UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

RAFAEL GARCIA CANDIDO

Utilização da celulose de resíduos lignocelulósicos para obtenção de
produtos de alto valor agregado

Lorena
2011

RAFAEL GARCIA CANDIDO

Utilização da celulose de resíduos lignocelulósicos para obtenção de produtos de alto valor agregado

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na área de Conversão de Biomassa.

Orientador: Dr. Adilson Roberto Gonçalves

Lorena
2011

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na Publicação
Biblioteca “Cel. Luiz Sylvio Teixeira Leite”
Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo

Candido, Rafael Garcia

Utilização da celulose de resíduos lignocelulósicos para obtenção de produtos de alto valor agregado. / Rafael Garcia Candido. – 2011.

140 p. : il.

Dissertação (Mestre em Ciências – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Conversão de Biomassa) – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo.

Orientador: Adilson Roberto Gonçalves.

1. Celulose 2. Derivados de celulose 3. Hidrólise enzimática. I. Título

547.458.8 - CDU

*Dedico essa dissertação aos meus pais,
Miguel e Eva, por todo o apoio e
incentivo ao longo de todos esses anos.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que sempre me fez ter forças para enfrentar cada desafio que por ventura apareceu em meu caminho.

Aos meus pais, Miguel e Eva e à minha irmã Ana Carolina por todos os esforços realizados para que eu pudesse concluir meu trabalho.

Ao meu orientador, Dr. Adilson Roberto Gonçalves, primeiramente pela oportunidade me dada há cinco anos na iniciação científica, e por acreditar e confiar que eu fosse capaz de desenvolver, continuar e concluir minhas atividades, agora no mestrado.

Ao Prof. Dr. George Jackson de Moraes Rocha, pelo grande auxílio no desenvolvimento desse trabalho.

À Dra. Maria de Lourdes Ballinas da UACH e ao Dr. Guillermo Gonzalez do CIMAV pela generosa hospitalidade em Chihuahua-México e pelas fundamentais sugestões para que o trabalho pudesse ser concluído com sucesso.

À Prof. Dra. Mara Zeni Andrade pelo estágio no Grupo de Polímeros da Universidade de Caxias do Sul pela importante colaboração e ensinamentos na área de membranas.

Aos técnicos do GCBM, Cibele, José Carlos e Jussara pela amizade e grande apoio nas análises necessárias ao cumprimento do projeto.

Aos meus companheiros de laboratório, Naila, Patrícia, Bruno, Fernanda, Carol, Fernando, Vinícius, Alessandra, Andréa, Neto, Tomaz, Luís, Marcelo, Sáskia, Karine, Luana e Érika pela divertido convívio e grande companheirismo.

Em especial a duas pessoas que me acompanham desde o primeiro dia de aula na graduação, Priscila, que já considero uma irmã, e Simone, minha companheira de aventuras. Obrigado por me permitir fazer parte das suas vidas.

Ao Anderson, César, Caio e Eduardo pela paciência e convivência durante esses anos. E Cora, onde você estiver, saiba que estará sempre nas minhas melhores lembranças.

Aos amigos que fiz no México, Nadia, Norma, Cristoban, Duvas, Luis, Roberto, Selene, Brenda, Susana, Vicky e Faby por tornar essa experiência muito prazerosa e agradável. E aos que fiz em Caxias, Patricia, Tiago, Matias, Kelvin, Jalma, Monica, e Joci, que me receberam de uma maneira muito especial e me ensinaram tudo sobre membranas.

Ao CNPq pela bolsa e pelo auxílio financeiro das viagens realizadas.

RESUMO

CANDIDO, R. G. **Utilização da celulose de resíduos lignocelulósicos para obtenção de produtos de alto valor agregado**. 2011. 140 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP, 2011.

Como consequência do aumento da produção de cana nos últimos anos, ocorreu o aumento da quantidade de resíduos agroindustriais gerados a partir deste processo, sendo os principais a palha e o bagaço da cana-de-açúcar. O potencial de produção desses resíduos representa em média 14% da massa da cana processada. A celulose é o principal constituinte desses materiais e pode dar origem a outros materiais por meio de reações de derivatização. Entre os derivados de celulose mais importantes, estão os éteres e os ésteres de celulose. A celulose também pode ser fragmentada, a fim de se utilizar seu monômero formador, a glicose. O presente trabalho teve como objetivo extrair a celulose da palha e do bagaço de cana para utilizá-la na produção de dois derivados, o acetato de celulose e a carboximetilcelulose, além de fragmentá-la a glicose, visando a estudar a hidrólise enzimática necessária para produção de etanol celulósico. Para isso, foram testadas duas vias de obtenção da celulose, uma via denominada ácida e outra, denominada alcalina. Ao término de cada etapa das vias, os materiais produzidos foram caracterizados quimicamente com a finalidade de se elucidar o que acontecia em cada etapa. Ao final dos dois processos, o material obtido foi submetido às reações de acetilação e de carboximetilação. Os derivados de celulose foram caracterizados quanto aos seus graus de substituição e por FTIR. Com o acetato de celulose, foram produzidas membranas através de dois métodos distintos, a evaporação de solvente e a inversão de fases. Essas membranas foram caracterizadas fisicamente por MEV, DMA e teste de permeabilidade. Elas também foram testadas quanto à remoção de íons cobre em solução em estado estacionário. Todos os materiais obtidos nas duas vias testadas foram hidrolisados enzimaticamente utilizando-se as enzimas Celluclast 1.5L e β -glicosidase. Em todas as vias estudadas e para os dois materiais analisados, foram obtidos como produtos finais, materiais com alto teor de celulose (em torno de 90%) e baixo de teor de lignina (menor que 4%), sendo a via alcalina considerada a de melhor desempenho, pois ocorreu menor perda de celulose nessa via do que na via ácida. Foram produzidos acetatos de celulose com grau de substituição 3, ou seja, triacetatos, ideais para a produção de membranas. Contudo, a presença da lignina, mesmo em pequena quantidade, não permitiu que fossem produzidas membranas com alta resistência mecânica. Em geral as membranas foram capazes de remover cerca de 15,0% dos íons cobres em uma solução aquosa. Dos dois métodos estudados, o de inversão de fases foi o que produziu as melhores membranas. Quanto à carboximetilcelulose, foram produzidas CMCs de diferentes características e mais uma vez a lignina interferiu no processo, quanto mais lignina possuía o material antes da produção de CMC, menor foi o grau de substituição obtido. Nas reações de hidrólise enzimática, quanto mais puro era o material em relação ao teor de celulose, maior foi a concentração de glicose no hidrolisado, sendo alcançadas concentrações em torno de 85,00%.

Palavras-chave: Celulose. Derivados de Celulose. Hidrólise Enzimática.

ABSTRACT

CANDIDO, R.G. **Utilization of cellulose from lignocellulosic residues for obtaining of products with high added value.** 2011. 140 p. Dissertation (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP, 2011.

As a consequence of sugarcane increased production in recent years, there was an increased of residues generation from this process, being the straw and bagasse the main ones. The production potential of these wastes represents around 14% of the processed sugarcane mass. Cellulose is the main constituent of these materials and may give rise to other materials by derivatization reactions. Among the most important derivatives of cellulose, are ethers and esters of cellulose. Cellulose can also be fragmented in order to use its monomer, the glucose. The present work aims at extracting the cellulose from sugarcane straw and bagasse to use it in the production of two derivatives, cellulose acetate and carboxymethylcellulose and to fragment it into glucose for studying the enzymatic hydrolysis, which is a required step for ethanol cellulosic production. For this, it was tested two pathways of cellulose obtaining, the acid route and the alkaline route. At the end of each stage of the process, the materials were characterized chemically in order to elucidate what occurred in each step. After finishing both processes, the material was subjected to reactions of acetylation and carboxymethylation. The cellulose derivatives were characterized physically for its degree of substitution and for FTIR. The cellulose acetate was utilized to produce membranes through two different methods, the solvent evaporation and the phase inversion. The membranes were characterized for MEV, DMA and permeability test. They were also tested for copper ions removal. All materials produced at both pathways were hydrolyzed enzymatically for the enzymes Celluclast 1.5L and β -glucosidase. In all cases, the final material presented high level of cellulose (about 90,0%) and low level of lignin (low than 4,0%). The alkaline route can be considered the one which achieved the best results, since it was in this pathway that the lowest cellulose loss occurred. The cellulose acetates presented a degree of substitution 3, in other words, they are triacetates, ideal for membrane production. Nevertheless, the presence of lignin, even in low amount, did not allow producing membranes with high mechanic resistance. In general, the membranes were able to remove about 15,0% of copper ions in a aqueous solution. Between the methods carried out, the phase inversion was the one which produced membranes with the best properties. In relation to carboxymethylcellulose, it was obtained CMCs with different characteristics and, once more, the lignin interfered in the process. The more lignin content before CMC production, the less degree of substitution obtained. In the reactions of enzymatic hydrolysis, the highest cellulose purity proportioned the highest glucose concentrations in the hydrolysates, and it was reached conversion values around 85,00%.

Word-keys: Cellulose. Cellulose Derivates. Enzymatic Hydrolysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Principais países produtores de cana-de-açúcar em 2008	22
Figura 2	Representação esquemática de uma xilana de gramínea mostrando alguns grupos substituintes	24
Figura 3	Unidades fenilpropano precursoras da lignina	25
Figura 4	Representação esquemática do processo de separação por membranas	29
Figura 5	Ilustração esquemática dos processos de produção de etanol a partir de biomassa vegetal	33
Figura 6	Modo de ação das celulasas e um sistema enzimático cooperativo na degradação da celulose	36
Figura 7	Mecanismo de hidrólise ácida de ligações glicosídicas	38
Figura 8	Sítios reativos em unidades fenilpropânicas	38
Figura 9	Reações de condensação da lignina com ácidos minerais concentrados	39
Figura 10	Mecanismo de degradação da lignina em meio alcalino com eliminação no carbono alfa	40
Figura 11	Mecanismo de degradação da lignina em meio alcalino com eliminação no carbono gama	40
Figura 12	Mecanismo da reação de peeling primário	42
Figura 13	Enzimas xilanolíticas envolvidas na degradação da xilana	44
Figura 14	Hipóteses propostas para a ação da xilanase como auxiliar no branqueamento de polpas químicas	47
Figura 15	Fluxograma da via biotecnológica ácida	51
Figura 16	Fluxograma da via biotecnológica alcalina	52
Figura 17	Fluxograma da via controle ácida	53
Figura 18	Fluxograma da via controle alcalina	53
Figura 19	Câmara de umidade relativa controlada	57

Figura 20	Gráfico do perfil de perdas de cada componente em cada etapa da via ácida	76
Figura 21	Gráfico do perfil de perdas de cada componente em cada etapa da via alcalina	76
Figura 22	Gráfico do perfil de perdas de cada componente em cada etapa da via ácida	79
Figura 23	Gráfico do perfil de perdas de cada componente em cada etapa da via alcalina	80
Figura 24	Gráficos dos números kappa para cada estágio em cada via estudada	81
Figura 25	Gráficos da relação % de lignina x número kappa	83
Figura 26	Gráficos das viscosidades para cada estágio em cada via estudada	85
Figura 27	Espectros de infravermelho dos quatro materiais obtidos nas vias estudadas	87
Figura 28	Espectro de FTIR do material obtido a partir do bagaço pela via ácida antes (BAXEQH) e após (BAE) o processo de acetilação	88
Figura 29	Espectro de FTIR do material obtido a partir do bagaço pela via alcalina antes (BBXEQH) e após (BBE) o processo de acetilação	88
Figura 30	Espectro de FTIR do material obtido a partir da palha pela via ácida antes (PAXEQH) e após (PAE) o processo de acetilação	89
Figura 31	Espectro de FTIR do material obtido a partir da palha pela via alcalina antes (PBXEQH) e após (PBE) o processo de acetilação	89
Figura 32	Representação da reação de saponificação do acetato de celulose	92
Figura 33	Microscopias eletrônicas das membranas obtidas a partir do bagaço de cana pelo método de evaporação do solvente	93

Figura 34	Microscopias eletrônicas das membranas obtidas a partir da palha de cana pelo método de evaporação do solvente	94
Figura 35	Microscopias eletrônicas das membranas obtidas a partir do bagaço de cana pelo método de inversão de fases	95
Figura 36	Microscopias eletrônicas das membranas obtidas a partir da palha de cana pelo método de evaporação do solvente	96
Figura 37	Gráfico do perfil obtido pela membrana BA na análise de DMA	98
Figura 38	Gráfico do perfil obtido pela membrana BA no teste de permeabilidade	99
Figura 39	Gráfico do perfil obtido pela membrana BB no teste de permeabilidade	99
Figura 40	Gráfico da relação entre o grau de substituição das CMCs e o teor de lignina existente nos materiais antes da carboximetilação	102
Figura 41	Espectro de FTIR do material obtido a partir do bagaço pela via ácida antes (celulose) e após (CMC) o processo de carboximetilação	103
Figura 42	Espectro de FTIR do material obtido a partir do bagaço pela via alcalina antes (celulose) e após (CMC) o processo de carboximetilação	104
Figura 43	Espectro de FTIR do material obtido a partir da palha pela via ácida antes (celulose) e após (CMC) o processo de carboximetilação	104
Figura 44	Espectro de FTIR do material obtido a partir da palha pela via alcalina antes (celulose) e após (CMC) o processo de carboximetilação	105
Figura 45	Gráficos da relação entre a perda de lignina e a conversão enzimática	113
Figura 46	Gráficos da relação entre a perda de hemicelulose e a conversão enzimática	115

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características dos Processos de Separação por Membranas	30
Tabela 2	Composição dos materiais obtidos no tratamento do bagaço pela via ácida	67
Tabela 3	Composição dos materiais obtidos no tratamento do bagaço pela via alcalina	68
Tabela 4	Composição dos materiais obtidos no tratamento da palha pela via ácida	70
Tabela 5	Composição dos materiais obtidos no tratamento da palha pela via alcalina	70
Tabela 6	Composição dos materiais obtidos no tratamento do bagaço pela via ácida controle	71
Tabela 7	Composição dos materiais obtidos no tratamento do bagaço pela via alcalina controle	71
Tabela 8	Composição dos materiais obtidos no tratamento da palha pela via ácida controle	71
Tabela 9	Composição dos materiais obtidos no tratamento da palha pela via alcalina controle	72
Tabela 10	Perda percentual dos componentes dos materiais obtidos no tratamento do bagaço pela via ácida	73
Tabela 11	Perda percentual dos componentes dos materiais obtidos no tratamento do bagaço pela via alcalina	74
Tabela 12	Perda percentual dos componentes dos materiais obtidos no tratamento da palha pela via ácida	77
Tabela 13	Perda percentual dos componentes dos materiais obtidos no tratamento da palha pela via alcalina	78
Tabela 14	Atribuições das principais bandas no FTIR do acetato de celulose	91
Tabela 15	Grau de substituição dos materiais acetilados	92
Tabela 16	Valores dos parâmetros obtidos na análise de DMA das membranas obtidas pelo método de evaporação de solvente	96

Tabela 17	Resultados do teste remoção de cobre em estado estacionário para as membranas obtidas pelo método de evaporação do solvente	101
Tabela 18	Resultados do teste remoção de cobre em estado estacionário para as membranas obtidas pelo método de inversão de fases	101
Tabela 19	Grau de substituição das CMCs obtidas	101
Tabela 20	Porcentagem de CMC nas amostras obtidas	106
Tabela 21	Conversão enzimática de celulose na rota ácida para o bagaço de cana	107
Tabela 22	Conversão enzimática de celulose na rota básica para o bagaço de cana	108
Tabela 23	Conversão enzimática de celulose na rota ácida para a palha de cana	110
Tabela 24	Conversão enzimática de celulose na rota básica para a palha de cana	111
Tabela 25	Dados conversão global da hidrólise enzimática	117

SUMÁRIO

1 Introdução	19
2 Revisão Bibliográfica	21
2.1 Cana-de-açúcar	21
2.2 Bagaço e palha de cana-de-açúcar	22
2.3 Constituição dos materiais lignocelulósicos	23
2.4 Hemiceluloses	24
2.5 Lignina	25
2.6 Cinzas e extrativos	25
2.7 Celulose	26
2.8 Acetato de celulose e membranas.....	27
2.9 Carboximetilcelulose	31
2.10 Etanol celulósico	32
2.11 Separação dos componentes dos materiais lignocelulósicos	37
2.12 Tratamento ácido	37
2.13 Tratamento alcalino	39
2.14 Branqueamento	42
2.14.1 Branqueamento químico	42
2.14.2 Branqueamento enzimático	43
2.15 Utilização de celulose obtida a partir de resíduos agrícolas	48
3 Objetivos	49
3.1 Geral	49
3.2 Específicos.....	49
4 Materiais e métodos	50
4.1 Tratamento com H ₂ SO ₄ (A)	54
4.2 Tratamento com NaOH (B)	54
4.3 Atividade enzimática da xilanase	54
4.4 Tratamento com xilanase (X)	54
4.5 Extração alcalina (E).....	55
4.6 Quelação (Q).....	55
4.7 Branqueamento com peróxido de hidrogênio (H).....	55

4.8 Obtenção de triacetato de celulose (TAC).....	55
4.9 Determinação do grau de substituição do TAC.....	56
4.10 Síntese de membranas	56
4.11 Teste de remoção de cobre em estado estacionário.....	57
4.12 Obtenção de CMC	58
4.13 Determinação do grau de substituição da CMC.....	58
4.14 Determinação da porcentagem de CMC.....	59
4.15 Atividade enzimática celulolítica total (FPase).....	59
4.16 Atividade enzimática da β -glicosidase.....	59
4.17 Hidrólise enzimática.....	60
4.18 Caracterização química	61
4.19 Determinação de carboidratos e ácidos orgânicos por CLAE.....	61
4.20 Determinação de lignina insolúvel em meio ácido.....	62
4.21 Determinação do teor de cinzas da lignina.....	62
4.22 Determinação de lignina solúvel	62
4.23 Determinação de furfural e hidroximetilfurfural.....	63
4.24 Determinação do Número Kappa.....	63
4.25 Viscosidade.....	65
4.26 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	66
4.27 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	66
4.28 Análise dinâmico-mecânica (DMA).....	66
5 Resultados e Discussão.....	67
5.1 Obtenção de celulose.....	67
5.2 Acetato de celulose	87
5.2.1 Caracterização do acetato de celulose	87
5.2.2 Determinação do grau de substituição.....	91
5.2.3 Membranas.....	92
5.2.3.1 MEV.....	92
5.2.3.2 DMA.....	96
5.2.3.3 Permeabilidade.....	98
5.2.3.4 Remoção de Cu^{2+}	100

5.3 Carboximetilcelulose	101
5.3.1 Grau de Substituição.....	101
5.3.2 Caracterização.....	103
5.4 Hidrólise Enzimática.....	106
6 Conclusões.....	118
Sugestões para trabalhos futuros.....	119
Referências.....	120

1. INTRODUÇÃO

A utilização da biomassa vegetal como fonte de matéria-prima para a produção de novos materiais vem despertando grande interesse devido a sua abundância e pelo fato de existirem muitas reservas renováveis. Os resíduos lignocelulósicos provenientes da exploração florestal e agrícola constituem a biomassa mais abundante disponível na Terra e o desenvolvimento de um processo eficiente e economicamente viável, com o intuito de converter essa biomassa em produtos de alto valor comercial, pode proporcionar substanciais benefícios econômicos, ambientais e sociais (MORAIS E CAMPANA FILHO, 1999). A transformação da biomassa requer processos de pré-tratamento e consequente separação dos seus constituintes. Os processos ideais de tratamento da biomassa devem não somente romper a estrutura celular da planta, mas também utilizar produtos químicos de baixo custo, equipamentos simples e não causar impacto ambiental.

Ao produzir álcool e açúcar, o processamento da cana gera vários resíduos agrícolas, como a palha, o bagaço, a torta de filtro, a vinhaça e águas residuárias, sendo a palha e o bagaço considerados os principais dentre eles. E o que fazer com esses resíduos vem sendo objeto de muitos estudos e experiências em um setor que, nos últimos anos, destacou-se pela capacidade de transformar restos em subprodutos valorizados, como a energia elétrica.

A celulose é o principal componente dos materiais lignocelulósicos, sendo o polímero orgânico mais comum, representa cerca de $1,5 \times 10^{12}$ toneladas da produção total de biomassa por ano e é considerada uma fonte de matéria prima quase inesgotável, no aumento da demanda por produtos seguros e biocompatíveis (KLEMM et al., 2005), apresenta elevada massa molecular, considerável grau de cristalinidade, insolubilidade em água e estrutura rígida, a qual pode ser modificada através da introdução de grupos funcionais na sua cadeia, por meio de reações de derivatização (SIMON, 1998).

Dentre os derivados de celulose mais importantes, encontra-se o acetato de celulose, um éster orgânico muito aplicado na produção de filmes, plásticos e membranas. As membranas de acetato de celulose são utilizadas em diversos processos de separação, como a ultrafiltração e a osmose reversa. Características como alta seletividade, alto fluxo, boa resistência mecânica, vida útil longa e baixo custo são essenciais para a escolha de uma membrana para um dado processo (MEIRELES, 2007).

Outro derivado celulósico muito utilizado é a carboximetilcelulose (CMC). É um derivado do tipo éter, preparado em duas etapas, a primeira utilizando uma base e a segunda um ácido sob condições controladas, solúvel em água (JUSTE;MEJEWICZ, 1985; NICHOLSON;MERRITT, 1985). Ela é muito utilizada industrialmente em vários produtos como detergente, alimentos, emulsões, cerâmicas, cosméticos e farmacêuticos (HADER;WALDECK;SMITH, 1954). É usualmente vendida sob forma de sal de sódio, uma vez que sua forma ácida tem pequena solubilidade em água (CARASCHI, 1997).

A palha e o bagaço de cana também vêm sendo estudados como fonte de açúcares fermentescíveis para a produção de etanol (MARTÍN;KLINKE ;THOMSEN, 2007) e muitas pesquisas estão sendo realizadas para melhorar a digestibilidade química e enzimática da biomassa lignocelulósica para a eficiente conversão da celulose em etanol. Dentre estas tecnologias pode-se destacar a busca de pré-tratamentos de baixo custo, o desenvolvimento de enzimas mais eficientes na hidrólise dos polissacarídeos e a busca por microrganismos capazes de fermentar pentoses e hexoses com maior eficiência (GRAY;ZHAO;EMPTAGE, 2006).

Um dos grandes desafios para a obtenção de celulose a partir de materiais lignocelulósicos é o fracionamento dos componentes químicos que compõem a estrutura da biomassa vegetal para que a celulose não seja degradada durante este fracionamento.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar, *Saccharum officinarum*, é uma gramínea proveniente da Ásia muito cultivada em regiões tropicais e subtropicais. Desde sua origem até os dias atuais ela vem passando por modificações, criando vários híbridos, as quais diferem entre si, principalmente, quanto ao conteúdo de fibras e açúcares. Pertence à família *Poaceae*, a família botânica mais importante para economias humanas pois reúne também cereais como o arroz, o trigo, a cevada, o milho, entre outros. Na agricultura a cana-de-açúcar ocupa lugar de destaque, estando entre as espécies vegetais mais cultivadas no mundo, alcançando mais de 80 países. Seu plantio continua crescendo, principalmente, em virtude do aumento do consumo como fonte de açúcar, etanol e energia elétrica (TEIXEIRA, 2006). Estruturalmente, a cana consiste de vários tipos de tecidos, tais como o córtex (ou casca), tecido parenquimatoso e hastes fibrovasculares. O córtex é composto de fibras muito lignificadas, sendo caracterizado pela espessura da parede celular, comprimento e rigidez de suas fibras. Este tecido confere proteção contra efeitos mecânicos externos servindo de suporte para a planta. A parte inferior do talo é constituída por um tecido parenquimatoso (medula) de caráter não fibroso o qual possui como principal função o armazenamento do suco adocicado produzido pela planta. Imerso dentro deste tecido encontram-se as hastes fibrovasculares, compostas de fibras curtas e vasos que atuam na sustentação e condução dos alimentos e outros produtos ao longo da planta (PATURAU, 1989; GOMEZ et al., 1997)

A monocultura da cana foi difundida no Brasil ainda no início do período colonial. O clima tropical e o solo propício contribuíram para o país tornar-se o maior produtor de açúcar durante o século XVI e início do século XVII (SANTIAGO et al., 2006). Atualmente o Estado de São Paulo é o principal produtor de cana-de-açúcar no Brasil. Na safra 2008/09, a produção do Estado alcançou 346,3 milhões de ton de cana-de-açúcar, o que representou 60,8% da produção total do Brasil (569 milhões de ton) e 68,5% da produção da região Centro-Sul (UNICA, 2010).

O Brasil encontra-se mundialmente em uma situação bastante favorável quanto à produção da cana-de-açúcar (figura 1), sendo que a previsão para a safra 2010/2011 é que sejam colhidas 595,89 milhões de toneladas (UNICA, 2010).

Figura 1: Principais países produtores de cana-de-açúcar em 2008 (BIOETANOL, 2008).

2.2 Bagaço e palha de cana-de-açúcar

Como consequência do aumento da produção de cana nos últimos anos, ocorreu o aumento da quantidade de resíduos agroindustriais gerados a partir deste processo, sendo os principais a palha e o bagaço da cana-de-açúcar. O potencial de produção desses resíduos representa em média 14% da massa da cana (SEABRA, 2008). Dessa forma, para cada tonelada de cana (colmos) produzida têm-se a geração de 140 kg de bagaço e 140 kg de palha e segundo dados da safra 2008/2009 o Brasil está acumulando aproximadamente 130 milhões de toneladas de palha e de bagaço (UNICA, 2008).

A grande parte do bagaço gerado é aproveitada como fonte energética dentro da própria usina como combustível para a geração de vapor e energia elétrica, sendo que algumas já até possuem termoelétricas acopladas, gerando energia adicional para as concessionárias elétricas da região onde se situam. Mesmo com a existência do autoconsumo, ainda há excedentes. Assim, um grande volume de bagaço é acumulado nos pátios das usinas, gerando vários problemas, como a disposição do material e o risco de incêndio (IPT, 2006).

O bagaço é um resíduo rico em carboidrato sendo constituído por fibras e medula (porção central formada basicamente de células parenquimáticas, não lignificadas e de pouca resistência; na medula encontram-se os feixes vasculares) nas proporções de aproximadamente

65% e 35% respectivamente (TRIANA et al., 1990). Tem sido considerado como uma matéria-prima adequada para ser utilizada em processos tecnológicos para a obtenção de inúmeros produtos de valor econômico, como a polpa celulósica, polpa moída, furfural, álcool furfurílico, metanol, etanol, fertilizantes e ração animal (MATIOLI et al., 1998; MARTÍN et al., 2002; ANSELMO FILHO;BADR, 2004).

A palhada deixada na superfície do solo tem importância na melhoria da sua fertilidade, por meio do retorno dos nutrientes via processo de mineralização, controle de processos erosivos e maior retenção de água, além de propiciar aumento na microbiota do solo (BERTONCINI, 2008).

Porém, devido à grande quantidade de resíduo gerada, juntamente com o bagaço de cana, têm-se um desperdício de uma importante fonte lignocelulósica para a geração de energia elétrica, biocombustíveis e fabricação de produtos como bioplásticos, carvão para siderúrgicas e até cimento. Outro problema é a fuligem liberada ao meio ambiente durante a queima da palha da cana-de-açúcar no campo, na época da colheita e pousa no chão na forma de finos flocos escuros carregando em sua composição cerca de 70 produtos químicos, prejudiciais ao ambiente pela liberação de gases que contribuem para o efeito estufa e causam sérios problemas respiratórios para a população exposta.

