

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS

REMOÇÃO DE LIGNINA E HEMICELULOSES DO SISAL UTILIZANDO
PRÉ-TRATAMENTOS ÁCIDOS E ALCALINOS

JANNEIDE ASSIS CARVALHO DE ALCÂNTARA
Bacharel em Biologia

CRUZ DAS ALMAS
BAHIA - BRASIL
2016

JANNEIDE ASSIS CARVALHO DE ALCÂNTARA

REMOÇÃO DE LIGNINA E HEMICELULOSES DO SISAL UTILIZANDO
PRÉ-TRATAMENTOS ÁCIDOS E ALCALINOS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade
Federal do Recôncavo da Bahia,
como parte das exigências do
Curso de Graduação de
Bacharelado em Biologia, para
obtenção do título de Bacharel em
Biologia.

CRUZ DAS ALMAS
BAHIA - BRASIL
2016

JANNEIDE ASSIS CARVALHO DE ALCÂNTARA

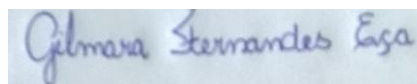
REMOÇÃO DE LIGNINA E HEMICELULOSES DO SISAL UTILIZANDO
PRÉ-TRATAMENTOS ÁCIDOS E ALCALINOS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade
Federal do Recôncavo da Bahia,
como parte das exigências do
Curso de Graduação de
Bacharelado em Biologia, para
obtenção do título de Bacharel em
Biologia.

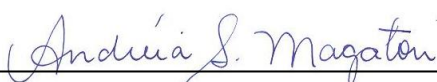
APROVADO: 28 de julho de 2016



José Humberto Teixeira Santos
UFRB



Gilmara Fernandes Eça
UFRB



Andréia Silva Magaton
Orientador
UFRB

Dedico este trabalho as pessoas mais importantes na minha vida, a minha mãe Lucineide Carvalho, pelo incentivo, apoio constante e dedicação e a minha filha Anna Luysa Carvalho, pelo amor incondicional, sendo o meu porto seguro.

AGRADECIMENTOS

À Deus primeiramente, pelo dom da vida, por me iluminar e me dar forças nas ocasiões que mais preciso, sendo firme e forte apesar de todas as adversidades.

À minha mãe Lucineide Carvalho, pela imensa dedicação, pelo incentivo e apoio constante, obrigado por todos os ensinamentos que me tornaram a pessoa que sou hoje.

À minha filha Anna Luysa, por ser meu porto seguro, agradeço por fazer minha vida feliz, pelo amor, paciência, todo o carinho. Ensinando que um sorriso vale mais que mil palavras.

Agradeço a Jacson pelo companheirismo, por compartilhar momentos importantes em minha vida, pela paciência e compreensão.

A meu irmão Janney e toda a minha família, pelo carinho, pelo apoio e força. Obrigada por estar presente na minha vida.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, a oportunidade de obter os conhecimentos necessários para obter o título de Bacharel em Ciências Biológicas.

À minha orientadora, professora e amiga Andréia Silva Magaton, pela força, apoio, compreensão e dedicação empenhada, pelos ensinamentos compartilhados, conhecimento necessário que me fizeram crescer no lado pessoal e profissional. Obrigada por acreditar e confiar em mim e nas minhas capacidades!

Aos professores Lidyanne Aona, Márcio Lacerda, Rogério Ribas e a toda equipe do Prédio de Biologia, do HURB, pelo apoio, pelos ensinamentos, pela amizade.

A toda equipe do Prédio de química. Aos Servidores Fabrício e Candice, pela ajuda constante, pela amizade e apoio. À Fabrício, meus sinceros agradecimentos pela ajuda, apoio nas situações em que precisei de auxílio. Agradeço a todos os colegas que juntos trabalhamos neste ambiente em busca de conhecimento.

A todos os meus amigos que sempre estiveram comigo, auxiliando com palavras de força, otimismo e fé, em especial, William, Sâmara, Re, Dani.

A William, mais que um amigo, é um irmão! Como a gente brinca: nossa amizade foi por seleção natural. Nesses anos compartilhamos momentos de alegrias e tristezas, altas resenhas. Obrigada por tudo, pelo apoio, pelas palavras de conforto, pela amizade.

Aos motoristas que criei amizade por todas as idas e vindas durante esses anos, de Muritiba para a faculdade, Geni, Renato, Jean. Obrigada pela compreensão quando eu tinha prova ou alguma apresentação, eles não demoravam para que eu chegasse no horário.

A todos aquele que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, assim como para o meu crescimento acadêmico e pessoal, os meus sinceros agradecimentos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Mapa do semiárido	11
Figura 02: Agave sisalana Perrine (sisal).....	12
Figura 03: Produção de sisal, em toneladas, no Brasil.....	13
Figura 04: Representação esquemática da ação do pré-tratamento sobre o material lignocelulósico.....	15
Figura 05: Pré- tratamento ácido das fibras.....	18
Figura 06: Pré- tratamento alcalino das fibras.....	19
Figura 07: Pré-tratamento ácido, rendimento das fibras.....	22
Figura 08: Solução de H ₂ SO ₄ e fibras de sisal	23
Figura 09: Fibras secas após pré-tratamento ácido.....	23
Figura 10: Influência da temperatura e concentração nos rendimentos	24
Figura 11: Pré-tratamento alcalino, rendimento das fibras.....	25
Figura 12: Perdas de xilanas e lignina – Pré-tratamento alcalino	26
Figura 13: Comparação dos rendimentos nos pré-tratamentos ácidos e alcalinos.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Constituição básica de algumas fibras vegetais.....	11
Tabela 02: Diferença na constituição da cana-de-açúcar e o sisal.....	11
Tabela 03: Composição química das fibras de sisal.....	21
Tabela 04: Análises químicas das fibras pré-tratadas	25
Tabela 05: Rendimento das fibras de sisal após o pré-tratamento ácido (anexo).....	31
Tabela 06: Rendimento das fibras de sisal após o pré-tratamento alcalino (anexo).....	32

RESUMO

ALCÂNTARA, JANNEIDE ASSIS CARVALHO DE, Bacharel em Biologia, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, julho de 2016. Remoção de lignina e hemiceluloses do sisal utilizando pré-tratamentos ácidos e alcalinos. Orientador: Andréia Silva Magaton.

Uma alternativa para a escassez das reservas de petróleo é a produção de substitutos, como o etanol, com base em matéria orgânica renovável. A produção de etanol a partir da biomassa vegetal é uma alternativa promissora, por se tratar de uma fonte renovável e abundante. Existem diferentes matérias orgânicas para a obtenção de etanol, cana-de-açúcar, milho, fibras vegetais, bambu. No semiárido pode ser utilizado o sisal (*Agave sisalana* Perrine), que é uma das plantas que apresentam maior capacidade de produção de biomassa em regiões secas, suas fibras tem grande concentração de carboidratos. O pré-tratamento é uma das etapas de grande importância, pois torna a fibra mais acessível para a produção de etanol. O presente trabalho tem como objetivo avaliar os pré-tratamentos ácidos e alcalinos e as condições experimentais empregadas em relação a uma maior eficiência na remoção de hemiceluloses e lignina. O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Química e Celulose da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia em parceria com o Laboratório de Celulose e Papel (LCP) da Universidade Federal de Viçosa. Foram utilizadas amostras de fibras de sisal, analisando a química das fibras, extrativos, determinação do teor de carboidratos e o teor de lignina total. Existem vários métodos de pré-tratamentos da biomassa, dentre essas técnicas, foi utilizado o pré-tratamento com hidróxido de sódio em três diferentes concentrações: 1, 1,5 e 2 mol.L⁻¹ e em diferentes temperaturas: 30,50,70 e 90°C. E o pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído, 0,5 %, 1% e 2%, variando o tempo de 10 a 60 minutos. Os teores de Lignina Klason encontrado para estas fibras (10,7%), são típicos de materiais considerados como fibras não-madeira (8,0 -13,0%). O conteúdo de lignina total das fibras de sisal (14,2%) é relativamente baixo quando comparado à madeira (20,0-30,0%) indicando que estas fibras têm maior facilidade de deslignificação em processos de produção de celulose e também para a produção de etanol. O pré-tratamento ácido mais efetivo foi aquele realizado com H₂SO₄ diluído 2% no tempo de 60 minutos. O tratamento alcalino mais efetivo foi aquele realizado com NaOH na concentração de 2,0 mol/L, na temperatura de 90° C. Com base nos resultados dessa pesquisa, foi possível sugerir que as fibras de sisal são boas matérias-primas para a produção de etanol, pois apresentam alto teor de celulose, bons teores de hemiceluloses e baixos teores de lignina.

