavagem atingir pH neutro, em seguida material foi seco em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C até atingir massa constante. Na Tabela 4 está representada a matriz de planejamento utilizada para o pré-tratamento ácido.

Tabela 4: Matriz de planejamento do pré-tratamento ácido

Ensaio	[H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]	Temperatura (°C)
1	(-) 1%	(-) 80
2	(-) 1%	(+) 120
3	(+) 3%	(-) 80
4	(+) 3%	(+) 120
5	(0) 2%	(0) 100
6	(0) 2%	(0) 100
7	(0) 2%	(0) 100

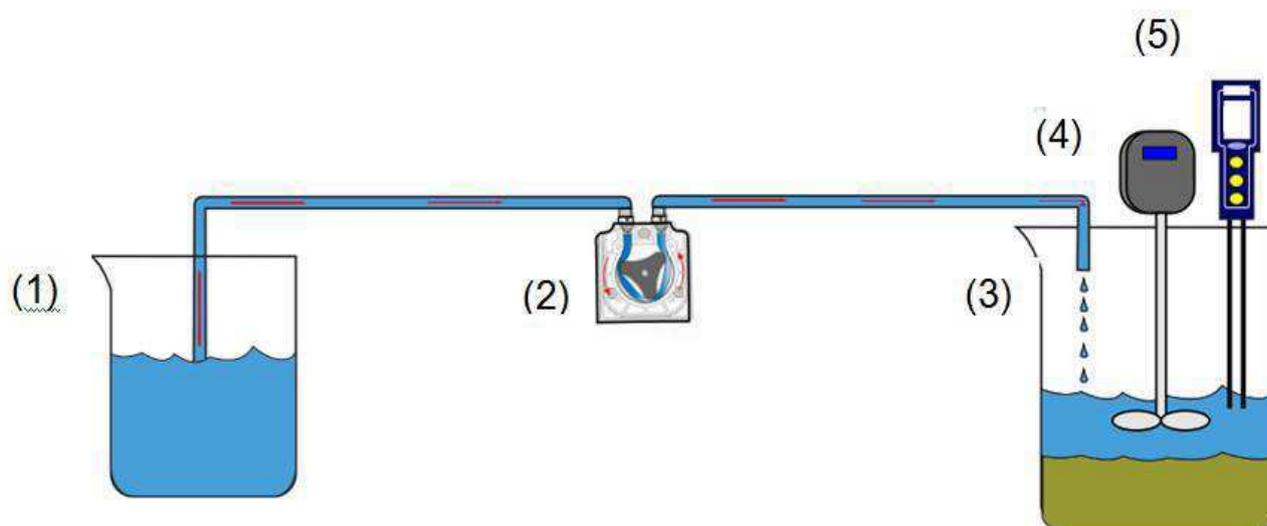
#### 4.4 Pré-tratamento básico (ácido seguido de básico).

Para o pré-tratamento alcalino 50g do material, tratado anteriormente em meio ácido, foi transferido para o reator pressurizado. Em seguida, adicionou-se 500 mL de solução NaOH 4%, a reação ocorreu a temperatura de 120°C mantendo-se o tempo constante de uma hora. Na sequência, o material foi filtrado e lavado com água destilada até o pH se igualar ao da água de lavagem. Depois secou-se o material em estufa de circulação forçada a 60 °C até atingir massa constante.

#### 4.5 Pré-tratamento Fenton

Para o pré-tratamento Fenton utilizou-se um sistema fixo montado com agitador e bomba peristáltica. Em um becker foram colocados 10g de biomassa (quantidade fixa) adicionando, em seguida, 100 ml de solução de sulfato de ferro II. Sob agitação contínua, conectou-se a bomba peristáltica um erlenmeyer contendo 100 ml da solução de peróxido de hidrogênio. A contagem do tempo foi feita a partir do início do gotejamento da solução do peróxido de hidrogênio no becker. Ao término de cada experimento, lavou-se a biomassa até que a mesma atingisse pH neutro. Secou-se as amostras em estufa à 60 °C, para posteriores análises. A Figura 16 ilustra o funcionamento do reator onde foram processadas a reação de fenton (KATO *et al.*, 2014).

Figura 16: Reator Fenton



- (1) – Reservatório contendo a solução de  $\text{H}_2\text{O}_2$
- (2) – Bomba Peristáltica
- (3) – Reservatório contendo a solução de Fenton e a biomassa
- (4) – Agitador Mecânico
- (5) – pHmetro

Os experimentos foram conduzidos de acordo com a Tabela 5, que detalha todos os níveis da matriz do planejamento experimental:

Tabela 5: Matriz do planejamento experimental  $2^2$  com 3 repetições no ponto central e variáveis de entrada no planejamento para o pré-tratamento.

Ensaio	$[\text{Fe}^{2+}]$ mmol	$[\text{H}_2\text{O}_2]$ M
1	- (1)	- (1)
2	+ (4,25)	- (1)
3	- (1)	+ (5)
4	+ (4,25)	+ (5)
5	0 (2,625)	0 (3)
6	0 (2,625)	0 (3)
7	0 (2,625)	0 (3)

#### 4.5.1 Quantificação de Peróxido

Com o intuito de analisar o consumo de peróxido durante a reação Fenton, construiu-se uma curva de calibração, seguindo a metodologia descrita por (JUNG, 2015) relacionando concentrações conhecidas de soluções de peróxido de hidrogênio e suas respectivas absorvâncias. A curva de calibração encontra-se no Anexo I.

Para a leitura da concentração do peróxido de hidrogênio remanescente nas amostras ao final do tempo de reação coletou-se parte do sobrenadante de cada experimento para posterior processo de filtragem. Em seguida, mediu-se 1 mL do filtrado diluindo-o cem vezes.

Posteriormente utilizou-se 0,5 ml da solução diluída, adicionou-se 4 mL de solução padrão de  $\text{TiOSO}_4$  – 0,1 M, completou-se um volume de 10 mL com água destilada. A leitura da absorvância foi realizada no espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 408 nm.

#### 4.5.2 Quantificação de Ferro

Pipetou-se separadamente em balões de 1000 mL respectivamente 1, 2, 5 e 10 mL de padrão de ferro de 1000 mg/L . Diluiu-se os balões volumétricos com água destilada até o menisco (MEHODS, 2012).

Estas soluções padrões apresentaram as seguintes concentrações para a elaboração da curva de calibração: 1 mg/L , 2 mg/L , 5 mg/L e 10 mg/L de Ferro.

Para cada 50 mL dos padrões medidos com precisão de 0,02 mL e transferidos para balão de 100 mL adicionou-se: 2 mL de HCl 37%; 1 mL da solução redutora de hidroxilamina; Esperou-se 10 minutos e adicionou-se: 10 mL da solução tampão de acetato de amônio; 4 mL da solução de ortofenantrolina. Agitou-se bem, em seguida, o volume foi aferido para 100 mL com água deixando a solução em repouso por 10 minutos para o desenvolvimento da cor.

#### 4.5.2.1 Análise de Ferro Total

Pipetou-se 50 mL da amostra para um balão volumétrico de 100 mL e adicionou-se 2 mL de HCl 37%; 1 mL da solução redutora de hidroxilamina. Esperou-se 10 minutos e foram adicionados: 10 mL da solução tampão de acetato de amônio; 4 mL da solução de ortofenantrolina. Homogeneizou-se vigorosamente, e o volume foi aferido para 100 mL com água deionizada, logo após e aguardou-se 10 minutos para o desenvolvimento da coloração.

As absorvâncias foram lidas no comprimento de onda 510 nm com cubeta de quartzo de 1 cm. As concentrações de ferro foram obtidas através da equação 15, gerada pela curva de calibração obtida com os padrões (MEHODS, 2012). A curva de calibração para determinação do ferro encontra-se no anexo 1.

#### 4.5.2.2 Análise de Ferro II

Pipetou-se 50 mL da amostra para balão volumétrico de 100 mL e foram adicionados 10 mL da solução tampão de acetato de amônio, posteriormente, 4 mL da solução de ortofenantrolina. A solução foi agitada vigorosamente, completada o seu volume para 100 mL com água e aguardou-se 10 minutos para o desenvolvimento da cor.

As absorvâncias foram lidas em 510 nm, em cubeta de vidro de 1 cm e calculou-se o valor da concentração de ferro na curva de calibração obtida com os padrões (MEHODS, 2012).

#### 4.5.2.3 Análise de Ferro III

Analisou-se o Ferro total como em 4.5.2.1

Analisou-se o Ferro II como em 4.5.2.2

A concentração de Ferro III foi obtida através da subtração das concentrações de Ferro II e da concentração de Ferro total (MEHODS, 2012). A equação 16 evidencia a realização do cálculo da concentração de Fe oxidado.

$$[\text{Fe III}] = [\text{Ferro Total}] - [\text{Fe II}]$$

#### 4.6 Técnicas termoanalíticas

As técnicas termoanalíticas utilizadas foram: termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). A primeira é a técnica na qual a amostra (bagaço do Sisal *in natura* e após os pré-tratamentos) é submetida a uma programação controlada de temperatura e, então, a variação de massa da substância é medida. Já na calorimetria exploratória diferencial mede-se a diferença de energia fornecida à substância e a um material de referência, enquanto ambos são submetidos a uma variação controlada de temperatura.

As curvas TG e DSC foram obtidas a partir de 1mg de amostra, com razão de aquecimento 10 °C/min, variando da temperatura ambiente até 1000°C em atmosfera de ar sintético.

#### 4.7 Determinação da atividade enzimática

A determinação da atividade enzimática baseou-se na metodologia proposta por (GHOSE, 1987), que mediu a atividade celulolítica em termos de unidades de papel de filtro por mililitro (FPU/mL) da solução enzimática original.

#### 4.8 Caracterização por Difratoimetria de Raios X (DRX)

Amostras do bagaço do Sisal foram caracterizadas antes e após os tratamentos por DRX utilizando um difratômetro Shimadzu modelo XD3A com varredura entre 5° e 70° (2θ) e velocidade de 0,033°/s. para determinação da cristalinidade utilizou-se da Equação (14).

$$I_c = \frac{(I_{002} - I_{am})}{I_{002}} \times 100 \quad (14)$$

Em que:

$I_c$ : Índice de cristalinidade

$I_{002}$ : Intensidade do pico no plano cristalino 002 (2θ=22,6 °)

$I_{am}$ : Intensidade do pico na fase amorfa (2θ=19,0 °)

#### 4.9 Hidrólise enzimática

A hidrólise enzimática do bagaço do sisal pré-tratado (ácido seguido de básico e fenton) foi realizada com o auxílio de um planejamento fatorial  $2^2$  verificando-se a influência das variáveis de entrada: carga enzimática e porcentagem de massa seca de Sisal e volume reacional.

A hidrólise foi realizada em frascos erlenmeyers de 250 mL contendo: o bagaço do Sisal seco, extrato enzimático de celobiohidrolases (CBHs), endo-1,4-beta-glucanases (EGS) de nome comercial Celluclast 1.5L Novozyme, 8,21 FPU/mL e 0,28g de beta-glicosidase (Powercell) e tampão de citrato de sódio nas condições do planejamento experimental e três gotas de solução de tetraciclina (10 mg/mL em 70% de etanol) para prevenir o crescimento microbiano durante a hidrólise. Esta mistura foi mantida em uma incubadora shaker sob agitação de 150 rpm e temperatura de 50°C.

Para cada experimento foram coletadas amostras em tempos pré-definidos para o estudo da cinética da hidrólise enzimática e assim obteve-se as melhores condições para a obtenção da máxima concentração de glicose.

As Tabelas 6 e 7 contêm as variáveis de entradas na forma codificada e não codificada, bem como, a matriz do planejamento experimental.

Tabela 6: Níveis codificados e reais das variáveis independentes para o planejamento.

Variáveis	-1	0	+1
Carga enzimática (FPU/g)	10	17,5	25
Porcentagem da razão massa seca do bagaço do Sisal/ volume total	2	3	4

Tabela 7: Matriz de planejamento fatorial 2<sup>2</sup>.

Ensaio	Carga enzimática	Porcentagem da razão massa seca/volume de extrato	Massa de Sisal	Volume de extrato	Volume total	Volume do tampão	Tetraciclina
1	-1	-1	3,00	2,68	150,00	147,32	0,6
2	+1	-1	3,00	6,69	150,00	143,31	0,6
3	-1	+1	3,00	2,68	75,00	72,32	0,3
4	+1	+1	3,00	6,69	75,00	68,31	0,3
5	0	0	3,00	4,68	100,00	95,32	0,4
6	0	0	3,00	4,68	100,00	95,32	0,4
7	0	0	3,00	4,68	100,00	95,32	0,4

#### 4.9.1 Determinação de pentoses e hexoses nos processos de hidrólise

O teor de açúcar e aldeídos (HMF e Furfural) foram determinados através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) equipado com uma bomba modelo ProStar 210 (Varian); Injetor manual com loop de 20 µL; Detector de índice de refração modelo ProStar 356 (Varian) e UV/visível 284nm (aldeídos); Coluna analítica de aço inox Hi-Plex H (300 mm x 7,7 mm; Varian), e as condições das operações foram as seguintes: Temperatura da coluna de 60°C; Fase móvel: água miliQ com vazão de 0,6 mL/min; Tempo de análise: 60 minutos para teores de açúcares e aldeídos, respectivamente. Soluções padrões interno de açúcares: glicose, xilose, arabinose e sacarose (Sigma 99,99% grau HPLC), congêneres 5-hidroximetilfurfural – HMF (Aldrich 99,98%) e furfural (Vetec 99,9 UV/HPLC) foram utilizadas na quantificação dos componentes do licor.

# **Resultados e Discussão**

## 5. Resultados e Discussão

### 5.1 Caracterização físico-química do material lignocelulósico

Na Tabela 8 encontra-se o resultado da composição química para o bagaço do Sisal *in natura* e pré-tratado (ácido seguido de básico).

Tabela 8: Caracterização físico-química do bagaço *in natura* e pré-tratado \*\* (ácido seguido de básico).

Parâmetros analisados	Bagaço sem pré-tratamento (%)	*Bagaço pré-tratado (%)
Umidade b.u	14,22 ± 0,48	5,47 ± 0,15
Umidade b.s	16,58 ± 0,05	5,78 ± 0,16
Cinzas	8,79 ± 0,23	7,45 ± 0,61
Extrativos	11,87 ± 0,32	8,62 ± 0,51
Lignina	12,04 ± 0,53	8,20 ± 0,27
Holocelulose	51,02 ± 0,42	71,07 ± 0,22
Alfa Celulose	29,68 ± 0,55	53,47 ± 0,13
Hemicelulose	21,34 ± 0,69	17,76 ± 0,10

\*Holocelulose é a soma da hemicelulose e alfa celulose

\*Bagaço de Sisal submetido ao pré-tratamento ácido seguido de básico.

Por meio dos dados percebeu-se que houve uma redução nos teores de umidade, cinzas, extrativos, ligninas e hemicelulose após os pré-tratamentos, no entanto houve um aumento nos teores de holocelulose e alfa celulose. O aumento nos parâmetros citados se deve ao fato do bagaço ter passado pela etapa de retirada de hemicelulose e lignina devido aos pré-tratamentos químicos utilizados no presente trabalho.

Os valores de cinzas encontrados nesse trabalho foram de 8,79% e 7,45% para o material *in natura* e para o material pré-tratado respectivamente, no entanto esses valores são bastante destoantes dos valores relatado por (BANERJEE e PANDEY, 2012) que trabalhando com bagaço de cana encontraram 2 a 3 %.

Os valores de extrativos foram de 11,87% e 8,62% para o material *in natura* e para o material pré-tratado respectivamente, valores esses similares aos encontrados em outros materiais lignocelulósicos como o bagaço de cana-de-açúcar 9,38 % (CANILHA, 2010), cladódios da palma forrageira 7,9 % (PRADO e ABREU, 2010), palha de trigo 9,8 % (SILVA, 2011).

Para  $\alpha$ -celulose, lignina e hemicelulose os valores encontrados neste trabalho foram de 29,68%, 12,04% e 21,34%, respectivamente. Após o pré-tratamento, foram de 53,47%, 8,20% e 17,76%, respectivamente. Houve um aumento de 55,50% para celulose e uma redução de 31,89 % para lignina e 16,78% para hemicelulose, o que difere, principalmente, no valor encontrado para lignina por (WANDERLEY, 2012), este trabalhando com bagaço de cana para produção de etanol de 2ª geração obteve um aumento de 74,98% para celulose, uma diminuição de 13,4% de hemicelulose, enquanto que a lignina diminuiu 83,35% em relação ao bagaço pré-tratado.

Os resultados da caracterização físico-química mostram que o pré-tratamento com ácido seguido de básico tem a vantagem de remover uma parte da lignina, solubilizar a hemicelulose e concentrar a celulose. No caso da produção de etanol deseja-se teores menores para a lignina e hemicelulose, pois estes quanto mais elevados para estas matérias-primas mais dificuldades são encontradas na reação de hidrólise, pois os mesmos dificultam a ação dos agentes hidrolíticos (ácido ou enzimas).

## **5.2 Pré-tratamento ácido**

Para a realização do pré-tratamento ácido foi realizado um planejamento experimental  $2^2$  com 3 repetições no ponto central, onde foram definidas as concentrações de ácido sulfúrico utilizadas e também os tempos em que os experimentos foram conduzidos, como pode ser visualizado através da Tabela 9. As concentrações de xilose e glicose foram determinadas por cromatografia gasosa de alta eficiência (CLAE).

Tabela 9: Planejamento experimental para o tratamento ácido.

Ensaio	Concentração de ácido (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Temperatura (°C)	Concentração de xilose(mg/L)	Concentração de glicose(mg/L)
1	(-) 1%	(-) 80	1600,00	856
2	(-) 1%	(+) 120	1623,57	857,93
3	(+) 3%	(-) 80	1114,88	473,74
4	(+) 3%	(+) 120	2656,93	1813,28
5	(0) 2%	(0) 100	2879,31	1370,38
6	(0) 2%	(0)100	3086,08	1449,26
7	(0) 2%	(0) 100	2499,04	1278,16

De acordo com os dados obtidos, é possível perceber que no ensaio 6 foi observado a maior concentração de xilose 3086,08 mg/L e no ensaio 4 a maior de glicose 1813,28 mg/L. Para um pré-tratamento se mostrar eficiente, deve-se avaliar a condição onde é observada a menor perda de glicose, visto que a mesma deve ser preservada para processos posteriores. Analisando os dados obtidos pode-se constatar que no ensaio 2 quantificou-se 857 mg/L de glicose. Correlacionando com a concentração de ácido utilizada no experimento, pode se afirmar que neste ensaio obtivemos uma condição favorável para o pré-tratamento ácido.