O governo do Estado de São Paulo, pela lei nº 11.241 de 19 de setembro de 2002, dispõe que a eliminação da queima seja gradativa, de modo que em 2006 30% da queima sejam eliminadas e que até 2021 a eliminação da queima da palha seja de 100%, gerando uma maior quantidade de resíduo, o qual pode ser aproveitado na geração de bens de maior valor agregado (MCT, 2003).

2.3 Constituição dos materiais lignocelulósicos

A parede celular presente nas células vegetais é responsável por sustentar e definir a morfologia do espécime. No início do desenvolvimento dos vegetais superiores a parede celular é constituída apenas por uma camada denominada parede primária. Com o tempo, novas camadas denominadas paredes secundárias são formadas até o estágio de maturidade celular. Essas camadas são constituídas predominantemente de celulose, hemicelulose e lignina, estando também presentes terpenos, ácidos graxos, proteínas e outros constituintes,

denominados extrativos (GOLDSTEIN, 1981; FENGEL;WEGENER, 1989; RAVEN; EVERT; EICHCHORN, 2001).

2.4 Hemiceluloses

As hemiceluloses, também chamadas de polioses, são compostos amorfos, com estrutura ramificada e constituídos pela combinação de vários açúcares (pentoses, hexoses, ácidos hexurônicos e deoxiexoses). Apresentam-se na forma de polímeros ramificados podendo ser classificados como homopolímeros (por exemplo: xilana, formada por xilose) ou heteropolímeros (por exemplo: glicomanana, formada por glicose e manose). O teor de polioses em diferentes tipos de vegetais é bastante variável, com um valor médio de 20% (FENGEL;WEGENER, 1989). Uma representação esquemática de uma xilana típica de gramíneas se encontra na figura 2.

Figura 2: Representação esquemática de uma xilana de gramínea mostrando alguns grupos substituintes. Xyl = D-xilopiranose; Ara = L-arabinofuranose; (4-Me)-GlcA = ácido (4-O-metil)-D-glicopiranurônico; Ac = acetil; FA = ácido ferúlico; DDFA = ácido desidroferúlico (McDOUGALL, 1993).

2.5 Lignina

Depois da celulose, a lignina é a macromolécula orgânica mais importante e abundante dentre os materiais lignocelulósicos. A lignina aumenta a resistência mecânica das plantas, de tal forma que árvores de mais de cem metros podem manter-se em pé. É uma macromolécula amorfa, altamente complexa e ramificada tridimensionalmente, gerada a partir da polimerização desidrogenativa dos álcoois hidroxicinamílicos: p-cumarílico (I), coniferílico (II) e sinapílico (III) (figura 3). A lignina é constituída principalmente de unidades de fenilproprano associadas por ligações estáveis do tipo C-C, aril-éter e aril-aril (FENGEL;WEGENER, 1989).

Figura 3: Unidades fenilproprano precursoras da lignina (FENGEL;WEGENER, 1989).

A lignina atua como uma camada protetora das microfibrilas de celulose, agindo como uma cola e conferindo coesão ao conjunto de células.

2.6 Cinzas e extrativos

Junto aos componentes da parede celular existem numerosas substâncias que são chamadas de materiais acidentais ou estranhos dos materiais lignocelulósicos. Estes materiais são responsáveis muitas vezes por certas propriedades desses materiais, tais como: cheiro, cor, gosto. Também possuem um papel importante na proteção contra pragas e no metabolismo das plantas, mas não têm uma contribuição positiva aos processos de conversão de biomassa e sim um efeito inibitório. Estas substâncias pertencem a classes muito diferentes em termos de composição química e, portanto, há dificuldades em se encontrar um sistema claro e

compreensivo de classificação, sendo divididos de forma geral em material orgânico (extrativos) e inorgânico (cinzas) (FENGEL;WEGENER, 1989; KLOCK;MUÑIZ, 1998).

2.7 Celulose

A celulose é um dos mais importantes polímeros naturais existentes e é a maior constituinte das plantas, respondendo por aproximadamente 40% de toda reserva de carbono disponível na biosfera. É um polímero linear constituído por unidades de glicose, ligadas por uma ligação glicosídica do tipo $\beta(1,4)$, sendo a celobiose a unidade repetitiva do polímero. Cada unidade de glicose possui três hidroxilas livres, ligadas aos carbonos 2, 3 e 6. Devido à disponibilidade destes grupos hidroxilas, as macromoléculas de celulose tendem a formar ligações de hidrogênio intermoleculares (entre unidades de glicose de moléculas adjacentes) e intramoleculares (entre unidades de glicose da mesma molécula), as quais são extremamente importantes para suas características químicas e físicas (PORTUGUÊS, 2004). A estrutura da celulose está organizada em fibrilas, as quais são envoltas por uma matriz formada de lignina e hemiceluloses (SUN et al., 2004). A fibrila de celulose é parcialmente cristalina, com duas formas diferentes de cristal, a celulose I_α e a celulose I_β . A celulose I_α possui uma estrutura triclinica de uma cadeia e está presente em bactérias e algas, enquanto que a celulose I_β possui uma estrutura monoclinica de duas cadeias e é encontrada em plantas (ATALLA;VANDERHART, 1984). Celulose na forma não-cristalina, também denominada amorfa, está presente na fibrila, principalmente na parte mais externa da estrutura fibrilica (DUCHESNE et al., 2001).

As fibras de celulose, quando colocadas em contato com a água e certos solventes orgânicos, sofrem intumescimento. A extensão do intumescimento da celulose pode ser intercrystalino e intracrystalino. No primeiro caso o agente intumescedor penetra nas regiões nas regiões desordenadas (amorfais) da microfibrila de celulose e nos espaços entre elas, sendo o caso mais comum de intumescimento intercrystalino o inchamento da celulose em água. Enquanto no segundo caso, o agente intumescedor penetra nas regiões ordenadas (cristalinas) das microfibrilas. O intumescimento intracrystalino pode ser efetuado pelo uso de soluções concentradas de ácidos e bases fortes e de soluções de alguns sais (D'ALMEIDA, 1988).

É possível distinguir dois tipos de intumescimento intracrystalino: o limitado e o ilimitado. No primeiro caso, quando o agente intumescedor é um complexante forte e

possuidor de grupos volumosos (como por exemplo, a solução de etilenodiamina cúprica), as cadeias adjacentes de celulose são separadas de tal maneira que ocorre a dissolução da celulose. No segundo caso, o agente intumescedor combina-se com a celulose em determinadas proporções estequiométricas, provocando a expansão de seu retículo cristalino sem, no entanto, causar sua dissolução (SJÖSTRÖM, 1993).

Uma série de produtos pode ser obtida quando o grupo hidroxila reage com outro grupo. As propriedades químicas e físicas do produto final dependem do tipo do grupo substituinte (metil, acetil, etc), grau de substituição (o número relativo de grupos hidroxilas substituídos e livres) e a uniformidade do produto (o comprimento das moléculas de celulose e o grau de substituição) (LEWIN;GOLDSTEIN, 1991).

Durante a formação de qualquer derivado de celulose, as propriedades físicas e químicas são determinadas pelo grau de substituição (GS) e grau de polimerização (GP). O termo GS é usado para mostrar a extensão da reação e é definido como o número médio de grupos OH substituídos na unidade de anidroglicose. Como há apenas 3 posições possíveis para se inserir grupos substituintes em cada unidade de glicose pode-se então conseguir um GS máximo de três. Outro fator que afeta fortemente as propriedades físicas e químicas dos derivados de celulose é o comprimento médio da cadeia (GP). Isso pode ser controlado pela alta seleção do tipo de polpa de dissolução e pelo controle das condições de reação durante a formação dos derivados de celulose (HON, 1996).

Os mais importantes derivados de celulose são os ésteres e éteres com ampla faixa de aplicação (FENGEL;WEGENER, 1989).

2.8 Acetato de celulose e membranas

O acetato de celulose é um dos derivados de celulose de grande importância comercial, devido a sua larga aplicação em fibras, plásticos, filmes fotográficos, filtros para cigarros, dentre outros (EDGAR et al., 2001; STEINMEIR, 2004). O acetato é produzido pela substituição dos grupos hidroxilas das unidades de glicose por grupos acetila. Assim, é possível se obter materiais com diferentes graus de substituição (GS), o qual pode variar de zero (celulose pura), até três (triacetato de celulose).

Hoje em dia, o processo de produção comercial de acetatos de celulose mais difundido é o Processo Ácido Acético. Nesse processo, polpas de celulose são acetiladas em meio ao

ácido acético, sendo utilizado anidrido acético como agente acetilante e ácido sulfúrico como catalisador (STEINMEIR, 2004).

A celulose precursora do acetato de celulose comercial é geralmente obtida da madeira de pinho e do algodão, sendo que no Brasil o único fabricante do polímero acetilado é a Rhodia S.A. (Santo André – SP). A Rhodia utiliza como material de partida pastas de celulose da madeira que são importadas dos EUA e como forma de obtenção do material emprega o processo de acetilação conhecido como homogêneo (MEIRELES, 2007).

Dentre as aplicações para o acetato de celulose, na sua forma trissubstituída, está a produção de membranas que podem ser utilizadas em processos de separação como, por exemplo, osmose reversa, hemodiálise e liberação controlada de drogas (DEY;MISRA, 1999; WANG et al., 2002; ARTHANAREESWARAN et al., 2004; KHULBE et al., 2004; LIAO et al., 2005). No final da década de 60, os processos de separação por membranas (PSM) consolidaram-se como uma alternativa importante em nível industrial. Tornaram-se, técnicas de separação viáveis e seguras quando comparadas aos processos de separação tradicionais, como a destilação e evaporação. A principal característica que distingue estes processos de outras técnicas de separação é o uso de membranas seletivas em módulos compactos e em condições de baixo consumo de energia (HABERT;BORGES;NÓBREGA, 2006). Os PSM apresentam como principais atrativos, comparados aos processos convencionais de separação, o baixo consumo de energia, a redução do número de etapas em um processamento, maior eficiência na separação e alta qualidade do produto final.

As membranas são barreiras semipermeáveis, cuja seletividade à passagem do soluto está relacionada como o tamanho das moléculas e tamanho dos poros das mesmas (PAIVA, 2000).

Figura 4: Representação esquemática do processo de separação por membranas
(MULDER, 1996)

Para que ocorra o transporte de uma espécie química através de uma membrana é necessário que uma força motriz atue sobre a mesma, a qual pode ser um gradiente de concentração, de pressão ou elétrico como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Características dos Processos de Separação por Membranas

Processo	Força motriz	Material retido	Material permeado
Osmose inversa	Diferença de pressão (10-80 atm)	Solutos de baixa massa molecular (íons)	Água
Nanofiltração	Diferença de pressão (10-25 atm)	Solutos de baixa massa molecular (íons divalentes e microsolutos)	Água e sais monovalentes (Na^+ , K^+ , Cl^- , NO_3^-)
Ultrafiltração	Diferença de pressão (1-10 atm)	Macromoléculas (proteínas de PM 5-500 kDa)	Água e sais
Microfiltração	Diferença de pressão (até 2 atm)	Partículas > PM 500 kDa	Água e sólidos dissolvidos
Díálise	Diferença de concentração	Moléculas em suspensão (PM > 1 kDa)	íons e orgânicos de baixo PM
Eletrodíálise	Diferença de potencial elétrico	Não iônicos e macromoléculas	Íons
Permeação de gases	Diferença de pressão Diferença de concentração	Gás menos permeável	Gás mais permeável
Pervaporação	Diferença de concentração	Líquido menos permeável	Líquido mais permeável

Embora se conheçam alguns métodos para a preparação de membranas, o espalhamento da solução polimérica sobre um suporte adequado e a imersão em um banho de não-solvente é o mais comum para preparação de membranas poliméricas conhecido como inversão de fases (IF) (MULDER, 1996).

O processo de formação de membranas pela técnica de IF pode ser realizado a partir de três componentes: solvente e polímero são usados para preparar a solução e um não solvente é usado no banho de coagulação. Alguns parâmetros específicos de preparo podem influenciar diretamente as propriedades de separação das membranas (CAPANNELLI; VIGO; MUNARI, 1983; REUVERS; VAN DEN BERG; SMOLDERS, 1987) como por exemplo:

- a) tipo de polímero e sua concentração;
- b) solvente utilizado;
- c) técnica de aplicação da solução polimérica;
- d) condições de evaporação do solvente;
- e) condições do banho de IF e
- f) adição de componentes extras tais como, aditivos à solução polimérica ou ao banho de coagulação.

Através da escolha desses parâmetros são formadas membranas simétricas ou assimétricas com diversas estruturas de poros (BINDAL;HANRA;MISRA, 1996).

O processo de IF pode ser realizado a partir de diferentes técnicas, tais como, a evaporação do solvente, precipitação em atmosfera de vapor e precipitação por imersão. Devido à troca de solvente e não-solvente presente no banho de coagulação ou na atmosfera, a composição no filme polimérico varia e a separação de fases é induzida (KOOLS, 1998).

Os recentes avanços tecnológicos na área do tratamento de águas apontam a possibilidade do emprego de processos de membrana como a osmose inversa para a remoção de metais pesados das águas, o que pode ser usado como tratamento final, ou polimento sequencial a outros processos mais simples, de forma a preservar as membranas do ataque de outros constituintes presentes nos efluentes, reduzindo-se assim os custos operacionais do sistema (MUNDO ..., 2009).

2.9 Carboximetilcelulose

A celulose é um biopolímero hidrofílico, o que geralmente exige que modificações sejam introduzidas em sua estrutura para torná-lo compatível com os materiais sintéticos e para que possa ser mais facilmente processada (GANDINI, 1992). Entretanto, essa característica das fibras vegetais, a de possuir afinidade por água, também pode ser aproveitada, por exemplo, na produção de materiais absorventes de água (ESPÓSITO, 1996). Esses materiais apresentam um grande potencial de aplicação já que os absorventes ocupam um lugar de destaque no mercado mundial e são intensivamente consumidos nas sociedades japonesa, norte-americana e européia como produtos de higiene pessoal (guardanapos, fraldas, toalhas), espessantes de produtos alimentícios (como carboximetilcelulose, xantana, gelana, pectinas, etc) e como umidificadores de solo usados na agricultura (BUCHOLZ, 1996).

Do ponto de vista técnico, os éteres de celulose (metilcelulose, etilcelulose, carboximetilcelulose, hidroximetilcelulose e hidroxipropilcelulose) aparecem como um dos mais importantes derivados de celulose e possuem um amplo campo de aplicações, principalmente os éteres solúveis em água. O tipo de reação mais comumente utilizado na preparação de éteres de celulose é a substituição nucleofílica. O tipo de substituinte bem como o grau de substituição determina a solubilidade dos éteres de celulose. A carboximetilcelulose (CMC) é o éter de celulose comercialmente mais importante, possuindo amplas aplicações

científicas, especialmente devido às suas características polieletrólíticas. Sua produção mundial gora em torno de 360.000 toneladas por ano (LEWIN;GOLDSTEIN, 1991).

O processo de obtenção de CMC ocorre em duas etapas distintas, a alcalinização e a eterificação. Na etapa de alcalinização (ocorre o intumescimento das fibras de celulose) há a reação entre a celulose e o hidróxido de sódio, formando álcali-celulose (FENGEL; WEGENER, 1989):

Na etapa de eterificação, o álcali celulose reage com o ácido monocloroacético (ou seu sal de sódio) para formar a CMC (FENGEL;WEGENER, 1989):

A CMC tem vasta aplicação na indústria de alimentos, como agente espessante, e de fármacos. Uma das aplicações específicas da CMC é no pós-operatório de cirurgias a laser para a correção de miopia, evitando os sintomas de ressecamento dos olhos e reduzindo a incidência de defeitos causados durante a cirurgia com laser. O efeito protetivo da CMC é provavelmente devido à propriedade de forte muco adesão dos grupos carbonil presentes na estrutura da CMC, servindo como lubrificante e protegendo a superfície epitelial de traumas causados pela passagem de microqueratoma sobre a córnea (AHEE et al., 2002).

2.10 Etanol celulósico

Para uma produção de etanol como combustível em larga escala é desejável o uso de substratos de menor custo e com grande disponibilidade. Para tanto, o uso de resíduos oriundos da exploração florestal e da agricultura de estrutura lignocelulósica, por estes serem

uma matéria-prima de baixo custo, se torna uma alternativa considerável a ser explorada (QUINTERO et al., 2008).

Há três etapas principais no processo de conversão dos materiais lignocelulósicos em etanol: primeira, pré-tratamento e sacarificação enzimática da biomassa vegetal para disponibilizar os açúcares fermentescíveis; segunda, fermentação dos açúcares liberados realizada por microrganismos especializados e terceira etapa, recuperação do etanol (processo de destilação).

As etapas 2 e 3 já estão bem estudadas e desenvolvidas no processo de produção de etanol. Porém, a etapa 1 ainda é considerada a etapa crucial para desencadear a produção de etanol a partir de biomassa. Vários pesquisadores vêm estudando esta etapa para diversos tipos de resíduos lignocelulósicos.

A figura 5 mostra os dois principais caminhos para produzir etanol a partir de materiais lignocelulósicos, denotados “1” e “2”. No primeiro caminho a hidrólise do material é feita por ácidos concentrados ou diluídos, já o segundo é realizado através de enzimas.

Figura 5: Ilustração esquemática dos processos de produção de etanol a partir de biomassa vegetal. SHF (hidrólise e fermentação em etapas separadas), SSF (hidrólise e fermentação simultâneas). Adaptado de SENDELIUS (2005).

A via de conversão (1) é uma via mais rápida, porém apresenta grandes limitações incluindo a corrosão dos equipamentos, a formação de subprodutos tóxicos, a dificuldade em separar o ácido do hidrolisado e o baixo rendimento comparado ao da hidrólise enzimática (KELLER, 1996).

Dessa forma, os pesquisadores têm focado mais no caminho 2, pois as enzimas são mais específicas e o rendimento da hidrólise é maior que a da hidrólise ácida (LIN; TANAKA, 2006). Além disso, o caminho 2 tem a flexibilidade de ser executado como SHF (hidrólise e fermentação em etapas separadas) ou SSF (hidrólise e fermentação simultâneas).

A hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos sem um prévio tratamento resulta em rendimentos inferiores a 20% do valor teórico (CARA et al., 2006). Segundo McMILLAN (1994), a presença de hemicelulose e lignina dificultam o acesso dos reagentes de hidrólise à celulose, reduzindo a eficiência dessa etapa. Sendo assim, a remoção desses compostos reduz a cristalinidade e aumenta a porosidade da celulose, melhorando significativamente o processo de hidrólise.

Então, um processamento preliminar para separar as três frações macromoleculares é necessário. Os tipos de pré-tratamento dependem do material utilizado e da finalidade proposta de utilização das frações lignocelulósicas, podendo ser mecânicos, físicos, biológicos e químicos, ou ainda uma combinação de alguns desses processos. O pré-tratamento proporciona uma mudança na estrutura morfológica da biomassa, tornando a celulose mais acessível ao ataque das enzimas ou aos reagentes químicos para a produção de açúcares fermentescíveis (SADDLER et al., 1993).

O pré-tratamento deve ser eficiente do ponto de vista energético e químico e vários critérios devem ser considerados, como evitar a redução do tamanho das partículas de biomassa, preservar a fração de hemiceluloses, evitar a degradação ou a perda de carboidratos, bem como a formação compostos inibidores ao crescimento dos microrganismos da fermentação e minimizar o custo (MOSIER et al., 2005). A geração de lignina de alto valor agregado também pode ser um parâmetro de comparação entre os diversos tipos de pré-tratamentos. Além disso, o impacto do pré-tratamento no custo das etapas posteriores de recuperação de produto também deve ser avaliado (PALMQVIST et al., 2000).

Após o pré-tratamento do material lignocelulósico é necessária uma etapa de hidrólise da celulose para se obter açúcares fermentáveis. Vários processos para hidrolisar a celulose em glicose têm sido desenvolvidos ao longo dos últimos anos. Os dois processos mais usuais utilizam enzimas celulolíticas ou então ácido sulfúrico (MOSIER et al., 2005). Historicamente o uso de enzimas é muito dispendioso (LYND et al., 2002), mas o custo tem sido reduzido em função de incentivos à pesquisa na área. Por outro lado, o uso de ácido sulfúrico reduz o custo do processo, mas leva à formação de produtos tóxicos à fermentação posterior.

A via enzimática utiliza enzimas específicas para a degradação da celulose, chamadas de enzimas celulolíticas ou de celulasas.

As celulasas são usualmente uma mistura de diversas enzimas. Pelo menos três grupos principais de celulasas estão envolvidos no processo de hidrólise da celulose (figura 6):

1. Endoglucanase (endo-1,4-D-glucanohidrolase, ou EC 3.2.1.4), a qual ataca regiões de baixa cristalinidade na fibra celulósica, criando cadeias com extremidades livres;
2. Exoglucanase ou celobiohidrolase (1,4- β -D-glucano celobiohidrolase ou EC 3.2.1.91.) a qual se liga nas extremidades das cadeias e gera principalmente glicose e celobiose.
3. β -glicosidase (EC 3.2.1.21), responsável por clivar a celobiose produzindo duas moléculas de glicose.

Durante a hidrólise enzimática, a celulose é degradada por celulasas, produzindo açúcares redutores que podem ser fermentados por leveduras ou bactérias para produção de etanol (SUN; CHENG, 2002)

Figura 6: Modo de ação das celulasas e um sistema enzimático cooperativo na degradação da celulose (adaptado de PITARELO, 2007).

O fungo *Trichoderma reesei* é o microrganismo mais utilizado industrialmente para a produção de celulasas. Entretanto, apresenta como desvantagem, a baixa produção de β -glicosidase, e isto restringe a conversão de celobiose em glicose proporcionando inibição da atividade das celulasas pelo acúmulo de celobiose (SHEN;XIA, 2004; CORREDOR et al., 2007).

Portanto, um suplemento de β -glicosidase, obtido a partir do fungo *Aspergillus sp*, por exemplo, é necessário para reduzir o efeito inibitório da celobiose nas celulasas e aumentar o rendimento de conversão da celulose em glicose (CHEN et al. 2008).

Os fatores que influenciam a velocidade da hidrólise enzimática estão relacionados com as características do substrato, e eles são: a cristalinidade e o grau de polimerização da celulose, o tamanho e a distribuição dos poros e a área superficial total acessível (FAN et al., 1980), além das variáveis de estado como a temperatura, pH e a conversão de substrato.

Em geral a taxa de hidrólise inicialmente é elevada e declina com o tempo e com a conversão. Vários pesquisadores tentam explicar o porquê deste declínio na taxa de hidrólise. Alguns acreditam que a reatividade do substrato diminui em uma proporção maior que a da atividade enzimática (ZHANG et al., 1999), outros acham que ocorrem fenômenos de inibição como o impedimento estérico ou ligação não-efetiva dos compostos presentes no meio reacional à enzima (VÄLJAMÄE et al., 1998).

2.11 Separação dos componentes dos materiais lignocelulósicos

Independente da aplicação dos materiais lignocelulósicos é necessário um processamento preliminar para separar as três frações macromoleculares, em particular a lignina, que pode ser considerada a principal barreira física, por tornar as fibras desses materiais (principalmente a celulose) cimentadas entre si. Esses processos modificam os materiais lignocelulósicos pelo rompimento da estrutura da parede celular da biomassa vegetal, removendo, solubilizando ou despolimerizando a lignina. Os tipos de processos dependem do material utilizado e da finalidade proposta de utilização das frações lignocelulósicas, podendo ser mecânicos, físicos, biológicos ou químicos. A polpação ou cozimento químico é o processo mais eficiente e mais utilizado para realizar a separação dos componentes lignocelulósicos da biomassa vegetal (FERNANDEZ, 1996).

2.12 Tratamento ácido

Para a realização desse processo, a escolha do ácido e de sua concentração depende do tipo de amostra e do objetivo da hidrólise. Em análises e em sacarificação de materiais lignocelulósicos, os ácidos minerais mais empregados são: o ácido sulfúrico, ácido clorídrico, ácido fosfórico, ácido nítrico, e mais recentemente ácido trifluoracético.

Cada componente estrutural do material lignocelulósico se comporta de maneira diferente em meio ácido. Com os açúcares, ocorre a quebra das ligações glicosídicas e o mecanismo dessa reação compreende três etapas, mostradas na figura 7: primeiramente o ácido interage rapidamente com o oxigênio glicosídico que liga duas unidades de açúcar, formando o ácido conjugado. Essa etapa é seguida por uma clivagem da ligação C-O formando um carbocátion cíclico, estabilizado por ressonância. Finalmente uma molécula de água é adicionada ao carbocátion, resultando em um produto final estável.

Figura 7: Mecanismo de hidrólise ácida de ligações glicosídicas (DEBIQ, 2010)

Os anéis furanosídicos são hidrolisados mais rapidamente que os anéis piranosídicos, devido ao maior ângulo de tensão na conformação das unidades nos anéis de cinco átomos quando comparado aos anéis piranosídicos livres de tensão. Isso faz com que as hemiceluloses sejam hidrolisadas bem mais rapidamente em meio ácido que a celulose.

Em meio ácido, a degradação da lignina é produzida por reações de substituição e quebra de ligações, geralmente acompanhadas por reações de condensação. As diferentes reações na lignina podem ocorrer ao nível da cadeia propânica lateral, nos átomos de carbono do anel aromático, no grupo metoxila e com menor frequência, nas hidroxilas fenólicas (Figura 8).

Figura 8: Sítios reativos em unidades fenilpropânicas (DEBIQ, 2010)

As reações de condensação (Figura 9) acabam fazendo com que não ocorra a dissolução da lignina e, conseqüentemente, que ela seja eliminada em pequenas proporções. Com isso, o produto final obtido de um tratamento ácido é rico em celulose e lignina (FENGEL e WEGENER, 1989).

Figura 9: Reações de condensação da lignina com ácidos minerais concentrados (DEBIQ, 2010)

2.13 Tratamento alcalino

O tratamento de materiais lignocelulósicos utilizando somente NaOH foi desenvolvido na Inglaterra por Burges e Watts, como uma alternativa à polpação kraft, a qual produz odores (mercaptanas) indesejáveis e tóxicos durante o processo (MINOR, 1996). Na reação com NaOH ocorrem reações com a lignina que se baseiam em dois principais mecanismos: a condensação e a clivagem alcalina (VILLAQUIRÁN, 1987; FENGEL; WEGENER, 1989). A primeira é indesejável porque diminui o poder de remoção da lignina, pois forma uma estrutura rígida difícil de ser solubilizada pelo licor de polpação. Já através da clivagem alcalina, o NaOH ataca a lignina rompendo essa macromolécula em unidades de baixa massa molecular que são solúveis no licor. As reações de lignina no meio alcalino, geralmente têm início na desprotonação de um OH fenólico, dando origem a uma metileno quinona, através da clivagem no carbono alfa (figura 10) ou a estruturas do tipo estilbeno por eliminação do carbono gama (figura 11).

Figura 10: Mecanismo de degradação da lignina em meio alcalino com eliminação no carbono alfa (DEBIQ, 2010).

Figura 11: Mecanismo de degradação da lignina em meio alcalino com eliminação no carbono gama (DEBIQ, 2010).

No entanto, se a reação for realizada sob condições agressivas, a celulose é muito degradada, diminuindo o rendimento. Nestas condições a celulose pode sofrer hidrólise alcalina e com isso ocorrer as reações de peeling (figura 12), as quais são indesejáveis pelas seguintes razões: (1) a hidrólise alcalina promove a cisão da cadeia polimérica, decrescendo drasticamente o comprimento médio da cadeia; (2) nas reações de peeling, as unidades de açúcar com extremidades redutoras das cadeias de polissacarídeos são removidas e, além da perda de açúcares, os carboidratos removidos são convertidos em diversos ácidos orgânicos hidroxilados, os quais reduzem a concentração de álcali efetivo no licor de cozimento (BERGGREN et al., 2003). Como resultado, a reação de peeling provoca uma redução rápida na massa molar da celulose. Esse mesmo tipo de reação também é a responsável pela degradação das hemiceluloses em meio alcalino. Existem dois tipos de reações de peeling, o primário que ocorre a temperaturas ao redor de 100 °C e ataca o terminal redutor e o secundário que desprotona a hidroxila do carbono 2, gerando novos terminais redutores que então são susceptíveis às reações de peeling primário. A reação de peeling secundário ocorre a temperaturas acima de 150 °C (FENGEL; WEGENER, 1989).