Palavras-chave: biomassa, *Agave*, bioetanol

ABSTRACT

ALCÂNTARA, JANNEIDE ASSIS CARVALHO DE, Bacharel em Biologia, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, julho de 2016. Removal of lignin and hemicellulose using sisal acids and alkaline pretreatments. Advisor: Andréia Silva Magaton.

An alternative to the shortage of oil reserves is the production of substitutes based on renewable organic matter. The production of ethanol from plant biomass is a promising alternative, because it is a renewable and plentiful source. There are different organic materials for the production of ethanol, sugarcane, corn, vegetable fibers, bamboo. In the semiarid region is used sisal (*Agave sisalana* Perrine), which is one of the plants with higher biomass production capacity in dry regions, the fibers have a high concentration of carbohydrates. The pre-treatment is one of very important step because it makes the fiber more accessible for the production of ethanol. This study aims to evaluate the acid and alkaline pretreatments and the experimental conditions employed in relation to greater efficiency in the removal of hemicellulose and lignin. The work was developed in the chemistry laboratory and technology of wood from the Federal University of Bahia Reconcavo in partnership with the Pulp and Paper Laboratory (LCP) of the Federal University of Viçosa. Sisal fiber samples were used, analyzing chemical fibers, extractives, determining the carbohydrate content and the total lignin. Several methods for pretreatment of biomass, among these techniques, the pre-treatment with NaOH was used at three different concentrations: 1, 1.5 and 2 mol/L and at different temperatures: 30, 50, 70 and 90 ° C. And the pretreatment with dilute H₂SO₄, 0.5%, 1% and 2%, the time ranging from 10 to 60 minutes. The Klason Lignin content found for these fibers (10,7%), are typical materials considered as non-wood fibers (8.0 -13.0%). Total lignin content of sisal fibers (14.2%) are relatively low compared to wood (from 20.0 to 30.0%) indicating that these fibers are easier delignification in the pulp production process and also to ethanol production. Based on the results of this research, it was possible to suggest that the sisal fibers are great raw materials for the production of pulp and paper and also for the production of ethanol, since they have high cellulose content, good hemicellulose content and low levels of lignin.

Key-words: biomass, Agave, bioethanol

ÍNDICE

1. Introdução.....	8
2. Revisão de Literatura	10
2.1. Semiárido	10
2.2 <i>Agave sisalana</i> Perrine (sisal)	12
2.3. Etanol de primeira e segunda geração	14
2.4. Pré-tratamentos.....	14
2.4.1. Pré-tratamento ácido.....	16
2.4.2. Pré-tratamento alcalino.....	16
3. Material e métodos	17
3.1. Análise química	17
3.1.1. Análise de extrativos.....	17
3.1.2. Determinação do teor de carboidrato.....	17
3.1.3. Teor de lignina total.....	18
3.2. Pré-tratamentos.....	18
3.2.1. Pré-tratamento com H ₂ SO ₄	18
3.2.3. Pré-tratamento com NaOH.....	19
3.2.4. Tratamento com ácido diluído após o tratamento com NaOH.....	19
3.3. Determinação dos rendimentos das fibras	20
4. Resultados e Discussão.....	21
Conclusão.....	27
Referências Bibliográficas.....	28

INTRODUÇÃO

A escassez das reservas de petróleo é proveniente da crescente demanda de energia, sendo que a sua utilização gera um grande impacto ambiental, pois é uma fonte não renovável.

Atualmente, compreende-se que os compostos orgânicos presentes em fibras naturais podem ser utilizados como matéria-prima para alimentação e também para a obtenção de produtos químicos e energia, substituindo parcial ou totalmente, as fontes de origem fósseis que não são renováveis.

A produção de substitutos do petróleo com base em matéria orgânica renovável é uma alternativa para a substituição dos combustíveis fósseis, como por exemplo, o bioetanol, que é produzido utilizando a biomassa, através da fermentação direta do caldo de cana de açúcar ou da hidrólise presente nos lignocelulósicos, processo classificado de segunda geração (Pitarelo, 2012).

O termo bioetanol pode ser definido como o etanol produzido a partir da biomassa e/ou fração biodegradável de produtos, resíduos de origem vegetal. A biomassa vegetal é constituída, principalmente por celulose, hemicelulose e lignina (Balat, 2011). O etanol, ou álcool etílico, é uma substância com fórmula molecular C_2H_6O e também é considerado como combustível, pois libera significativas quantidades de calor ao ser queimado.

A produção de etanol a partir da biomassa vegetal é uma alternativa promissora, por se tratar de uma fonte renovável e abundante. Atualmente esse combustível é amplamente utilizado na substituição parcial ou total, da gasolina.

O etanol apresenta algumas diferenças em relação aos combustíveis convencionais derivados de petróleo, a principal dela é o alto teor de oxigênio, favorecendo uma combustão mais limpa, contribuindo assim para a redução das emissões poluidoras.

O uso de biocombustíveis diminui os impactos ambientais gerados pela utilização dos combustíveis fósseis, pois reduzem a emissão de carbono, que são lançados na atmosfera, reduzindo o aquecimento global.

Nas plantas, a fixação do CO_2 pela fotossíntese é a forma pela qual a energia é armazenada formando o carboidrato. Consequentemente as plantas que apresentam maior capacidade de acumular essa energia apresentam maior concentração de carboidratos, sendo utilizadas como matéria-prima para a obtenção de etanol.

A produção de bioetanol pode ser efetuada por diferentes rotas, utilizando matérias-primas doces (cana, beterraba, sorgo sacarino), matérias-primas amiláceas (milho, trigo) e

matérias-primas lignocelulósicas (fibras de vegetais, bagaço e palha de bambu ou cana) (Balat, 2011).

Nas regiões tropicais, a cana-de-açúcar é a matéria-prima mais utilizada para a produção de etanol. Pesquisas estão sendo desenvolvidas para que o sisal seja uma possível opção para a produção de etanol. O sisal, *Agave sisalana* Perrine é amplamente cultivada no semiárido, que ao contrário da cana-de-açúcar, não é utilizada para alimentação, sendo uma das plantas com maior capacidade de produção de biomassa em regiões secas.

O sisal é muito utilizado na confecção de artesanatos, na produção de ração ou suplementação de animais, com aproveitamento de todas as partes das plantas. Ela apresenta vários benefícios socioeconômicos, possui baixo custo de colheita e armazenagem, grande concentração de carboidratos e facilidade na obtenção. Além de construir fonte de renda e emprego para uma grande quantidade de nordestinos, é um importante agente de fixação do homem à região nordestina.

O sisal apresenta grande potencial na produção de etanol, pois é uma planta que contém grande quantidade de material lignocelulósico. A produção de etanol a partir da biomassa lignocelulósica é empregada, basicamente, em três etapas de produção: pré-tratamento, hidrólise e fermentação.

Segundo Silva (2010), o pré-tratamento remove a lignina e a hemicelulose, além de desorganizar a estrutura da biomassa celulósica favorecendo a atividade das enzimas e ácidos que atuam na conversão de carboidratos. O pré-tratamento constitui um dos processos de grande importância na obtenção do biocombustível, pois torna a fibra mais acessível para a produção do etanol.

Este trabalho tem como objetivo avaliar os pré-tratamentos ácidos e alcalinos e as condições experimentais empregadas em relação a uma maior eficiência na remoção de hemiceluloses e lignina.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Semiárido

De acordo com os dados oficiais do Instituto Nacional do Semiárido, a região semiárida compreende 969.589,4 km² ou 11% do território nacional. Nessa região vivem aproximadamente 25 milhões de brasileiros. O semiárido caracteriza-se por ter altas temperaturas, com temperaturas médias anuais de 27°C e evaporação de 2.000 mm, com chuvas irregulares e mal distribuídas, precipitações pluviométricas de até 800 mm ao ano. Existência de longos períodos de seca, intermitência de rios, solos rasos. Com predominância da Caatinga, apresenta vegetação típica de regiões semiáridas, com plantas xerófilas (Figura 1).

