Joice Jaqueline Kaschuk

BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA COMO FONTE DE AÇÚCARES FERMENTESCÍVEIS E DE MATERIAIS: SACARIFICAÇÃO DE FIBRAS DE SISAL E PREPARAÇÃO DE MEMBRANAS PARA APLICAÇÃO EM CÉLULAS SOLARES A PARTIR DE DERIVADO DE CELULOSE

Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutora em Ciências.

Área de concentração: Físico-Química

Orientadora: Profa. Dra. Elisabete Frollini



SÃO CARLOS 2019

Ela me ensinou como amar e perdoar, ele me ensinou a ter forca e dedicação... Ela me abraçou quando necessitei, ele me disse palavras duras quando eu precisava ouvir... Ela a mulher da minha vida, ele o homem da minha vida... Ela a melhor mãe, ele o melhor pai... Ambos meus grandes amores...

> Dedico a vocês **Dona Luci e Seu José** esta tese e o título de Doutora em Ciências.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todas pessoas que passaram em minha vida em todos esses anos de pós graduação que independentemente do tempo ou de sua importância foram fundamentais para eu me tornasse a mulher e a profissional que sou... **Muito Obrigada**!!!

Mesmo não querendo citar nomes, há algumas pessoas que eu não posso deixar de mencionar neste agradecimento.

Primeiramente, **Pai e Mãe**, ninguém no universo sabe o quanto eu agradeço o apoio e suporte que vocês me deram em toda a minha vida. Amo vocês incondicionalmente. Em segundo, mas não menos importante, aos meus irmãos (**Cela, Déia, Adir**) e aos meus amados sobrinhos (**Matheus, Valentin, Eloisa e Jéssica**), muito obrigada por sempre estarem lá quando eu precisei.

Quero agradecer a você **Bete**, muito obrigada por sua orientação, amizade e paciência nos vários momentos de ansiedade que eu tive, e agradeço mais ainda por seus ensinamentos de como ser uma ótima profissional aliada à como não deixar de ser humana durante este caminho. Você foi uma das pessoas que mais contribuíram para que aquela menina de 21 anos, que mudou para São Carlos em busca de seus sonhos, se tornasse a mulher que é hoje.

Gostaria também de agradecer ao **Prof. Orlando J. Rojas**, que com o seu jeito latino e receptivo, me acolheu em seu grupo Biobased Colloids and Materials (BiCMat) na Aalto University, durante a minha estadia em Espoo/Helsinque - Finlândia. Kittos!

Por fim, quero expressar aqui, o meu agradecimento à Universidade de São Paulo e ao Instituto de Química de São Carlos que se tornaram a minha segunda casa durante esses anos, a Aalto University por me recepcionar durante os meus 6 meses de estágio fora do país, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro parcial (Financiamento 001) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo apoio financeiro através da concessão da bolsa de doutorado (Processo nº 2015/05240-5) e da bolsa de estágio BEPE (Processo nº 2017/13500-2).

"Why so serious? Why are we so serious? (...) When did we get like this? I still remember We weren't grown up like this" Song of Alice Merton and Nicolas Rebscher



Image source: http://theawkwardyeti.com/comic/float/

RESUMO

KASCHUK, J. J. Biomassa lignocelulósica como fonte de açúcares fermentescíveis e de materiais: sacarificação de fibras de sisal e preparação de membranas para aplicação em células solares a partir de derivado de celulose. 2019. 210f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

O presente estudo teve como objetivo a valorização de fibras lignocelulósicas de sisal (FLS) através da produção de açúcares fermentescíveis via hidrólise enzimática. FLS foram mercerizadas (solução aquosa 20 % NaOH) e a influência da razão massa de fibra/volume NaOH, temperatura (T) e tempo (t), durante o tratamento, foram avaliadas estatisticamente. Foram obtidas FLS com maior deslignificação em: < t (1,5 h) e < razão (10 g L⁻¹); maior extração de hemiceluloses em: > T (80 °C) e < razão (10 g L⁻¹); maior teor de celulose em: < T (40 °C) e > razão (30 g L⁻¹), e > t (4,5 h). Inicialmente, as fibras de sisal não mercerizadas (SNM) foram hidrolisadas (1 g de FLS, 0,5 mL de enzima, 50 mL de tampão citrato, 48 h) na ausência e na presença dos surfactantes ramnolipídeo (SNM-R, 60 mg L⁻¹,80 mg L⁻¹, 108 mg L⁻¹) e lignosulfonato de sódio (SNM-LS, 5,0 g L⁻¹ e 7,5 g L⁻¹). Posteriormente, a partir dos resultados obtidos, a condição de mercerização 10 g L⁻¹, 40 °C, 1,5 h foi selecionada para o pré-tratamento, e as fibras de sisal mercerizadas (SM) foram submetidas à hidrólise enzimática (mesmas condições de SNM) na ausência ou na presença de surfactantes (ramnolipídeo, 80 mg L^{-1} , e lignosulfonato, 5,0 g L^{-1}). Durante as reações, alíguotas foram retiradas e o licor foi separado da fibra não reagida por filtração, sendo posteriormente ambos analisados. Comparando SNM e SNM-R não foram observadas diferenças para o comprimento e a espessura médios ao longo da reação, já para SNM-LS5 a hidrólise foi favorecida a partir das extremidades e para SNM-LS7,5 a partir da superfície. As fibras de SM não reagidas apresentaram variações cristalinidade. comprimento/espessura, mais significativas em е em comparativamente a SNM. A conversão de SNM a glicose levou a um rendimento de 44 $\% \pm 5$, e os melhores resultados na presenca de surfactantes foram para SNM-R80 $(51 \% \pm 3)$, e SNM-LS5 (62,00 $\% \pm 0.04$). A mercerização aumentou significativamente o rendimento de glicose (SM: 96,800 $\% \pm 0,003$), e os rendimentos usando R (SM-R80: 96,5 % ± 0,1) e LS (SM-LS5: 98,3 % ± 0,1), considerando os valores médios e respectivos erros, são indistinguíveis de SM. Os resultados mostraram que as fibras lignocelulósicas de sisal apresentam alto potencial como como fonte (matéria-prima) alternativa para produção de etanol. Adicionalmente, um derivado de biomassa celulósica, um acetato de celulose (AC) com grau de substituição em torno de 1, foi usado para a obtenção de membranas eletrofiadas constituídas por fibras submicrométricas e nanofibras, visando aplicações em células solares sensibilizadas por corantes (Sensitized Solar Cells - DSSC). Foram obtidas também membranas após a desacetilação de AC, (ACD), e ambas foram utilizadas como membranas eletrolíticas em DSSC, sendo comparadas com DSSC de referência (sem membranas). As membranas AC e ACD aumentaram a eficiência média do dispositivo em até 14 %. A presença das mesmas aumentou a transferência de carga no contra-eletrodo (avaliada pela resistência ôhmica e de transferência de carga e pela capacitância de Helmholtz correspondente). Simultaneamente, o fotoeletrodo não sofreu interferência no desempenho medido pela densidade de corrente de curto-circuito, tensão de circuito aberto, fator de enchimento e eficiência de conversão. Por fim,

os testes de estabilidade mostraram que as DSSC AC e ACD apresentaram estabilidade por pelo menos 500 h. Para uso a longo prazo e/ou para servir como um suporte para outros fins, ACD tem um desempenho melhor do que AC. Os resultados levaram a perspectiva de que acetatos de celulose podem ser usados em uma montagem eficiente e contínua de DSSC, agregando um material biobaseado a estes dispositivos. Assim, de modo geral, este trabalho demonstrou que materiais obtidos a partir de fontes renováveis podem ser utilizados como fonte de energia (etanol), ou para melhorar o desempenho energético de uma célula solar.

Palavras chaves: fibra lignocelulósica de sisal, mercerização, hidrólise enzimática, membranas eletrolíticas, acetato de celulose, célula solar sensibilizada por corante.

ABSTRACT

KASCHUK, J. J. Lignocellulosic biomass as a source of fermentable sugars and materials: saccharification of sisal fibers and preparation of membranes of cellulose derivative for application in solar cells. 2019. 210f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

The present study aim was the valorization of sisal lignocellulosic fibers (SLF), through the production of fermentable sugars by enzymatic hydrolysis. SLF were mercerized (20% NaOH agueous solution) and the influence of fiber mass/volume NaOH ratio, temperature (T) and time (t) during the treatment was statistically evaluated. SLF with high delignification were obtained in: <t (1,5 h) and <ratio (10 g L-1); high hemicellulose extraction in: >T (80 °C) and <ratio (10 g L-1); high cellulose content in: <T (40 °C) and> ratio (30 g L-1), and> t (4.5 h). Initially, non-mercerized sisal fibers (NMS) were hydrolyzed (1 g FLS, 0.5 mL enzyme, 50 mL citrate buffer, 48 h) in the absence and presence of the rhamnolipid surfactants (NMS-R, 60 mg L-1, 80 mg L-1, 108 mg L-1) and sodium lignosulfonate (NMS-LS, 5.0 g L-1 and 7.5 g L-1). The mercerization condition 10 g L-1, 40 °C, 1.5 h was selected for pre-treatment from the previous results, and after that the mercerized sisal fibers (MS) were submitted to enzymatic hydrolysis (NMS conditions) in the absence or presence of surfactants (rhamnolipid, 80 mg L-1, and lignosulfonate, 5.0 g L-1). During the reactions, aliguots were withdrawn, and the liquor was separated from the unreacted fiber by filtration, and then analyzed. Comparing NMS and NMS-R no differences were observed in length and thickness average throughout the reaction. Differently, the hydrolysis was favored from the ends for NMS-LS5 and from the surface for NMS-LS7.5. Unreacted MS fibers showed more significant variations in crystallinity, and in length/thickness, compared to NMS. Conversion of NMS to glucose led to a $44\% \pm 5$ yield, and the best results in the presence of surfactants were for NMS-R80 ($51\% \pm 3$), and SNM-LS5 $(62.00\% \pm 0, 04)$. Mercerization significantly increased glucose yield (MS: 96.800\% \pm 100\%) 0.003), and the yields using R (SM-R80: 96.5% ± 0.1) and LS (SM-LS5: 98.3% 1) were indistinguishable from MS considering the average values and respective errors. The results showed that the SLF present high potential as an alternative source for ethanol production. In addition, a cellulosic biomass derivative (cellulose acetate -CA with a degree of substitution around 1) was used to obtain electrospun membranes composed of submicron fibers and nanofibers, for applications in dyesensitized solar cells (DSSC). Membranes were also obtained after CA deacetylation (DCA), and both were used as electrolytic membranes in DSSC and compared with reference DSSC (without membranes). CA and DCA membranes have increased the average efficiency of the device by up to 14%. Their presence increased the charge transfer in the counter electrode (evaluated by the ohmic resistance and charge transfer and by the corresponding Helmholtz capacitance). Simultaneously, the photoelectrode did not interfere with the performance measured by the short-circuit current density, open-circuit voltage, fill factor and conversion efficiency. Finally, the stability tests showed that the DSSC CA and DCA presented stability for at least 500 h. For long-term use and/or to serve as a support for other purposes, DCA performs better than CA. The results led to the prospect that cellulose acetates can be used in an efficient and continuous DSSC assembly by adding a biobased material to these devices. Thus, in general, this work demonstrated that materials obtained from renewable sources can be used as an energy source (ethanol), or to improve the energy performance of a solar cell.

Keywords: sisal lignocellulosic fiber, mercerization, enzymatic hydrolysis, electrolytic membranes, cellulose acetate, dye-sensitized solar cell

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 Fluxos de carbono típicos para sistemas de bioenergia e combustíveis fósseis. 31
- FIGURA 2 Estrutura e principais componentes da biomassa lignocelulósica. 32
- FIGURA 3 Estrutura molecular da celulose e representação esquemática das ligações hidrogênio presentes entre as cadeias de celulose (intermoleculares em vermelho) e nas unidades de celobiose (intramoleculares em preto) 33
- FIGURA 4 Representação de regiões cristalinas e não cristalina no interior da nanoestrutura de fibras deslignificadas de madeira 34
- FIGURA 5 Representação das principais ligações em complexos lignina-carboidrato (LCC): (a) fenil-glicosídeos, (b) ésteres benzílicos e (c) éteres benzílicos. Glc: glicose; Man: Manose; Gal:Galactose; Ara: Arabinose; Xyl: Xilose.
- FIGURA 6 Estrutura do acetato de celulose (Grau de Substituição GS:2, duas OH substituídas) 36
- FIGURA 7 Planta e fibra lignocelulósica de sisal

39

51

- FIGURA 8 Diferenças entre as ligações de hidrogênio intramoleculares da celulose I e celulose II 43
- FIGURA 9 Representação esquemática do mecanismo de ação do complexo enzimático incluindo enzimas celulases e xilanases 44
- FIGURA 10 Representação da interação do módulo de ligação a celulose (CBM) e do domínio catalítico (DC) entre uma celulase e a superfície da celulose 45
- FIGURA 11 Representação esquemática de uma reação de hidrólise enzimática com a participação de um surfactante. (1) as enzimas e substratos são atraídas em conjunto pelo surfactante; (2) o surfactante promove a interação não produtiva entre a enzima e o substrato; (3) o surfactante leva a uma alta recuperação da atividade da enzima; (4) o surfactante homogeneíza a matéria orgânica em solução com os seus grupos hidrófilos e hidrófobos; e (5) a interação hidrofóbica entre o surfactante e a lignina
- FIGURA 12 Estruturas químicas de alguns surfactantes48
- FIGURA 13 Estruturas moleculares de duas unidades de ramnose presentes nos ramnolipídeos. 50
- FIGURA 14 Parte da estrutura de um lignosulfonato

- FIGURA 15 Representação esquemática da interação entre o lignosulfonato e a lignina durante a hidrólise enzimática. 53
- FIGURA 16 Representação esquemática do "agregado LS-celulase estabilizado ou desestabilizado na ligação da celulase à celulose. Mw: Massa molar média. 54
- FIGURA 17 Difratograma típico de celulose de sisal sem tratamento 61
- FIGURA 18 Analisador de fibras (MorFi Compact Techpap) 62
- FIGURA 19 Difratograma das fibras de sisal não extraídas e extraídas por cicloexano/etanol 73
- FIGURA 20 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) (a) para as fibras de sisal não extraídas e (b) extraídas por cicloexano/etanol (1:1) 73
- FIGURA 21 Diagrama de Pareto obtido a partir dos dados experimentais referentes aos teores de holocelulose para as variáveis razão em massa, temperatura e tempo para o estudo de mercerização da fibra de sisal 77
- FIGURA 22 Superfícies de resposta mostrando o efeito da razão e da temperatura (a), da razão e do tempo (b) e da temperatura e o tempo (c) na porcentagem de holocelulose a partir da mercerização da fibra de sisal. 78
- FIGURA 23 Diagrama de Pareto obtido a partir dos dados experimentais referentes aos teores de hemicelulose para as variáveis razão em massa, temperatura e tempo para o estudo de mercerização da fibra de sisal 81
- FIGURA 24 Superfície de resposta mostrando o efeito da razão e da temperatura na porcentagem de hemicelulose a partir da mercerização da fibra de sisal 81
- FIGURA 25 Diagrama de Pareto obtido a partir dos dados experimentais referente aos teores de celulose para as variáveis razão, temperatura e tempo no estudo de mercerização da fibra de sisal 84
- FIGURA 26 Superfícies de resposta mostrando o efeito da razão e da temperatura (a), da razão e do tempo (b) e da temperatura e o tempo (c) na porcentagem de celulose a partir da mercerização da fibra de sisal. 85
- FIGURA 27 Diagrama de Pareto referente aos teores de lignina solúvel para as variáveis razão, temperatura e tempo no estudo de mercerização da fibra de sisal 89
- FIGURA 28 Superfície de resposta mostrando o efeito da razão e do tempo no teor de lignina solúvel a partir da mercerização da fibra de sisal. 90

- FIGURA 29 Difratogramas de raios-X das fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas e mercerizadas (Exp. 01 10 g L⁻¹, 1,5 h, 40 °C). Obs. Os valores descritos fazem referência aos valores dos picos dos difratogramas, ou seja, não são valores teóricos.
- FIGURA 30 Diagrama de Pareto referente aos índices de cristalinidade (IC) para as variáveis razão, temperatura e tempo no estudo de mercerização da fibra de sisal 94
- FIGURA 31 Superfície de resposta mostrando o efeito da razão e da temperatura no IC a partir da mercerização da fibra de sisal. 95
- FIGURA 32 Diagrama de Pareto referente aos rendimentos para as variáveis razão, temperatura e tempo no estudo de mercerização da fibra de sisal 97
- FIGURA 33 Superfície de resposta mostrando o efeito da razão e da temperatura no rendimento a partir da mercerização da fibra de sisal. 98
- FIGURA 34 Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) referente aos experimentos realizados durante o estudo estatístico da mercerização da fibra de sisal 101
- FIGURA 35 Variação dos teores de lignina insolúvel, solúvel e total, holocelulose, hemiceluloses e celulose ao longo da execução do estudo de aprofundamento da mercerização utilizando as condições de 30g L⁻¹ de fibra de sisal, 80 °C a 4,5h
- FIGURA 36 Variação do rendimento do tratamento ao longo da execução do estudo de aprofundamento da mercerização utilizando as condições de 30 g L⁻ ¹ de fibra de sisal, 80 °C a 4,5 h 105
- FIGURA 37 Imagens de MEV para as fibras de sisal extraídas durante ao longo da execução do estudo de aprofundamento da mercerização utilizando as condições de 30g L⁻¹ de fibra de sisal, 80 °C a 4,5h 106
- FIGURA 38 Comprimento e espessuras médios das fibras não reagidas retiradas do meio de tratamento ao longo da execução do estudo de aprofundamento da mercerização utilizando as condições de 30g L⁻¹ de fibra de sisal, 80 °C a 4,5h.
- FIGURA 39 Índice de Cristalinidade (IC) das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo. As concentrações de ramnolipídeo são 60 mg L⁻¹ (SNM-R60), 80 mg L⁻¹ (SNM-R80) e 108 mg L⁻¹ ¹ (SNM-R108). Erro considerado ± 0,50.
- FIGURA 40 Comprimentos médios das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo. As concentrações de ramnolipídeo são 60 mg L⁻¹ (SNM-R60), 80 mg L⁻¹ (SNM-R80) e 108 mg L⁻¹ (SNM-R108).

- FIGURA 41 Espessuras médio das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo. As concentrações de ramnolipídeo são 60 mg L⁻¹ (SNM-R60), 80 mg L⁻¹ (SNM-R80) e 108 mg L⁻¹ (SNM-R108). 115
- FIGURA 42 Imagens de MEV das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo. As concentrações de ramnolipídeo são 60 mg L⁻¹ (SNM-R60), 80 mg L⁻¹ (SNM-R80) e 108 mg L⁻¹ (SNM-R108). 116
- FIGURA 43 Teores de (a) glicose e (b) xilose das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo. As concentrações de ramnolipídeo são 60 mg L⁻¹ (SNM-R60), 80 mg L⁻¹ (SNM-R80) e 108 mg L⁻¹ (SNM-R108).
- FIGURA 44 Índice de Cristalinidade (IC) das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de LS. Concentrações de LS: 5,0 g L⁻¹ (SNM-LS-5) e 7,5 g L⁻¹ (SNM-LS7,5). Erro considerado ± 0,5.
- FIGURA 45 Comprimento e espessura médios das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de lignosulfonato. As concentrações de lignosulfonato são 5 g L⁻¹ (SNM-LS-5) e 7,5 g L⁻¹ (SNM-LS7,5).
- FIGURA 46 Imagens de MEV das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de lignosulfonato. As concentrações de lignosulfonato são 5 g L⁻¹ (SNM-LS-5) e 7,5 g L⁻¹ (SNM-LS7,5).
- FIGURA 47 Teores de glicose das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de Lignosulfonato. As concentrações de LS são 5 g L⁻¹ (SNM-LS-5) e 7,5 g L⁻¹ (SNM-LS7,5). Ênfase nas primeiras 10 h de reação.
- FIGURA 48 Teores de xilose das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de Lignosulfonato. As concentrações de LS são 5 g L⁻¹ (SNM-LS-5) e 7,5 g L⁻¹ (SNM-LS7,5). Ênfase nas primeiras 10 h de reação.
- FIGURA 49 Índice de Cristalinidade (IC) para as fibras não reagidas retiradas das
reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas de sisal não
mercerizadas (SNM) e mercerizadas (SM)139

- FIGURA 50 Comprimento e espessura médios para as fibras não reagidas retiradas das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas (SNM) e mercerizadas (SM) 140
- FIGURA 51 Imagens de MEV para as fibras não reagidas retiradas das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas (SNM) e mercerizadas (SM) 141
- FIGURA 52 Teores de glicose (a) e xilose (b) para as reações de hidrólise enzimática utilizando fibras não mercerizadas (SNM) e fibras mercerizadas (SM). 142
- FIGURA 53 (a) Polpa celulósica de sisal mercerizada [20 g L⁻¹, 50 °C, 3h; (KASCHUK, 2014; KASCHUK et al., 2017; KASCHUK; FROLLINI, 2018)] e (b) Fibra lignocelulósica de sisal mercerizada (10gL⁻¹, 40 °C, 1,5h; usada no presente estudo)
- FIGURA 54 Índice de Cristalinidade (IC) para as fibras não reagidas retiradas das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas de sisal mercerizadas (SM) com a utilização ou não de ramnolipídeo e lignosulfonato. As concentrações de lignosulfonato são 5 g L⁻¹ (SM-LS-5) e ramnolipídeo 80 mg L⁻¹ (SM-R80).
- FIGURA 55 Comprimentos e espessura médios das fibras lignocelulósica de sisal mercerizadas (SM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo e lignosulfonato. As concentrações de ramnolipídeo são 80 mg L⁻¹ (SM-R80) e de lignosulfonato 5 g L⁻¹ (SM-LS5).
- FIGURA 56 Imagens de MEV das fibras lignocelulósica de sisal mercerizadas (SM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo e lignosulfonato. As concentrações de ramnolipídeo são 80 mg L⁻¹ (SM-R80) e lignosulfonato 5 g L⁻¹ (SM-LS5). 148
- FIGURA 57 Teores de (a) glicose e (b) xilose das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósica de sisal mercerizadas (SM) retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo ou lignosulfonato. As concentrações de ramnolipídeo são 80 mg L⁻¹ (SM-R0) e lignosulfonato 5 g L⁻¹ (SM-LS5).
- FIGURA 58 Representação esquemática de uma célula solar sensibilizada por corante (DSSC) 155
- FIGURA 59 Princípio de funcionamento de uma DSC, incluindo todas as etapas e reações envolvidas durante um ciclo de trabalho completo e os níveis de energia no processo 156
- FIGURA 60 Configuração das células solares obtidas no presente estudo 163

- FIGURA 61 Representação esquemática dos experimentos de eletrofiação realizadas 165
- FIGURA 62 Curva I-V típica de uma célula solar e seus parâmetros característicos parâmetros característicos. I_{SC}: corrente de curto-circuito, I_{MPP}: corrente potência máxima, M_{PP}: potência máxima, V_{MPP}: tensão de potência máxima (P_{MAX}), V_{OC}: tensão circuito aberto. 167
- FIGURA 63 Modelo de circuito equivalente de uma DSSC: RS é a resistência da série ôhmica. Rt (= rtd) é a resistência de transporte de elétrons, e d é a espessura da camada. Zd é a impedância de transferência de massa no contra eletrodo causada pela difusão iônica no eletrólito. Há também vários pares de elementos de fase constante (CPE) / resistor (R) que estão relacionados a diferentes interfaces denotadas no subscript: SU substrato / eletrólito PE , CO o substrato PE / TiO₂ poroso, CT o TiO₂ / interface eletrólito, e CE o eletrodo contador / eletrólito
- FIGURA 64 Resposta EIS de um exemplo DSSC a) um gráfico de Nyquist: com diferentes componentes de resistência descritos (b) Gráfico de Bode: impedância imaginária vs. frequência que ajuda a reconhecer quais resistências internas são visíveis no gráfico de Nyquist 170
- FIGURA 65 Imagens MEV das membranas de fibras de eletrofiadas AC em CE (direita), e os histogramas de diâmetro correspondente e porosidade (esquerda) após variar a voltagem de a) 15 kV, b) 20 kV e c) 25kV. 174
- FIGURA 66 Imagens MEV das membranas de fibras de eletrofiadas AC em CE (direita), e os histogramas de diâmetro correspondente e porosidade (esquerda) após variar a vazão de fiação a) 5,5, b) 15,5, c) 25,5 e d) 35,5 μL min⁻¹.
- FIGURA 67 Imagens MEV das membranas de fibras de eletrofiadas AC em CE (direita), e os histogramas de diâmetro correspondente e porosidade (esquerda) após variar a distância entre a agulha e o coletor em: a) 5 cm, b) 10 cm, c) 15 cm e d) 20 cm 176
- FIGURA 68 Representação do mecanismo de desacetilação do acetato de celulose em meio básico. 179
- FIGURA 69 Espectros de FTIR para membranas eletrofiadas após desacetilação usando NaOH (0,1 mol L-1) em diferentes tempos. 179
- FIGURA 70 Imagens de MEV para membranas eletrofiadas após desacetilação usando NaOH (0,1 mol L⁻¹) em diferentes tempos. 180
- FIGURA 71 Ângulos de contato para a água e 3-metoxipropionitrilo (MPN) com as membranas fibras obtidas a partir de eletrofiação depois do tratamento alcalino nos tempos determinados. O ângulo de contato foi registrado após 600s para a água e 60s para o MPN.
- FIGURA 72 Curva I-V para as células solares do presente estudo 182

- FIGURA 73 Perfis de eficiência de quântica (%) das células solares 184
- FIGURA 74 Desempenho de estabilidade em função do tempo das DSSC com as membranas incorporadas à estrutura em comparação com a célula de referência, sob 1 luz solar a 40°C 185

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 Níveis reais e codificados das variáveis independentes estudadas no
processo de mercerização da fibra de sisal.65
- TABELA 2 -Códigos utilizados para representar as reações realizadas no presente estudo de acordo com a concentração de surfactante (ramnolipídeo e lignosulfonato) e a realização (X) ou não (--) do tratamento de mercerização.
- TABELA 3 Composição da fibra de sisal não extraída e extraída com
cicloexano/etanol (1:1)72
- TABELA 4 Variáveis codificadas e descodificadas independentes do planejamento
fatorial 2³ com ponto central74
- **TABELA 5** Resultados experimentais obtidos para as respostas de holocelulose (Holo
- maior erro: exp 03 ±2; menor erro: exp 02 ± 0,2), hemiceluloses (Hemi
- maior erro: exp 02 ± 1,2; menor erro: exp 01 ± 0,5), celulose (Celu -
maior erro: exp 03 ± 2,7; menor erro: exp 08 ± 0,2), lignina insolúvel
(Lig. Ins. maior erro: exp 05 ± 1,3; menor erro: exp 08 ± 0,1), lignina
solúvel (Lig. Sol. maior erro: inicial ±0,9; menor erro: exp 01 ± 0,3),
lignina total (Lig. Total maior erro: exp 05 ± 1,4; menor erro: exp 02 ±
0,2), índice de cristalinidade (IC) e rendimento (Rend). Os valores para
a fibra de partida foram adicionados para análise comparativa**75**
- TABELA 6 Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais de holocelulose em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho estão destacados os resultados significativos para o estudo, ou seja, variáveis que obtiveram valor-p<0,05
- TABELA 7 Resultados extraídos das superfícies de respostas para os teores de
holocelulose obtidos durante o estudo de mercerização79
- TABELA 8 Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais de hemiceluloses obtidos para hemiceluloses em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho estão destacas variáveis que obtiveram valor-p<0,05
- TABELA 9 Resultados extraídos da superfície de respostas para os teores de
hemiceluloses obtidos durante o estudo de mercerização82
- TABELA 10 Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustadoaos dados experimentais obtidos para o teor de celulose em função da

razão, temperatura e tempo. Em vermelho estão destacadas variáveis que obtiveram valor-p<0,05 83

- TABELA 11 Resultados extraídos das superfícies de respostas para os teores de
celulose obtidos durante o estudo de mercerização85
- TABELA 12 Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais obtidos para o teor de lignina insolúvel em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho estão destacadas variáveis que obtiveram valor-p<0,05
- TABELA 13 Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais obtidos para o teor de lignina solúvel em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho estão destacadas variáveis que obtiveram valor-p<0,05
- TABELA 14 Resultados extraídos da superfície de respostas para os teores de
lignina solúvel obtidos durante o estudo de mercerização90
- TABELA 15 Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais obtidos para o teor de lignina total em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho destaca-se os resultados significativos para o estudo, ou seja, variáveis que obtiveram valor-p<0,05
- TABELA 16 Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais obtidos para os índices de cristalinidade em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho destacam-se os resultados significativos para o estudo, ou seja, variáveis que obtiveram valor-p<0,05
- TABELA 17 Resultados extraídos das superfícies de respostas para os IC obtidos
durante o estudo de mercerização95
- TABELA 18 Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais obtidos para os rendimentos em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho destaca-se os resultados significativos para o estudo, ou seja, variáveis que obtiveram valor-p<0,05
- TABELA 19 Resultados extraídos da superfície de respostas para os rendimentos
obtidos durante o estudo de mercerização98
- TABELA 20 Tensões superficiais dos meios reacionais utilizados durante as reações hidrólises enzimáticas: TC: Tampão Citrato, TC-R60: adição de 60 mg L⁻¹ de ramnolipídeo, TC-R80: adição de 80 mg L⁻¹ de ramnolipídeo e TC-R108: adição de 108 mg L⁻¹ de ramnolipídeo

- TABELA 21 Valores de glicose e xilose detectadas, e rendimentos para reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo. As concentrações de ramnolipídeo são 60 mg L⁻¹ (SNM-R60), 80 mg L⁻¹ (SNM-R80) e 108 mg L⁻¹ (SNM-R108) [glicose] máxima: 13,45 g L⁻¹, [xilose]máxima: 4,85 g L⁻¹
- TABELA 22 Tensões superficiais dos meios reacionais utilizados durante as reações hidrólises enzimáticas: TC: Tampão Citrato, TC-LS5: adição de 5 g L⁻¹ de lignosulfonato e TC-LS7,5: adição de 7,5 g L⁻¹ de lignosulfonato
 124
- TABELA 23-Valores de glicose e xilose detectadas e rendimentos para as reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas com a utilização ou não do lignosulfonato como surfactante (LS). As concentrações de LS foram5 g L⁻¹(SNM-LS5) e7,5 g L⁻¹ SNM-LS7,5. [glicose]máxima: 13,45 g L⁻¹, [xilose]máxima: 4,85 g L⁻¹
- TABELA 24 Teores de hemiceluloses, celulose, lignina insolúvel e solúvel para as
fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas e mercerizadas usadas
durante o estudo de hidrólise enzimática.137
- TABELA 25 Valores de glicose detectada e rendimento de reação para as reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas (SNM) e mercerizadas (SM). [glicose]máximaSNM: 13,45 g L⁻¹, [xilose]máximaSNM: 4,85 g L⁻¹, [glicose]máximaSM: 15,98 g L⁻¹, [xilose]máximaSM: 1,90 g L⁻¹
- TABELA 26 Valores de glicose detectada e rendimento de reação para as reações
de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas de sisal não
mercerizadas (SNM) e mercerizadas (SM) mercerizadas (SM)150
- TABELA 27- Condições usadas durante a eletrofiação164
- TABELA 28 Parâmetros de Solubilidade de Hansen para o acetato de celulose, MPNe a água a 25 °C, e respectivas estruturas moleculares178
- TABELA 29 Parâmetros fotovoltaicos de células solares sensibilizadas por corante (DSSC) compreendendo membranas de acetato de celulose (célula AC) e parcialmente desacetilada (célula ACD) bem como célula de referência (sem membrana). Isc: densidade de corrente de curto-circuito; Voc: tensão de circuito aberto; FF: fator de preenchimento; η: eficiência de conversão
- TABELA 30 Resistência Ôhmica RS e de transferência de carga no CE / eletrólitointerface RCE e capacitância Helmholtz correspondente CCPE-CE183