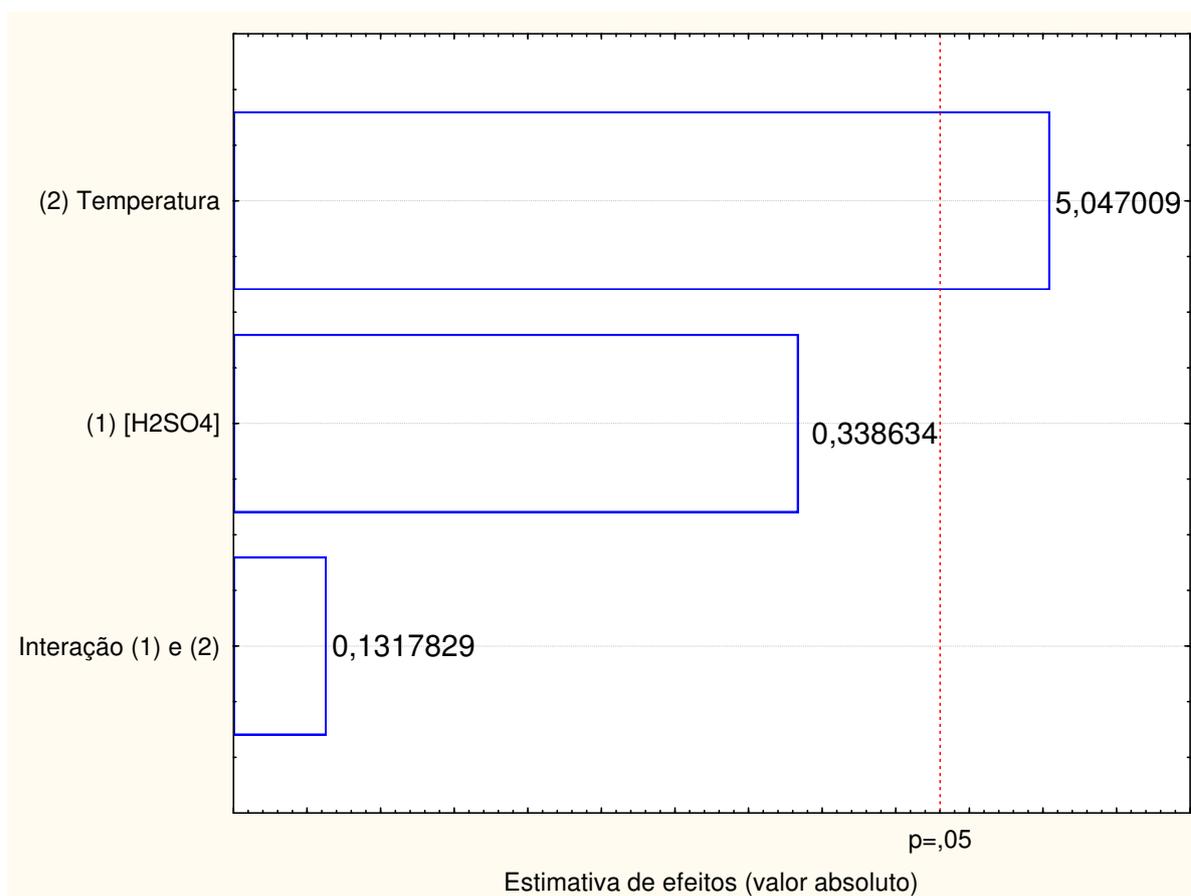
Fangkun e Reumgsang (2010) realizaram pré-tratamento fazendo uso de soluções de ácido sulfúrico com concentrações que variavam de 1-5% e tempo de 1h de reação, conseguiram com a concentração de 1% do ácido, concentrações de 1460 mg/L para glicose e 910 mg/L para xilose.

Canilha (2011) aponta a temperatura como fator que mais influenciou a solubilização de carboidratos durante processos de tratamento com ácido sulfúrico, em contrapartida também relatou que este fator foi decisivo para a formação de inibidores durante as reações.

### 5.2.1 Análise estatística para o pré-tratamento ácido

O diagrama de Pareto gerado para o pré-tratamento ácido aplicado na biomassa é apresentado na Figura 17, tendo como variável de resposta a concentração de xilose.

Figura 17: Diagrama de Pareto para o pré-tratamento ácido em termos de concentração de xilose.



De acordo com o Diagrama de Pareto, é possível perceber que a temperatura é o único fator que tem efeito sobre o pré-tratamento ácido no tocante a alterações significativas na solubilização da hemicelulose e conseqüentemente a produção de xilose, ou seja, com o aumento da temperatura passando do menor nível -1 (80°C) para o maior nível +1 (120°C), provoca um aumento na concentração da xilose (mg/L). A concentração do ácido sulfúrico, como também a interação entre os fatores concentração e tempo não influenciaram diretamente no processo.

A análise ANOVA aplicada para este pré-tratamento é representada pelos dados que podem ser visualizados por meio da Tabela 10.

Tabela 10: ANOVA para o pré-tratamento ácido em termos de xilose.

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Teste F
Regressão	6766710	3	2255570	4,11
Resíduo	177325	3	59108,33	
Total	6944035	6		
% R <sup>2</sup>	97,44			

$F_{\text{Tabelado}} = 9,28$   $F_{\text{calculado}} = 38,15$

GL – grau de liberdade; SQ – soma dos quadrados; MQ. – média quadrática dos desvios ;Teste F - ( $F_{\text{calculado}} / F_{\text{Tabelado}}$ ).

Através dos dados contidos na Tabela 10, obteve-se por regressão um modelo linear que apresenta estimativas com 95% de confiança. Este modelo de regressão dos dados experimentais, juntamente com valores codificados das variáveis independentes foi proposto para representar o rendimento em termos de concentração de xilose do pré-tratamento ácido, é apresentado na Equação (15).

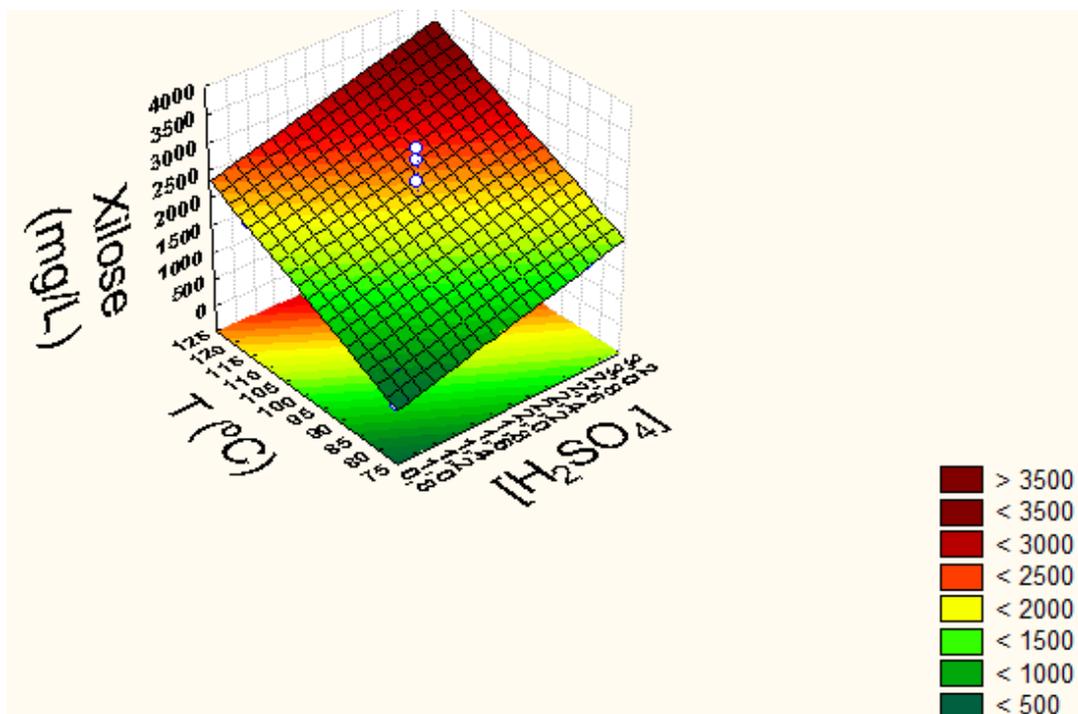
$$\text{Xilose (mg/L)} = -2552,11 + 35,61.T \quad (15)$$

Segundo Box (1987), para valores de F maiores do que 1,00, o modelo estatístico é considerado significativo, este cálculo foi realizado a partir da razão entre o  $F_{\text{calculado}}$  e o  $F_{\text{Tabelado}}$  que podem ser visualizados na Tabela 10, encontrou-se o valor igual a 4,11, conseqüentemente pode-se dizer que o modelo proposto para a variável dependente xilose é estatisticamente significativo.

Como se pode observar na Tabela 10, o modelo apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança, com R<sup>2</sup> igual a 0,9744, evidenciando que o modelo explicou 97,44 % da variação dos dados experimentais. O coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) é uma medida da qualidade do ajustamento de regressão à nuvem de pontos, o qual pode ser expresso em percentual, multiplicando o resultado por 100. Quanto mais próximo de 100 estiver o R<sup>2</sup>, melhor é o ajuste dos dados ao modelo.

Uma vez que o modelo é significativo o comportamento dessas variáveis podem ser visualizados para o efeito da concentração de xilose por meio da metodologia de superfície de resposta apresentada na Figura 18.

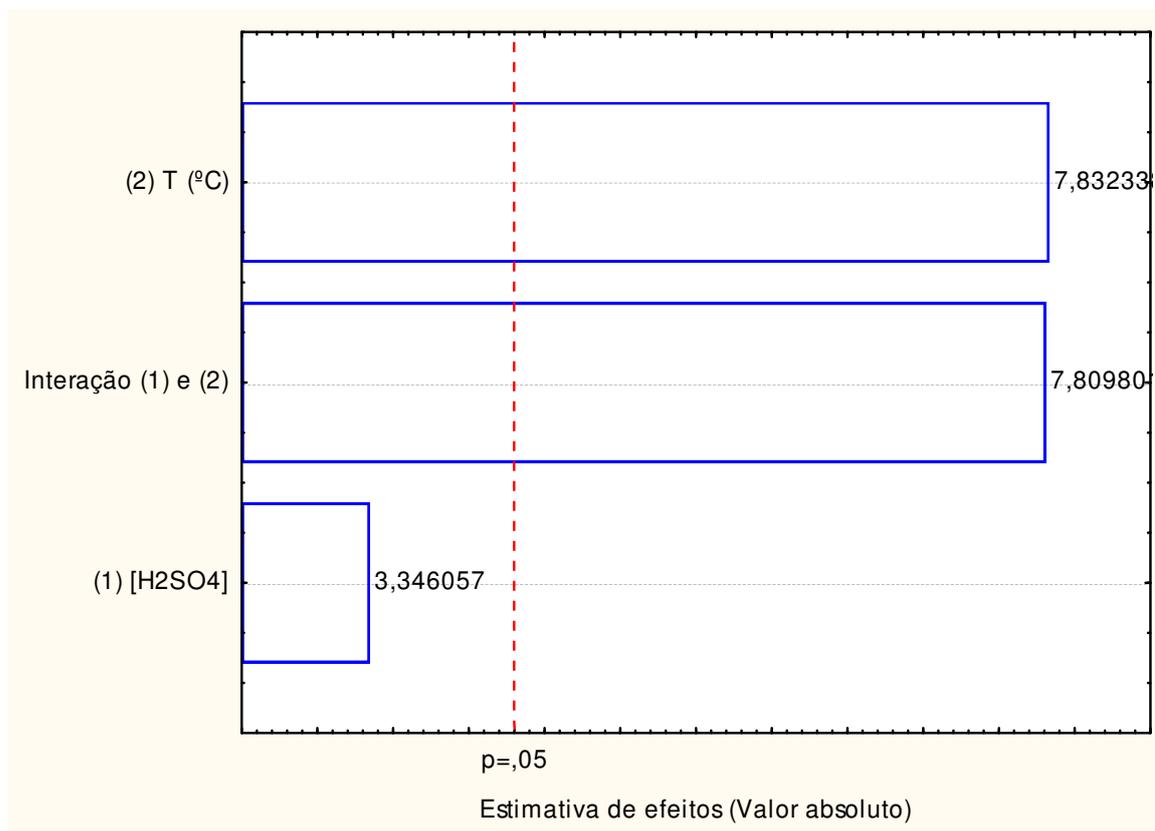
Figura 18: Superfície de resposta para o tratamento ácido em termos de concentração de xilose.



A superfície obtida confirma a análise dos efeitos e permitem visualizar a variação da resposta em função das variáveis independentes temperatura (°C) e concentração de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (%), dentro das faixas utilizadas. É possível verificar através da superfície de resposta que quando temperatura aumenta encontram-se as maiores concentrações de xilose (mg/L).

A Figura 19 apresenta o diagrama de Pareto para o tratamento ácido tendo a glicose como variável de resposta.

Figura 19: Diagrama de Pareto para o pré-tratamento ácido em termos de concentração de glicose.



De acordo com o Diagrama de Pareto é possível perceber que a temperatura e a interação com a concentração de ácido sulfúrico tem efeito significativo sobre o pré-tratamento ácido, no tocante a alterações significativas de glicose (mg/L), visto que a concentração do ácido sulfúrico, atuando sozinha, não influencia diretamente no processo. A análise ANOVA aplicada para este pré-tratamento é representada pelos dados que podem ser visualizados na Tabela 11.

Tabela 11: ANOVA para o pré-tratamento ácido em termos de glicose.

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Teste F
<b>Regressão</b>	1208551	3	402850,3	8,39
<b>Resíduo</b>	14667	3	4889	
<b>Total</b>		6		
<b>% R<sup>2</sup></b>	98,34%			

$$F_{\text{Tabelado}} = 9,81$$

$$F_{\text{calculado}} = 82,39$$

GL – grau de liberdade; SQ – soma dos quadrados; MQ. – média quadrática dos desvios ;Teste F - ( $F_{\text{calculado}} / F_{\text{Tabelado}}$ ).

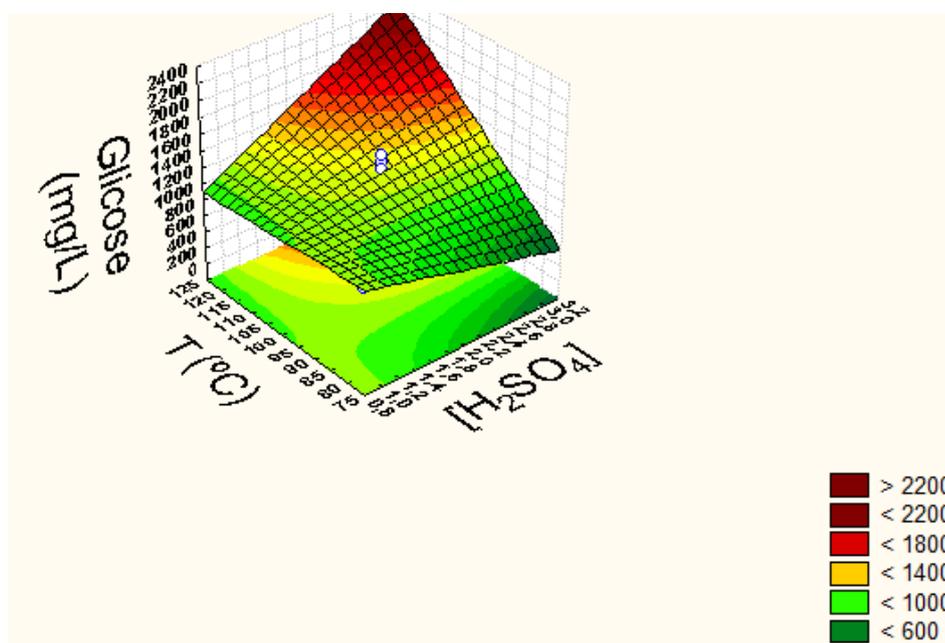
Por meio da análise dos dados contidos na Tabela 11, obteve-se por regressão um modelo linear que apresenta estimativas com 95% de confiança. Este modelo de regressão dos dados experimentais, juntamente com valores codificados das variáveis independentes foi proposto para representar o rendimento em termos de concentração de glicose (mg/L) do pré-tratamento ácido, é apresentado na Equação (16).

$$\text{Glicose (mg/L)} = 2537,61 - 16,67.T + 16,72.[\text{H}_2\text{SO}_4].T \quad (16)$$

Como se pode observar na Tabela 11, o modelo apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança, com  $R^2$  igual a 0,9834, evidenciando que o modelo explicou 98,34 % da variação dos dados experimentais, corroborando com o valor encontrado para o teste F de 8,39 o que evidencia que o modelo para a variável dependente concentração de glicose é estatisticamente significativo.

O comportamento dessas variáveis podem ser visualizados para o efeito da concentração de glicose por meio da metodologia de superfície de resposta apresentada na Figura 20.

Figura 20: Superfície de resposta para o tratamento ácido em termos de concentração de glicose.



A superfície obtida atesta a análise dos efeitos e permite visualizar a variação da resposta em função das variáveis independentes temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) e concentração de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (%), dentro das faixas utilizadas. É possível verificar através da superfície que quando temperatura aumenta isoladamente ou em sinergia com a elevação da concentração da solução ácida encontram-se as maiores concentrações de glicose (mg/L), não tendo efeito mensurável o aumento da concentração da solução ácida de modo isolado.