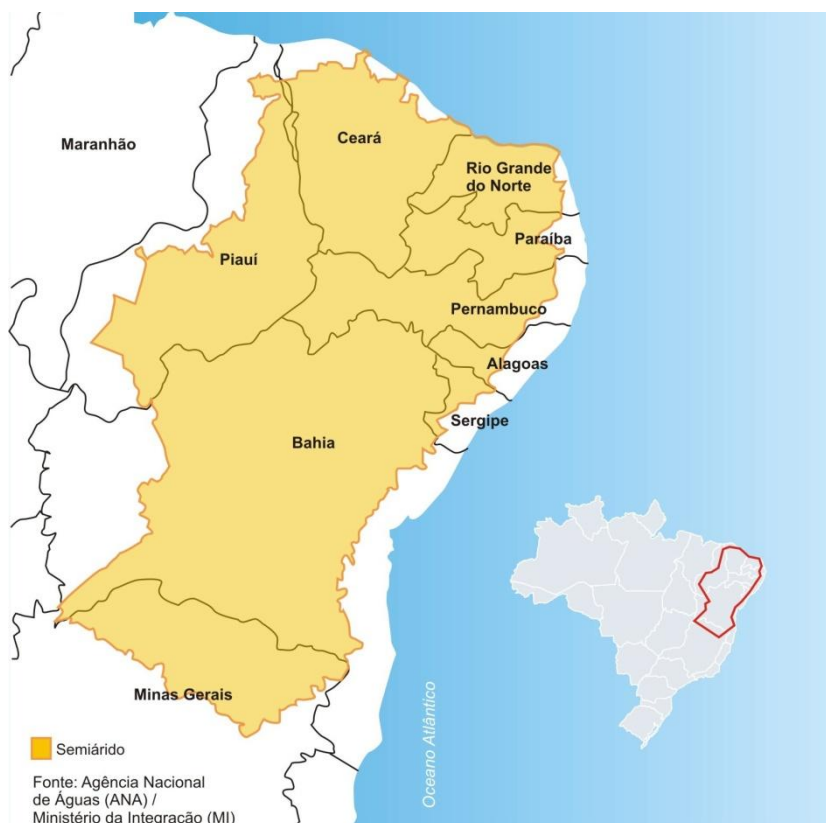


Figura 1: Mapa do semiárido. Fonte: (Agência Nacional de Águas)

2.2. Fibras lignocelulósicas

As fibras vegetais são chamadas de lignocelulósicas por serem constituídas basicamente por celulose, hemicelulose e lignina. Segundo Bledzki e Gassan (1999) as fibras vegetais são classificadas de acordo com a origem anatômica: fruto, folhas, caules. Devido a isto, as fibras apresentam diferenças, mas todas apresentam sua constituição básica. A Tabela 01 mostra a composição básica de algumas fibras vegetais.

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, 2011).

Tabela 01. Constituição básica de algumas fibras vegetais

	Rami <i>Boehmeria</i>	Juta <i>Corchorus</i>	Sisal <i>Agave</i>	Algodão <i>Gossypium</i>	Linho <i>Linum</i>
Celulose	68,6	64,4	65,8	82,7	64,1
Hemicelulose	13,1	12,0	12,0	5,7	16,7
Pectina	1,9	0,2	0,8	5,7	1,8
Lignina	0,6	11,8	9,9	—	2,0
Cera	0,3	0,5	0,3	0,6	1,5
Água	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Subst. solúvel em água	5,5	1,1	1,2	1,0	3,9

As fibras do sisal são extraídas das folhas, portanto são classificadas como fibras de folhas. São constituídas de hemiceluloses, 10 – 13%, lignina, 7 a 11% e na sua maioria de celulose, 65 a 78%. Elas apresentam maior quantidade de celulose do que as fibras provenientes da cana de açúcar, a palha tem 40 – 44% e o bagaço têm 32 – 48% (Santos *et al.* 2012). A tabela 02 mostra a diferença na constituição da cana-de-açúcar e do sisal.

Tabela 02. Diferença na constituição da cana-de-açúcar e o sisal

Biomassa vegetal	% Celulose	% Hemicelulose	% Lignina
Palha de cana	40 – 44	30-32	22-25
Bagaço de cana	32-48	19-24	23-32
Sisal	73,1	14,2	11

Assim como a cana de açúcar, o sisal apresenta grande potencial na produção de etanol, pois suas fibras tem grande concentração de celulose.

2.3. *Agave sisalana* (sisal)

Agave sisalana Perrine. (Figura 2) é uma monocotiledônea, pertence à família Agavaceae. Essa família tem cerca de 25 gêneros e 637 espécies. O tamanho varia de 1,2 a 2,0 metros de comprimento, possui uma coloração verde. Apresentam folhas alongadas, rígidas e muito fibrosas. As folhas são alternas espiraladas e dispostas em roseta. A quantidade de folhas por roseta depende da espécie, geralmente varia de 20 a 200 folhas. (Judd et al., 2007).

Agave sisalana Perrine, popularmente conhecida como sisal, é originária da Península de Yucatã no México, tendo recebido este nome de uma erva nativa chamada de zizal-xiu. (Medina, 1959). Segundo Paiva (2002), a designação *Agave* provém do grego agavos que significa admirável, magnífico e sisalana que significa rigidez.

As primeiras mudas de *Agave* foram levadas para o sul da Flórida (EUA) em 1834 e em 1892 começaram a ser cultivadas na África. No Brasil, as primeiras mudas de *Agave sisalana* chegaram à Bahia em 1903, sendo esta a única espécie no país. Atualmente no Brasil o cultivo de sisal se concentra na região nordeste, sendo os estados da Bahia, Paraíba e Rio Grande do Norte (Martin *et al.* 2009).



Figura 2 – *Agave sisalana* Perrine (Sisal)

O Brasil é o maior produtor de sisal do mundo, sendo que os estados da Bahia e Paraíba destacam na produção nacional. De acordo com a Conab, Companhia Nacional de Abastecimento, a produção brasileira de sisal em 2015 foi de 91,1 mil toneladas (Figura 3).

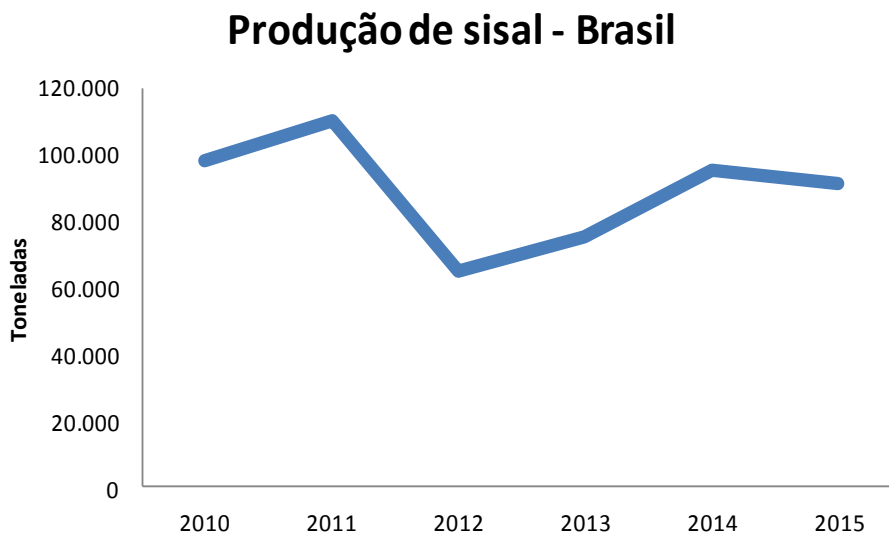


Figura 03. Produção de sisal, em toneladas, no Brasil. Adaptada: Conab

Nas regiões semiáridas, o sisal possui grande importância econômica devido ao aproveitamento de todas as partes da planta para o artesanato e indústrias. O sisal é muito utilizado na confecção de artesanatos, com a fabricação de cordas, cestos, tapetes, chapéu, bijuterias entre outros objetos. Os produtores utilizam a mucilagem, resíduo do desfibramento das folhas, como ração ou suplemento alimentar para os animais. *Agave* também é utilizada nas indústrias como matéria prima para a obtenção de celulose e produção de papéis.