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	-	acetato de celulose
ACD	-	acetato de celulose parcialmente desacetilado
СВМ	-	carbohydrate-binding module - Módulo de ligação aos carbohidratos
CE	-	contra eletrodo
DMAc	-	N,N - dimetilacetamida
DSSC	-	sigla do inglês dye sensitized solar cell, célula solar sensibilizada por corante
FLS	-	fibra lignocelulósica de sisal
FTO	-	óxido de estanho dopado com flúor
GL	-	graus de liberdade
gt	-	gauche-trans
номо	-	orbital molecular de maior energia
HPLC	-	cromatografia líquida de alta eficiência
IC	-	índice de cristalinidade
I _{MPP}	-	corrente de potência máxima
lsc	-	corrente de curto circuito
LS	-	lignosulfonato de sódio
LUMO	-	orbital molecular desocupado de menor energia
MEV	-	microscopia eletrônica de varredura
MPN	-	3 - metoxipropionitrila
M _{PP}	-	potência máxima
MQ	-	média quadrática
Mw	-	massa molar média
NaOH	-	hidróxido de sódio
OH	-	hidroxilas
PE	-	sigla do inglês phoelectrode, fotoeletrodo
QE	-	eficiência quântica
R	-	ramnolipídeo
R _{CE}	-	resistência de transferência de carga na interface eletrólito-eletrodo
Rct	-	impedância na interface eletrólito/eletrodo
R _D	-	resistência à difusão através do eletrólito
R _{PE}	-	Resistores combinados de PE

- Rs resistência da série ôhmica na célula solar
- SM fibra de sisal mercerizada
- SNM fibra de sisal não mercerizada
- SQ soma quadrática
- T temperatura
- t tempo
- TC tampão citrato
- TCO óxido condutor transparente
- tg trans-gauche
- V_{MPP} tensão da potência máxima
- Voc tensão de circuito aberto
- **η** eficiência de conversão

SUMÁRIO

CONSIDERAÇÕES GERAIS	31
ESTRUTURA DA TESE	37
CAPITULO I - PRÉ-TRATAMENTO E SACARIFICAÇÃO DAS FIBRAS LIGNOCELUL DE SISAL	ÓSICAS. 39
1.1 INTRODUÇÃO	39
1.1.1 FIBRA LIGNOCELULÓSICA DE SISAL	39
1.1.2 PRÉ-TRATAMENTOS	40
1.1.2.1 Pré-tratamento alcalino (mercerização)	41
1.1.3 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA	44
1.1.3.1 Utilização de surfactantes em hidrólise enzimática de celulose	46
1.1.3.2 Ramnolipídeo	49
1.1.3.3 Lignosulfonato	51
1.2. OBJETIVOS	55
1.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	55
1.3. MATERIAIS E MÉTODOS	57
1.3.1 FIBRAS LIGNOCELULÓSICAS DE SISAL	57
1.3.2 REAGENTES E SOLVENTES	57
1.3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS FIBRAS LIGNOCELULÓSICAS	58
1.3.3.1 Teor de lignina	58
1.3.3.2 Teor de holocelulose	59
1.3.3.3 Teor de α-celulose	59
1.3.3.4 Índice de cristalinidade (IC)	60
1.3.3.5 Comprimento e espessura médios das fibras	62
1.3.3.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	62
1.3.4 ANÁLISE ELEMENTAR	63

1.3.5 PRÉ -TRATAMENTOS DAS FIBRAS LIGNOCELULÓSICAS	63		
1.3.5.1 Extração com solventes	63		
1.3.5.2 Moagem	64		
1.3.5.3 Mercerização	64		
1.3.5.3.1 Análise estatística do planejamento fatorial	65		
1.3.5.3.2 Aprofundamento do estudo de mercerização	66		
1.3.5.3.3 Mercerização das fibras lignocelulósicas de sisal destinadas à enzimática	hidrólise 67		
1.3.6 REAÇÕES DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA	67		
1.3.6.1 Análises de tensão superficial	69		
1.3.6.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	69		
1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	71		
1.4.1 TRATAMENTOS DAS FIBRAS LIGNOCELULÓSICAS DE SISAL	71		
1.4.1.1 Extração cicloexano/etanol	71		
1.4.1.2 Mercerização das fibras de sisal	74		
1.4.1.2.1 Holocelulose	76		
1.4.1.2.2 Hemiceluloses	80		
1.4.1.2.3 Celulose	83		
1.4.1.2.4 Lignina insolúvel	87		
1.4.1.2.5 Lignina solúvel	88		
1.4.1.2.6 Lignina total	91		
1.4.1.2.7 Índice de cristalinidade	92		
1.4.1.2.8 Rendimento	96		
1.4.1.2.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	100		
1.4.1.2.10 Aprofundamento do estudo de mercerização das fibras de sisal	102		
1.4.2 REAÇÕES DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA FIBRA LIGNOCELULÓSICA DE SISAL 109			
1.4.2.1 Reações das fibras lignocelulósicas não mercerizadas (SNM)	109		

1.4.2.1.1 Influência do surfactante ramnolipídeo (R)	109
1.4.2.1.1.1 Caracterização das fibras não reagidas retiradas do meio reacional	110
1.4.1.1.1.2 Análise dos licores isolados durante a reação de hidrólise enzimática	a 117
1.4.2.1.2 Influência do surfactante lignosulfonato (LS)	124
1.4.2.1.2.1 Caracterização das fibras não reagidas retiradas do meio de reação	124
1.4.1.1.2.2 Análise dos licores isolados durante a reação de hidrólise enzimática	a 131
1.4.2.2 Reações das fibras lignocelulósicas mercerizadas (SM)	137
1.4.2.2.1 Influência da mercerização	138
1.4.2.2.1.1 Caracterização das fibras não reagidas retiradas do meio de reação	138
1.4.2.2.1.2 Análise dos licores isolados durante a reação de hidrólise enzimática	a 142
1.4.2.2.2 Influência do ramnolipídeo (R) e lignosulfonato (LS) na hidrólise das fi lignocelulósicas de sisal mercerizadas (SM)	ibras 145
1.4.2.2.2.1 Caracterização das fibras não reagidas retiradas do meio de reação	145
1.4.2.2.2.2 Análise dos licores isolados durante a reação de hidrólise enzimática	a 149
1.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	151
CAPÍTULO 2 - MEMBRANAS CONSTITUÍDAS POR FIBRAS ULTRAFINAS DE CELUL ACETILADA APLICADAS EM CÉLULAS SOLARES SENSIBILIZADAS POR CORANTES	-OSE 5153
2.1. INTRODUÇÃO	153
2.1.1 CÉLULAS SOLARES SENSIBILIZADAS POR CORANTE (DSSC)	154
2.2 OBJETIVOS	161
2.2.1 OBJETIVO GERAL	161
2.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	161
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS	163
2.3.1 MATERIAIS	163
2.3.2 CÉLULAS SOLARES A PARTIR DE MEMBRANAS ELETROLÍTICAS DE ACET DE CELULOSE	АТО 163
2.3.2.1 Obtenção das membranas via eletrofiação (electrospinning)	164
2.3.2.2 Contra eletrodos (CE)	165

2.3.2.3 Fotoeletrodos (PE)	165
2.3.2.4 Montagem das células solares e célula referência	166
2.3.3 ANÁLISES FOTOVOLTAICAS	166
2.3.3.1 I-V análise sob 1 sol	166
2.3.3.2 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS)	168
2.3.3.3 Eficiência de conversão de fóton incidente para corrente elétrica	(IPCE) 170
2.3.3.4 Teste de estabilidade	171
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	173
2.4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE FIBRAS ELETROFIADAS	173
2.4.2 DESACETILAÇÃO DAS MEMBRANAS DE FIBRAS ELETROFIADAS	177
2.4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES FOTOVOLTAICAS DAS DSSCS	181
2.4.4 ESTABILIDADE DAS DSSCS	184
2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	187
3 CONCLUSÃO	189
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	191
APÊNDICE I - DIFRATOGRAMAS DO ESTUDO DE MERCERIZAÇÃO DAS I LIGNOCELULÓSICAS DE SISAL	FIBRAS CCIX

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Com o crescimento da população mundial ocorreu o aumento significativo na geração de resíduos sólidos, líquidos e gasosos. Grande parte destes resíduos é proveniente de derivados de petróleo, e a combustão destes contribui para o aumento do teor carbono atmosférico (FIGURA 1), levando ao aumento da poluição do ar e da incidência de chuvas ácidas, o que impacta as mudanças climáticas mundiais (CRAGGS; GILBERT, 2017; MULLAN; HAQQ-MISRA, 2018).

Os aspectos previamente mencionados, dentre outros, levaram ao desenvolvimento de um segmento da economia denominado bioeconomia, voltado para um sistema sustentável, em que matérias primas renováveis são usadas, visando minimização de problemas estratégicos, econômicos e ambientais. Neste contexto, pode-se destacar a biomassa vegetal, que além de auxiliar na captura e no armazenamento do carbono, é considerada como uma via credível para emissões mínimas e redução de gases poluentes quando utilizada como fonte para a geração de energia (FIGURA 1) (CRAGGS; GILBERT, 2017).



FIGURA 1 - Fluxos de carbono típicos para sistemas de bioenergia e combustíveis fósseis.

Fonte: Adaptado de CRAGGS, L.; GILBERT, P. Greenhouse Gas Balances of Bioenergy Systems, p. 1-10, 2018.

A biomassa lignocelulósica é composta majoritariamente por celulose, hemiceluloses e lignina (FIGURA 2), (CHRYSIKOU; BEZERGIANNI; KIPARISSIDES, 2018), cujas porcentagens dependem da genética da planta e fatores ambientais, como o clima em que a biomassa foi produzida. Com base no material seco, a biomassa lignocelulósica, geralmente, apresenta em torno de 70-80 % de celulose e hemiceluloses e 10-25 % de lignina (NANDA et al., 2014). Ceras, pectinas e sais inorgânicos também são encontrados em pequenas quantidades.





Fonte: Adaptado de MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G. M. In: Amsterdam: Elsevier, 2016. p. 1-22.

A celulose é formada por dímeros de anidroglicose $[(C_6H_{10}O_5)_n, n = as unidades de repetição por cadeia] em uma cadeia linear, em que os mesmos são ligados entre$

si através da ligação glicosídica entre o C₁ e C₄ (chamada de ß 1-4) de um anel adjacente (ligação C1-4) (WANG; LU; ZHANG, 2016). A disposição em fibrilas da celulose na biomassa lignocelulósica [FIGURA 2, (LIN; DUFRESNE, 2014)] é decorrente das ligações hidrogênio intermoleculares entre cadeias adjacentes, e das ligações hidrogênio intramoleculares ao longo das cadeias celulósicas, que também contribuem para a rigidez das cadeias individuais (FIGURA 3) (FENGEL; WEGENER, 1989).

FIGURA 3 - Estrutura molecular da celulose e representação esquemática das ligações hidrogênio presentes entre as cadeias de celulose (intermoleculares em vermelho) e nas unidades de celobiose (intramoleculares em azul)



As ligações hidrogênio favorecem o alinhamento de cadeias e, portanto, a presença de domínios cristalinos, responsáveis pelo fato de a celulose ser um polímero semicristalino, com regiões não cristalinas (não ordenadas) e regiões cristalinas (altamente ordenadas) [FIGURA 4, (HUBBE et al., 2013; CREDOU; BERTHELOT, 2014)]. O índice de cristalinidade de uma celulose nativa geralmente se encontra no intervalo de 40-70 %, mas deve-se ressaltar que a cristalinidade do material depende de fatores como a origem e o método de extração e isolamento do mesmo (NECHYPORCHUK; BELGACEM; BRAS, 2016).



FIGURA 4 - Representação de regiões cristalinas e não cristalina no interior da nanoestrutura de fibras deslignificadas de madeira

Fonte: Adaptado de HUBBE, M. A.; AYOUB, A.; DAYSTAR, J. S.; VENDITTI, R. A.; PAWLAK, J. J.. BioResources; Vol 8, No 4 (2013), 2013

Quando o material celulósico não apresenta lignina o tamanho das cadeias celulósicas e o empacotamento das mesmas (principal componente das regiões cristalinas) são fatores predominantes na acessibilidade da celulose, e processos tais como sacarificação (conversão da celulose em glicose) podem ser impactados pela cristalinidade do material (WANG; LU; ZHANG, 2016). Assim, quanto maior o empacotamento e mais longas as cadeias de celulose, menor poderá ser a acessibilidade e mais difícil a interação entre o catalisador e/ou solvente envolvido no processo (ALVES et al., 2016). O material celulósico pode ser submetido a tratamentos que aumentem a acessibilidade e, portanto, a reatividade das cadeias de celulose, tais como a realização do tratamento com solução aquosa de NaOH (mercerização) (KASCHUK et al., 2017).

Ligações hidrogênio também são responsáveis pelas interações que ocorrem entre a celulose e as hemiceluloses. As hemiceluloses são constituídas de diversas unidades de açúcares (xilose, arabinose, glicose, manose, galactose e ramnose), e atuam como elo entre a celulose e a lignina (FIGURA 2).

A interação das hemiceluloses com a lignina, por sua vez, ocorre por ligações covalentes. Encontra-se que os principais tipos de ligações em complexos ligninacarboidrato (LCC) sejam as ligações fenil-glicosídeos, ésteres e éteres benzílicos [FIGURA 5, (WEN et al., 2013)]. Assim, a lignina envolve o material celulósico, conferindo às plantas resistência mecânica, auxiliando no transporte de água e nutrientes, e protegendo os tecidos vegetais da degradação química e/ou biológica (FENGEL; WEGENER, 1989).

FIGURA 5 - Representação das principais ligações em complexos lignina-carboidrato (LCC): (a) fenil-glicosídeos, (b) ésteres benzílicos e (c) éteres benzílicos. Glc: glicose; Man: Manose; Gal:Galactose; Ara: Arabinose; Xyl: Xilose.



Fonte: Adaptado de WEN, J.-L.; SUN, S.-L.; XUE, B.-L.; SUN, R.-C. Materials (Basel, Switzerland), v. 6, n. 1, p. 359-391, 2013.

Devido ao fato de a lignina corresponder a uma macromolécula tridimensional complexa, formada principalmente por unidades típicas de álcool p-curmarílico, derivados de álcool coniferílico e álcool sinapílico (FIGURA 2), unidas entre si através de ligações éter, que são muito resistentes à quebra perante ação de diversos seres da biota, por isso é dito que a lignina apresenta baixa taxa de degradação (HAYES, 2013).

Os componentes da biomassa lignocelulósica correspondem a matérias-primas que podem ser usadas nas áreas de energia, químicos e farmacêutica (VAZ, 2018). Entre todos os componentes, a celulose pode ser destacada, devido suas propriedades físicas e químicas excelentes para derivatização e produção de glicose (como etapa para produção de etanol), (YU; DEAN; LI, 2006; SILVEIRA; VANELLI; CHANDEL, 2018).

A partir da derivatização dos grupos hidroxilas presentes ao longo da cadeia da celulose, pode-se obter derivados solúveis em diferentes solventes, tais como acetona, N,N - dimetilacetamida, acetonitrila, entre outros, o que torna-os mais fáceis de serem processados. A facilidade de processamento resulta na obtenção de materiais de alto valor agregado que podem ser aplicados em diferentes setores industriais, médicos, construção civil, etc. (WURM; WEISS, 2014). Um dos mais importantes derivados de celulose é o acetato de celulose (FIGURA 6). A síntese deste derivado ocorre pelo processo de acetilação das cadeias de celulose, em que os grupos OH são substituídos pelos grupos acetila. Este derivado pode ser obtido com diversos graus de substituição (GS), que corresponde ao número médio de acetilas por unidade de glicose, variando de 1 a 3 (NASIR et al., 2017).





Acetatos de celulose há muito vêm sendo abordados em pesquisas desenvolvidas pelo grupo de Materiais Macromoleculares e Fibras Lignocelulósicas (Macromolignocell), via investigações sobre acetilação de celuloses em meio heterogêneo (DE PAULA; LACERDA; FROLLINI, 2008), e meio homogêneo (ASS; CIACCO; FROLLINI, 2006; MORGADO, 2009; ALMEIDA et al., 2013; RODRIGUES et al., 2014). Além de investigações sobre as reações, os acetatos de celulose foram aplicados na preparação de biocompósitos, também utilizando celulose como agente de reforço (ALMEIDA et al., 2013; RODRIGUES et al., 2014), e de materiais filmogênicos em que foram incorporadas nanopartículas de magnetita (Fe₃O₄) (FURLAN, 2014).

O presente estudo foi divido em duas etapas: a primeira referente a obtenção de açúcares fermentescíveis a partir de uma biomassa lignocelulósica (fibra lignocelulósica de sisal), e a segunda destinada a preparação de membranas compostas por fibras ultrafinas e nanofibras, via eletrofiação, utilizando o derivado de celulose (acetato de celulose) para a aplicação em células solares.
ESTRUTURA DA TESE

Esta tese descreve resultados sobre:

- a valorização de fibras lignocelulósicas de sisal como fonte de açúcares, ou seja, etapa de sacarificação, que antecede a obtenção de etanol celulósico;
- a utilização de um derivado da celulose, um acetato de celulose na preparação de membranas, aplicadas em células solares.

A tese foi dividida em dois capítulos:

- **CAPÍTULO I:** aborda pré-tratamento (tratamento com solução alcalina) e sacarificação da fibra lignocelulósica de sisal, realizada via hidrólise enzimática.
- CAPÍTULO II: são apresentados os resultados referentes à aplicação de membranas compostas por fibras ultrafinas e nanofibras de acetato de celulose, obtidas via eletrofiação (electrospinning). Esta parte da tese foi realizada no estágio na Aalto University, Espoo, Finlândia, sob supervisão de Prof. Orlando Rojas.

CAPITULO I - Pré-tratamento e sacarificação das fibras lignocelulósicas de sisal

1.1 INTRODUÇÃO

1.1.1 Fibra lignocelulósica de sisal

O sisal (*Agave sisalana*, FIGURA 7) é uma planta originária do México, que cresce em países tropicais. Os principais produtores desta fibra são Brasil, Kenia, Marrocos, África do Sul e Etiópia, sendo que o Brasil é o maior produtor, destacando-se de forma significativa dos demais países (FAO, 2018).



O *Grupo de Materiais Macromoleculares e Fibras Lignocelulósicas* (*MacromoLignocell*) desenvolve um amplo projeto de valorização de fibras lignocelulósicas e também de seus componentes isolados, como a celulose e a lignina. Uma das fibras lignocelulósicas mais presentes em pesquisas neste grupo é o sisal, pois a mesma, além de apresentar alto teor de celulose, é obtida de planta que apresenta curto ciclo de crescimento (36 meses após o plantio) quando comparada a madeira, além de ser abundante no país, principalmente na região semiárida dos estados da Bahia, Rio Grande do Norte e Paraíba. Entre as linhas de pesquisa utilizando a fibra de sisal, pode-se citar o uso como reforço em compósitos (SANTOS, 2012; DE OLIVEIRA, 2014; SANTOS et al., 2014; DE OLIVEIRA et al., 2017), a sacarificação de polpa celulósica de sisal produzida industrialmente, via catálise

ácida e enzimática (DE PAULA et al., 2012; LACERDA et al., 2012; LACERDA; ZAMBON; FROLLINI, 2015; KASCHUK et al., 2017; KASCHUK; FROLLINI, 2018), o estudo de funcionalização da celulose em meio heterogêneo (DE PAULA; LACERDA; FROLLINI, 2008) e em meio homogêneo (ALMEIDA et al., 2013), a preparação e caracterização de filmes a partir de ésteres de celulose de sisal obtidos em meio homogêneo, (RODRIGUES et al., 2014) e o desenvolvimento de nano fibras e mantas não tecidas (*mats*) via eletrofiação (*electrospinning*) (RODRIGUES et al., 2015; SANTOS et al., 2015, 2017, 2018; SANTOS; RAMOS; FROLLINI, 2019).

Em estudos anteriores, a sacarificação enzimática foi realizada com a polpa celulósica de sisal, obtida após deslignificação da fibra lignocelulósica via processo Kraft em escala industrial (LACERDA, 2012; KASCHUK, 2014; KASCHUK et al., 2017; KASCHUK; FROLLINI, 2018). No presente estudo, a fibra lignocelulósica de sisal foi submetida ao tratamento de mercerização, e sequente sacarificação. Também foi realizada a hidrólise enzimática na presença de surfactantes (ramnolipídeo e lignosulfonato), com o intuito de avaliar influência no aumento do rendimento da produção de açúcares.

1.1.2 Pré-tratamentos

Como mencionado, o material lignocelulósico é um complexo estrutural formado principalmente por celulose, hemiceluloses e lignina e apresenta também substâncias não estruturais chamadas de extrativos, como ceras, sais inorgânicos, proteínas, gorduras, (NEVES; PITARELO; RAMOS, 2016). Dependendo do processo a que o material vai ser destinado, torna-se necessário a realização de um ou mais prétratamento. Por exemplo, tratamentos que eliminem hemiceluloses, lignina, que alterem a conformação das cadeias de celulose (através da quebra de ligações de hidrogênio), para que esta se torne mais disponível para o catalisador da reação (ácido ou enzimático), impactando na eficiência de uma sacarificação, por exemplo (GUPTA; VERMA, 2014; RABEMANOLONTSOA; SAKA, 2016).

No presente estudo, foram realizados os seguintes tratamentos: extração das substâncias não estruturais das fibras usando a mistura de solventes cicloexano/etanol, moagem mecânica das fibras visando o aumento da área superficial do material, e tratamento alcalino com solução aquosa de NaOH (mercerização) das fibras visando a remoção total ou parcial dos componentes estruturais (hemiceluloses e lignina) ligados a celulose.

1.1.2.1 Pré-tratamento alcalino (mercerização)

Durante o tratamento alcalino, as ligações éteres da lignina e glicosídicas da celulose podem ser rompidas, resultando na alteração estrutural da celulose e na eliminação da lignina. Também pode ocorrer a remoção dos grupos acetila e urônicos das hemiceluloses tornando-as mais acessíveis perante à presença de enzimas hidrolíticas, além de poder ocorrer o intumescimento das regiões cristalinas da celulose, e possível diminuição da cristalinidade (PANDIYAN et al., 2019). A eficiência do tratamento alcalino depende da estrutura do substrato e das condições (concentração do álcali, temperatura, tempo, e pressão) em que o tratamento for realizado (XU; SUN, 2016).

Os reagentes frequentemente utilizados em tratamentos alcalinos, com o intuito de eliminar a lignina e hemiceluloses da biomassa, são os hidróxidos de potássio, cálcio, amônio e sódio (KIM; LEE; KIM, 2016). De modo que o hidróxido de sódio (NaOH) é o reagente mais comum e tem sido estudado extensivamente quando se refere à pré-tratamentos em bioconversões de lignocelulósicos (BURATTI et al., 2018; NARGOTRA et al., 2018; YANG et al., 2019). Visto que, além de ser eficiente na eliminação da lignina, o NaOH aumenta a superfície interna da celulose, diminui o grau de polimerização e cristalinidade, aumentando assim a superfície da biomassa exposta aos complexos enzimáticos (XU; SUN, 2016; PANDIYAN et al., 2019).

O grande inconveniente do tratamento de fibras lignocelulósicas com NaOH está ligado às águas residuais, também chamadas de licor negro, que apresentam prejuízo para os ecossistemas aquáticos, como plânctons e peixes. O impacto deste licor negro no meio ambiente pode ser minimizado através de tratamentos físicoquímicos (sedimentação, coagulação-floculação, adsorção, oxidação química, filtração por membranas e ozonização) e tratamento biológico (tratamento aeróbico, anaeróbio tratamento e tratamento fúngico) (SARI et al., 2015). Outra alternativa que vem sendo considerada e estudada é a reutilização deste licor negro, sendo que foi confirmada a possibilidade de remoção da lignina presente na biomassa lignocelulósica (em menor eficiência) quando reutilizado o licor, sem ajuste de pH, em até 4 ciclos consecutivos. Já quando foi ajustado o pH (12,6-13,3) do licor, a eficiência da reutilização não apresentou diminuição significativa. A reutilização não só ajuda a diminuição da poluição, como diminuiu o consumo de NaOH em aproximadamente 38 % (ROCHA et al., 2014).

No presente estudo, foi realizado o tratamento alcalino com solução aquosa de NaOH, que, dependendo das condições, pode ser chamado de mercerização. A mercerização é um tratamento realizado na indústria têxtil, que consiste basicamente no tratamento de tecidos de algodão com solução aquosa de NaOH (20 % - 30 % em massa) para aumentar a resistência e absorção dos corantes, sendo que este nome foi dado devido ao criador do mesmo, John Mercer (JOHN; ANANDJIWALA, 2009; WAGAW; RB, 2012). Em geral, a eficiência da mercerização depende do tempo, da temperatura, da concentração da solução de NaOH, da razão celulose/solução alcalina, e das propriedades da fonte da celulose utilizada. Deste modo, a extensão com que as mudanças na estrutura da fibra podem ser maiores ou menores, variando essas condições (KASCHUK, 2014).

Com relação a celulose, a principal alteração observada a partir da mercerização é a conversão da celulose I (nativa) em celulose II, que consiste na alteração das cadeias com orientação paralela para cadeias com orientação antiparalela (YOUNESI; WU; AKKUS, 2019). Esta alteração é resultante da diferença observada entre as ligações hidrogênio longo do eixo a-c (FIGURA 8) dos dois polimorfos (celulose I e II), sendo que estas ligações também são o motivo para qual o processo de conversão de celulose I para celulose II é irreversível (NAGARAJAN et al., 2017). Como observado na FIGURA 8, para a celulose I a ligação hidrogênio O₆-H-O₃ (indicado em vermelho) é formada paralelamente ao eixo a como resultado de uma conformação *trans-gauche* (tg)¹ do grupo -CH₂OH. Quando ocorre a conversão para a celulose II, a ligação hidrogênio passa a ser O₆-H-O₂ (indicado em verde), e devido a conformação *gauche-trans* (gt) do grupo -CH₂OH a cadeia passa a ser antiparalela.

¹ **Conformação hidroximetila:** A rotação ao redor da ligação C-5 / C-6 é descrita pelo ângulo ω . Três possíveis conformações escalonadas possíveis; gauche-trans (gt), gauche-gauche (gg), transgauche (tg). O nome indica a interação entre O-5 e OH-6 primeiro, seguida pela interação entre OH-6 e C-4.



FIGURA 8 - Diferenças entre as ligações de hidrogênio intramoleculares da celulose I e celulose II

FONTE: NAGARAJAN, S.; SKILLEN, N. C.; IRVINE, J. T. S.; LAWTON, L. A.; ROBERTSON, P. K. J. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 77, p. 182-192, 2017

Outros fatores que podem ser observados como consequência da mercerização é o aumento da digestibilidade, que é resultante do aumento do espaçamento interplanar (espaçamento d) criado pela presença de duas moléculas de água em duas cadeias unitárias de hidrato de celulose II (WADA; IKE; TOKUYASU, 2010), e também pelo enfraquecimento das ligações hidrofóbicas (interação de van der Waals) e consequente aumento da quantidade de grupos OH na superfície da fibra, aumentando assim a hidrofilicidade (LOVIKKA; RAUTKARI; MALONEY, 2018). A mercerização também pode levar a diminuição do índice de cristalinidade [IC, (KASCHUK et al., 2017)] e o aumento da área superficial e volume poroso da celulose (DADI; VARANASI; SCHALL, 2006).

No presente estudo, foram variadas as condições de mercerização, como temperatura, razão massa de fibra de sisal/volume solução alcalina e tempo, e avaliadas a influência destas condições na alteração da composição e dos parâmetros físico-químicos. Também foi avaliada a influência da mercerização na hidrólise enzimática da fibra lignocelulósica de sisal.

1.1.3 Hidrólise enzimática

A hidrólise enzimática de materiais celulósicos é regida pela interação, simultânea e sinérgica, do complexo enzimático *celulase/xilanases* com os mesmos. As *celulases* são constituídas por *endoglucanases, exoglucanases e B-glicosidases*. A reação inicialmente ocorre em uma interface sólido-líquido (com adsorção /dessorção de enzima), através das ações sinérgicas das *endoglucanases e exoglucanases*. Esta degradação é acompanhada por uma hidrólise em fase líquida dos produtos intermediários solúveis (produzidos pelas endoglucanases e exoglucanases), isto é, pelos oligossacarídeos de celulose e celobiose, que são transformados em glicose pela ação das *B-glicosidases* (NIU; SHAH; KONTORAVDI, 2016). Uma representação esquemática de todo o processo é apresentada na FIGURA 9.





FONTE: Adaptado de DU, R.; HUANG, R.; SU, R.; ZHANG, M.; WANG, M.; YANG, J.; QI, W.; HE, Z. RSC Advances, v. 3, n. 6, p. 1871-1877, 2013.

As celulases são compostas por domínios catalíticos e módulos de ligação à celulose (CBM, do inglês *carbohydrate-binding module*). O CBM é responsável pela imobilização da enzima na superfície da celulose, enquanto os domínios catalíticos são responsáveis pela efetivação da reação, no caso hidrólise da celulose. Em geral, ocorre uma relação proporcional entre a eficiência da reação e a quantidade de CBM na superfície da biomassa, ou seja, quanto maior for a quantidade de CBM na superfície da biomassa, mais efetiva é a reação, e vice e versa (NAKAMURA; IINO, 2018).

FIGURA 10 - Representação da interação do módulo de ligação a celulose (CBM) e do domínio catalítico (DC) entre uma celulase e a superfície da celulose



Fonte: Adaptado de NAKAMURA, A.; IINO, R. In: YAMAGUCHI, Y.; KATO, K. (Ed.). Singapore: Springer Singapore, 2018. p. 201-217.

Os fatores que afetam o sinergismo das enzimas celulases podem estar relacionados às próprias enzimas e aos substratos. Quando se refere à inibição das enzimas, pode ocorrer a adsorção não efetiva da enzima, e a consequente inibição por oligômeros, ou até mesmo pela própria glicose gerada (produto esperado). Além disso, há indícios que pode ocorrer a aglomeração das enzimas (chamado de *"jamming"*) e limitações de transferência de massa, que podem levar a diminuição da ação enzimática (KUMAR; MURTHY, 2016). Já quando se trata do substrato, é diretamente relacionado à acessibilidade das enzimas à superfície da celulose, que depende, entre outros fatores, da cristalinidade e do teor de hemiceluloses e lignina (SUN et al., 2016; ZHENG; ZHANG; PAN, 2016). Como observado em estudos anteriores (KASCHUK; FROLLINI, 2018), a hidrólise enzimática no geral apresenta maior rendimento quando há menos regiões cristalinas na biomassa a ser hidrolisada, ou seja, mais cadeias acessíveis para a ação enzimática. O mesmo acontece quando

o material celulósico a ser hidrolisado apresenta baixo teor de hemiceluloses (KASCHUK et al., 2017), ou lignina (SAINI et al., 2016).

Durante uma hidrólise enzimática, a presença da lignina na biomassa resulta na formação de uma barreira física, em que, aliado a existência de adsorções não produtivas entre a lignina e as enzimas, faz com que a presença deste componente tenha destaque dentre os fatores que podem diminuir a eficiência da hidrólise enzimática (SAINI et al., 2016; KELLOCK et al., 2017; DOS SANTOS et al., 2018; LU et al., 2018; WANG et al., 2018; ZANCHETTA et al., 2018). Dentre as possíveis interações que podem resultar na desativação das celulases, podem-se citar interações hidrofóbicas, eletrostáticas e ligações hidrogênio entre grupos funcionais presentes na lignina e as celulases. Para minimizar a desativação enzimática a partir da interação com a lignina, podem ser realizadas modificações na lignina presente na biomassa. São descritas modificações químicas, que levam ao estabelecimento de ligações covalentes entre a lignina e os reagentes, assim como modificações que não envolvem modificações químicas da lignina (YANG; PAN, 2015).

Um exemplo de modificação química da lignina corresponde a sulfonação ou carboxilação da mesma, que resulta na solubilização e consequente eliminação (extração) da lignina da biomassa (YANG; PAN, 2015). Já quando se refere à alterações não químicas da lignina, a utilização de surfactantes pode ser uma alternativa de menor custo (quando comparada às modificações químicas), sem a necessidade de realização de pré-tratamentos (CHEN et al., 2018; HOLMBERG, 2018; LOU et al., 2018; MUHARJA et al., 2019).

1.1.3.1 Utilização de surfactantes em hidrólise enzimática de celulose

Os surfactantes são moléculas anfifílicas, que possuem tanto parte hidrofílicas quanto hidrofóbicas. A porção hidrofílica é chamada de cabeça e a parte hidrofóbica de cauda. A parte hidrofóbica pode ser constituída por uma única cadeia, ou mais. A cabeça pode ser um grupo polar com carga ou não. De acordo com a natureza dos grupos de cabeça, os surfactantes são classificados em agentes tensoativos aniônicos, catiônicos, não-iônicos, ou anfóteros (BIASUTTI et al., 2008).