### **5.3 Pré-tratamento ácido seguido de básico**

Para a realização do tratamento alcalino posterior ao ácido, foi selecionado o ensaio onde foram observadas as melhores condições de xilose e glicose, como pode ser visualizado na Tabela 9, onde foram apresentados os resultados das leituras realizadas por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Deste modo, o ensaio escolhido foi o de número 2, onde foram observadas as concentrações de 1623,57 para a xilose e 857 mg/L para glicose, as unidades a que estes valores se referem é mg/L; para o ensaio de número 2 foi observada a concentração mais branda da solução de ácido sulfúrico 1%, o que gerou um efluente menos tóxico, fato este que direcionou a escolha da condição selecionada juntamente com as melhores condições das concentrações de glicose e xilose, respectivamente.

Neste pré-tratamento combinado utilizou-se o hidróxido de sódio (NaOH) com a concentração de 4%, 1h de reação, razão 1:10 (m/v) e temperatura de  $120^{\circ}\text{C}$ , de acordo com estudos realizados por Leão (2014), para a realização de pré-tratamentos químicos na fibra do Sisal.

Mendes e colaboradores (2012), visando a conservação da celulose contida na palma forrageira, utilizaram também ácido sulfúrico à 1,5% e NaOH à 4%, e observaram uma conservação de 92% na estrutura celulósica, ambos os tratamentos a  $121^{\circ}\text{C}$  e por 30 minutos.

Rezende (2011), fez uso do pré-tratamento ácido seguido de básico para pré-tratar o bagaço de cana. Com as concentrações de ácido sulfúrico de 1% e de

hidróxido de sódio de 2% e tempo de 30 minutos para ambos, conseguiu uma remoção de 89% de lignina.

Os autores observaram que após a aplicação do pré-tratamento básico nas biomassas, fez-se necessária uma rigorosa etapa de lavagem da mesma, o que demanda altas quantidades de água. Isso se dá pelo fato da formação de sais irre recuperáveis que podem ser incorporados à biomassa, que são gerados pela elevação do pH do meio e pela presença de resíduos de hidróxido de sódio.

### 5.3.1 Hidrólise enzimática após o tratamento ácido seguido de básico

Para a realização do processo de hidrólise enzimática foram quantificadas, através de cromatografias líquidas de alta eficiência, a geração de glicose a partir do bagaço do Sisal. O tempo máximo de acompanhamento deste processo foi de 60 horas. A hidrólise enzimática foi conduzida através de um planejamento fatorial  $2^2$  com 3 repetições no ponto central, utilizando cargas enzimáticas de 10, 17,5 e 25 FPU/g e uma razão entre a massa de bagaço e solução de extrato enzimático de 2, 3 e 4% (massa volume).

Estequiometricamente, para 1g de celulose seca pode-se obter teoricamente 1,11 g de glicose. A Tabela 12 apresenta a quantidade teórica máxima que se pode obter de glicose proveniente do bagaço de Sisal pré-tratado nas condições de razão massa de bagaço de Sisal/volume de extrato.

Tabela 12: Concentração teórica de glicose para cada condição trabalhada.

Experimento	Concentração de Glicose Teórica (mg/L)
1	11870,34
2	11870,34
3	23740,68
4	23740,68
5	17805,51
6	17805,51
7	17805,51

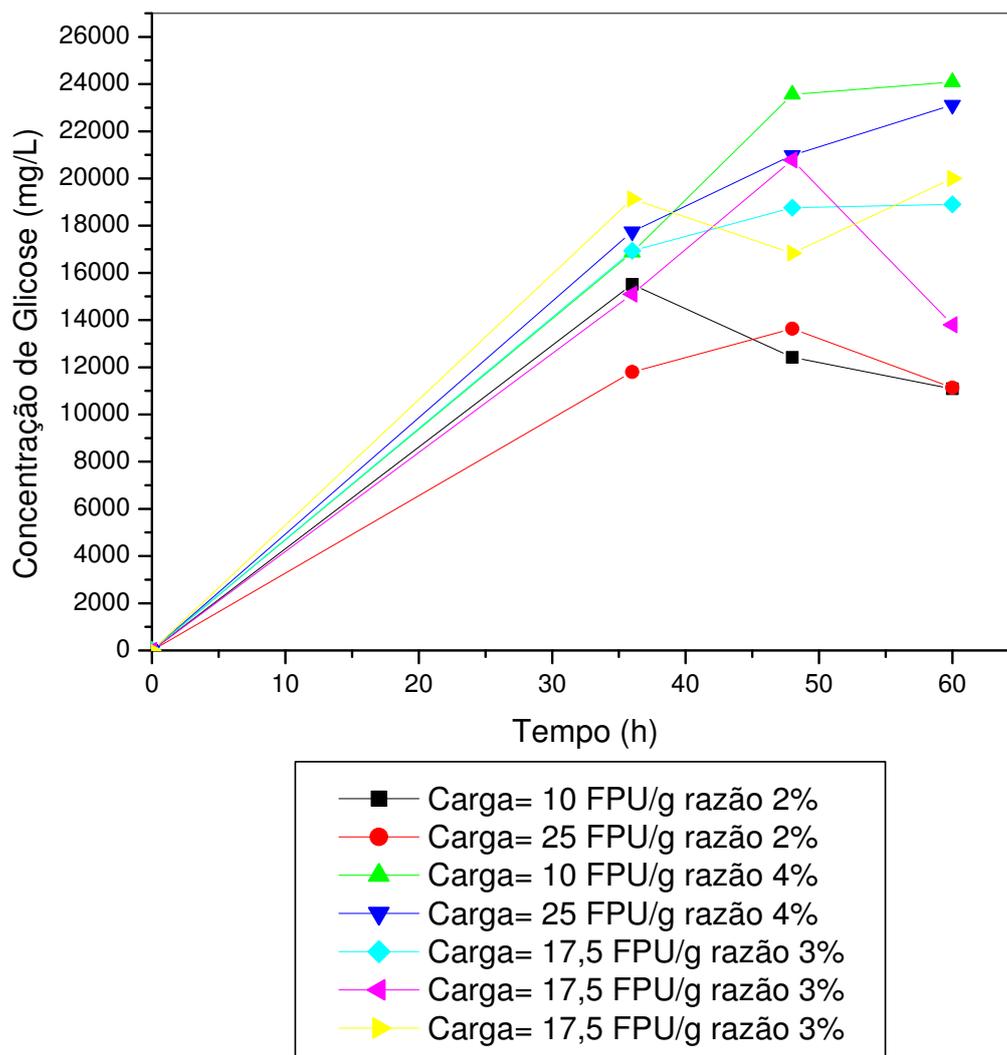
A Tabela 13 apresenta os resultados da cinética para os rendimentos do processo realizado no planejamento fatorial  $2^2$  com três repetições no ponto central.

Tabela 13: Valores da concentração de glicose (mg/L) durante a hidrólise do bagaço de Sisal no hidrolisado

Tempo (h)	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Ensaio 6	Ensaio 7
36	15511	11804	16867	17752	16941	15099	19130
48	12420	13635	<u>23561</u>	20985	18764	20784	16833
60	11087	11139	<u>24089</u>	23113	18900	13794	19997

A Figura 21 mostra os perfis das cinéticas das concentração de glicose, obtidos nos experimentos, para uma melhor visualização dos valores expostos na Tabela 13.

Figura 21: Cinética da glicose na hidrólise enzimática a partir do bagaço do Sisal tratado com soluções ácidas seguidas de básicas.



Do comportamento da cinética da hidrólise mostrado na Figura 21, observa-se que as maiores concentrações de glicose no hidrolisado ocorre, na maioria, no tempo de 48 horas, se destacando o ensaio 3 com concentrações de 23561 e 24089 mg/L de glicose para os tempos de 48 e 60 horas, respectivamente. O que sugere uma diferença de apenas 528 mg/L entre as maiores concentrações, nos levando a optar pelo tempo de 48 horas como tempo ótimo do processo, visto que mesmo o processo sendo conduzido por 60 horas o nível em que a concentração de glicose aumenta torna-se irrisório.

Após análises dos resultados, considerou-se que na condição de carga 10 FPU/g e a razão massa do bagaço de Sisal/volume total igual a 4%, após 48h obteve-se a maior concentração de glicose 23561 mg/L, de acordo com as observações realizadas no processo.

### **5.3.2 Análise estatística para a hidrólise enzimática após o tratamento ácido seguido de básico**

A hidrólise enzimática foi realizada avaliando a influência de dois fatores da concentração de glicose (mg/L), para tal foi adotada a metodologia de planejamento fatorial  $2^2$  com três repetições no ponto central. Foram avaliadas: relação massa seca de bagaço de sisal/extrato enzimático (%) e FPU/g no tempo de 48h. Os valores definidos para os níveis mínimos e máximos, bem como os pontos centrais referentes a cada variável encontram-se na metodologia.

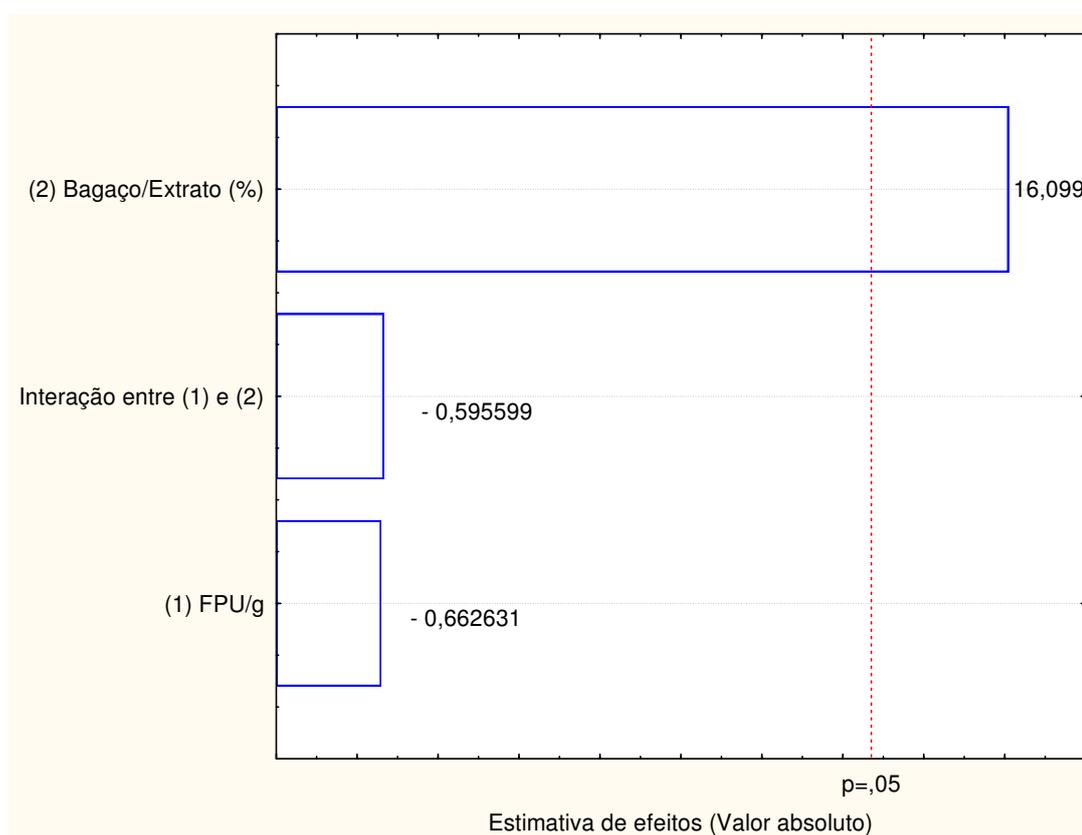
A Tabela 14 apresenta os resultados da matriz do planejamento da hidrólise enzimática, realizada no bagaço do sisal pré-tratado com soluções ácidas e básicas, onde foram analisadas as concentrações de glicose.

Tabela 14: Matriz de planejamento da hidrólise enzimática após tratamento ácido seguido de básico.

Ensaio	CEZ(Carga Enzimática) FPU/g	RZ(Relação massa seca bagaço Sisal/Extrato enzimático) (%)	Glicose (mg/L)
1	(-) 10	(-) 2	12420
2	(+) 25	(-) 2	13635
3	(-) 10	(+) 4	23561
4	(+) 25	(+) 4	20985
5	(0) 17,5	(0) 3	18764
6	(0)17,5	(0) 3	20784
7	(0)17,5	(0) 3	16833

O diagrama de Pareto gerado para o processo de hidrólise enzimática aplicada na biomassa é apresentado na Figura 22, evidenciando os parâmetros obtidos para a condição ótima do processo.

Figura 22: Diagrama de Pareto para a hidrólise enzimática em 48h.



Ao analisar a Figura 22, confirmou-se que a variável que apresentou influência significativa no aumento da concentração de glicose foi a relação bagaço do sisal/extrato enzimático, ou seja, com o aumento da razão bagaço de sisal/extrato passando do menor nível -1 (2%) para o maior nível +1 (4%), provocou um aumento na concentração da glicose (mg/L). É importante evidenciar que o erro experimental (erro puro) obedeceu a uma ordem de grandeza menor aos resultados experimentais, indicando a reprodutibilidade dos experimentos

Na Tabela 15 estão apresentados os valores da análise de variância para a hidrólise enzimática realizada no bagaço do Sisal pré-tratado com o tratamento ácido seguido de básico.

Tabela 15: Análise de variância (ANOVA) para o licor hidrolisado em 48 horas.

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Teste F
<b>Regressão</b>	91776430	3	30592143,33	1,26
<b>Resíduo</b>		3	2602173,66	
<b>Total</b>	995830561	6		
<b>% R<sup>2</sup></b>	92,16			

$$F_{\text{Tabelado}} = 9,28$$

$$F_{\text{calculado}} = 11,756$$

GL – grau de liberdade; SQ – soma dos quadrados; MQ. – média quadrática dos desvios ;Teste F - ( $F_{\text{calculado}} / F_{\text{Tabelado}}$ ).

Por meio da análise dos dados contidos na Tabela 11, obteve-se por regressão um modelo linear que apresenta estimativas com 95% de confiança. Este modelo de regressão dos dados experimentais é apresentado na Equação 17, juntamente com valores codificados das variáveis independentes foi proposto para representar o rendimento em termos de concentração de glicose (mg/L) do pré-tratamento ácido,

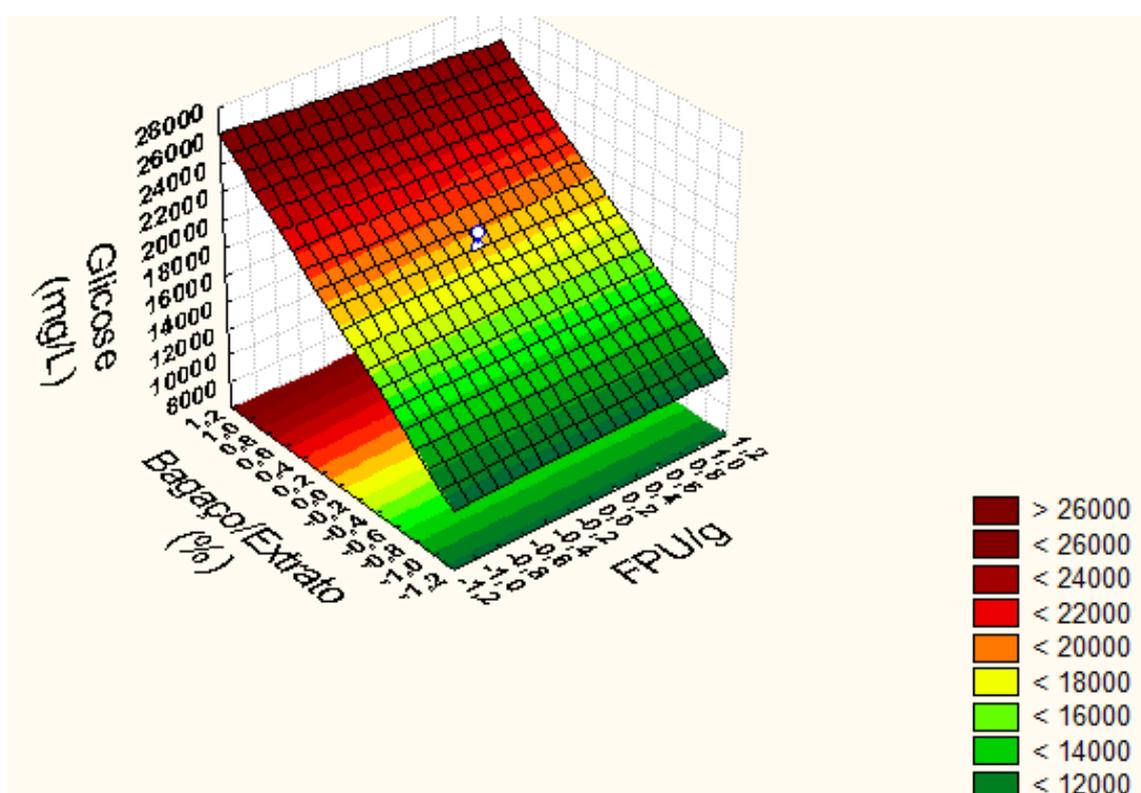
$$\text{Glicose (mg/L)} = -1568,29 + 333,73.[\text{CEZ}] + 6834,16.[\text{RZ}] - 126,36.[\text{CEZ}].[RZ] \quad (17)$$

A partir da razão entre o  $F_{\text{calculado}}$  e o  $F_{\text{Tabelado}}$  que foi igual a 1,26 pode-se dizer que o modelo proposto para a variável dependente é estatisticamente

significativo, ao nível de 95% de confiança com  $R^2$  igual a 0,9216, evidenciando que o modelo explicou 92,16% da variação dos dados experimentais.

Sendo o modelo da resposta em estudo estatisticamente significativo, pode-se construir a superfície de resposta. A Figura 23 apresenta a superfície de resposta para a variável concentração de glicose do licor obtido da hidrólise enzimática do bagaço do Sisal.

Figura 23: Superfície de resposta para produção de glicose por hidrólise enzimática no tempo de 48h.