Pesquisas estão sendo desenvolvidas para que o sisal seja uma possível opção para a produção de etanol. Assim como as demais fibras lignocelulósicas, as fibras de sisal são constituídas de celulose, hemiceluloses, lignina, pectina, cera e substâncias solúveis em água, sendo os três primeiros componentes mencionados os principais responsáveis pelas propriedades físicas das fibras (Georgopoulos, 2005). Sendo excelente matéria prima na produção do bioetanol.

O cultivo do sisal em regiões semiáridas é viavelmente econômico, pois as condições ambientais dessa região são poucos favoráveis, para o cultivo e exploração de outras culturas que ofereçam resultados satisfatórios na ampla utilização do sisal.

2.4. Etanol de primeira e segunda geração

O etanol pode ser obtido a partir de diversas matérias primas. Estas podem ser classificadas em matérias primas doces (beterraba, sorgo sacarino), matérias primas amiláceas (milho, trigo, cevada) e matérias primas lignocelulósicas (resíduos vegetais, bagaço e palhas).

A produção de etanol pode ser de primeira geração, a partir de cana-de-açúcar, quanto de segunda geração, a partir de biomassas de composição lignocelulósica. Segundo Pitarelo (2012), as tecnologias de conversão de primeira geração estão baseadas na fermentação alcoólica dos carboidratos presentes na matéria prima, como no caldo de cana-de-açúcar, enquanto as tecnologias de segunda geração consistem na produção de etanol a partir da quebra de polissacarídeos presentes na parede celular dos materiais lignocelulósicos.

Tanto para a produção de etanol de primeira geração, quanto à de segunda geração, a via fermentativa é a via mais importante para a obtenção do álcool etílico no Brasil. Um dos fatores que torna a produção de bioetanol por fermentação, a forma mais econômica de sua obtenção, é o grande número de matérias-primas naturais existentes em todo país (Pereira Jr. *et al.*, 2008).

2.5. Pré-tratamentos

A célula vegetal é composta, principalmente por celulose, hemicelulose e lignina. O que confere a resistência da celulose são as ligações de hidrogênio intramoleculares entre as hidroxilas. Essas ligações tornam a celulose resistente a hidrólise ácida, alcalina ou enzimática. O acesso de catalisadores e reagentes são dificultados pela presença de lignina e hemiceluloses. Portanto é necessário um pré-tratamento para a remoção destes componentes.

Segundo Silva (2010), o pré-tratamento é utilizado para remover a lignina e a hemicelulose, reduzir a cristalinidade da celulose e aumentar a porosidade do material. Este processo desorganiza a estrutura da biomassa celulósica favorecendo o trabalho das enzimas e ácidos que atuam na conversão de carboidratos em açúcares.

A utilização da biomassa vegetal para a obtenção de etanol tem sido dificultada pela recalcitrância da biomassa lignocelulósica. O pré-tratamento constitui um dos processos de grande importância na obtenção do biocombustível. Segundo Santos (2012), essa etapa tem por finalidade remover a lignina e a hemicelulose, aumentar a área superficial e diminuir o grau de polimerização e cristalinidade da celulose, acarretando em aumento na digestibilidade do complexo e conseqüentemente, em elevados rendimentos de açúcar e etanol.

A Figura 04 apresenta um esquema da produção de etanol, mostrando a ação do pré-tratamento sobre o material lignocelulósico. O pré-tratamento vai remover a lignina e hemiceluloses deixando a celulose acessível facilitando o trabalho das enzimas e ácidos que vão atuar nas etapas subsequentes.

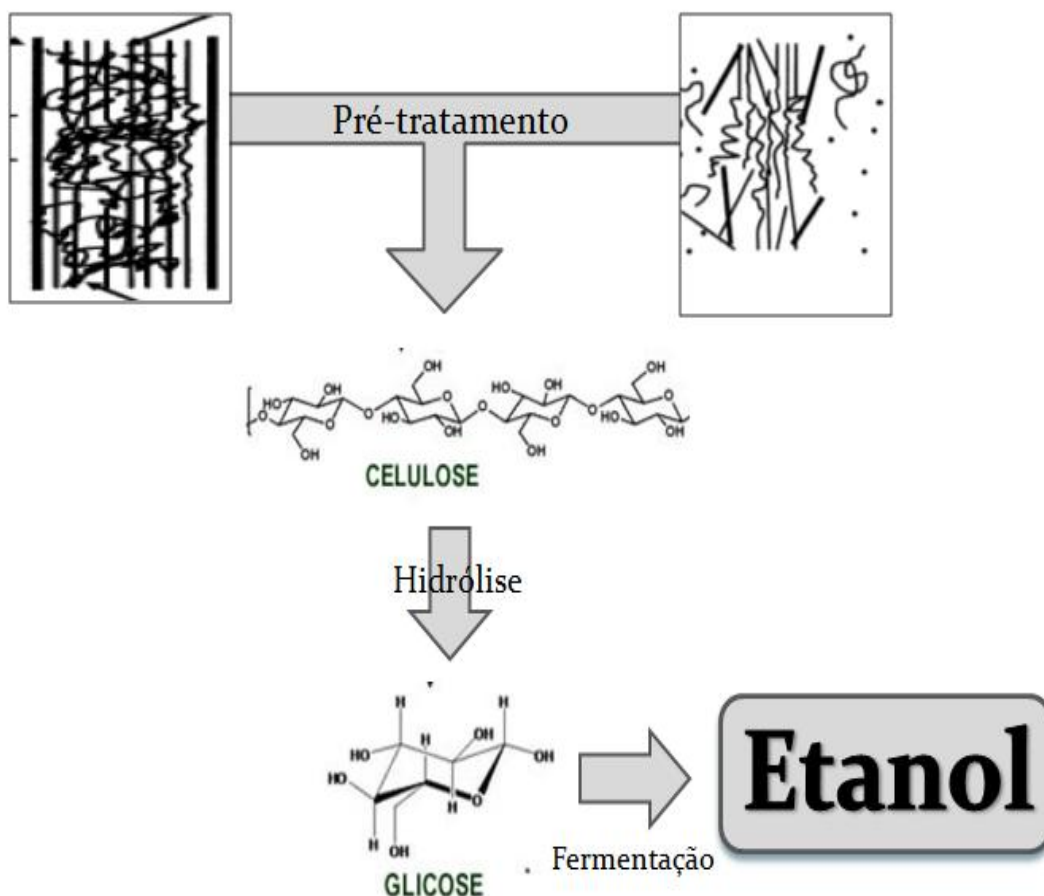


Figura 04. Representação esquemática da produção de etanol, mostrando a ação do pré-tratamento sobre o material lignocelulósico.

Existem diversos tipos de pré-tratamentos, com diferentes rendimentos e efeitos distintos sobre a biomassa e consequente impacto nas etapas subsequentes. Nos pré-tratamentos químicos são utilizados compostos orgânicos ou inorgânicos. Diferenciam dos outros tratamentos pelos mecanismos responsáveis pelas modificações químicas e estruturais. Nesse tratamento pode ser utilizado: ácidos, bases ou solventes orgânicos. (Brodeur *et al.*, 2011).

2.5.1. Pré-tratamento ácido

Segundo Alvira *et al.* (2010), o objetivo principal dos pré-tratamentos ácidos é o de solubilizar a fração de hemicelulose da biomassa e tornar a celulose mais acessível às enzimas.

De acordo com Rabelo (2010), o pré-tratamento ácido rompe a estrutura lignocelulósica por meio da solubilização da hemicelulose no meio ácido, o que promoverá um aumento da digestibilidade da celulose nas etapas subsequentes.

Os ácidos geralmente utilizados nos pré-tratamentos são os ácidos sulfúrico, fosfórico e o clorídrico. O pré-tratamento ácido pode ser realizado sob temperaturas elevadas e baixa concentração ácida (pré-tratamento com ácido diluído), ou sob baixa temperatura e concentração ácida elevada (pré-tratamento com ácido concentrado) (Taherzadeh e Karimi, 2008).

2.5.2. Pré-tratamento alcalino

Segundo Brodeur *et al.* (2011), a utilização de um álcali provoca a degradação das ligações éteres da lignina e das ligações éteres das cadeias glicosídicas, resultando na alteração estrutural da lignina, inchaço da celulose, descristalização parcial da celulose e degradação das hemiceluloses.