Em reações de hidrólise enzimática de celulose, os surfactantes podem aumentar a conversão de celulose em glicose (ZHANG et al., 2009; HOLMBERG, 2018). O mecanismo dos surfactantes em reações de hidrólise enzimática pode prevenir a adsorção das *celulases* na fração de lignina presente no material lignocelulósico, que leva ao aumento da quantidade de enzima livre para a hidrólise da celulose presente no meio reacional (ZHOU et al., 2015). As regiões hidrofóbicas da lignina são as que interagem com os surfactantes, e são estas também as responsáveis pela inibição das *celulases* (SAINI et al., 2016). A FIGURA 11 mostra uma representação esquemática da interação de um surfactante com o material lignocelulósico e as enzimas na presença de um surfactante.

FIGURA 11 - Representação esquemática de uma reação de hidrólise enzimática com a participação de um surfactante. (1) as enzimas e substratos são atraídas em conjunto pelo surfactante; (2) o surfactante promove a interação não produtiva entre a enzima e o substrato; (3) o surfactante leva a uma alta recuperação da atividade da enzima; (4) o surfactante homogeneíza a matéria orgânica em solução com os seus grupos hidrófilos e hidrófobos; e (5) a interação hidrofóbica entre o surfactante e a lignina



FONTE: Adaptado de FENG, Y.; JIANG, J.; ZHU, L.; YUE, L.; ZHANG, J.; HAN, S. Biotechnology for Biofuels, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2013.

Estudos com Tween 20 (SEO; FUJITA; SAKODA, 2011; CHEN et al., 2018), Tween80 (JIN et al., 2016), Triton X-100 (PARDO, 1996), polietilenoglicol (XING et al., 2016) e dodecilsulfato de sódio [(XIANG et al., 2006), FIGURA 12] mostraram que o rendimento de açúcares pode ser aumentado com a utilização de surfactantes. Uma desvantagem de muitos surfactantes é que são não biodegradáveis e são oriundos de sínteses, ou seja, não são de origem natural, escapando do ponto central da química verde (ZHANG et al., 2009).





Surfactantes sintetizados por microrganismos exibem um desempenho semelhante ou até mesmo melhor quando comparados com os surfactantes obtidos sinteticamente. Eles exibem também maior biodegrabilidade e baixa toxicidade, sendo assim uma alternativa mais compatível com os anseios atuais ligados ao impacto ambiental, comparativamente aos surfactantes sintéticos. Deste modo, a utilização de surfactantes como o ramnolipídeo na hidrólise enzimática de biomassa vem sendo considerado no cenário de biorrefinaria (GUDIÑA et al., 2016).

Outro surfactante que vem sendo considerado neste cenário é o lignosulfonato de sódio (ZHOU et al., 2013; LOU et al., 2014; LIN et al., 2019). Os lignosulfonatos fazem parte do resíduo industrial gerado pelo processo de polpação sulfito

Assim, no contexto de uso surfactantes alternativos para promover o aumento da produção de açúcares a partir da biomassa, no presente estudo foram considerados o ramnolipídeo e o lignosulfonato de sódio como surfactantes, visando avaliar o a influência dos mesmos na produção de glicose durante a conversão enzimática da fibra lignocelulósica de sisal.

1.1.3.2 Ramnolipídeo

Os ramnolipídeos podem ser constituídos por uma ou duas unidades de ramnose polares ligados a uma cadeia de ácido graxo não polar contendo B-hidroxialcanoatos em sua estrutura. Na FIGURA 13 são mostradas as unidades de mono-ramnolipídeo e di-ramnolipídeo que são encontradas nas moléculas desses surfactantes (MÜLLER et al., 2012; BAI; MCCLEMENTS, 2016). Eles apresentam um grupo carboxílico, como parte do grupo hidrofílico, o que confere aos ramnolipídeos caráter aniônico sob condições de pH adequadas. O p*k*a relatado para este surfactante é de 5,6 (YUTAKA et al., 1987), desta forma, em um pH superior a 5,6, a forma ionizada prevalece. Também é relatado que a estabilidade e a atividade da emulsão que contém ramnolipídeo aumenta com o aumento da concentração de OH, e que a eficiência do surfactante é observada em uma ampla gama de pH, exceto nos pH 3 e 4 (BAI; MCCLEMENTS, 2016). Assim, a utilização destes surfactantes em pH superiores ou igual a 5 pode levar a maior eficiência (DAHRAZMA; MULLIGAN; NIEH, 2008). O tampão citrato utilizado nas reações de hidrólise no presente estudo gera um pH=5, desta forma, o ramnolipídeo seria adequado para os fins pretendidos.

Os ramnolipídeos podem ser isolados a partir de determinados microrganismos, como *Pseudômonas aeruginosa*, durante processos de fermentação, ou também podem ser quimicamente sintetizados, a partir de materiais naturais (BAI; MCCLEMENTS, 2016).



FIGURA 13 - Estruturas moleculares de duas unidades de ramnose presentes nos ramnolipídeos.

O ramnolipídeo obtido da cultura de *Pseudômonas aeruginosa* BSZ-07 foi utilizado na hidrólise enzimática da palha de arroz. Cerca de 0,5 g L⁻¹ ramnolipídeo foi utilizado, sendo avaliadas as atividades das enzimas *endoglucanase, exoglucanases e B-glicosidase*. Foi observado que as *endoglucanases* apresentaram maior estabilidade que as *exoglucanases*. Também foi observado que a atividade das *B-glicosidases* aumentou significativamente, sendo assim um dos principais responsáveis pelo aumento da produção de glicose a partir da palha de arroz. Foi confirmado que a interação do ramnolipídeo com a lignina foi responsável por este resultado, quando se comparou o mesmo com a adição do surfactante na hidrólise enzimática de celulose microcristalina - Avicel (ausência de lignina), quando não foi observado aumento na eficiência da hidrólise enzimática (ZHANG et al., 2009).

O efeito do ramnolipídeo comercial (Daqing Victex Chemical Industry Co. Ltd. - China) foi avaliado durante hidrólise enzimática da palha de trigo. As reações foram realizadas em tampão citrato, em que 1 mg.mL⁻¹ de palha foram submetidas à hidrólise enzimática na presença de 30 e 60 mg L⁻¹ do surfactante comercial. As enzimas foram obtidas a partir do meio de cultura líquido de *P. expansum*. O estudo confirmou a estabilidade das enzimas e o aumento da degradação da palha de trigo, devido à redução da ligação improdutiva da enzima com a lignina, diminuindo a inativação da *celulase* (WANG et al., 2011).

Em um último exemplo, foi observado que na hidrólise da casca de coco (5 % de massa sólida, e carga enzimática inicial de 20,0 FPU / g de biomassa, 20,0 unidades de celobiose (CBU) / g de biomassa e 10,0 unidades de xilanase (XU) / g de biomassa), na presença Ramnolípio (24,8 ppm, obtido a partir da cepa *Pseudomonas aeruginosa* AP 029 / GLVIIA), obteve-se um aumento de 5 % na produção de glicose quando comparado a hidrólise sem o surfactante. Confirmando que o ramnolipídeo

pode resultar em um aumento da atividade celulásica através da interação com a lignina (ARAÚJO et al., 2017).

No presente estudo, foi avaliada a influência do ramnolipídeo em diferentes concentrações (60, 80 e 108 mg L⁻¹) durante a hidrólise da fibra lignocelulósica de sisal.

1.1.3.3 Lignosulfonato

Lignosulfonatos (FIGURA 14) correspondem a macromoléculas aniônicas e foi descrito como um surfactante promissor para ser utilizado na hidrólise enzimática da biomassa lignocelulósica (LOU et al., 2013, 2014, 2016; ZHOU et al., 2013; CAI et al., 2016; LIN et al., 2019). Lignosulfonatos são obtidos como subproduto do processo de polpação sulfito da madeira para a obtenção da polpa celulósica, e também pode ser obtido pela sulfonação de ligninas obtidas pelo processo Kraft. Lignosulfonato de cálcio, sódio, magnésio e amônio podem ser obtidos, sendo estes solúveis em água, devido à presença dos grupos sulfonatos, sendo considerados por alguns como polieletrólitos ramificados (OLIVEIRA, 2014).

FIGURA 14 - Parte da estrutura de um lignosulfonato



A estrutura dos lignosulfonatos apresenta grupos hidrofílicos (quando em meio ácido, ácidos sulfônicos, carboxílicos e hidroxila fenólica) e hidrofóbicos (grupos aromáticos e alifáticos) (LOU et al., 2013). Apesar do fato de o mecanismo de atuação do lignosulfonato na reação de hidrólise enzimática da biomassa lignocelulósica ainda não ter sido completamente elucidado, é proposto que os domínios hidrofóbicos do lignosulfonato podem interagir tanto com a lignina presente na biomassa, auxiliando na eficiência da reação [FIGURA 15, (LOU et al., 2013)], quanto com as enzimas celulases presentes no meio da reação, diminuindo a eficiência desta [FIGURA 16,(LOU et al., 2014)].

Ainda, o lignosulfonato pode interagir com a superfície da lignina, levando a formação de uma camada hidratada, a qual gera um impedimento estérico para a interação das enzimas com a lignina (FIGURA 15), reduzindo assim as ligações não produtivas que podem ocorrer entre as celulases e a lignina, aumentando o rendimento das reações de hidrólise. Contudo, a interação do lignosulfonato com a lignina pode não ser forte o suficiente para reduzir de forma significativa as adsorções não produtivas celulase-lignina, como observado por Cai e colaboradores (2016).

Outro aspecto que tem que ser considerado é a massa molecular média (Mw) do lignosulfonato utilizado. Foi observado que quando o lignosulfonato de baixa massa molecular foi utilizado não ocorreu grande interação com a lignina e assim, o uso do mesmo não preveniu todas as interações não produtivas entre as celulases e lignina. Já quando a Mw é alta, estas interações são maximizadas, levando ao aumento do rendimento das reações (LOU et al., 2013), FIGURA 15.



FIGURA 15 - Representação esquemática da interação entre o lignosulfonato e a lignina durante a hidrólise enzimática.

FONTE: Adaptado de LOU, H.; WANG, M.; LAI, H.; LIN, X.; ZHOU, M.; YANG, D.; QIU, X. Bioresource Technology, v. 146, p. 478-484, 2013.

Quando a biomassa não contém lignina ou apresenta baixo teor de lignina (ex. < 3 %), pode ocorrer uma competição entre o lignosulfonato e a celulose. Da mesma maneira que o domínio catalítico interage com a região hidrofóbica da celulose, ele pode vir a interagir com a região hidrofóbica do lignosulfonato (FIGURA 16). Quando isto acontece, ocorre a diminuição do rendimento da hidrólise enzimática (LOU et al., 2014). Este efeito pode também ser influenciado pela Mw do lignosulfonato utilizado. Lou e colaboradores (2014) observaram que quando a Mw do lignosulfonato foi baixa (2360 Da), ocorreu menor competição entre o lignosulfonato e a celulose, do mesmo modo que quando Mw foi de 9900 Da a competição foi maior entre o lignosulfonato e a celulose.

FIGURA 16 - Representação esquemática do "agregado LS-celulase estabilizado ou desestabilizado na ligação da celulase à celulose. Mw: Massa molar média.



LS- lignosulfonato

FONTE: Adaptado de LOU, H.; ZHOU, H.; LI, X.; WANG, M.; ZHU, J. Y.; QIU, X. Cellulose, v. 21, n. 3, p. 1351-1359, 2014.

Assim, no presente estudo foram utilizados os biosurfactantes ramnolipídeo e lignosulfonato de sódio, visando comparar a ação de ambos. Da mesma forma que para o ramnolipídeo, foram variadas as concentrações de lignosulfonato de sódio utilizadas (5 e 7,5 g L⁻¹) durante a hidrólise da fibra lignocelulósica de sisal.

1.2. OBJETIVOS

 Valorização da fibra lignocelulósica de sisal através da produção de açúcares fermentescíveis a partir da hidrólise enzimática dos respectivos componentes polissacarídicos.

1.2.1 Objetivos específicos

 Realização de pré-tratamento alcalino (mercerização) das fibras lignocelulósicas de sisal visando remoção total ou parcial de lignina e de hemiceluloses, assim como alterações na morfologia e na cristalinidade das fibras, com o intuito de produzir polpas celulósicas com propriedades que beneficiem a hidrólise enzimática.

• Estudo da hidrólise enzimática da fibra lignocelulósica de sisal não mercerizada e mercerizada, na presença ou não de surfactantes (ramnolipídeo e lignosulfonato)

• Avaliação do impacto da mercerização e do uso dos surfactantes nas fibras remanescentes, não reagidas durante a hidrólise enzimática, através de investigações sobre alterações na morfologia, comprimento, espessura e cristalinidade das fibras.

• Avaliação do impacto da mercerização e uso dos surfactantes na produção de glicose na etapa de sacarificação.

1.3. MATERIAIS E MÉTODOS

1.3.1 Fibras lignocelulósicas de sisal

Neste trabalho foram utilizadas as fibras de sisal adquiridas na forma de fios da empresa Sisal Sul Indústria e Comércio Ltda., São Paulo, SP. As fibras não foram submetidas a lavagem em água previamente aos tratamentos, pois o beneficiamento industrial das mesmas incluiu a etapas de lavagem segundo informações dos fornecedores. Antes de moídas em moinho de facas da Marconi (MA048), as fibras foram submetidas à extração com solventes [descritos em 1.3.5.1 Extração com solventes, (RAMIRES et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2017)] para a remoção de resíduos e ceras presentes na superfície das mesmas.

1.3.2 Reagentes e solventes

Como reagentes e solventes foram utilizados:

• Cicloexano (100 % - Synth) e etanol (98 % - Synth), para a realização do processo de eliminação de extrativos

 Hidróxido de sódio em lentilhas (97 % - Qhemis), no processo de mercerização e teor de α- celulose;

Ácido acético glacial (Mallinckrodt), na determinação do teor de holocelulose
 e de α -celulose;

• Clorito de sódio (80 % - Sigma-Aldrich), na determinação de holocelulose

• Citrato de sódio e ácido cítrico (Qhemis) para a preparação de tampão citrato, usado nas reações de hidrólise enzimática;

• Complexo enzimático Accellerase 1500 (Genencor), usado nas reações de hidrólise enzimática. Este foi produzido com a cepa geneticamente modificada do *Trichoderma reesei*, e contém altos níveis de B-glicosidase para aumentar a eficiência na conversão da celobiose em glicose durante a reação, além da presença de hemicelulases para a conversão de hemiceluloses presentes. As endoglucanases apresentam atividade de 2200-2800 CMC U g⁻¹ e as B-glicosidases apresentam atividade de 450-775 pNPG U g⁻¹, segundo informações do fornecedor²;

² https://www.yumpu.com/en/document/read/13807891/accelleraser-1500-prod-info-sheetpub-danisco

• Ramnolipídeo (pureza 99 %, número de registo CAS: 147858-26-2 - Rhamnolipid Incorporation/EUA) em uma solução reserva contendo 25 % (massa / volume) de ramnolipídeo

• Lignosulfonato de sódio (Sigma-Aldrich - Mw ~52 000 e Mn ~7000, sendo 4% de açúcares redutores - Dados Fornecedor).

• Ácido sulfúrico PA (95 - 98 % -Synth) para a determinação do teor de lignina

• Na análise dos hidrolisados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foram usados: ácido sulfúrico (H_2SO_4 , Merck Chemicals). Os padrões utilizados foram celobiose, D-glicose (Sigma-Aldrich), D-xilose (Sigma-Aldrich), L-arabinose (Sigma-Aldrich), ácido acético (49 - 51 %, Sigma-Aldrich), todos de grau cromatográfico.

1.3.3 Caracterização das fibras lignocelulósicas

1.3.3.1 Teor de lignina

A norma TAPPI T 222 om-22 adaptada foi usada (OLIVEIRA, 2014). Esta análise fundamenta-se na separação da lignina, após hidrólise dos polissacarídeos com o uso de ácido sulfúrico (72 %).

Cerca de 1,0 g de polpa celulósica de sisal não mercerizada e mercerizada foi agitada com 15,0 mL de uma solução de ácido sulfúrico 72 % durante 2 h, a temperatura ambiente. Após este tempo de digestão, foram adicionados 560 mL de água, e colocado em refluxo por 4 h. O material foi filtrado, separando o sólido do líquido. O sólido foi lavado até pH igual ao da água de partida e seco. O teor de lignina insolúvel foi obtido a partir da diferença da massa inicial e da massa obtida ao final da reação. A fração líquida foi diluída (6x) e analisada por espectroscopia Ultravioleta-Visível nos comprimentos de onda de 215 e 280 nm (Shimadzu, Modelo: UV 3600), e o teor de lignina solúvel foi obtido as partir da diferença da sequações 01 e 02.

$$\mathbf{C} = \frac{4.53 \times (A215) \cdot (A280)}{300} \tag{01}$$

% Lignina Solúvel=
$$\frac{m1}{m2}$$
 x100 (02)

sendo,

C - concentração em g L⁻¹ de lignina Klason solúvel nas amostras diluídas A215 - Valor da absorbância em 215 nm; A280 - Valor da absorbância em 280 nm;

m1- massa (g) de lignina Klason solúvel, obtido a partir da equação 01, sendo que é considerado o volume final da reação de determinação da lignina Klason insolúvel (575 mL = 15 mL H_2SO_4 72 % + 560 H_2O) e o fator de diluição (relacionado as diluições da análise de UV-vis);

m2- massa (g) de amostra seca de fibra.

O teor de lignina total corresponde a soma da lignina solúvel (no líquido) e da insolúvel (sólido). A análise foi realizada em triplicata.

1.3.3.2 Teor de holocelulose

O teor de holocelulose corresponde à soma dos teores de celulose e hemiceluloses, sendo a sua determinação descrita pela norma TAPPI T19-54, adaptada para as fibras lignocelulósicas.

Aproximadamente 3 g de fibras seca e moída foram suspensas em água (120mL), e levadas a aquecimento (70 °C \pm 2) em um frasco erlenmeyer de 1 L. Este foi tampado com um frasco erlenmeyer de 250mL invertido. Sob agitação constante foram realizadas 3 adições, com intervalos de 1 h cada, de 1,0 mL de ácido acético glacial e 2,5 g de clorito de sódio, totalizando 3 h de tratamento e 3 adições. Ao final do mesmo, a mistura foi resfriada (-10 °C), e filtrada em funil de vidro sinterizado (ASTM tipo C). O sólido (holocelulose) foi lavado até o valor de pH igual ao da água utilizada na lavagem, depois lavado com metanol e seco em estufa a 105 °C, até massa constante.

A porcentagem de holocelulose é dada pela equação 03

% holocelulose =
$$\frac{m1}{m2}$$
 x100 (03)

sendo:

% holocelulose = porcentagem do teor de holocelulose;

m1 = massa (g) de holocelulose seca;

m2 = massa (g) de amostra.

1.3.3.3 Teor de α -celulose

A celulose isenta de hemiceluloses é chamada de α -celulose e é insolúvel em solução de NaOH 17,5 %. Neste procedimento, em 1 g de holocelulose (obtida pelo

método descrito em 2.2.1.2) foram adicionados 10 mL de solução 17,5 % de NaOH, e deixados em repouso por 2 min a temperatura ambiente. A seguir, foram adicionados mais 10 mL da mesma solução alcalina, misturando por 8 min e deixando em repouso por mais 20 min. Essa suspensão foi lavada com 40 mL de água e filtrada a vácuo, em filtro sinterizado de porosidade (40 a 100 μ m). Logo a seguir, o resíduo foi lavado com 200 mL de uma solução de ácido acético diluído (20 %) para neutralizar a base residual e 200 mL de água para eliminar os sais da amostra. O filtro foi levado à estufa a 105 °C por 4 h e pesado.

A determinação do teor de celulose presente na holocelulose foi feito de acordo com a equação 04.

$$\% \text{ celulose} = \frac{\text{m1}}{\text{m2}} \text{x100} \tag{04}$$

sendo:

% celulose = porcentagem do teor de celulose presente na amostra de holocelulose; m1 = massa (g) de celulose seca;

m2 = massa (g) de holocelulose seca.

O percentual de hemicelulose foi determinado pela diferença entre a porcentagem de holocelulose e α -celulose da fibra. A análise foi realizada em triplicata.

1.3.3.4 Índice de cristalinidade (IC)

Para a determinação do índice de cristalinidade (IC) da celulose presente nas fibras de sisal não tratadas e tratadas, foi utilizada a técnica de difração de raios X. A partir dos difratogramas de raios X foi possível observar a presença de picos característicos da celulose, referente aos planos cristalográficos, ângulos de Bragg (20 - FIGURA 17). O primeiro pico (I₁) refere-se à parte não cristalina da celulose (18° para celulose I e 16° para celulose II), e o segundo (I₂) pico corresponde à parte cristalina (22 ° \leq 2 θ \leq 23 ° para celulose I e 18 ° \leq 2 θ \leq 22 ° para celulose II) (KASCHUK; FROLLINI, 2018). O índice de cristalinidade pode ser calculado utilizando-se a equação descrita por Buschle-Diller e Zeronian (equação 05) (BUSCHLE-DILLER; ZERONIAN, 1992):

$$IC = 1 - \frac{I1}{I2}$$
(05)

sendo:

IC= índice de cristalinidade;

I₁=intensidade do mínimo de difração;

l₂=intensidade do máximo de difração.

A equação 05 baseia-se no método Segal (SEGAL et al., 1959). Estudos teóricos e experimentais desenvolvidos recomendam a aplicação do mesmo quando os picos característicos da celulose I e II são bem definidos (FRENCH; SANTIAGO CINTRÓN, 2013; FRENCH, 2014; NAM et al., 2016). Nestes estudos, o valor do grau 2 θ para a região não cristalina da celulose I foi corrigido (de 13 ° < 2 θ <15 ° para 16 °) (FRENCH, 2014), sendo que esta correção foi considerada no presente estudo. Este método foi escolhido devido a sua forma simples de cálculo, e devido à facilidade de sua implementação a partir de dados de difratômetro utilizando o método pó. Os resultados obtidos podem ser utilizados como indicativo das alterações da cristalinidade das fibras lignocelulósicas de sisal durante os tratamentos de mercerização ou das reações de hidrólise enzimática.



FIGURA 17 - Difratograma típico de celulose de sisal sem tratamento

FONTE: DE PAULA, M. P. Dissertação (Mestrado em Físico-Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009

As análises foram conduzidas no Difratômetro BRUKER APEX II Duo, equipado com duas micros fontes, de cobre e molibdênio, e sistema OXFORD de baixa temperatura. Marca: Bruker - Modelo: APEX II Duo. As fibras após serem moídas são posicionadas na altura correta do porta-amostra para que o sinal registrado esteja na posição correta (picos de difração no ângulo 2 θ correto), e analisadas com espelho Gobel ao invés de fendas divergentes. Essa configuração tem a finalidade de eliminar possíveis efeitos de texturas e orientação preferencial, resultando num sinal adequado dos padrões de difração.

O desvio padrão considerado para esta análise (± 0,5 %) foi obtido a partir de análises de amostras aleatórias em duplicata.

1.3.3.5 Comprimento e espessura médios das fibras

A variação do comprimento e espessura médios das fibras presentes na fibra de sisal de partida, assim como as mercerizadas e as fibras não reagidas durante o processo de hidrólise, conforme posteriormente descrito, foi acompanhada com o uso de um equipamento MorFi Compact (Techpap). Este equipamento detecta fibras com dimensões na escala de micrômetros. A análise ocorre em ambiente restrito apenas às fibras, o que permite uma medição estatística confiável de milhares de fibras em alta velocidade, e com determinação precisa das características relevantes de sua forma. Assim, as fibras foram suspensas em água (~ 0,5 g L⁻¹) e analisadas usando o equipamento ilustrado na FIGURA 18, que apresenta alta resolução em sua análise de fibras em geral, incluindo as lignocelulósicas.



FIGURA 18 - Analisador de fibras (MorFi Compact - Techpap)

1.3.3.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura é utilizada para analisar a morfologia dos materiais. O microscópico eletrônico possui uma coluna que opera em alto vácuo, consistindo de uma fonte de elétrons, lentes eletromagnéticas e bobinas de varredura. A fonte de elétrons normalmente corresponde a um filamento de tungstênio, que produz elétrons que são acelerados a uma energia na faixa de 1 a 40 KeV. Assim, ao incidir na superfície da amostra, ocorre uma interação e parte do feixe é refletida e coletada por um detector, que converte este sinal em imagem (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

Para esta análise foi utilizado o equipamento LEO-440, com filamento de tungstênio para gerar elétrons. As amostras foram secas em estufa com circulação de ar por 4h, colocadas em suporte e recobertas com uma fina camada de carbono e ouro para tornar o material condutor e assim ser possível a realização da análise. As imagens foram obtidas com 1000x e 3000x de magnificação, energia do feixe de elétrons utilizada variou de 15 a 20 kV e o diâmetro do feixe de 10 a 14 mm.

1.3.4 Análise elementar

A composição elementar (carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre) do lignosulfonato de sódio foi determinada utilizando o equipamento EA 1108 - CHNS-O (Fisons Instruments). As amostras foram pesadas (~ 1,0 mg) em cápsulas de estanho 3,2 x 4mm e inseridas no analisador elementar a 1020 °C, em seguida, ocorreu a injeção de O_2 (puro), elevando a temperatura do forno a 1800 °C, garantindo a total combustão da amostra. A partir daí, os gases originados na queima foram separados e retidos via cromatografia e, a detecção foi realizada por TCD (detector de condutividade térmica).

As análises foram realizadas no Departamento de Química na Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

1.3.5 Pré -tratamentos das fibras lignocelulósicas

1.3.5.1 Extração com solventes

Os teores de todos os componentes, de uma fibra lignocelulósica dependem diretamente das condições de plantio e processamento da fibra. A quantidade de extrativos (ceras, gorduras e outros) em uma fibra de sisal pode chegar a 2%. A eliminação destes extrativos pode ocorrer por extração com solventes orgânicos, solubilizando-os e deixando apenas os componentes estruturais da fibra.

No presente estudo foi utilizado o sistema etanol/cicloexano (1:1), com o intuito de eliminar os extrativos solúveis em solvente apolar (cicloexano) e os solúveis em solvente polar (etanol), visando posteriormente aumentar a eficiência da interação entre os reagentes e o material lignocelulósico. As fibras foram submetidas a refluxo com uma proporção de 1:1 de cicloexano: etanol durante 10 min (OLIVEIRA, 2014). Não foi obedecida nenhuma relação massa: volume de solvente, porém foi obedecido o critério que todas as fibras estivessem submersas no solvente. Após o resfriamento do sistema (cerca de 3 h), as fibras foram lavadas abundantemente com água, secas e trituradas (como descrito no item 1.3.5.2 Moagem).

1.3.5.2 Moagem

Para aumentar a área superficial exposta aos reagentes, a trituração ou moagem é um passo essencial nos pré-tratamentos dos materiais lignocelulósicos (RAVINDRAN; JAISWAL, 2016). Estudos comprovam que o rendimento de eliminação da lignina e/ou da sacarificação dos materiais lignocelulósicos aumenta com a realização deste processo (ZAKARIA et al., 2015). Assim, no presente estudo, após a eliminação dos extrativos (descritos em 1.3.5.1 Extração com solventes), todas as fibras foram trituradas no moinho Marconi (MA048). O objetivo deste procedimento foi aumentar a área superficial da fibra a ser utilizada. As fibras de sisal foram peneiradas em peneiras com abertura 125 mm e destinadas ao tratamento de mercerização (descrito em 1.3.5.3 Mercerização).

1.3.5.3 Mercerização

Para a avaliação do efeito de mercerização da fibra lignocelulósica de sisal foi realizado um planejamento fatorial 2³ com pontos centrais, em que as variáveis temperatura, proporção massa/volume e tempo foram consideradas. O planejamento 2³ consistiu em oito experimentos fatoriais e três repetições do ponto central.

Devido às diferentes composições de diferentes fibras lignocelulósicas, quanto ao teor de lignina, hemiceluloses, celulose, além de outros fatores, como diferentes cristalinidades, um tratamento adequado para uma fibra pode não ser o ideal para outra. Assim, cada tratamento deve ser otimizado para fibras de diferentes origens. A pressão utilizada foi a pressão ambiente (1 atm), e a concentração da solução aquosa de NaOH foi de 20 % (em massa). Esta concentração de NaOH foi escolhida devido a resultados obtidos em estudos anteriores, em que esta concentração se mostrou promissora na eliminação de hemiceluloses e alteração na cristalinidade de polpa celulósica de sisal (LACERDA et al., 2012; KASCHUK et al., 2017).

O presente planejamento foi empregado para analisar os efeitos e interações das variáveis selecionadas com relação ao teor de lignina, holocelulose, hemiceluloses, celulose, índice de cristalinidade e rendimento. As variáveis independentes e seus níveis codificados e decodificados são apresentados na TABELA 1.

		Níveis		
Variáveis	Símbolos	-1	-1 0 1	
Temperatura (°C)	X ₁	40	60	80
Razão massa/volume (g L ⁻¹)	X2	10	20	30
Tempo (h)	X ₃	1,5	3,0	4,5

TABELA 1 - Níveis reais e codificados das variáveis independentes estudadas no processo de mercerização da fibra de sisal.

Os pontos centrais (nível 0) foram realizados com a temperatura de 60 °C, durante 3,0 h com uma razão massa/volume de 20 g L⁻¹.

1.3.5.3.1 Análise estatística do planejamento fatorial

A relação entre as variáveis independentes e dependentes foi investigada utilizando a metodologia de regressão múltipla dos mínimos quadrados. A equação de regressão múltipla utilizada, para ajustar as equações polinomiais com base nos dados experimentais, está representada na equação 06.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon$$
(06)

Em que,

Y- representa a resposta prevista;

- BO modelo de intersecção;
- B_1 , B_2 , B_3 coeficientes lineares;

 B_{12}, B_{13}, B_{23} - coeficientes de interação respectivamente; ϵ - erro experimental.

A significância do ajuste do modelo foi baseada na Análise de Variância (ANOVA), e comparadas com a proporção da variação explicada, isto é, pela análise do coeficiente de determinação ajustado ($R_{2aj.}$). Os coeficientes do modelo foram estimados pelo método dos mínimos quadrados, sendo sua significância avaliada pelo teste *t* e valor da probabilidade (valor-*p*), adotando-se um valor de *p* \leq 0,05, para todos os ensaios.

Superfícies de respostas foram construídas por meio do modelo matemático proposto nos níveis reais das variáveis independentes, mantendo-se a resposta em função do eixo Z, com eixos X e Y representando as variáveis independentes. Uma vez obtido um modelo polinomial ajustado à resposta, as melhores condições do processo de mercerização foram definidas através do algoritmo de otimização proposto por Derringer e Suich (1980). Este se baseia na definição de uma função de desejabilidade (D) restrita no intervalo de [0, 1], para a qual se adotou como limites inferior, médio e superior nos valores de 0, 0,5 e 1,0, respectivamente. Se a resposta for aquela que se quer, D = 1 e se a resposta estiver fora da região aceitável, D = 0. Assim, as variáveis independentes foram escolhidas de modo a maximizar a desejabilidade global (DERRINGER; SUICH, 1980).

A estatística e os gráficos de superfície de resposta foram obtidos por meio do programa *Statistica for Windows* versão 10.0 da *StatSoft* (1984-2011).

1.3.5.3.2 Aprofundamento do estudo de mercerização

Após análise dos resultados (descritos posteriormente), ocorreu a suspeita de que foi extraído mais lignina que o indicado pelos resultados obtidos durante a realização do planejamento, e que a lignina extraída, e/ou os produtos poderiam ter se depositado na superfície das fibras, aumentando assim artificialmente o teor de lignina detectado nas fibras. Assim, foi realizada a repetição do ponto em que a temperatura foi de 80 °C, durante 4,5 h, utilizando a razão 30 g L⁻¹. Este experimento foi realizado de forma que a cada 30 min o mesmo foi encerrado, visando a partir da variação de massa inicial e final, calcular o rendimento das reações.

1.3.5.3.3 Mercerização das fibras lignocelulósicas de sisal destinadas à hidrólise enzimática

Devido à baixa eliminação de lignina e levando em consideração o maior rendimento obtido, entre todas as condições estudadas foi escolhido a condição em que 10 g L⁻¹ de fibra de sisal foi mercerizada a 40 °C durante 1,5 h com a solução de NaOH a 20 %, sendo esta a fibra submetida às hidrólises enzimáticas na ausência e presença dos surfactantes.