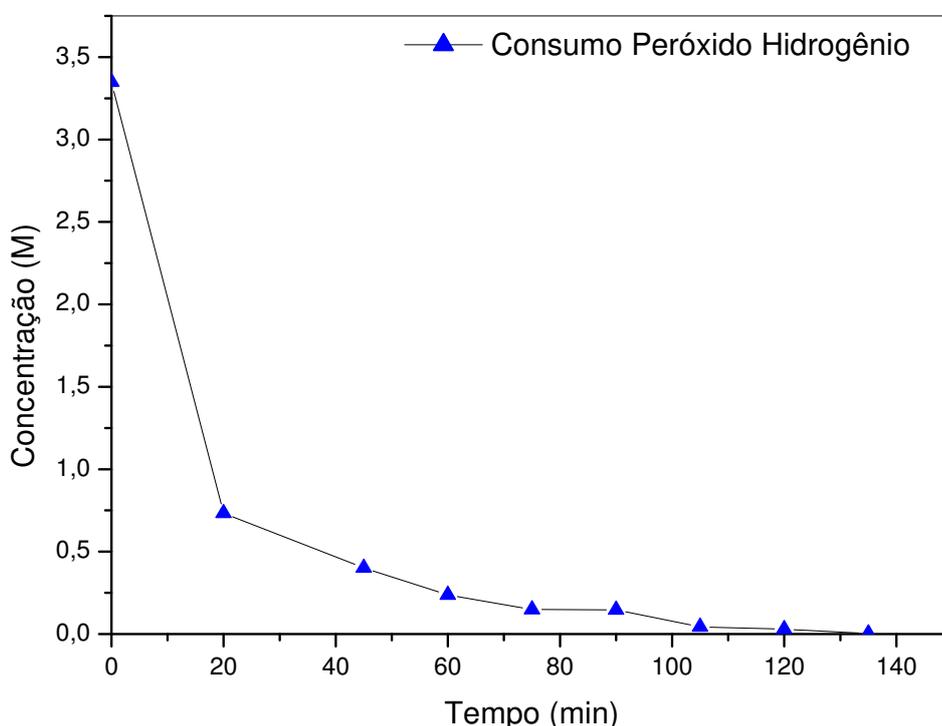
Analisando os resultados obtidos, percebe-se que para as condições estudadas, a maior concentração de glicose do bagaço do Sisal ocorreu para níveis mais altos da razão massa secos do bagaço de sisal/extrato, e que a concentração da carga enzimática não influenciou de forma significativa, podendo assim, trabalhar-se com menores valores da carga enzimática, o que significa menor gasto com a enzima.

Adicionalmente, a significância estatística apresentada pela curvatura indica que na faixa de valores avaliados o comportamento da resposta (concentração de glicose) não haveria necessidade de usar modelo quadrático.

#### 5.4 Pré-tratamento Fenton

Para determinação do tempo ótimo das reações de Fenton, foi realizado um acompanhamento do consumo do peróxido com a variação do tempo, como pode ser observado na Figura 24

Figura 24: Acompanhamento cinético de consumo de peróxido no pré-tratamento Fenton do bagaço de sisal.



De acordo com o acompanhamento do consumo de peróxido, pode-se constatar que a reação de ferro ocorre de maneira rápida, tendo o tempo de aproximadamente 1h para que praticamente todo o peróxido existente na amostra fosse consumido, fator este que foi importante para a determinação do tempo durante a condução dos experimentos que compões a matriz de planejamento experimental.

Na Tabela 16 são apresentados os resultados do acompanhamento da concentração final de peróxido de hidrogênio relativo a cada item do planejamento experimental, tendo o tempo dos experimentos fixados em 1h, de acordo com o acompanhamento de consumo de peróxido realizado previamente.

Tabela 16: Concentração residual de peróxido e de ferro oxidado para cada experimento.

Ensaio	[Fe <sup>2+</sup> ]	[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ]	[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] Residual	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> %	[Fe](mmol)	[Fe <sup>2+</sup> ]	[Fe <sup>3+</sup> ]	Fe <sup>3+</sup> %
					Total	(mmol)	(mmol)	
1	1	1000	628,96	37,10	0,1702	0,02107	0,1491	81,32
2	4,25	1000	287,29	71,27	1,2855	0,82061	0,4649	78,15
3	1	5000	1819,94	63,60	0,1595	0,00955	0,1500	77,35
4	4,25	5000	722,37	85,55	1,3751	0,04222	1,3328	89,06
5	2,625	3000	1458,67	51,38	0,4986	0,00827	0,4903	85,00
6	2,625	3000	1536,71	48,78	0,5860	0,01254	0,5735	85,09
7	2,625	3000	1649,42	45,02	0,6052	0,01062	0,5946	68,64

O consumo do peróxido de hidrogênio constatado com a diminuição da concentração do mesmo ao final da reação é um forte indicativo da ocorrência da reação Fenton. Observou-se, também, variação na coloração da biomassa ao fim de cada experimento.

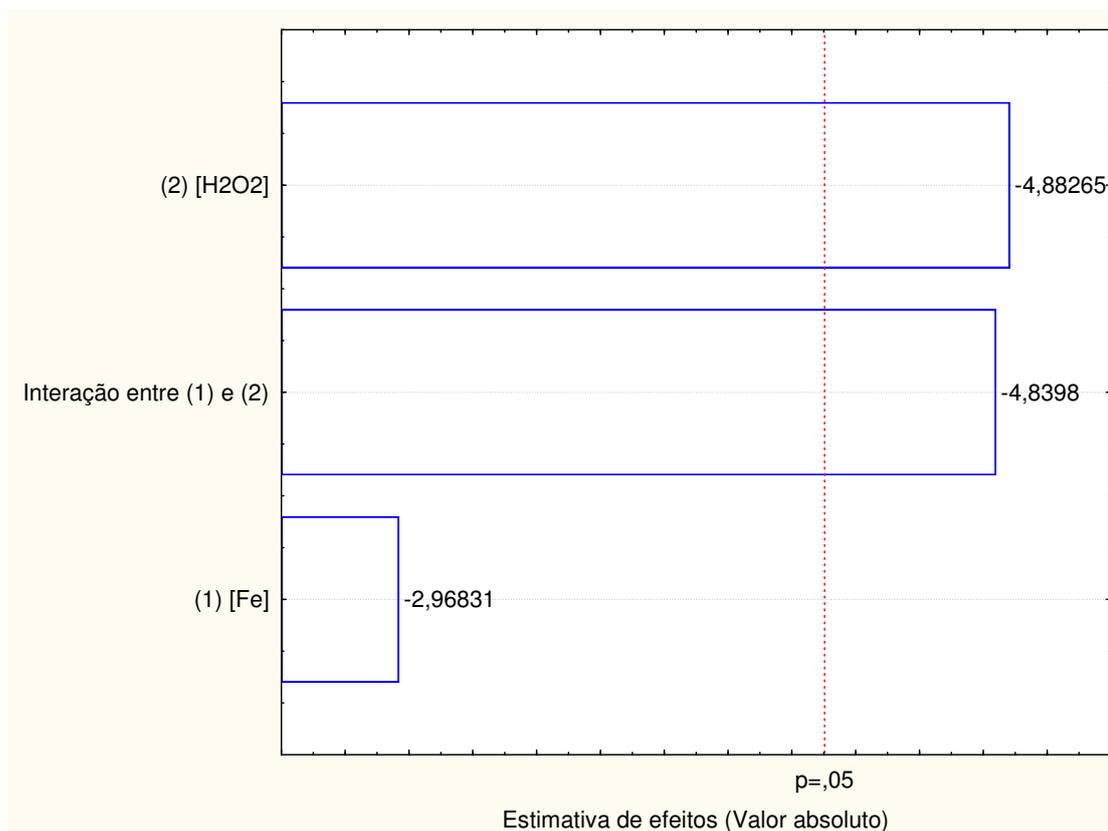
A concentração de peróxido de hidrogênio é um parâmetro fundamental no processo Fenton, justamente por ser o componente principal da reação. A maior disponibilidade de peróxido de hidrogênio implica maior produção do radical hidroxila, o qual é o forte agente oxidante que provoca a degradação da matéria orgânica e posterior mineralização de todos os compostos formados pela quebra dessa molécula.

Tal efeito causa a maior diferença entre as condições de alta e baixa como pode ser visualizado na Tabela 16, confirmando que nas condições experimentais analisadas, quanto maior sua concentração, maior é a remoção da recalcitrância. Entretanto, essa condição de maior-melhor não necessariamente ocorre para fora dos valores estudados.

#### 5.4.1 Análise estatística para o pré-tratamento Fenton

Para avaliar o efeito do pré-tratamento Fenton, a análise estatística dos resultados foi realizada para as variáveis de resposta conversão de Peróxido e oxidação do Ferro, após 1h de processo, ambas em termos percentuais. Esta escolha ocorreu em virtude dos melhores resultados terem sido obtidos neste tempo de reação, levando-se em consideração questões de produtividade, e o estudo do tempo realizado previamente.

A Figura 27 apresenta o Diagrama de Pareto, que ilustra de forma simplificada o efeito da variável de resposta oxidação de Ferro no pré-tratamento Fenton. Com base nos resultados apresentados, foi possível verificar que os termos lineares e a interação entre as variáveis: tempo de reação e concentração de ácido, foram estatisticamente significativas ( $p > 5$ ) na faixa avaliada (Teste t). Os efeitos lineares das variáveis: Concentração de Ferro e Peróxido indicaram que o aumento destas variáveis acarretou um acréscimo na variável resposta, ou seja, com o aumento da concentração de peróxido passando do menor nível -1 (1000 mmol) para o maior nível +1 (5000 mmol), bem como a sua interação com a concentração da solução de  $\text{Fe}^{2+}$  provoca um aumento na concentração de ferro oxidado ( $\text{Fe}^{3+}\text{mg/L}$ ).

Figura 25: Diagrama de Pareto para o pré-tratamento Fenton em termos de  $\text{Fe}^{3+}$ 

Na Tabela 17 estão apresentados os valores da análise de variância para o pré-tratamento Fenton realizado no bagaço do sisal.

Tabela 17: Análise de variância (ANOVA) para o processo Fenton em termos de  $\text{Fe}^{3+}$ .

Fonte de variação	SQ	GL	QM	Teste F
Regressão	247,3591	3	824,530	11,49
Resíduo	23,8305	3	7,7298	
Total	271,1896	6		
% $R^2$	91,212			

$$F_{\text{Tabelado}} = 9,28$$

$$F_{\text{calculado}} = 106,66$$

GL – grau de liberdade; SQ - soma dos quadrados; MQ. – média quadrática dos desvios ;Teste F - ( $F_{\text{calculado}} / F_{\text{Tabelado}}$ ).

Obteve-se por regressão um modelo linear que apresenta estimativas com 95% de confiança. Este modelo de regressão dos dados experimentais, juntamente

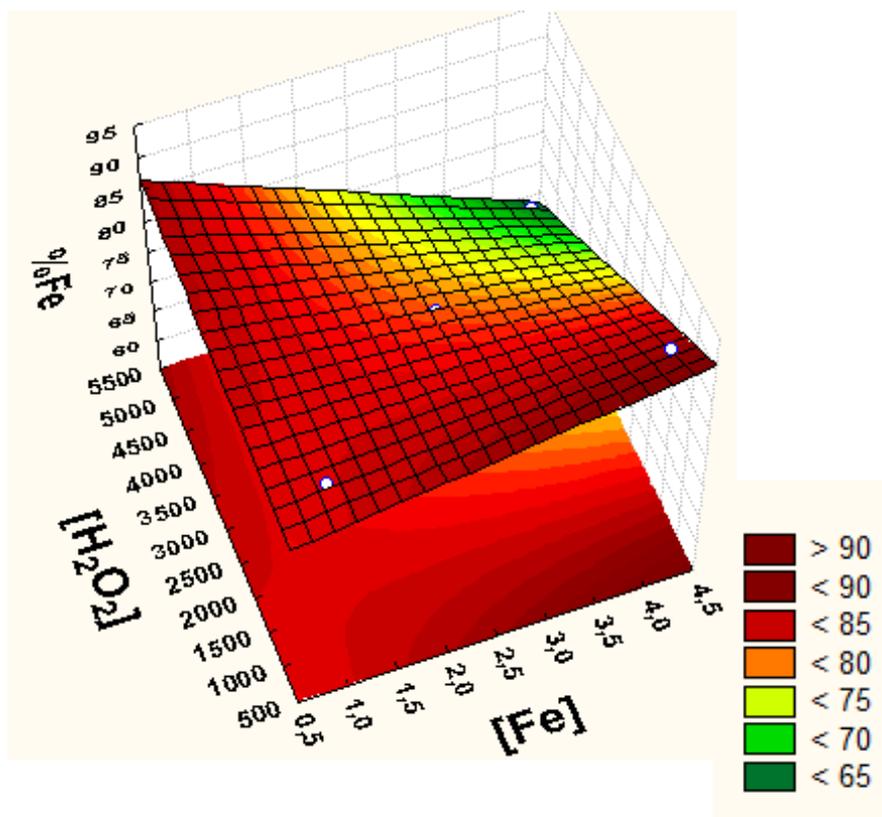
com valores codificados das variáveis independentes foi proposto para representar oxidação do Ferro em função das concentrações iniciais de  $\text{Fe}^{2+}$  e de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , é apresentado na Equação (18).

$$\text{Fe (\%)} = 81,09 + 0,00154 \cdot [\text{H}_2\text{O}_2] - 0,00156 \cdot [\text{Fe}] \cdot [\text{H}_2\text{O}_2] \quad (18)$$

Com base no resultado do teste ANOVA apresentado na Tabela 17, observa-se que o modelo descreve o percentual de Ferro oxidado, após 1h de reação é adequado, visto que o coeficiente de determinação é de 91,21% e o teste F apresentou um valor considerável 11,49, satisfazendo os requisitos para a aplicação da metodologia da superfícies de resposta (Figura 26).

A Figura 26 representa a superfície de resposta para o pico da oxidação do ferro em função das concentrações iniciais de ferro e peróxido, geradas através do modelo proposto (Equação 18).

Figura 26: Superfície de resposta para o pré-tratamento Fenton em termos de  $\text{Fe}^{3+}$ .

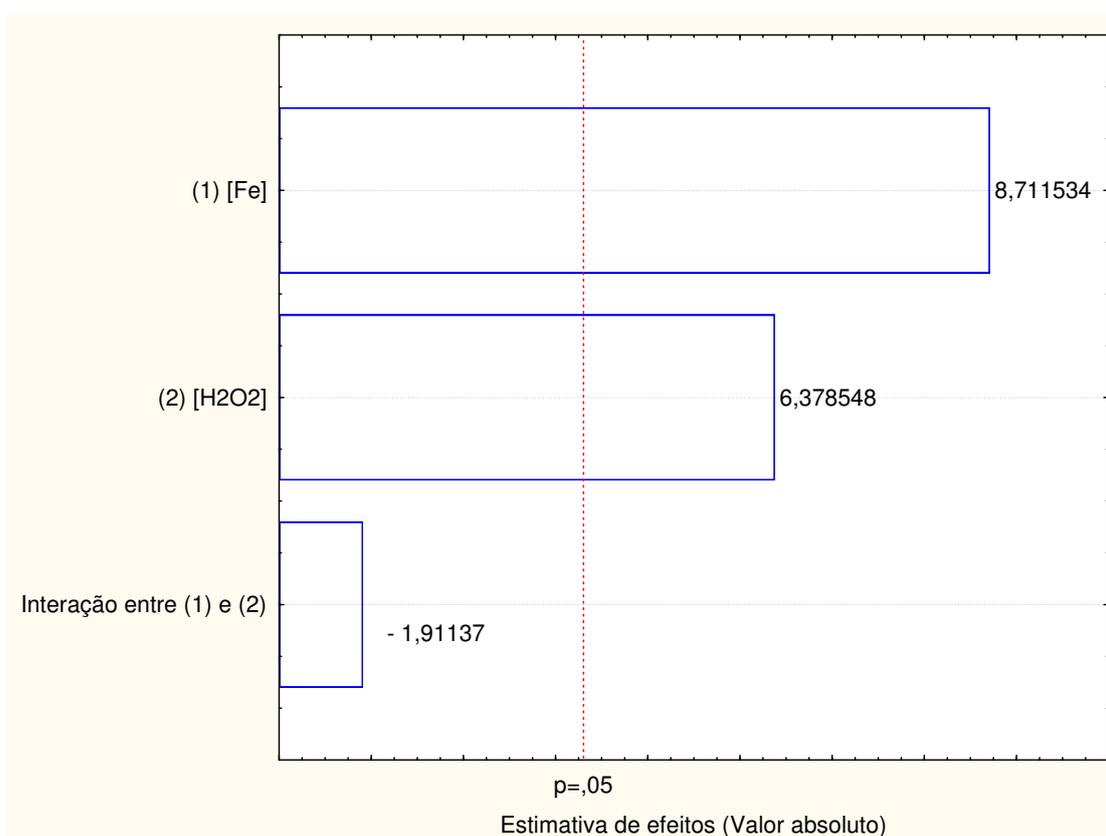


Segundo (BABUPONNUSAMI e MUTHUKUMAR, 2014), a dosagem ideal deve ser encontrada para que não haja excesso nas concentrações de peróxido de hidrogênio e ferro, pois estes aumentam a toxicidade e podem aumentar a DQO do

efluente, além de causar o desperdício, condições essas que podem ser observadas na Figura 28.

A Figura 27 mostra o Diagrama de Pareto para o processo Fenton em termos da variável de resposta conversão de peróxido.

Figura 27: Diagrama de Pareto para o pré-tratamento Fenton em termos de conversão de  $H_2O_2$ .



De acordo com o Diagrama de Pareto, as concentrações de ferro e peróxido influenciam significativamente o processo no tocante à conversão de peróxido, aumentando seus efeitos dos níveis mais baixos ( - ) para os mais altos ( + ) dos valores adotados para o planejamento experimental. Também pode-se perceber que a interação entre as mesmas não tem influência no pré-tratamento, considerando um nível de confiança de 95%. A Tabela 18 mostra a análise de variância realizada para este processo.