Algumas bases podem ser utilizadas para o tratamento de materiais lignocelulósicos, como hidróxidos de sódio, potássio, cálcio e hidróxido de amônio. O efeito do pré-tratamento alcalino depende do conteúdo de lignina dos materiais. O maior efeito do pré-tratamento alcalino é a remoção da lignina da biomassa, melhorando assim a reatividades dos polissacarídeos remanescentes. Adicionalmente, este pré-tratamento remove o grupo acetil e os vários ácidos urônicos na hemicelulose, que baixam a acessibilidade das enzimas à superfície da hemicelulose e da celulose (Mosier *et al.*, 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho experimental foi desenvolvido no Laboratório de Química e Tecnologia da Madeira da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia em parceria com o Laboratório de Celulose e Papel (LCP) da Universidade Federal de Viçosa.

As amostras de fibras de sisal foram concedidas pela Embrapa Algodão (Campina Grande – PB).

3.1. Análise Química das Fibras

Amostras de fibras de sisal foram trituradas em moinho Willey, peneiradas e submetidas às análises químicas, que foram feitas em duplicata.

3.1.1. Análise de Extrativos

As amostras de serragem de sisal tiveram seus extrativos removidos em acetona, segundo Silvério *et al.*, 2006.

3.1.2. Determinação do Teor de Carboidratos

Os carboidratos foram analisados após hidrólise da serragem do sisal com ácido sulfúrico, de acordo com o método descrito por Kaar *et al.* (1991). Amostras de aproximadamente 0,3 g de serragem livre-de-extrativos foram hidrolisadas com H₂SO₄ 72% (3 mL), durante uma hora, a 30°C. Posteriormente, o ácido foi diluído para 3% pela adição de 84 mL de água destilada. A mistura foi submetida à hidrólise em autoclave, com temperatura de 121°C por uma hora. Após este período, as misturas foram filtradas. O sobrenadante (20 mL) foi neutralizado com hidróxido de bário e os carboidratos (glicose, celobiose, xilose, arabinose) foram quantificados por HPLC, equipado com detector de índice de refração e coluna HPX-87H (Bio-Rad Aminex). Foi utilizada água como fase móvel a um fluxo de 0,6 mL.min⁻¹ e temperatura de separação de 80°C.

3.1.3. Teor de Lignina Total

O teor de lignina total foi determinado pelo somatório dos teores de lignina insolúvel e solúvel. O resíduo sólido, recuperado após a hidrólise com H₂SO₄ e filtração, foi lavado com

1500 mL de água destilada, transferido para pesa-filtros para secagem em estufa a 100°C até massa constante. Este resíduo é chamado de lignina Klason e foi medido de acordo com Gomide e Demuner (1986).

A quantidade de lignina solúvel foi determinada, no filtrado obtido da hidrólise de carboidratos, pela medida de absorvância a 280 nm em espectrofotômetro, conforme o método descrito por Goldschimid (1971).

3.2. Pré-Tratamentos

Dentre as técnicas de pré-tratamento da biomassa, destaca-se o tratamento com ácido diluído e com álcalis como os métodos mais estudados e promissores no processo de obtenção de etanol a partir da biomassa lignocelulósica.

3.2.1. Pré-tratamento com ácido diluído

Os pré-tratamentos com ácido diluído foram realizados na panela de pressão, à temperatura de 100 - 120 °C. Em cada reação foi utilizado 5 g de fibra de sisal e uma solução ácida preparada com H₂SO₄, onde foi variada a concentração de 0,5 a 2,0% e o tempo de 10 a 60 minutos (Tao *et al.*, 2011).

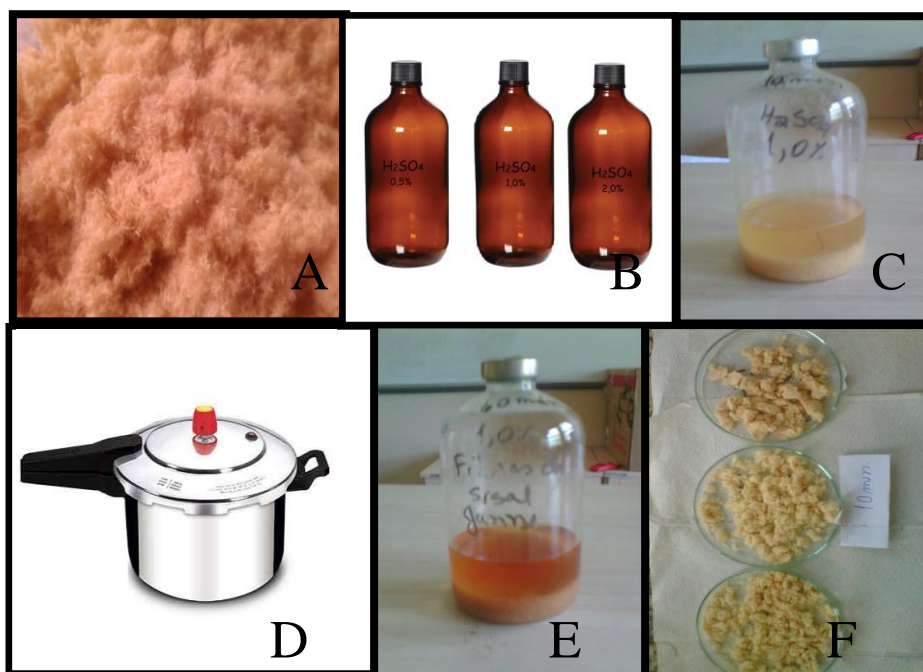


Figura 05. Pré-tratamento ácido do sisal. A. Fibras B. Solução de H₂SO₄; C. Solução de H₂SO₄ adicionado a fibra; D. Panela de pressão; E. Solução após tratamento; F. Fibras após tratamentos

3.2.2. Pré-tratamento com NaOH

Em frascos Erlenmeyer de 250 mL, foram adicionados 20 g de fibra previamente moída e 200 mL de solução aquosa de NaOH em três diferentes concentrações: 1, 1,5 e 2 mol.L⁻¹. Em seguida, os frascos foram submetidos ao banho ultratermostático, por 4 horas e em diferentes temperaturas: 30, 50, 70 e 90 °C. Após a reação a mistura será filtrada e os sólidos retidos, submetidos a sucessivas lavagens com água destilada para retirada do NaOH remanescente. O resíduo obtido após filtração foi submetido à análise de carboidratos e lignina para verificação do efeito dos pré-tratamentos na composição química da fibra.



Figura 06. Pré-tratamento alcalino do sisal. A. *Agave sisalana* Perrine; B. Fibras; C. Solução de NaOH; D. ;E. Banho ultratermostático; F. Fibras após tratamentos.

3.2.3. Tratamento com ácido diluído após o tratamento com NaOH

As amostras submetidas aos tratamentos com NaOH foram submetidas ao tratamento com ácido diluído (após determinação da melhor metodologia de pré-tratamento ácido).

Ao final dos pré-tratamentos foi realizada a filtração, lavagem e secagem do material, à temperatura ambiente. O resíduo foi submetido às análises de carboidratos e lignina conforme descrito nos itens 3.1.2 e 3.1.3, respectivamente.

3.3. Determinação do rendimento das fibras

Os rendimentos das fibras de sisal após a realização dos pré-tratamentos foram calculados utilizando a seguinte equação:

$$R_c = 100 - \left[\frac{m_f}{m_i} \cdot 100 \right] \quad \text{Equação 01}$$

Sendo:

R_c : Percentual de rendimento celulósico

m_f : massa final da fibra após o tratamento

m_i : massa inicial da fibra

4. RESULTADOS E DISCUSSAO

As fibras de sisal são constituídas principalmente por celulose, hemicelulose, lignina, pectina, cera e substâncias solúveis em água. Com base nas análises químicas em que as amostras foram submetidas, foi possível determinar a composição da fibra. Na Tabela 03 está apresentada a composição química das fibras do sisal.