1.3.6 Reações de hidrólise enzimática

As reações de hidrólise enzimática foram conduzidas a 50 °C em meio tampão citrato 0,01 mol L⁻¹, pH 5, pois de acordo com o fabricante o intervalo de temperatura e de pH mais adequados para Accellerase 1500 são 50 a 65 °C e 4 a 5, respectivamente (MARCOS et al., 2013). Para cada 1 g de fibra foram adicionados 50 mL de tampão. A suspensão (fibra lignocelulósica e tampão) foi previamente esterilizada em autoclave (Marconi) por 20 min a 121 °C. Após esterilizada, a suspensão foi mantida a 50 °C em uma câmara incubadora com agitação orbital (Marconi MA410). Depois de estabilizada a temperatura, foram adicionadas as enzimas ao sistema. O volume de complexo enzimático utilizado foi de 0,5 mL por grama de fibra lignocelulósica, pois de acordo com o fabricante o intervalo 0,1 a 0,5 g⁻¹ de celulose é recomendado como dosagem de partida para Accellerase 1500 (MARCOS et al., 2013).

As reações, foram monitoradas por 48 h, em que foram retiradas alíquotas de 10 min em 10 min nos primeiros 30 min de reação, e depois de 30 min em 30 min até que a reação completasse um total de 6 h. Nas 3 h seguintes foram retiradas alíquotas de 1 h em 1 h, depois de 2 h em 2 h nas próximas 6 h e, por fim, de 8 h em 8 h até completar o tempo de 48 h de reação. Todas as alíquotas foram filtradas, separando o licor da fibra lignocelulósica não reagida.

Reações com a fibra não mercerizada e a fibra mercerizada foram realizadas na ausência e presença de surfactantes. Para as hidrólises enzimática de fibras de sisal foram utilizados os surfactantes ramnolipídeo e lignosulfonato de sódio.

A concentração de 60 mg L⁻¹ de ramnolipídeo foi inicialmente considerada a partir do trabalho de WANG et al., 2011 (já descrito em 1.1.3.2 Ramnolipídeo), em

que esta concentração levou ao maior rendimento de hidrólise da palha de trigo. A seguir, foi decidido aumentar esta concentração para 80 mg L⁻¹ e 108 mg L⁻¹ a fim de avaliar o comportamento do aumento de ramnolipídeo na reação de hidrólise da fibra de sisal. O maior rendimento obtido durante a hidrólise da fibra de sisal não mercerizada utilizando ramnolipídeo foi com 80 mg L⁻¹, e este foi o volume de surfactante utilizado com a fibra de sisal mercerizada.

Já em relação ao uso do lignosulfonato de sódio, a concentração de 5 g L⁻¹ foi inicialmente considerada a partir de estudos encontrados na literatura (LAN; LOU; ZHU, 2013; ZHOU et al., 2013; LOU et al., 2016), em que as hidrólises de celulose e materiais lignocelulósicos (madeira de pinho e pinus cortada) foram realizadas. A partir desta decidiu-se explorar a concentração de 7,5 g L⁻¹ a fim de avaliar o impacto do aumento da concentração de lignosulfonato na reação de hidrólise da fibra de sisal. Em relação a hidrólise das fibras de sisal mercerizadas foi utilizada a concentração de 5,0 g L⁻¹ de lignosulfonato de sódio.

A TABELA 2 apresenta o resumo das reações realizadas e códigos utilizados para representar as respectivas reações.

Cada alíquota foi filtrada separando as fibras não reagidas do licor produzido. As fibras não reagidas foram lavadas extensivamente com água destilada, sendo que parte destas foi caracterizada via comprimento e espessura (MorFi - Item 1.3.3.5 Comprimento e espessura médios das fibras) em suspensão aquosa, e outra parte seca a 105 °C por 4 h e caracterizada em relação a IC (item 1.3.3.4 Índice de cristalinidade (IC)), e avaliada a morfologia da superfície via MEV (item 1.3.3.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)). O licor foi caracterizado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - item 1.3.6.2).

Mercerização	[Surfactante]	Sigla
	Ramnolipídeo (mg L ⁻¹)	
	0	SNM
Х	0	SM
	60	SNM-R60
	80	SNM-R80
	108	SNM-R108
Х	80	SM-R80
	Lignosulfonato (g L ⁻¹)	
	5,0	SNM-LS5
	7,5	SNM-LS7,5
Х	5,0	SM-LS5

TABELA 2 -Códigos utilizados para representar as reações realizadas no presente estudo de acordo com a concentração de surfactante (ramnolipídeo e lignosulfonato) e a realização (X) ou não (--) do tratamento de mercerização.

1.3.6.1 Análises de tensão superficial

As análises de tensão superficial dos tampões citrato com os surfactantes ou não foram realizadas com o equipamento tensiômetro da marca Attension. As soluções analisadas foram preparadas no dia da análise, e o método utilizado foi o método da gota suspensa, em que cerca de 1 µL de solução foi suspensa e a tensão superficial foi determinada através da digitalização e análise do perfil da gota, utilizando para ajuste a equação de Young-Laplace. As medidas foram realizadas 5x para a obtenção do desvio padrão dos resultados.

1.3.6.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Os licores foram analisados quanto ao teor de glicose, xilose, arabinose, e ácido acético em um equipamento SHIMADZU equipado com detector de índice de refração (RID-20A SHIMADZU) e coluna Aminex HPX 87H (300 x 7,8 mm BIO-RAD). A mistura eluente foi composta de ácido sulfúrico 0,005 mol L⁻¹ em um fluxo de 0,6 mL

min⁻¹. Temperatura do forno (CTO-10A SHIMADZU) foi mantida a 45 °C e a pressão da bomba (LC- 10AD SHIMADZU) variou entre 80 e 86 kg f cm⁻². O tempo de análise para cada amostra foi de 18 min. As amostras foram previamente filtradas em filtros Sepak C18 (ativados com etanol e lavados com H₂O) com a finalidade de eliminação de resquícios de lignina, e também filtradas com filtros MILLEX 0,45 µm (Millipore) com a finalidade de reter material em suspensão (PASQUINI et al., 2005).

1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o estudo da produção de açúcares fermentescíveis a partir da hidrólise enzimática, foi utilizado o sisal como fibra lignocelulósica, devido ao fato que esta é abundante no Brasil e apresenta alto teor de celulose [60 % - 80 % (MEGIATTO JR et al., 2008; FROLLINI; SILVA; RAMIRES, 2013)]. O tratamento alcalino, mercerização, das fibras lignocelulósicas de sisal foi realizado em diferentes concentrações de fibras, temperatura e tempo, em que a melhor condição foi destinada à hidrólise enzimática. Os surfactantes ramnolipídeo e lignosulfonato de sódio também foram usados durante as hidrólises enzimáticas da fibra de sisal.

Os resultados referentes aos tratamentos (extração cicloexano/etanol e mercerização) das fibras lignocelulósicas de sisal são inicialmente apresentados, seguidos dos resultados de hidrólise enzimática das fibras não mercerizadas, usando ou não surfactantes, e da hidrólise das fibras mercerizadas.

1.4.1 Tratamentos das fibras lignocelulósicas de sisal

1.4.1.1 Extração cicloexano/etanol

A extração cicloexano/etanol foi realizada visando eliminar os extrativos, como ceras, proteínas e compostos inorgânicos, da superfície das fibras de sisal. A seguir, tanto as fibras não extraídas quanto as extraídas foram caracterizadas em relação ao teor de lignina, holocelulose, hemiceluloses, celulose, índice de cristalinidade (IC), e a superfície via microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Os resultados, referentes aos teores de holocelulose, hemiceluloses, celulose, lignina insolúvel, solúvel e total e de cinzas, obtidos estão demonstrados na TABELA 3.

Componente	Fibra não extraída (%)	Fibra extraída (%)
Holocelulose	84 ± 1	91,7 ± 0,2
Hemiceluloses	29 ± 2	31 ± 1
Celulose	55,5 ± 0,5	60 ± 1
Lignina insolúvel	8,9 ± 0,1	10,3 ± 0,4
Lignina solúvel	4 ± 1	$3,6 \pm 0,4$
Lignina total	12,6 ± 0,9	13,9 ± 0,0
Cinzas	1,5 ± 0,0	$0,6 \pm 0,0$

TABELA 3 - Composição da fibra de sisal não extraída e extraída com cicloexano/etanol (1:1)

Devido à eliminação dos extrativos as composições, celulose, hemiceluloses, lignina, das fibras aumentaram (embora os desvios padrões aproximem alguns valores), e o teor de cinzas diminuiu, indicando eliminação parcial de componente não orgânicos presentes nas fibras.

A FIGURA 19 apresenta os difratogramas utilizados para o cálculo dos IC das fibras de sisal não extraídas e extraídas, sendo que os difratogramas apresentaram o mesmo padrão cristalográfico, ou seja, não ocorreu penetração dos solventes usados na extração (cicloexano/etanol) nos domínios cristalinos das fibras presentes na fração celulósica.

Foi observado que a eliminação de extrativos levou a um aumento no teor de celulose, que é o componente que confere cristalinidade à fibra, com isto, era esperado que o IC não alterasse ou então sofresse um leve aumento. Contudo, o IC diminuiu de 58,2 $\% \pm 0,5$ (fibra não extraída) para 46,5 $\% \pm 0,5$ (fibra extraída), indicando que o etanol (solvente mais polar que o cicloexano) se difundiu por entre parte das cadeias dos domínios cristalinos, diminuindo a ordem previamente existente. Os erros são provenientes de duplicata de análise.


FIGURA 19 - Difratograma das fibras de sisal não extraídas e extraídas por cicloexano/etanol

As imagens de MEV são importantes para obter informações acerca alterações nas superfícies dos materiais, tanto no sentido de degradação do material quanto de eventuais depósitos sobre o mesmo, durante um determinado processo. A FIGURA 20 apresenta as imagens que mostraram mudanças na superfície causadas pela extração dos componentes não estruturais da fibra lignocelulósica de sisal. É possível observar que, após a extração com cicloexano/etanol, as fibras passaram a apresentar um aspecto mais rugoso e por isso a acessibilidade de reagentes a este material provavelmente intensificada, já que esta rugosidade reflete um aumento na área da superfície que pode ser atacada pelo reagente.

FIGURA 20 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) (a) para as fibras de sisal não extraídas e (b) extraídas por cicloexano/etanol (1:1)



1.4.1.2 Mercerização das fibras de sisal

Para o estudo da mercerização da fibra de sisal foi realizado o planejamento fatorial 2^3 . As variáveis foram temperatura (°C), tempo (h) e razão massa/volume (g L^{-1}). As respostas do estudo foram os teores de lignina, holocelulose, hemiceluloses, celulose, IC e rendimento. O rendimento se refere à porcentagem de fibra remanescente após a realização dos tratamentos de mercerização.

As variáveis codificadas e descodificadas para os experimentos realizadas durante o planejamento 2³ para o estudo de mercerização da fibra do sisal estão descritas na TABELA 4.

	Variá	veis codifi	cadas	Variáveis	descodificadas	
Experimento	X ₁	X ₂	X ₃	Razão (g L ⁻¹)	Temp. (°C)	t (h)
01	-1	-1	-1	10	40	1,5
02	-1	-1	1	10	40	4,5
03	-1	1	-1	10	80	1,5
04	-1	1	1	10	80	4,5
05	1	-1	-1	30	40	1,5
06	1	-1	1	30	40	4,5
07	1	1	-1	30	80	1,5
08	1	1	1	30	80	4,5
09	0	0	0	20	60	3,0
10	0	0	0	20	60	3,0
11	0	0	0	20	60	3,0

TABELA 4 - Variáveis codificadas e descodificadas independentes do planejamento fatorial 2³ com ponto central

Os resultados obtidos a partir dos experimentos estabelecidos pelo delineamento experimental para os valores dos teores de holocelulose, hemiceluloses, celulose, lignina insolúvel, lignina solúvel, lignina total, IC e rendimento do planejamento 2³ estão apresentados na TABELA 5.

TABELA 5 - Resultados experimentais obtidos para as respostas de holocelulose (Holo - maior erro: exp 03 ±2; menor erro: exp 02 ± 0,2), hemiceluloses (Hemi - maior erro: exp 02 ± 1,2; menor erro: exp 01 ± 0,5), celulose (Celu - maior erro: exp 03 ± 2,7; menor erro: exp 08 ± 0,2), lignina insolúvel (Lig. Ins. - maior erro: exp 05 ± 1,3; menor erro: exp 08 ± 0,1), lignina solúvel (Lig. Sol. - maior erro: inicial ±0,9; menor erro: exp 11 ± 0,3), lignina total (Lig. Total - maior erro: exp 05 ± 1,4; menor erro: exp 02 ± 0,2), índice de cristalinidade (IC) e rendimento (Rend). Os valores para a fibra de partida foram adicionados para análise comparativa

Exp.	Holo	Hemi	Celu	Lig. Ins.	Lig. Sol	Lig. total	IC	Rend
Partida	91,7	31,3	60,5	10,3	3,6	13,9	47,6	
01	84,6	12,1	72,4	8,6	1,5	10,1	41,9	57,9
02	87,5	10,9	76,5	9,3	1,5	10,8	43,2	46,0
03	59,9	4,9	54,9	8,3	1,6	9,9	39,6	54,1
04	84,1	9,3	74,8	10,5	1,9	12,4	33,2	40,1
05	86,9	11,1	75,8	10,5	2,1	12,6	37,8	48,3
06	88,2	10,1	78,1	9,8	1,9	11,7	39,0	44,3
07	86,5	10,7	75,8	10,1	2,0	12,1	43,1	43,6
08	85,7	9,2	76,5	11,1	1,9	13,0	46,0	28,5
09	85,3	8,7	76,6	11,5	1,9	13,4	39,0	43,0
10	85,0	8,9	76,1	11,5	1,8	13,3	40,4	37,5
11	83,4	7,7	75,7	11,5	1,8	13,3	39,1	40,2

A partir dos resultados apresentados na TABELA 5, a relação das variáveis independentes e dependentes foi investigada, sendo os resultados estatísticos apresentados nos itens a seguir.

1.4.1.2.1 Holocelulose

Os resultados da ANOVA para a holocelulose estão apresentados na TABELA 6.

TABELA 6 - Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais de holocelulose em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho estão destacados os resultados significativos para o estudo, ou seja, variáveis que obtiveram valorp<0,05

Fator ^a	SQ♭	GL ^c	MQ ^d	F	Valor-p
X ₁	122,4613*	1	122,4613	117,4914	0,008404
X ₂	120,1250*	1	120,1250	115,2499	0,008565
X ₃	94,8065*	1	94,8065	90,9589	0,010816
X _{1.} X ₂	79,2541*	1	79,2541	76,0377	0,012897
X _{1.} X ₃	87,6488*	1	87,6488	84,0917	0,011684
X _{2.} X ₃	45,9841*	1	45,9841	44,1179	0,021924
X ₁ .X ₂ .X ₃	68,6792 [*]	1	68,6792	65,8920	0,014839
Falta de ajuste	5,8325	1	5,8325	5,5958	0,141690
Erro puro	2,0846	2	1,0423		
R ² ai	0. 9579				

^aX₁ = razão (g L⁻¹); X₂ = temperatura (°C); X₃ tempo (h); SQ^b = soma quadrática; GL^c = graus de liberdade; MQ^d = média quadrática; ; * = significativo ao nível de 5 % de probabilidade

Como observado na TABELA 6, todos os parâmetros avaliados (razão de massa, tempo e temperatura) apresentaram resultados significativos. Os valores dos coeficientes de determinação ajustado (R_{2aj}) foram superiores a 0,95. Isto significa que, para o modelo polinomial adotado, mais de 95 % da variação total da variável resposta (holocelulose) esteve em torno da média, e que menos de 15 % da variação foi atribuída aos resíduos (que não estava em torno da média). Estes resultados indicaram que o modelo foi capaz de descrever a relação entre as variáveis independentes e as respostas avaliadas (no caso a holocelulose). Além disso, não foi evidenciada falta de ajuste do modelo no nível de significância de 5 % (p > 0,05) (TABELA 6).

Com os resultados obtidos na TABELA 6, foi obtido o diagrama de Pareto (FIGURA 21). O diagrama de Pareto avalia o significado e a importância das variáveis. O comprimento de cada barra no diagrama de Pareto é proporcional ao valor absoluto do seu efeito estimado sobre a resposta associada. O diagrama de Pareto inclui uma linha vertical que corresponde ao nível de confiança de 95 %, o que indica a significância estatística. Geralmente, o efeito de um dos fatores é estatisticamente significativo se a sua barra atravessa esta linha vertical.

FIGURA 21 - Diagrama de Pareto obtido a partir dos dados experimentais referentes aos teores de holocelulose para as variáveis razão em massa, temperatura e tempo para o estudo de mercerização da fibra de sisal



Como observado na FIGURA 21, todas as variáveis foram significativas. A razão em massa, o tempo e as combinações de razão e temperatura, e temperatura e tempo apresentaram influência positiva nos teores de holocelulose. Assim, o aumento destes parâmetros resultou em fibras com teores de holocelulose maiores. Já o aumento da temperatura, da relação concentração e tempo e da combinação de temperatura, tempo e razão em massa apresentaram influência negativa, ou seja, o aumento destas variáveis resultou na diminuição dos teores de holocelulose das fibras. O modelo polinomial completo que expressou a relação entre as variáveis dependentes e independentes decodificadas empregadas no planejamento fatorial 2³ para o teor de holocelulose é representado pela equação 07.

 $Holocelulose(\%) = 83, 4 + 3, 9X_1 + 2, 4X_3 + 3, 1X_1X_2 - 3, 3X_1X_3 + 2, 39X_2X_3 - 2, 9X_1X_2X_3$ (07)

As superfícies de respostas (FIGURA 22) foram construídas com base na equação 07, mantendo a resposta da função no eixo Z, e nos eixos X e Y as variáveis independentes.

FIGURA 22 - Superfícies de resposta mostrando o efeito da razão e da temperatura (a), da razão e do tempo (b) e da temperatura e o tempo (c) na porcentagem de holocelulose a partir da mercerização da fibra de sisal.



As superfícies respostas da FIGURA 22 apresentam os resultados obtidos para os teores de holocelulose de acordo com as variações nos parâmetros préestabelecidos, e a TABELA 7 apresenta o resumo dos resultados obtidos. A partir da análise dos parâmetros razão (fibra de sisal: solução NaOH 20 % - g L⁻¹) e temperatura (FIGURA 22-a) observou-se que tratamentos de fibras com maiores razões e menores temperaturas resultaram em fibras com maiores teores de holocelulose, ao mesmo tempo em que quando o tratamento foi realizado com menores razões e maiores temperaturas, as fibras apresentaram menores teores de holocelulose. Em relação a interação entre tempo e razão, observou-se que quando o tratamento foi realizado em menores tempos e menores razões fibras com menores teores de holocelulose foram obtidas. Do mesmo modo que quando o tratamento foi realizado por maiores tempos e com maiores razões as fibras passaram a apresentar maiores teores de holocelulose (FIGURA 22-b). Por fim, a interação entre temperatura e tempo mostrou que em maiores temperaturas e menores tempos fibras com menores teores de holocelulose foram obtidas, da mesma forma, que menores temperaturas e maiores tempos geraram fibras com teores de holocelulose maiores (FIGURA 22-c).

do <u>s durante</u>	e o estudo de me	ercerização		
	Teor	Temperatura	tempo	Razão
_		menor	maior	
lose	maior	menor		maior
ocelu			maior	maior
Holc		maior		menor

menor

menor

menor

--

menor

TABELA 7 - Resultados extraídos das superfícies de respostas para os teores de holocelulose obtidos durante o estudo de mercerização

Os teores de holocelulose correspondem à soma dos teores de celulose e hemicelulose, portanto menores teores de holocelulose significa presença de menores teores de hemiceluloses e/ou celulose, o que não favorece a aplicação destas fibras para a geração de açúcares fermentescíveis.

--

maior

Os fatores que podem impactar o teor de holocelulose são a eliminação das hemiceluloses e a degradação das cadeias de celulose (através de hidrólise em meio alcalino), o que pode levar a diminuição dos teores de holocelulose, dependendo da variação no teor de lignina. A interação das variáveis perante os teores de hemiceluloses estão presentes na sessão a seguir.

1.4.1.2.2 Hemiceluloses

Os resultados da ANOVA para hemiceluloses estão apresentados na TABELA 8

TABELA 8 - Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais de hemiceluloses obtidos para hemiceluloses em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho estão destacas variáveis que obtiveram valor-p<0,05

Fator ^a	SQ⁵	GL ^c	MQ ^d	F	Valor-p
X ₁	1,90125	1	1,90125	4,59980	0,165158
X ₂	12,75125*	1	12,75125	30,84980	0,030920
X ₃	0,06125	1	0,06125	0,14819	0,737356
X _{1.} X ₂	7,03125	1	7,03125	17,01109	0,054062
X _{1.} X ₃	4,06125	1	4,06125	9,82560	0,088476
X _{2.} X ₃	3,25125	1	3,25125	7,86593	0,107093
X1.X2.X3	4,65125	1	4,65125	11,25302	0,078539
Falta de ajuste	4,00095	1	4,00095	9,67971	0,089636
Erro puro	0,82667	2	0,41333		
R ² ai	0,58242				

^aX₁ = razão (g L⁻¹); X₂ = temperatura (°C); X₃ tempo (h); SQ^b = soma quadrática; GL^c = graus de liberdade; MQ^d = média quadrática; ; * = significativo ao nível de 5 % de probabilidade

A avaliação estatística obtida para os resultados referentes aos teores de hemiceluloses, apresentou valores significativos apenas para a temperatura (X_2). O conjunto de dados não apresentou falta de ajuste e o R^2 ajustado foi de 58,2 %. Isto significa que a avaliação estatística para os teores de hemiceluloses apresenta grande quantidade de resíduos (cerca de 41,8 %), ou seja, 41,8 % dos resultados se encontraram fora da média, fazendo com que o estudo seja pouco confiável para os teores de hemiceluloses obtidos.

Com a ANOVA (TABELA 8) foi obtido o diagrama de Pareto (FIGURA 23).

FIGURA 23 - Diagrama de Pareto obtido a partir dos dados experimentais referentes aos teores de hemicelulose para as variáveis razão em massa, temperatura e tempo para o estudo de mercerização da fibra de sisal



Na FIGURA 24 são apresentadas as superfícies respostas obtidas com os teores de hemicelulose variando a razão da fibra e temperatura no estudo do tratamento de mercerização realizado, e na TABELA 9 os resultados extraídos a partir da superfície de resposta.

FIGURA 24 - Superfície de resposta mostrando o efeito da razão e da temperatura na porcentagem de hemicelulose a partir da mercerização da fibra de sisal



oses	Teor	Temperatura	tempo	Razão
celul	maior	maior		menor
Hemi	menor	menor		maior

TABELA 9 - Resultados extraídos da superfície de respostas para os teores de hemiceluloses obtidos durante o estudo de mercerização

O diagrama de Pareto (FIGURA 23) mostou que apenas a temperatura teve valor signifivativo, sendo que este foi de influência negativa no teor de hemiceluloses, ou seja, com o aumento da temperatura ocorre a diminuição do teor de hemiceluloses. Quando ocorre a realização da mercerização, as hemiceluloses podem sofrer degradação gerando produtos (açúcares tais como xilose, manose e outros) solúveis no meio, assim, no presente estudo foi observado que esta degradação foi mais intensa quando temperaturas mais altas foram utilizadas (80 °C). A superfície de resposta (FIGURA 24) gerada mostra que utilizando menores razões (10 g L⁻¹) e maiores temperaturas (80 °C) fibras com menores teores de hemiceluloses foram detectadas, e quando maiores razões (30 g L⁻¹) e menores temperaturas (40 °C) fibras com maiores teores de hemiceluloses foram observadas.

Ao analisar os resultados obtidos na TABELA 5, comparando os experimentos 01 (10 g L⁻¹, 40 °C, 1,5 h) e 05 (30 g L⁻¹, 40 °C, 1,5 h), que apresentaram como única diferença o aumento da razão massa/volume, é possível observar que os teores de hemiceluloses obtidos foram muito próximos (01: 12,1 % e 05: 11,1 %). O mesmo aconteceu quando se compara 02 (10 g L⁻¹, 40 °C, 4,5 h) e 06 (30 g L⁻¹, 40 °C, 4,5 h) (02: 10,9 % e 06: 10,1 %). Estes resultados indicaram que quando o tratamento foi realizado em temperatura e tempo semelhantes, o aumento da razão massa de fibra e volume de álcali, não resultou em alterações significativas nos teores de hemiceluloses. Já quando comparados os experimentos 01 (10 g L⁻¹, 40 °C, 1,5 h) e 03 (10 g L⁻¹, 80 °C, 1,5 h) em que a variável considerada é a temperatura, observase que o aumento na temperatura resultou na diminuição do teor de hemiceluloses (01: 12,1 % e 03: 4,9 %). O mesmo comportamento não foi observado quando se compara os experimentos 05 (30 g L⁻¹, 40 °C, 1,5 h) e 07 (30 g L⁻¹, 80 °C, 1,5 h) em que os teores de hemiceluloses foram próximos (05: 11,1 % e 07: 10,7 %). Os resultados mostraram que a temperatura influenciou mais na eliminação de hemiceluloses que a razão utilizada, indicando que uma maior agitação, mais energia

térmica disponível no meio reacional, favoreceu mais a hidrólise das hemiceluloses que uma maior razão massa biomassa/volume de solução alcalina.

1.4.1.2.3 Celulose

A ANOVA para os resultados do teor de celulose estão na TABELA 10.

	vai laveis que o				
Fator ^a	SQ⁵	GL ^c	MQ ^d	F	Valor-p
X ₁	94,6688*	1	94,66880	465,5843	0,002141
X ₂	54,1841*	1	54,18405	266,4789	0,003732
X ₃	90,5858*	1	90,58580	445,5039	0,002237
X _{1.} X ₂	38,6321*	1	38,63205	189,9937	0,005222
X _{1.} X ₃	55,5458*	1	55,54580	273,1761	0,003641
X _{2.} X ₃	25,1341*	1	25,13405	123,6101	0,007993
X ₁ .X ₂ .X ₃	37,9321*	1	37,93205	186,5511	0,005318
Falta de ajuste	20,2077*	1	20,20773	99,3823	0,009913
Erro puro	0,4067	2	0,20333		
R ² aj	0,83533				

TABELA 10 - Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais obtidos para o teor de celulose em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho estão destacadas variáveis que obtiveram valor-p<0,05

^aX₁ = razão (g L⁻¹); X₂ = temperatura (°C); X₃ tempo (h); SQ^b = soma quadrática; GL^c = graus de liberdade; MQ^d = média quadrática; ; * = significativo ao nível de 5 % de probabilidade

Analisando a TABELA 10, observa-se que todas as condições tiveram valores significativos, além de ocorrer falta de ajuste na curvatura. O R² ajustado teve o valor de 0,83533, significando que cerca de 83,5 % dos resultados para os teores de celulose encontram-se dentro média e apenas 16,5 % refere-se a resíduos do estudo estatístico.

A partir da TABELA 10 foi possível gerar o diagrama de Pareto que está apresentado na FIGURA 25.



FIGURA 25 - Diagrama de Pareto obtido a partir dos dados experimentais referente aos teores de celulose para as variáveis razão, temperatura e tempo no estudo de mercerização da fibra de sisal

Avaliando o diagrama de Pareto (FIGURA 25) observa-se que o aumento da razão (fibra de sisal: solução NaOH 20 % - g L^{-1}), do tempo, da combinação da razão e da temperatura, e a combinação da temperatura e do tempo resultaram no aumento do teor de celulose nas fibras tratadas. Já o aumento da temperatura, da combinação da razão e do tempo, e das três variáveis juntas auxiliaram na diminuição no teor de celulose, ou seja na hidrólise alcalina das cadeias de celulose.

O modelo polinomial completo que expressa a relação entre as variáveis dependentes e independentes decodificadas empregadas no planejamento fatorial 2³ para o teor de celulose foi representado pela equação 08.

 $Celulose(\%) = 73,9 + 3,4X_1 - 2,6X_2 - 3,4X_3 + 2,2X_1X_2 - 2,6X_1X_3 + 1,8X_2X_3 - 2,2X_1X_2X_3$ (08)

As superfícies de respostas (FIGURA 26) foram construídas com base na equação 08, mantendo a resposta da função no eixo Z, e nos eixos X e Y as variáveis independentes.



FIGURA 26 - Superfícies de resposta mostrando o efeito da razão e da temperatura (a), da razão e do tempo (b) e da temperatura e o tempo (c) na porcentagem de celulose a partir da mercerização da fibra de sisal.

TABELA 11 - Resultados extraídos das superfícies de respostas para os teores de celulose obtidos durante o estudo de mercerização

	Teor	Temperatura	tempo	Razão
		eor Temperatura to menor aior menor maior enor r	maior	
e U	maior	menor		maior
solules			maior	maior
ů		maior		menor
	menor		menor	menor
		maior	menor	

A partir da análise das superfícies de respostas e dos parâmetros razão (fibra de sisal: solução NaOH 20 % - g L⁻¹) e temperatura (FIGURA 26-a) observa-se que

quando o tratamento foi realizado com maiores razões e menores temperaturas fibras com maiores teores de celulose foram obtidas, ao mesmo tempo em que com menores razões e maiores temperaturas foram obtidas fibras com menores teores de celulose. Isto foi um indicativo que durante a mercerização de fibras sisal em pequenas razões (10 g L⁻¹) e altas temperaturas (80 °C) ocorreu uma maior tendência de degradação das cadeias de celulose via hidrólise alcalina, como observado para as hemiceluloses. Em relação a interação entre tempo e razão, observa-se que menores tempos e menores razões resultaram em fibras com menores teores de celulose, bem como guando o tratamento foi realizado com maiores tempos e maiores razões fibras com maiores teores de celulose foram obtidas (FIGURA 26-b). Indicando que mesmo com tempos superiores (4,5 h), a mercerização utilizando maior razão (30 g L⁻¹) de fibras não leva a degradação da celulose presente nas fibras. Por fim, a interação da temperatura e tempo mostrou que maiores temperaturas e menores tempos resultam em fibras com teores menores de celulose, da mesma forma, menores temperaturas e maiores tempos proporcionam fibras com maiores teores de celulose (FIGURA 26-c). Assim, no presente estudo a temperatura e o tempo foram fatores predominantes, no que tange a degradação das cadeias de celulose presentes nas fibras de sisal. Em temperaturas mais baixas foi possível obter fibras com maiores teores de celulose, mesmo com maiores tempos de mercerização.

Através da análise dos resultados referentes à variação no teor de celulose durante o estudo estatístico, foi possível observar que o comportamento apresentado foi similar ao comportamento dos teores de holocelulose (TABELA 7, FIGURA 22). Entre as principais conclusões deste comportamento está o fato que o que geriu a variação de holocelulose foi a eliminação de hemiceluloses e não a degradação das cadeias de celulose (com formação de produtos solúveis).

1.4.1.2.4 Lignina insolúvel

A ANOVA para os resultados do teor de lignina insolúvel estão na TABELA 12.

TABELA 12 - Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais obtidos para o teor de lignina insolúvel em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho estão destacadas variáveis que obtiveram valor-p<0,05

Fator ^a	SQ ^b	GL ^c	MQ ^d	F	Valor-p
X ₁	2,88000*	1	2,880000	34,56000	0,027737
X ₂	0,40500	1	0,405000	4,86000	0,158302
X ₃	1,28000	1	1,280000	15,36000	0,059366
X _{1.} X ₂	0,00000	1	0,000000	0,00000	1,000000
X _{1.} X ₃	0,84500	1	0,845000	10,14000	0,086077
X _{2.} X ₃	1,28000	1	1,280000	15,36000	0,059366
X1.X2.X3	0,00500	1	0,005000	0,06000	0,829336
Falta de ajuste	5,29833*	1	5,298333	63,58000	0,015367
Erro puro	0,16667	2	0,083333		
R ² ai	0				

^aX₁ = razão (g L⁻¹); X₂ = temperatura (°C); X₃ tempo (h); SQ^b = soma quadrática; GL^c = graus de liberdade; MQ^d = média quadrática; ; * = significativo ao nível de 5 % de probabilidade

Analisando a ANOVA (TABELA 12) observa-se que apesar de o modelo matemático apresentar falta de ajuste, não ocorreu um R² ajustado. Isto significa que os resultados obtidos para o teor de lignina insolúvel não se ajustaram ao modelo matemático aplicado no presente estudo. Por consequência, não houve a possibilidade de obtenção de um diagrama de Pareto ou de superfícies de resposta.

Observando os resultados apresentados na TABELA 5 é possível constatar que mesmo variando as condições de tratamento, ocorreu a ausência de eliminação de lignina (experimentos 04, 05 07) ou até mesmo o aumento dos teores de alguns dos experimentos (experimentos 08, 09, 10, 11, 12). Diminuições em pequena extensão (experimentos 01, 02, 03 06) foram observadas, encontrando-se dentro do erro. Estes resultados levaram a suposição de possível extração e reprecipitação da lignina sobre as superfícies das fibras tratadas.