Tabela 18: Análise de variância (ANOVA) para o processo Fenton em termos de conversão de  $H_2O_2$

Fonte de variação	SQ	GL	QM	Teste F
Regressão	1678,695	3	559,566	8,85
Resíduo	20,437	3	6,812	
Total	1699,132	6		
% $R^2$	98,79			

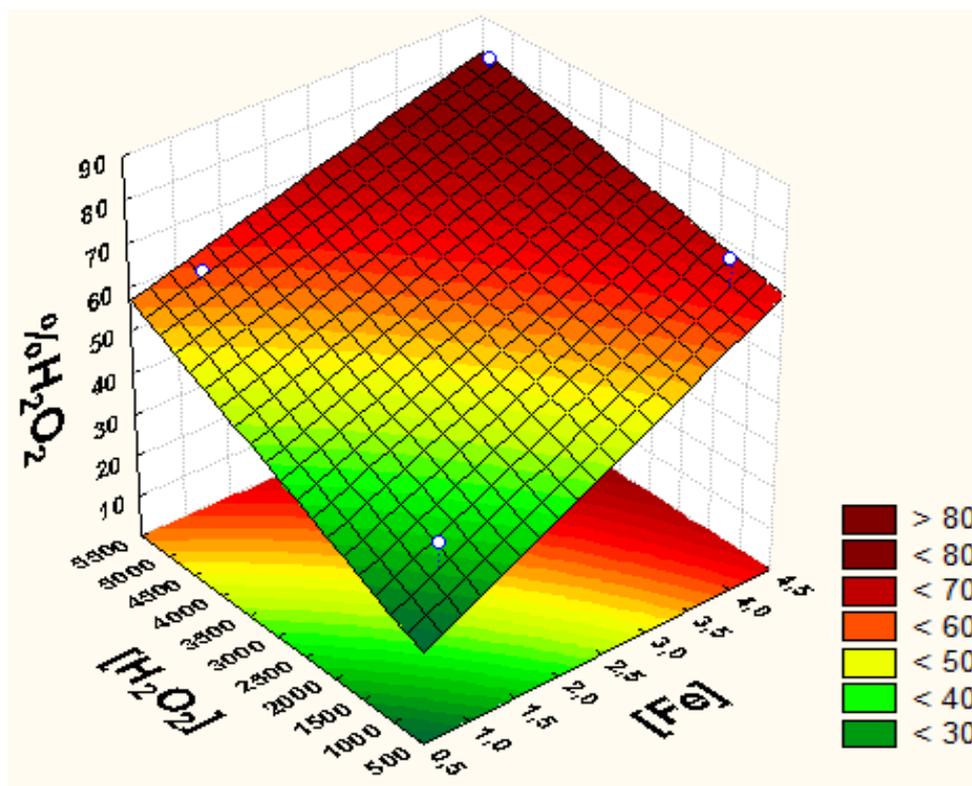
$F_{\text{Tabelado}} = 9,28$   $F_{\text{calculado}} = 82,14$

A análise de variância apresentada anteriormente sugere um processo com coeficiente de determinação de 98,70%, o que denota um modelo estatisticamente confiável. Com relação ao teste F, o valor obtido foi de 8,85 e observa-se que o modelo proposto pode ser considerado preditivo, uma vez que o F calculado é cinco vezes maior que o Tabelado para o processo, apresentando estimativas com 95% de confiança. Diante do exposto, pode-se analisar a superfície de resposta composta para o pré-tratamento Fenton, fazendo considerações a respeito da variável de resposta consumo de peróxido. Este modelo de regressão dos dados experimentais, juntamente com valores codificados das variáveis independentes foi proposto para representar a decomposição do peróxido de hidrogênio em função das concentrações iniciais de  $Fe^{2+}$  e de  $H_2O_2$ , é apresentado na Equação 19.

$$H_2O_2 (\%) = 12,25 + 11,38.[Fe] + 0,007565.[H_2O_2] \quad (19)$$

A Figura 28 representa a superfície de resposta e as curvas de contorno para a decomposição do peróxido de hidrogênio em função das concentrações iniciais de ferro e peróxido, geradas através do modelo proposto (Equação 19).

Figura 28: Superfície de resposta para o pré-tratamento Fenton em termos de  $\text{H}_2\text{O}_2$ :



A superfície obtida e as curvas de contorno confirmam a análise dos efeitos e permitem visualizar a variação da resposta em função das variáveis concentração inicial de  $\text{Fe}^{2+}$  e de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , dentro das faixas utilizadas. É possível verificar através da superfície e curvas de contorno que quando se fixa as concentrações  $\text{Fe}^{2+}$  e de  $\text{H}_2\text{O}_2$  acima de 3,5 e 5000 mmol respectivamente, observa-se o maior percentual de  $\text{H}_2\text{O}_2$  degradado, evidenciando a transformação dessa substância em radicais hidroxila reativos, que favorecem diretamente o processo Fenton.

#### 5.4.2 Hidrólise enzimática após o pré-tratamento Fenton

Para a realização do processo de hidrólise enzimática foram quantificadas, através cromatografia líquida de alta eficiência, a geração de glicose e xilose a partir do bagaço do sisal. A hidrólise enzimática foi conduzida através de um planejamento fatorial  $2^2$  com 3 repetições no ponto central, sendo esta realizada utilizando o tempo

ótimo de reação de 36 h. Para definição do tempo ótimo de reação realizou-se preliminares. Utilizou-se cargas enzimáticas de 10, 17,5 e 25 FPU/g e uma razão entre a massa de bagaço e solução de extrato enzimático de 2, 3 e 4% (massa volume). Os dados obtidos são apresentados na Tabela 20.

Tabela 19: Valores da concentração de glicose e xilose (mg/L) durante a hidrólise do bagaço de Sisal no hidrolisado

Ensaio - 36h	Xilose (mg/L)	Glicose(mg/L)
1	439,64	1705,72
2	485,27	3328,50
3	675,81	4987,28
4	735,29	4279,20
5	518,15	3039,93
6	497,33	3182,91
7	442,07	3172,70

De acordo com os dados obtidos por meio dos cromatogramas, foi possível perceber que o processo oxidativo fenton aplicado como pré-tratamento ao bagaço do sisal, quando comparado aos pré-tratamentos convencionais, nas condições estudadas não disponibilizou quantidades expressivas de glicose tendo o valor máximo de concentração nos ensaios de 4987,28 mg.L<sup>-1</sup>.

Leão, (2014), trabalhando com a fibra do sisal e tratamento convencional (combinado ácido-base) na condição de carga 10 FPU/g e Razão=4% e 36h obteve a maior concentração de glicose 39000 ± 2700 mg.L<sup>-1</sup>, tendo uma pequena diferença para a mesma condição no tempo de 48h com concentração de 38000± 2700 mg.L<sup>-1</sup>.

Campos 2015, trabalhando com sorgo sacarino e pré-tratamento alcalino (NaOH) verificou que a maior concentração de glicose produzida atingiu 31639,3 mg.L<sup>-1</sup>, nas condições de 25 FPU.g<sup>-1</sup> de carga enzimática, relação massa seca do sorgo sacarino *in natura*/extrato enzimático de 4 g.mL<sup>-1</sup>.

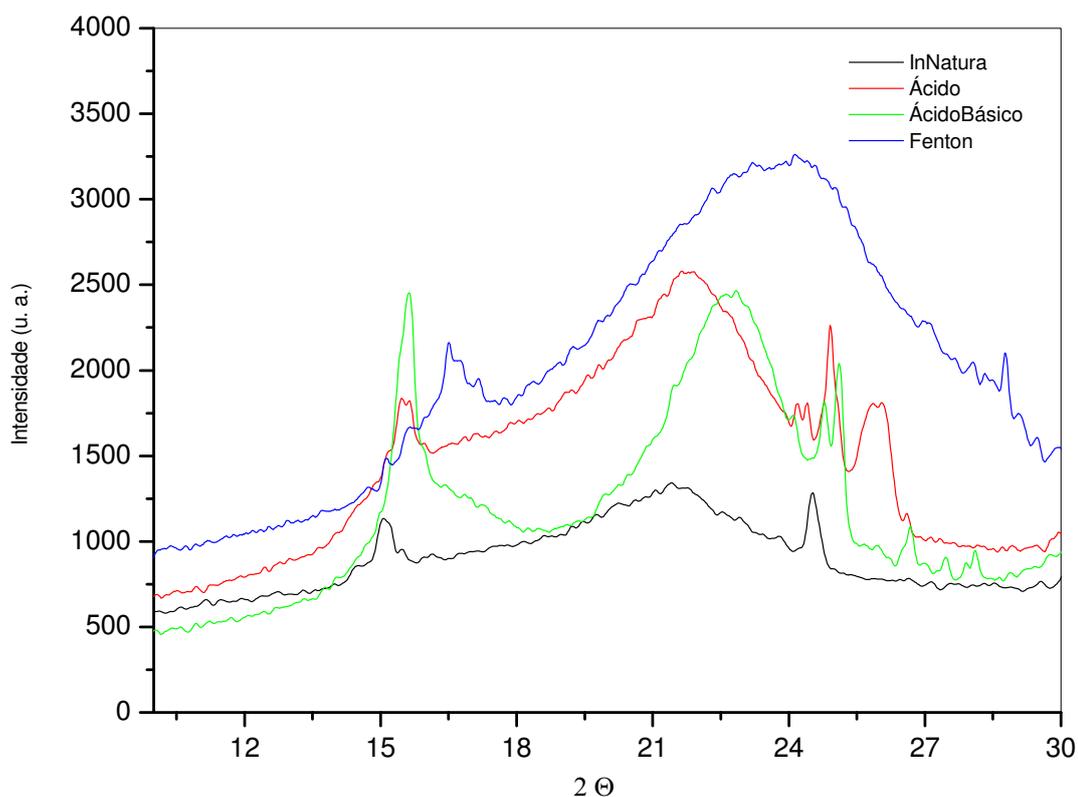
## 5.5 Caracterização instrumental do material lignocelulósico

### 5.5.1 Difração de Raios-X

A celulose apresenta regiões altamente ordenadas, regiões cristalinas, intermediadas por regiões menos ordenadas, regiões amorfas. Devido a isso as regiões amorfas são mais acessíveis ao ataque de reagentes, enzimas ou até mesmo a absorção da água o que leva a muitas pesquisas sobre a utilização de amostras amorfas buscando compreender o comportamento térmico, químico e até mesmo mecânico da região cristalina (CIOLACU, 2006).

Através da Figura 29, podem-se visualizar os perfis de difração de raios X das amostras antes e depois dos pré-tratamentos utilizados, o que revela as mudanças específicas na celulose em nível macromolecular.

Figura 29: Difrátogramas das amostras de bagaço de sisal antes e após os pré-tratamentos.



As intensidades dos picos cristalinos e dos halos amorfos foram obtidas através dos gráficos da exibidos pela Figura 29. Observa-se que os quatro difratogramas referentes as amostras in natura, pré-tratada com ácido, pré-tratada com ácido seguido de básico e pré-tratada com o processo oxidativo Fenton, apresentaram os picos característicos das regiões amorfa e cristalina da celulose, localizados em ângulos de  $15^{\circ} \leq 2\theta \leq 17^{\circ}$  e  $21^{\circ} \leq 2\theta \leq 24^{\circ}$ , respectivamente. A identificação das duas fases da celulose no bagaço de sisal, antes e após o pré-tratamento, confirma os resultados obtidos na determinação da composição do material, onde analisou-se que não houve degradação dessas estruturas após os pré-tratamentos aplicados, como pode ser observado na Tabela 21.

Tabela 20: Intensidade das fases amorfa e cristalina da celulose contida no bagaço de sisal antes e após os pré-tratamentos

Amostra	Fase amorfa (2 $\theta$ )	Intensidade (u. a.)	Fase cristalina (2 $\theta$ )	Intensidade (u. a.)
In Natura	15,05	1133	21,45	1337
Ácido	15,53	1800	21,87	2579
Ácido/Básico	15,63	2440	22,80	2468
Fenton	16,53	2163	23,24	3215

A partir dos dados contidos na Tabela 21, pode-se calcular o índice de cristalinidade para a celulose contida nas amostras de bagaço de sisal antes e depois dos pré-tratamentos aplicados, como pode ser visto na Tabela 20.

Tabela 21: Índice de cristalinidade para as amostras do bagaço de sisal antes e após os pré-tratamentos

Amostra	Índice de Cristalinidade
In Natura	29,84%
Ácido	28,99%
Ácido/Básico	31,45%
Fenton	28,87%

O índice de cristalinidade teve uma pequena redução seus percentuais após a aplicação dos pré-tratamentos ácido 28,99% e Fenton 28,87% tendo inicialmente a amostra in natura um índice de 29,849.

Segundo (HAHN-HAGERDAL *et al.*, 2006), essa redução ocorre devido o efeito do pré-tratamento que tem como objetivo aumentar o tamanho dos poros e reduzir a cristalinidade da celulose.

Observou-se um aumento na cristalinidade para o tratamento combinado (ácido seguido de básico) de 29,84% para 31,45% o que segundo (TRINDADE, 2005) indica que o processo não levou a degradação de cadeias de celulose.

(TEODORO, 2011) trabalhando com o processo de branqueamento da fibra do sisal observou que as amostras apresentaram o pico principal em  $2\theta$  em torno de  $22,6^\circ$ , característico de celulose tipo I. Foi constatado um estreitamento deste referido pico para a amostra branqueada quando comparado com o da fibra sem tratamento, indicando um aumento da cristalinidade. Os índices de cristalinidade obtidos foram de 60% para a amostra in natura e 64% para a fibra branqueada.

Leão (2014) trabalhando com a fibra do sisal e aplicando pré-tratamento combinado (ácido seguido de básico) observou um aumento no índice de cristalinidade da amostra in natura para a pré-tratada de 58,4% para 74,2%, atribuindo a este fato a remoção de grande parte da lignina e das hemiceluloses, porção amorfa das fibras, permite um melhor empacotamento das cadeias de celulose.

### **5.5.2 Comportamento Térmico**

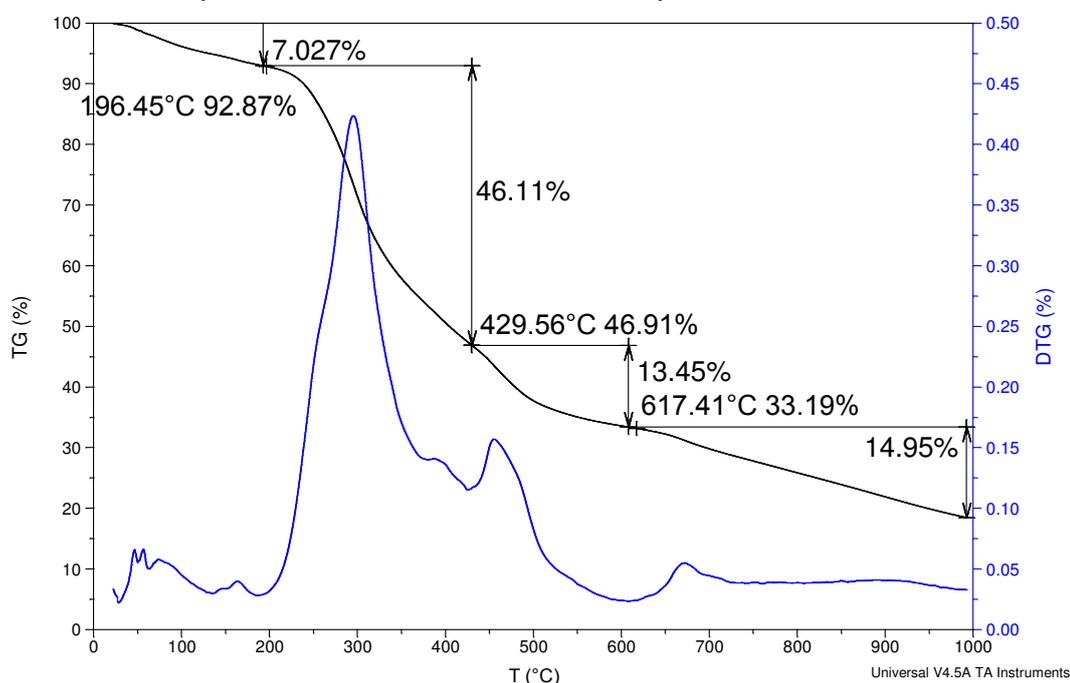
Após a obtenção e análises das curvas termoanalíticas do bagaço do sisal, observou-se que o perfil termogravimétrico do mesmo, principalmente após o tratamento Fenton, diferencia-se dos encontrados de biomassas sacarinas, como é o caso do bagaço da cana-de-açúcar, Nunes (2015), sorgo sacarino, Campos, (2015), bem como, o da própria fibra do sisal, Leão, (2014). Vale ressaltar que essas biomassa vêm sendo estudadas no Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal de Campina Grande (LEB-UFCG), onde foi desenvolvida a presente pesquisa.

Os autores acima citados reportam que esses materiais lignocelulósicos, têm suas curvas termoanalíticas com as regiões de perda de massa bem definidas que corroboram com dados amplamente difundidas na literatura por RAMBO, (2015), NGUYEN (1981), ZANATTA *et al.*, 2013, YANG (2007), (LIMAYEN e RICKE, 2012).

Devido a essa peculiaridade e na falta de curvas termoanalíticas para esse material específico, fez-se necessário na presente pesquisa, quantificar e analisar a degradação térmica desse material, levando-se em consideração só os eventos de perdas de massas de materiais já reportados na literatura, porém quando pertinente foram discutidos eventos peculiares dessa biomassa, como uma forma de justificar o diferencial da mesma frente a outras já estudadas, porém sem nenhuma investigação mais científica.

A avaliação térmica das amostras do bagaço do sisal, foi realizada antes e depois dos pré-tratamentos (ácido, ácido seguido de básico e Fenton) aplicados na biomassa. Através da análise das curvas termoanalíticas (TG) e de suas derivadas (DTG), os intervalos de temperatura onde podem-se identificar eventos de perda de massa foram computados e utilizados como parâmetros de caracterização. Na Figura 30, encontram-se as curvas TG/DTG referentes ao material *in natura*.

Figura 30: Curvas TG/DTG do bagaço de sisal *in natura*, obtidas em atmosfera de N<sub>2</sub> com taxa de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 1000°C



Analisando as curvas TG/DTG do bagaço do sisal *in natura* é possível perceber um perfil térmico variado, que pode ser relacionado com os diferentes tipos de estrutura que constituem essa biomassa. Este material é formado basicamente por três principais tipos de componentes, que representam em torno de 30-50% celulose, 15-35% de hemicelulose e 10-20% de lignina (LIMAYEN e RICKE, 2012).