Tabela 03. Composição química das fibras de sisal

Composição - <i>Agave sisalana</i> Perrine	
Glicanas	60,5
Xilanas	13,8
Galactanas	0,76
Mananas	ND*
Arabinanas	0,41
Lignina Klason	10,7
Lignina Solúvel	3,54
Lignina Total	14,2
Extrativos	2,43

*ND = Não-detectado

O conteúdo de lignina total das fibras de sisal é 14,2% é relativamente baixo quando comparado à madeira (20,0-30,0%) indicando que esta fibra tem maior facilidade de deslignificação em processos de produção de celulose.

Comparando-se os resultados das análises químicas aos valores encontrados por Marques et al. (2010), que analisou fibras de *Agave sisalana* provenientes do Quênia na África, foram encontradas muitas diferenças, principalmente nas quantidades de glicanas, xilanas, lignina Klason e extrativos. Neste estudo foram encontrados teores de lignina de 10,7% e extrativos em acetona de 2,9 % em média bem superiores aos encontrados nas fibras de sisal da África, que foram de 5,9% para lignina e 0,8% de extrativos. Os teores de xilanas

foram de 13,8% e glicanas em torno de 60,5% ficaram bem abaixo dos teores encontrados para as fibras de sisal da África, que foram de 20,0.

Os resultados sugerem que a origem das fibras influencia muito na composição química do sisal. De acordo com Bledzki e Gassan (1999) as condições climáticas e a idade influenciam na estrutura da fibra vegetal e também na sua composição química.

Pré-tratamento ácido

Com base nos resultados do pré-tratamento utilizando H_2SO_4 , o rendimento é influenciado pela duração do tratamento. O rendimento obtido após os pré-tratamentos ácidos foi entre 45% e 77%.

Na Figura 07, nota-se que em 10 minutos, teve pouca remoção de lignina e hemiceluloses e o tratamento realizado com H_2SO_4 na concentração de 0,5% remove mais do que as outras concentrações utilizadas.

Em 20 minutos, o tratamento mais efetivo é o realizado com H_2SO_4 na concentração de 1%. E nos tratamentos com durações maiores, 40 e 60 minutos, o tratamento mais efetivo é o realizado com H_2SO_4 na concentração de 2%.

O pré-tratamento ácido mais efetivo foi aquele realizado com H_2SO_4 na concentração de 2% em 60 minutos, o rendimento obtido foi de 45,2%, ocorreu maior perda de massa, tendo uma boa remoção dos constituintes químicos.

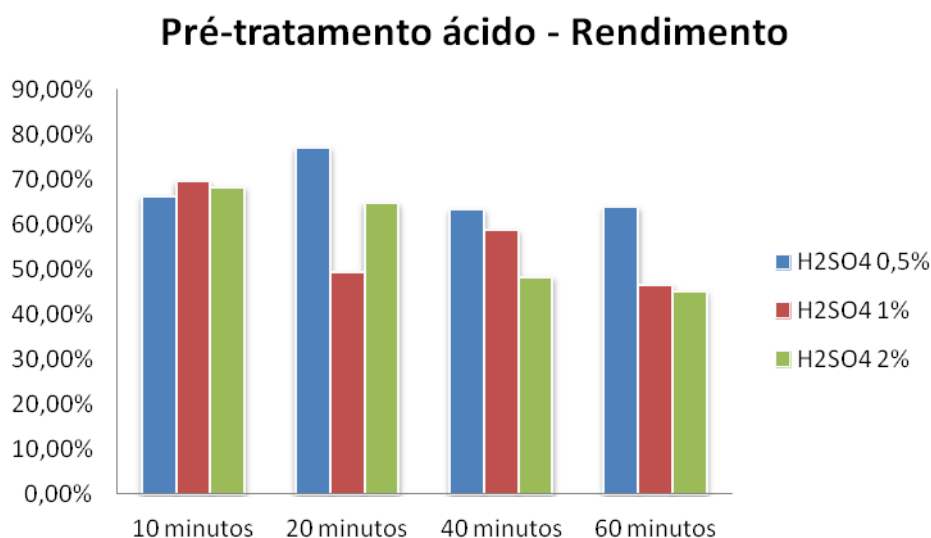


Figura 07. Pré - tratamento ácido, rendimento das fibras

As fibras apresentaram mudanças na coloração quando submetidas aos pré - tratamentos com ácido sulfúrico. Ocorreu reação entre a solução ácida e a lignina, escurecendo levemente as fibras.

A Figura 08 mostra a mudança na coloração da solução de H_2SO_4 e fibras de sisal, antes e após o pré-tratamento ácido.



Figura 08. Solução de H_2SO_4 e fibras de sisal

Após o pré- tratamento ácido as fibras foram filtradas e lavadas sucessivamente. E secas em temperatura ambiente. Na Figura 09 mostra as fibras secas, é possível observar a alteração na cor das fibras de sisal após o tratamento ácido.

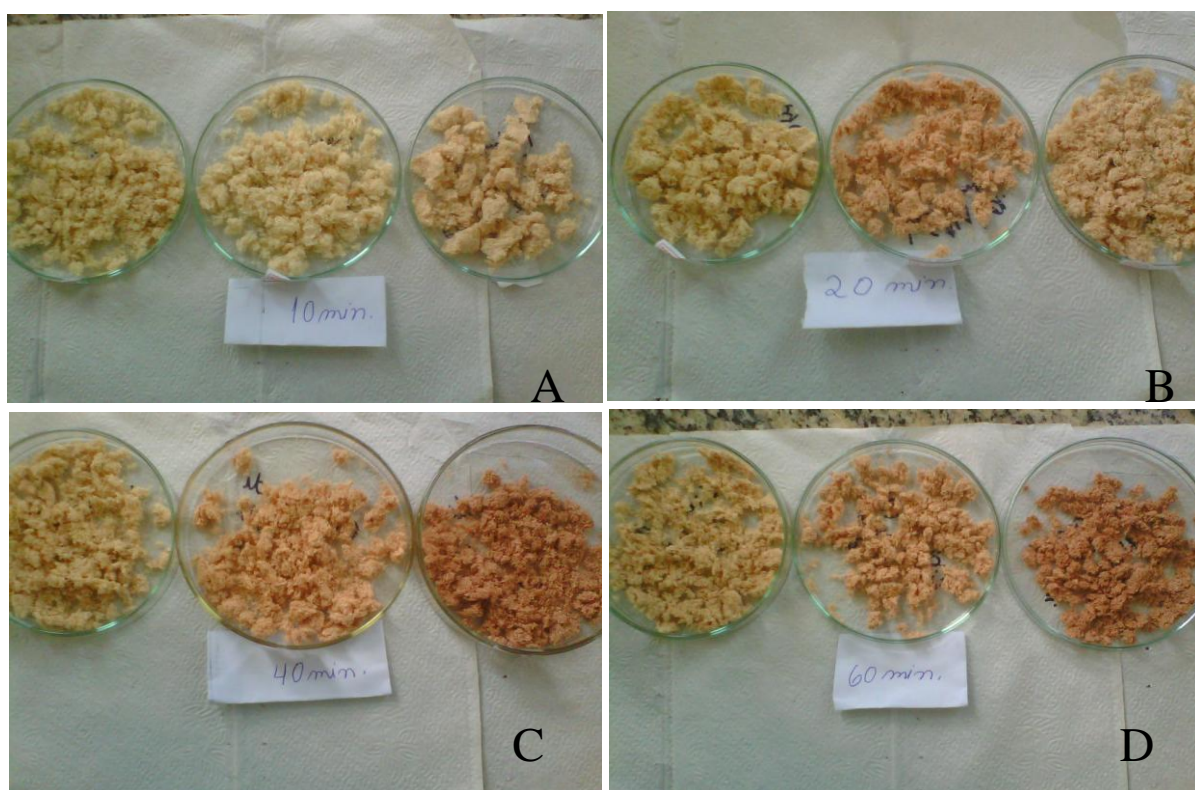


Figura 09. Fibras secas após tratamento ácido. A. 10 minutos; B. 20 minutos; C. 40 minutos; D. 60 minutos

Pré-tratamento alcalino

As fibras após o tratamento foram secas em temperatura ambiente, em seguida foram determinados os rendimentos das fibras. Pelo rendimento obtido após os pré-tratamentos alcalinos, entre 48 e 61%, foi possível perceber que houve boa remoção dos constituintes químicos do sisal.