O termo pseudo-lignina foi criado para se referir a repolimerização de produtos de degradação de polissacarídeos ou da repolimerização da lignina degradada, e que se deposita na superfície do material lignocelulósico durante a realização de um pré-tratamento ácido (HU; JUNG; RAGAUSKAS, 2012). Com o auxílio da microscopia eletrônica de varredura (MEV), em um estudo de tratamento ácido diluído de holocelulose, foram observadas esferas e estas foram atribuídas a pseudo-lignina (SANNIGRAHI et al., 2011). Com intuito de se avaliar se durante o pré-tratamento em meio alcalino, realizado no presente trabalho, poderia ocorrer algo similar ao observado em pré-tratamentos em meio ácido, investigou-se se haveria algum material depositado sobre as fibras, e que pudesse ser visualizado por imagens MEV. As imagens obtidas são discutidas na sessão 1.4.1.2.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).

1.4.1.2.5 Lignina solúvel

A ANOVA para os resultados do teor de lignina solúvel estão na TABELA 13.

TABELA 13 - Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais obtidos para o teor de lignina solúvel em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho estão destacadas variáveis que obtiveram valor-p<0.05

			1 /		
Fator ^a	SQ⁵	GL ^c	MQ ^d	F	Valor-p
X ₁	0,255613*	1	0,255613	84,26786	0,011660
X ₂	0,013613	1	0,013613	4,48764	0,168302
X ₃	0,001013	1	0,001013	0,33379	0,621813
X _{1.} X ₂	0,035113	1	0,035113	11,57555	0,076595
X _{1.} X ₃	0,056113	1	0,056113	18,49863	0,050036
X _{2.} X ₃	0,019013	1	0,019013	6,26786	0,129311
X1.X2.X3	0,001513	1	0,001513	0,49863	0,553278
Falta de ajuste	0,000109	1	0,000109	0,03609	0,866866
Erro puro	0,006067	2	0,003033		
R² _{aj}	0,94696				

^aX₁ = razão (g L⁻¹); X₂ = temperatura (°C); X₃ tempo (h); SQ^b = soma quadrática; GL^c = graus de liberdade; MQ^d = média quadrática; ; * = significativo ao nível de 5 % de probabilidade

O R^2 ajustado observado na ANOVA para os teores de lignina solúvel (TABELA 13) foi aproximadamente 0,95, significando que cerca de 95% das respostas obtidas estão dentro da média. Porém, o estudo não apresentou falta de ajuste ao modelo matemático utilizado e a única variável significativa foi a razão de massa/volume (X₁).

Com os valores da ANOVA para a lignina solúvel (TABELA 13) foram obtidos o diagrama de Pareto (FIGURA 27).

FIGURA 27 - Diagrama de Pareto referente aos teores de lignina solúvel para as variáveis razão, temperatura e tempo no estudo de mercerização da fibra de sisal



O modelo polinomial completo que expressa a relação entre as variáveis dependentes e independentes decodificadas empregadas no planejamento fatorial 2³ para o teor de lignina solúvel foi representado pela equação 09.

$$Lignina \ sol \ ivel \ (\%) = 1, 8 - 0, 18X_1 - 0, 08X_1X_3 \tag{09}$$

As superfícies de respostas (FIGURA 28) foram construídas com base na equação 09, mantendo a resposta da função no eixo Z, e nos eixos X e Y as variáveis independentes, e a partir dela foram extraídos os resultados da TABELA 14.



FIGURA 28 - Superfície de resposta mostrando o efeito da razão e do tempo no teor de lignina solúvel a partir da mercerização da fibra de sisal.

TABELA 14 - Resultados extraídos da superfície de respostas para os teores de lignina solúvel obtidos durante o estudo de mercerização

lúvel	Teor	Temperatura	tempo	Razão
la so	menor		menor	menor
Ligniı	maior		menor	maior

Através do diagrama de Pareto (FIGURA 27) para a lignina solúvel, observouse que a razão massa/volume foi uma variável positiva, ou seja, com o aumento da razão o teor de lignina solúvel da fibra aumentou. A partir da relação entre o tempo e a razão massa/volume (FIGURA 28, TABELA 14) foi observado que menores tempos e menores razões resultaram em fibras com menores teores de lignina solúvel, por sua vez maiores tempos e maiores razões produziram fibras com maiores teores de lignina solúvel. Isto significa que não foram necessários altos tempos de tratamento para a eliminação de lignina solúvel, desde que a razão de fibra seja baixa, pois com baixa razão mais solução de NaOH está disponível para a quebra das ligações fenilglicosídeos, ésteres e éteres benzílicos, eliminando assim pelo menos parte da lignina que estava presente na fibra.

1.4.1.2.6 Lignina total

Como o esperado, devido o teor da lignina total corresponder a soma dos teores de lignina solúvel e insolúvel, os resultados obtidos para o teor de lignina total não se ajustaram ao modelo matemático aplicado no presente estudo. Por consequência, não houve a possibilidade de obtenção de um diagrama de Pareto ou de superfícies de resposta. Isto é observado na ANOVA (TABELA 15) em que apesar de ser observado falta de ajuste, o R^2 ajustado observado foi nulo.

TABELA 15 - Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais obtidos para o teor de lignina total em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho destaca-se os resultados significativos para o estudo, ou seja, variáveis que obtiveram valor-p<0,05

Fator ^a	SQ ^b	GL ^c	MQ ^d	F	Valor-p
X ₁	4,85161	1	4,851613	1599,433	0,000625
X ₂	0,56711	1	0,567113	186,960	0,005306
X ₃	1,20901	1	1,209013	398,576	0,002500
X _{1.} X ₂	0,03511	1	0,035113	11,576	0,076595
X ₁ . X ₃	1,33661	1	1,336613	440,641	0,002262
X ₂ . X ₃	1,61101	1	1,611013	531,103	0,001878
Falta de ajuste	6,54671	2	3,273356	1079,128	0,000926
Erro puro	0,00607	2	0,003033		
R ² aj	0				

 ${}^{a}X_{1}$ = razão (g L⁻¹); X₂ = temperatura (°C); X₃ tempo (h); SQ^b = soma quadrática; GL^c = graus de liberdade; MQ^d = média quadrática; ; * = significativo ao nível de 5 % de probabilidade

1.4.1.2.7 Índice de cristalinidade

A celulose apresenta padrão cristalográfico bem definido, de modo que é possível determinar qual é o polimorfo de celulose (I, II, III, ou IV) a partir da análise de DRX das amostras de fibras lignocelulósicas. No presente estudo, foram obtidos os difratogramas (APÊNDICE I) de todas as amostras, e a FIGURA 29 apresenta os difratogramas de raios-X das fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas e mercerizadas referentes ao Exp. 01. A apresentação destes é essencial para validar a utilização do método Segal (SEGAL et al., 1959), já que estudos teóricos e experimentais desenvolvidos (FRENCH; SANTIAGO CINTRÓN, 2013; FRENCH, 2014; NAM et al., 2016) comprovaram a necessidade de que os picos referente à celulose II esteja bem definido para a determinação do IC a partir deste método.

O difratograma para a fibra lignocelulósica de sisal não mercerizada, apesar dos picos em 15 θ e 16,8 θ não estarem bem definidos, apresenta o pico em 22,4 θ bem definido, e não apresenta nenhum indício da presença do pico referente a celulose II. Deste modo, pode-se afirmar que toda a celulose presente nesta fibra é celulose I. Já o difratograma para a fibra lignocelulósica de sisal mercerizada apresenta todos os picos característicos de um material composto exclusivamente de celulose II, mas o mais importante para realizar esta afirmação é a existência do pico em 20,4 θ . Assim, o método Segal pode ser aplicado para todas as amostras de fibras não reagidas retiradas durante a reação de hidrólise enzimática.

FIGURA 29 - Difratogramas de raios-X das fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas e mercerizadas (Exp. 01 - 10 g L^{-1} , 1,5 h, 40 °C). Obs. Os valores descritos fazem referência aos valores dos picos dos difratogramas, ou seja, não são valores teóricos.



A partir dos difratogramas e utilizando o método Segal para o cálculo de IC, os resultados da TABELA 5 para os IC foram obtidos, e a partir destes obtido a ANOVA (TABELA 16).

TABELA 16 - Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais obtidos para os índices de cristalinidade em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho destacam-se os resultados significativos para o estudo, ou seja, variáveis que obtiveram valor-p<0,05

Fator ^a	SQ⁵	GL ^c	MQ ^d	F	Valor-p
X ₁	8,0000	1	8,00000	13,1148	0,068507
X2	0,0000	1	0,00000	0,0000	1,000000
X ₃	0,1250	1	0,12500	0,2049	0,695145
X _{1.} X ₂	75,6450	1	75,64500	124,0082	0,007968
X _{1.} X ₃	10,5800	1	10,58000	17,3443	0,053105
X _{2.} X ₃	4,5000	1	4,50000	7,3770	0,113031
X1.X2.X3	11,0450	1	11,04500	18,1066	0,051037
Falta de ajuste	2,0741	1	2,07409	3,4001	0,206502
Erro puro	1,2200	2	0,61000		
R ² aj	0,90299				

^aX₁ = razão (g L⁻¹); X₂ = temperatura (°C); X₃ tempo (h); SQ^b = soma quadrática; GL^c = graus de liberdade; MQ^d = média quadrática; ; * = significativo ao nível de 5 % de probabilidade

Analisando a TABELA 16, observa-se que apenas a relação entre as variáveis X_1 e X_2 levou a valores significativos, não houve falta de ajuste na curvatura. O R^2 ajustado teve o valor de 0,90299, significando que cerca de 90,3 % dos resultados para os IC encontraram-se dentro média.

A partir da TABELA 16 foi possível gerar o diagrama de Pareto que está apresentado na FIGURA 30.



FIGURA 30 - Diagrama de Pareto referente aos índices de cristalinidade (IC) para as variáveis razão, temperatura e tempo no estudo de mercerização da fibra de sisal

Avaliando o diagrama de Pareto (FIGURA 30) observa-se que apenas a relação entre a razão e a temperatura apresentaram significância. A contribuição destas duas variáveis juntas foi positiva, ou seja, o aumento da razão junto com a temperatura resultou em fibras com maiores valores de IC.

O modelo polinomial completo que expressou a relação entre as variáveis dependentes e independentes decodificadas empregadas no planejamento fatorial 2³ para o teor de celulose foi representado pela equação 10.

$$Ic(\%) = 40, 2 + 3, 1X_1 \tag{10}$$

A superfície de respostas (FIGURA 31) foi construída com base na equação 10, mantendo a resposta da função no eixo Z, e nos eixos X e Y as variáveis independentes, e a partir dela os resultados apresentados na TABELA 17.



FIGURA 31 - Superfície de resposta mostrando o efeito da razão e da temperatura no IC a partir da mercerização da fibra de sisal.

TABELA 17 - Resultados extraídos das superfícies de respostas para os IC obtidos durante o estudo de mercerização

dade	Teor	Temperatura	tempo	Razão
alini	maior	menor		menor
crist		maior		maior
Índice de	menor	maior		menor-
		menor		maior

Fibras com altos IC, porém menores que o IC inicial (FIGURA 31, TABELA 17), foram obtidas em combinações de maior razão (30 g L⁻¹) e mais alta temperatura (80 °C), e menor razão (10 g L⁻¹) e menor temperatura (40 °C). Fibras com baixos valores de IC foram obtidos com combinações de razão menor (10 g L⁻¹) e temperatura maior (80 °C), e com combinações de razão maior (30 g L⁻¹) e temperatura menor (40 °C).

Entre os fatores que podem alterar os valores de IC das fibras lignocelulósicas de sisal, estão o intumescimento das regiões cristalinas, a eliminação de hemiceluloses, lignina, e até mesmo de celulose das regiões não cristalinas. Assim,

considerando os resultados referentes aos teores de lignina e hemiceluloses (TABELA 5) o esperado seria que em razões e tempos menores, independentemente da temperatura, as fibras apresentassem IC altos. Contudo os estudos estatísticos mostraram que o comportamento em relação a IC não apresentou relação direta com a variação dos teores de lignina e hemiceluloses. Assim, acredita-se que o intumescimento das regiões cristalinas predominou a variação de IC das fibras lignocelulósicas de sisal tratadas.

1.4.1.2.8 Rendimento

Os rendimentos foram calculados a partir das massas secas iniciais e finais das fibras de sisal submetidas ao tratamento de mercerização. Assim, a ANOVA para os resultados de rendimento estão na TABELA 18.

TABELA 18 - Análise de variância para o modelo de regressão polinomial ajustado aos dados experimentais obtidos para os rendimentos em função da razão, temperatura e tempo. Em vermelho destaca-se os resultados significativos para o estudo, ou seja, variáveis que obtiveram valor-p<0,05

Fator ^a	SQ⁵	GL ^c	MQ ^d	F	Valor-p
X ₁	139,4450	1	139,4450	18,43698	0,050190
X2	114,0050	1	114,0050	15,07338	0,060394
X ₃	253,1250	1	253,1250	33,46739	0,028604
Falta de ajuste	109,3856	5	21,8771	2,89252	0,276614
Erro puro	15,1267	2	7,5633		
R² _{aj}	0,67369				

 ${}^{a}X_{1} = razão (g L^{-1}); X_{2} = temperatura (°C); X_{3} tempo (h); SQ^b = soma quadrática; GL^c = graus de liberdade; MQ^d = média quadrática; ; * = significativo ao nível de 5 % de probabilidade$

Analisando a TABELA 18, observa-se que apenas para a variável tempo os valores foram significativos, pois não houve falta de ajuste na curvatura, e o R² ajustado teve o valor de 0,67369, significando que apenas cerca de 67,4 % dos resultados para os rendimentos encontraram-se dentro média.

A partir da TABELA 18 foi possível gerar o diagrama de Pareto que está apresentado na FIGURA 32.



FIGURA 32 - Diagrama de Pareto referente aos rendimentos para as variáveis razão, temperatura e tempo no estudo de mercerização da fibra de sisal

Avaliando o diagrama de Pareto (FIGURA 32) observa-se que apenas o tempo apresentou significância no estudo do rendimento. O estudo mostrou influência negativa do tempo, ou seja, quanto maior o tempo de tratamento menor é o rendimento, ou seja mais massa (hemiceluloses, lignina e celulose) foi eliminada. A presente observação foi era esperada, já que no senso comum, quanto maior o tempo de tratamento maior a degradação e solubilização dos componentes das fibras (celulose, lignina, hemiceluloses).

O modelo polinomial completo que expressa a relação entre as variáveis dependentes e independentes decodificadas empregadas no planejamento fatorial 2³ para o rendimento é representado pela equação 11.

$$Rendimento(\%) = 43,9 - 4,2X_1 - 5,6X_3$$
(11)

A superfície de resposta (FIGURA 33) foi construída com base na equação 11, mantendo a resposta da função no eixo Z, e nos eixos X e Y as variáveis independentes e a partir desta foram extraídas as informações apresentadas na TABELA 19.



FIGURA 33 - Superfície de resposta mostrando o efeito da razão e da temperatura no rendimento a partir da mercerização da fibra de sisal.

TABELA 19 - Resultados extraídos da superfície de respostas para os rendimentos obtidos durante o estudo de mercerização

Rendimento	Teor	Temperatura	tempo	Razão
	maior		menor	menor
	menor		maior	maior

Da mesma forma que foi observado no diagrama de Pareto (FIGURA 32), as superfícies de respostas (FIGURA 33) mostraram que para menores tempos maiores rendimentos são obtidos, ou seja a eliminação de lignina, hemiceluloses e até mesmo a degradação de celulose é menor em tempos menores. Já quando se trata da razão, esperava-se que maiores razões resultassem em maiores rendimentos, pois significaria mais fibra a ser tratada, diminuindo a eficiência da degradação de lignina e hemiceluloses, e consequente maior massa restaria ao final do tratamento.

Uma polpa celulósica ideal para o processo de hidrólise enzimática visando produção de glicose deve conter apenas celulose. A presença de lignina e/ou hemicelulose podem prejudicar as interações entre as enzimas *celulases* e a celulose, levando a baixas taxas de conversão de biomassa celulósica em glicose. Desta forma lignina e hemiceluloses devem idealmente ser eliminadas do material lignocelulósico utilizado. O tratamento alcalino, no caso a mercerização, pode levar a eliminação de hemiceluloses e lignina, além levar a alterações na morfologia e na cristalinidade do material, que também impactam a reatividade e/ou acessibilidade das cadeias celulósicas frente a solventes, reagentes e catalisadores (como as enzimas). No presente estudo, foi realizada a avaliação estatística do processo de mercerização, visando avaliar os parâmetros nos valores de lignina, celulose, hemicelulose, cristalinidade e rendimento do processo.

Fazendo uma avaliação geral dos resultados estatísticos, observou-se que para que a fibra de sisal apresente baixo teor de lignina, a mesma deve ser submetida a menores tempos (1,5 h) e razão de massa/volume (10 g L⁻¹). Para se obter baixo teor de hemiceluloses a fibra deve ser submetida a maiores temperaturas (80 °C) e menores razões de massa/volume (10 g L⁻¹). Para maior teor de celulose a fibra deve ser submetida a menores temperaturas (40 °C) e maiores razões (30 g L⁻¹) e maiores tempos (4,5 h).

Quando avaliados os resultados obtidos experimentalmente, observou-se que o experimento 03 (10 g L⁻¹, 80 °C, 1,5 h) apresentou menores teores de lignina e hemicelulose, deste modo, mostra que a avaliação estatística esteve de acordo com os resultados obtidos experimentalmente para lignina (9,9 %) e hemicelulose (4,9 %). Já o experimento 06 (30 g L⁻¹, 40 °C, 4,5 h) apresentou maior teor de celulose (78,1 %) também condizendo com a avaliação estatística. O experimento 04 (10 g L⁻¹, 40 °C, 1,5 h) apresentou maior rendimento do processo (57,9 %) e o experimento 01 (10 g L⁻¹, 80 °C, 4,5 h) menor índice de cristalinidade (33,2 %) ambos de acordo com a avaliação estatística.

No geral, as fibras que potencialmente apresentariam melhor eficiência para uma hidrólise enzimática, em relação a baixos teores de lignina e hemicelulose seriam as fibras obtidas nas condições de 10 g L⁻¹, 80 °C e 1,5 h (exp. 03) e em relação a alto teor de celulose as fibras tratadas utilizando as seguintes condições 30 g L⁻¹, 40 °C e 4,5 h (exp. 06).

1.4.1.2.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Como mencionado, o tratamento alcalino pode levar a altos índices de remoção de lignina e hemiceluloses, porém o observado no presente estudo é que a eliminação de hemiceluloses foi predominante, e a lignina insolúvel manteve pouca variação, considerando os parâmetros analisados. A análise via microscopia eletrônica de varredura (MEV), além de auxiliar a observação das alterações na morfologia das superfícies das fibras, pode auxiliar na observação de eventuais depósitos de subprodutos da mercerização repolimerizados e depositados na superfície das fibras, o que poderia impactar o teor de lignina obtidos para estas fibras, isto é, levar a um teor de lignina insolúvel superior ao que de fato está contido no interior da fibra.

A FIGURA 34 apresenta as imagens de MEV para as fibras provenientes dos experimentos realizados no estudo estatístico da mercerização da fibra de sisal. Como é possível observar, com o tratamento de mercerização os feixes de fibra se mostraram mais separados, o que aumenta a área de superfície das fibras exposta às enzimas *celulases* durante a posterior etapa de hidrólise, atendendo a um dos objetivos deste tratamento.



FIGURA 34 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) referente aos experimentos realizados durante o estudo estatístico da mercerização da fibra de sisal

As imagens de MEV (FIGURA 34) também podem ser utilizadas para a investigação sobre uma possível reprecipitação da lignina extraída sobre as fibras, ou ainda reprecipitação de produtos de possíveis recombinações de estruturas geradas pelas degradações que podem ocorrer durante o pré-tratamento.

Em pré-tratamentos em que solução ácida diluída é usada, a formação de pseudo-lignina tem sido observada. Durante o pré-tratamento em meio ácido, podem ocorrer reações de desidratação, fragmentação, condensação, dentre outras, envolvendo os componentes da fibra lignocelulósica, o que leva a produção de um material insolúvel no meio ácido, com estrutura química contendo grupos carbonila, carboxílicos, aromáticos e alifáticos. A presença de anéis aromáticos faz com que este material depositado na superfície das fibras sob a forma de gotas esféricas, chamado de pseudo-lignina, resulte em resposta positiva na análise Klason, embora não corresponda à lignina nativa (SANNIGRAHI et al., 2011; HU; JUNG; RAGAUSKAS, 2012)

No presente estudo, o tratamento correspondeu à ação de solução aquosa alcalina sobre os componentes da fibra, e não de solução ácida. Assim, não é possível uma analogia direta com a pseudo-lignina formada durante pré-tratamento com solução ácida diluída, mas pode-se conjecturar sobre a possibilidade de reprecipitação de lignina extraída e/ou de produtos gerados por reações que podem ocorrer durante o pré-tratamento em meio alcalino. No entanto, esta eventual reprecipitação pode não ser visualizada via imagens MEV, e de fato não pode se afirmar nada sobre este aspecto comparando as imagens das fibras durante o tratamento com aquela da fibra de partida (inicial, FIGURA 34)

A maior variação de lignina aconteceu de 13,9 % (teor de lignina insolúvel na fibra de partida, TABELA 5) para 9,9 % (experimento 03:10 g L⁻¹, 80 °C, 1,5 h, TABELA 5), sendo que a segunda foi de 13,9 % para 10,1 % (experimento 01: 10 g L⁻¹, 40 °C, 1,5 h). Nos pontos centrais (experimentos 9,10 e 11 - 20 g L⁻¹, 60 °C, 3 h) não foram observadas variações, e nos outros experimentos os teores obtidos variaram de 11 % a 13 %.

Considerando o previamente mencionado, se optou por aprofundar as investigações envolvendo o pré-tratamento das fibras lignocelulósicas de sisal via mercerização.

1.4.1.2.10 Aprofundamento do estudo de mercerização das fibras de sisal

Analisando os resultados obtidos na TABELA 5, observou-se que os teores de lignina diminuíram pouco frente às expectativas. Como já descrito, a primeira hipótese foi a avaliação da possível precipitação de lignina extraída e/ou de produtos gerados por reações que podem ocorrer durante o pré-tratamento em meio alcalino nas superfícies das fibras de sisal tratadas.

Quando analisados os resultados da TABELA 5 foi observado que mesmo em tempos altos de tratamento o teor de lignina na fibra não diminuía, desta forma, foi decidido realizar uma avalição de um dos experimentos ao longo do tempo de tratamento.

O experimento escolhido para esta avaliação foi o experimento 08, (TABELA 4, 30 g L⁻¹ de fibra de sisal, 80 °C a 4,5 h). Este foi escolhido pelo fato de que neste experimento foi utilizada a maior razão de massa/volume, a maior temperatura e o maior tempo durante o estudo estatístico. O experimento foi repetido avaliando-se

o teor de holoceluloses, hemiceluloses, celulose, lignina insolúvel, lignina solúvel e lignina total ao longo do intervalo de 4,5 h. As variações dos teores estão descritas na FIGURA 35.

FIGURA 35 - Variação dos teores de lignina insolúvel, solúvel e total, holocelulose, hemiceluloses e celulose ao longo da execução do estudo de aprofundamento da mercerização utilizando as condições de 30g L^{-1} de fibra de sisal, 80 °C a 4,5h



Na FIGURA 35, observa-se uma tendência de o teor de lignina insolúvel aumentar com relação ao teor inicial (t = 0) até 2,5 h, o que se torna mais evidente a 3,5 h e 4,0 h. A expectativa era que o teor de lignina diminuísse em função do tempo, devido à ação do álcali presente. O aumento observado pode, em princípio, ser decorrente da combinação de dois fatores. A lignina insolúvel extraída (e ou produtos de recombinações, conforme já mencionado) pode ter reprecipitado sobre a fibra, o que seria detectado como lignina presente no interior da fibra na análise de lignina Klason insolúvel. O segundo fator é que o teor de hemiceluloses diminuiu consideravelmente nos 30 min iniciais, alterando de forma significativa a composição da fibra, o que impacta os teores de lignina e celulose.

Já em relação ao teor de lignina solúvel, observou-se que ocorreu a diminuição do teor ao longo de todo o tratamento, como esperado. Como o teor de lignina total é a soma dos teores de lignina solúvel e insolúvel, o comportamento para o teor de lignina total seguiu o observado para a lignina insolúvel (FIGURA 35).

Em relação à variação de holocelulose, observou-se um decaimento até cerca de 2 h e depois sofreu um leve aumento, mantendo-se praticamente estável. O mesmo comportamento foi observado para hemiceluloses, ou seja, o que influenciou a diminuição do teor de holocelulose foi a eliminação das hemiceluloses presentes na fibra. O teor de celulose aumentou logo nos primeiros 30 min, como consequência da eliminação de hemiceluloses, e seguiu praticamente acompanhando as variações no teor de hemiceluloses (FIGURA 35).

Na literatura é possível encontrar diversos exemplos do uso do tratamento de mercerização com o intuito de alteração de propriedades mecânicas de fibras lignocelulósicas para a utilização destas em compósitos de matrizes poliméricas (DAS; CHAKRABORTY, 2006; RAHMAN; KHAN, 2007; D'ALMEIDA, 2018). Normalmente os tratamentos alcalinos com NaOH, visando a eliminação de lignina e hemiceluloses, são realizados com concentrações inferiores a 20 % [utilizada neste estudo, (LING et al., 2017; FANG et al., 2018; SHAHABAZUDDIN et al., 2018; ULLAH et al., 2018)]. De modo que o tratamento alcalino com a concentração de 20 % de NaOH não é tão difundido. Em estudo anterior, foi avaliado o tratamento em fibras lignocelulósicas de curauá (GOMES, 2017), visando a eliminação de lignina e hemiceluloses para o aumento no rendimento da reação de hidrólise enzimática. O tratamento de mercerização (20 % NaOH, 2 h, 20 g L⁻¹, temperatura ambiente) realizado na fibra lignocelulósica de curauá apresentou variações nos teores, em que foi observado o aumento no teor de celulose de 70,4 % ± 0,2 para 81,6 % ± 0,2, e a diminuição de lignina (de 9,4 % ± 0,3 para 3,2 % ± 0,3) e hemiceluloses (15,5 % ± 0,2 para 13,2 % ±

0,2). No presente estudo, observou-se que ao contrário da fibra de curauá, ocorreu uma preferência na eliminação hemiceluloses ao invés de lignina.

Durante o estudo estatístico, observou-se que os rendimentos dos tratamentos foram baixos, variando estes entre 29 % e 58 % (TABELA 5). Como foi mencionado, as condições do experimento 08 foram consideradas, e experimentos individuais foram realizados, em diferentes tempos, iniciando com 30 min, aumentando até 270 min (4,5 h). O cálculo do rendimento foi realizado considerando a massa inicial utilizada e a massa final obtida dos experimentos realizados. A diminuição da massa da fibra observada durante o tratamento deve-se a degradação dos componentes da fibra, gerando produtos solúveis no meio. Observa-se que o rendimento praticamente se mantém ao longo do tempo (FIGURA 36).

FIGURA 36 - Variação do rendimento do tratamento ao longo da execução do estudo de aprofundamento da mercerização utilizando as condições de 30 g L^{-1} de fibra de sisal, 80 °C a 4,5 h



A FIGURA 37 apresenta as imagens de MEV para as fibras extraídas durante o tratamento, e a partir da avaliação da mesma observa-se que com o aumento do tempo os feixes de fibra se distanciam cada vez mais. Observa-se também que o tratamento elimina os fragmentos presentes na superfície da fibra inicial de sisal.

FIGURA 37 - Imagens de MEV para as fibras de sisal extraídas durante ao longo da execução do estudo de aprofundamento da mercerização utilizando as condições de 30g L^{-1} de fibra de sisal, 80 °C a 4,5h



Apesar de ser possível avaliar a espessura das fibras através das imagens MEV, não é possível correlacionar os resultados com aqueles obtidos a partir do MorFi (FIGURA 38), já que na análise realizada a partir do MorFi as fibras são suspensas em água.

Os limites de detecção para a técnica de MorFi são [5-50] µm para a espessura e [10-1000] µm para o comprimento, de modo que qualquer fibra que não apresente algum destes valores de espessura e comprimento não serão detectadas nas análises.

Com relação à espessura (FIGURA 38), na fibra inicial (antes de submetida à mercerização) foi detectado um pico em [6-8] μ m (3,7 % de ocorrência das fibras), que logo em 30 min foi eliminado, provavelmente devido à eliminação de hemiceluloses e lignina, o que leva à diminuição na espessura. Inicialmente, a grande

maioria das fibras estava contida em [30-39] μ m (20,1 % de ocorrência das fibras), e logo em 30 min passaram a se encontrar em 50 μ m. A seguir, esta configuração se manteve aproximadamente constante durante todo o tratamento, ou seja com grande maioria das fibras presentes em 50 μ m, provavelmente devido a ação da solução alcalina a partir da superfície de fibras fora dos limites de detecção (>50 μ m), e/ou pela possibilidade de intumescimento das fibras de menores espessuras com o decorrer do tempo.

Em relação ao comprimento, inicialmente a grande maioria das fibras apresentava valores entre [77-129] μ m, porém nos primeiros 30 min de tratamento, a maior quantidade de fibras passou a estar contida no intervalo de [129-215] μ m. A mudança deste intervalo, provavelmente está relacionada a ação da solução alcalina a partir da extremidade de fibras em comprimentos >1000 μ m, gerando fibras com menores comprimentos, mas ainda assim maiores que os das fibras inicialmente detectadas, o que levou ao aumento do comprimento médio das mesmas. A partir de 4,5 h grande parte das fibras estavam em [77-129] μ m, ou seja, o comprimento médio das fibras diminuiu com o tempo de tratamento devido a ação da solução alcalina a partir das extremidades das fibras, e/ou na parte central de fibras mais longas, fragmentando-as.

FIGURA 38 - Comprimento e espessuras médios das fibras não reagidas retiradas do meio de tratamento ao longo da execução do estudo de aprofundamento da mercerização utilizando as condições de $30g L^{-1}$ de fibra de sisal, 80 °C a 4,5h.



A realização deste estudo de mercerização da fibra lignocelulósica de sisal auxiliou na compreensão das alterações que a fibra pode sofrer com pré-tratamento em diferentes condições. Considerando os resultados, foi observado que a fibra que foi submetida a mercerização em menor tempo (1,5 h), temperatura (40 °C) e razão (10 g L⁻¹) apresentou características adequadas para a submissão a reações de
hidrólise enzimática, ou seja a fibra apresentou mais baixos teores de hemiceluloses e de lignina, comparativamente às demais.

1.4.2 Reações de hidrólise enzimática da fibra lignocelulósica de sisal

Esta seção descreve os resultados de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas, sob diferentes condições. Como descrito anteriormente, foram realizadas as hidrólises enzimáticas das fibras de sisal não mercerizadas e mercerizadas, na presença ou não de surfactantes (ramnolipídeo e lignosulfonato). Inicialmente são apresentados os resultados referentes a hidrólise das fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas (SNM), com a presença dos surfactantes (ramnolipídeo, R, lignosulfonato, LS). Na sequência são apresentados os resultados referente a hidrólise das fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas (SNM), na presença dos surfactantes (SM) na presença dos surfactantes (SM) na

1.4.2.1 Reações das fibras lignocelulósicas não mercerizadas (SNM)

As fibras lignocelulósicas de sisal utilizadas nas reações de hidrólise apresentaram 31 % \pm 1 de hemiceluloses, 10,3 % \pm 0,4 de lignina insolúvel, 3,6 % \pm 0,4 de lignina solúvel, e 61 % \pm 1 de celulose. O IC destas fibras foi de 46,5 % \pm 0,5.

1.4.2.1.1 Influência do surfactante ramnolipídeo (R)

A concentração inicial (60 mg L⁻¹) de ramnolipídeo utilizada no presente estudo foi selecionada a partir dos estudos desenvolvidos por Wang e colaboradores (2011). A partir dos resultados obtidos foram consideradas mais duas concentrações (80 mg L⁻¹ e 108 mg L⁻¹). Antes da realização das reações de hidrólise enzimática, as tensões superficiais de todas as soluções foram determinadas, e os resultados destas são apresentados na TABELA 20.