Figura12: Mecanismo da reação de peeling primário (DEBIQ, 2010)

2.14 Branqueamento

O branqueamento pode ser definido como um tratamento físico-químico que tem por objetivo remover compostos que geram cor, melhorando também as propriedades da polpa celulósica. No branqueamento das polpas químicas devem ser removidos principalmente derivados de lignina ainda remanescentes na polpa (DANILAS, 1988).

2.14.1 Branqueamento químico

Um fator de contaminação importante do meio ambiente é o cloro, o qual é utilizado nas seqüências tradicionais de branqueamento e que reage com a lignina formando compostos organoclorados de baixa massa molar (AOX), que possuem efeito acumulativo nos organismos, além de possuir caráter tóxico, mutagênico e/ou carcinogênico (WANG et al., 1992).

A fim de se diminuir a utilização do cloro, novas substâncias passaram ser utilizadas como agentes branqueadores, entre eles o peróxido de hidrogênio, que começou a ser usado nos processos de branqueamento para completar a ação do oxigênio (LACHENAL et al., 1997). Sabe-se que, em branqueamento com peróxido de hidrogênio em meio alcalino, a espécie ativa presente é o ânion hidropéroxido (HOO^-). Reações oxidativas envolvendo ataques nucleofílicos desta espécie sobre unidades da lignina do tipo aldeídos α - β insaturados, α -carbônila e quinonas têm sido descritas como as rotas principais de eliminação dos cromóforos (GIERER, 1982).

Os metais de transição exercem efeito negativo no branqueamento com peróxido de hidrogênio, pois podem decompô-lo, gerando radicais hidroxilas, que são de alta seletividade em relação à celulose (GRATZL, 1990). Os metais de transição Mn, Co, Cu e Fe, os quais possuem uma significativa atividade catalítica sobre oxidantes derivados de oxigênio, encontram-se na polpa celulósica, ligados às polioses e grupos carboxílicos da celulose e da lignina. Estes metais devem ser removidos da polpa com quelantes com pH entre 4 e 7, ou por lavagem ácida a um pH inferior a 3 (DEVENYNS et al., 1994), antes do branqueamento.

A quantidade de peróxido a ser aplicada é em função do tipo de material e do processo de polpação que determinam a alvura inicial da pasta. Níveis de 0,5 a 5% podem ser usados para se obter um aumento de alvura entre 10 e 20% ISO. Um acréscimo na quantidade de peróxido corresponde a um aumento da alvura final bastante intenso inicialmente, mas que decresce a partir de níveis de peróxido acima de 2%. A dosagem deve ser feita de modo a garantir a presença de peróxido residual no final do estágio. Se todo o reagente for consumido, a retenção em solução alcalina e a temperatura elevada provocarão reversão da alvura (SENAI CETCEP, 2001).

2.14.2 Branqueamento enzimático

As enzimas têm-se mostrado ser uma alternativa biotecnológica que pode ser aplicada em conjunto com as sequências químicas convencionais ou alternativas de branqueamento (MINOR, 1996; WONG et al., 1997; DUARTE et al., 2003). O uso da enzima como auxiliar no branqueamento passou de escala laboratorial no final dos anos 80 (VIAKARI et al., 1987) para aplicações industriais nos dias de hoje, com a vantagem de não requerer grandes

modificações no processo tradicional (SUURNAKKI, 1997; FERRAZ, 1999; DUARTE et al., 2003).

As xilanases, que fazem parte das hemicelulases, são as enzimas mais estudadas e com maior potencial para aplicação na etapa de branqueamento de polpas celulósicas, especialmente as de bagaço de cana que contêm maior teor de xilanas em relação às demais polioses (RUZENE, 2005). Enzimas que atuam nos polissacarídeos formados por xilana são classificadas em dois grupos: endo- β -1,4-xilanases (EC 3.2.1.8 xilana xilanoidrolase) e exo- β -1,4-xilanases (EC 3.2.1.37 D-xilana xilanoidrolase). As endoxilanases microbianas são classificadas em dois grupos de acordo com a sequência de aminoácidos homólogos em família 10 e 11. Em termos de propriedades catalíticas a diferença encontrada entre as famílias 10 e 11 é que as enzimas da família 10 exibem maior versatilidade catalítica do que a família 11, pois a endoxilanase da família 10 mostra melhor capacidade em clivar as ligações glicosídicas das cadeias de xilana, tais como ácido metil-glucurônico, ácido acético e α -L-arabinofuranosídeo (BIELY et al., 1997). A figura 13 apresenta um esquema da ação sinérgica das enzimas xilanolíticas envolvidas na degradação das xilanas.

Figura 13: (A) Enzimas xilanolíticas envolvidas na degradação da xilana. Ac: grupo acetil; α -Araf: α -arabinofuranose. (B) hidrólise de xilooligossacarídeos pela β -xilosidase (SUNNA; ANTRANIKIAN, 1997).

Xilanases de diferentes origens têm sido avaliadas quanto a sua interação com polpas de vários tipos. Em escala de laboratório, xilanases de microrganismos como *Streptomyces roseiscleroticus* (PATEL et al., 1993), *actinomycetes* (DAVIS et al., 1992), *T. harzianum* (SENIOR et al., 1988) e *Humicola* sp (SILVA et al., 1994) têm sido usadas no tratamento de polpas e sua habilidade no branqueamento tem sido estudada. O biobranqueamento de polpas de bagaço de cana usando xilanase alcalofílica e termofílica de *Bacillus* sp com subsequente branqueamento com peróxido resultou na diminuição do número kappa em 10 unidades e um aumento na alvura de 2,5% (KULKARNI;RAO, 1996). A xilanase termoestável de *Thermotoga maritima* foi comparada com a xilanase comercial Pulpzyme HC e resultou numa eficiente liberação de lignina em polpa kraft (CHEN et al., 1997). As xilanases clonadas expressas em *Bacillus cereus* (TREMBLAY; ARCHIBALD, 1993) e *E. coli* (PAICE et al., 1988) também aumentaram a deslignificação de polpas kraft não branqueadas.

São propostos mecanismos para a obtenção dos efeitos de branqueamento das polpas (figura 14):

- a) Remoção de cromóforos derivados de xilana: no cozimento alcalino as moléculas de xilose e xilana podem sofrer modificações, formando estruturas parcialmente aromáticas e coloridas. Esses cromóforos derivados da degradação de xilana podem ser removidos mais facilmente pelo uso de xilanase do que por reagentes químicos.
- b) Complexo lignina-carboidrato: assume-se que há uma ligação entre lignina e polioses na polpa que restringe a remoção da lignina residual. O rompimento das cadeias de xilana pela xilanase separa as ligações de lignina-carboidrato, melhora o acesso dos reagentes de branqueamento e facilita a remoção da lignina em subsequentes seqüências químicas de branqueamento
- c) Xilana redepositada: A ação das xilanases como auxiliar no branqueamento também têm sido atribuída à remoção de xilana redepositada sobre as fibras durante o processo de polpação. Parte das xilanas que foram inicialmente dissolvidas no processo de polpação kraft pode reprecipitar sobre as fibras da polpa. Isso ocorre principalmente no final do processo kraft convencional quando a alcalinidade do licor de cozimento diminui. A xilana redepositada sobre a superfície da polpa pode encobrir a lignina residual tornando-a inacessível aos reagentes de branqueamento. A xilanase hidrolisa parte da xilana redepositada, permitindo

melhor acesso dos reagentes de branqueamento até a lignina residual, tornando mais fácil a remoção dessa lignina.

d) Inchamento das fibras: interações entre a celulose e a xilana podem contribuir para a integridade das fibras da polpa dificultando a remoção da lignina presente no interior dessa estrutura. O uso de xilanase pode romper essa estrutura facilitando uma subsequente remoção da lignina residual. Ocorre também o inchamento das fibras que gera poros maiores do que as macromoléculas de xilanas removidas.

Figura 14: Hipóteses propostas para a ação da xilanase como auxiliar no branqueamento de polpas químicas: (A) cromóforos derivados de xilana; (B) complexo lignina-carboidrato; (C) xilana redepositada e (D) inchamento das fibras, em que (L= lignina, X= xilana) (MORIYA, 2007).

Dentre os mecanismos citados, os mais aceitos para explicar o efeito do uso da xilanase no branqueamento das polpas celulósicas são a remoção das xilanas redepositadas sobre as fibras e a quebra do complexo lignina-carboidrato (MORIYA, 2007).

2.15 Utilização de celulose obtida a partir de resíduos agrícolas

Muitos trabalhos já publicados na literatura também utilizaram a celulose de diversos resíduos agrícolas na obtenção de produtos de alto valor agregado. No caso da obtenção de acetato de celulose Cerqueira et al., (2007), Shaikh et al. (2009), RODRIGUES FILHO et al. (2011) utilizaram o bagaço de cana como matéria-prima e posteriormente produziram membranas com o material acetilado. A celulose do bagaço também tem sido utilizada na produção de blendas e compósitos (LUZ et al, 2008; CERQUEIRA et al., 2009; CORRADINI et al., 2009; MULLINARI et al, 2009). Na área energética um dos principais estudos da utilização do bagaço de cana está na produção do etanol celulósico ou etanol de segunda geração (CARRASCO et al, 2010; DIAS et al., 2010; SOARES et al., 2011). Poucos estudos têm sido realizados utilizando a palha de cana. Das publicações encontradas na literatura a maioria delas discorre sobre a utilização da palha de cana na geração de energia (JORAPUR;RAJVANSHI, 1995; SILVA et al., 2010) e na produção de polpa celulósica (GONÇALVES et al., 2008; SAAD et al, 2008). Em relação a outros resíduos agrícolas também utilizados destacam-se a palha de trigo na produção de polpa celulósica (DENIZ;KIRCI;ATES, 2004; HEDJAZI, 2009) e na produção de energia (LINDE et al., 2008; JURADO et al., 2009; KAPARAJU et al., 2009; LI et al., 2011), a palha de arroz também na produção de polpa celulósica (HUANG;SHI;LANGRISHI, 2007; RODRÍGUEZ et al., 2010) e energia (ABEDINIFAR et al., 2009; PARK et al., 2010) e a palha de milho na produção de energia (ÖHGREN et al., 2006; WAN;LI, 2010; ZHONG et al., 2011).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

O objetivo geral deste trabalho foi separar a celulose do bagaço e da palha de cana-de-açúcar e utilizá-la na obtenção de três diferentes produtos: membranas, preparadas a partir de acetato de celulose, carboximetilcelulose e substrato na produção de etanol celulósico.

3.2 Específicos

- Escolher a melhor via de obtenção da celulose, através da análise química dos materiais obtidos;
- Estudar a influência do tratamento enzimático com xilanase nas vias de obtenção de celulose;
- Avaliar qual das biomassas vegetais utilizadas se apresenta como melhor opção na obtenção dos diferentes produtos estudados.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A palha e o bagaço de cana-de-açúcar utilizados no projeto foram gentilmente fornecidos pela Cia Açucareira Vale do Rosário – Orlândia – SP.

A palha de cana foi colhida manualmente da lavoura de cana-de-açúcar, sendo removida diretamente dos colmos da cana e armazenada em sacos de plástico com capacidade de 50 L. As palhas, constituídas em grande maioria de folhas verdes, foram secas ao ar livre até apresentarem umidade abaixo de 10%.

O bagaço de cana foi colhido diretamente do balcão de armazenamento da usina. Após transporte à Escola de Engenharia de Lorena – EEL/USP, ele foi seco ao ar livre até redução de sua umidade a valores inferiores a 10%. Por fim, o bagaço seco foi armazenado em sacos de plástico de capacidade de 50 L.

Abaixo, seguem fluxogramas que descrevem as seqüências de tratamento que sofrerão a palha e o bagaço até a obtenção de celulose:

VIA BIOTECNOLÓGICA ÁCIDA

Figura 15: Fluxograma da via biotecnológica ácida.

VIA BIOTECNOLÓGICA ALCALINA

Figura 16: Fluxograma da via biotecnológica alcalina.

A fim de se estudar o benefício da etapa com xilanase, também foram produzidos materiais que não foram submetidos a essa etapa. A essas vias foi dado o nome de vias controle.

VIA CONTROLE ÁCIDA

Figura 17: Fluxograma da via controle ácida.

VIA CONTROLE ALCALINA

Figura 18: Fluxograma da via controle alcalina.

Depois de passar pelos tratamentos das vias mostradas acima, a celulose obtida foi transformada em 3 diferentes produtos: acetato de celulose para confecção de membranas, carboximetilcelulose e em glicose, via hidrólise enzimática, visando à produção de etanol.

4.1 Tratamento com H₂SO₄ (A)

Em um béquer de polipropileno com capacidade de 4 L , foram colocados o bagaço ou palha e H₂SO₄ a 10 % (v/v), sob uma consistência de 10% (m/v). A reação foi realizada em banho térmico, sob agitação mecânica, com rampa de aquecimento e quando a temperatura atingir 100 °C começou a contagem do tempo de 1 h. Ao final da reação, o material foi lavado com água destilada até pH neutro.

4.2 Tratamento com NaOH (B)

Em um béquer de polipropileno com capacidade de 4 L , foram colocados o bagaço ou palha e NaOH a 10 % (m/v), sob uma consistência de 10% (m/v). A reação foi realizada em banho térmico, sob agitação mecânica, com rampa de aquecimento e quando a temperatura atingir 100 °C começou a contagem do tempo de 1 h. Ao final da reação, o material foi lavado com água destilada até pH neutro.

4.3 Atividade enzimática da xilanase

A atividade da xilanase foi determinada pela medida da quantidade de açúcares redutores liberados a partir de xilana, de acordo com o método de Bailey et al. (1992). Os açúcares redutores foram dosados pelo método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS) (MILLER, 1959). Uma unidade de atividade enzimática é definida como a quantidade de enzima necessária para produzir 1µmol de xilose por minuto a 50°C.

4.4 Tratamento com xilanase (X)

Os tratamentos foram conduzidos em bolsas de polipropileno, em banho termostatzado a 50°C por 2 h, utilizando-se uma carga enzimática de 30 UI por grama de material seco. A consistência do meio reacional foi de 10% e o meio foi tamponado com tampão fosfato de sódio a pH = 7,0. Condições otimizadas por Moriya (2007). Após o tratamento enzimático, a polpa foi filtrada em funil de Büchner e lavada com aproximadamente 1,5 L de água destilada.

4.5 Extração alcalina (E)

A extração alcalina foi conduzida em um béquer com capacidade de 2000 L, em banho termostatzado a temperatura de 100°C, por 1 h, com hidróxido de sódio a uma concentração de 5,0% (m/v), com consistência do meio reacional de 3% (m/m) e sob agitação mecânica . Ao término da reação, o material foi filtrado em funil de Büchner e lavado exaustivamente até o filtrado não apresentar pH neutro.

4.6 Quelação (Q)

A um recipiente de polietileno foram adicionados a polpa seca ao ar, EDTA (0,5% m de EDTA/ m de polpa seca) e água destilada a 70°C para ajustar a consistência da massa em 10% (m/m).. A mistura reacional foi colocada em banho termostatzado a 70°C por 60 min. Após o cozimento a polpa foi filtrada e lavada com água destilada a 70°C (BIANCHI, 1999).

4.7 Branqueamento com peróxido de hidrogênio (H)

O estágio de branqueamento com peróxido de hidrogênio foi conduzido em bolsas de polipropileno, ao qual foram adicionados a polpa, H₂O₂ (5% m/m), 0,1% de MgSO₄ (m/m de polpa seca) e água destilada para atingir a consistência de 5%. A reação será realizada a uma temperatura de 60°C por 60 min. Ao final da reação a polpa foi filtrada e lavada com água destilada a 70°C (BIANCHI, 1999).

4.8 Obtenção de triacetato de celulose (TAC)

Foram colocados 10 g de celulose branqueada em 24,0 mL de ácido acético e a mistura foi colocada em banho-maria a 37,8°C por 1 hora, para que ácido se impregnasse totalmente na amostra. Em seguida se agregou à mistura 40,0 mL de ácido acético e 0,08 mL de ácido sulfúrico, mantendo-se a temperatura a 37,8°C e sob agitação constante por 45 minutos. Logo depois, a mistura reacional foi esfriada a 18,3°C e foram adicionados 27,0 mL de anidrido acético. A mistura foi esfriada novamente a 15,6°C e foram adicionados 0,6 mL de ácido sulfúrico e 1,2 mL de anidrido acético. Então, se elevou a temperatura para uma faixa de 32-35°C por 1,5 h e sob agitação constante. Logo após, foi agregada, pouco a pouco, uma solução preparada com de 10,0 mL de água e 20,0 mL de ácido acético, por 1 h, mantendo-se a agitação e a temperatura a 37,8°C. Ao final da adição da solução água-ácido acético, o produto

obtido foi lavado exaustivamente com água destilada até pH neutro e o odor de ácido acético desaparecer (MUÑIZ et al., 2008).

4.9 Determinação do grau de substituição do TAC

Foram adicionados 5,0 mL de NaOH 0,25 M e 5,0 mL de etanol a 0,1 g de TAC e a mistura repousou por 24 h. Em seguida, se agregou à mistura 10,0 mL de HCl 0,25 M e o meio reacional permaneceu em repouso por mais 30 min. Após esse tempo, se titulou a mistura obtida com NaOH 0,25 M padronizado, utilizando-se como indicador fenolftaleína.

O procedimento foi realizado em triplicata (MEIRELES, 2007).

Para o cálculo do grau de substituição, se utilizará a equação 1:

$$\%GA = \frac{[(V_{bi} + V_{bt}) * \mu_b - (V_a * \mu_a)] * M * 100}{mac} \quad \text{Equação 1}$$

Onde: %GA: porcentagem de grupos acetila

V_{bi}: volume de NaOH adicionado antes da titulação em L

V_{bt}: volume de NaOH utilizado na titulação em L

μ_b: molaridade do NaOH

V_a: volume de HCl adicionado antes da titulação em L

μ_a: molaridade do HCl

M: massa molar dos grupos acetila (43 g/mol)

mac: massa do triacetato utilizada em g

4.10 Síntese de membranas

Para a síntese de membranas foram utilizadas duas metodologias: a evaporação de solvente, que foi realizada na Faculdade de Ciências Químicas da Universidade Autônoma de Chihuahua no México, e a inversão de fases, que foi realizada no Laboratório de Polímeros da Universidade de Caxias do Sul no Brasil.

Na metodologia de evaporação de solvente 1,0 g de TAC foi dissolvido em 70,0 mL de diclorometano sob agitação constante por 2 h. Em seguida, a mistura reacional foi ultrassonificada por 1 h. Então, a mistura foi filtrada em lã de vidro, vertida em um béquer de 500 mL e colocada em uma câmara de umidade controlada a 45°C e 35,0% de umidade por 3

h. Também foram realizados experimentos com uma massa maior de TAC (5,0 g), para a obtenção de membranas de maior tamanho para realização de testes de aplicação. Neste caso, a mistura reacional depois de filtrada será vertida em um vidro refratário do tipo pirex de fundo plano de 14 X 19 cm², conforme mostrado no figura 19:

Figura 19: Câmera de umidade relativa controlada.

Na metodologia de inversão de fases foi realizado o procedimento descrito por MEIRELES (2007). As membranas foram produzidas utilizando uma solução de acetato de celulose de 6,0% m/m em diclorometano. A mistura foi agitada por 5 h, a fim de dissolver completamente o acetato. A solução foi espalhada sobre uma placa de vidro, usando um espalhador com abertura fixa em 0,4 milímetros a temperatura ambiente. Após 2 min, o sistema foi imerso em um banho de água a 4 ° C por 2 h para o desprendimento da membrana da placa de vidro.

4.11 Teste de remoção de cobre em estado estacionário

Foram pesados e recortados 0,5 g de membrana que foram colocados em um béquer com capacidade de 100 mL junto com 50 mL de solução de Cu²⁺ a 50 ppm. O meio reacional ficou sob agitação magnética por um total de 3 h. Nos tempos 0, 1,5 e 3h foram recolhidas

alíquotas de 1 mL que foram diluídas em balões volumétricos de 10 mL. As soluções dos balões foram analisadas por absorção atômica para determinação da concentração de cobre (MUÑIZ et al., 2008).

4.12 Obtenção de CMC

Foram adicionados em um frasco de 500 mL com 3 bocas 5 g de polpa branqueada. 92,5 g de etanol, 3,7 g de água e uma solução de NaOH (5 g de NaOH e 8 g de água). A mistura foi agitada mecanicamente e a temperatura de reação foi de 15°C por 1 h. Após a alcalinização, foram adicionados na mistura reacional uma solução de ácido monocloroacético (AMA) e etanol a 50% (m/m), a uma temperatura de 20°C, resultando em uma relação AMA/celulose de 8,8:1 [mol/mol]. A temperatura foi elevada para 60 °C e a reação prosseguiu por 3 h. A suspensão foi filtrada e o produto carboximetilado foi lavado com misturas metanol/água e seco a temperatura ambiente (MORAIS; CAMPANA FILHO, 1999).

4.13 Determinação do grau de substituição (GS) da CMC

5 g de CMC foram adicionados a 200 mL de uma solução HNO₃-metanol (1:1). A mistura reacional foi agitada para homogeneização e depois deixada repousando por 3 h. Após esse tempo, a mistura foi filtrada e lavada com uma solução de metanol 70%. 2 g dessa tratada foram adicionados a 200 mL de água destilada e 30 mL de NaOH 1M. Essa mistura foi titulada com HCl 1M.

Para a determinação do GS da CMC, foram utilizadas as seguintes equações:

$$GS = 0,162 * A / (1 - (0,058 * A)) \quad \text{Equação 2}$$

$$A = (B * C - D * E) / F \quad \text{Equação 3}$$

Onde :

GS: grau de substituição

B: volume de NaOH (mL)

C: normalidade do NaOH

D: volume de HCl (mL)

E: normalidade do HCl (mL)

F: massa da amostra de CMC (g)

4.14 Determinação da porcentagem de CMC

1,5 g de CMC (massa seca inicial) foi adicionada foram adicionadas a 100 mL de uma solução de metanol 80%. Essa mistura foi agitada para homogeneização e deixada em repouso por 10 minutos. Posteriormente, a mistura foi filtrada, lavada com 100 mL da mistura de metanol 80% e seca em estufa a 100°C para determinação de sua massa seca final.

A porcentagem de CMC foi determinada pela equação abaixo:

$$\% \text{ CMC} = 100 * (m_2/m_1) \quad \text{Equação 4}$$

Onde: % CMC : porcentagem de CMC na amostra

m_2 : massa seca final (g)

m_1 : massa seca inicial (g)

4.15 Atividade enzimática celulolítica total (FPase)

A atividade celulolítica total será determinada empregando-se a metodologia padrão de Mandels;Andreotti;Roche (1976). Em um tubo de ensaio serão adicionados 0,3 mL de extrato enzimático, 1,2 mL de tampão citrato de sódio 0,05 mol.L⁻¹, pH 4,8 e 50 mg de papel de filtro Whatmann n°1 como substrato. O meio será incubado em um banho-maria à temperatura de 45 °C por 1 h, sendo que, a glicose liberada será determinada pelo método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS) descrito por Miller (1956).

A reação será interrompida pela adição de 3 mL de DNS, sendo o meio fervido, em seguida, por 5 min. Após o resfriamento, a absorbância em 540 nm será lida em um espectrofotômetro UV-visível Perkin Elmer modelo Lambda 25.

4.16 Atividade enzimática da β-glicosidase

A atividade da enzima β-glicosidase foi determinada utilizando-se a metodologia descrita por Mongkolthanaruk;Dharmstithi (2002). Em um tubo de ensaio foram adicionados 0,1 mL de extrato enzimático e 0,4 mL de solução 0,1% (m/v) de p-NPG (para-nitrofenol β-1→4 glicosídeo).

O meio foi incubado em banho-maria a 45 °C por 30 min e após este tempo, a reação foi interrompida pela adição de 1 mL de solução 10% (m/v) de bicarbonato de sódio (NaHCO₃). A quantidade de glicose liberada foi mensurada pela equivalência molar do p-NP

(para-Nitrofenol) na clivagem do p-NPG ($1 \text{ p-NPG} \rightarrow 1 \text{ glicose} + 1 \text{ p-NP}$) e utilizando a absorvidade molar do p-NP ($\epsilon_{410\text{nm}} = 15.000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

A absorbância em 410 nm foi lida no espectrofotômetro UV-visível Perkin Elmer modelo Lambda 25.

4.17 Hidrólise enzimática

No presente trabalho, os ensaios de conversão enzimática foram realizados utilizando celulase comercial (Celluclast 1.5L), suplementada com β -glicosidase (Novozym 188), ambas gentilmente doadas pela Empresa Novozymes Latin America Ltda – Araucária – PR.

As condições de reação empregadas foram: tampão citrato de sódio $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$, pH 4,8, sob agitação de 100 rpm em incubadora de movimento rotatório a 45°C por 72 h e relação sólido:líquido 1:10 (m/v). As cargas enzimáticas que foram utilizadas são de 15 FPU/g de material lignocelulósico seco, para o complexo Celluclast 1.5 L, e de 10 UI/g de material lignocelulósico seco para a enzima β -glicosidase, sendo estes valores baseados em dados comumente encontrados na literatura (BALLESTEROS et al., 2004; WYMAN et al., 2005, CARA et al., 2006).

Após o término da reação enzimática os hidrolisados foram fervidos por 5 min para cessar a atividade enzimática, sendo posteriormente filtrados em papel de filtro Whatmann n°1 e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência, conforme descrito abaixo. A conversão enzimática da celulose foi calculada pela equação 5:

$$CC = \frac{m_{\text{glicose}} \times f_h}{m_{\text{inicial}} \times y_i} \times 100 \quad \text{Equação 5}$$

Onde:

- CC: conversão enzimática da celulose;
- m_{glicose} : massa de glicose presente no hidrolisado (g);
- m_{inicial} : massa seca de material lignocelulósico, antes da etapa de hidrólise enzimática (g);
- y_i : teor de celulose no material lignocelulósico;
- f_h : fator de hidrólise da celulose (correspondente a 0,9)

4.18 Caracterização Química

Após cada etapa realizada para a obtenção de celulose, o material obtido foi caracterizado quimicamente. A caracterização química das amostras foi realizada empregando-se a metodologia analítica para bagaço de cana desenvolvida por Rocha et al. (1997) e validada por Gouveia et al. (2009).

Amostras de 2 g (massa seca) de material lignocelulósico (moído a 20 mesh) foram pesadas com precisão de 0,1 mg e transferidas para um béquer de 100 mL para serem tratadas com 10 mL de H₂SO₄ 72%, sob vigorosa agitação, em um banho termostatzado a 45,0 ± 0,5 °C por 7 min.

A reação foi interrompida com a adição de 50 mL de água destilada, sendo a amostra transferida quantitativamente para um frasco erlenmeyer de 500 mL, elevando-se o volume de água a 275 mL. Para uma hidrólise completa dos oligômeros restantes, o erlenmeyer foi fechado com papel alumínio e autoclavado por 30 min a uma pressão de 1,05 bar, a 121 °C.