Percebe-se que em alguns casos, as estruturas não obedecem uma região em especial para serem degradadas, em virtude deste fato, observa-se os componentes se degradando termicamente em três ou mais regiões, como é o caso da celulose e da lignina. Esta mobilidade nas faixas de degradação dos componentes da biomassa pode ser atribuída ao seu caráter recalcitrante, aos pré-tratamentos aplicados ou até mesmo à complexidade estrutural observada no bagaço do sisal, sendo esses fatores os responsáveis por estas zonas de perda de massa individuais ou em conjunto.

As perdas de massa associadas a determinados intervalos de temperatura são consideradas um forte indicativo da quantidade de componentes químicos presentes na amostra. Segundo RAMBO, (2015) diferentes tipos de biomassas lignocelulósicas (cascas de arroz, coco, engaço de banana, caule de banana, capim elefante, cascas de café, bambu, serragem de eucalipto, cascas de soja, caroços de açaí) apresentam um comportamento típico de degradação térmica com três etapas bem definidas: liberação de umidade na faixa de 50 a 100°C, decomposição de carboidratos (hemicelulose e celulose) de 250 a 400°C, acima de 400°C uma degradação lenta e contínua associada a lignina e ao final do processo ocorre a formação de carvão e cinzas.

Nguyen (1981) apresentou uma revisão sobre a análise térmica de materiais lignocelulósicos com várias referências anteriores sobre o assunto. As principais conclusões à respeito da degradação de estruturas de celulose, hemicelulose e lignina, provenientes da casca da madeira e da madeira propriamente dita. Para a casca foi observada que a decomposição de celulose pura ocorreu de 210 °C – 260 °C em atmosfera não oxidativa e desde 160 °C até 250 °C sob ar. A hemicelulose pura decompõe-se de 159 °C – 280 °C. A Lignina começa a decompor-se de 220 °C e continua acima de 400 °C. A madeira, mostra libertação de água a 107 °C sob hélio e 87 °C sob ar. Os constituintes da madeira se decompõem em temperaturas

mais elevadas do que sua casca; Celulose de 343 °C – 367 °C e hemicelulose de 207 °C – 330 °C.

Dentre os três componentes da biomassa (celulose, hemicelulose e lignina) a lignina é o mais difícil de se decompor (ZANATTA, 2013). A sua decomposição ocorre lentamente sob toda a faixa de temperatura experimental, que vai de 60 – 950 °C aproximadamente. A decomposição ficou concentrada na faixa de temperatura de 174 – 701 °C aproximadamente, a taxa de perda máxima de massa de 0,32% foi atingida na temperatura de 263 °C, e o resíduo foi em média de 34,45% em relação ao massa inicial da amostra para o lignosulfonato.

Yang (2007), observou que a lignina se decompõe na faixa de temperatura ambiente até 900 °C. Também cita que a taxa de perda máxima de massa é muito baixa, cerca de 0,14% não citando a temperatura na qual está taxa é atingida.

De acordo com as curvas termoanalíticas apresentadas na Figura 30, o bagaço de sisal *in natura* exibe quatro regiões em que se observa consideráveis perdas de massa e que, segundo a literatura pode ser atribuída a presença de estruturas químicas que são inerentes a esta biomassa. Através da Tabela 23 pode se observar os intervalos de temperatura, juntamente com o percentual mássico degradado e sua respectiva estrutura associada.

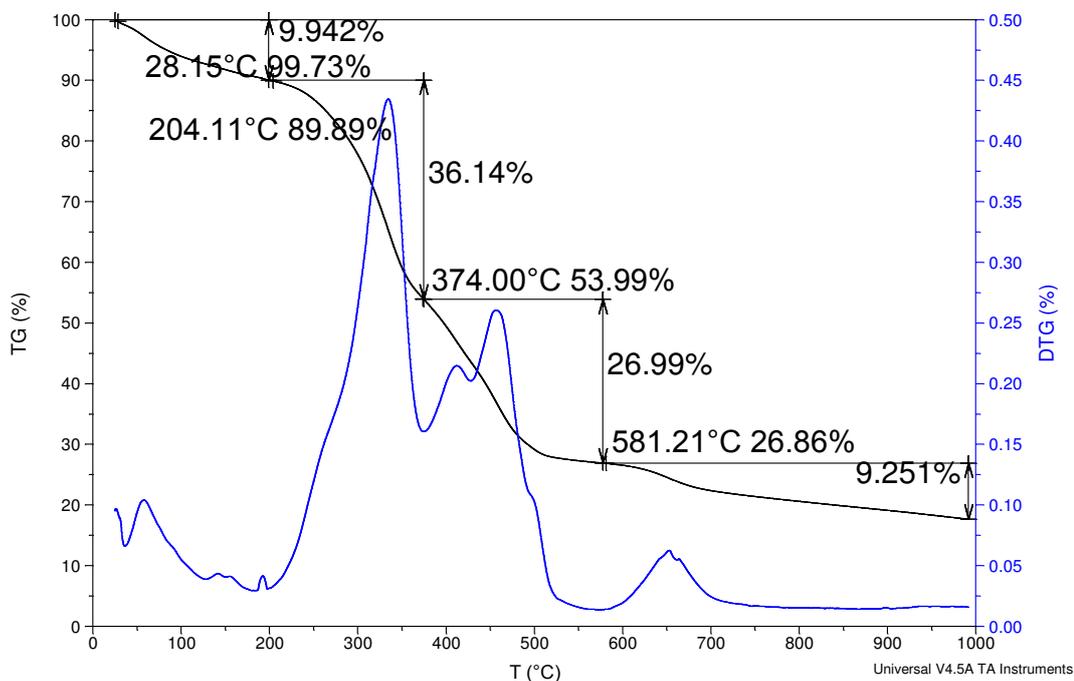
Tabela 22: Dados obtidos através das curvas TG/DTG para o bagaço de sisal *in natura*.

Amostra	Etapas	Faixas de temperatura	Descrição dos eventos	Perda de massa (%)
In Natura	1	25,12 – 196,45	Desidratação e resíduos de extrativos	7,02
	2	196,45 – 429,16	Decomposição da hemicelulose	46,11
	3	429,16 – 617,41	Decomposição de celulose	13,45
	4	617,41 - 1100	Decomposição de celulose e lignina	14,95

Analisando os dados exibidos na Tabela 23, observa-se um somatório referente aos quatro eventos identificados no valor de 81,43%, restando 18,57% que deve ser atribuído ao resíduo característico de formação de carvão e cinzas.

Na Figura 31 encontram-se as curvas TG/DTG referentes ao material pré-tratado na condição ótima com solução de ácido sulfúrico.

Figura 31: Curvas TG/DTG do bagaço de sisal após pré-tratamento ácido, obtidas em atmosfera de N<sub>2</sub> com taxa de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 1000°C.



De acordo com as curvas TG/DTG para o bagaço de sisal tratado com ácido é possível perceber que as perdas de massa ocorreram também dentro de quatro intervalos de temperatura, realizando um comparativo com a amostra *in natura*, pode-se constatar que o perfil termogravimétrico sofreu alterações, e os níveis de hemicelulose, celulose e lignina foram modificados, como pode ser observado na Tabela 23.

Tabela 23: Dados obtidos através das curvas TG/DTG para o bagaço de sisal após o pré-tratamento ácido.

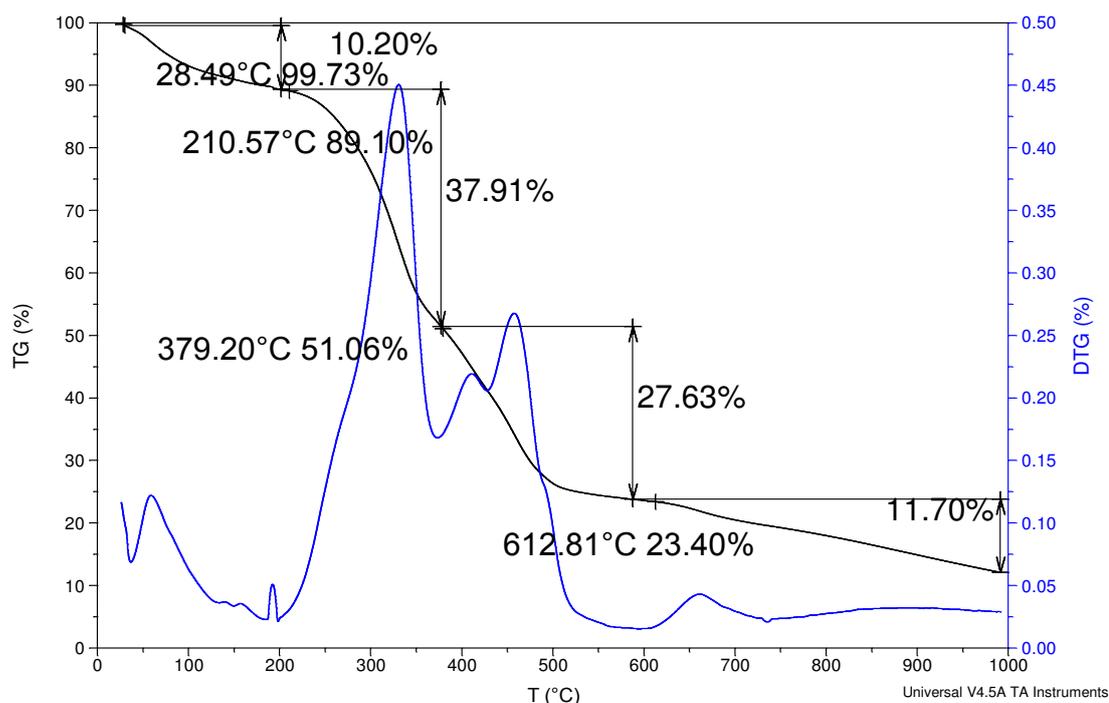
Amostra	Etapas	Faixas de temperatura	Descrição dos eventos	Perda de massa (%)
Pré-Tratamento Ácido	1	28,15 – 204,11	Desidratação e resíduos de extrativos	9,94
	2	204,11 - 374	Decomposição da hemicelulose	36,14
	3	374 – 581,21	Decomposição de celulose	26,99
	4	581,21 - 1100	Decomposição de celulose e lignina	9,251

De acordo com a Tabela 23, pode-se constatar que houve um deslocamento nas temperaturas iniciais que definem os intervalos onde há a degradação de componentes químicos, o que pode ser conotado através da alteração no perfil da curva derivada DTG, que compreende as temperaturas de 374-581°C, o que

propiciou a evidência de estruturas celulósicas contidas no material devido ao ataque ácido.

Na Figura 32 encontram-se as curvas TG/DTG referentes ao material pré-tratado com ácido seguido de base.

Figura 32: : Curvas TG/DTG do bagaço de sisal após pré-tratamento ácido seguido de básico, obtidas em atmosfera de N<sub>2</sub> com taxa de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 1000°C.



As curvas TG/DTG para o bagaço de sisal tratado com soluções de ácido sulfúrico seguido de soda caustica é possível observar que as perdas de massa ocorreram também dentro de quatro intervalos de temperatura, realizando comparativo com a amostra *in natura* e tratada somente com ácido, pode-se perceber que o perfil termogravimétrico sofreu alterações, e os níveis de hemicelulose, celulose e lignina também foram modificados, como pode ser observado na Tabela 24.

Tabela 24: Dados obtidos através das curvas TG/DTG para o bagaço de sisal após o pré-tratamento ácido seguido de básico.

Amostra	Etapas	Faixas de temperatura	Descrição dos eventos	Perda de massa (%)
Pré- Tratamento Ácido seguido de básico	1	28,49 – 210,57	Desidratação e resíduos de extrativos	10,20
	2	210,57 – 379,20	Decomposição da hemicelulose e celulose	37,91
	3	379,20 – 612,81	Decomposição de celulose	27,63
	4	612,81 - 1100	Decomposição de celulose e lignina	11,70

O pré-tratamento combinado (ácido/base), se mostrou eficiente no tocante de expor o maior percentual de celulose, (*in natura* 13,77%; ácido 26,99% e ácido seguido de básico 27,63%) no bagaço do sisal. Além de disponibilizar o maior teor de celulose à biomassa, a solução alcalina também proporciona um “inchamento” nas regiões mais externas da estrutura lignocelulósica, o que acarreta um aumento no acesso as estruturas que por ventura sofrerão ataques de microorganismos em processos posteriores.

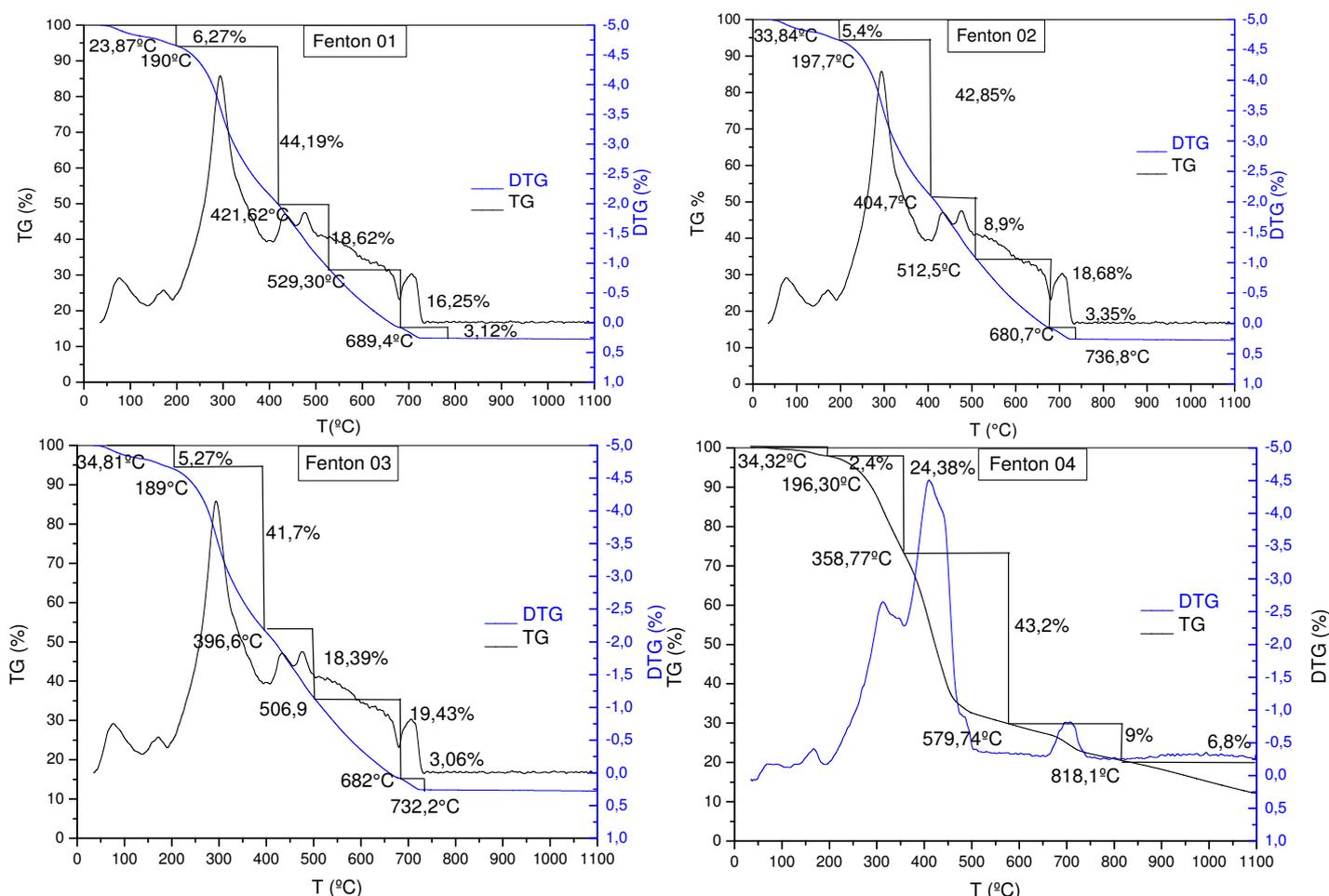
Para a análise do processo oxidativo Fenton como pré-tratamento no bagaço do sisal, a termogravimetria também foi utilizada como ferramenta para a identificação das melhores condições de operação do mesmo. Nesse contexto, realizou-se um planejamento experimental 2<sup>2</sup> com 3 repetições no ponto central (Tabela 25), para que fosse verificado como as variáveis de entrada influenciariam no processo, como já foi analisado no item 5.4. Com o objetivo de monitorar os níveis dos principais constituintes da biomassa, o estudo térmico foi realizado em todos os ensaios do planejamento experimental, e esses níveis foram quantificados.

Tabela 25: Matriz de planejamento para o pré-tratamento Fenton

Ensaio	[Fe <sup>2+</sup> ] mmol	[H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ] M
Fenton 01	- (1)	- (1)
Fenton 02	+ (4,25)	- (1)
Fenton 03	- (1)	+ (5)
Fenton 04	+ (4,25)	+ (5)
Fenton 05	0 (2,625)	0 (3)
Fenton 06	0 (2,625)	0 (3)
Fenton 07	0 (2,625)	0 (3)

Na Figura de 33 pode-se analisar as curvas TG/DTG dos ensaios Fenton de 01 à 04 realizados como pré-tratamento no bagaço do sisal.

Figura 33: Curvas TG/DTG do bagaço de sisal após pré-tratamentos Fenton 01 - 04, obtidas em atmosfera de N<sub>2</sub> com taxa de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 1000°C.