TABELA 20 -	Tensões	superficiais	dos meio	s reacionais	utilizados	durante a	as reações	hidrólises
enzimáticas:	TC: Tamp	pão Citrato,	TC-R60: 8	adição de 60	mg L ⁻¹ de	ramnolipi	ideo, TC-R	80: adição
de 80 mg L ⁻¹	de ramno	lipídeo e TC	-R108: ac	lição de 108	mg L ⁻¹ de i	ramnolipío	leo	

Meio reacional	Tensão de superfície (dyn cm ⁻¹)
Tampão Citrato (TC)	71,6 ± 0,1
TC- R60	27,1 ± 0,4
TC-R80	$26,4 \pm 0,2$
TC-R108	26,3 ± 0,1

Como observado em todas as concentrações de ramnolipídeo a tensão superficial diminuiu drasticamente, devido às interações entre as moléculas do surfactante (ramnolipídeo) e as moléculas da superfície do líquido (tampão citrato) (ALWADANI; FATEHI, 2018).

As reações foram realizadas durante 48 h, em duplicata, e ao longo das mesmas foram retiradas alíquotas e avaliadas as alterações nas fibras de sisal não reagidas, e os teores de açúcares obtidos. Após extraídas do meio reacional, as fibras de sisal não reagidas foram lavadas exaustivamente, sendo que parte delas foram suspensas em água para a análise de comprimento e espessura (MorFi, FIGURA 40, FIGURA 41), sendo o restante das fibras secas para a avaliação de IC (FIGURA 39) e da morfologia da superfície via MEV (FIGURA 42). O licor foi diluído (20x) e caracterizado por HPLC (FIGURA 43, TABELA 21).

1.4.2.1.1.1 Caracterização das fibras não reagidas retiradas do meio reacional

A primeira etapa da reação de hidrólise enzimática ocorre em meio heterogêneo. Nesta etapa, as fibras de sisal suspensas no meio reacional são atacadas pelas enzimas celulases diluídas no tampão citrato, sendo possível acompanhar as alterações nas propriedades físico-químicas das fibras não hidrolisadas.

Os valores de IC podem variar durante a realização de uma hidrólise enzimática, e a variação depende da natureza da biomassa de partida e/ou das condições de hidrólise enzimática (ZHANG; LYND, 2004), sendo que é possível encontrar relatos na literatura que mostraram o aumento do IC, e outros que mostram diminuição do mesmo durante as reações de conversão da celulose em glicose (KASCHUK et al., 2017; KASCHUK; FROLLINI, 2018). Mesmo em um substrato com características idênticas (como no presente estudo), o comportamento de mudança de IC pode variar dependendo das condições reacionais. Isto pode ser observado na FIGURA 39, em que a mesma fibra lignocelulósica apresentou comportamento bem distinto nas reações realizadas.

Em uma reação de hidrólise enzimática de celulose, o aumento do IC pode estar relacionado com a hidrólise de cadeias de celulose presentes nas regiões não cristalinas, e a diminuição do IC pode estar relacionado a hidrólise de cadeias presentes nos domínios cristalinos, assim como da penetração de moléculas nestes domínios, diminuindo a ordem que existia nos mesmos. No presente estudo, durante a hidrólise da fibra lignocelulósica de sisal, também ocorreu a hidrólise de hemiceluloses (indicada pela formação de xilose) e com isso pode ter ocorrido a liberação de lignina para o meio reacional, e como ambas se encontram na região não cristalina, este acontecimento pode impactar nos valores de IC.

No presente estudo, na ausência do ramnolipídeo durante a reação de hidrólise (SNM), até cerca de 8h, os valores de IC diminuíram, sendo que esta diminuição pode estar relacionada ao maior consumo e intumescimento da celulose nas regiões cristalinas da celulose. A partir de 15 h os valores de IC aumentaram sugerindo a hidrólise das hemiceluloses, confirmado pelos teores de xilose observados até 15 h de reação (FIGURA 43) e de cadeias de celulose presentes nas regiões não cristalinas. Uma combinação de intumescimento dos domínios cristalinos com o passar do tempo a hidrólise de cadeias presentes nestes domínios pode explicar a diminuição de IC a partir de 31 h de reação. No final, novamente foi observada a hidrólise nas regiões não cristalinas

Quanto a SNM-R60, ocorreu um favorecimento da hidrólise das cadeias de celulose e de hemiceluloses presentes nas regiões não cristalinas das fibras até 8 h, e com isto foi observado o aumento de IC (de 60 % para 63,7 % após 8 h). Em seguida, os valores de IC tenderam a diminuição, chegando a 57 % em 48 h, o que pode estar relacionado ao intumescimento das regiões cristalinas e a hidrólise de cadeias desta região.

Para a concentração SNM-R80 foi observado que o consumo das regiões não cristalinas foi compensado pelo intumescimento das regiões cristalinas até 8 h, pois neste período, os valores de IC foram próximos e praticamente não distinguíveis estatisticamente, considerando um erro de \pm 0,5 %. A seguir, observou-se um

pequeno aumento nos valores de IC, permanecendo aproximadamente constante até o final da reação. O conjunto de resultados mostrou que praticamente ocorreu uma compensação entre fatores que aumentam e que diminuem os valores de IC para a concentração de biosurfactante considerada.

Os valores observados para SNM-R108 indicaram que uma maior concentração do biosurfactante levou a um resultado consideravelmente diferente das reações previamente discutidas. Um pequeno aumento em IC foi observado após 2 h de reação (de 60 % para aproximadamente 64 %), o que pode ser resultante da hidrólise de hemiceluloses e de cadeias de celulose dos domínios não cristalinos. A partir de 2 h os valores de IC diminuíram até 23 h (em torno de 47 %), provavelmente devido ao favorecimento de intumescimento pela maior concentração do surfactante, aumentando a extensão de regiões não cristalinas, diminuindo IC, e favorecendo o acesso das enzimas e, portanto, a hidrólise das cadeias presentes nestas regiões, o que levou em seguida a um aumento de cerca de 63 % (48 h).

Conclusões referentes às mudanças de IC não são triviais, já que quando se trata de uma reação enzimática, há relatos de aumento e diminuição de seus valores (ZHANG; LYND, 2004; HALL et al., 2010; KASCHUK; FROLLINI, 2018). No entanto, os resultados mostrados na FIGURA 39 indicaram que a presença do biosurfactante, assim como as variações nas concentrações consideradas para o ramnolipídeo, levaram a diferentes padrões de variação de IC das fibras não reagidas em função do tempo de reação.

FIGURA 39 - Índice de Cristalinidade (IC) das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo. As concentrações de ramnolipídeo são 60 mg L⁻¹ (SNM-R60), 80 mg L⁻¹ (SNM-R80) e 108 mg L⁻¹ (SNM-R108). Erro considerado \pm 0,50.



Em relação ao comprimento médio das fibras (FIGURA 40), durante todas as reações (SNM, SNM-R60, SNM-R80 e SNM-R108), o intervalo de com maior quantidade de fibras foi [77-129] µm, que aumentou durante 4 h de reação devido à hidrólise a partir das extremidades das fibras contidas em [129-215] µm (pequeno ombro observado - seta azul) e das contidas no intervalo [359-599] µm. A ocorrência de fibras presentes no intervalo [359-599] µm diminuiu até 23h, e na sequência ocorreu um discreto aumento na quantidade de fibras contidas neste intervalo, devido à hidrólise a partir das extremidades das fibras de maiores comprimentos. Também foi observado que a partir de 23 h a população de fibras contidas em [599-1000] µm aumentou, indicando que a partir de 23h, as fibras que estavam fora do limite (>1000µm) de detecção do equipamento foram preferencialmente hidrolisadas. Os resultados indicaram que a presença do ramnolipídeo não interferiu na intensidade de hidrólise a partir das extremidades (comprimento) das fibras lignocelulósicas de sisal, pois as variações observadas foram similares na ausência e na presença do biosurfactante, assim como nas diversas concentrações consideradas.

FIGURA 40 - Comprimentos médios das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo. As concentrações de ramnolipídeo são 60 mg L^{-1} (SNM-R60), 80 mg L^{-1} (SNM-R80) e 108 mg L^{-1} (SNM-R108).



Da mesma maneira que em relação ao comprimento, para a espessura a presença do ramnolipídeo não alterou o padrão de hidrólise das fibras. Assim, para todas as reações, observou-se que a maioria das fibras estavam contidas no intervalo de espessura de [30-39] µm em todo o tempo de reação. Contudo, logo em 4 h de reação a ocorrência de fibras neste intervalo diminui, levando ao surgimento de um ombro em [14-18] µm, e ao aumento de fibras contidas em [6-8] µm. Estes dois últimos intervalos ([14-18] µm, e [6-8] µm) aumentaram até 23 h, e em seguida sofreram decréscimo. Ao final da reação (48 h), também foi observado que a quantidade de fibras em [30-39] µm aumentou, provavelmente devido ao consumo das fibras nos intervalos superiores, e principalmente fora do limite de detecção. Um aumento na espessura média das fibras pode ser consequência da hidrólise a partir da superfície de fibras ao longo da reação. A diminuição das espessuras das fibras indicou hidrólise a partir das superfícies das mesmas.

FIGURA 41 - Espessuras médio das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo. As concentrações de ramnolipídeo são 60 mg L^{-1} (SNM-R60), 80 mg L^{-1} (SNM-R80) e 108 mg L^{-1} (SNM-R108).



As imagens de MEV (FIGURA 42) são importantes para a avaliação das alterações causadas pelas celulases sobre a superfície das fibras não reagidas durante a reação.

FIGURA 42 - Imagens de MEV das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo. As concentrações de ramnolipídeo são 60 mg L⁻¹ (SNM-R60), 80 mg L⁻¹ (SNM-R80) e 108 mg L⁻¹ (SNM-R108).





Pode-se observar que após 4 h, para todas as reações, os fragmentos depositados sobre as fibras de partida foram eliminados, indicando hidrólise da fração de polissacarídeos e liberação dos produtos para o meio reacional. Da mesma forma que com a liberação destes produtos ocorreu a liberação da lignina que estava presente na estrutura das fibras.

Para as reações contendo o surfactante ramnolipídeo (SNM-R60, SNM-R80, SNM-R108), observou-se que com o aumento do tempo de reação ocorreu a separação dos feixes de fibras mais intensivamente, comparativamente a SNM, e que o aumento da quantidade de surfactante intensificou esta separação nos feixes. Uma possível explicação para esta separação de feixes é que a interação entre os grupos hidrofóbicos do surfactante e das fibras leve a certa infiltração do surfactante nas

fibras, aumentando assim a distância entre os feixes. Estes aspectos normalmente auxiliam o ataque das enzimas celulases às fibras lignocelulósicas.

1.4.1.1.1.2 Análise dos licores isolados durante a reação de hidrólise enzimática

Durante a realização das reações de hidrólise enzimática da fibra de sisal, na ausência do ramnolipídeo (SNM), e na presença do ramnolipídeo nas concentrações de 60 mg L⁻¹(SNM-R60), 0,80 mg L⁻¹(SNM-R80) e 108 mg L⁻¹(SNM-R108), foram retiradas alíquotas e estas caracterizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Os teores de açúcares obtidos são apresentados na FIGURA 43.

Destaca-se que apenas glicose e xilose foram detectadas, sendo que nas condições de análise foram também consideradas celobiose, arabinose, e ácido acético, que não foram detectados.

FIGURA 43 - Teores de (a) glicose e (b) xilose das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo. As concentrações de ramnolipídeo são 60 mg L⁻¹ (SNM-R60), 80 mg L⁻¹ (SNM-R80) e 108 mg L⁻¹ (SNM-R108).



O aumento na produção de glicose, para todas as reações, ocorreu principalmente nas primeiras 15 h de reação (FIGURA 43-a). O mesmo comportamento foi observado durante o estudo da hidrólise enzimática da polpa celulósica de sisal obtida industrialmente (KASCHUK et al., 2017; KASCHUK; FROLLINI, 2018), com baixos teores de hemiceluloses (não mercerizada: 15% ± 2 e

mercerizada: $2,6\% \pm 0,2$) e de lignina insolúvel (não mercerizada: $1,2\% \pm 0,2$ e mercerizada: $0,3\% \pm 0,1$). Isto pode estar ligado a fatores associados às enzimas, como a desnaturação ou desativação das mesmas, à inibição do produto, redução do sinergismo ou a superlotação de enzimas na superfície da celulose. Ainda, o comportamento pode ser decorrente de fatores associados aos substratos, como a diminuição da reatividade e acessibilidade do mesmo, às mudanças no grau de polimerização, cristalinidade e outras propriedades físicas dos substratos que levam a interações não produtivas (LEVINE et al., 2010; YE; BERSON, 2011; MONSCHEIN; REISINGER; NIDETZKY, 2013; STAUNER et al., 2013).

Quando comparadas as hidrólises da polpa celulósica de sisal [não mercerizada: 9,4 g L⁻¹ ± 0,1, e mercerizada:19 g L⁻¹ ± 0,1 (KASCHUK, 2014; KASCHUK et al., 2017)] e da fibra lignocelulósica de sisal (SNM), observou-se que teores de glicose foram inferiores (5,9 g L⁻¹ ± 0,3) para esta última. Este resultado, já esperado, decorre da presença superior de hemiceluloses na fibra, e a presença de lignina, que na polpa é praticamente ausente, os quais podem inibir a interação enzimas com celulose (KASCHUK, 2014; KASCHUK et al., 2017).

Uma das grandes vantagens da utilização da catálise enzimática, comparativamente à catálise ácida, para a conversão da celulose em glicose, é a alta especificidade das enzimas (celulases), presentes no complexo enzimático, que permite a formação de glicose, celobiose e celo-oligosacarídeos, sem que ocorra a formação de produtos de decomposição (YOON et al., 2014). Contudo, deve ser ressaltado que concentrações entre 1-14 mmol de glicose podem inibir a ação das *B-glicosidases*, o que leva ao aumento da concentração de celobiose no meio, que é um inibidor potente das exoglucanases, o que corresponde a uma limitação da hidrólise enzimática da celulose (CANILHA et al., 2010).

Como mencionado, a produção de glicose ocorre pela a ação simultânea da *endoglucanase, exoglucanases e B-glicosidase*. A primeira etapa da reação no sistema é heterogênea, no qual as celulases em solução reagem com a celulose insolúvel, que contém regiões altamente organizadas (regiões cristalinas) e outras com grau de organização intermediário (regiões não cristalinas), diminuindo assim, o comprimento e espessura das fibras celulósicas (KASCHUK et al., 2017; KASCHUK; FROLLINI, 2018), em maior ou menor extensão, dependendo das condições de reação. A partir dos resultados de MorFi obtidos para as fibras não reagidas (FIGURA 40, FIGURA 41), foi possível observar a ação das endoglucanases nas fibras de sisal não reagidas durante a reação, pois as mesmas sofreram alterações em seus valores de comprimento e espessura médios em diferentes extensões, e tendendo a diminuição de seus valores.

Entre os fatores que podem interferir na ação destas enzimas na superfície das fibras, destaca-se a presença de hemiceluloses e lignina, pois as mesmas encontram-se ligada à superfície das fibrilas de celulose, impedindo a interação celulose-celulases, e diminuindo assim, a conversão da celulose em glicose.

Os teores obtidos via HPLC para SNM, SNM-R60, SNM-R80 e SNM-R108 mostraram valores muito próximos até 15h, não distinguíveis estatisticamente. A partir de 15 h, SNM-R80 e SNM-R108 apresentam teores praticamente iguais entre si, e superiores a SNM e SNM-R60 (FIGURA 43-b).

Como mencionado, os surfactantes podem aumentar a conversão de celulose em glicose, pois os mesmos podem prevenir a adsorção das celulases na fração de lignina presente no material lignocelulósico (SAINI et al., 2016). Contudo, no presente estudo, observou-se que o uso do ramnolipídeo não aumentou significativamente o teor de glicose, porém, com o aumento na concentração de surfactante de 60 mg L⁻¹para 80 mg L⁻¹ houve um impacto positivo na produção de glicose após 15 h, o que sugere que a ação do biosurfactante foi favorecida pelo maior afastamento dos feixes de fibras ocorrido após 15 h (FIGURA 42). O mesmo não foi observado quando se aumentou de 80 mg L⁻¹ para 108 mg L⁻¹ (FIGURA 43-b). Concentrações superiores a 80 mg L⁻¹ de ramnolipídeo podem ter levado a interações desfavoráveis com as enzimas celulases, ou com cadeias de celulose, não favorecendo hidrólise em maior extensão.

Em relação à xilose, observou-se que a utilização do surfactante não alterou de forma significativa a produção da mesma (FIGURA 43-c). Estes resultados indicam que apenas a ação das celulases foi facilitada com o uso do ramnolipídeo, em determinadas condições, e o mesmo não apresentou influência sobre as xilanases.

As hemiceluloses de sisal apresentam cerca de 2,2 % de glicose (MEGIATTO JR et al., 2007), e a fibra de sisal utilizada no presente estudo apresentou de 31,3 % de hemiceluloses em massa (TABELA 24). Considerando que 100g de sisal tem 31,3 g de

hemiceluloses, e que cada 100 g de hemiceluloses de sisal pode gerar 2,2 g de glicose, tem-se que:

massa de glicose proveniente da hemicelulose/100g fibra = $\frac{31.3 \text{ g x } 2.2 \text{ g}}{100 \text{ g}} = 0,6886 \text{ g}$ (12)

Ou seja, 100 g de fibra de sisal pode gerar 0,6886 g de glicose a partir da hemicelulose, e consequentemente:

massa de glicose proveniente de 1g de sisal = $\frac{1 g \times 0.6886 g}{100 g}$ = 0,006886 g (13)

Portanto a concentração de glicose máxima que pode ser obtida a partir de hemiceluloses da fibra de sisal usada no presente estudo, durante a hidrólise enzimática, é:

 $[glicose a partir da hemiceluloses] = \frac{0,006886g}{0,05L} \approx 0, 14g. L^{-1}$ (14)

Desta forma, a hidrólise do total de hemiceluloses presentes na fibra de sisal, nas condições do presente estudo, poderia gerar 0,14 g L⁻¹ de glicose.

Para calcular a quantidade máxima de glicose que pode ser obtida a partir da celulose presente na fibra de sisal foram utilizadas as equações 15 e 16.

$$[glicose]máx = \frac{Mi. \% cel.q}{V}$$
(15)

Sendo:

$$q = \frac{MMglicose}{MManidroglicose} = \frac{180 \ g/mol}{162 \ g/mol} = 1.1$$
(16)

"q" é um fator de conversão necessário para calcular o quanto de glicose seria formada a partir da celulose inicial, já que na celulose, glicose está na forma anidra, ou seja, difere, em massa, por uma molécula de água; **Mi** = Massa inicial de fibra de sisal (para todos os casos Mi = 1g), **V** = volume da solução (para todos os casos V = 0.05 L) e %cel. = porcentagem de celulose na fibra lignocelulósica de sisal.

O cálculo fornece a concentração de 13,31 g L⁻¹ de glicose se toda a celulose presente na fibra de sisal fosse hidrolisada, porém, considerando a glicose presente na hemicelulose da fibra, esta concentração aumenta para 13,45 g L⁻¹. Assim, se toda a celulose e hemiceluloses presentes na fibra fossem hidrolisadas, seria obtida uma concentração de 13,45 g L⁻¹, o que não leva a alteração significativa frente a concentração de glicose gerada pela hidrólise de cadeias de celulose.

Fazendo a relação da concentração de glicose detectada com a glicose máxima calculada, pode-se obter o rendimento de reação a partir da porcentagem de celulose hidrolisada. Devido ao fato que o maior aumento na produção de glicose ocorreu nas primeiras 15h, os cálculos foram realizados para os tempos de 15 h e 48 h (final da reação), usando a. equação 17.

Rendimento de reação (%) =
$$\frac{[glicose]detectada}{[glicose]máxima} X \, 100$$
 (17)

sendo [glicose]máxima 13,45 g L⁻¹

Em estudos anteriores foi observado que cerca de 68 % dos açúcares presentes nas hemiceluloses das fibras de sisal foi referente a xilose (MEGIATTO JR et al., 2007). Foi então possível determinar o rendimento de conversão de xilanas durante a hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas de sisal a partir das equações 18-21.

$$[xilose]_{maxima/licor} = \frac{Massa_{fibra} \times HS}{volume \ solução} \times w \times 0, 68$$
(18)

HS: teor de hemicelulose presente na fibra lignocelulósica de sisal; "w", fator de conversão de anidroxilose (xilose nas polioses) para xilose no licor, que diferem em massa por uma molécula de água.

$$\mathbf{w} = \frac{\mathrm{MM}_{\mathrm{xilose no licor}}}{\mathrm{MM}_{\mathrm{xilose em polioses}}} = \frac{150 \mathrm{g.mol}^{-1}}{132 \mathrm{g.mol}^{-1}} = 1,14$$
(19)

Assim, a concentração máxima de xilose que poderia ser encontrada considerando que 1g de fibra de sisal, é de 4,85 g L⁻¹:

$$[xilose]_{maxima/licor} \le \frac{(1 \times 0,313)g}{0,05L} \times 1, 14 \times 0, 68 = 4,85g.L^{-1}$$
(20)

Da mesma forma que para a glicose, a partir da concentração de glicose detectada com a glicose máxima calculada, pode-se obter o rendimento de xilose produzida. Devido ao fato que o maior aumento na produção de glicose ocorreu nas primeiras 15h, os cálculos foram realizados para os tempos de 15 h e 48 h (final da reação), usando a. equação 21.

Rendimento de xilose (%) =
$$\frac{[xilose]detectada}{[xilose]máxima} X \, 100$$
 (21)

sendo [glicose]máxima 4,85 g L-1

Os resultados de rendimento de conversão da celulose e hemiceluloses hidrolisadas estão descritos na TABELA 21.

TABELA 21 - Valores de glicose e xilose detectadas, e rendimentos para reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo. As concentrações de ramnolipídeo são 60 mg L⁻¹ (SNM-R60), 80 mg L⁻¹ (SNM-R80) e 108 mg L⁻¹ (SNM-R108) [glicose] máxima: 13,45 g L⁻¹, [xilose]máxima: 4,85 g L⁻¹

		SNM	SNM-R60	SNM-R80	SNM-R108
	Glicose detectada (g L ⁻ 1)	5,1 ± 0,6*	5,01 ± 0,04*	5,4 ± 0,3*	5,03 ± 0,03*
15h	Rendimento de glicose (%)	38 ± 4*	37,3 ± 0,3*	40,0 ± 2,5*	37,4 ± 0,2*
	Xilose detectada (g L ⁻¹)	1,5 ± 0,3*	1,40 ± 0,03*	1,6 ± 0,2*	1,40 ± 0,04*
	Rendimento de xilose (%)	31 ± 5*	29,9 ± 0,7*	33 ± 3*	29,4 ± 0,9*
48h	Glicose detectada (g L ⁻ ¹)	5,9 ± 0,3*	6,3 ± 0,2*	6,9 ± 0,4*	6,9 ± 0,2*
	Rendimento de glicose (%)	44 ± 5*	47 ± 2*	51 ± 3*	50 ± 1*
	Xilose detectada (g L ⁻¹)	1,70 ± 0,01*	1,90 ± 0,04*	2,0 ± 0,1*	2,00 ± 0,07*
	Rendimento de xilose (%)	35,0 ± 0,5	40,6 ± 0,9	41 ± 2	40 ± 2

*Refere-se aos erros das duas reações realizadas

Quando comparados os resultados obtidos na TABELA 21 com os resultados obtidos para a polpa celulósica de sisal (89 % de celulose hidrolisada) nas mesmas condições do presente estudo (KASCHUK, 2014; KASCHUK et al., 2017), foi possível observar que o rendimento de glicose foi muito inferior. Os valores baixos de rendimento de glicose para o presente estudo foram devido à presença de lignina e de grande teor de hemiceluloses na estrutura da fibra de sisal que foi ausente na polpa celulósica utilizada anteriormente. A forte associação dos componentes presentes na fibra lignocelulósica (lignina, hemiceluloses e celulose) fez com que a enzimas celulases apresentassem certa dificuldade de aproximação das cadeias de celulose. Quando ocorre a quebra desta interação, devido a eliminação de lignina e/ou hemiceluloses, pode ocorrer o aumento do rendimento da reação de hidrólise enzimática (JÖNSSON; MARTÍN, 2016).

Embora estatisticamente os valores de rendimento não foram distinguíveis, observou-se uma tendência de favorecimento para SNM-R80, indicando que a concentração de ramnolipídeo igual a 80 mg L⁻¹ pode ser considerada como a mais

adequada para uma reação de hidrólise enzimática da fibra lignocelulósica de sisal. Como mencionado, para esta concentração o conjunto de resultados obtidos para IC mostrou que ocorreu uma compensação entre fatores que aumentam (hidrólise de cadeias de domínios não cristalinos) e que diminuem (intumescimento e hidrólise de cadeias dos domínios cristalinos) os valores de IC, o que parece ter favorecido a hidrólise.

Já em relação ao rendimento de produção de xilose (TABELA 21), quando o ramnolipídeo não foi utilizado na reação (SNM) quase a totalidade de possível xilose foi produzida já nas primeiras 15 h de reação. Já quando o ramnolipídeo foi utilizado (SNM-R60, SNM-R80 e SNM-R108) o rendimento aumentou aproximadamente 10 % entre 15 h e 48 h. Contudo, os resultados finais de rendimento de xilose para todas as reações contendo ramnolipídeo foram superiores a SNM, indistinguíveis estatisticamente entre si.

A influência de ramnolipídeo (0,5 g L⁻¹) sobre as atividades das celulases e a conversão de diferentes materiais celulósicos com diferentes teores de lignina (palha de arroz, palha de arroz deslignificada e celulose microcristalina) foi reportado por ZHANG et al., (2009). Os autores observaram que a utilização de ramnolipídeo auxiliou no aumento da atividade da B-glicosidase, que é o que determina a efetivação da reação de hidrólise enzimática da celulose. Foi observado também que a utilização de ramnolipídeo aumentou em torno de 22 % a produção de açúcares redutores a partir da palha de arroz. Já para a palha de arroz deslignificada e para a celulose microcristalina, o efeito do ramnolipídeo foi praticamente inexistente, demonstrando que a presença da lignina em reações utilizando surfactantes desempenhou um papel fundamental no que tange estimulação das enzimas celulases.

Os resultados referentes ao uso do ramnolipídeo nas reações de hidrólise enzimática com a fibra de sisal não mostraram aumento significativo na conversão da celulose em glicose. Assim, optou-se por testar também o lignosulfonato de sódio como biosurfactante nas reações de hidrólise enzimática.

1.4.2.1.2 Influência do surfactante lignosulfonato (LS)

As concentrações de lignosulfonato de sódio utilizadas foram 5,0 g L⁻¹ e 7,5 g L⁻¹ em tampão citrato. A escolha da concentração inicial (5,0 g L⁻¹) foi baseada em estudo relatado na literatura referente à hidrólise de xilanas e celulose utilizando o lignosulfonato de sódio como surfactante (LOU et al., 2014, 2016).Para efeito de investigação, usou-se também uma concentração mais alta (7,5 g L⁻¹).

A adição de lignosulfonato levou a diminuição da tensão superficial da solução de tampão citrato, de 71,6 dyn cm⁻¹ \pm 0,1 para 53 dyn cm⁻¹ \pm 1 (5 g L⁻¹) e 51 dyn cm⁻¹ \pm 1 (7,5 g L⁻¹), TABELA 22. Como observado, as tensões superficiais obtidas quando usado o lignosulfonato como surfactante foram superiores às obtidas quando usado concentração inferior de ramnolipídeo (TABELA 20, por ex. para 60 mg L⁻¹, a tensão superficial foi de 27,1 dyn cm⁻¹ \pm 0,4).

TABELA 22 - Tensões superficiais dos meios reacionais utilizados durante as reações hidrólises enzimáticas: TC: Tampão Citrato, TC-LS5: adição de 5 g L^{-1} de lignosulfonato e TC-LS7,5: adição de 7,5 g L^{-1} de lignosulfonato

Meio reacional	Tensão superficial (dyn cm ⁻¹)		
Tampão Citrato (TC)	71,6 ± 0,1		
TC-LS5	53 ± 1		
TC-LS7,5	51 ± 1		

As reações foram realizadas durante 48 h em duplicata, e ao longo das mesmas foram retiradas alíquotas e avaliadas as alterações nas fibras de sisal não reagidas, e os teores de açúcares obtidos. Após extraídas do meio reacional, as fibras de sisal não reagidas foram lavadas exaustivamente, sendo que parte delas foram suspensas em água para a análise de comprimento e espessura (MorFi, FIGURA 45), sendo o restante foram secas para a avaliação de IC (FIGURA 44) e da superfície via MEV (FIGURA 46). O licor foi diluído e caracterizado por HPLC (FIGURA 48, TABELA 21).

1.4.2.1.2.1 Caracterização das fibras não reagidas retiradas do meio de reação

Como já mencionado, no presente estudo ocorreu a hidrólise de uma fibra lignocelulósica composta por lignina, hemiceluloses e celulose, e com isto, as alterações nos valores de IC estão relacionados à degradação destes componentes. Até 8 h, em SNM, os valores de IC diminuíram devido ao possível intumescimento e hidrólise das cadeias de celulose presentes nas regiões cristalinas da fibra, sendo que a partir de 15 h, o aumento de IC observado pode estar relacionado à hidrólise das cadeias de hemiceluloses e cadeias de celulose na região não cristalina. Nesta etapa, a degradação da hemicelulose, também resultou na eliminação de lignina que auxiliou o aumento de IC. A seguir (31 h), o IC diminuiu, possivelmente devido ao intumescimento dos domínios cristalinos, com afastamento das cadeias, de modo que nas etapas a seguir, novamente foi evidenciado, pelo pequeno aumento de IC observado, a hidrólise das regiões não cristalinas geradas pelo intumescimento

A presença do lignosulfonato de sódio na reação durante a hidrólise, não favoreceu o aumento dos valores de IC de maneira que, salva exceções, a grande maioria dos valores de IC foram inferiores aos seus valores antecedentes. Para SNM-LS5, logo nas primeiras 2 h de reação, os valores de IC diminuíram de 60 % para 57,6 %, isto significa que as regiões cristalinas foram consumidas ou tiveram o intumescimento favorecido. A seguir, até 15 h de reação, os valores de IC mantiveram-se praticamente constante, de modo que em 23 h foi observado um pequeno aumento do valor de IC (59,6 %) indicando o consumo das hemiceluloses e da celulose que estão presentes nas regiões não cristalinas. Contudo, este aumento não foi significativo quando comparado a SNM, e logo os valores de IC voltaram a diminuir, praticamente igualando aos valores observados entre 2 h e 15 h de reação.

Para SNM-LS7,5, foi observado que não houve em nenhum momento aumento significativo dos valores de IC, ou seja, logo em 2 h de reação os valores diminuíram de 60 % para 55,9 %, e a seguir os valores praticamente mantiveram-se constantes até o final da reação.

Em linhas gerais, não foi possível determinar a real influência do lignosulfonato de sódio como surfactante em relação aos valores de IC das fibras não reagidas nas reações de hidrólise enzimática das fibras de sisal. A não variação dos valores de IC, também foi observado no estudo desenvolvido por Zhou e colaboradores (2015), em que a celulose microcristalina foi hidrolisada usando diferentes surfactantes (Tween 20, Tween 80, Triton X-100, Triton X-114 e PEG 4000) (ZHOU et al., 2015).

FIGURA 44 - Índice de Cristalinidade (IC) das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de LS. Concentrações de LS: 5,0 g L⁻¹ (SNM-LS-5) e 7,5 g L⁻¹ (SNM-LS7,5). Erro considerado \pm 0,5.



A FIGURA 45 apresenta os gráficos referentes à ocorrência de diferentes comprimentos e espessuras das fibras não reagidas retiradas do meio de reação para SNM, SNM-LS5 e SNM-LS7,5.

Como discutido anteriormente, a grande maioria das fibras de SNM estavam contidas no intervalo de comprimento [77-129] µm, o qual sofreu aumento logo nas primeiras 4 h de reação devido a hidrólise nas extremidades das fibras de comprimentos maiores ([129-215] µm e [359-599] µm). Para as fibras contidas entre [359-599] µm observou-se diminuição em sua quantidade até 23 h, seguida de um leve aumento tanto neste intervalo quanto em [599-1000] µm. Isto pode ser um indicativo de que a partir de 23 h as fibras com comprimento superiores a 1000 µm (fora do limite de detecção) foram preferencialmente hidrolisadas a partir de suas extremidades.

Em SNM-LS5 e SNM-LS7,5 a maior quantidade de fibras estavam contidas em [77-129] µm. Contudo, para SNM-LS5, a população de fibras neste intervalo só aumentou a partir de 15 h de reação, e começou a diminuir a partir deste tempo até o final da reação. Já para SNM-LS7,5 este pico diminui ao longo de toda a reação. A quantidade de fibras contidas em [359-599] µm diminui ao longo das 48 h para SNM-LS7,5, sem alterações significativas para [599-1000] µm. Já para SNM-LS5, a partir

de 15 h a quantidade de fibras em [359-599] μ m aumentou devido a hidrólise das fibras contidas em [599-1000] μ m.