Após a descompressão da autoclave, o erlenmeyer foi retirado da mesma, resfriado à temperatura ambiente, sendo a mistura reacional filtrada e transferida para um balão volumétrico de 500 mL que foi completado com a água de lavagem do material retido no filtro. O balão volumétrico que contém o hidrolisado foi armazenado para posterior análise de carboidratos e ácidos orgânicos.

4.19 Determinação de carboidratos e ácidos orgânicos por CLAE

Os hidrolisados obtidos no item 4.18 e os obtidos pela hidrólise enzimática foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), empregando-se uma coluna Aminex HPX-87H (300 x 7,8 mm, Bio-Rad Laboratories Ltd) em um cromatógrafo Shimadzu LC-10AD, utilizando como fase móvel H₂SO₄ 0,005 mol.L⁻¹ com fluxo de 0,6 mL.min⁻¹, a 45 °C.

Os compostos foram monitorados com um detector de índice de refração Shimadzu RID-6 A, sendo os compostos fenólicos presentes nas amostras removidos por cartuchos de extração sólida Sep-Pak C₁₈ (Waters).

Os cromatogramas das amostras foram comparados com os padrões dos açúcares e ácidos orgânicos a serem analisados, sendo a quantificação feita por curvas de calibração de cada composto.

4.20 Determinação de lignina insolúvel em meio ácido

O material insolúvel retido no papel de filtro proveniente da etapa de hidrólise ácida para caracterização química foi lavado com aproximadamente 1,5 L de água destilada, para remoção de ácido residual (até pH próximo de 7), e seco em estufa à temperatura de 105 °C até massa constante. A porcentagem de lignina insolúvel em meio ácido foi calculada em relação à massa de material lignocelulósico seco descontando-se a massa de cinzas presente na lignina.

4.21 Determinação do teor de cinzas da lignina

Os materiais resultantes da etapa de determinação de lignina insolúvel foram colocados em cadinho de porcelana previamente calcinado e tarado. Posteriormente, estes materiais foram inicialmente pré-calcinados à temperatura de 400 °C, por aproximadamente 1 h, com os cadinhos tampados, e em seguida, a tampa foi removida e o material foi calcinado por 2 h a 800 °C. Após a calcinação, o cadinho foi resfriado em dessecador e a massa de cinzas determinada.

A massa obtida foi utilizada para subtrair do teor de lignina descrito no item 4.20 e então se obter a massa real de lignina insolúvel.

4.22 Determinação de lignina solúvel

A quantidade de lignina solúvel foi determinada pela medida de absorbância a 280 nm em um espectrofotômetro UV-visível Perkin Elmer modelo Lambda 25. Uma alíquota de 5 mL do hidrolisado obtido da etapa de hidrólise ácida para caracterização química dos materiais lignocelulósicos foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL, juntamente com 50 mL de água destilada e 2 mL de NaOH 6,5 N (pH final próximo a 12).

Após agitação, o volume foi completado com água destilada e essa mistura resultante foi analisada no espectrofotômetro. A equação abaixo foi utilizada para determinar a concentração de lignina solúvel no hidrolisado:

$$C_{Lig} = \frac{(A_{280nm} - \epsilon_{HMF} \cdot C_{HMF} - \epsilon_{Furf} \cdot C_{Furf})}{A}$$

Equação 6

Onde: C_{lig} : Concentração de lignina solúvel no hidrolisado (g/L);
 $A_{280\text{nm}}$: Absorbância do hidrolisado em 280 nm;
 ϵ_{HMF} : Absortividade do hidroximetilfurfural (114 L/g);
 $\epsilon_{\text{Furfural}}$: Absortividade do furfural (146,85 L/g);
 C_{HMF} : Concentração de hidroximetilfurfural no hidrolisado (g/L);
 C_{Furfural} : Concentração de furfural no hidrolisado (g/L).
A: absortividade da lignina (L/g)

4.23 Determinação de furfural e hidroximetilfurfural

Furfural e hidroximetilfurfural foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em uma coluna LiChrospher 100 RP-18 (5 μm) de 125 x 4 mm (Hewlett-Packard), utilizando-se acetonitrila/água 1:8 (v/v) com 1% de ácido acético como fase móvel, a uma vazão de 0,8 mL.min⁻¹, à temperatura de 25 °C.

O hidrolisado obtido na etapa de hidrólise ácida para caracterização química foi filtrado em membrana de diâmetro de poro de 0,47 μm (Milipore), para total remoção de partículas sólidas das amostras e injetado com uma válvula Rheodyne equipada com alça de injeção de 20 μL . Os compostos foram detectados em 276 nm por um detector UV-visível Shimadzu SPD-10. As concentrações de furfural e hidroximetilfurfural foram determinadas a partir das curvas de calibração obtidas com os compostos puros.

4.24 Determinação do Número Kappa

O número kappa (medida de lignina residual na polpa) foi determinado pela oxidação por permanganato de potássio e titulação com tiosulfato de sódio, seguindo a metodologia padrão (TAPPI, 1982).

Amostras das polpas, com massas entre 0,30 e 0,35 g (com precisão de 0,1 mg), serão pesadas em béqueres, e cada uma delas foi suspensa em 10 mL de água destilada. Cada suspensão da polpa foi transferida com 140 mL de água para um erlenmeyer de 500 mL que será mantido a 25°C sob agitação magnética.

Foram misturados 25,0 mL de uma solução padrão de KMnO_4 0,1 eq.L⁻¹ (recém preparada) com 25,00 mL de H_2SO_4 4 eq.L⁻¹ em um erlenmeyer de 125 mL, que foi mantido a 25°C sob agitação magnética (solução A).

A solução A foi adicionada quantitativamente a cada erlenmeyer contendo a suspensão da polpa, utilizando-se 50 mL de água destilada para lavar as paredes do erlenmeyer. Após exatos 10 min foram adicionados 5,0 mL de uma solução de KI 0,1 eq.L⁻¹. Essa mistura foi titulada com uma solução padronizada de Na₂S₂O₃ 0,1 eq.L⁻¹ até próximo ao ponto de viragem (desaparecimento da cor castanha). Foram, então, adicionados 2,5 mL de uma solução de amido 0,2% e a titulação continuada até a viragem de azul a incolor.

Adicionalmente foi quantificado o consumo de KMnO₄ sem a adição de polpa (branco), substituindo-se a suspensão de polpa por 150 mL de água destilada e seguindo-se o mesmo procedimento descrito acima.

O número kappa foi determinado pelas equações 7 a 9, que incluem fatores de correção para o volume de KMnO₄ consumido (autofator) e para a temperatura de análise.

$$P = \frac{(b - a) \cdot N}{0,1} \quad \text{Equação 7}$$

$$f = 0,0084 \cdot P + 0,895 \quad \text{Equação 8}$$

$$n^{\circ} k = \frac{P \cdot f [1 + 0,013 \cdot (25 - T)]}{W} \quad \text{Equação 9}$$

Onde:

- P = volume de KMnO₄ que reagiu (mL)
- a = volume de Na₂S₂O₃ consumido pela amostra (mL)
- b = volume de Na₂S₂O₃ consumido pelo branco (mL)
- f = fator de correção determinado para cada P
- N = normalidade da solução de Na₂S₂O₃ (eq.L⁻¹)
- T = temperatura da análise (°C)
- W = massa da polpa seca (g)
- n° k = número kappa

4.25 Viscosidade

Para as determinações de viscosidade foi utilizado um viscosímetro Ostwald-Fensk de 200 mL imerso em banho termostatizado a 25°C. Inicialmente o viscosímetro foi parcialmente preenchido com H₂SO₄ 98% para a determinação da constante do viscosímetro.

O líquido foi aspirado até ultrapassar as duas marcas de calibração e deixado escoar. Foi determinado o tempo necessário para o menisco do líquido passar entre as duas marcas utilizando-se um cronômetro. Conhecendo-se os valores de densidade e viscosidade do H₂SO₄ 98% na temperatura de medida, foi calculada a constante do viscosímetro pela equação 4. A medida foi repetida 3 vezes.

$$k = \frac{V}{t \cdot d} \quad \text{Equação 10}$$

Onde: k = constante do viscosímetro (cP.s⁻¹. g⁻¹.cm³)
 V = viscosidade do H₂SO₄ a 25°C = 19,25 cP (TAPPI, 1982)
 d = densidade do H₂SO₄ a 25°C = 1,84 g.cm⁻³
 t = tempo de escoamento (s)

A viscosidade das polpas foi determinada pelo método padrão (TAPPI, 1982). Em béqueres foram pesados exatamente 0,125 g de polpa seca e em seguida foram adicionados 25 mL de etilenodiamina cúprica (solução 0,5 mol.L⁻¹ em Cu²⁺). A mistura será agitada magneticamente por 30 min. Após esse tempo, a mistura foi filtrada em cadinho de vidro sinterizado (nº 3) e transferida para o viscosímetro previamente aferido. A solução foi aspirada e o tempo de escoamento foi medido com descrito acima.

O cálculo de viscosidade da polpa foi determinado pela equação 11:

$$V = k.t.d \quad \text{Equação 11}$$

Onde: V = viscosidade da solução (cP)
 k = constante do viscosímetro (cP.s⁻¹. g⁻¹.cm³)
 t = tempo de escoamento (s)
 d = densidade da solução de celulose (1,052 g.cm⁻³ - TAPPI, 1982)

4.26 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Amostras dos materiais lignocelulósicos foram previamente secas em estufa a 60 °C, juntamente com KBr, sendo posteriormente resfriadas por 30 min em dessecador com P₂O₅ sob vácuo. Pastilhas de KBr foram preparadas contendo 250 mg de KBr e 1,5 mg de amostra, e compactadas a uma pressão de 10 kgf.cm⁻² sob vácuo.

O mesmo foi feito para a referência, contendo apenas KBr. Em seguida, foram medidos os espectros na região de 4000 a 400 cm⁻¹ em um espectrofotômetro Spectrum One Perkin Elmer.

4.27 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A superfície morfológica das membranas foi analisada por um microscópio eletrônico de varredura (JEOL modelo JSM 5800LV) a uma voltagem de aceleração de 10-20 kV, e a magnitude das ampliações para a caracterização foi variável. Antes das análises, as membranas foram recobertas com uma fina camada de ouro por um sistema de recobrimento Denton Desk – II Gatan.

4.28 Análise dinâmico-mecânica (DMA)

Estes parâmetros das membranas foram medidos utilizando-se o Instrumento para Análises Dinâmico-Mecânico (DMA - RSA3 TA Instrument Analyzer), a uma velocidade de corte de 0,005 mm/s, a 25°C. A distância entre os sensores foi ajustada em 8 mm. Todos os dados obtidos foram analisados pelo software TA Orchestrator V.7.0.8.23 da TA Instruments.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Obtenção de celulose

A primeira avaliação feita após qualquer etapa de tratamento dos materiais lignocelulósicos utilizados foi o rendimento, que é um parâmetro para a classificação dos processos e depende fundamentalmente da matéria-prima e das condições empregadas no tratamento. O rendimento total pode ser avaliado como a relação percentual entre a massa de material obtida após a etapa de tratamento e a massa inicial utilizada para a realização da mesma. Industrialmente é mais adequado avaliar o rendimento classificado ou depurado, ou seja, o rendimento em material após a remoção de rejeitos (material não desfibrado) e impurezas de origem vegetal (areia, pedras e metais) (KOGA, 1988). No entanto, no presente trabalho, devido, principalmente, à pequena massa utilizada no início de cada processo, foi determinado somente o rendimento total dos tratamentos, isto é, levou-se em consideração a quantidade de rejeitos. E para uma melhor elucidação do que ocorreu em cada estágio com os materiais utilizados, foi realizada a caracterização química para a determinação de percentual de componentes dos materiais antes e depois de cada estágio. Nas tabelas 2 e 3 estão apresentados os resultados de rendimento e composição química dos materiais obtidos na via ácida e na via alcalina, respectivamente, quando foi utilizado bagaço de cana.

Tabela 2: Composição dos materiais obtidos no tratamento do bagaço pela via ácida

Etapa	Rendimento (%)	Celulose (%)	Lignina (%)	Hemicelulose (%)	Cinzas (%)	Total (%)
IN	0,00	46,42 ± 0,25	28,09 ± 0,65	23,97 ± 0,28	1,52 ± 0,63	100,00
A	55,56	59,73 ± 0,58	25,81 ± 0,52	11,31 ± 0,47	2,21 ± 0,36	99,06
X	96,58	64,33 ± 0,32	24,54 ± 0,58	9,39 ± 0,22	1,94 ± 0,25	100,20
E	61,00	85,79 ± 0,21	4,47 ± 0,33	7,17 ± 0,55	1,97 ± 0,25	99,40
QH	95,00	89,12 ± 0,69	2,60 ± 0,98	6,37 ± 0,69	0,77 ± 0,14	98,86

(IN = bagaço in natura; A = estágio com H₂SO₄; X = estágio com xilanase; E = estágio de extração alcalina; QH = estágio de quelação seguido de branqueamento com H₂O₂)

Tabela 3: Composição dos materiais obtidos no tratamento do bagaço pela via alcalina

Etapa	Rendimento (%)	Celulose (%)	Lignina (%)	Hemicelulose (%)	Cinzas (%)	Total (%)
IN	0,00	46,42 $\pm$ 0,25	28,09 $\pm$ 0,65	23,97 $\pm$ 0,28	1,52 $\pm$ 0,63	100,00
B	48,91	66,26 $\pm$ 0,58	14,47 $\pm$ 0,52	16,99 $\pm$ 0,47	1,26 $\pm$ 0,36	99,29
X	98,36	73,54 $\pm$ 0,32	13,24 $\pm$ 0,58	10,85 $\pm$ 0,22	1,12 $\pm$ 0,25	98,75
E	74,95	84,68 $\pm$ 0,21	4,74 $\pm$ 0,33	9,63 $\pm$ 0,55	0,98 $\pm$ 0,25	100,03
QH	95,00	88,06 $\pm$ 0,69	2,83 $\pm$ 0,98	8,46 $\pm$ 0,69	0,80 $\pm$ 0,14	100,15

(IN = bagaço in natura; B = estágio com NaOH; X = estágio com xilanase; E = estágio de extração alcalina; QH = estágio de quebração seguido de branqueamento com H₂O₂)

Na análise dos resultados das tabelas 2 e 3 verificou-se que uma das diferenças entre os rendimentos das duas vias de tratamento do bagaço está no primeiro estágio. O rendimento da etapa utilizando H₂SO₄ foi maior do que a utilizando NaOH, o que significa que o hidróxido proporcionou uma maior degradação dos componentes do bagaço do que o ácido, muito provavelmente porque em meio alcalino ocorre uma solubilização maior de lignina do que dos outros componentes e meio ácido ocorre uma maior solubilização das hemiceluloses, e como a lignina possui uma maior massa e está presente em maior quantidade que as hemiceluloses, sua degradação, num mesmo patamar de degradação das hemiceluloses, provoca uma maior perda de massa e conseqüentemente, um menor rendimento.

Um fato importante a ressaltar nos resultados de rendimento obtidos no estágio de tratamento enzimático, é que nos dois casos o rendimento foi maior do que 95%, o que significa que o tratamento enzimático não foi muito eficiente, levando-se em conta seu princípio de utilização, a remoção de hemiceluloses.

No estágio de extração alcalina, o rendimento da via ácida foi menor que o da alcalina. O que pode explicar tal fato é que em meio alcalino, como mencionado anteriormente, ocorre uma maior solubilização da lignina. Então, era de se esperar material que contivesse um maior teor de lignina também tivesse uma maior perda de massa nessa etapa, e conseqüentemente, um menor rendimento. O material da via ácida havia passado, até então, por dois estágios de majoritária eliminação das hemiceluloses, enquanto que o material da via alcalina havia passado por um estágio de eliminação de lignina e outro de eliminação de hemicelulose, ou seja, o material da via ácida possuía um maior teor de lignina, que fez com que ele perdesse mais massa e seu rendimento nessa etapa fosse menor.

Levando-se em conta o princípio de utilização do peróxido nas vias estudadas, o rendimento obtido de 95% foi devido aos materiais tratados quimicamente com H_2O_2 já possuírem um teor de lignina muito baixo, ocasionado pelos tratamentos anteriores, ou seja, já havia pouca lignina para ser removida. Os materiais obtidos depois desse estágio apresentavam uma coloração mais clara, tendendo ao branco, o que mostra que nessa etapa ocorreu a remoção de cromóforos que eram responsáveis pela coloração escura do material até então.

Com a análise da composição química foi possível comprovar o que foi analisado pelos resultados de rendimento. Depois do tratamento com H_2SO_4 foi produzido um material com um teor bem menor de hemicelulose do que o material original, ocorrendo também solubilização de lignina, mas em uma proporção menor. Outros trabalhos encontrados na literatura também reportaram esse comportamento. Guo et al. (2009) produziram, após o tratamento do bagaço com ácido sulfúrico a 4% (m/m), um material com 61,90% de celulose, 3,20% de hemiceluloses e 26,50% de lignina. Rocha et al. (2010) ao tratarem o bagaço de cana com ácido sulfúrico obtiveram como resultado uma baixa remoção de lignina em comparação com a remoção de hemiceluloses. Já no tratamento com NaOH, foi obtido um material bem mais pobre em lignina, que em meio alcalino é mais degradada que os outros componentes. Ocorreu também a diminuição do teor de hemiceluloses.

Nos dois casos, após o tratamento enzimático houve a diminuição, em maior proporção, de hemicelulose e também de lignina e com as etapas de extração alcalina seguida da etapa com peróxido de hidrogênio foram obtidos materiais com um baixo teor de lignina (menor que 3%) e um alto teor de celulose (aproximadamente 90%), mostrando que as duas vias escolhidas foram eficientes na obtenção de celulose com significativa pureza.

Nas tabelas 4 e 5 encontram-se os rendimentos e a composição química dos materiais obtidos para cada etapa de tratamento da palha nas duas vias utilizadas:

Tabela 4: Composição dos materiais obtidos no tratamento da palha pela via ácida

Etapas	Rendimento (%)	Celulose (%)	Lignina (%)	Hemicelulose (%)	Cinzas (%)	Total (%)
IN	0,00	40,58 ± 0,14	31,10 ± 0,63	25,77 ± 0,21	2,56 ± 0,55	100,01
A	60,21	60,29 ± 0,45	24,68 ± 0,52	12,50 ± 0,58	2,79 ± 0,31	100,26
X	96,98	67,45 ± 0,33	22,72 ± 0,42	8,15 ± 0,17	2,01 ± 0,45	100,33
E	59,72	83,65 ± 0,56	5,78 ± 0,55	6,82 ± 0,25	1,79 ± 0,36	98,04
QH	97,00	89,17 ± 0,25	3,78 ± 0,14	6,54 ± 0,66	0,78 ± 0,10	100,27

(IN = palha in natura; A = estágio com H₂SO₄; X = estágio com xilanase; E = estágio de extração alcalina; QH = estágio de quelação seguido de branqueamento com H₂O₂)

Tabela 5: Composição dos materiais obtidos no tratamento da palha pela via alcalina

Etapas	Rendimento (%)	Celulose (%)	Lignina (%)	Hemicelulose (%)	Cinzas (%)	Total (%)
IN	0,00	40,58 ± 0,14	31,10 ± 0,63	25,77 ± 0,21	2,56 ± 0,55	100,01
B	49,26	66,08 ± 0,47	15,51 ± 0,21	16,38 ± 0,74	2,06 ± 0,15	100,03
X	98,00	74,15 ± 0,30	12,91 ± 0,47	11,86 ± 0,26	1,83 ± 0,14	100,75
E	75,40	87,98 ± 0,47	3,21 ± 0,30	8,31 ± 0,36	2,01 ± 0,15	100,33
QH	97,00	88,27 ± 0,36	2,77 ± 0,89	7,72 ± 0,14	0,77 ± 0,09	100,15

(IN = palha in natura; B = estágio com NaOH; X = estágio com xilanase; E = estágio de extração alcalina; QH = estágio de quelação seguido de branqueamento com H₂O₂).

Ao analisar os resultados das tabelas 4 e 5 foi observado que ocorreu com a palha, numa comparação entre os valores de rendimento dos diferentes estágios das duas vias, o mesmo que com o bagaço, mostrando que os dois materiais, apesar de possuírem morfologia diferente, apresentaram a mesma tendência de comportamento. Por outro lado, essa diferença morfológica entre a palha e o bagaço foi a responsável pela diferença entre os valores de rendimento numa comparação entre as mesmas etapas.

O mesmo comportamento na constituição química apresentado no tratamento do bagaço foi encontrado para a palha, sendo que no final das duas vias foram produzidos materiais com alto teor de celulose e baixo teor de lignina, mostrando a eficiência dos processos com a palha de cana também. Esse mesmo comportamento foi observado por Chen; Han; Xu (2008) quando trataram a palha de trigo com NaOH quando produziram um material com 67,00% de celulose e apenas 6,00% de lignina.

Nas tabelas 6 a 9 encontram-se os rendimentos e a composição química dos materiais obtidos para cada etapa de tratamento do bagaço e da palha na vias controle, sem as etapas de tratamento enzimático e extração alcalina.

Tabela 6: Composição dos materiais obtidos no tratamento do bagaço pela via ácida controle

Etapas	Rendimento (%)	Celulose (%)	Lignina (%)	Hemicelulose (%)	Cinzas (%)	Total (%)
IN	0,00	46,42 ± 0,25	28,09 ± 0,65	23,97 ± 0,28	1,52 ± 0,63	100,00
A	55,56	59,73 ± 0,58	25,81 ± 0,52	11,31 ± 0,47	2,21 ± 0,36	99,06
QH	85,00	73,73 ± 0,39	10,81 ± 0,12	13,89 ± 0,51	1,21 ± 0,08	99,64

(IN = bagaço in natura; A = estágio com H₂SO₄; QH = estágio de quelação seguido de branqueamento com H₂O₂).

Tabela 7: Composição dos materiais obtidos no tratamento do bagaço pela via alcalina controle

Etapas	Rendimento (%)	Celulose (%)	Lignina (%)	Hemicelulose (%)	Cinzas (%)	Total (%)
IN	0,00	46,42 ± 0,25	28,09 ± 0,65	23,97 ± 0,28	1,52 ± 0,63	100,00
B	48,91	66,26 ± 0,58	14,47 ± 0,52	16,99 ± 0,47	1,26 ± 0,36	99,29
QH	85,00	75,36 ± 0,57	6,55 ± 0,23	18,43 ± 0,45	0,90 ± 0,13	101,24

(IN = bagaço in natura; B = estágio com NaOH; QH = estágio de quelação seguido de branqueamento com H₂O₂).

Tabela 8: Composição dos materiais obtidos no tratamento da palha pela via ácida controle

Etapas	Rendimento (%)	Celulose (%)	Lignina (%)	Hemicelulose (%)	Cinzas (%)	Total (%)
IN	0,00	40,58 ± 0,14	31,10 ± 0,63	25,77 ± 0,21	2,56 ± 0,55	100,01
A	60,21	60,29 ± 0,45	24,68 ± 0,52	12,50 ± 0,58	2,79 ± 0,31	100,26
QH	90,00	74,78 ± 0,56	10,43 ± 0,28	13,56 ± 0,36	0,95 ± 0,11	99,72

(IN = palha in natura; A = estágio com H₂SO₄; QH = estágio de quelação seguido de branqueamento com H₂O₂).

Tabela 9: Composição dos materiais obtidos no tratamento da palha pela via alcalina controle

Etapas	Rendimento (%)	Celulose (%)	Lignina (%)	Hemicelulose (%)	Cinzas (%)	Total (%)
IN	0,00	40,58 $\pm$ 0,14	31,10 $\pm$ 0,63	25,77 $\pm$ 0,21	2,56 $\pm$ 0,55	100,01
B	49,26	66,08 $\pm$ 0,47	15,51 $\pm$ 0,21	16,38 $\pm$ 0,74	2,06 $\pm$ 0,15	100,03
QH	90,00	70,57 $\pm$ 0,60	13,89 $\pm$ 0,50	15,03 $\pm$ 0,21	0,60 $\pm$ 0,08	100,09

(IN = palha in natura; B = estágio com NaOH; QH = estágio de quelação seguido de branqueamento com H₂O₂).

Os valores para o rendimento dos primeiros estágios (A e B) são os mesmos, pois não houve diferenciação nesse estágio. Já para o estágio de branqueamento, nas vias controles os rendimentos obtidos foram menores em todos os casos, em comparação com os rendimentos das vias em que houve tratamento enzimático e extração alcalina. A mesma teoria utilizada para explicar a diferença de rendimento da extração alcalina nas vias biotecnológicas, pode ser aplicada nesse caso. Os materiais utilizados nas vias controles, muito provavelmente, possuíam uma quantidade de lignina bem maior do que os das vias biotecnológicas antes de estágio com H₂O₂, e como esse estágio é de eliminação preferencial de lignina, uma maior quantidade desse componente pôde ser eliminado nas vias controle, provocando um menor rendimento.

Os materiais obtidos pelas vias controle possuíam um teor de celulose menor em relação os obtidos pelas vias biotecnológicas, além de um maior teor de lignina. Isso mostra que só as etapas de tratamento químico e utilizando peróxido, nas condições utilizadas, não são suficientes para produzir um material com alta pureza de celulose. Seriam necessárias então, algumas etapas a mais, como utilizado nas vias com tratamento enzimático seguido por uma extração alcalina, ou condições mais drásticas nos dois tratamentos utilizados, como aumento da concentração de reagentes ou da temperatura, sempre se levando em conta que se devem minimizar as perdas principalmente de celulose.

Para uma melhor compreensão dos processos, foi realizado também um estudo das perdas de cada componente dos materiais estudados após a realização de cada etapa das vias utilizadas.

Tabela 10: Perda percentual dos componentes dos materiais obtidos no tratamento do bagaço pela via ácida

Etapa	Celulose (%)	Lignina (%)	Hemicelulose (%)	Cinzas (%)
A	28,50	48,95	73,80	19,08
X	0,00	8,16	19,75	15,45
E	15,40	88,91	53,37	37,50
QH	1,32	44,52	15,75	63,07
Total	40,31	97,11	91,74	84,21

(A = estágio com H_2SO_4 ; X = estágio com xilanase; E = estágio de extração alcalina; QH = estágio de quelação seguido de branqueamento com H_2O_2)

Pela análise da tabela 10 verificou-se que o tratamento ácido do bagaço proporcionou uma alta remoção de hemiceluloses (73,80%), que em meio ácido são hidrolisadas em açúcares de menor massa molar (xilose, arabinose, entre outros), os quais são solubilizados e se encontram no licor obtido na filtração do material após o término da reação. Esse comportamento pode ser explicado pelo fato das hemiceluloses apresentarem caráter relativamente amorfo, grande polidispersidade e grau de polimerização bastante inferior ao da celulose nativa (geralmente não ultrapassando o valor médio de 200 unidades de anidroaçúcar), fazendo com que esta fração se torne muito mais susceptível à hidrólise no pré-tratamento ácido do que a fração celulósica (FENGEL; WEGENER, 1989; PITARELO, 2007). Rocha et al. (2010) alcançaram no pré-tratamento ácido do bagaço de cana uma solubilização de 90,90% de hemiceluloses, confirmando a tendência de uma maior remoção desse composto em meio ácido. A reação do bagaço com H_2SO_4 também proporcionou uma considerável remoção de lignina (48,95%), provocada principalmente por quebras da estrutura ligninolítica e uma baixa taxa de ocorrência de reações de condensação, as quais são responsáveis pela baixa dissolução da lignina em meio ácido. Além disso, também houve perda de celulose (28,50%) mostrando que, além da extensa hidrólise da fração hemicelulósica, o tratamento em meio ácido também hidrolisou uma parte da celulose, sendo provavelmente grande parte de celulose amorfa ou de baixa cristalinidade, tornando a fração celulósica remanescente mais susceptível à ação de outros reagentes (HODGE et al., 2008; ROCHA et al., 2010).