A Figura 10 mostra que dois fatores influenciam no rendimento das fibras no pré-tratamento alcalino: temperatura e a concentração. O rendimento sólido é menor à medida que vai aumentando a concentração do NaOH e a temperatura do processo. Com base nos resultados do pré-tratamento utilizando NaOH, o rendimento é influenciado pela concentração de álcali e pela temperatura do processo.

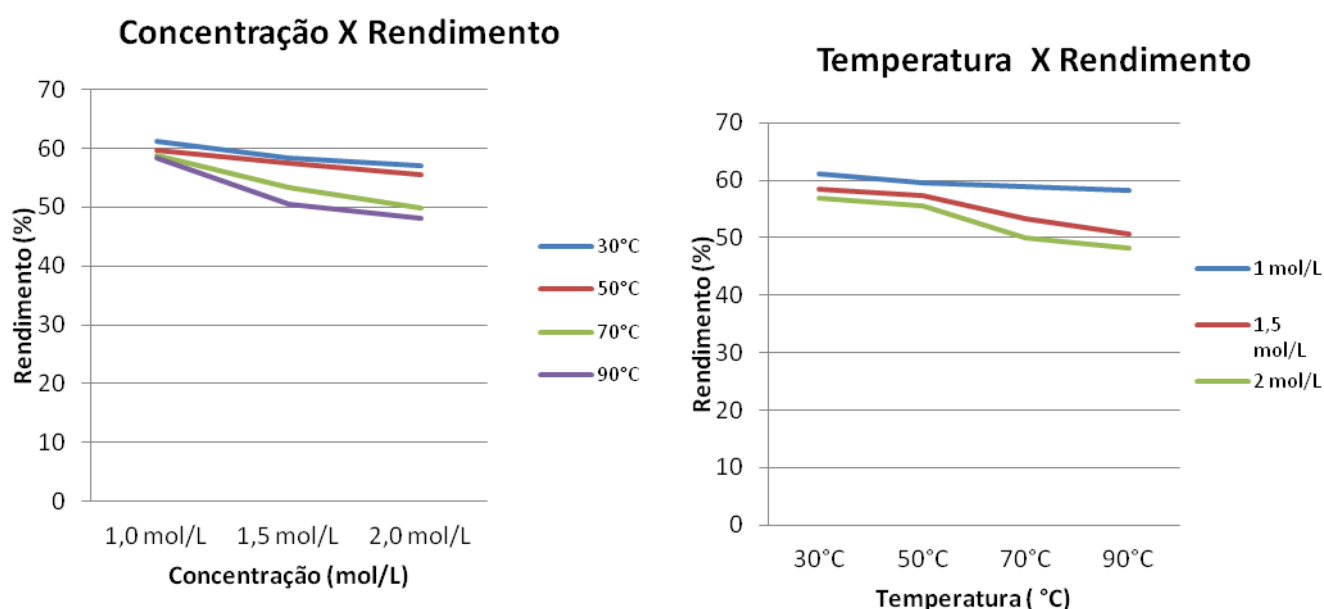


Figura 10. Influência da temperatura e concentração no rendimento das fibras

Com relação aos resultados dos rendimentos (Figura 11), nota-se que ocorreu maior perda de massa, no tratamento realizado com hidróxido de sódio mais concentrado e em temperatura mais elevada. O pré-tratamento onde houve maior redução de biomassa foi aquele realizado com NaOH na concentração de 2,0 mol/L e temperatura de 90°C.

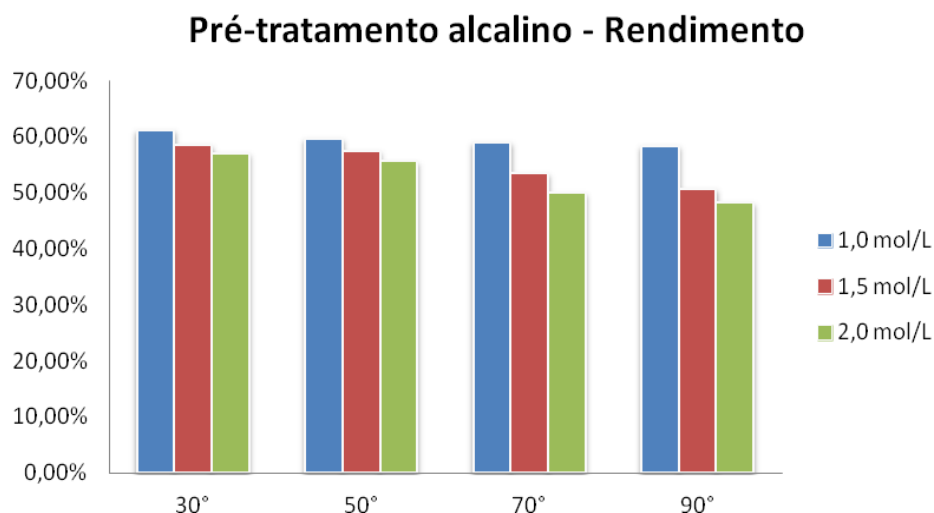


Figura 11. Pré - tratamento alcalino, rendimento das fibras

Com base nas análises químicas em que as amostras foram submetidas foi possível determinar a quantidade de xilanas e de lignina que foi perdida no pré- tratamento alcalino realizado com NaOH (Tabela 04).

Tabela 04 - Análise química das fibras pré-tratadas

Temperatura (°C)	Concentração (mol/L)	Rendimento Sólido (%)	Xilanas (%)	Perdas de xilanas (%)	Lignina (%)	Perdas de lignina(%)
30	1,0	61,1	11,2	50,4	16,5	29,0
30	1,5	58,4	11,1	53,0	17,2	29,5
30	2,0	57,0	10,4	57,0	17,8	28,9
50	1,0	59,6	11,3	51,1	17,0	28,9
50	1,5	57,4	11,1	54,0	17,6	29,1
50	2,0	55,5	10,6	57,5	7,4	30,2
70	1,0	58,9	10,5	55,1	16,1	31,3
70	1,5	53,4	10,9	57,9	17,7	31,6
70	2,0	49,9	10,7	61,2	18,9	31,4
90	1,0	58,3	9,0	62,0	15,4	35,0
90	1,5	50,6	9,4	65,4	17,4	36,4
90	2,0	48,1	9,2	67,8	17,6	38,7

Comparando os resultados dos rendimentos e os resultados da análise química das fibras pré-tratadas nota-se que ocorreu maior perda de massa no pré-tratamento realizado com hidróxido de sódio mais concentrado e na temperatura mais elevada (Figura 12).

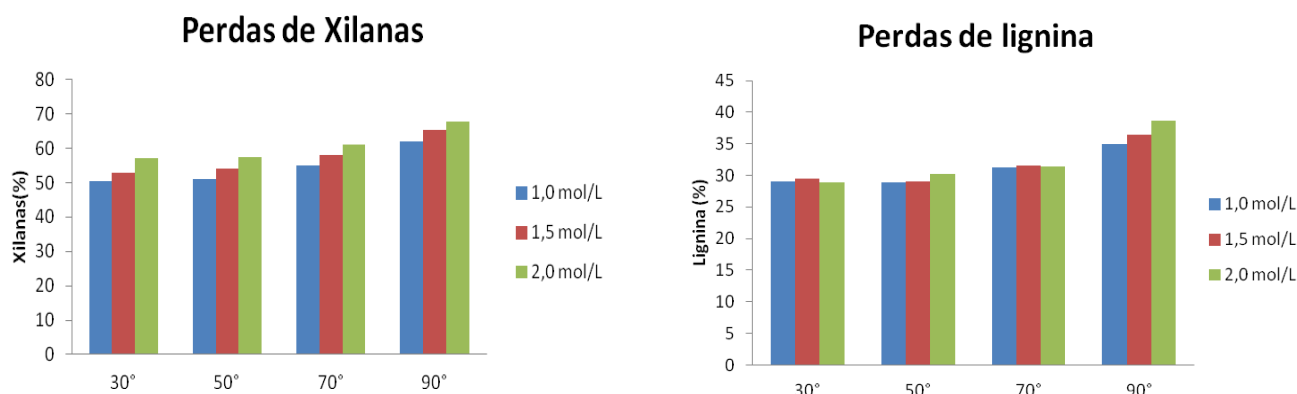


Figura 12. Perdas de xilanas e lignina – Pré-tratamento alcalino

Ocorreu maior remoção de hemiceluloses e de lignina nos tratamentos com NaOH na concentração de 2,0 mol/L e na temperatura de 90°. Ocorreu perda de 67,8% de xilanas e de 38,7% de lignina.