De modo geral, no presente estudo foi observado que SNM-LS5 teve mais alterações em relação a comprimento quando comparadas a SNM e SNM-LS7,5. Este resultado pode estar relacionado ao favorecimento da hidrólise em suas extremidades das fibras de sisal durante a reação SNM-LS5, quando comparadas às outras reações.

FIGURA 45 - Comprimento e espessura médios das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de lignosulfonato. As concentrações de lignosulfonato são 5 g L⁻¹ (SNM-LS-5) e 7,5 g L⁻¹ (SNM-LS7,5).



Quando se tratou das variações de espessuras, em todas as reações (FIGURA 45), a maior parte da população de fibras estava contida entre [30-39] μ m. A hidrólise ao longo da superfície destas fibras ([30-39] μ m) em todas as reações levou a formação de um "ombro" no intervalo de [14-18] μ m logo em 4 h de reação. A partir de 4 h e até 23 h, para todas as reações, exceto para SNM-LS7,5, as fibras contidas nos intervalos [30-39] μ m e [>50] μ m foram hidrolisadas em suas superfícies,

causando o aumento da quantidade de fibras em [14-18] µm. Da mesma maneira, que entre 4 h e 23 h, a superfície das fibras contidas em [14-18] µm foram hidrolisadas e a população de fibras em [6-8] µm aumentou. Por fim, a partir de 23 h, para SNM as fibras com espessuras menores que 18 µm e maiores 39 µm foram hidrolisadas, levando ao aumento de [30-39] µm. Já para SNM-LS5 e SNM-LS7,5 fibras mais espessas que 50 µm foram preferencialmente hidrolisadas, levando ao aumento dos intervalos [30-39] µm e [>50] µm.

Assim, no geral, foi observado que ao contrário do uso do ramnolipídeo, a presença do lignosulfonato auxiliou nas alterações dos comprimentos e espessura médios das fibras lignocelulósica de sisal ao longo da reação. A presença do lignosulfonato favoreceu as alterações referentes ao comprimento e espessura. A variação de comprimento foi favorecida para a concentração de 5 g L⁻¹ (SNM-LS5), e as fibras de maiores espessuras (>50µm) foram preferencialmente atacadas para ambas as concentrações de lignosulfonato (5 g L⁻¹e 7,5g L⁻¹ - SNM-LS7,5). Acreditase que o favorecimento causado pelo lignosulfonato é devido à afinidade e semelhança do mesmo com os componentes das fibras, principalmente lignina, que o torna mais efetivo perante ao ramnolipídeo que apresenta estrutura e interações diferentes.

A FIGURA 46 mostra as micrografias obtidas para as fibras não reagidas retiradas do meio reacional.

FIGURA 46 - Imagens de MEV das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de lignosulfonato. As concentrações de lignosulfonato são 5 g L^{-1} (SNM-LS-5) e 7,5 g L^{-1} (SNM-LS7,5).



Para a reação SNM até 4 h a alteração mais significativa foi a eliminação dos fragmentos que inicialmente estavam depositados na superfície das fibras lignocelulósicas de sisal. Até 23 h foram observadas poucas alterações nas superfícies das fibras não reagidas, sendo que a partir de 23 h, observou-se maior separação nos feixes das fibras. Com a adição do lignosulfonato como surfactante foi observado que as fibras apresentaram maior separação dos feixes de fibra já após 4 h de reação, seguido de fragmentação das fibras. O aumento na concentração de lignosulfonato de 5,0 g L⁻¹para 7,5 g L⁻¹ não levou a uma significativa diferença entre o comportamento das fibras ao longo das reações (FIGURA 46). Estes resultados sugerem uma maior ação das enzimas na presença de LS, o que levou a maior separação das fibras.

1.4.1.1.2.2 Análise dos licores isolados durante a reação de hidrólise enzimática

Como nas reações de hidrólise enzimática utilizando o ramnolipídeo como surfactante, os licores extraídos do meio de reação usando o lignosulfonato foram diluídos e analisados via HPLC, sendo apenas glicose e xilose foram detectadas. A FIGURA 47 apresenta os teores de glicose e a FIGURA 48 apresenta os teores de xilose obtidos ao longo das 48 h de reação.

No presente estudo, até 15 h a maior parte de glicose foi produzida nas reações SNM e SNM-LS5, como observado nas reações previamente discutidas. Já para SNM-LS7,5 a maior produção ocorreu nas primeiras 10 h.

Neste estudo, os resultados indicaram que a ação do lignosulfonato dependeu da concentração do surfactante usado. Foi observado que a produção de glicose para SNM-LS5 foi superior a de SNM, principalmente nas primeiras 6 h de reação. Contudo, quando a concentração de lignosulfonato foi aumentada (SNM-LS7,5) a produção de glicose foi inferior que para SNM (FIGURA 47).

FIGURA 47 - Teores de glicose das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de Lignosulfonato. As concentrações de LS são 5 g L^{-1} (SNM-LS-5) e 7,5 g L^{-1} (SNM-LS7,5). Ênfase nas primeiras 10 h de reação.



Lou e colaboradores (2013) desenvolveram um estudo de hidrólise enzimática utilizando a concentração de 5 g L⁻¹ de lignosulfonato, variando o tipo de lignosulfonato usado de acordo com o teor de enxofre e a massa molar ponderal média (Mw). Um dos lignosulfonatos apresentava Mw=>50000 e teor de enxofre de 5,3 %, o qual foi usado para comparação, por se tratar do lignosulfonato que mais se aproxima do utilizado no presente estudo (Mw=~52000 e teor de enxofre 3,7 %). Ao contrário do observado no presente estudo quando 5 g L⁻¹ de lignosulfonato foi usado, para a hidrólise da celulose (papel de filtro Whatman 01) e de uma mistura de 7:3 de celulose (papel de filtro Whatman 01) e lignina (de origem enzimática), o surfactante levou a uma diminuição na produção de glicose (LOU et al., 2013).

A diferença entre o presente estudo e o descrito na literatura (LOU et al., 2013) está relacionada diretamente à interação entre o lignosulfonato e a lignina presente em ambas as reações. Os resultados indicaram que ao utilizar a concentração de 5,0 g L⁻¹ de lignosulfonato, a hidrólise enzimática da fibra lignocelulósica de sisal, em que a lignina está na sua forma nativa (protolignina), localizada na matriz contendo hemiceluloses e celulose, a ação como surfactante foi mais eficiente de quando havia apenas celulose ou uma mistura de celulose e lignina (não na forma nativa, mas extraída de uma fonte previamente), como ocorreu no estudo de Lou et al. (2013).

Quando a concentração de lignosulfonato foi aumentada no meio reacional (SNM-LS7,5), a quantidade de unidades de fenilpropanóides (hidrofóbicos) e grupos de ácido sulfônico/sulfonatos (hidrofílicos), também aumentou. As regiões hidrofóbicas podem ter interagido com os domínios hidrofóbicos da celulose, onde preferencialmente os módulos de ligação a carboidratos da celulase se ligaram para a realização da hidrólise da celulose (LOU et al., 2013; ZHOU et al., 2013). Assim, no presente estudo, durante a hidrólise de SNM-LS7,5, pode ter ocorrido a adsorção competitiva entre a celulase e o lignosulfonato nas regiões hidrofóbicas da celulose presente na fibra lignocelulósica de sisal, o que levou a diminuição da produção de glicose (FIGURA 47).

A maior produção de xilose ocorreu nas primeiras 10 h, sendo que é possível observar uma diferença significativa entre as reações (FIGURA 48). A hidrólise das xilanas presentes na hemiceluloses das fibras lignocelulósicas de sisal, na presença de lignosulfonato, foi favorecida para SNM-LS5, ao contrário de SNM-LS7,5, sendo a produção de SNM-LS5>SNM>SNM-LS7,5 (FIGURA 48). FIGURA 48 - Teores de xilose das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas (SNM) retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de Lignosulfonato. As concentrações de LS são 5 g L^{-1} (SNM-LS-5) e 7,5 g L^{-1} (SNM-LS7,5). Ênfase nas primeiras 10 h de reação.



Este comportamento foi o oposto ao observado no estudo de Lou e colaboradores (2016), em que uma amostra de xilanas com alto teor de pureza (>90 %, Aladdin Industrial Corporation) foi hidrolisada na presença de lignosulfonato em várias concentrações, e o aumento da concentração do lignosulfonato no meio reacional levou ao aumento na produção de xilose (LOU et al., 2016). Quando comparado a concentração de 5,0 g L⁻¹ em ambos os estudos é possível constatar a concordância de comportamentos, ou seja quando hidrolisada a xilana usando a concentração de 5 g L-1 (SNM-LS5) ocorreu maior produção de xilose comparado a reação sem o uso de lignosulfonato (SNM). O mesmo comportamento foi observado por Lou e colaboradores (2016) guando a xilana está misturada com celulose (Avicel PH101) e lignina (enzimática - HenanTianguanGroupCorp., Ltd, China) no meio de reação (LOU et al., 2016). Novamente destaca-se que no presente estudo as xilanas faziam parte da estrutura de hemiceluloses presentes na matriz celulose/hemiceluloses/lignina, e não a uma amostra isolada, ou misturada com celulose, como no estudo relatado na literatura (LOU et al., 2016).

Os resultados obtidos mostraram que a ação do lignossulfonato impactou também a ação das xilanases, ao contrário do observado para o ramnolipídeo.

Os rendimentos de glicose e xilose estão descritos na TABELA 23. Os tempos para a determinação do rendimento escolhidos foram 6h, 15 h e 48h.

TABELA 23-Valores de glicose e xilose detectadas e rendimentos para as reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósica de sisal não mercerizadas com a utilização ou não do lignosulfonato como surfactante (LS). As concentrações de LS foram5 g L⁻¹(SNM-LS5) e7,5 g L⁻¹ SNM-LS7,5. [glicose]máxima: 13,45 g L⁻¹, [xilose]máxima: 4,85 g L⁻¹

		SNM	SNM-LS5	SNM-LS7,5
6h	Glicose detectada (g L ⁻¹)	4,040 ± 0,001*	5,30 ± 0,01*	2,70 ± 0,01*
	% rendimento de glicose	30,0 ± 0,3	39,4 ± 0,1	20,0 ± 0,1
	Xilose detectada (g L ⁻¹)	1,09 ± 0,20*	1,20 ± 0,01*	0,72 ± 0,01*
	Rendimento de xilose (%)	22 ± 5	25,8 ± 0,1	15 ± 1
15h	Glicose detectada (g L ⁻¹)	5,10 ± 0,6*	6,8 ± 0,003*	3,2 ± 0,02*
	% rendimento de glicose	38 ± 4	50,60 ± 0,02	24,1 ± 0,2
	Xilose detectada (g L ⁻¹)	1,5 ± 0,3*	1,60 ± 0,01*	0,92 ± 0,01*
	Rendimento de xilose (%)	31 ± 6	33,6 ± 0,3	18,9 ± 0,1
48h	Glicose detectada (g L ⁻¹)	5,9 ± 0,3*	8,3 ± 0,005*	4,20 ± 0,04*
	% rendimento de glicose	44 ± 5	62,00 ± 0,04	31,1 ± 0,3
	Xilose detectada (g L ⁻¹)	1,7 ± 0,01*	2,30 ± 0,01*	1,40 ± 0,01*
	% rendimento de xilose	35,0 ± 0,5	47,0 ± 0,1	28,3 ± 0,4

*Refere-se aos erros das duas reações realizadas

Como observado na TABELA 23, a produção de glicose em SNM-LS5 foi superior a SNM, e consequentemente seu rendimento de glicose foi superior (TABELA 23). O rendimento de glicose de SNM-LS5 foi 9,4%, 9,0% e 13,4% maior em 6 h, 15 h e 48 h respectivamente. Isto foi um indicativo que a adição de lignosulfonato na concentração de 5 g L⁻¹(SNM-LS5) auxiliou a hidrólise da fibra lignocelulósica de sisal (SNM) principalmente em longos períodos de reação (48 h). Já para SNM-LS7,5, o rendimento de glicose foi significativamente menor, de modo que a produção diminuiu em 10,0 % para 6 h, 17,8 % para 15 h e 17,8 % para 48 h.

Quando o material a ser hidrolisado não contém lignina, como observado no estudo desenvolvido por Lou e colaboradores (2014), em que utilizaram o lignosulfonato (Mw 22000 e teor de enxofre de $1,87\% \pm 0,014$, propriedades próximas ao usado neste estudo) durante a hidrólise do papel filtro (Whatman), foi observado uma diminuição no rendimento de hidrólise em 8% quando o lignosulfonato foi usado (LOU et al., 2014).

Já em estudo de hidrólise de diferentes fontes de lignocelulósicos na presença de lignosulfonato (Mw 21000 e 5,33% de enxofre), Zhou e colaboradores (2013), observaram que quando o teor de lignina no material foi de 1,5% (Pinus cortada tratada, NaOH e Na₂S) o rendimento aumentou em 10%. Já quando o teor de lignina foi de 26,3% (Madeira de pinho tratada, H₂SO₄ e NaHSO₃) e 27,2% (Madeira de pinho tratada, H₂SO₄ e NaHSO₃) e 27,2% (Madeira de pinho tratada, H₂SO₄ e NaHSO₃), os rendimentos aumentaram em 8% e 4% respectivamente. Já com um teor de 34,4% de lignina (Pinus cortada tratada H₂SO₄ e NaHSO₃) não foi observado aumento significativo (ZHOU et al., 2013).

Comparando com os resultados obtidos usando o ramnolipídeo como surfactante (TABELA 20), foi possível observar, que apesar de o lignosulfonato apresentar baixa alteração na tensão superficial (TABELA 22), quando foi usada a concentração de 5,0 g L⁻¹, o lignosulfonato agiu como um auxiliador na conversão da celulose presente nas fibras de sisal em glicose. O melhor resultado obtido para o ramnolipídeo foi utilizando a concentração de 80mg L⁻¹, em que a conversão foi de 51,4 %, ou seja 7,2 % superior a SNM (44,2 %) e 3,9 % menor que SNM-LS5, presente em uma concentração bem inferior à do ramnolipídeo.

O lignosulfonato de sódio, por ser um derivado de lignina, que é um dos componentes da fibra de sisal, deve ter interagido mais eficientemente com as regiões hidrofóbicas da lignina e, consequentemente, favoreceu mais a ação das enzimas, comparativamente ao ramnolipídeo.

Através da análise de MorFI foi observado que, ao contrário do lignosulfonato que não auxiliou em nenhuma preferência em relação à hidrólise nas extremidades ou superfícies das fibras, quando usado o ramnolipídeo as enzimas agiram mais a partir da superfície, comparativamente às pontas. Também foi observado que o lignosulfonato auxiliou uma maior separação dos feixes de fibras nos tempos finais de reação, e os valores de IC das fibras não reagidas foram mais estáveis (pouca variação) quando comparado com os resultados usando o ramnolipídeo.

1.4.2.2 Reações das fibras lignocelulósicas mercerizadas (SM)

As fibras lignocelulósicas de sisal mercerizadas utilizadas para a hidrólise enzimática, foram às obtidas utilizando as seguintes condições: 10 g L⁻¹, 40 °C e 1,5 h. Esta condição foi selecionada, dentre todos os experimentos realizados, considerando a baixa temperatura e o menor intervalo de tempo requeridos para o processo, comparativamente as outras condições. Adicionalmente, em condições de maiores temperaturas e tempos mais longos (nos intervalos estudados) a eliminação de lignina e hemiceluloses foram menores que na condição selecionada.

A TABELA 24 sumariza os resultados obtidos para as caracterizações de hemiceluloses, celulose, lignina insolúvel e solúvel para as fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas e mercerizadas usadas nas reações de hidrólise. Nesta, pode ser observado que as hemiceluloses sofreram uma variação de $31,3 \% \pm 1,3$ para 12,1 $\% \pm 0,5$, enquanto a lignina sofreu uma variação menor (lignina insolúvel de $10,3 \% \pm 0,4$ para $8,6 \% \pm 1,1$; lignina solúvel de $3,6 \% \pm 0,4$ para $1,5 \% \pm 0,2$). O teor de celulose aumentou ao final do tratamento, de $60,5 \% \pm 1,1$ para 72,4 $\% \pm 0,9$, como consequência da eliminação de hemiceluloses e lignina.

Componente	Não mercerizada	Mercerizada
Hemicelulose (%)	31,3 ± 1,3	12,1 ± 0,5
Celulose (%)	60,5 ± 1,1	72,4 ± 0,9
Lignina Insolúvel (%)	10,3 ± 0,4	8,6 ± 1,1
Lignina Solúvel (%)	$3,6 \pm 0,4$	1,5 ± 0,2

TABELA 24 - Teores de hemiceluloses, celulose, lignina insolúvel e solúvel para as fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas e mercerizadas usadas durante o estudo de hidrólise enzimática.

Ao final da realização do processo de mercerização, observou-se que apenas 57,9 % de massa inicial foi recuperada. Esta perda de massa durante a realização de mercerização foi atribuída a remoção dos componentes das fibras de sisal. Além da eliminação de hemiceluloses e lignina, ocorreu também a eliminação de cadeias de celulose presentes na fibra lignocelulósica de sisal.

1.4.2.2.1 Influência da mercerização

Em estudos anteriores foi avaliado o efeito de mercerização na polpa de sisal obtida a partir do processo Kraft (KASCHUK et al., 2017), ou seja, já submetida a um pré-tratamento. Foi observado que além de alterações na composição (diminuição do teor de hemiceluloses), conformação (conversão da celulose I em celulose II), a mercerização aumentou a eficiência da hidrólise dos polissacarídeos presentes na polpa, levando ao aumento do rendimento de glicose (de 50 % para 89 %). No presente estudo foi avaliado o efeito da mercerização na fibra lignocelulósica de sisal (extraídas com cicloexano e etanol) na hidrólise enzimática da mesma, sendo que os resultados são descritos a seguir.

1.4.2.2.1.1 Caracterização das fibras não reagidas retiradas do meio de reação

Observando os valores de IC para as fibras não reagidas tanto das fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas como mercerizadas (FIGURA 49), constatou-se que as alterações observadas para SM foram diferenciadas daquelas de SNM. Com a eliminação parcial de hemiceluloses e lignina das fibras durante a mercerização, as cadeias da celulose presentes na fibra de sisal se tornaram mais acessíveis às enzimas, e ao intumescimento e, portanto, mais suscetíveis a alterações de IC durante as reações de hidrólise enzimática.

Os resultados para SM mostraram que logo no início da reação os valores de IC sofreram um considerável aumento, devido ao consumo de cadeias das regiões não cristalinas da celulose, mas provavelmente com considerável contribuição do consumo das cadeias de hemiceluloses com consequente liberação de lignina para o meio reacional, o que também impacta IC, pois ambos se encontram nos domínios não cristalinos. A seguir, os valores de IC diminuíram gradativamente até 31 h de reação, e de forma mais significativa após este tempo. Esta diminuição deve ser decorrente do consumo das cadeias de regiões cristalinas da fibra, e também do intumescimento destas regiões durante a eliminação das moléculas de glicose (FIGURA 49), o que pode ter levado a diminuição da organização das cadeias, com consequente diminuição de IC.

FIGURA 49 - Índice de Cristalinidade (IC) para as fibras não reagidas retiradas das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas (SNM) e mercerizadas (SM)



Durante as reações de hidrólise, grande parte das fibras de SNM e SM apresentavam comprimentos entre [77-129] μ m (FIGURA 50). Contudo, à medida que a hidrólise das fibras foi ocorrendo para SNM, houve um aumento na quantidade das fibras com estes comprimentos no meio reacional até aproximadamente 15 h, e depois uma consequente diminuição deste. Até 15 h ocorreu preferencialmente a hidrólise a partir das extremidades das fibras entre [129-215] µm e [215-359] µm, e depois estes mesmos intervalos apresentaram pequeno aumento. Este aumento pode ser devido à consequência de hidrólise a partir das extremidades de fibras que estavam acima dos limites de detecção, passando então a serem detectadas pelo equipamento, o que aumentou a média de comprimento das fibras detectadas. Já para SM, devido a maior acessibilidade das cadeias de celulose ocasionada pela eliminação das hemiceluloses e lignina (TABELA 24), observou-se que as fibras contidas [129-215] µm e [215-359] µm foram preferencialmente hidrolisadas pelas extremidades, aumentando ao longo de toda a reação a quantidade de fibras no intervalo de [77-129] µm. Assim de maneira geral, as fibras de SM apresentaram maiores alterações nos comprimentos, comparativamente a SNM.

A mercerização (SM) levou a maiores alterações em relação à espessura (FIGURA 50) durante a reação de hidrólise enzimática, comparativamente a SNM. Isto pode ser observado logo nas primeiras 4 h de reação de SM, em que as superfícies das fibras >50 μm são hidrolisadas, diminuindo assim a espessura das fibras, ocorrendo a formação do pico em [30-39] μ m. Este intervalo, ao contrário de SNM, sofreu diminuição ao longo de toda a reação. Outra diferença observada em SM é que o surgimento dos picos em [14-18] μ m e [6-8] μ m, como consequência da hidrólise das cadeias de polissacarídeos presentes nas superfícies de fibras mais espessas, ocorreu apenas em 15 h de reação (SNM ocorreu em 4 h), sendo que a ocorrência destes intervalos aumentou ao longo de toda a reação. Por fim, a maior diferença é que quantidades equiparadas de fibras estavam contidas tanto no intervalo de [30-39] μ m quanto em [14-18] μ m, significando de uma maior homogeneidade, comparada à SNM das fibras ao fim da reação de SM.

O favorecimento do acesso das enzimas às cadeias hidrolisáveis presentes nas fibras devido à mercerização, tanto a partir das superfícies como das extremidades das fibras, levou a maiores alterações na espessura e no comprimento de SM, quando comparadas com todas as reações, utilizando surfactantes ou não, de fibras não mercerizadas (SNM, SNM-R60, SNM-R80, SNM-R108, SNM-LS5 e SNM-LS7,5).

FIGURA 50 - Comprimento e espessura médios para as fibras não reagidas retiradas das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas (SNM) e mercerizadas (SM)



Com a realização da mercerização, a fibra lignocelulósica de sisal passou a apresentar menores teores de hemiceluloses e lignina, além de IC inferior ao observado para as fibras de sisal não mercerizadas (TABELA 24). Estes fatores, fizeram com que o acesso das enzimas às cadeias de celulose fosse facilitado, conforme mencionado, e com isso o aspecto das fibras não reagidas foi alterado significativamente durante a reação (FIGURA 51).

FIGURA 51 - Imagens de MEV para as fibras não reagidas retiradas das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas (SNM) e mercerizadas (SM)



Quando a SNM foi submetida a hidrólise, as enzimas sofreram significativa influência da presença da lignina e hemiceluloses, e com isso, a hidrólise da celulose ocorreu em menor extensão, sendo o aspecto fibrilar foi menos alterado que para SM. Após 15 h de reação, SM apresentou microfibrilas com menores espessuras quando comparadas às microfibrilas de SNM no mesmo tempo de reação. Também foi observado que as fibras formaram aglomerados e esta aglomeração foi intensificada até o final da reação, com uma possível contribuição da lignina presente no meio para as regiões não fibrosas observadas na escala da micrografia MEV.

1.4.2.2.1.2 Análise dos licores isolados durante a reação de hidrólise enzimática

A produção de glicose, ocorreu principalmente nas primeiras 15 h de reação tanto para SNM quanto SM. Houve um aumento significativo na produção de glicose com o pré-tratamento de mercerização das fibras de sisal. Este aumento na produção de glicose está ligado diretamente ao aumento da acessibilidade das enzimas às cadeias de celulose, através da separação dos feixes de fibra, assim como da eliminação parcial de hemiceluloses e da lignina das fibras de sisal (FIGURA 52).

O pré-tratamento de mercerização diminuiu o teor de hemiceluloses das fibras de sisal de $31,3 \pm 1,3 \%$ para $12,1 \pm 0,5 \%$. (TABELA 24). Porém, a eficiência da hidrólise das xilanas presentes nas hemiceluloses aumentou, indicando que a eliminação parcial da lignina favoreceu o acesso das xilanases às cadeias de hemiceluloses remanescentes (FIGURA 52, TABELA 25).





Com o auxílio das equações de 15 a 17 (Sessão 1.4.1.1.1.2), foi possível calcular o rendimento de glicose, e a partir das equações 20 e 21 (Sessão 1.4.1.1.2) foi calculado o rendimento de xilose após 15 h e 48 h para SNM e SM. A possível concentração máxima de glicose que pode ser produzida por SNM é de 13,45 g L⁻¹, e para SM é 15,98 g L⁻¹, e possível concentração de xilose para SNM: 4,85 g L⁻¹.

O tratamento de mercerização levou a remoção parcial de hemiceluloses, com isto a porcentagem de xilanas utilizada [68 %, (MEGIATTO JR et al., 2007)] para a determinação do teor máximo de xilose a partir de SNM não pode ser utilizada para determinar o teor máximo de xilose em SM. Desta maneira, apenas o rendimento de produção de xilose para SNM é apresentado na TABELA 25, além dos rendimentos de glicose para SNM e SM.

TABELA 25 - Valores de glicose detectada e rendimento de reação para as reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas (SNM) e mercerizadas (SM). [glicose]máximaSNM: 13,45 g L⁻¹, [xilose]máximaSNM: 4,85 g L⁻¹, [glicose]máximaSM: 15,98 g L⁻¹, [xilose]máximaSM: 1,90 g L⁻¹

		SNM	SM
	Glicose detectada (g L ⁻¹)	5,1 ± 0,6*	12,79 ± 0,01*
15h	Rendimento de glicose (%)	38 ± 4	80,00 ± 0,09
	Xilose detectada (g L ⁻¹)	1,5 ± 0,3*	1,9 ± 0,2*
	Rendimento de xilose (%)	31,0 ± 5,5	#
48h	Glicose detectada (g L ⁻¹)	5,9 ± 0,3*	15,500 ± 0,001*
	Rendimento de glicose (%)	44 ± 5	96,800 ± 0,003
	Xilose detectada (g L ⁻¹)	1,70 ± 0,01*	2,33 ± 0,03*
	Rendimento de xilose (%)	35,0 ± 0,5	#

*Refere-se aos erros das reações realizadas; #rendimento não foi calculado devido ao fato que não é conhecido o teor correto de xilana presente na fibra de sisal mercerizada

Nos estudos anteriores realizados com a polpa Kraft de sisal submetida à mercerização (20 g L⁻¹ NaOH 20 %, 50 °C, 3h) que apresentava 97,5 % de celulose e 2,5 % de hemiceluloses (KASCHUK, 2014; KASCHUK et al., 2017; KASCHUK; FROLLINI, 2018), após 48 h a conversão de celulose em glicose chegou a 89 %. Desta forma, a realização da mercerização (10 g L⁻¹ NaOH 20 %, 40 °C, 1,5 h) na fibra de sisal lignocelulósica (fibra mercerizada - SM - 72,4 % celulose, 12,1 % hemiceluloses, 8,6

% lignina), se mostrou mais efetiva na conversão dos polissacarídeos em glicose, apesar do teor de hemiceluloses e lignina serem superiores aos da polpa Kraft de sisal mercerizada. A provável explicação para este fato pode estar ligada a acessibilidade das enzimas às cadeias de celulose na fibra de sisal mercerizada, que pode ser superior à da polpa Kraft de sisal mercerizada.

Um dos fatores que podem afetar a eficiência da reação de hidrólise enzimática é a cristalinidade do material celulósico, quanto maior a cristalinidade mais difícil é o acesso das enzimas às cadeias de celulose. Este é um indicativo de que a acessibilidade da fibra de sisal mercerizada é maior que a polpa, pois o IC da polpa celulósica de sisal observado (68 %) foi maior que para a fibra lignocelulósica de sisal mercerizada (44 % - TABELA 25). Outro indicativo foi a separação dos feixes de celulose que foram maiores para a fibra de sisal mercerizada. A FIGURA 53 apresenta a polpa celulósica de sisal mercerizada (KASCHUK, 2014; KASCHUK et al., 2017; KASCHUK; FROLLINI, 2018) e a fibra lignocelulósica de sisal mercerizada que foi utilizada neste estudo. Pode-se observar a separação dos feixes de fibras nas fibras lignocelulósicas de sisal que foi superior às observadas na polpa celulósica Kraft.

FIGURA 53 - (a) Polpa celulósica de sisal mercerizada [20 g L⁻¹, 50 °C, 3h; (KASCHUK, 2014; KASCHUK et al., 2017; KASCHUK; FROLLINI, 2018)] e (b) Fibra lignocelulósica de sisal mercerizada (10gL⁻¹, 40 °C, 1,5h; usada no presente estudo)



Desta maneira, no presente estudo, foi possível observar que o pré-tratamento de mercerização teve um impacto na conversão da biomassa à glicose significativamente maior que a utilização dos surfactantes ramnolipídeo e lignosulfonato de sódio.
1.4.2.2.2 Influência do ramnolipídeo (R) e lignosulfonato (LS) na hidrólise das fibras lignocelulósicas de sisal mercerizadas (SM)

Como mencionado, durante uma hidrólise enzimática, quando um surfactante apropriado é utilizado, o mesmo interage principalmente com a lignina presente na biomassa. Com isto, a porcentagem de lignina na biomassa pode alterar o comportamento do surfactante durante a reação. Assim, com o intuito de avaliar a combinação da mercerização com a utilização de surfactantes, reações foram realizadas em que a fibra de sisal mercerizada (SM) foi submetida à hidrólise na presença do ramnolipídeo (80 mg L⁻¹, SM-R80) e do lignosulfonato (5 g L⁻¹, SM-LS5), sendo as concentrações selecionadas a partir dos melhores resultados obtidos para a hidrólise de SNM na presença de surfactante. Os resultados para estas reações são descritos e discutidos na sessão 1.4.2.2.2.1 (a seguir).

1.4.2.2.2.1 Caracterização das fibras não reagidas retiradas do meio de reação

A FIGURA 54 apresenta a variação de IC para as reações SM, SM-R80 e SM-LS5. Deve-se ressaltar que o ponto inicial para todas as reações é o mesmo (quadrado vermelho, IC em torno de 57 %), e que a partir deste foram avaliadas todas as alterações ao longo da reação.

Foi observado que os valores de IC foram superiores a 57 % após 4 h de reação, sendo que o maior aumento foi para SM (71 %), seguido de SM-R80 (67 %), e SM-LS5 (62 %). Estes aumentos foram provenientes do consumo das cadeias regiões não cristalinas, incluindo a degradação de hemiceluloses e a consequente eliminação de lignina da fibra. A seguir, os valores de SM e SM-R80 se equipararam após 8 h em valores aproximados a 70 %, e a partir deste tempo, no geral IC apresentou uma tendência de redução. Isto pode estar relacionado à reorganização das cadeias de celulose, e o possível intumescimento das mesmas, que fazem com que as regiões cristalinas diminuam seu grau de organização. Deve-se ressaltar que algumas exceções foram observadas, como o ponto SM-31 h (66,7 %) e SM-LS5-15 h (63,4 %) que apresentaram valores levemente superior que os valores de IC anteriores. Estes desvios nos valores podem estar relacionados às alterações na estrutura cristalina da celulose, ou seja, consumo das regiões não cristalinas, que leva a aumento do IC.

FIGURA 54 - Índice de Cristalinidade (IC) para as fibras não reagidas retiradas das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas de sisal mercerizadas (SM) com a utilização ou não de ramnolipídeo e lignosulfonato. As concentrações de lignosulfonato são 5 g L^{-1} (SM-LS-5) e ramnolipídeo 80 mg L^{-1} (SM-R80).



A presença dos surfactantes levou a valores de IC inferiores ao inicial (em torno de 57 %) no final da reação (SM-R80 - 53 %; SM-LS5 - 48 %), o que não foi observado para SM (48h, 58 %). Estes resultados indicaram que a presença dos surfactantes podem ter favorecido o intumescimento das regiões cristalinas, e a hidrólise de cadeias presentes nestas regiões. Assim, apesar das diferenças na estrutura química dos surfactantes, assim como nas concentrações usadas para cada um, ambos apresentaram comportamento similar para a SM, ao contrário de quando eles foram utilizados em SNM (FIGURA 39, FIGURA 44). Estes resultados indicaram que quando a biomassa de partida tem menores teores de hemiceluloses e lignina, menor cristalinidade, feixes de fibras mais afastados, como ocorreu com SM, comparativamente a SNM, a ação dos surfactantes foi diferenciada, embora não necessariamente isto leve a maior eficiência na conversão a glicose.