A etapa de tratamento com xilanase provocou a remoção de hemicelulose (19,75%), em maior quantidade, e de lignina (8,16%), deixando a celulose intacta, diferente de outros trabalhos que reportaram a perda de celulose com o tratamento enzimático com xilanase. Moriya (2007), num estudo de biobranqueamento, reportou perda de até 35,0% de celulose

após tratar polpa acetosolv com carga de xilanase de 50,0UI/g de polpa seca. A remoção de lignina juntamente com a de hemicelulose é devido ao fato de que a remoção da estrutura hemicelulósica pela xilanase separa as ligações de lignina-carboidrato e facilita a remoção de fragmentos lignina que foram formados nos tratamentos anteriores (MORIYA, 2007).

A etapa de extração alcalina provocou uma elevada perda de lignina (88,91), confirmando que em meio alcalino ocorre uma maior eliminação de lignina do que em meio ácido. Nesse caso, em meio alcalino ocorreu o dobro de eliminação de lignina do que em meio ácido. Houve também remoção de hemicelulose (53,37%) e de celulose (15,40%). Em meio alcalino, os carboidratos sofrem reação de peeling, que ocasiona sua degradação. O tratamento enzimático realizado anteriormente fez com que as hemiceluloses ficassem mais susceptíveis a esse tipo de reação, o que fez com que obtivesse um alto grau de remoção. Já a celulose, mesmo estando mais exposta por conta da eliminação de parte das hemiceluloses e da lignina nas etapas de tratamento anteriores, não sofreu uma degradação tão grande, devido principalmente a sua cristalinidade, a qual dificulta o rompimento da estrutura celulósica.

Após o estágio com peróxido de hidrogênio o material obtido apresentou-se bem mais claro que material utilizado para esse estágio. Esse clareamento foi resultado da remoção da lignina e, em menor proporção, das hemiceluloses residuais. Estudos realizados anteriormente a esse trabalho atribuíram a coloração escura de polpas celulósicas à lignina residual e à degradação das hemiceluloses, que dão origem aos compostos cromóforos, conferindo coloração mais escura ao material (ZIOBRO, 1990; PATEL et al., 1993).

Tabela 11: Perda percentual dos componentes dos materiais obtidos no tratamento do bagaço pela via alcalina

Etapa	Celulose (%)	Lignina (%)	Hemicelulose (%)	Cinzas (%)
B	30,18	74,30	65,31	76,18
X	0,00	11,77	37,18	12,90
E	6,17	72,53	33,72	35,19
QH	1,32	44,57	16,47	22,86
Total	35,35	96,55	87,40	82,34

(B = estágio com NaOH; X = estágio com xilanase; E = estágio de extração alcalina; QH = estágio de quelação seguido de branqueamento com H₂O₂)

Na via alcalina, com o tratamento com NaOH, ocorreu uma grande perda de lignina (74,30%), sendo essa perda cerca de 52% maior do que no tratamento em meio ácido,

mostrando uma maior facilidade, devido a sua estrutura, de degradação da lignina em um meio alcalino do que num meio ácido. Ocorreram também perdas de celulose (30,18%) e de hemiceluloses (65,31%). Como os valores de perda de celulose nas duas vias foram muito parecidos, pode-se afirmar que a celulose do bagaço é susceptível em mesma proporção tanto ao ataque ácido, em que ela é hidrolisada, formando oligômeros, dímeros e monômeros, quanto ao ataque básico, cujo mecanismo é diferente e a celulose é atacada somente nas pontas redutoras, formando unicamente unidades de glicose. Assim como em meio ácido, a menor cristalinidade e o menor grau de polimerização proporcionaram uma maior perda de hemicelulose do que de celulose, chegando a uma diferença de 44 pontos percentuais. Yu et al. (2010) ao tratarem sabugo de milho com NaOH removeram cerca de 25,00% de celulose e 52,00% de hemicelulose, valores menores aos alcançados no presente trabalho utilizando bagaço de cana, o que pode ser um indício de que a estrutura do bagaço torna seus carboidratos mais susceptíveis ao ataque do reagente alcalino.

No caso das perdas após o tratamento enzimático, assim como na via ácida, ocorreram perdas somente de lignina (11,77%) e hemiceluloses (37,18%), mas em uma maior quantidade, mostrando que o tratamento alcalino, no caso do bagaço, permitiu que a xilanase atuasse de forma mais efetiva, removendo mais hemicelulose e lignina do que no material proveniente do tratamento ácido.

Na etapa de extração alcalina, ocorreu uma grande remoção de lignina, além de hemiceluloses e celulose. No caso da lignina (44,17%) e das hemiceluloses (16,57%), em menor valor quando comparado com a via ácida, provavelmente porque a maior parte desses componentes já havia sido removida em nas etapas anteriores. Em relação à celulose, sua remoção nessa etapa foi menor para a via alcalina, evidenciando que os tratamentos das etapas anteriores dessa via não modificaram muito sua estrutura cristalina, o que dificultou sua remoção no estágio de extração alcalina.

As perdas de componentes no estágio com peróxido de hidrogênio nas duas vias foram muito parecidas, nos dois casos resultando numa significativa perda de lignina, além de hemiceluloses, os quais conferiam coloração ao material, e de celulose.

Nos gráficos das figuras 20 e 21 encontram-se o perfil de cada de perda de cada componente nas diferentes etapas utilizando como matéria-prima o bagaço.

Figura 20: Gráfico do perfil de perdas de cada componente em cada etapa da via ácida (1 = bagaço in natura; 2 = tratamento com H_2SO_4 ; 3 = tratamento com xilanase; 4 = extração alcalina; 5 = quelação e estágio com H_2O_2)

Figura 21: Gráfico do perfil de perdas de cada componente em cada etapa da via alcalina (1 = bagaço in natura; 2 = tratamento com $NaOH$; 3 = tratamento com xilanase; 4 = extração alcalina; 5 = quelação e estágio com H_2O_2)

Quando foi utilizado bagaço, na via ácida, a maior perda de hemiceluloses ocorreu na etapa de tratamento com ácido sulfúrico, sendo que a perda nesse estágio representou 80,45%

da perda total desse componente em toda a via. O mesmo aconteceu nesse estágio da via com a celulose, representando 70,70% de sua perda total, e com a lignina, com 50,39% de sua perda total. Mas vale ressaltar que para a lignina, houve também significativa perda no estágio de extração alcalina, representando 42,92% de sua perda total de lignina. Na via alcalina, a maior perda dos componentes também ocorreu na primeira etapa, que foi o tratamento químico com NaOH, sendo que para a celulose a perda nessa etapa representou 85,38% de sua perda total, para as hemiceluloses, 74,29% de sua perda total e para a lignina, 76,96% de sua perda total

A tabela 12 apresenta os resultados de perda da via ácida quando foi utilizado palha.

Tabela 12: Perda percentual dos componentes dos materiais obtidos no tratamento da palha pela via ácida

Etapa	Celulose (%)	Lignina (%)	Hemicelulose (%)	Cinzas (%)
A	10,58	52,22	70,78	34,38
X	0,00	10,70	36,79	30,36
E	19,64	84,77	50,00	47,01
QH	0,00	36,63	7,14	58,07
Total	28,11	95,88	91,42	89,84

(A = estágio com H₂SO₄; X = estágio com xilanase; E = estágio de extração alcalina; QH = estágio de quelação seguido de branqueamento com H₂O₂)

Na análise de perdas de componentes da palha no primeiro estágio da via ácida, observou-se o mesmo comportamento ocorrido com o bagaço, sendo os valores de perda de hemiceluloses (70,78%) e lignina muito (52,22%) parecidos. Já em relação à perda de celulose na primeira etapa da via, para a palha ela foi menor (10,58%), provavelmente porque o arranjo estrutural da palha não permitiu com que houvesse uma maior degradação da celulose. Tal fato não pode ser atribuído uma maior cristalinidade da celulose da palha uma vez que estudos anteriores já mostraram que a celulose da palha e a do bagaço possuem um índice de cristalinidade muito semelhante (SILVA, 2009). No entanto, pesquisadores têm reavaliado os resultados de cristalinidade nesses materiais submetidos a diferentes tratamentos, considerando o rendimento de cada etapa (MILEO, 2010). Tal avaliação não foi objeto do presente estudo. No tratamento enzimático, houve uma maior perda de hemicelulose (36,79%) utilizando palha do que quando foi utilizado bagaço, muito provavelmente por uma diferença de estrutura das hemiceluloses dos dois materiais que propiciou uma ação mais efetiva das

enzimas utilizadas após o tratamento ácido. No estágio de extração alcalina, o comportamento do material obtido a partir da palha foi muito semelhante com o obtido a partir do bagaço, com valores de perda de componentes muito semelhantes e com eliminação em sua maioria de lignina. Já na etapa com H_2O_2 , utilizando palha e comparado quando se utilizou bagaço, ocorreu uma menor perda de hemiceluloses e de lignina, que foram eliminados, em sua maior parte, nos estágios anteriores.

Na tabela 13 estão os resultados de perda de componentes da via alcalina para a palha.

Tabela 13: Perda percentual dos componentes dos materiais obtidos no tratamento da palha pela via alcalina

Etapas	Celulose (%)	Lignina (%)	Hemicelulose (%)	Cinzas (%)
B	19,78	75,43	68,68	59,98
X	0,00	18,45	29,00	16,19
E	1,63	81,22	47,12	17,05
QH	2,66	16,24	9,90	63,01
Total	21,71	96,85	89,41	89,45

(B = estágio com NaOH; X = estágio com xilanase; E = estágio de extração alcalina; QH = estágio de quebração seguido de branqueamento com H_2O_2)

Na via alcalina ocorreu o mesmo que na via ácida na primeira etapa. Os valores de perda de hemiceluloses (68,68%) e lignina (75,43%), tanto para a palha quanto para o bagaço foram muito parecidos e para a perda de celulose, para o bagaço esse valor foi maior. Numa comparação entre as duas vias utilizando palha, houve uma maior perda de celulose utilizando-se hidróxido de sódio (19,78%) do que se utilizando ácido sulfúrico (10,58%), mostrando que a estrutura da palha deixa a celulose mais susceptível ao ataque alcalino do que ao ataque ácido, ao contrário do bagaço, em que não houve muita diferença de perda de celulose entre os dois tratamentos. O tratamento com xilanase na via alcalina usando palha obteve uma menor perda de hemicelulose do que quando foi utilizado bagaço, e ao mesmo tempo essa perda foi menor do que a da via ácida, o contrário do que aconteceu com o bagaço, confirmando a diferença de estrutura existente entre as duas hemiceluloses, fazendo com que a enzima atue de modo diferenciado. Na etapa de extração alcalina da via alcalina houve uma menor perda de celulose do que na via ácida, além de uma grande perda lignina e hemiceluloses como nos outros casos estudados. E no estágio com peróxido houve perda de lignina e hemiceluloses, mas em menor proporção que nas outras etapas, pois já haviam sido

removidos, em sua maioria, nas outras etapas, fazendo com que se obtivesse um material com coloração mais clara.

Nos gráficos das figuras 22 e 23 encontram-se o perfil de cada de perda de cada componente nas diferentes etapas utilizando como matéria-prima a palha.

Figura 22: Gráfico do perfil de perdas de cada componente em cada etapa da via ácida (1 = palha in natura; 2 = tratamento com H_2SO_4 ; 3 = tratamento com xilanase; 4 = extração alcalina; 5 = quelação e estágio com H_2O_2)

Figura 23: Gráfico do perfil de perdas de cada componente em cada etapa da via alcalina (1 = palha in natura; 2 = tratamento com NaOH; 3 = tratamento com xilanase; 4 = extração alcalina; 5 = quelação e estágio com H_2O_2)

Analisando os gráficos das figuras 22 e 23 foi possível observar que no caso da palha, na via ácida, a maior perda de hemiceluloses e lignina, assim como para o bagaço, aconteceram no primeiro estágio. Nessa etapa, a perda de hemiceluloses representou 77,43% de sua perda total e para a lignina, 54,46% de sua perda total. Já no caso da celulose, a maior perda ocorreu no estágio de extração alcalina, com 62,48% de toda a perda de celulose acontecendo nesse estágio, confirmando a maior susceptibilidade da celulose de palha ao ataque alcalino do que ao ácido. Na via alcalina, a maior perda dos componentes ocorreu na primeira etapa, que foi realizado o tratamento químico com NaOH, sendo que para a celulose a perda nessa etapa representou 85,34% de sua perda total, para as hemiceluloses, 76,81% de sua perda total e para a lignina, 77,88% de sua perda total.

Nos quatro casos estudados foram obtidos materiais com um alto teor de celulose e baixos teores de hemiceluloses e, principalmente, de lignina, mostrando que as vias utilizadas foram eficazes na remoção desses dois últimos componentes citados. Por outro lado, ocorreram também, principalmente no caso do bagaço de cana, perdas significativas de celulose. Esse fato é indesejável, uma vez que o objetivo final do trabalho é a utilização da celulose, e essa perda acaba afetando o rendimento final do processo, podendo torná-lo inviável.

Na figura 24 encontram-se os valores do número kappa de cada etapa em todas as vias estudadas.

Figura 24: Gráficos dos números kappa para cada estágio em cada via estudada (A = tratamento com H_2SO_4 ; B = tratamento com $NaOH$; X = tratamento com xilanase; E = extração alcalina; QH = queilação e estágio com H_2O_2)

Considerando que o número kappa é uma medida da quantidade de lignina remanescente no material, os gráficos da figura 24 confirmam que houve uma perda crescente de lignina em todo o processo para as duas matérias-primas utilizadas, e também nas duas vias de obtenção de celulose estudadas. No caso do bagaço na via ácida, a maior queda do número kappa ocorreu na etapa de extração alcalina (78,89%), uma etapa majoritariamente de degradação de lignina. Esse resultado vai de encontro ao demonstrado no gráfico de perda de componentes para esse material nessa via (figura 21) o qual mostra que nessa etapa ocorreu uma das maiores perdas de lignina. Na via alcalina, a mesma etapa também apresentou a maior perda de valor do número kappa, chegando a 63,11%. Analisando os resultados encontrados quando foi utilizada palha, tanto na via ácida quanto na via alcalina, o estágio do

processo que apresentou a maior queda do número kappa foi o de quelação seguida pelo branqueamento químico com peróxido de hidrogênio (66.74% e 69.35% respectivamente). Essa diferença ocorrida entre os dois materiais estudados nos valores de número de kappa nas diferentes etapas dos processos estudados é provavelmente devido as diferenças morfológicas existentes entre eles citadas anteriormente, o que provoca comportamentos diferentes quando eles são submetidos a um mesmo tipo de tratamento. Outro ponto importante a ser observado nos resultados de número kappa é que em todos os casos, o material resultante apresentou um baixo valor dessa propriedade, coincidindo com o encontrado na determinação de porcentagem de componentes (tabelas 2 a 5), um baixo teor de lignina. Para elucidar melhor as análises de número kappa, foram feitas relações entre esse valor e a concentração de lignina de cada material em cada etapa das vias estudadas. Esses resultados encontram-se abaixo, nos gráficos da figura 25.

Figura 25: Gráficos da relação % de lignina x número kappa

Os gráficos da figura 25 demonstram que para o bagaço a relação entre a porcentagem de lignina no material e o número kappa tendeu a uma linearidade conforme a realização de cada etapa das vias estudadas. A linearidade quase perfeita seria alcançada se fossem retirados de cada gráfico os dados do primeiro estágio de cada via (maiores concentração de lignina e número kappa). Para efeito de comparação, sem esse pontos seriam obtidas os seguintes r^2 : 0,9994 para o bagaço via ácida, 0,994 para o bagaço via alcalina, 0,9972 para a palha via ácida e 0,9853 para a palha via alcalina. Nesses primeiros estágios a estrutura da lignina foi bastante modificada, sendo desmembrada em estruturas menores as quais não foram totalmente

removidas. Na análise de número kappa, essas estruturas menores acabaram sendo consideradas como uma estrutura inteira, em outras palavras, levou a um consumo maior de permanganato de potássio e diretamente a um consumo menor de tiosulfato do que na análise dos materiais dos outros estágios, resultando num alto número kappa. Com o tratamento com xilanase, essas estruturas foram eliminadas e o resultado do número kappa, nessa etapa e nas demais, foi mais condizente com a concentração real de lignina no material, Fazendo com que essa relação obtivesse um perfil mais linear. No caso da utilização da palha, em ambas as vias, o ponto destoante ocorreu na etapa de extração alcalina, após o tratamento enzimático. Novamente as diferenças morfológicas existentes entre os dois materiais foram as responsáveis pelos resultados diferentes. Ao contrário do bagaço, utilizando-se a palha não devem ter restado estruturas de lignina de menor tamanho após os primeiros estágios, as quais apareceram após a extração alcalina, acarretando num valor de número kappa acima do esperado. Mesmo não apresentando uma tendência totalmente linear, os resultados da relação entre a concentração de lignina e o número kappa é de grande importância para a elucidação do comportamento dos componentes da biomassa durante os diferentes tratamentos químicos aos quais eles são submetidos.

Outro fato que chama a atenção é que os coeficientes angulares das curvas não mostram distinção entre bagaço e palha e sim entre o tratamento ácido ou alcalino. As ligninas dos dois materiais são diferentes, mas apresentam comportamento químico, frente ao KMnO_4 semelhante.

Na figura 26 encontram-se os valores de viscosidade de cada etapa em todas as vias estudadas.

Figura 26: Gráficos das viscosidades para cada estágio em cada via estudada (A = tratamento com H_2SO_4 ; B = tratamento com $NaOH$; X = tratamento com xilanase; E = extração alcalina; QH = quelação e estágio com H_2O_2)

A viscosidade foi determinada em função do tempo de escoamento de uma solução do material analisado, fornecendo, assim, o grau médio de polimerização da celulose, o que torna o resultado da análise uma indicação de sua degradação no tratamento químico. Os resultados de viscosidade para o bagaço na via ácida mostram que esse valor permaneceu praticamente constante durante os três primeiros estágios da via ácida, tendo um significativo aumento na etapa de quelação combinada com o branqueamento químico. Isso mostra que o tamanho da cadeia da celulose durante os tratamentos químicos não foi muito alterada, ou seja, na medida em que a viscosidade mostra o grau de substituição, a manutenção desse valor indica que as cadeias de celulose permaneceram do mesmo tamanho, e que a perda de celulose detectada na avaliação da composição química se deu pela degradação de cadeias inteiras e não somente por partes delas. O mesmo efeito aconteceu com o bagaço na via alcalina, o valor obtido na

análise de viscosidade permaneceu praticamente constante durante todo processo. Como diferença entre as duas vias, pode-se destacar que na via ácida o valor da viscosidade cresceu de maneira significativa na última etapa do processo (35.17%), já na via alcalina, esse crescimento pôde ser notado já na segunda etapa (11.52%) com um decréscimo desse valor na etapa subsequente, a de extração alcalina (8.14%). Esse decréscimo ocorreu principalmente pela ação das reações de peeling, que degradam a cadeia de celulose, diminuindo seu grau de polimerização, mesmo assim, como no caso da via ácida, na via alcalina, a perda de celulose ocorreu principalmente por perda de cadeias inteiras. Para a palha, observou-se praticamente o mesmo comportamento. Na via ácida, o valor da viscosidade tendeu a uma constância nos três primeiros estágios e aumentou no último. E na via alcalina houve uma aumento no segundo estágio, com uma diminuição na terceiro estágio, mantendo-se constante no quarto. A grande diferença entre a viscosidade dos dois materiais esteve no seu valor absoluto. Os materiais provenientes do bagaço apresentaram maior viscosidade do que seus correspondentes provenientes da palha. Isso leva a conclusão de que a celulose do bagaço apresenta um maior grau de polimerização do que a celulose de palha. O valor baixo de viscosidade encontrado para todos os materiais (entre 4 e 7 mPa*s) mostra que eles não poderiam ser utilizados na fabricação de papael, que requer um material com 25 mPa*s ou mais, e sim na produção derivados de celulose, como o acetato de celulose e a carboximetilcelulose, que não requerem uma grande resistência mecânica.

Na figura 27 estão apresentados os espectros de infravermelho dos quatros materiais obtidos.

Figura 27: Espectros de infravermelho dos quatro materiais obtidos nas vias estudadas.

Analisando o espectro de infravermelho dos materiais obtidos no final de cada via foi possível verificar que em todos os casos há uma forte presença de bandas em torno de 3500 cm^{-1} , a qual é característica de grupos OH característicos dos anéis de glicose na molécula de celulose. Outras bandas de alta intensidade apareceram em torno de $1000\text{ a }1500\text{ cm}^{-1}$, que representa o estiramento das ligações C-O, também de grande presença na cadeia de celulose, e em torno de 2900 cm^{-1} , representando estiramento da ligação C-H, típica de carboidratos. Em 1600 cm^{-1} foi detectado um pico de menor intensidade em relação aos outros picos relevantes encontrados. Tal pico é característico de ligações C=C e de núcleos aromáticos, ou seja, representam a presença de lignina no composto analisado. Como reportado anteriormente, os materiais obtidos apresentaram uma pureza em torno de 90%, com lignina residual na média de 5%, o que levou à detecção dessa molécula no material analisado.

5.2 Acetato de celulose

5.2.1 Caracterização do acetato de celulose

Com os materiais acetilados e os materiais obtidos das vias estudadas foram feitos espectros de FTIR a fim de se verificar as transformações ocorridas e caracterizar os materiais após o processo de acetilação. Os espectros obtidos estão apresentados nos gráficos das figuras abaixo.

Figura 28: Espectro de FTIR do material obtido a partir do bagaço pela via ácida antes (BAXEQH) e após (BAE) o processo de acetilação.

Figura 29: Espectro de FTIR do material obtido a partir do bagaço pela via alcalina antes (BBXEQH) e após (BBE) o processo de acetilação.

Figura 30: Espectro de FTIR do material obtido a partir da palha pela via ácida antes (PAXEQH) e após (PAE) o processo de acetilação.

Figura 31: Espectro de FTIR do material obtido a partir da palha pela via alcalina antes (PBXEQH) e após (PBE) o processo de acetilação.

Ao se analisar os espectros obtidos, nos quatro casos estudados, na comparação entre o material acetilado e o não-acetilado, formado principalmente por celulose, se observa nos materiais acetilados a aparição de bandas fortes na região de 1750 cm^{-1} , que corresponde á

ligação C=O característica do estiramento carbonila de éster. Como mostra a figura 25, após a acetilação, os grupamentos OH da cadeia celulósica são substituídos pelos grupamentos acetila, que se ligam ao anel piranosídico formando estruturas do tipo éster. O mesmo comportamento foi encontrado por outros trabalhos que também estudaram o triacetato de celulose. Pawel et al. (2004), ao estudarem cristais desse material, encontraram bandas fortes na região de 1739-1754 cm^{-1} . A substituição dos grupos OH foi evidenciada pelo desaparecimento, em todos os casos, das bandas em torno de 3300 cm^{-1} , correspondentes ao estiramento do OH celulósico. Chuan-Fu et al. (2007), ao estudarem a modificação da celulose por biftalato, também reportam o desaparecimento dessa banda na celulose biftalada. Além disso, se observam bandas fortes em torno de 1200 cm^{-1} e outra em torno de 1032 cm^{-1} , correspondentes às ligações O=C-O-CH₃, características da hibridação sp^2 do triacetato de celulose. Foi possível notar também que a banda a 3300 cm^{-1} existente nas amostras de celulose foi deslocada para 3600 cm^{-1} . Isso representa o surgimento de grupamentos OH livres, que não estão realizando ligações de hidrogênio, o que significa que o acetato obtido não foi totalmente substituído pelo grupamento acetil.

A tabela 14 apresenta as atribuições das principais bandas no espectro de FTIR do acetato de celulose.

Tabela 14: Atribuições das principais bandas no FTIR do acetato de celulose (MARK, 1999)

Posição das bandas (cm ⁻¹)	Atribuições
3490	Estiramento O-H celulósico
2960	Estiramento assimétrico CH ₃
2880	Estiramento simétrico CH ₃
1754	Estiramento de carbonila de éster
1634	Deformação da água
1429	Deformação assimétrica CH ₂
1370	Deformação simétrica CH ₃
1321	Deformação CH ₂
1240	Estiramento C-O de acetato
1157	Estiramento C-O
1120	Estiramento C-O
1052	Estiramento C-O
909	Deformação externa (oscilação) CH ₂
606	C-O dos grupos acetilas

5.2.2 Determinação do grau de substituição

O grau de substituição dos materiais obtidos foi determinado pela reação de saponificação cuja representação do mecanismo está descrito na figura 32:

Figura 32: Representação da reação de saponificação do acetato de celulose

A tabela 15 mostra o grau de substituição obtido para cada material.

Tabela 15: Grau de substituição dos materiais acetilados

Material	% Grupos Acetila	Grau de Substituição
BA via biotecnológica (BAE)	$38,36 \pm 1,80$	$2,54 \pm 0,10$
BB via biotecnológica (BBE)	$38,88 \pm 2,53$	$2,57 \pm 0,06$
PA via biotecnológica (BAE)	$41,05 \pm 2,77$	$2,72 \pm 0,19$
PB via biotecnológica (PBE)	$40,22 \pm 2,34$	$2,66 \pm 0,06$

De acordo com PULEO et al. (1989), um triacetato é caracterizado por possuir um grau de substituição maior que 2,50, sendo que o TAC comercial apresenta em média um GS de 2,88, o que corresponde a uma porcentagem de grupos acetila de 43,50%. Através de uma regra de três simples foram encontrados os GS de cada material. Analisando os resultados da tabela 23, verificou-se que todos os materiais obtidos apresentaram GS acima de 2,50, podendo, assim, serem considerados triacetatos de celulose.

5.2.3 Membranas

5.2.3.1 MEV

Foram realizadas análises por microscopia eletrônica de varredura de todas as membranas, tanto as obtidas pelo método de evaporação de solvente quanto às obtidas por

inversão de fase. Na figura 33 encontram-se as microscopias das membranas obtidas a partir do bagaço de cana pelo método de evaporação de solvente.

Figura 33: Microscopias eletrônicas das membranas obtidas a partir do bagaço de cana pelo método de evaporação do solvente (Bagaço via ácida: A = vista superior com aumento de 3000 X; B = vista inferior com aumento de 3000 X; C = vista transversal com aumento de 1500 X. Bagaço via alcalina: D = vista superior com aumento de 3000 X; E = vista inferior com aumento de 3000 X; F = vista transversal com aumento de 1500 X).

As microscopias acima mostram que, no caso do bagaço, foram obtidas membranas densas, já que não se verificou a presença de poros, e homogêneas, ideais para serem utilizadas no processo de osmose inversa. Nas superfícies inferiores foi possível detectar a presença de resíduos de material que não solubilizou no diclorometano, mas que conseguiram passar pela filtração em lã de vidro. Isso é indesejável, pois essas partículas se tornam pontos de ruptura fazendo com que a membrana não seja muito resistente. Outra característica observada pela análise das vistas transversais é que as duas membranas foram obtidas com uma espessura considerável. Isso tornou essas membranas muito rígidas, mas não conferiu resistência, pois as membranas ficaram pouco maleáveis e se rompiam com um mínimo movimento aplicado nelas. Nakanishi (2010) também estudou a produção de membranas a partir do bagaço de cana e utilizou a mesma metodologia do presente trabalho na obtenção das membranas. As membranas obtidas no referido trabalho apresentaram a mesma natureza das membranas do presente trabalho, uma superfície mais lisa, uma parte inferior com partículas de material não dissolvida e espessura considerável.

A figura 34 apresenta as microscopias eletrônicas das membranas obtidas a partir da palha de cana utilizando o método de evaporação de solvente.