A Figura 13 compara os rendimentos das fibras obtidos após o pré- tratamento ácido e alcalino. Dentre os tratamentos utilizados, os pré – tratamentos alcalinos são mais efetivos do que os tratamentos ácidos. O rendimento médio foi de 55% após o tratamento alcalino e de 60% após o tratamento ácido. Ocorreu maior perda de massa nos pré-tratamentos alcalinos, portanto maior remoção dos constituintes químicos.

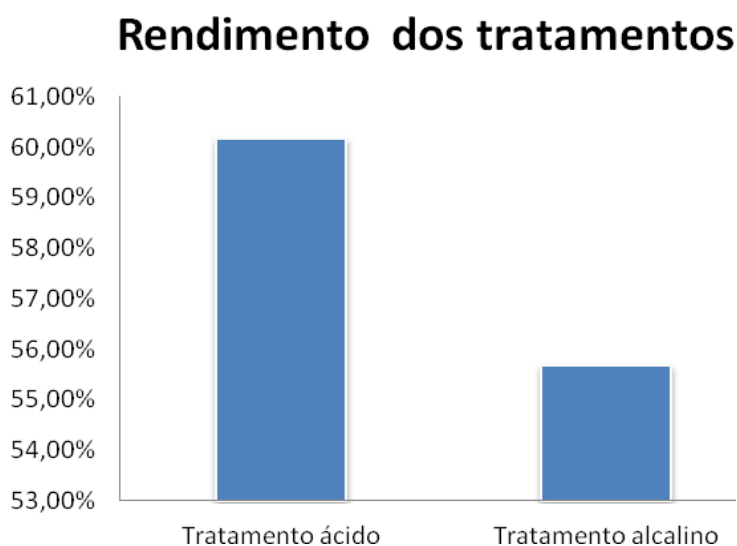


Figura 13. Comparação dos rendimentos no tratamento ácido e alcalino

CONCLUSÃO

A fibra de sisal é uma biomassa lignocelulósica interessante para a obtenção do etanol de segunda geração , pois apresentam alto teor de celulose, bons teores de hemiceluloses e baixos teores de lignina.

O passo crucial para a obtenção de etanol de segunda geração é a determinação das melhores condições de pré-tratamentos, para tornar a fibra mais acessível para a produção do bioetanol.

Dentre as condições de pré-tratamento realizadas, o tratamento alcalino mais efetivo foi aquele realizado com NaOH na concentração de 2,0 mol/L e temperatura de 90°C. E o tratamento ácido mais efetivo foi aquele realizado com H₂SO₄ na concentração de 2% em 60 minutos. Dentre os tratamentos químicos, o pré – tratamento alcalino teve uma maior eficácia, tendo maior remoção dos constituintes químicos.

Com base nos resultados dessa pesquisa, os pré-tratamentos ácidos e alcalinos apresentaram resultados satisfatórios, tendo uma eficiente remoção das hemiceluloses e lignina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVIRA, P. et al. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 13, p. 4851-4861, 2010.

BALAT, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. *Energy Conversion And Mangement*, Trabzon, p.858-875, 2010.

BRODEUR, G. et al. Chemical and Physicochemical Pretreatment: A Review. *Enzyme Research*, Tallahassee, p. 1-17, 2011.

BLEDZKI, A.K.; GASSAN, J. Composites reinforced with cellulose-based fibres. *Prog. Polym. Sci*, v. 24, p. 221-274, 1999.

CONAB. Sisal 2015 : Retrospectiva. Conjuntura especial. Disponível em www.conab.gov.br . Acesso em 15 de junho de 2016.

GEORGOPOULOS, S. T. et al. Thermoplastic polymers reinforced with fibrous agricultural residues. *Polym. Degrad. Stab.*, 90, 303-312, 2005.

GOLDSCHIMID, O. Ultravioleta spectra. In: K. Sarkanem, K.; Ludwing, C. H. *Lignins: occurrence, formation, structure and reactions*. New York:John Wiley & Sons, p. 241-298, 1971.

GOMIDE, J. L.; DEMUNER, B. J. Determinação do teor de lignina na madeira: método Klason modificado. *O papel*, v.47, n.8, p. 36- 38, 1986.

KARR, W. E. et al. The complete analysis of wood polysaccharides using HPLC. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, v. 11, n.4, p.447-463, 1991.

JUDD, W. S. et al. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. 3. ed. Massachusetts: Sinauer Associates Inc., 2007. 565 p.

MARQUES, G. et al. Acetylated heteroxylan from *Agave sisalana* and its behavior in alkaline pulping and TCF/ECF bleaching. *Carbohydrate Polymers*, 81, 517-523, 2010.

- MARTIN, A.R. et al. Caracterização Química e Estrutural de Fibra de Sisal da Variedade Agave sisalana. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 19, n.1, p. 40-46, 2009.
- MEDINA, J. C. *Plantas fibrosas da flora mundial*. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 1959, 913 p.
- MOSIER, N. et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, v.96, n.6, p. 673- 686, 2005.
- PEREIRA Jr. N. et al. Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and the context of biorefinery. In *Series on Biotechnology*. Rio de Janeiro: Amiga Digital UFRJ, v.2, p. 45, 2008.
- PITARELO, A.P. et al. Efeito do teor de umidade sobre o pré-tratamento a vapor e a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar, *Química Nova*, Curitiba, p. 1-8, 2012.
- RABELO, S.C. Avaliação e otimização de pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração. Campinas, São Paulo, 2010.
- SANTOS et al. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. *Quim. Nova*, v.35, n. 4, p. 1004-1010, 2012.
- SILVA, N; L.C. Produção de bioetanol de segunda geração a partir de biomassa residual da indústria de celulose. 109 fls. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.
- SILVÉRIO, F. O. et al. Metodologia de extração e determinação do teor de extrativos em madeiras de eucalipto. *Revista Árvore*, v.30, n.6, p. 1009-1016, 2006.
- TAHERZADEH, M.; KARIMI, K. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 9, n.9, p. 1621-1651, 2008.
- TAO, L. et al. Process and techno-economic analysis of leading pretreatment Technologies for lignocellulosic ethanol production using switchgrass. *Bioresource Technology*, v.102, n.24, p. 11105-11114, 2011.

ANEXO

Tabela 05. Rendimento das fibras de sisal após o pré-tratamento ácido

<i>Tratamentos com H₂SO₄</i>	<i>Massa inicial</i>	<i>Massa final*</i>	<i>Rendimento</i>
10 min C 0,5%	5g	3,32g	66,4%
10 min C 1,0%	5g	3,48g	69,6%
10 min C 2,0%	5g	3,42g	68,4%
20 min C 0,5%	5g	3,86g	77,2%
20 min C 1,0%	5g	2,49g	49,4%
20 min C 2,0%	5g	3,24g	64,8%
40 min C 0,5%	5g	3,17g	63,4%
40 min C 1,0%	5g	2,94g	58,8%
40 min C 2,0%	5g	2,42g	48,4%
60 min C 0,5%	5g	3,20g	64%
60 min C 1,0%	5g	2,33g	46,6%
60 min C 2,0%	5g	2,26g	45,2%

*Teor absolutamente seco

Tabela 06. Rendimento das fibras de sisal após o pré-tratamento alcalino

<i>Tratamentos com NaOH</i>	<i>Massa inicial</i>	<i>Massa final*</i>	<i>Rendimento</i>
T30° C1,0 mol/L	20g	12,22g	61,1%
T30° C1,5 mol/L	20g	11,67g	58,4%
T30° C2,0 mol/L	20g	11,42g	57,0%
T50° C1,0 mol/L	20g	11,92g	59,6%
T50° C1,5 mol/L	20g	11,48g	57,4%
T50° C2,0 mol/L	20g	11,10g	55,5%
T70° C1,0 mol/L	20g	11,79g	58,9%
T70° C1,5 mol/L	20g	10,68g	53,4%
T70° C2,0 mol/L	20g	9,98g	49,9%
T90° C1,0 mol/L	20g	11,66g	58,3%
T90° C1,5 mol/L	20g	10,12g	50,6%
T90° C2,0 mol/L	20g	9,63g	48,1%

*Teor absolutamente seco