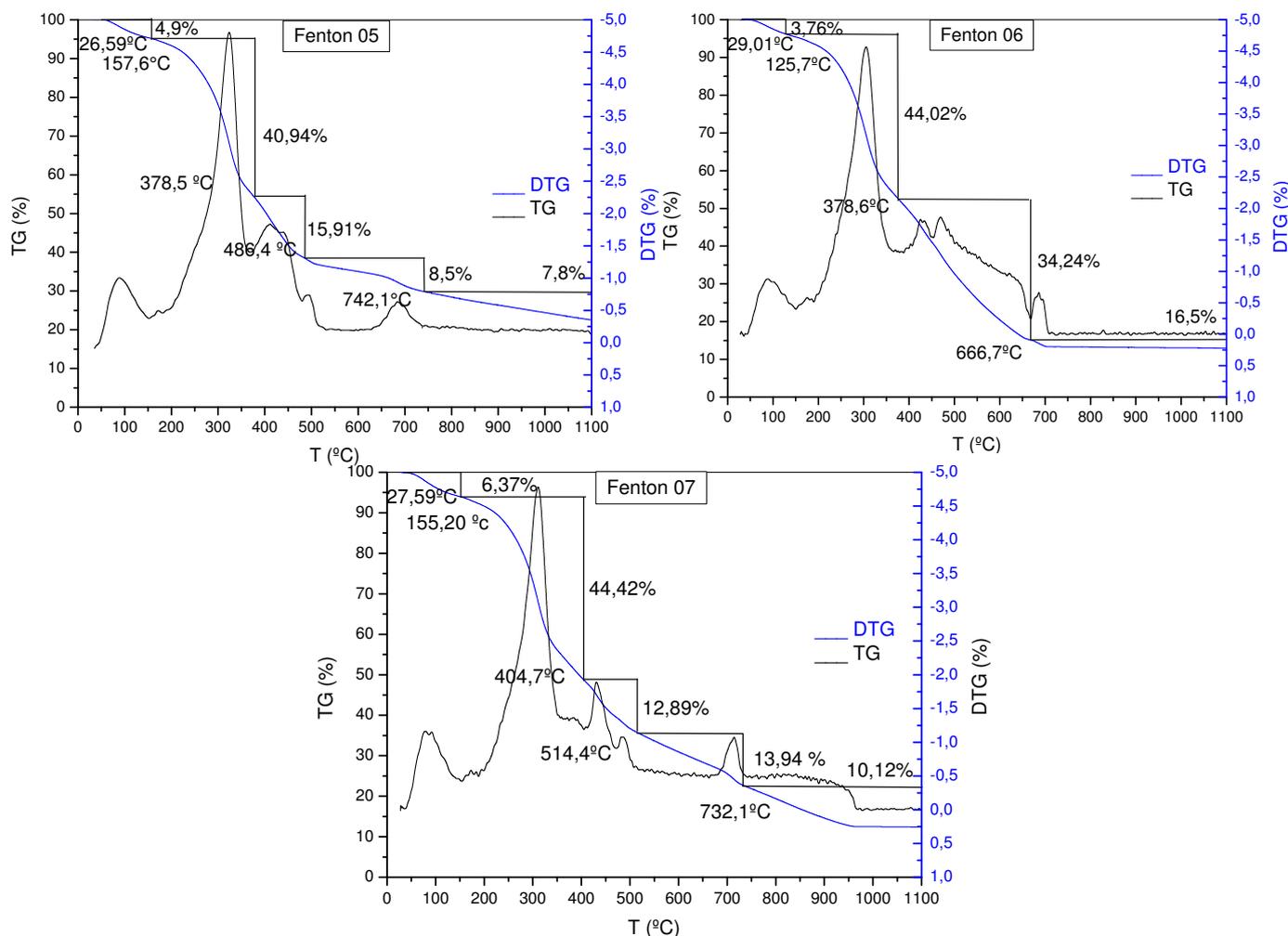
Analisando as curvas TG/DTG para o bagaço de sisal pré-tratado com o processo oxidativo Fenton é possível observar que as perdas de massa ocorreram também dentro de quatro ou cinco intervalos de temperatura, realizando um comparativo com a amostra *in natura*, pré-tratada somente com ácido e pré-tratada com a combinação ácido-base pode-se perceber que o perfil termogravimétrico sofreu alterações, e os níveis de hemicelulose, celulose e lignina também foram modificados, como pode ser observado na Tabela 26.

Tabela 26: Dados obtidos através das curvas TG/DTG para o bagaço de sisal após os pré-tratamentos Fenton 01 - 04.

Amostra	Etapas	Faixas de temperatura (°C)	Descrição dos eventos	Perda de massa (%)	Lignina presente (%)
Fenton 01	1	23,87 - 190	Desidratação e resíduos de extrativos	6,27	<b>19,37</b>
	2	190 - 421,62	Decomposição da hemicelulose e celulose	44,19	
	3	421,92 - 529,3	Decomposição de celulose	18,62	
	4	529,3 - 689,4	Decomposição de celulose e lignina	16,25	
	5	689,4 - 1100	Decomposição de celulose e lignina	3,12	
Fenton 02	1	33,84 - 197,7	Desidratação e resíduos de extrativos	5,4	<b>22,03</b>
	2	197,7 - 404,7	Decomposição da hemicelulose e celulose	42,85	
	3	404,7 - 512,5	Decomposição de celulose	8,9	
	4	512,5 - 680,7	Decomposição de celulose e lignina	18,68	
	5	680,7 - 1100	Decomposição de celulose e lignina	3,35	
Fenton 03	1	34,81 - 189	Desidratação e resíduos de extrativos	5,27	<b>22,49</b>
	2	189 - 396,6	Decomposição da hemicelulose e celulose	41,7	
	3	396,6 - 506,9	Decomposição de celulose	18,39	
	4	506,9 - 682	Decomposição de celulose e lignina	19,43	
	5	682 - 1100	Decomposição de celulose e lignina	3,06	
Fenton 04	1	34,32 - 196,30	Desidratação e resíduos de extrativos	2,4	<b>15,8</b>
	2	196,30 - 358,7	Decomposição da hemicelulose e celulose	24,38	
	3	358,7 - 579,74	Decomposição de celulose	43,2	
	4	579,74 - 818,1	Decomposição de celulose e lignina	9	
	5	818,1 - 1100	Decomposição de celulose e lignina	6,8	

Na Figura de 34 pode-se analisar as curvas TG/DTG dos ensaios Fenton de 05 à 07 (pontos centrais) realizados como pré-tratamento no bagaço do sisal.

Figura 34: Curvas TG/DTG do bagaço de sisal após pré-tratamentos Fenton 05 - 07, obtidas em atmosfera de N<sub>2</sub> com taxa de aquecimento de 10°C/min, da temperatura ambiente até 1000°C



Analisando as curvas TG/DTG que representam os pontos centrais do planejamento fatorial realizado para o bagaço de sisal pré-tratado com o processo oxidativo Fenton é possível observar que as perdas de massa ocorreram também dentro de quatro ou cinco intervalos de temperatura, como pode ser visualizado na Tabela 27.

Tabela 27: Dados obtidos através das curvas TG/DTG para o bagaço de sisal após o pré-tratamento Fenton (pontos centrais)

Amostra	Etapas	Faixas de temperatura	Descrição dos eventos	Perda de massa (%)	Lignina presente (%)
Fenton 05	1	26,59 - 157,6	Desidratação e resíduos de extrativos	4,9	16,3
	2	157,6 - 378,5	Decomposição da hemicelulose e celulose	40,94	
	3	378,5 - 486,4	Decomposição de celulose	15,91	
	4	486,4 - 742,1	Decomposição de celulose e lignina	8,5	
	5	742,1 - 1100	Decomposição de celulose e lignina	7,8	
Fenton 06	1	29,01 - 125,7	Desidratação e resíduos de extrativos	3,76	16,5
	2	125,7 - 378,6	Decomposição da hemicelulose e celulose	44,02	
	3	378,6 - 666,7	Decomposição de celulose	34,24	
	4	666,7 - 1100	Decomposição de celulose e lignina	16,5	
Fenton 07	1	27,59 - 155,20	Desidratação e resíduos de extrativos	6,37	24,06
	2	155,20 - 404,7	Decomposição da hemicelulose e celulose	44,42	
	3	404,7 - 514,4	Decomposição de celulose	12,89	
	4	514,4 - 732,1	Decomposição de celulose e lignina	13,94	
	5	732,1 - 1100	Decomposição de celulose e lignina	10,12	

Estudos têm mostrado que não há um conjunto ideal de parâmetros que possam ser aplicados em todos os tipos de biomassa (MICHALSKA, 2012). Portanto, as pesquisas estão sendo conduzidas para determinar a percentagem adequada de peróxido de hidrogênio, concentração de ferro e a relação massa/volume para cada tipo de biomassa, pois cada uma possui características distintas, como é o caso do bagaço de sisal utilizado neste trabalho.

O tratamento com altas concentrações de ferro e peróxido de hidrogênio pode levar à celulose degradação e eliminação de radicais, evitando a redução do íon férrico e a posterior formação de radicais hidroxila (KANG, LEE e YOON, 2002; MICHALSKA, 2012).

Analisando as curvas termoanalíticas dos ensaios de pré-tratamento Fenton de 01 à 04, é possível perceber uma distinção nos perfis exibidos pelas curvas termoanalíticas e suas derivadas, isso se deve a variação nas concentrações iniciais de ferro e de peróxido adotadas para a realização dos experimentos, os ensaios de

Fenton 01 a 03 mostraram um perfil termogravimétrico similar, apresentando percentuais de lignina degradados que oscilaram de 19,37% à 22,49%, em contrapartida o ensaio Fenton 04 fazendo uso das maiores concentrações das soluções de sulfato ferroso e peróxido de hidrogênio degradou 15,8% de lignina, o que pode ser atribuído como sendo a deslignificação mais eficaz para este tipo de biomassa.

De acordo com as curvas termoanalíticas que representam os pontos centrais do planejamento experimental, pode-se observar um comportamento individual em cada ensaio, o que deve ser atribuído a natureza da biomassa, pois a mesma apresenta composição muito diversificada. Os teores de estruturas similares as de lignina que foram quantificadas através da degradação em intervalos de temperatura definidos pelas derivadas das curvas termoanalíticas ficaram compreendidos entre 16,3 e 24,06%.

Durante a reação de Fenton,  $\text{Fe}^{3+}$  é reduzido a  $\text{Fe}^{2+}$ , e  $\text{Fe}^{3+}$  pode ser regenerado através de reações oxidorrredutivas acopladas envolvendo radicais, peróxido de hidrogênio e substratos orgânicos tais como lignocelulose (MESTER, SWARTS, 1997). A presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$  é essencial na reação de Fenton (WALLING, 1975). Além disso, verificou-se que o  $\text{H}_2\text{O}_2$  promoveu a redução de  $\text{Fe}^{3+}$  para  $\text{Fe}^{2+}$ . Para investigar a alteração da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  na reação de Fenton com palha de arroz, a concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi monitorada e desapareceu dentro de 10 minutos (KATO, 2014). O  $\text{H}_2\text{O}_2$  inicia a reação de Fenton, e é rapidamente convertido em radicais por oxidante que degradam os compostos orgânicos (WALLING, 1975). Os radicais também reagem uns com os outros para regenerar  $\text{H}_2\text{O}_2$  (BIESKY e WILLSON, 1985).

Numa tentativa de imitar a capacidade das enzimas de fungos de podridão branca para degradar a lignina presente em estruturas lignocelulósicas, a solução química de Fenton foi utilizada para a geração do radical hidroxila com o objetivo de tornar a celulose mais biodisponível para a fermentação microbiana (JAIN e VIGNESHWARAN, 2012). Pode-se perceber através dos tratamentos aplicados neste trabalho em todos os ensaios referentes a pré-tratamentos que a estrutura lignocelulósica foi mantida mesmo operando com reações não-seletivas, como é o caso do Fenton químico.

# **Considerações Finais**

## 6. Considerações Finais

Os pré-tratamentos ácido, e ácido seguido de básico apresentaram-se atuantes, pois através da caracterização realizada fazendo uso do protocolo Embrapa 236 constatou-se a redução da lignina e hemicelulose e conseqüentemente um aumento na celulose o que favoreceu o processo de hidrólise enzimático por expor as regiões cristalinas da mesma, facilitando a ação de enzimas para conversão em glicose, encontrando-se o tempo ótimo de 48h que foi avaliado por cromatografia líquida de alta eficiência obtendo-se a concentração de 23.561 mg.L<sup>-1</sup> de glicose.

O processo oxidativo Fenton foi avaliado por meio de caracterizações termoanalíticas, juntamente com os demais. Foi observado que nas maiores concentrações de ferro (4,25 mmol) e peróxido de hidrogênio (5000 mmol) houve a mudança estrutural mais significativa da biomassa, evidenciando a decomposição do menor teor de lignina o que comprova que o processo oxidativo se mostrou adequado na degradação da recalcitrância promovida pelas estruturas que compõem a lignina e exposição das estruturas celulósicas, mostrando que mesmo sem ser seletivo é uma alternativa para ser usada como pré-tratamento de materiais lignocelulósicos.

As análises estatísticas que foram aplicadas aos planejamentos fatoriais mostraram-se favoráveis no que se referiu aos efeitos dos pré-tratamentos aplicados ao bagaço do sisal.

Durante o processo de hidrólise enzimática, o pré-tratamento convencional mostrou-se mais adequado para ser aplicado ao bagaço do sisal, conseguindo concentrar 23561 mg/L de glicose contra 4987,28 mg/L de concentração de glicose obtida após pré-tratamento Fenton.

Através dos difratogramas pode-se observar que as estruturas sofreram mudanças significativas em seus halos amorfos e em suas regiões cristalinas pontuais, mostrando que os pré-tratamentos não destruíram a celulose contida amostras mantendo seus picos nos intervalos de 15 – 17º e 22 – 24º que se referem às fases amorfas e cristalinas da celulose, tendo os índices de cristalinidade para as

regiões específicas aumentado no pré-tratamento combinado e reduzido nos que fizeram uso de ácido e no processo oxidativo Fenton.

Desta forma conclui-se que o processo oxidativo Fenton mostrou-se como uma alternativa aos tratamentos convencionais, para ser aplicado como pré-tratamento no bagaço do sisal, fazendo com que esta biomassa apresente elevado potencial para e ser utilizado como matéria-prima em biorrefinarias, para os mais variados usos.

# **Referências**

## 6 Referências bibliográficas

- ANDRADE, R.; ORNELAS, J.; BRANDÃO, W. Situação atual do Sisal na Bahia e suas novas possibilidades de utilização e aproveitamento. **Comunicação SEAGRI**, p. 14-19, 2012.
- ARANTES, V. Lignocellulosic polysaccharides and lignin degradation. **J Ind Microbiol Biotechnol**, 2010. 331-333.
- ARANTES, V.; JELLISON, J.; GOODELL, B. Peculiarities of brown-rot fungi and biochemical Fenton. **Appl Microbiol Biotechnol**, 94, 2012. 323-338.
- ARANTES, V.; SADDLER, J. N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. **Biotechnology for Biofuels**, 3, n. 4, 2010. 754-758.
- ASGHAR, A.; ABDUL RAMAN, A. A.; WAN DAUD, W. M. A. Advanced oxidation process for in-situ production of hydrogen peroxide/hydroxyl radical for textile wastewater treatment: a review. **Journal of Cleaner Production**, 87, 2015. 826-838.
- BABUPONNUSAMI, A.; MUTHUKUMAR, K. A review on Fenton and improvements to the Fenton process for the wastewater treatment. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 2, n. 1, 2014. 557-572.
- BAHIA, C. D. P. D. **Sisal: Informe técnico**. Salvador. 1980.
- BALAT, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. **Energy Conversion and Management**, 2010. 858-875.
- BANERJEE, R.; PANDEY, A. Bio-industrial applications of sugarcane bagasse: a technological perspective. **International Sugar Journal Glamorgan**, 104, 2012. 1238.
- BANSAL, A. Economic competitiveness of ethanol production from cellulosic feedstock in Tennessee. **Renewable Energy**, 59, 2013. 53-57.
- BASTOS, V. D. Etanol Alcooquímica e Biorrefinarias. In: BNDES **BNDES Setorial**. Rio de Janeiro: BNDES, 2007. p. 5-38.

BAUDEL, H. M. Pré-tratamento e hidrólise. **III Workshop tecnológico sobre hidrólise**, São Paulo, dez. 2006.

BENIGNO, J. C. Ouro notícias. **Blog de Ourolândia**, 2009. Disponível em: <[http://blogdeourolandia.blogspot.com.br/2009\\_12\\_06\\_archive.html](http://blogdeourolandia.blogspot.com.br/2009_12_06_archive.html)>.

BIESKY, B. H. J.; WILLSON, R. L. Fast kinetic studies of dioxygen-derived species and their metal complexes. **Philos. Trans. R. Soc. Lond. B**, 311, 1985. 473-482.

BOX, G. E. P.; DRAPER, N. R. **Empirical model-building and response surfaces**. New York: [s.n.], 1987.

BRODEUR, G. Chemical and physicochemical pretreatment of lignocellulosic biomass: A review. **Enzyme Research**, 2011. 1-17.

CAMPOS, D. B. C. Hidrólise enzimática do sorgo sacarino (*sorghum bicolor L. Meonch*), **Tese de Doutorado**, Campina Grande, 2015.

CANILHA, L. Sacarificação da biomassa lignocelulósica através de pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática: uma estratégia de desconstrução da fibra vegetal. **Revista Analytica**, 44, 2010. 123-128.

CHAND, N.; TIWARY, R. K.; ROHATGI, P. K. Bibliography resource structure properties of natural cellulosic fibres an annotated bibliography. **J. Mater. Sci.**, 23, 1998. 381-387.

CHEN, G. The mechanism and applicability of in situ oxidation of trichloroethylene with Fenton's reagent. **Journal of Handardous Materials**, 87, 2001. 171-186.

CIOLACU, D.; POPA, V. I.; RITTER, H. Cellulose derivatives with adamantoyl groups. **Journal Applied Polymers Science**, 100, 2006. 105-112.

CONAB, C. N. D. A.-. **Conjuntura especial: Sisal 2015 retrospectiva**. Brasília. 2015.

COSIBRA, I. Processos e estrutura. **Industria Cosibra**, ago. 2016. Disponível em: <[http://www.cosibra.com.br/processos\\_estrutura.php](http://www.cosibra.com.br/processos_estrutura.php)>.

DANTAS, T. L. P. Decomposição do peróxido de hidrogênio em um catalisador híbrido e oxidação avançada de efluente textil por reagente fenton modificado, **Tese de Doutorado**, Florianópolis, 2005.

EMBRAPA. Biorrefinarias. **Embrapa**, 2016. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/48750/1/biorrefinaria-modificado-web.pdf>>. Acesso em: 05 set. 2016.

ENERGIA, M. D. M. E. Matriz energética nacional 2030. **Matriz energética nacional 2030**, nov. 2007. Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/documents/1138787/1732860/Matriz+Energ%C3%A9tica+Nacional+2030/39d39feb-1307-4f4f-9658-039b86b94bbd;jsessionid=663523DDBACC54787760CDC404F8C998.srv155>>. Acesso em: 2016.