Figura 34: Microscopias eletrônicas das membranas obtidas a partir da palha de cana pelo método de evaporação do solvente (Palha via ácida: A = vista superior com aumento de 3000 X; B = vista inferior com aumento de 3000 X; C = vista transversal com aumento de 1500 X. Palha via alcalina: D = vista superior com aumento de 3000 X; E = vista inferior com aumento de 3000 X; F = vista transversal com aumento de 1500 X).

Assim como para o bagaço, as membranas obtidas a partir da palha de cana também apresentaram natureza densa e homogênea. A grande diferença entre elas, como pode se visualizado em suas respectivas microscopias, está no fato de que as membranas oriundas da palha de cana apresentaram mais material não dissolvido tanto na superfície superior quanto na inferior. Isso ocorreu porque o acetato de celulose proveniente do bagaço de cana apresentou maior solubilidade do que o de palha de cana, o que também provocou uma maior retenção de material no processo de filtração em lã de vidro. Tal fato também pode ser confirmado pela espessura das membranas de palha que foi menor do que a das membranas de bagaço uma vez que havia menos material para se formar as membranas. Por outro lado, como um ponto semelhante entre as membranas foi que as de palha também apresentaram considerável rigidez e baixa resistência. Mesmo sendo menor, a espessura das membranas produzidas da palha de cana ainda exerceu influência negativa na resistência do material.

A figura 35 mostra as microscopias das membranas obtidas do bagaço de cana pelo método de inversão de fases.

Figura 35: Microscopias eletrônicas das membranas obtidas a partir do bagaço de cana pelo método de inversão de fases (Bagaço via ácida: A = vista superior com aumento de 100 X; B = vista inferior com aumento de 100 X; C = vista transversal com aumento de 1500 X. Bagaço via alcalina: D = vista superior com aumento de 100 X; E = vista inferior com aumento de 100 X; F = vista transversal com aumento de 1500 X).

Pelo método de inversão de fases também foram produzidas membranas dos tipos densa e homogênea, conforme pode ser visto nas microscopias das membranas. Uma grande diferença entre as membranas dos dois métodos de obtenção utilizados foi que pelo método de inversão de fases, as membranas produzidas possuíam uma menor espessura. Tal característica permitiu que essas membranas fossem mais maleáveis e pudessem agüentar uma determinada carga sobre elas, ao contrário das membranas obtidas pelo método de evaporação do solvente, as quais se romperam com o menor esforço. Na preparação das membranas por IF não ocorreu a filtração em lã de vidro, pois isso suas superfícies apresentaram tantas deformidades. É possível observar na figura acima a presença tanto de partículas de acetato de celulose que não se dissolveram no diclorometano quanto a presença de fibras que não foram acetiladas e ainda estavam presentes na amostra.

As microscopias das membranas obtidas da palha de cana pelo método de IF encontram-se abaixo na figura 36.

Figura 36: Microscopias eletrônicas das membranas obtidas a partir da palha de cana pelo método de evaporação do solvente (Palha via ácida: A = vista superior com aumento de 100 X; B = vista inferior com aumento de 100 X; C = vista transversal com aumento de 1500 X. Palha via alcalina: D = vista superior com aumento de 100 X; E = vista inferior com aumento de 100 X; F = vista transversal com aumento de 1500 X).

Como pode ser observado na figura acima, as membranas oriundas da palha obtidas pelo método de inversão de fase também apresentaram natureza de membrana homogênea e densa. Em comparação com as membranas provenientes do bagaço, as de palha apresentaram superfícies com mais irregularidades, as quais são materiais não solubilizados no solvente. Isso mostra que o acetato de celulose produzido a partir da palha se mostrou menos solúvel do que aquele a partir do bagaço. Em especial o material obtido da via alcalina foi o que se mostrou menos solúvel. Essa grande quantidade de resíduos prejudicou a resistência do material, uma vez que esses resíduos acabaram se transformando em pontos de ruptura, o que levou às membranas a não suportarem uma carga de pressão. Esse comportamento do acetato de celulose levou à produção de membranas bem mais finas ao se utilizar palha. O mesmo ocorreu quando se utilizou a metodologia de evaporação de solvente, o que dá um indicativo que a palha talvez não seja um material ideal para produção de membranas.

5.2.3.2 DMA

A fim de se elucidar de uma maneira mais precisa o motivo pelo qual as membranas obtidas pelo método de evaporação de solvente apresentaram baixa resistência mecânica, elas foram submetidas a ensaios de DMA.

O módulo de Young ou módulo de elasticidade é um parâmetro mecânico que proporciona uma medida da rigidez de um material sólido. É definido como a resistência de um material à deformação. Os polímeros geralmente possuem módulo de elasticidade baixos, variando entre 0,007 e 4 GPa. A diferença na magnitude do módulo de elasticidade dos metais, cerâmicas e polímeros é consequência dos diferentes tipos de ligação existentes nestes três tipos de materiais. Além disso, com o aumento da temperatura, o módulo de elasticidade diminui para praticamente todos os materiais, com exceção de alguns elastômeros.

A Tabela 16 mostra o esforço máximo (força máxima que o material suporta antes de se romper) e o Módulo de Young para cada uma das membranas sintetizadas pelo método de evaporação do solvente, além dos dados para uma membrana sintetizada a partir de um triacetato de celulose (TAC) comercial.

Tabela 16: Valores dos parâmetros obtidos na análise de DMA das membranas obtidas pelo método de evaporação de solvente

Membrana	Módulo de Young (GPa)	Esforço máximo (MPa)
BA	1,34	35,50
BB	1,67	35,64
PA	1,79	36,08
PB	1,53	37,89
Triacetato de Celulose Comercial	0,74	46,30

O módulo de elasticidade avalia a resistência do material à deformação elástica. É uma medida da sua rigidez. Quanto mais baixo o valor do Módulo, mais elástico é o comportamento do material quando sujeitos a solicitações mecânicas. Todas as membranas analisadas apresentaram módulo de Young maior do que a membrana sintetizada com triacetato comercial. Isso confirma a tese levantada na análise das microscopias. As membranas obtidas pelo método de evaporação do solvente apresentaram uma significativa rigidez, o que não permitiu que elas resistissem ao mínimo esforço aplicado sobre elas no teste de permeabilidade e acabassem se rompendo. Essa falta de resistência pode ser comprovada pelos resultados de esforço máximo que ficaram abaixo do valor alcançado pela membrana de triacetato comercial. Nakanishi (2010), também obteve módulo de Young maior para as membranas se bagaço, mostrando que seu material também apresentava baixa elasticidade. Contudo, alcançou resultados de esforço máximo algumas vezes maior do que a membrana de triacetato comercial.

Na figura 37 está representado o gráfico de Esforço – Deformação para a amostra BA (membrana obtida a partir do bagaço pela via ácida). As outras membranas apresentaram o mesmo comportamento mostrado no gráfico abaixo.

Figura 37: Gráfico do perfil obtido pela membrana BA na análise de DMA

A curva de esforço-deformação apresentada para as amostras é característica de polímeros frágeis, com inclinação muito íngreme (indicando alta rigidez), e que se rompe após uma elongação bem curta. Alguns parâmetros que estão relacionados à fragilidade do polímero são a cristalinidade, a massa molecular e a temperatura de transição vítrea do material.

5.2.3.3 Permeabilidade

Como mencionado anteriormente, as membranas obtidas pelo método de evaporação de solvente se apresentaram muito frágeis e não foi possível realizar as testes de permeabilidade com elas. O mesmo aconteceu com as membranas oriundas da palha obtidas pelo método de inversão de fases, apesar de apresentarem aparentemente uma maior elasticidade, a quantidade elevada de material insolúvel presente na estrutura da membrana impediu que esta suportasse

uma mínima carga de pressão. Com isso, só foi possível realizar esse teste com as membranas oriundas do bagaço.

As figuras 38 e 39 apresentam os perfis obtidos no teste de permeabilidade realizado com as membranas de bagaço.

Figura 38: Gráfico do perfil obtido pela membrana BA no teste de permeabilidade

Figura 39: Gráfico do perfil obtido pela membrana BB no teste de permeabilidade

Na análise dos gráficos das figuras 38 e 39 foi possível analisar que, apesar de suportarem certa carga de pressão, a carga máxima suportada foi muito baixa, 0,8 bar para a membrana da via ácida e 1,0 bar para a membrana da via básica. Segundo Mulder (1996) uma membrana ideal para o processo de osmose inversa deve suportar pressões de 10 a 100 bar. Quanto ao fluxo, o mesmo autor cita que uma membrana utilizada no processo de osmose inversa deve possuir um fluxo de 0,05 a 1,4 a $\text{L/m}^2\cdot\text{h}$. A membrana da via ácida estabilizou num fluxo em torno de 0,7 $\text{L/m}^2\cdot\text{h}$ a pressão de 0,6 bar, ficando dentro da faixa esperada, enquanto que a membrana da via básica, estabilizou num fluxo em torno de 4,0 $\text{L/m}^2\cdot\text{h}$ a pressão de 0,8 bar, apresentando um resultado acima da faixa estipulada. Ao analisar o gráfico dessa membrana é possível notar que a essa pressão não foi apresentado claramente um perfil de estabilidade ao final de 60 min, tempo no qual houve a mudança de pressão, ou seja, se houvesse sido colhetados mais pontos, provavelmente o resultado final de fluxo seria menor e ficaria dentro da faixa estipulada. Para chegar a esses resultados foram utilizados os dados obtidos na pressão anterior ao rompimento das membranas. A membrana da via ácida rompeu-se a 0,8 bar e a membrana da via básica, a 1,0 bar. Utilizando o mesmo método de obtenção de membranas e a mesma matéria-prima, Nakanishi (2010) alcançou fluxos de 3,5 a 6,1 $\text{L/m}^2\cdot\text{h}$. No entanto, suas membranas apresentaram uma estrutura porosa, sendo consideradas membranas a serem utilizadas em processos de nanofiltração. O que dá uma indicação de quanto mais porosa for a membrana, maior deve ser o fluxo apresentado por ela. Foi possível perceber também que em ambos os casos ocorreu uma diminuição no fluxo durante o experimento. Essa diminuição está relacionada com a compactação da membrana pela pressão utilizada na operação (ARTHANAREESWARAN et al, 2004; MEIRELES et al, 2008).

5.2.3.4 Remoção de Cu^{2+}

Como a maioria das membranas obtidas não suportou o mínimo de pressão exercida sobre elas e as que suportaram, o fez em pressão muito baixa, só foi possível realizar o teste de remoção de cobre em estado estacionário, conforme descrito no item 4.11. Nas tabelas 17 e 18 são apresentados os resultados desse teste.

Tabela 17: Resultados do teste remoção de cobre em estado estacionário para as membranas obtidas pelo método de evaporação do solvente.

Membrana	% Remoção de Cu²⁺
BA	17,25
BB	14,15
PA	16,89
PB	13,15

Tabela 18: Resultados do teste remoção de cobre em estado estacionário para as membranas obtidas pelo método de inversão de fases.

Membrana	% Remoção de Cu²⁺
BA	17,42
BB	19,37
PA	13,56
PB	12,10

Apesar de ter sido um teste preliminar, os resultados obtidos na remoção de íons cobre em estado estacionário mostram que as membranas obtidas possuem potencial para tal aplicação, pois foram capazes de remover, na média, cerca de 15,00% desse íon em solução. Isso é um indício que em fluxo contínuo, em que a transferência de massa é melhor, pode haver uma remoção ainda maior de íons em solução. No mesmo teste, Nakanishi (2010), para as membranas obtidas por evaporação do solvente também conseguiu, em média, uma retenção de 15,00 de íons cobre, e com as membranas produzidas pelo método de inversão de fases, em alguns casos chegou a 35,00% de retenção.

5.3 Carboximetilcelulose

5.3.1 Grau de Substituição

Na tabela 19 estão os resultados do grau de substituição das CMCs obtidas.

Tabela 19: Grau de substituição das CMCs obtidas

Material	Grau de Substituição (GS)
BA	0,59
BB	0,51
PA	0,40
PB	0,57
CMC comercial	0,46

O grau de substituição é um fator de grande importância na solubilidade em água da carboximetilcelulose. Abaixo de 0,4, a CMC é expansível, porém é insolúvel. Acima desse valor, a CMC é completamente solúvel e sua hidrofilidade aumenta conforme aumenta seu

grau de substituição (WARRING;PARSSONS, 2001). Analisando os resultados da tabela 1, foi possível constatar que quase em todos os casos foram produzidos CMC com grau de substituição maior do que 0,4, o que permite que esses materiais apresentem solubilidade em água. Já no caso da amostra obtida a partir de palha utilizando a via ácida (PA), seu grau foi de substituição foi de exatamente 0,4. Seguindo a lógica descrita acima, essa CMC é a que apresenta a menor solubilidade em água, podendo inclusive não ser totalmente solúvel, pois seu GS está no limite exato entre o material ser solúvel ou não. Esse resultado mostra que a reação de carboximetilação não apresentou grande eficiência. Vale ressaltar que essa amostra de celulose (PA) foi a que apresentou o maior teor de lignina, o que provavelmente acarretou numa menor eficiência dos reagentes de carboximetilação de reagirem com a celulose. Em outras palavras, a lignina acabou competindo, principalmente com o NaOH da etapa de alcalinização, produzindo um material com baixo GS. Essa relação pode ser mais bem visualizada no gráfico da figura 40.

Figura 40: Gráfico da relação entre o grau de substituição das CMCs e o teor de lignina existente nos materiais antes da carboximetilação.

O gráfico acima mostra realmente que há uma tendência linear na relação entre a porcentagem de lignina presente na celulose antes da reação de carboximetilação e o grau de substituição da CMC produzida.

Os resultados das outras amostras podem ser considerados satisfatórios, uma vez que eles ficaram bem acima de 0.4 e inclusive foram maiores do que o valor de GS da CMC comercial, mostrando que essas amostras tem grande potencial comercial. Outros autores também já estudaram a obtenção de CMC a partir de outros resíduos agrícolas e alcançaram materiais com alto GS. Togrul;Arslan (2003) estudaram a obtenção de CMC a partir de celulose de beterraba e alcançaram como maior valor de 0.67. Adinugraha;Marseno;Haryadi (2005) obtiveram uma CMC a partir do pseudo caule da bananeira com grau de substituição de 0.75.

5.3.2 Caracterização

Foi realizada também uma caracterização física por meio de análise de infravermelho das amostras de CMC. OS gráficos apresentando esses resultados encontram-se nas figuras abaixo:

Figura 41: Espectro de FTIR do material obtido a partir do bagaço pela via ácida antes (celulose) e após (CMC) o processo de carboximetilação.

Figura 42: Espectro de FTIR do material obtido a partir do bagaço pela via alcalina antes (celulose) e após (CMC) o processo de carboximetilação.

Figura 43: Espectro de FTIR do material obtido a partir da palha pela via ácida antes (celulose) e após (CMC) o processo de carboximetilação.

Figura 44: Espectro de FTIR do material obtido a partir da palha pela via alcalina antes (celulose) e após (CMC) o processo de carboximetilação.

Ao se analisar os espectros obtidos, nos quatro casos estudados, na comparação entre o material carboximetilado e o não-carboximetilado, formado principalmente por celulose, se observa nos materiais acetilados a aparição de bandas fortes na região de 1600 e 1400 cm^{-1} , que indicam a presença do substituinte carboximetil. De acordo com Pecsok et al. (1976), os grupos carboxilas, bem como seus sais, são detectados em comprimentos de ondas entre 1600 - 1640 cm^{-1} e 1400 - 1450 cm^{-1} . O mesmo comportamento foi encontrado por outros trabalhos que também estudaram a obtenção de CMC. Adinugraha; Marseno; Haryadi (2005), ao estudarem a síntese desse material, encontrou bandas fortes na região de 1620 e 1420 cm^{-1} . Assim como na obtenção de acetato de celulose, na obtenção de CMC também foi possível notar que a banda a 3300 cm^{-1} existente nas amostras de celulose foi deslocada para 3600 cm^{-1} , o que representa o surgimento de grupamentos OH livres, que não estão realizando ligações de hidrogênio, o que significa que a CMC obtida não foi totalmente substituída pelo grupamento carboximetil.

Foi realizada também a análise de determinação da porcentagem de CMC de cada amostra. Os resultados obtidos encontram-se na tabela abaixo.

Tabela 20: Porcentagem de CMC nas amostras obtidas

Material	% de CMC
BA	86,33
BB	80,33
PA	88,39
PB	78,36
CMC comercial	99,95

O grau de substituição representa quantos grupos OH da molécula de glicose foram substituídos pelo grupamento carboximetil. Apenas os grupos OH dos carbonos 2, 3 e 6 estão disponíveis, ou seja, a CMC obtida pode ser mono, di ou tri substituída. De acordo com a metodologia utilizada, a faixa de GS varia de 0.4-1.3, sendo que um GS de 0.4 representa uma cadeia monosubstituída e um GS de 1.3, uma cadeia totalmente trisubstituída. A variação do GS dentro dessa faixa ocorre conforme o número de moléculas de glicose mono, di ou trisubstituídas. Já a porcentagem de CMC na amostra, represente a quantidade de CMC obtida, independente do grau de substituição. O quanto de celulose virou CMC, independente dela ser obtida na forma mono, di ou trisubstituída. Uma amostra dessa independência está no fato de que a CMC que apresentou o menor GS, foi a que apresentou a maior pureza. Esse resultado reforça a teoria de que a presença de lignina prejudica o processo. Com mais lignina atuando, foi impossível substituir um maior número de OH livres dos anéis de glicose, o que provocou o baixo GS. Por outro lado, a reação acabou ocorrendo numa maior extensão da cadeia de celulose, fazendo com que mais anéis passassem pela substituição por caboximetil, mesmo que só um OH fosse substituído. Nos outros casos, aconteceu o contrário. Os reagentes puderam agir mais em mesmo anel, restando mais anéis sem substituição, reduzindo assim a pureza da amostra de CMC. Contudo, pode-se afirmar que foram obtidos materiais com satisfatório grau de pureza, já que 3 deles apresentaram pureza maior do que 80%. Adinugraha; Marseno; Haryadi (2005) alcançaram uma pureza de 98.23% em uma das CMCs produzidas em seu estudo e obtiveram como maior valor para esse parâmetro 68.00%.

5.4 Hidrólise Enzimática

Foram realizados ensaios de hidrólise enzimática com os todos os materiais obtidos nas duas vias e para as duas matérias-primas utilizadas, com o objetivo de se avaliar o efeito de cada etapa na conversão de celulose, sendo os resultados apresentados nas tabelas 21 a 24.

Tabela 21: Conversão enzimática de celulose na rota ácida para o bagaço de cana.

Etapa	Volume do hidrolisado (mL)	Concentração de xilose no hidrolisado (g/L)	Concentração de glicose no hidrolisado (g/L)	Conversão de celulose (%)
IN	9,33 ± 2,52	3,76 ± 0,48	12,75 ± 0,97	10,24 ± 0,89
A	21,67 ± 0,58	2,80 ± 0,70	11,36 ± 0,58	16,82 ± 1,00
X	22,00 ± 1,41	6,71 ± 0,14	16,18 ± 0,38	23,39 ± 0,38
E	21,30 ± 0,14	13,09 ± 1,30	82,55 ± 4,37	73,35 ± 0,17
QH	27,50 ± 0,71	2,28 ± 0,06	88,14 ± 1,41	85,86 ± 0,99

(IN = bagaço in natura; A = estágio com H₂SO₄; X = estágio com xilanase; E = estágio de extração alcalina; QH = estágio de quebração seguido de branqueamento com H₂O₂)

Observando-se os resultados da tabela 21, foi possível notar um aumento da conversão de celulose à medida que os tratamentos foram sendo realizados. Na hidrólise enzimática do bagaço in natura foi alcançada a menor conversão, confirmando a necessidade do pré-tratamento no material bruto, o qual apresenta uma maior quantidade de lignina e hemicelulose que atuam como uma barreira física, impedindo o acesso do complexo enzimático à celulose, além de uma maior cristalinidade da celulose que ainda não foi modificada estruturalmente. Outros trabalhos também reportaram uma baixa conversão do bagaço in natura. Silva (2009) e Rocha et al. (2010) alcançaram uma conversão de 6,0% para o material sem tratamento algum. Hernández-Salas et al (2009), num estudo de sacarificação de bagaço de cana e de agave, apresentaram como resultado de conversão a concentração de açúcares redutores formados na degradação da celulose relacionada com a massa seca de material, sendo que os menores valores dessa relação foram obtidos com os materiais in natura, menos que 10% de conversão. Com o tratamento ácido, já foi possível obter um aumento na conversão enzimática (64,25%). Nessa etapa de tratamento, ocorreu uma considerável remoção de hemicelulose e de lignina e uma mudança estrutural na celulose, o que facilitou a ação enzimática. Mesmo com um incremento na conversão, esse valor ainda pode ser considerado insatisfatório, pois apenas 16,82% da celulose foram hidrolisadas à glicose. Chen;Zhao;Xia (2009) estudaram diferentes pré-tratamentos da palha de milho antes do tratamento enzimático e o pré-tratamento com ácido sulfúrico foi o que apresentou os piores resultados de conversão enzimática, alcançando uma conversão de aproximadamente

35,0 % ao final de 48 h de hidrólise enzimática, enquanto que o pré-tratamento com NaOH alcançou, no mesmo tempo de hidrólise, uma conversão de aproximadamente 80%. O tratamento com H₂SO₄ é uma etapa de eliminação majoritária de hemicelulose, o que dá um indício que a presença de hemicelulose não interfere tanto quanto a presença de lignina. A etapa de tratamento enzimático com xilanase também promoveu um aumento na conversão enzimática, porém não muito significativo. O maior aumento do valor da conversão enzimática aconteceu após o estágio de extração alcalina. Esse aumento foi da ordem de 313%, ou seja, mais de 3 vezes em relação à etapa anterior. Na extração alcalina houve uma grande perda de lignina sendo possível perceber o quanto a presença lignina pode prejudicar a hidrólise enzimática, uma vez que sua maior eliminação culminou em uma maior conversão enzimática. O branqueamento químico, com a remoção de fragmentos de lignina e de cromóforos, também proporcionou um incremento no rendimento da hidrólise enzimática. Esses resultados mostram que quanto mais pura a celulose, mais fácil será a atuação enzimática e maior será sua conversão por parte das celulasas. Nos hidrolisados obtidos também foi encontrada, em menor proporção, a presença de xilose, mostrando também a ação das xilanases presentes no extrato enzimático utilizado.

Tabela 22: Conversão enzimática de celulose na rota básica para o bagaço de cana.

Etapa	Volume do hidrolisado (mL)	Concentração de glicose no hidrolisado (g/L)	Concentração de glicose no hidrolisado (g/L)	Conversão de celulose (%)
IN	9,33 ± 2,52	3,76 ± 0,48	12,75 ± 0,97	10,24 ± 0,89
B	25,50 ± 0,71	2,40 ± 0,12	52,21 ± 1,44	65,73 ± 0,15
X	23,67 ± 0,58	8,27 ± 0,73	59,06 ± 1,69	67,23 ± 0,86
E	26,00 ± 1,41	4,36 ± 0,06	73,71 ± 1,56	73,31 ± 0,24
QH	27,00 ± 0,00	1,40 ± 0,47	91,57 ± 0,95	87,12 ± 0,21

(IN = bagaço in natura; B = estágio com NaOH; X = estágio com xilanase; E = estágio de extração alcalina; QH = estágio de quelação seguido de branqueamento com H₂O₂)

Comparando-se as duas primeiras etapas das rotas estudadas foi possível verificar que o tratamento com NaOH proporcionou um incremento maior na conversão enzimática da celulose do que o tratamento com H₂SO₄. No caso do hidróxido de sódio esse aumento foi de

mais de 700,00% e para o ácido sulfúrico, 64,25%. estudou o efeito do pré-tratamento alcalino na digestibilidade enzimática da palha de trigo e encontrou como resultado que esse tratamento foi capaz de aumentar em 3 vezes a eficiência da hidrólise enzimática do material que ele estudou. Para tanto, utilizaram uma carga de álcali no pré-tratamento de 0.5 M. No presente trabalho, essa carga foi de 10% (m/v), o que transformando em base molar, resulta em uma carga de 2.5 M, ou seja, uma maior concentração de NaOH no pré-tratamento promove uma maior conversão enzimática em relação à conversão do material in natura. ZAHO et al. (2009) pré-trataram o bagaço de cana com diferentes concentrações de NaOH e mostraram que a maior concentração utilizada (9% m/v) foi a que proporcionou o maior aumento da conversão enzimática em relação ao material in natura. Uma maior carga de álcali no tratamento do material in natura provoca uma maior solubilização da lignina, e por consequência, uma maior conversão enzimática. A diferença entre as primeiras etapas das rotas estudadas ocorreu porque no tratamento básico a perda de lignina foi maior do que no tratamento ácido (74,30% contra 48,95%). A lignina tem a capacidade de adsorver proteínas, no caso específico enzimas, quando em solução aquosa, impedindo-as de se ligarem ao seu substrato e, consequentemente, diminuindo a eficiência do processo enzimático. Deve-se considerar também a maior capacidade de inchamento das fibras (celulose) pelo meio alcalino, o que pode contribuir para diminuir a cristalinidade da celulose, aumentando sua acessibilidade. Outro aspecto importante nos resultados da rota básica é que a perda de hemicelulose nesse caso foi menor do que na primeira etapa da rota ácida. Contudo, a conversão enzimática foi maior. Isso mostra que a hemicelulose não exerce influência na ação da enzima, ou seja, o valor da conversão enzimática é independente da concentração de hemicelulose no material. Chen;Zhao;Xia (2009) também chegaram à mesma conclusão em seu estudo e afirmaram que a hemicelulose não precisa ser removida para se obter um alto rendimento na hidrólise. Deve ser considerado também o fato de que o extrato enzimático utilizado também continha xilanase, ou seja, as hemiceluloses também foram enzimaticamente degradadas durante o processo de hidrólise enzimática, fazendo com que sua interferência fosse nula. Assim como na via ácida, na via alcalina os estágios subsequentes também promoveram um aumento na conversão enzimática, com destaque para a etapa de branqueamento químico que obteve o maior incremento do rendimento da hidrólise.

Tabela 23: Conversão enzimática de celulose na rota ácida para a palha de cana.