FAPESP. Fibra de Futuro. **Revista pesquisa**, 2009. Disponível em: <>. Acesso em: 05 set. 2016.

FENTON, H. J. H. Oxidation of tartaric acid in presence of iron. **J. Chem. Soc.**, 65, 1894. 899-911.

FIOREZE, M.; SANTOS, E. P.; SCHMACHTENBERG, N. Processos oxidativos avançados: Fundamentos e aplicação ambiental. **ELECTRONIC JOURNAL OF MANAGEMENT, EDUCATION AND ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY**, 18, n. 1, 2014. 100-101.

FLAHERTY, K. A.; HUANG, C. P. Continuous flow applications of Fenton's reagent for treatment of refractory wastewaters. In: ECKENFELDER, W. W.; BOWERS, A. R.; ROTH, J. A. **Chemical and Oxidation**. [S.l.]: 58-77, v. 2, 1992.

GEWHER, A. G. Aplicação da metodologia de superfície de resposta no tratamento de lixiviado de aterro sanitário utilizando o processo fenton, **Tese de Doutorado**, Bento Gonçalves, 2013.

GHOSE, T. K. Measurement of cellulase activities. **Pure e Applied Chemistry**, 59, 1987. 257-268.

GUEDES, A. M. F. M. Oxidação química com reagente de Fenton: Aplicação às águas de cozimento da cortiça, Porto, 1998.

GUEDES, R. C. Estudo da influência do pré-tratamento em dois resíduos lignocelulósicos (pedúnculo de cajú e casca de côco) usados como substrato de indução à síntese de enzimas celulolíticas, **Tese de Doutorado**, Natal, 2010.

HAHN-HAGERDAL, B. Bioethanol the fuel of tomorrow from the rediues of today. **Trends in Biotechnology**, 2006. 904-908.

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, 2009. 10-18.

HENRISSAT, B. A classification of glycosyl hydrolasees based on amino acid sequence similarities. **Biochemical Journal**, 280, 1991. 309-316.

HSU, T. Pretreatment of biomass. **Handbook on bioethanol production and utilization**, 1996. 179-195.

HUANG, C. P.; DONG, C.; TANG, Z. Advanced chemical oxidation: its present role and potential future in hazardous waste treatment. **Wast Management**, 31, 1993. 361-377.

JAIN, P.; VIGNESHWARAN, N. Effect of Fenton's pretreatment on cotton cellulosic substrates to enhance its enzymatic hydrolisys response. **Biosour. Technol.**, 103, 2012. 219-226.

JUNG, Y. H. Mimicking the Fenton reaction-induced wood decay by fungi. **Bioresource technology**, 179, 2015. 467-472.

KANG, N.; LEE, D. S.; YOON, J. kinetic modeling of Fenton oxidation of phenol and monochlorophenols. **Chemosphere**, 47, 2002. 915-925.

KATO, P. M. Pretreatment of lignocellulosic biomass using Fenton chemistry. **Bioresource Technology**, 162, 2014. 272-278.

KONDO, T. Part b: Polym. **Physics**, 35, 1997. 717.

KOVACS, K.; SZACAKS, G.; ZACCHI, G. Comparative enzymatic hydrolysis of pretreated spruce by supernatants, whole fermentation broths and washed mycelia of

Trichoderma reesei and Trichoderma atroviride. **Bioresour. Technol.**, 100, 2009. 1350-1357.

KUMAR, R.; SINGH, S.; SINGH, O. V. Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives. **Journal of Industrial Microbiology and biotechnology**, 35, n. 5, 2008. 377-391.

LADEBIO, 2009. Disponível em: <<http://www.ladebio.org.br/index.php>>. Acesso em: 05 set. 2016.

LARRAN, A. Evaluation of biological pretreatments to increase the efficiency of the saccharification process using *Spartina Argentinensis* as a biomass resource. **Bioresour. Technol.**, 194, 2015. 320-325.

LEÃO, D. A. S. Potencialidades de obtenção de etanol a partir da fibra do Sisal, **Tese de Doutorado**, Campina Grande, 2014.

LEE, D.; YU, A. H. C.; WONG, K. K. Y. Evaluation of the enzymatic susceptibility of cellulosic substrates using specific hydrolysis rates and enzyme adsorption. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 45, 1994. 407-415.

LIMAYEM, A.; RICKE, S. C. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. **Progress in Energy and Combustion Science**, 38, n. 4, 2012. 449-467.

LIMAYEN, A.; RICKE, S. C. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. **Prog. Energ. Combust.**, 2012. 449-467.

LIN, S. H.; LO, C. C. Fenton process for treatment of desizing wastewater. **Water Research**, 38, 1997. 2050-2056.

LYND, L. R.; ELANDER, R. T.; WYMAN, C. E. Lately features and costs of mature biomass ethanol technology. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 57-58, 1996. 741-761.

LYND, R. L. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 66, n. 3, 2002. 506-577.

MACHADO, L. L. Utilização de compósito carvão/Se<sub>2</sub>O<sub>3</sub> como catalisadores da peroxidação de efluentes têxteis, **Tese de Doutorado**, Florianópolis, 2007.

MEHLIG, J. P.; HULETT, H. R. Spectrophotometric Determination of Iron with o-Phenanthroline and with Nitro-o-Phenanthroline. **J. Ind. Eng. Chem.**, 14, 1942. 869.

MEHODS, S. Standart methods for examination of water and wastewater. In: \_\_\_\_\_ **Standart Methods**. [S.l.]: [s.n.], 2012.

MESTER, T. Stimulation of aryl production in the basidiomycete *Bjerkandera* sp. strain BOS55 with biosynthetic precursors and lignin degradation products. **Appl. Environ. Microbiol.**, 63, 1997.

MICHASKA, K. Influence of pretreatment with Fenton's reagent on biogas production and methane yield from lignocellulosic biomass. **Biosource Technology**, 119, 2012. 72-78.

MILLER, G. L. Use dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, 31, 1959. 426-428.

MORAIS, J. P.; ROSA, J. M.; MARCONCINI, M. F. Procedimentos para análise lignocelulósica, Campina Grande, 2010.

NEYENS, E.; BAYENS, J. A. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. **Journal Hazardous Materials**, B98, 2003. 33-50.

NGUYEN, T.; ZAVARIN, E.; BARRAL, E. M. Thermal analysis of lignocellulosic materials. Part I Unmodified materials. **J. Macromol. Sci - Rv Macromol. Chem. C**, 1981. 1-65.

NUNES, B. R. P. Avaliação do uso da argila vermiculita como catalisador na hidrólise do bagaço da cana-de-açúcar, **Tese de Doutorado**, Campina Grande, 2015.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química Nova**, 33, n. 7, 2010. 1549-1558.

PALMQVIST, E.; HAHN-HAGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates: Inhibitors and mechanisms of inhibition. **Biosource Technology**, 74, 2000. 25-33.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia I**. São Paulo: Mc Graw - Hill, v. v. 1, 1980.

PEREIRA, J. R. A história de Cuité. **História de Cuité**, 2012. Disponível em: <[http://historiadecuite.blogspot.com.br/2012/07/dados-sobre-lavoura-permanente-e\\_19.html](http://historiadecuite.blogspot.com.br/2012/07/dados-sobre-lavoura-permanente-e_19.html)>.

PINTO, M. N. Contribuição ao estudo da influência da lavoura especulativa do Sisal do estado da Bahia. **Revista Brasileira de Geografia**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 3, p. 3-102, 1969.

PRADO, A. G.; ABREU, R. S. C. Quantificação dos extrativos, celulose e lignina da palma miúda (*Napalea cochenillifera*), Recife, 2010.

RABELO, S. C. Avaliação da otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração, Campinas, 2010.

RABELO, S. C.; MACIEL FILHO, R.; COSTA, A. C. A. A comparison between lime and alkaline hydrogen peroxide pretreatments sugarcane bagasse for ethanol production. **Applied Biochemical Biotechnology**, 114, 2008. 87-100.

RAMBO, M. D. Estudo e análise termogravimétrica de diferentes tipos de biomassas lignocelulósicas utilizando a análise por componentes principais. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 37, p. 862-868, dez. 2015.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. São Paulo: Casa do Pão, 2005. 325p p.

ROSSEL, C. E. V. **Conversion of lignocellulose biomass (bagasse and straw) from the sugar-alcohol industry into bioethanol**. [S.l.]: Telma Franco, 2006.

ROSSELL, C. E. V. Processo DHR (Dedini Hidrólise Rápida), São Paulo, 2002.

SALGADO, B. C. B. Descoloração de efluentes aquosos sintéticos e têxteis contendo corantes índigo e azo via processo fenton e foto-assistidos. **Eng. Sanit. Ambient.**, 14, 2009. 1-8.

SALGADO, P. Fenton reaction driven by iron ligands. **J. Chil. Chem. Soc.**, 58, n. 4, 2013. 707-712.

SANKAR, N. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. **Renewable Energy**, 2012. 19-27.

SANTOS, F. A. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, 35, n. 5, 2012. 1004-1010.

SANTOS, I. D. Influência dos teores de lignina, holocelulose e extrativos na densidade básica, contração da madeira e nos rendimentos e densidade do carvão vegetal de cinco espécies lenhosas do cerrado, **Dissertação de Mestrado**, Universidade de Brasília - UnB, Distrito Federal. ISSN 2008.

SERPA, V. I.; POLIKARPOV, I. Routes to Cellulosic Ethanol. **Enzymes in bioenergy**, 7, 2011. 97-113.

SILVA, C. E. F. Uso da laranja lima e seus resíduos no desenvolvimento de novos produtos. **Brazilian journal of biosystems Engineering**, 10, 2016. 69-96.

SILVA, O. R. R.; BELTRÃO, N. R. R. F. **O agronegócio do Sisal no Brasil**. Brasília: Embrapa, 1999.

SILVA, V. F. N. Estudo de pré-tratamento e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapa no processo de obtenção de etanol celulósico, **Tese de Doutorado**, Lorena, 2011.

SINDIFIBRAS. [www.brazilianfibres.com.br](http://www.brazilianfibres.com.br). **Sindicato das Indústrias de Fibras Vegetais da Bahia**, 2012.

SOARES, P. A.; ROSSELL, C. E. V. **Conversão da celulose pela tecnologia organosolv**. São Paulo: Nova Série, v. 3, 2007.

SOUZA, K. R. Degradação foto-fenton de carbono orgânico total em efluentes da indústria de beneficiamento de castanha de caju, Natal, 2005.

SUN, J. X. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. **Polymer: Degradation and Stability**, 84, 2004. 331-339.

SUN, Y.; CHENG, J. Hidrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Biosource Technology**, 83, 2002. 1-11.

SZCZODRAK, J.; FIEDURECK, J. Technology for conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. **Biomass and Bioenergy**, 10, n. 5-6, 1996. 367-375.

TEIXEIRA, C. P. A. B.; JARDIM, W. F. **Processos oxidativos avançados: Conceitos básicos**. Campinas: UNICAMP, 2004.

TELLES, C. A. S. Processos combinados para tratamento de lixiviados de aterros sanitários, **Tese de Doutorado**, São Paulo, 2010.

TEODORO, K. B. R. Whiskers de fibra de sisal obtidos sob diferentes condições de hidrólise ácida: efeito do tempo e da temperatura de extração. **Polímeros**, São Carlos, 21, 2011. 1047-1051.

TOSATO J.R., J. C.; HALASZ, M. R. T. Tratamento de efluentes têxteis utilizando processos físico-químicos e oxidativos avançados, **Tese de Doutorado**, São Paulo, 2011.

TRACHE, D. Physicochemical chemical properties and thermal stability of microcrystalline cellulose isolated from Alfa fibres. **Carbohydrate Polymers**, 104, 2014. 223-230.

TRINDADE, W. G. Polpação do curauá visando posterior sacarificação. **Biomacromolecules**, 6, 2005. 2485-2496.

UTSET, B.; GARCIA, J.; CASADO, J. Replacement of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by in Fenton and photo-Fenton reactions. **Chemosphere**, 41, 2000. 1187-1192.

VALASKOVA, V.; BALDRIAN, P. Estimation of bound and free fractions of lignocellulose-degrading enzymes of wood-rotting fungi *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor* and *Piptoporus betulinus*. **Research in Microbiology**, 117, 2006. 119-124.

VASCONCELOS, I. Fibra de futuro. **Revista Pesquisa**, v. 159, 2009. Disponível em: <<http://revistapesquisa.fapesp.br/2009/05/01/fibra-de-futuro/>>. Acesso em: 30 ago. 2016.

VILLA, R. D.; TROVÓ, A. G.; NOGUEIRA, R. F. P. Environmental implications of soil remediation using the Fenton process. **Chemosphere**, 71, 2008. 43-50.

WALLING, C. Fenton's reagent revisited. **Acc. Chem. Rev.**, 8, 1975. 3397-3413.

WANDERLEY, M. C. D. A. Hidrólise enzimática de bagaço de cana de açúcar em batelada alimentada para produção de etanol por *Saccharomyces cerevisiae* em processos SHF, **Tese de Doutorado**, São Paulo, 2012.

WANG, N. A review on Fenton-like process for organic wastewater treatment. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 3, 2016. 762-787.

YANG, H. Characteristics of hemicelluloses cellulose and lignin pyrolysis. **Energy Fuels**, 86, 2007. 1781-1788.

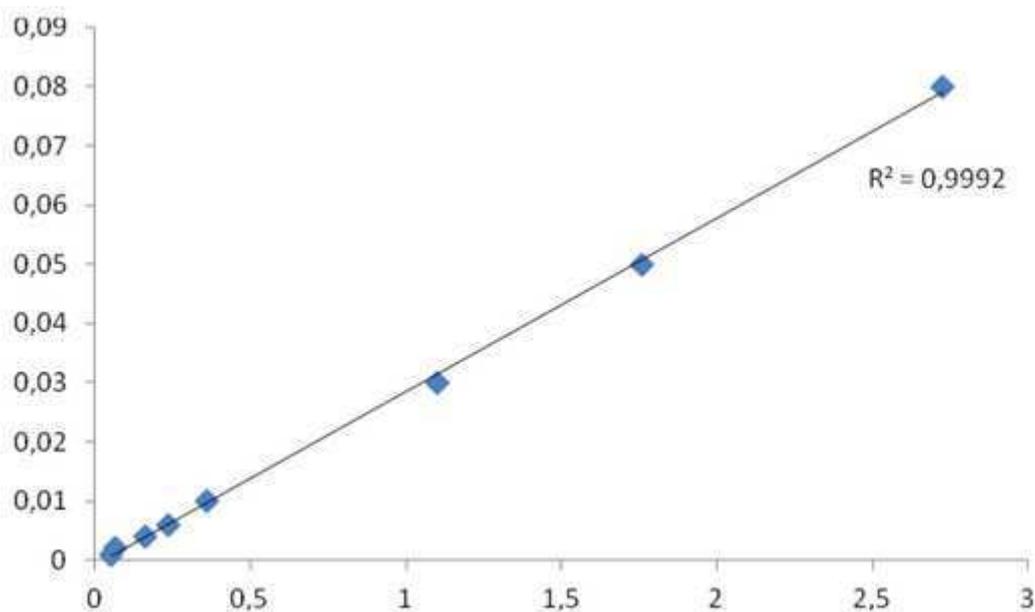
ZANATTA, R. R. Estudo cinético da decomposição térmica da lignina. **Cultivando Saberes**, Cascavel, v. 6, n. 2, p. 31-37, 2013.

ZAZO, J. A. Chemical pathway and kinetic of phenol oxidation by Fenton's reagent. **Environ. Sci. Technol.**, 39, 2005. 9295-9302.

ZHANG, H.; CHOE, H. J.; HUANG, C.-P. Optimization of Fenton process for the treatment of landfill leachate. **Journal Hazardous Materials**, 125, 2005. 166-174.

## 7 ANEXO I – Curvas de calibração de $\text{H}_2\text{O}_2$ , $\text{Fe}^{2+}$ e $\text{Fe}^{3+}$

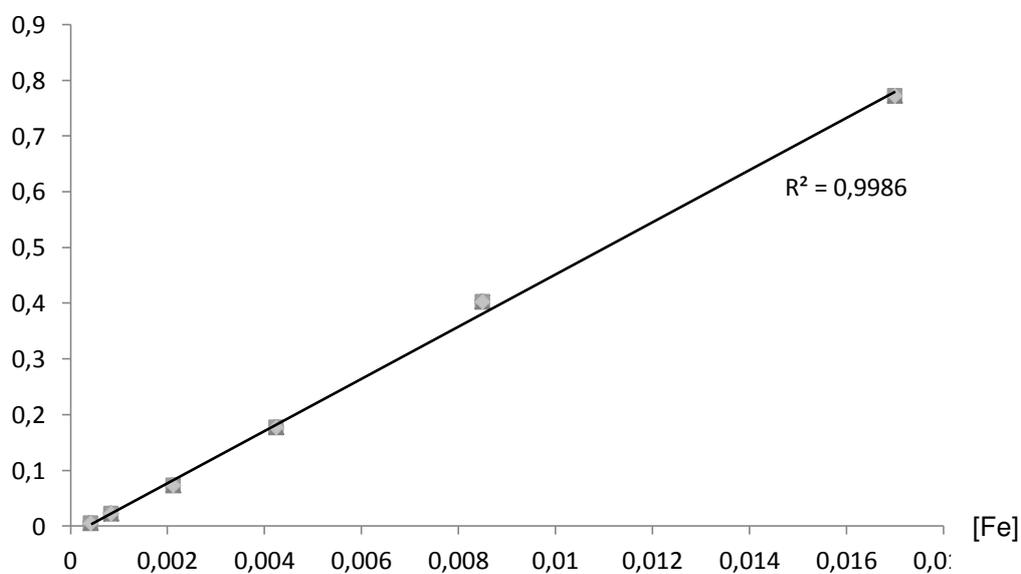
[ $\text{H}_2\text{O}_2$ ] Figura 35: Curva de Calibração  $\text{H}_2\text{O}_2$ .



A equação do modelo linear encontrado foi:

$$Y = 0,0293x$$

Figura 36: Curva de calibração para determinação de Fe.



A equação do modelo linear encontrada foi:

$$Y = 46,892x - 0,0172$$