Etapa	Volume do hidrolisado (mL)	Concentração de xilose no hidrolisado (g/L)	Concentração de glicose no hidrolisado (g/L)	Conversão de celulose (%)
IN	11,33 ± 1,15	1,22 ± 0,05	4,92 ± 0,96	8,59 ± 0,96
A	19,50 ± 2,83	5,12 ± 0,53	18,04 ± 0,24	24,22 ± 0,93
X	19,25 ± 2,47	4,04 ± 0,16	20,85 ± 0,25	25,22 ± 0,40
E	24,33 ± 1,53	8,04 ± 0,48	71,59 ± 1,63	70,07 ± 1,87
QH	30,50 ± 0,71	1,83 ± 0,21	78,29 ± 1,34	84,29 ± 0,66

(IN = palha in natura; A = estágio com H₂SO₄; X = estágio com xilanase; E = estágio de extração alcalina; QH = estágio de quebração seguido de branqueamento com H₂O₂)

Os resultados encontrados na via ácida quando se utilizou palha apresentaram o mesmo comportamento de quando foi utilizado bagaço. A hidrólise enzimática da palha in natura foi a que apresentou o menor valor de conversão, mostrando que a palha também necessita de modificações estruturais para que seja possível uma melhor ação enzimática. Silva (2009) em seu estudo de sacarificação da palha também encontrou um valor baixo quando se hidrolisou o material in natura, 7,70%. Com o tratamento ácido, a eficiência da hidrólise aumentou 15,63 pontos percentuais, um indício de que o tratamento químico promoveu mudanças estruturais na palha que promoveram uma maior atuação por parte da enzima. Assim como para o bagaço, o tratamento com xilanase não proporcionou um aumento significativo no rendimento da hidrólise enzimática, o que indica que neste caso, essa etapa de pré-tratamento não exerce muita influência e não causa grandes modificações na estrutura dos materiais lignocelulósicos estudados a ponto de promover um aumento significativo na taxa de conversão enzimática da celulose. Uma das explicações para isso é a presença da xilanase também no caldo enzimático utilizado para a hidrólise, confirmado pela detecção de xilose em todos os hidrolisados obtidos. Em outras palavras, mesmo sem a remoção prévia das hemiceluloses por ação da xilanase em separado, elas seriam eliminadas durante o processo hidrolítico e como a atuação da etapa utilizando xilanase está ligada diretamente à remoção de hemiceluloses e sua utilização não promoveu grandes modificações na eficiência do processo, é possível afirmar com mais certeza que o teor de hemiceluloses no material não interfere diretamente no processo de hidrólise enzimática, deixando esse papel para a lignina. Uma prova disso foi que

após a extração alcalina, em que ocorreu uma remoção considerável de lignina, a conversão enzimática aumentou 177 %, um dos maiores aumentos, assim como para o bagaço. Após o branqueamento, a conversão da celulose da palha na via ácida alcançou 84,29%. Utilizando-se bagaço esse valor foi de 85,86%, valores muito próximos, mostrando que, embora eles apresentem diferenças estruturais, eles apresentaram um comportamento bem similar à ação das celulasas. As diferenças dos valores de conversão enzimática da celulose foram pequenas, na maioria das vezes ficando dentro da margem do desvio padrão. A única diferença significativa entre esses valores aconteceu na etapa de tratamento com ácido sulfúrico, em que a palha apresentou um valor de conversão 7,40 pontos percentual maior do que o bagaço, provavelmente porque pela maior perda de lignina ocorrida com a palha nessa etapa.

Tabela 24: Conversão enzimática de celulose na rota básica para a palha de cana.

Etapa	Volume do hidrolisado (mL)	Concentração de xilose no hidrolisado (g/L)	Concentração de glicose no hidrolisado (g/L)	Conversão de celulose (%)
IN	11,33 ± 1,15	1,22 ± 0,05	4,92 ± 0,96	8,59 ± 0,96
B	24,33 ± 1,53	2,07 ± 0,13	42,17 ± 2,77	59,14 ± 0,78
X	24,80 ± 3,02	8,96 ± 0,73	57,89 ± 5,09	65,20 ± 0,96
E	26,50 ± 0,71	7,93 ± 0,11	66,15 ± 0,55	70,27 ± 0,07
QH	26,00 ± 1,00	1,07 ± 0,04	88,73 ± 0,77	83,83 ± 0,90

(IN = palha in natura; B = estágio com NaOH; X = estágio com xilanase; E = estágio de extração alcalina; QH = estágio de quebração seguido de branqueamento com H₂O₂)

Assim como na via ácida, na via alcalina os resultados obtidos para conversão enzimática utilizando palha apresentaram o mesmo comportamento. Após o tratamento com NaOH houve um aumento bem significativo da eficiência da hidrólise, na ordem de 588,00 %, ou seja, um incremento de mais de 6 vezes. Também para a palha, o tratamento básico proporcionou uma maior conversão do que o tratamento ácido, havendo uma diferença entre eles de 34,92 pontos percentuais. Novamente, a remoção de lignina (etapa com NaOH) exerceu maior influência do que a remoção de hemiceluloses (etapa com H₂SO₄). Krishna et al. (1998) também estudaram a sacarificação da palha de cana e a interferência de diferentes pré-tratamentos no processo e alcançaram os melhores resultados de sacarificação para os

tratamentos alcalinos, 55% utilizando NaOH e 65% utilizando uma mistura de NaOH com H_2O_2 . O estágio com xilanase provocou um aumento no valor da conversão de celulose. Todavia, como nos outros casos estudados, esse aumento não foi significativo. O mesmo pode ser dito em relação à etapa de extração alcalina. Tanto para a palha como para o bagaço, esse estágio na via básica não foi responsável por um grande aumento do rendimento da hidrólise, ao contrário da via ácida em que ele foi responsável pelo maior incremento desse valor. Como explicado na análise de perdas de componentes, na via alcalina a maior perda de lignina aconteceu no primeiro estágio. Embora tenha havido significativa perda de lignina na etapa de extração (72,53 % para o bagaço e 81,22% para a palha), na perda acumulada, a lignina solubilizada nessa etapa foi em quantidade bem menor do que no primeiro estágio, o que provocou o menor incremento no valor da conversão enzimática da celulose no estágio de extração alcalina comparado ao primeiro estágio. No caso da palha também, destacou-se a etapa de branqueamento químico, o qual incrementou a conversão enzimática em aproximadamente 20,00%. Nas duas vias estudadas utilizando-se palha também foi detectada a presença de xilose, porém em quantidades bem menores do que a glicose. Hernández-Salas et al. (2009) num estudo comparativo de sacarificação dos bagaços de cana e de agave também obtiveram como resultado uma menor concentração de xilose do que de glicose, sendo a diferença entre as concentrações da ordem de 3 vezes. O valor máximo de conversão da celulose para o bagaço e para a palha na via alcalina foi semelhante e os dois materiais apresentaram um comportamento semelhante referente à hidrólise enzimática no decorrer dos tratamentos dessa via. Mais uma vez, a maior diferença aconteceu no primeiro estágio, nesse caso devido principalmente a diferenças estruturais entre os dois materiais após o cozimento químico com hidróxido de sódio, uma vez que a perda de lignina foi muito semelhante.

A concentração de glicose no hidrolisado em todos os casos obteve um perfil crescente, chegando a valores acima de 80 g/L. Muitos estudos de sacarificação de materiais lignocelulósicos reportaram como melhores resultados concentrações de glicose nessa ordem de grandeza. Silva (2009) obteve hidrolisados com glicose a 105,5 g/L a partir da palha de cana, 86,0 g/L a partir do bagaço de cana e 74,4 g/L a partir do pseudocaule da bananeira. Hernández-Salas et al. (2009) produziram hidrolisados a partir do bagaço de cana com 60 g/L de glicose e a partir do bagaço de agave com 50 g/L de glicose. Curreli et al. (2002) estudaram a hidrólise enzimática da palha de trigo e obteve um hidrolisado com 60 g/L de glicose e

Chen;Han;Xu (2008), com o mesmo material, obtiveram hidrolisado com 110 g/L de glicose. A alta concentração de glicose no hidrolisado é um fator positivo no processo, pois o acerto da concentração de glicose no meio fermentativo, a fim de se impedir sua saturação, prejudicial ao agente fermentativo, se dará por um processo de diluição e não por um processo de concentração, o qual é utilizado quando a concentração de glicose no hidrolisado é menor do que a necessária e é mais custoso, principalmente por causa do concentrador utilizar energia elétrica para seu funcionamento.

Para elucidar melhor a relação de remoção de lignina com a conversão de celulose, foram feitos gráficos e correlações entre esses dois dados. Os gráficos encontram-se abaixo, na figura 45:

Figura 45: Gráficos da relação entre a perda de lignina e a conversão enzimática

Como é possível ser notado nos gráficos da figura 45, a relação entre a perda de lignina e a conversão enzimática é praticamente linear. Essa linearidade ficou mais evidenciada na via alcalina. Oliveira (2010) também obteve perfil linear ao realizar o estudo dessa relação. Os resultados obtidos deixam claro o quanto a lignina pode interferir no desempenho da hidrólise enzimática. Sua remoção torna-se fundamental para que o processo obtenha êxito. Guo et al.

(2009) estudaram a sacarificação enzimática de diferentes materiais e atribuíram o melhor desempenho da palha de arroz por ela apresentar um menor teor de lignina do que os outros materiais.

Vários estudos já foram realizados para demonstrar a interferência da lignina no processo de hidrólise enzimática. Primeiramente, é preciso entender o mecanismo de ação das enzimas. Elas se ligam (são adsorvidas) ao substrato e depois de agirem se desligam (são desorvidas) retornando ao meio reacional (fase líquida). No caso da hidrólise enzimática, as enzimas, em teoria são adsorvidas pela celulose, mas também podem ser adsorvidas pela lignina. No caso da celulose, logo depois de sua hidrólise, as enzimas são desorvidas e podem atuar em outra parte da molécula de celulose, já com lignina a adsorção é irreversível. Ou seja, um maior teor de lignina no material aumenta as chances da enzima se ligar a ela irreversivelmente, diminuindo a quantidade de enzima no meio reacional, e consequentemente, o rendimento do processo. Uma maneira de se determinar o grau de adsorção/dessorção é a análise de proteínas dos hidrolisados. Boussaid;Saddler (1998) determinaram esse parâmetro para três tipos de matérias, a Avicel (celulose pura), uma polpa kraft (3,50% de lignina) e uma polpa mecânica (28,00% de lignina). Como resultado, eles obtiveram que os hidrolisados da Avicel foram os que apresentaram maior teor de proteínas, ou seja, foram os que obtiveram o maior grau de dessorção. Em seguida, vieram os hidrolisados da polpa kraft e por último, os da polpa mecânicas. Os autores atribuíram esse resultado à diferença da presença lignina entre os materiais. O que possuía o menor teor foi o que apresentou a maior dessorção e o de maior teor, apresentou a menor dessorção, confirmando o quanto a lignina prejudica o processo de hidrólise enzimática quando se utiliza celulase. O extrato enzimático utilizado nesse trabalho, continha três tipos de celulasas: a endoglucanase, a exoglucanase e a β -glicosidase. E as três possuem graus de afinidades diferentes com a lignina e com a celulose. A exo e a endo-glucanases são as que possuem maior afinidade e a β -glicosidase quase não apresenta afinidade. Na análise dos hidrolisados, a atividade de β -glicosidase apresenta constância, ou seja, é adsorvida na mesma taxa que é desorvida (BOUSSAID;SADDLER, 1998; PALONEN et al., 2004) . Já foi demonstrado também que o método de pré-tratamento e o modo de estocagem do material lignocelulósico apresentam um significativo efeito na taxa da adsorção da celulase

(CONVERSE;OOSHIMA;BURNS, 1990; LEE;YU;SADDLER; 1994) O mesmo estudo foi realizado com a hemicelulose e os resultados encontram-se nos gráficos da figura 46:

Figura 46: Gráficos da relação entre a perda de hemicelulose e a conversão enzimática

Os resultados dos gráficos da figura 46 mostram que na via ácida, a perda de hemicelulose não obteve uma relação linear com a conversão enzimática, mostrando que ela não exerce influência na ação das celulasas quando se utiliza a sequência de pré-tratamento da via ácida. Já na via alcalina, observando os coeficientes de correlação, foi alcançada uma relação bastante linear entre a perda de hemiceluloses e a conversão enzimática. Comparando-se os gráficos obtidos, foi possível perceber que nos da via ácida o aumento da conversão aconteceu em maior proporção na etapa de extração alcalina (quarto ponto dos gráficos) acompanhado de um pequeno aumento na remoção de hemicelulose. Enquanto que na via alcalina, o maior aumento na conversão foi acompanhado do maior valor de perda de hemicelulose. Daí a falta de linearidade dessa relação na via ácida. A mesma explicação pode ser usada para justificar a falta de total linearidade na via alcalina. No último estágio (branqueamento com peróxido de hidrogênio) o aumento na conversão foi de uma proporção maior do que a aumento na remoção d hemicelulose. Isso mostra que realmente a

hemicelulose não exerce influência na taxa de conversão enzimática de celulose, uma vez foram obtidos praticamente os mesmos valores de conversão e comportamentos diferentes de sua relação com a perda de hemicelulose.

O principal resultado a ser obtido na hidrólise enzimática o rendimento, nesse caso a conversão de celulose em glicose, a qual é o composto comumente utilizado pelos microrganismos na fermentação do etanol. Os resultados obtidos no presente trabalho, levando-se em conta as maiores conversões obtidas, podem ser considerados bem satisfatórios. Para todos os materiais e vias estudados, isso aconteceu na última etapa das vias, após o branqueamento químico com peróxido de hidrogênio, na média foi alcançada uma conversão nesse estágio de 86%. Utilizando bagaço de cana, Rocha et al. (2010) obtiveram como valor de conversão máxima na hidrólise enzimática de 76% e Silva (2009), 89,20%. Oliveira (2010) usou em seu estudo como matéria-prima a palha de cana e alcançou uma conversão de 80,00%. Chen;Han;Xu (2008) obtiveram 58% de conversão com a palha de trigo. Yu et al. (2010), alcançaram 93.85% de conversão ao utilizarem sabugo de milho. Usando palha de arroz, Guo et al. (2009) chegaram a uma conversão de 78%. Mussato et al. (2008) estudaram a sacarificação de resíduos lignocelulósicos da indústria cervejeira e obtiveram uma conversão de 92,00%. Alguns trabalhos chegaram a reportar uma conversão de 100%. Vega et al. (1991) alcançaram tal resultado com palha de milho e Boussad;Saddler (1998), com polpa kraft (Douglas fir kraft pulp, uma polpa com mais de 95,00 % de celulose). As diferenças entre os valores dos diferentes trabalhos ocorreram por diferentes materiais estudados, cada material tem sua estrutura própria e por causa dos diferentes pré-tratamentos aos quais cada um foi submetido, gerando materiais de diferentes naturezas estruturais e morfológicas. Porém, todos esses resultados apresentados seguiram uma tendência, quanto mais lignina foi removida no pré-tratamento, maior foi a conversão enzimática.

Contudo, nenhum dos trabalhos citados levou em consideração um fator de relevante importância, a perda de celulose nos pré-tratamentos. A cadeia produtiva de etanol de segunda geração deve ser analisada como um todo, incluindo as etapas de pré-tratamento antecessoras da hidrólise enzimática. Para tanto, para analisar o rendimento global do processo, tal estudo foi realizado e os resultados estão apresentados na tabela 25:

Tabela 25: Dados conversão global da hidrólise enzimática

Material	Perda de celulose (%)	Conversão enzimática (%)	Conversão global (%)
Bagaço via ácida	40,31	85,86	48,87
Bagaço via alcalina	35,35	87,12	56,32
Palha via ácida	28,11	84,29	60,59
Palha via alcalina	21,71	83,83	65,63

Para os cálculos da conversão global foram levados em consideração os resultados de perda de celulose e conversão enzimática após a última etapa de cada via. Analisando os resultados da tabela 25 foi possível perceber o quanto a perda de celulose pode interferir no resultado final da conversão. Em todos os casos houve uma diminuição no valor do rendimento da hidrólise enzimática. Em especial, para o bagaço, essa diminuição chegou a quase 37 pontos percentuais na via ácida e a quase 31 pontos percentuais na via alcalina. Esses resultados confirmam que a eficiência da sacarificação enzimática de um material lignocelulósico é diretamente dependente do pré-tratamento ao qual o material é submetido. Logo, é necessário que o pré-tratamento, além de remover a lignina, deve também remover o mínimo de celulose possível. Das vias estudadas no presente trabalho, a via alcalina, tanto para o bagaço quanto para a palha, foi a que se mostrou mais promissora, já que a perda de celulose foi menor que a da via ácida, provocando um maior rendimento global. Mesmo assim, como citado anteriormente, as perdas de celulose ainda podem ser consideradas altas (mais de 20% de perda), sendo necessário, então, um ajuste nos parâmetros dos pré-tratamentos para diminuir essa perda de celulose.

6. CONCLUSÕES

Ambas as vias produziram materiais com alto teor de celulose, mostrando-se com grande viabilidade para produção de celulose e seus derivados. Contudo, na via alcalina, ocorreu uma menor perda de celulose do que na via ácida, tornando esse processo um pouco mais viável, levando-se em consideração o objetivo proposto.

Os materiais das vias controle apresentaram um teor de celulose consideravelmente menor que os das vias biotecnológicas, mostrando a eficiência da etapa enzimática combinada com a extração alcalina.

Na produção de triacetato de celulose, tanto a partir da palha quanto a partir do bagaço foram produzidos materiais com celulose trissubstituída mostrando que os dois materiais podem ser utilizados para essa finalidade quando se utiliza as vias estudadas. Contudo, na produção de membranas, o bagaço foi a matéria-prima que obteve os melhores resultados. Nesse caso, a palha não se apresentou como uma boa alternativa para produção de membranas.

No caso da produção de CMC, os dois materiais mostraram grande viabilidade, uma vez que foram obtidas para ambos os materiais CMCs com propriedades muito parecidas com uma amostra comercial.

Na hidrólise enzimática, as duas matérias-primas alcançaram altas conversões com o material mais puro, confirmando que o bagaço e a palha de cana também podem ser utilizados para essa finalidade.

Um aspecto importante encontrado na análise dos resultados foi que a lignina exerceu grande influência na produção dos materiais. Os piores resultados foram obtidos com os materiais que possuíam as maiores concentrações de lignina, o que significa que a eliminação de lignina é crucial para que sejam alcançados bons resultados na obtenção de derivados de celulose a partir de subprodutos agrícolas.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudar mais profundamente a obtenção de celulose a partir da palha e do bagaço a fim de se diminuir a perda de celulose no final do processo;
- Estudar outros processos de obtenção de membranas a partir do acetato de celulose;
- Avaliar outras aplicações para as membranas de acetato de celulose, não só a remoção de íons metálicos em solução;
- Aumentar a escala na hidrólise enzimática e verificar a comportamento das enzimas nesse procedimento;
- Estudar a obtenção de outros derivados de celulose, como o xantato de celulose e a metilcelulose.

REFERÊNCIAS

- ABEDINIFAR, S.; KARIMI, K.; KHANAHMADI, M.; TAHERZADEH, M. J. Ethanol production by *Mucor indicus* and *Rhizopus oryzae* from sorghum straw by rate hydrolysis and fermentation. **Biomass and Bioenergy**, v.33, p.828-833, 2009.
- ADINUGRAHA, M. P.; MARSENIO, D. W.; HARYADI. Synthesis and characterization of sodium carboxymethylcellulose from cavendish banana pseudo stem (*Musa cavendishii* LAMBERT). **Carbohydrate Polymers**, v.62, p.164-169, 2005.
- AHEE, J. A.; KAUFMAN, S. C.; SAMUEL, M. A.; BOGARAD, D.; WEE, C. Decreased incidence of epithelial defects during laser in situ keratomileusis using intraoperative nonpreserved carboxymethylcellulose sodium 0,5% solution. **Journal of Cataract and Refractive Surgery**, v. 28, n. 9, p. 1651-1654, 2002.
- ANSELMO FILHO, P.; BADR, O. Biomass resources for energy in North-Eastern Brazil. **Applied Energy**, v. 77, p. 51-67, 2004.
- ARTHANAREESWARAN, G.; THANIKAIVELAN, P.; SRINIVASAN, K.; MOHAN, D.; RAJENDRAN, M. S. Synthesis, characterization and thermal studies on cellulose acetate membranes with additive. **European Polymer Journal**, v. 40, p. 2153-2159, 2004.
- ATALLA, R.H.; VANDERHART, D.L. **Science**, p. 223-283, 1984.
- BALLESTEROS, M.; OLIVA, J. M.; NEGRO, M. J.; MANZANARES, P.; BALLESTEROS, I. Ethanol from lignocellulosic materials by a simultaneous saccharification and fermentation process (SFS) with *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875. **Process Biochemistry**, v.39, p.1843-1848, 2004.
- BAYLEY, M.J.; BUCHERT, J; VIIKARI, L. Effect of pH on production of xylanase by *Trichoderma reesei* on xylan - and cellulose – based media. **Applied Microbiology Biochnology**, v. 40, p. 224-229, 1993.

BERGGREN, R.; MOLIN, U.; BERTHOLD, F.; LENNHOLM, H.; LINDSTRÖN, M. Alkaline degradation of birch and spruce: Influence of degradation conditions on molecular mass distributions and fibre strength. **Carbohydrate Polymers**, v.51, p.255–264, 2003.

BERTONCINI, E. I. Painel IV: Geração de Resíduos da Indústria da Cana-de-açúcar. In: WORKSHOP: ASPECTOS AMBIENTAIS DA CADEIA DO ETANOL DE CANA-DE-AÇÚCAR, 2008. Disponível em: <<http://www.apta.sp.gov.br/cana>>. Acesso em 17 de agosto de 2008.

BIANCHI, M. L. **Branqueamento de polpas kraft com H₂O₂ e reação de oxidação de compostos modelos de ligninas catalisadas por polioxometalatos**. Tese de Doutorado - Instituto de Química/Departamento de Química Inorgânica - Universidade de Campinas, Campinas/SP, 1999.

BIELY, P.; VRSANSKA, M.; TENKANEN, M.; KLUEPFEL, D. Endo—1,4-xylanase families: differences in catalytic properties. **Journal Biotechnology**, v. 57, p. 151-166. 1997.

BINDAL, R.C.; HANRA, M.S.; MISRA, B.M. Novel solvent exchange cum immersion precipitation technique for the preparation of asymmetric polymeric membrane. **Journal of Membrane Science**, v. 118, p. 23-29, 1996.

BIOETANOL de cana, 2008. Disponível em: <<http://www.bioetanoldecana.org>>. Acesso em 12 de dezembro de 2008.

BOUSSAID, A.; SADDLER, S.N. Adsorption and activity profiles of cellulases during the hydrolysis of two Douglas fir pulps. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 24, p. 138-143, 1998.

BUCHOLZ, F. L. An idea whose time has come. **Journal of Chemical Education**, v.73, p. 513-515, 1996.

CAPANNELLI, G.; VIGO, F.; MUNARI, S. Ultrafiltration membranes - Characterization methods. **Journal of Membrane Science**, v. 15, p. 289-313, 1983.

CARA, C.; RUIZ, E.; BALLESTEROS, I.; NEGRO, M. J.; CASTRO, E. Enhanced enzymatic hydrolysis of olive tree wood by steam explosion and alkaline peroxide delignification. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 423-429, 2006.

CARASCHI, J. C. **Estudo das relações estrutura/propriedades de carboximetilcelulose obtida por derivatização de polpa de bagaço de cana-de-açúcar**. Tese de Doutorado - Instituto de Química de São Paulo – Universidade de São Paulo, São Carlos/SP, 1997.

CARRILLO, F.; LIS, M. J.; COLOM, X.; LÓPEZ-MESAS, M.; VALLDEPERAS, J. Effect of alkali pretreatment on cellulase hydrolysis of wheat straw: kinetic study. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 3360-3364, 2005.

CARRASCO, C.; BAUDEL, H. M.; SENDELIUS, J.; MODIG, T.; ROSLANDER, C.; GALBE, M.; HAHN-HÄGERDAL, B.; ZACCHI, G.; LIDÉN, G. SO₂-catalyzed steam pretreatment and fermentation of enzymatically hydrolyzed sugarcane bagasse. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 46, p. 64-73, 2010.

CERQUEIRA, D. A.; RODRIGUES FILHO, G.; MEIRELES, C. S. Optimization of sugarcane bagasse acetylation. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, p. 579-582, 2007.

CERQUEIRA, D. A.; VALENTE, A. J. M.; RODRIGUES FILHO, G.; BURROWS, H. D. Synthesis and properties of polyaniline-cellulose acetate blends: The use of sugarcane bagasse waste and the effect of the substitution degree. **Carbohydrate Polymers**, v.78, p.402-408, 2009.

CHEN, H.; HAN, Y.; XU, J. Simultaneous saccharification and fermentation of steam exploded wheat straw pretreated with alkaline peroxide. **Process Biochemistry**, v.43, p.1492-1466, 2008.

CHEN, M.; ZHAO, J.; XIA, L. Comparison of four different chemical pretreatments of corn stover for enhancing enzymatic digestibility. **Biomass & Energy**, v.33, p.1381-1385, 2009.

CHEN, M.; ZHAO, J.; XIA, L. Enzymatic hydrolysis of maize straw polysaccharides for the production of reducing sugars. **Carbohydrate Polymers**, v.71, p.411-415, 2008.

CHUAN-FU, L.; RUN-CANG, S.; AI-PING, Z.; MEN-HUA, Q.; JUN-LI, R.; XING-AI, W. Preparation and characterization of phthalated cellulose derivates in room-temperature ionic liquid without catalysts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 2399-2406, 2007.

CONVERSE, A. O.; OOSHIMA, H.; BURNS, D. S. Kinetics of enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials based on surface area of cellulose accessible to enzyme and enzyme adsorption on lignin and cellulose. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.24–25, p.67–73, 1990.

CORRADINI, E.; ITO, E. N.; MARCONCINI, J. M.; RIOS, C. T.; AGNELLI, J. A. M.; MATTOSO, L. H. C., Interfacial behavior of composites of recycled poly(ethylene terephthalate) and sugarcane bagasse fiber. **Polymer Testing**, v.28, p.183-187, 2009.

CORREDOR, D. Y.; BEAN, S.; WANG, D. Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Sorghum Bran. **Cereal Chemistry**, v.84, p.61-66, 2007.

CURRELI, N.; AGELLI, M.; PISU, B.; RESCIGNO, A.; SANJUST, E.; RINALDI, A. Complete and efficient enzymic hydrolysis of pretreated wheat straw. **Process Biochemistry**, v.37, p.937-941, 2002.

D'ALMEIDA, M. L. O. **Celulose e papel. Tecnologia e fabricação da pasta celulósica**. São Paulo: Senai, IPT, 1998, v.1.

DANILAS, R. M. Branqueamento de pastas celulósicas. In: D'ALMEIDA, M. L. O. **Papel e celulose I: tecnologia de fabricação de pastas celulósicas**. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo, 1988, p. 169-312.

DAVIS, S., GYSIN, B., CASIMIR, J., ZIMMERMANN, W. Thermostable xylanases from actinomycetes for pulp bleaching. In: **XYLANS and Xylanases** Eds. Amsterdam: Elsevier, 1992, p. 551-554.

DENIZ, I.; KIRCI, H.; ATES, S. Optimisation of wheat straw *Triticum durum* kraft pulping. **Industrial Crops and Products**, v.19, p.237-243, 2004.

DEVENYNS, J., DESPREZ, F., TROUGHTON, N. Metals control in TCF bleaching – implications for kraft bleaching sequence design. In: **PULPING CONFERENCE**, 1994, San Diego – USA.

DEY, T. K.; MISRA, B. M. Characteristic properties of a new select polymer for reverse osmosis application. **Journal Polymer Mater**, v.16, p.13-21, 1999.

DIAS, M. O. S., MODESTO, M., ENSINAS, A. V., NEBRA, S. A., FILHO, R. M., ROSSELL, C. E. V. Improving bioethanol production from sugarcane: evaluation of distillation, thermal integration and cogeneration systems. **Energy**, disponível on line em <www.sciencedirect.com>, acessado em 20 de fevereiro de 2011.

DUARTE, M. C .T.; SILVA, E. C.; GOMES, I. M. B.; PONEZI, A. N.; PORTUGAL, E. P.; VICENTE, J. R.; DAVANAZO, E. Xylan-hydrolyzing enzyme system from *Bacillus pumilus* CBMAI 0008 and its effects on *Eucalyptus grandis* kraft pulp for pulp bleaching improvement. **Bioresource Technology**. v. 88, p. 9-15, 2003.

DUCHESNE, U.; DANIEL, G.; IVERSEN, T.; DUCHESNE, I.; HULT, E.L.; LENNHOL, M. H. **Cellulose**, p.8-103, 2001.

EDGAR, K. J.; BUCHANAN, C. M.; DEBENHAM, J. S.; RUNDQUIST, P. A.; SILLER, B. D.; SHELTON, M. C.; TINDALL, D. Advance in cellulose ester performance and application. **Progress Polymer Science**, v. 26, p. 1605-1688, 2001.

ESPOSITO, F. Water sorption in cellulose based hydrogels. **Journal of Applied Polymer Science**, v.60, p.2403-2407, 1996.

FERRAZ, A. Aplicações da biotecnologia na produção de papel e celulose. In: BORZANI, W.; ALMEIDA, U.; AQUARONE, E. (eds). **Processos Enzimáticos e Fermentativos**. São Paulo: Edgard Blucher, 1999.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions**, Berlin: Walter de Gruyter, 1989.

FERNANDEZ, N. Pulp and paper development from sugarcane bagasse. In: THIRD INTERNACIONAL NON-WOOD FIBER PULPING AND PAPERMAKING CONFERENCE, **Proceedings**, 1996, Pequim, v. 1, p. 231-240.

GANDINI, A. Polymer from Renewable Resources. In: COMPREHENSIVE Polymer Science, Oxford, Pergamon, 1992, p.527.

GIERER, J. **Holzforschung**, v. 36, p. 35, 1982.

GOLDSTEIN, I. S. **Organic Chemicals from Biomass**. Florida: CRC Press, 1981, cap 1, p. 10-15.

GOMEZ, A., GÁLVEZ, L., DE LA OSA, O. Sugarcane bagasse utilization for production of composites. The State of the Art in Cuba. In: INTERNATIONAL MACROMOLECULAR SYMPOSIUM ON LIGNOCELLULOSICS-PLASTICS COMPOSITES, **Proceedings**, São Carlos, USP/UNESP, 1997, p.281-324.

GONÇALVES, A. R.; MORIYA, R. Y.; OLIVEIRA, L. R. M.; SAAD, M. B. W. Xylanase recycling for the economical biobleaching of sugarcane bagasse and straw pulps. **Enzyme and Microbial Technology**, v.43, p.157-163, 2008.

GOUVEIA, E. R.; NASCIMENTO, R. T.; SOUTO-MAIOR, A. M.; ROCHA, G. J. M. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, p.1-4, 2009.

GRATZL, J. S. Reactions of polysaccharides and lignins in bleaching with oxygen and related species. In: OXYGEN DELIGNIFICATION SYMPOSIUM, 1990, Toronto.

GRAY, K. A.; ZHAO, L.; EMPTAGE, M. Bioethanol. **Current Opinion in Chemical Biology**, v.10, p.141-146, 2006.

GUO, G. L.; HSU, D. C.; CHEN, W. H.; CHEN, W. H.; HWANG, W. S. Characterization of enzymatic saccharification for acid-pretreated lignocellulosic materials with different lignin composition. **Enzyme and Microbial Technology**, v.45, p.80-87, 2009.

HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. **Processos de separação com membranas**. Rio de Janeiro: E-papers; 2006.

HADER, R. N., WALDECK, W. F., SMITH, F. W. Carboxymethylcellulose. In: **MODERN** chemical processes. New York: Reinhold, 1954, p. 132-41.

HEDJAZI, S.; KORDSACHIA, O.; PATT, R.; LATIBARI, A. J.; TSCHIRNER, U. Alkaline sulfite–anthraquinone (AS/AQ) pulping of wheat straw and totally chlorine free (TCF) bleaching of pulps. **Industrial Crops and Products**, v.29, p.27-36, 2009.

HERNÁNDEZ-SALAS, J. M.; VILLA-RAMÍREZ, M. S.; VELOZ-RENDÓN, J. S.; RIVERA-HERNÁNDEZ, K. N.; GONZÁLEZ-CÉSAR, R. A.; PLASCENCIA-ESPINOSA,

M. A.; TREJO-ESTRADA, S. R. Comparative hydrolysis and fermentation of sugarcane and agave bagasse. **Bioresource Technology**, v.100, p. 1238-1245, 2009.

HODGE, D. B.; KARIM, M. N.; SCHELL, D. J.; MCMILLAN, J. D. Soluble and insoluble solids contributions to high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose. **Bioresource Technology**, v.99, p.8940-8948, 2008.

HON, D. N. S. **Chemical modification of lignocellulosic materials**. New York: Marcel Dekker, 1996, 370p..

HUANG, G.; SHI, J. X.; LANGRISH, T. A. G. NH_4OH – KOH pulping mechanisms and kinetics of rice straw. **Bioresource Technology**, v.98, p.1218-1223, 2007.

IPT. 2006. Disponível em <www.ipt.br/institucional/imprensa>. Acesso em 15 de Janeiro de 2010.

JORAPUR, R.; RAJVANSHI, A. K. Development of a sugarcane leaf gasifier for electricity generation. **Biomass and Bioenergy**, v.8, p.91-98, 1995.

JURADO, M.; PRIETO, A.; MARTÍNEZ-ALCALÁ, A.; MARTÍNEZ, A. T.; MARTÍNEZ, M. J. Laccase detoxification of steam-exploded wheat straw for second generation bioethanol. **Bioresource Technology**, v.100, p.6378-6384, 2009.

JUSTE, K. E.; MAJEWICZ, T. G., Cellulose ethers. In: HERMAN, M. **Encyclopedia of Polymer Science and Engineering**, New York: Jon Wiley, v. 3, 1985, p. 226-269.

KAPARAJU, P.; SERRANO, M.; THOMSEN, A. B.; KONGJAN, P.; ANGELIDAKI, I. Bioethanol biohydrogen and biogas production from wheat straw in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, v.100, p.2562-2568, 2009.

KELLER, F. A. Integrated bioprocess development. In: HANDBOOK on Bioethanol: Production and Utilization. Wyman, C.E. (Editor). Taylor & Francis, Washington, Capítulo 17, p. 381-394, 1996.

KHULBE, K. C.; HAMAD, F.; FENG, C.; MATSUURA, T.; KHAYETB, M. Study of the surface of the water treated cellulose acetate membrane by atomic force microscopy. **Desalination**, v. 256, p. 259-262, 2004.

KLOCK, U., MUÑIZ, G. I. B. **Química da Madeira** 2ª ed. Curitiba: FUPEP, 1998.

KOGA, M, E. T. **Celulose e papel. Tecnologia de fabricação da pasta celulósica**. 2. ed, São Paulo: IPT, Senai, 1998, v.1.

KOOLS, W.F.C. **Membrane formation by phase inversion in multicomponent polymer systems. Mechanisms and morphologies**. 1998. Tese (Doutorado), University of Twente, 1998.

KRISHNA, S. H.; PRASANTHI, K.; CHOWDARY, G. V.; AYYANNA, C. Simultaneous saccharification and fermentation of pretreated sugarcane leaves to ethanol. **Process Biochemistry**, v.33, p.825-830, 1998.

KULKARNI, N.; RAO, M. Application of Xylanase from Alkaliphilic Thermophilic Bacillus sp. NCIM 59 in biobleaching of bagasse pulp. **Journal Biotechnology**, v. 51, p. 167-173, 1996.

LACHENAL, D.; PAPADOPOULOS, J. Improvement of hydrogen peroxide delignification. **Cellulose Chemistry Technology**, v. 22, p. 537-546, 1997.

LEE, D., YU, A.H.C., SADDLER, J.N. Evaluation of cellulase recycling strategies for the hydrolysis of lignocellulosic substrates. **Biotechnology & Bioenergy**, v.45, p.328–336, 1995.

LEWIN, M.; GOLDSTEIN, I. S. **Wood structure and composition**. New York: Marcel Dekker, 1991, p. 488.

LI, Z.; LIU, Y.; LIAO, W.; CHEN, S.; ZEMETRA, R. S. Bioethanol production using genetically modified and mutant wheat and barley straws. **Biomass and Bioenergy**, v.35, p.542-548, 2011.

LIAO, Z.; KLEIN, E.; POH, C. K.; HUANG, Z.; LU, J.; HARDY, P. A.; GAO, D. Measurement of hollow fiber membrane transport properties in hemodialyzers. **Journal of Membrane Science**, v. 256, p. 176-183, 2005.

LIN, Y.; TANAKA, S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects, **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 69, p. 627-642, 2006.

LINDE, M.; JAKOBSSON, E. L.; GALBE, M.; ZACCHI, G. Steam pretreatment of dilute H₂SO₄-impregnated wheat straw and SSF with low yeast and enzyme loadings for bioethanol production. **Biomass and Bioenergy**, v.32, p.326-332, 2008.

LUZ, S. M.; DEL TIO, J.; ROCHA, G. J .M.; GONÇALVES, A. R.; DEL'ARCO JR, A.P. Cellulose and cellulignin from sugarcane bagasse reinforced polypropylene composites: Effect of acetylation on mechanical and thermal properties. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v.39, p.1362-1369, 2008.

LYND L. R.; WEIMER P. J.; VAN ZYL W. H.; PRETORIUS, I. S. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Review**. v. 66, p. 506-577, 2002.

MANDELS, M.; ANDREOTTI, R.; ROCHE, C. Measurement of saccharifying cellulase. **Biotechnology and Bioengineering Symposium**, v.6, p.21-33, 1976.

MARK, J. E. **Polymer Data Handbook**, Oxford University Press Inc, 1999.

MARTÍN, C.; GALBE, M.; WAHLBOM, C. F.; HANH-HÄGERDAL, B.; JÖNSSON, L. J. Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose-utilising *Saccharomyces cerevisiae*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, p. 274-282, 2002.

MARTIN, C.; KLINKE, H. B.; THOMSEN, A. B. Wet oxidation as a pretreatment method for enhancing the enzymatic convertibility of sugarcane bagasse. **Enzyme and Microbial Technology**, v.40, p.426-432, 2007.

MATIOLI, C. S.; FRIZZONE, J.; PRES, F. C. Irrigação suplementar de cana-de-açúcar: modelo de análise de decisão para região norte do Estado de São Paulo. **STAB-Açúcar, álcool e subprodutos**, v. 17, p. 42-45, 1998.

McDOUGALL, G. J. Isolation and partial characterization of the non-cellulosic polysaccharides of flax fibre. **Carbohydrate Research**, v. 241, p.227-236, 1993.

McMILLAN, J. D. Pretreatment of lignocellulosic biomass. In: ENZYMATIC conversion of biomass for fuels production. Himmel M.E.; Baker J.O.; Overend R.P. (Editores), ACS Washington: ACS, 1994. p. 294-324 (ACS Symposium Series, v. 566)

MCT Disponível em:<[http// www.mct.gov.br](http://www.mct.gov.br)> Acesso em 14 de abril de 2003.

MEIRELES. C. S. **Síntese e caracterização de membranas de acetato de celulose, obtido do bagaço de cana-de-açúcar, e blendas de acetato de celulose com poliestireno de copos plásticos descartados**. 2007. 80 p. Dissertação (Mestrado). Instituto de Química – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG, 2007.

MILEO, P. C. **Aplicações da celulose de palha de cana-de-açúcar : obtenção de derivados partindo de celulose branqueada e de biocompósitos com poliuretana obtida a partir de óleo de mamona (*Ricinus communis L.*)**, relatório parcial de mestrado, FAPESP, 2010.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1956.

MINOR, J. L. Production of unbleached pulp. In: DENCE, C. W., REEVE, D. W. (eds) **Pulp Bleaching: Principles and Practice**. Atlanta: TAPPI Press., 1996, p. 363-377.

MONGKOLTHANARUK, W.; DHARMSTHITI, S. Biodegradation of lipid-rich wastewater by a mixed bacterial consortium. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.50, p.101-105, 2002.

MORAIS, L. C.; CAMPANA FILHO, S. P. Carboximetilação de polpas de bagaço de cana-de-açúcar e caracterização dos materiais absorventes obtidos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p. 46-51, 1999.

MORIYA, R.Y. **Uso de xilanase e lacase de origem microbiológica no branqueamento de polpa organosolv de palha de cana-de-açúcar e estudo da obtenção de derivados celulósicos**. 2007. Tese (Doutorado), USP – Escola de Engenharia de Lorena, Lorena/SP, 2007.

MOSIER, N.; WYMAN, C.; DALE, B.; ERLAND, R.; LEE, Y. Y.; HOLTZAPPLE, M.; LADISCH, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Biotechnology**. v. 96, p. 673-686, 2005.

MULDER, M. **Basic principles of membrane thecnology**. Dordrecht: Kluver Academic Publishers, 1996.

MULINARI, D. R.; VOORWALD. J. C. H.; CIOFFI, M. O. H.; SILVA, M. L. C. P.; CRUZ, T. G.; SARON, C. Sugarcane bagasse cellulose/HDPE composites obtained by extrusion. **Composites Science and Technology**, v.69, p.214-219, 2009.

MUNDO químico, disponível em <www.mundoquimico.hpg.com.br>. Acessado em 10 de novembro de 2009.

MUÑIZ, G.; MANJARREZ-NEVÁREZ, L. A.; PARDO-RUEDA, J.; RUEDA-RAMÍREZ, A.; TORRES-MUÑOZ, V.; BALLINAS-CASARRUBIAS, M. L.; GONZALEZ-SÁNCHEZ, G. Filter development from low cost materials for arsenic removal from water, Natural Arsenic in Groundwaters of Latin America. In: ARSENIC in the Environment. CRC Press, 2008, p.657-663 ISSN: 1876-6218, v.1, cap.71.

MUSSATO, S. I.; FERNANDES, M.; MILAGRES, A. M. F.; ROBERTO, I. C. Effect of hemicellulose and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain. **Enzyme and Microbial Technology**, v.43, p.124-129, 2008.

NAKANISHI, S. C. **Utilização dos componentes lignocelulósicos do bagaço de cana de açúcar para produção de membranas**. 2010. 88 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP, 2010.

NICHOLSON, M. D.; MERRITT, F. M. Cellulose ethers. In: NEVELL, T. P.; ZERONIAN, H. S. **Cellulose Chemistry and its Applications**. New York: John Wiley, 1985, cap.15.

ÖHGREN, K.; RUDOLF, A.; GALBE, M.; ZACCHI, G. Fuel ethanol production from steam-pretreated corn stover using SSF at higher dry matter content. **Biomass and Bioenergy**, v.30, p.863-869, 2006.

OLIVEIRA, F. M. V. **Avaliação de diferentes pré-tratamentos e deslignificação alcalina na sacarificação da celulose de palha de cana**. 2010. 101 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP, 2010.

PAICE , M. G.; BERNIER, R. J.; JURASEK, L. Viscosity-enhancing bleaching of hardwood kraft pulp with xylanase from a cloned gene. **Biotechnology Bioengineering**, v. 32, p. 235-239, 1988.

PAIVA, F. S. **Ultrafiltração do soro de queijo**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2000.

PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B.; GALBE, M.; LARSSON, M.; STENBERG, K.; SZENGYEL, Z.; TENGBORG, C.; ZACCHI, G. Design and operation of a bench-scale process development unit for the production of ethanol from lignocellulosics. **Bioresource Technology** , v. 58, p. 171-179, 1996.

PALONEN, H.; TJERNELD, F.; ZACCHI, G.; TENKANEN, M. Adsorption of *Trichoderma reesei* CBH I and EG II and their catalytic domains on steam pretreated softwood and isolated lignin. **Journal of Biotechnology**, v.107, p.65-72, 2004.

PARK, J.; SHIROMA, R.; AL-HAQ, M. I.; ZHANG, Y.; IKE, M.; ARAI-SANO, Y.; IDA, A.; KONDO, M.; TOKUYASU, K. A novel lime pretreatment for subsequent bioethanol production from rice straw – Calcium capturing by carbonation (CaCCO) process. **Bioresource Technology**, v.101, p.6805-6811, 2010.

PATEL, R. N.; GRABSKI, A. C.; JEFFRIES, T. W. Chromophore release from kraft pulp by purified *Streptomyces roseiscleroticus* xylanases. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 39, p. 405-412, 1993.

PATURAU, J. M. **By-products of the cane sugar industry – an introduction to their industrial utilization**. 3. Ed. Amsterdam: Elsevier, 1989.

PAWEL, S.; MASAHISA, W.; LAURENT, H.; HIROYUKI, S.; BJORN, T. S. Crystal Structure of Celulose Triacetate I. **Macromolecules**, v. 37, p. 4547-4553, 2004.

PECSOK, R. L., SHIELDS, L. D., CAIRNS, T., MCWILLIAM, I. G. **Modern Method of Chemical Analysis**. New York, NY: Wiley, S. d.

PITARELO, A. P. **Avaliação da susceptibilidade do bagaço e da palha de cana-de-açúcar à bioconversão via pré-tratamento a vapor e hidrólise enzimática**. 2007. 142p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR, 2007.

PORTUGUÊS, R. G. V. **Síntese e caracterização da metilcelulose obtida a partir da metilação heterogênea do bagaço de cana-de-açúcar**. 2004. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG, 2004.

PULEO, A. C.; PAUL, D. R.; KELLEY, S. S. The effect of degree of acetylation on gas sorption and transport behavior in cellulose acetate. **Journal of Membrane Science**, v. 47, p. 301-302, 1989.

QUINTERO, J. A.; MONTOYA, M. I.; SÁNCHEZ, O. J.; GIRALDO, O. H.; CARDONA, C. A. Fuel ethanol production from sugarcane and corn: comparative analysis for a Colombian case. **Energy**, v. 33, p.385–399, 2008.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHCHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

REUVERS, A.J.; VAN DEN BERG, J.W.A.; SMOLDERS, C.A. Formation of membranes by means of immersion precipitation. Part I. a model to describe mass transfer during immersion precipitation. **Journal of Membrane Science**, vol. 34, p. 45-65, 1987.

ROCHA, G. J. M.; MARTIN, C.; SOARES, I. B.; SOUTO-MAIOR, A. M.; BAUDEL, H. M.; ABREU, C. A. M. Dilute mixed-acid pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production. **Biomass & Energy**, 2010, disponível on line em <www.sciencedirect.com>, acessado em 20 de fevereiro de 2011.

ROCHA, G. J. M., SILVA, F. T., ARAÚJO, G. T., CURVELO, A. A. S. A fast and accurate method for determination of cellulose and polyoses by HPLC. In: BRAZILIAN SYMPOSIUM ON THE CHEMISTRY OF LIGNIN AND OTHER WOOD COMPONENTS, 1997, Curitiba. **Anais**, Curitiba: UFPR, 1997, v.5.

RODRIGUES FILHO, G., RIBEIRO, S. D., MEIRELES, C. S., SILVA, L. G., RUGGIERO, R., JUNIOR, M. F. F., CERQUEIRA, D. A., ASSUNÇÃO, R. M. N., ZENI, M., POLLETO, P. Release of doxycycline through cellulose acetate symmetric and asymmetric membranes produced from recycled agroindustrial residue: Sugarcane bagasse. *Industrial Crops and Products*, disponível on line em <www.sciencedirect.com>, acessado em 20 de fevereiro de 2011.

RODRÍGUEZ, A.; SÁNCHEZ, R.; REQUEJO, A.; FERRER, A. Feasibility of rice straw as a raw material for the production of soda cellulose pulp. **Journal of Cleaner Production**, v.18, p.1084-1091, 2010.

RUZENE, D. S. **Obtenção de polpas de dissolução por processos organosolv a partir de palha ou bagaço de cana-de-açúcar**. Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia de Lorena-FAENQUIL, Lorena/SP, 2005.

SAAD, M. B. W.; OLIVEIRA, L. R M.; CÂNDIDO, R. G.; QUINTANA, G.; ROCHA, G .J. M.; GONÇALVES, A. R. Preliminary studies on fungal treatment of sugarcane straw for organosolv pulping. **Enzyme and Microbial Technology**, v.43, p.220-225, 2008.

SADDLER, J. N.; RAMOS, L. P.; BREUIL, C. Steam pretreatment of lignocellulosic residues. **Biotechnology Agriculture Ser.**, v. 9, p. 73-91, 1993.

SANTIAGO, A.D.; IVO, W.M.P.; BARBOSA, G.V.S.; ROSSETO, R. Impulsionando a produtividade e a produção agrícola da cana-de-açúcar no Brasil. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON TROPICAL AGRICULTURE DEVELOPMENT. Julho, 2006.

SEABRA, J. E. A. **Análise de opções tecnológicas para uso integral da biomassa no setor de cana-de-açúcar e suas implicações.** 2008. 298p. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, 2008.

SENAI CETCEP, **Centro de Tecnologia em Celulose e Papel.** Telemaco Borba, Paraná, 2001.

SENDELIUS, J. **Steam Pretreatment Optimisation for Sugarcane Bagasse in Bioethanol Production.** Lund University, 2005.

SENIOR, D. J.; MEYERS, P. R.; MILLER, D.; SUTCLIFFE, R.; TAN, L.; SADDLER, J. N. Selective solubilization of xylan in pulp using a purified xylanase from *Trichoderma harzianum*. **Biotechnology Letters**, v. 10, p. 907-912, 1988.

SHAIKH, H. M.; PANDARE, K. V.; NAIR, G.; VARMA, A. J. Utilization of sugarcane bagasse cellulose for producing cellulose acetates: Novel use of residual hemicellulose as plasticizer. **Carbohydrates Polymers**, v.76, p.23-29, 2009.

SHEN, X. L.; XIA, L. M. Production and immobilization of cellobiase from *Aspergillus niger* ZU-07. **Process Biochemistry**, v.39, p.1363-1367, 2004.

SILVA, A. S.; INOUE, H.; ENDO, T.; YANO, S.; BON, E. S. P. Milling pretreatment of sugarcane bagasse and straw for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. **Bioresource Technology**, v.101, p.7402-7409, 2010.

SILVA, R. D.; YIM, D. K.; PARK, Y. K. Application of thermostable xylanases from *Humicola* sp. For pulp improvement. **Journal of. Fermentation and. Bioengineering**, v. 77, p. 109-111, 1994.

SILVA, V. F. N. **Estudos de pré-tratamento e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapas no processo de obtenção de etanol celulósico**. 2009. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de Lorena-EEL/USP, Lorena/SP, 2009.

SJÖSTRÖM, E. **Wood Chemistry: Fundamentals and Applications**. Ed.2. New York: Academic Press, 1993.

SOARES, I. B.; TRAVASSOS, J. A.; BAUDEL, H. M.; BENACHOUR, M.; ABREU, C. A. M. Effects of washing, milling and loading enzymes on the enzymatic hydrolysis of a steam pretreated sugarcane bagasse. **Industrial Crops and Products**, disponível on line em <www.sciencedirect.com>, acessado em 20 de fevereiro de 2011.

STEINMEIR, H. Acetate manufacturing, process and technology. In: **MACROMOLECULAR SYMPOSIUM**, 2004.

SUN, J. X.; SUN, X. F.; ZHAO, H.; SUN, R. C. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. **Polymer Degradation and Stability**. v. 84, p. 331-339, 2004.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**. v. 83, p. 1 – 11. 2002.

SUNNA, A.; ANTRANIKIAN, G. Xylanolytic enzymes from fungi and bacteria. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 17, p. 39-67, 1997.

SUURNAKKI, A.; TENKANEN, M.; BUCHET, J.; VIKARI, L. Hemicellulases in the bleaching of chemical pulps. In: **ADVANCES in Biochemical Engineering Biotechnology**, Scheper, 1997, p. 262-290.

TEIXEIRA, L.H. **Mapeamento funcional em cana-de-açúcar utilizando ESTS como marcadores moleculares**. 2006. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, 2006.

TREMBLAY, L.; ARCHIBALD, F. Production of a cloned xylanase in *Bacillus cereus* and its performance in kraft pulp prebleaching. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 853-860, 1993.

TRIANA, O.; LEONARD, M.; SAAVEDRA, F.; FERNÁNDEZ, N.; GÁLVEZ, G.; PEÑA, E. **Atlas del bagazo de la caña de azucar**. Mexico, 1990.

TOGRUL, H.; ARSLAN, N. Production of carboxymethyl cellulose from sugar beet pulp cellulose and rheological behaviour of carboxymethyl cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v.54, p.73-82, 2003.

UNICA – UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR. **DADOS E COTAÇÕES**. 2010. **2010 / 2011: a safra de cana que ‘não foi possível’ em 2009 / 2010**. Disponível em: <http://www.unica.com.br>. Acesso em 24 de fevereiro de 2011.

UNICA – UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR. **DADOS E COTAÇÕES**. 2010. Disponível em: <http://www.unica.com.br/dadosCotacao/estatistica/>, acesso em: 08 de março 2010.

VÄLJAMÄE, P.; SILD, V.; PETTERSSON, G.; JOHANSSON, G. The initial kinetics of hydrolysis by cellobiohydrolases I and II is consistent with a cellulose surface-erosion model. **European Journal of Biochemistry**, v. 253, p. 469-475, 1998.

VEGA, J. L.; KLASSON, K. T.; CALUSEN, E. C.; GADDY, J. L. The saccharification of corn stover by cellulase from *Penicillium funiculosum*. **Bioresource Technology**, v.35, p.73-80, 1991

VIIKARI, L.; RANUA, M.; KANTELINEN, A.; LINKO, M.; SUNDQUIST, J., In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON WOOD AND PULP CHEMISTRY. **Notes**, 3, 1987, Paris.

VILLAQUIRÁN, A. I., **Pulpeo de Bagazo de Cana por el Proceso Soda-Antraquinona**, Tesis (Magíster Scientiae), Universidad de los Andes/ Facultad de Ciencias Florestales, Mérida, 1987.

WAN, C.; LI, Y. Microbial pretreatment of corn stover with *Ceriporiopsis subvermispora* for enzymatic hydrolysis and ethanol production. **Bioresource Technology**, v.101, p.6398-6403, 2010.

WANG, S. H.; FERGUSON, J. F.; MCCARTHY, J. L. The decolorization and dechlorination of kraft bleach plant effluent solutes by use of three fungi: *Ganoderma lacidum*, *Coloriolus versicolor* and *Hericuim erinaceum*. **Holzforschung**, v. 46, n. 3, p.219-223, 1992,

WANG, F-J.; YANG, Y-Y.; ZHANG, X-Z.; ZHU, X., CHUNG, T-S.; MOOCHHALA, S. Cellulose acetate membranes for transdermal delivery of scopolamine base. **Material and Engineering**, 20, p. 93-100, 2002.

WARING, M. J.; PARSONS, D. Physico-Chemical characterization of carboxymethylated spun cellulose fibres. **Biomaterials**, v.22, p.903-912, 2001.

WYMAN, C. E.; DALE, B. E.; ELANDER, R. T.; HOLTZAPPLE, M.; LADISCH, M. R.; LEE, Y. Y. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. **Bioresource Technology**. v. 96, p. 1959 – 1966, 2005.

WONG, K, K, Y.; JONG, E. D.; SADDLER, J. N.; ALLISON, R. W. Mechanisms of xylanase aided bleaching of kraft pulp. Part 1: Process parameters. **Appita Journal**, v. 50, 1997.

YU, H.; DU, W.; ZHANG, J.; MA, F.; ZHANG, X.; ZHONG, W. Fungal treatment of cornstalks enhances the delignification and xylan loss during mild alkaline pretreatment and enzymatic digestibility of glucan. **Bioresource Technology**, v.101, p.6728-6734, 2010.

ZHANG, S.; WOLFGANG, D. E.; WILSON, D. B. Substrate heterogeneity causes the nonlinear kinetics of insoluble cellulose hydrolysis. **Biotechnology and Bioengineering.**, v. 66, p. 35-41, 1999.

ZHAO, X.; PENG, F.; CHENG, K.; LIU, D. Enhancement of the enzymatic digestibility of sugarcane bagasse by alkali-peracetic acid pretreatment. **Enzyme and Microbial Technology**, v.44, p.17-23, 2009.

ZHONG, W.; ZHANG, Z.; QIAO, W.; FU, P.; LIU, M. Comparison of chemical and biological pretreatment of corn straw for biogas production by anaerobic digestion. **Renewable Energy**, v.36, p.1875-1879, 2011.

ZIOBRO, G. C. Origin and nature of kraft colour: 1. Role of aromatics. **Journal. Wood Chemistry Technology**, v. 10, p. 133-149, 1990.