Durante o estudo, observou-se que a utilização de surfactantes em fibras de SM não auxiliou em alterações nos comprimentos das fibras (FIGURA 55). Em outras palavras, a maior quantidade das fibras permaneceu ao longo de toda a reação em [77-129] μ m, de modo que houve uma tendência de aumentar a quantidade das mesmas devido a hidrolise nas extremidades das fibras com comprimentos superiores a 359 μ m. Também não foram observadas diferenças significativas em relação à espessura para SM, SM-R80 e SM-LS5, de modo que inicialmente as fibras com espessura menores que 18 μ m foram extensivamente hidrolisadas em sua superfície,

e ocorreu um aumento considerável nas fibras com espessuras entre [23-30] μ m. A partir de 15 h de reação, foi favorecida a hidrólise na superfície das fibras mais espessas resultando no aumento das fibras menos espessas, tais como as contidas em [6-8] μ m.

FIGURA 55 - Comprimentos e espessura médios das fibras lignocelulósica de sisal mercerizadas (SM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo e lignosulfonato. As concentrações de ramnolipídeo são 80 mg L⁻¹ (SM-R80) e de lignosulfonato 5 g L⁻¹ (SM-LS5).



Como mencionado, a realização do tratamento de mercerização levou ao aumento da área acessível para as enzimas em SM, e com isto, quando comparado à SNM, as micrografias - MEV mostraram maior degradação do material celulósico. Como visto na FIGURA 56, para SM ocorreu a aglomeração de microfibrilas a partir de 8 h de reação, com provável participação de lignina, a qual aumentou em proporção gradativamente conforme cadeias de celulose e hemiceluloses foram hidrolisadas. Quando adicionado os surfactantes (SM-R80 e SM-LS5) às reações, foi observado que este processo de aglomeração foi retardado, e sendo assim observado apenas após 23 h de reação. Este comportamento, provavelmente foi devido às interações das regiões hidrofóbicas dos surfactantes com a lignina (SAINI et al., 2016), o que retardou o efeito de aglomeração (FIGURA 56).

FIGURA 56 - Imagens de MEV das fibras lignocelulósica de sisal mercerizadas (SM) não reagidas retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo e lignosulfonato. As concentrações de ramnolipídeo são 80 mg L⁻¹ (SM-R80) e lignosulfonato 5 g L⁻¹ (SM-LS5).



1.4.2.2.2.2 Análise dos licores isolados durante a reação de hidrólise enzimática

Como mencionado, as regiões hidrofóbicas da lignina podem interagir com as regiões hidrofóbicas do surfactante, tendo-se como expectativa que diminua a inibição das celulases devido a interações com lignina. Quando esta expectativa se confirma, um aumento na produção de glicose é observado. Este efeito foi observado quando a fibra lignocelulósica de sisal não mercerizada foi utilizada (TABELA 21, TABELA 23). Contudo, para a fibra lignocelulósica de sisal mercerizada não ocorreu um aumento significativo nos valores de glicose detectados, comparando-se SM com SM-R80 e SM-LS5 (FIGURA 57), sendo os valores estatisticamente indistinguíveis.

FIGURA 57 - Teores de (a) glicose e (b) xilose das reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósica de sisal mercerizadas (SM) retiradas do meio durante as reações com a utilização ou não de ramnolipídeo ou lignosulfonato. As concentrações de ramnolipídeo são 80 mg L⁻¹ (SM-R0) e lignosulfonato 5 g L⁻¹ (SM-LS5).



O teor de lignina diminuiu de SNM (13,9 $\% \pm 0,9$) para SM (10,1 $\% \pm 0,9$), mas o teor remanescente seria provavelmente suficiente para interagir com os surfactantes. A mercerização levou a mudanças significativas no afastamento de feixes de fibras, cristalinidade, diminuiu teores de celulose e hemiceluloses, os quais correspondem a fatores que favorecem a ação de celulases sobre as cadeias de celulose. Isto de fato ocorreu, pois o rendimento aumentou de 44 % (SNM) para 94 % (SM). Assim, a possível ação dos surfactantes pode ter sido encoberta pelo favorecimento já existente em decorrência da mercerização.

Considerando a concentração máxima (15,98 g L⁻¹) que pode ser produzida a partir da hidrólise da fibra lignocelulósica de sisal mercerizada, os rendimentos de reação para 15 h e 48 h de SM, SM-R80 e SM-LS5 foram obtidos pelo uso das equações de 15-17 (sessão 1.4.1.1.2, TABELA 26).

TABELA 26 - Valores de glicose detectada e rendimento de reação para as reações de hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas de sisal não mercerizadas (SNM) e mercerizadas (SM) mercerizadas (SM)

		SM	SM-R80	SM-LS5
15h	Glicose detectada (g L ⁻¹)	12,79 ± 0,01*	13,8 ± 0,1*	13,00 ± 0,01*
	Rendimento de glicose (%)	80,00 ± 0,09	86,0 ± 0,7	81,00 ± 0,06
48h	Glicose detectada (g L ⁻¹)	15,500 ± 0,001*	15,4 ± 0,2*	15,80 ± 0,01*
	Rendimento de glicose (%)	96,800 ± 0,003	96,5 ± 0,1	98,3 ± 0,1

*Refere-se aos erros das duas reações realizadas

Quando as reações de SNM foram realizadas na presença do ramnolipídeo (SNM-R80; FIGURA 43) e lignosulfonato (SNM-LS5; FIGURA 47) foi observado que o primeiro não promoveu a nenhuma alteração, e o segundo acarretou um aumento da produção da xilose durante a reação. A produção de xilose a partir da hidrólise de SM com o ramnolipídeo (SM-R80) e lignosulfonato (SM-LS5), FIGURA 57, apresentou um comportamento diferente de SNM (FIGURA 43, FIGURA 47).

A FIGURA 57 mostra que a presença do ramnolipídeo (SM-R80) impactou positivamente a produção de xilose, enquanto lignosulfonato (SM-LS5) levou a diminuição desta. Este resultado pode indicar que em um substrato com feixes de fibras mais afastados, com menor teor de lignina, como SM, o ramnolipídeo teve mais acesso a lignina, a qual poderia interagir com as xilanases na ausência deste surfactante, ou atuar como barreira para aproximação das enzimas às cadeias de hemiceluloses, que também se encontravam em menor teor em SM. No caso do lignosulfonato pode ter ocorrido efeito contrário, e as propriedades do substrato terem facilitado a difusão do surfactante para próximo de parte das cadeias de hemiceluloses, atuando como barreira para a aproximação das enzimas.

1.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo foi observado que o surfactante ramnolipídeo apresentouse como uma alternativa para o aumento da eficiência de conversão de celulose para glicose da fibra lignocelulósica de sisal não tratada. No caso, o aumento observado foi de 44 % \pm 5 (SNM) para 51 % \pm 3 (SNM-R80, 80 mg L⁻¹), sendo que esta concentração se mostrou mais adequada que 60 mg L⁻¹ ou 108 mg L⁻¹,

O rendimento da produção de glicose das fibras de sisal quando utilizada a concentração de 5 g L⁻¹ de lignosulfonato, aumentou de 44 % ± 5 para 62,00 % ± 0,04, e quando usou-se a concentração de 7,5 g L⁻¹ o rendimento diminuiu para 31,1 % ± 0,3. A redução do rendimento pode estar ligada ao aumento de adsorções competitivas entre a celulase e o lignosulfonato nas regiões hidrofóbicas da celulose presente na fibra lignocelulósica de sisal, e a consequente inibição das enzimas na reação. Este resultado demonstrou que lignosulfonato, quando usado como biosurfactante em uma determinada concentração, pode interagir com interferentes solúveis, como a lignina, aumentando a possibilidade de interações efetivas entre as celulases e o substrato celulósico.

O estudo do tratamento de mercerização indicou a remoção parcial da lignina e de hemiceluloses presentes nas fibras de sisal, assim como levou a separação dos feixes de fibras, e menor cristalinidade, fatores que podem favorecer a reação de hidrólise enzimática.

As fibras de sisal apresentaram menor teor de lignina, entre as condições testadas, quando foi submetida a menor tempo (1,5 h) e razão de massa/volume (10 g L⁻¹). Menor teor de hemiceluloses foi obtido para as fibras submetidas em temperatura mais alta (80 °C) e menor razão de massa/volume (10 g L⁻¹). Maior teor de celulose foi obtido para as fibras submetidas em menor temperatura (40 °C), e maiores razões (30 g L⁻¹) e tempo (4,5 h).

Contudo, o tratamento alcalino, que pode levar a altos índices de remoção de lignina e hemiceluloses, para as fibras lignocelulósicas de sisal, nas condições consideradas, a eliminação da hemiceluloses foi predominante, e a lignina insolúvel não apresentou variação significativa. A condição de mercerização selecionada para dar sequência a hidrólise foi 10 g L⁻¹, 40 °C, 1,5 h, sendo que este pré-tratamento aumentou significativamente a conversão, de 44,2 % \pm 4,7 (SNM) para 96,8 % \pm 0,003 (SM).

Quando se avaliou a utilização do ramnolipídeo e lignosulfonato na fibra de sisal mercerizada, observou-se que o rendimento de glicose não sofreu aumento significativo de 96,800 % ± 0,003 (SM) para 96,5 % ± 0,1 (SM-R80) e para 98,3 % ± 0,1 (SM-LS5). Já em relação a produção de xilose, foi observado que para SM-R80 ocorreu um aumento 2,3 g L⁻¹ ± 0,3 (SM) para 3,3 g L⁻¹ ± 0,1, e para SM-LS5 ocorreu uma diminuição para 1,70 g L⁻¹ ± 0,02.

Em relação às fibras não reagidas, extraídas do meio durante as reações, foi observado que tanto para as fibras de sisal não mercerizadas como para mercerizadas, na presença ou não de surfactantes, as enzimas agiram mais a partir da superfície, comparativamente às extremidades. Também foi observado que o ramnolipídeo auxiliou no ataque das enzimas celulases às fibras de sisal não mercerizadas, de modo que a as modificações na superfície das fibras ao longo da reação foram mais significativas nas reações com surfactante do que nas reações sem surfactante.

CAPÍTULO 2 - Membranas constituídas por fibras ultrafinas de celulose acetilada aplicadas em células solares sensibilizadas por corantes

2.1. INTRODUÇÃO

Na busca por fontes alternativas e renováveis de energia, a energia solar é uma alternativa promissora na crescente demanda energética e no desenvolvimento sustentável de novas tecnologias. Além de ser uma fonte abundante, a energia solar é de baixo custo, despertando grande interesse em estudos e aplicações (SANSANIWAL; SHARMA; MATHUR, 2018).

O uso de energia solar pode ocorrer através da conversão em energia térmica ou energia elétrica (LEWIS, 2016). O dispositivo que faz a conversão direta da energia solar em energia elétrica é chamado célula fotovoltaica, comumente chamado de célula solar (ASGHAR, 2012).

Existem vários tipos de células solares, e estas são classificadas em três gerações. O principal material para as células solares de primeira geração é o silício, e pode ser dividido em silício monocristalino (m-Si) e silício policristalino (p-Si). As células solares de segunda geração, também definidas como células solares de filmes finos, são divididas em silício amorfo (A-Si), seleneto de cobre índio-gálio (CuInGa (Se) 2) e telureto de cádmio (CdTe) (VENKATESWARI; SREEJITH, 2019).

As células solares de primeira e segunda geração correspondem a aproximadamente 85 % e 12 % respectivamente das instalações solares mundiais. Entretanto, apesar de apresentarem bom desempenho na conversão de energia, apresentam desvantagens como a grande quantidade de energia necessária para sua fabricação (células solares de primeira geração), alta poluição, baixa disponibilidade da matéria-prima e baixo desempenho (células solares da segunda geração) (ASGHAR, 2012; JÄGER-WALDAU, 2016). No que diz respeito às células solares de terceira geração, as metas correspondem a alcançar elevados níveis de eficiência utilizando materiais não tóxicos e abundantes. Esta geração inclui células solares multi-junção, células solares orgânicas e células solares de corante. Apesar de serem as mais eficientes (maior eficiência encontrada de ~ 43,5 %) (JÄGER-WALDAU, 2016),

as células solares multi-junção são mais caras entre todos os tipos de terceira geração. Diferentemente, as células solares orgânicas e as sensibilizadas por corante são de baixo custo e apresentam características como flexibilidade das células e viabilidade de processamento em bobina (*roll-to-roll*) em larga escala. No entanto, a maior eficiência relatada para as células orgânicas (~ 13,1 %) (ZHAO et al., 2017) e células solares sensibilizadas por corante (Dye-sensitized solar cells - DSSCs - ~ 13 %) (ZHANG et al., 2017) são menores do que os outros tipos de células .

Durante o desenvolvimento do "Estágio de Pesquisa no Exterior (BEPE)" realizado no grupo "Biobased Colloids and Materials" (Department of Bioproducts and Biosystems - Aalto University), sob a supervisão do Professor Orlando J. Rojas, células solares sensibilizadas por corantes foram preparadas. Estas células foram obtidas com a colaboração do grupo "New Energy Technologies Group" (Department of Applied Physics - Aalto University).

2.1.1 Células solares sensibilizadas por corante (DSSC)

Uma célula solar sensibilizada por corante (DSSC) é composta de um fotoeletrodo (phoelectrode - PE) e um contra-eletrodo (CE), os quais são colocados juntos com um par redox em um solvente orgânico (eletrólito) preenchendo a lacuna entre eles. Uma DSSC típica pode ser preparada usando folhas de vidro revestidas com óxido condutor transparente (TCO) composto por óxido de estanho dopado com flúor (FTO). O PE é coberto com um filme de pequenas partículas semicondutoras sensibilizadas por corantes, como ZnO, Nb₂O₅ ou TiO₂, e o CE é revestido com um catalisador como nanotubos de carbono ou Pt (GONCALVES et al., 2008), FIGURA 58.



FIGURA 58 - Representação esquemática de uma célula solar sensibilizada por corante (DSSC)

Contra-eletrodo

Fonte: HALME, J. VAHERMAA, P. MIETTUNEN, K., LUND, P. Device Physics of Dye Solar Cells. Advanced Materials, v. 22, n. 35, p. E210-E234, 2010.

A operação da célula solar consiste em seis etapas (ASGHAR, 2012), FIGURA 59:

1- O corante absorve a luz que incide sobre a DSSC e os elétrons saltam do orbital molecular ocupado mais alto (HOMO) para o orbital molecular desocupado inferior (LUMO), gerando um estado excitado;

2- Os elétrons são injetados pelo corante na banda de condução do TiO_2 (estado oxidado);

3- O estado oxidado é reduzido pelo iodeto presente no eletrólito, que por sua vez é oxidado a tri-iodeto;

4- O tri-iodeto é transportado através da camada de eletrólito para o CE. Simultaneamente, os elétrons são injetados e difundidos através do filme de TiO_2 para a camada de TCO, e então eles se movem para a carga externa e alcançam o outro lado da DSC.

5- O tri-iodeto é reduzido a iodeto no CE

6- Finalmente, o corante recuperou a sua forma original e pode absorver novos fótons, isto é, o iodeto pode oxidar o corante.

Quando os elétrons no LUMO não conseguem se transferir para a banda de condução do TiO₂, ele pode ser transferido para o HOMO, como mostrado na FIGURA

59- (a). Além disso, os elétrons na banda de condução podem ser recombinados com o corante ou o eletrólito (FIGURA 59 - b, c) (ASGHAR, 2012).

FIGURA 59 - Princípio de funcionamento de uma DSC, incluindo todas as etapas e reações envolvidas durante um ciclo de trabalho completo e os níveis de energia no processo



Fonte: ASGHAR, M. I. Stability Issues of Dye Solar Cells. 2012. 95f. f. Aalto University, 2012.

A eficiência da DSSC depende do desempenho individual de todos os componentes; portanto, a melhoria em cada um deles pode contribuir para o aprimoramento do desempenho geral da DSSC (SUGATHAN; JOHN; SUDHAKAR, 2015). Por esta razão, vários estudos têm considerado diferentes camadas condutoras [TiO₂, ZnO e nanotubos de carbono (LI et al., 2018a; SONKER; RAHUL; SABHAJEET, 2018; YEH et al., 2018)], corantes [orgânicos e naturais (CHENG et al., 2018; RAHUL et al., 2018)] e substratos [vidro e polímeros (MONDAL; DAS, 2017; KIM et al., 2018)]. Com isso, foi possível aumentar a eficiência da DSC de 7,1 % (O'REGAN; GRÄTZEL, 1991) para 13 %, o que pode ser considerado como adequado para uso comercial (MATHEW et al., 2014)

Outro ponto fundamental em relação a DSSC é o custo efetivo dessas células. Nesse contexto, materiais como celulose e seus derivados têm grande potencial. Na literatura são encontrados diversos estudos utilizando estes materiais (celulose e derivados) em células solares. Por exemplo, "whiskers" de celulose foram utilizados como "bio-template" para produzir uma camada condutora do contra-eletrodo em DSSC (nanowhisker de celulose/ FeS₂@reduzido e óxido de grafeno -C-CW / FeS2@ RGO). Este dispositivo proporcionou uma eficiência de 7,38 % (ZHOU et al., 2018). Além disso, foi relatada a produção de células solares sensibilizadas por corantes semi-sólidos baseados em papel, utilizando fibras de celulose (fotoanodo) e celulose microfibrilada em nanoescala (eletrólito) que exibiram uma eficiência de 3,55 % e estabilidade de 96 % (1000h) (BELLA et al., 2017). Em relação ao eletrólito, a carboximetilcelulose foi misturada com carboximetil-kappa-carragenina, e então dopada com iodeto de amônio. NH₄I em conjunto com o iodo (I₂). A eficiência de conversão de energia obtida nesta célula foi de 0,13 % (RUDHZIAH et al., 2015). Outro gel eletrolítico foi produzido utilizando celulose microcristalina não modificada e líquidos iônicos, que atingiram eficiência máxima de foto-conversão de 3,33 % com a ausência total de solventes orgânicos (SALVADOR et al., 2014). Também foi relatado o desenvolvimento de um gel eletrolítico que foi preparado a partir da modificação da celulose microcristalina. A celulose foi enxertada com ácido acrílico, e a DSSC preparada exibiu 5,51 % de eficiência de conversão (sob uma intensidade de luz de 100 mWcm⁻² (LI et al., 2011).

O acetato de celulose (AC) já foi usado como componente de gel eletrolítico, em que o gel foi preparado com NH₄I, carbonato de etileno, em acetona, e depois dopado com quantum dots (ZnS/CuInS, 5,8nm). Nesta DSSC, a eficiência observada foi de 3,83 % quando o gel não foi dopado, e 8,02 % quando dopado (SAMSI et al., 2017).

No presente estudo, o AC foi utilizado como polímero de partida para a obtenção de uma membrana com o intuito de reter o eletrólito de células DSSC. O processamento de AC pode ser realizado em diferentes solventes e, além disso, o seu caráter hidrofílico/hidrofóbico pode ser ajustado através da alteração do grau de substituição (DS) durante sua síntese ou a partir de desacetilação de AC. As membranas usadas foram obtidas a partir da técnica de eletrofiação.

Encontra-se na literatura a utilização de membranas obtidas a partir de fibras eletrofiadas na formação da camada condutora para a substituição do TiO₂. Nestes estudos, polímeros misturados com soluções metálicas foram eletrofiados, e logo a seguir submetidos a tratamento de temperatura para a formação de óxidos condutores presentes nos CE. A poliacrilonitrila (PAN), por exemplo, foi utilizado para a produção de compósitos de sulfeto de molibdênio / nanofibras de carbono (MoS₂ / CNFs), os quais forneceram uma eficiência de conversão de energia de 8,46 %, superior a dos dispositivos com CE de CNFs (6,59 %) e platina (7,65 %) nas mesmas

condições (LI et al., 2018b). PAN também foi usando para a obtenção de nanoestruturas de níquel-platina dopadas com rênio suportadas em nanofibras de carbono (Re-Pt3Ni / CN), os quais apresentaram eficiência de conversão de energia de 9,36 %, sendo superiores às células solares com Pt (7,33 %), CN (5,93 %) e Pt3Ni/CN (8,81 %) nas mesmas condições (LI et al., 2018a).O uso de membranas de AC em DSSC tem sido limitado à preparação de CE com nanofibras de kesterita Cu₂ZnSnS₄ (CZTS) usando AC como base de polímero, sendo que a eficiência deste superior (3,90 %) de quando usado Pt (1,72 %) nas mesmas condições (MALI; PATIL; HONG, 2014).

Ao se utilizar uma membrana eletrolítica em DSSC tenta-se prevenir perdas na eficiência relacionadas à introdução de eletrólito líquido (enchimento de eletrólito convencional), limitando assim, o aumento de produção destas células em grande escala (MIETTUNEN; HALME; LUND, 2009).

Membranas de nanocelulose com a presença de eletrólito já se mostraram adequadas para pressionar o eletrólito contra o PE, diminuindo assim a distância percorrida pelos elétrons (MIETTUNEN et al., 2014). Quando estas membranas são usadas, o eletrólito penetra verticalmente no PE, facilitando o transporte dos elétrons ao longo de uma distância de 20 µm, isto contrasta com o método convencional, em que essa distância é da ordem de > 20 mm. Esse comprimento característico, reduzido em 1000 vezes, evita variações no desempenho das DSSCs.

Alternativamente, a injeção do eletrólito na DSSC também pode ser realizada através da impressão dos eletrólitos em estado quase sólido usando um polímero como gelificador (formação de gel)(RONG et al., 2013; WANG et al., 2013; SEO et al., 2014). Também é possível obter a DSSC com o eletrólito líquido impresso na superfície do PE (HASHMI et al., 2015), porém a rápida evaporação de solventes típicos, como o acetonitrila, compromete o sucesso de tal sistema. Desta maneira, devido à restrição de solventes utilizados em pares redox como pasta eletrolítica imprimível, exigindo líquidos iônicos à base de iodo, investigações sobre uso de gel/membranas são muito atraentes.

Recentemente, criogéis de nanofribras de celulose (CNF), CNF oxidada por TEMPO, celulose bacteriana e nanofibras de quitina foram consideradas para a obtenção de membranas eletrolíticas para células solares quantum-dots e DSSCs (POSKELA et al., ; POSKELA, 2017; BORGHEI et al., 2018). Foi observado que estes criogéis foram de fácil manuseio durante a montagem das células, enchimento efetivo de eletrólitos, e também fizeram com que as reações redox fossem eficientes, mantendo o desempenho da célula solar igual ou melhor que as células de referência (com base no eletrólito líquido). No entanto, a preparação destas membranas envolveu processos como o congelamento e a secagem supercrítica, demandando tempo.

Neste contexto, o presente trabalho teve como proposta a obtenção de membranas porosas a partir da técnica de eletrofiação, em que o AC foi escolhido devido sua rápida dissolução em solventes orgânicos apropriados e facilidade de fiação. Além disso, outra vantagem referente à eletrofiação é a facilidade de monitoramento da espessura, porosidade e rede de fibra das membranas através do controle apropriado das propriedades da solução e das condições de operação. As membranas foram utilizadas nas DSSCs sem serem submetidas ao processo de desacetilação (AC) ou submetidas ao processo de desacetilação (ACD).

2.2 OBJETIVOS

As principais metas referentes a esta parte foram:

2.2.1 Objetivo geral

• Usar membranas constituídas por fibras ultrafinas e nanofibras de acetato de celulose no contra-eletrodo em uma célula solar sensibilizada por corante (Dye-sensitized solar cells - DSSC), e avaliar a influência destas na eficiência da DSSC.

2.2.1 Objetivos específicos

• Obter membranas constituídas por fibras ultrafinas e nanofibras de acetato de celulose via eletrofiação, usando diferentes condições de fluxo, voltagem e distância;

• Desacetilar as membranas visando obter material com diferentes propriedades para aplicação em DSSC;

• Avaliar os parâmetros eletroquímicos das DSSC (usando membranas acetiladas e parcialmente desacetiladas) a fim de compara-los com aqueles de uma célula solar controle (Referência, ambas membranas ausentes);

• Avaliar efeito da presença das membranas em função do tempo de funcionamento das DSSC.

2.3 MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1 Materiais

O acetato de celulose (AC) (massa molar numérica média, Mn de ~ 30.000 g mol⁻¹ obtida via GPC, informação cedida pelo fabricante), com 39,8 % de grupos acetila (Grau de substituição-GS:1,2), impurezas <3,0 %), e os solventes N,N-dimetilacetamida (DMAc), acetona e NaOH foram adquiridos da Sigma-Aldrich. A pasta de nanopartículas de TiO₂ (DSL 18NR-T) e partículas de dispersão de luz (DSL WER2-0) foram obtidas de Dyesol. Uma película de resina de ionômero (Surlyn®1702, espessura de 20 µm) da DuPont foi usada para a montagem de células solares. 1-metil-benzimidazol (NMBI), iodeto de 1-propil-3-metilimidazólio (PMII), tiocianato de guanidínio (GuSCN) e I_2 em 3-metoxipropionitrila (MPN) da Sigma-Aldrich foram usados como eletrólito.

2.3.2 Células solares a partir de membranas eletrolíticas de acetato de celulose

No presente estudo, células solares foram obtidas usando a configuração apresentada na FIGURA 60.



FIGURA 60 - Configuração das células solares obtidas no presente estudo

| 163

A placa de vidro utilizada na preparação das células solares continha uma fina camada de óxido de estanho dopado com flúor (FTO; TEC-15, Pilkington). O FTO foi utilizado como substrato condutor para os dois eletrodos, e a placa de vidro como substrato estável, o que reduziu possíveis problemas relacionados à estabilidade e montagem. Para ambos os eletrodos, a placa de vidro com FTO foi lavada com água e sabão neutro, seguida de lavagem com água e etanol.

2.3.2.1 Obtenção das membranas via eletrofiação (electrospinning)

Soluções de 16 % de acetato de celulose usando acetona: DMAc (2: 1) como solvente (TUNGPRAPA et al., 2007) foram eletrofiadas em um equipamento *"homemade"*. As membranas foram depositadas no contra eletrodo (CE), variando as condições de distância, vazão, voltagem e volume (TABELA 27). As condições iniciais testadas foram selecionadas a partir de estudos realizados no grupo Macromollignocell (RODRIGUES et al., 2015).

TABELA 27- Condições usadas durante a eletrofiação							
Voltagem (kV)	15	20	25				
Fluxo (µL min ⁻¹)	5,5	15,5	25,5	35,5			
Distância (cm)	5	10	15	20			
Volume (mL)	0,25	0,50	0,75				

As membranas obtidas por eletrofiação foram cobertas com uma camada de ouro e avaliadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV - Zeiss Sigma VP). A porosidade e a distribuição de tamanho das fibras presentes nas membranas foram avaliadas usando o software Image J.

Para obter as membranas parcialmente desacetiladas de acetato de celulose, as mesmas foram imersas em solução aquosa de NaOH (10 mL, 1 mol L⁻¹), a temperatura ambiente, em diferentes tempos (20 min, 40 min, 60 min, 120 min, 180 min, 240 min). Após as desacetilações, as membranas foram lavadas até remover todo o NaOH, ou seja, até o pH da água de lavagem ser igual ao da água de partida (~ 6). Estas membranas foram analisadas via espectroscopia na região do infravermelho com transformada de fourier (FTIR) para acompanhar a diminuição no grau de substituição, e também foram avaliadas via MEV e ângulo de contato em água e MPN.

2.3.2.2 Contra eletrodos (CE)

Sob a superfície da placa de vidro com FTO foi adicionado 5µL de uma solução de ácido hexacloroplatínico (H₂PtCl₆) 10mM em 2-propanol, e então este foi levado à mufla a 390 °C. Após 20 min, os contra eletrodos foram retirados e deixados em repouso durante a noite. O tempo de permanência na mufla não deve ser superior ao considerado, para evitar que Pt se transforme em um óxido não-condutor.

As membranas compostas por fibras ultrafinas e nanofibras foram depositadas via eletrofiação diretamente na superfície do contra eletrodo, em que uma folha de alumínio com um retângulo nas dimensões de 5x8mm foi usada para que a deposição ocorresse na região requerida (FIGURA 61).





Contra eletrodo



2.3.2.3 Fotoeletrodos (PE)

O vidro FTO foi imerso em uma solução de complexo de cloreto de titânio (IV) tetraidrofurano (1W- %) em água desionizada por 30 min a 70 °C. Este procedimento diminui o potencial da borda da faixa de condução do fotoeletrodo (PE) e diminui a

taxa de recombinação entre o eletrólito e os elétrons no PE (POSKELA, 2017). Depois disso, foi impresso TiO₂ nos vidros tratados com uma impressora de tela AT-60PD, ATMA. Duas camadas de pasta com nanopartículas de TiO₂ e uma camada de partículas dispersora de luz foram impressas no vidro. O PE resultante tinha aproximadamente 12 µm de espessura com uma área de 0,4 cm². Por último, os PE foram sinterizados a 450 °C e imersos novamente em solução de complexo de cloreto de titânio (tetraidrofurano), seguido de outra sinterização (450 °C).

O PE foi sensibilizado numa solução de corante durante a noite. A solução utilizada neste estudo correspondeu a 0,2 mM de z907 (Dyesol) em 1: 1 solvente de acetonitrila e álcool *terc*-butílico.

2.3.2.4 Montagem das células solares e célula referência

As células solares foram montadas unindo fotoeletrodo e contraeletrodo/membrana usando um termoplástico de corte de estrutura (Surlyn) aplicado como espaçador e selante sob prensagem a quente em uma placa de aquecimento (temperatura aproximada de 60 °C). Para as DSSC com as membranas de ultrafinas e nanofibras eletrofiadas, 2 µL de eletrólito (0,5M NMBI, 0,5M PMII, 0,1 M GuSCN e, 0,1M I₂ em MPN) foram colocados na superfície das membranas, e a depois montadas. Para a célula de referência, o eletrólito foi injetado com o auxílio de uma micropipeta através dos orifícios presentes nos eletrodos dos CE.

Fitas de cobre foram colocadas na superfície condutora dos eletrodos e, em seguida, uma camada de tinta prateada (SCP, Electrolube) foi passada entre os mesmos e as fitas de cobre. No final, uma camada de cola epoxi foi colocada na parte superior do contato (conexão entre fita de cobre e substrato).

2.3.3 Análises fotovoltaicas

2.3.3.1 I-V análise sob 1 sol

A eficiência da conversão de energia da luz em eletricidade, também chamada de desempenho, pode ser determinada pela tensão de corrente (I-V) usando um simulador solar que fornece uma intensidade de luz de $1000W/m^2$ com espectro de massa de ar 1,4 global (AM1.5G) a 25 °C (1 Sol). Esta medição fornece uma curva I-V da célula solar (FIGURA 62) e, a partir dela, parâmetros importantes podem ser obtidos, incluindo densidade de corrente de curto-circuito (isc), tensão de circuito aberto (Voc) e fator de preenchimento (FF) (SAETRE; MIDTGÅRD; YORDANOV, 2011).

FIGURA 62 - Curva I-V típica de uma célula solar e seus parâmetros característicos parâmetros característicos. I_{SC} : corrente de curto-circuito, I_{MPP} : corrente potência máxima, M_{PP} : potência máxima, V_{MPP} : tensão de potência máxima (P_{MAX}), V_{OC} : tensão circuito aberto.



Fonte: HALME, J. VAHERMAA, P. MIETTUNEN, K., LUND, P. Advanced Materials, v. 22, n. 35, p. E210-E234, 2010.

A FF (equação 22) é uma medida da quadratura das características I-V e está relacionada à qualidade da célula solar. FF é dado pela potência máxima por unidade de área (P_{max}, equação 23) fornecida pela célula solar, que tem uma certa densidade de corrente (i_{MPP}) e tensão no ponto de potência máxima (V_{MPP}),

$$FF = \frac{P_{MAX}}{V_{oc}i_{sc}}$$
(22)

$$P_{MAX} = V_{MPP} i_{MPP} \tag{23}$$

Além disso, o P_{MAX} pode ser expresso em relação aos parâmetros característicos básicos [equação 24- densidade de corrente de curto-circuito (isc), tensão de circuito aberto (Voc) e fator de preenchimento (FF)].

$$P_{MAX} = V_{OC} i_{SC} FF \tag{24}$$

Em relação à eficiência de uma célula solar, ela é definida como a relação entre a P_{MAX} produzida pela célula (W/m²) e a potência da luz incidente P_{IN} (W/m²) (equação 25).

$$\eta = \frac{P_{MAX}}{P_{IN}}$$
(25)

A equação 25 também pode ser expressa em termos de parâmetros característicos (equação 26).

$$\eta = \frac{V_{OC}i_{SC}FF}{P_{IN}}$$
(26)

Outra informação fornecida pela curva IV são as diferenças na chamada série conectada, que é obtida a partir da inclinação da curva fotovoltaica, e é identificada como Rcell (MIETTUNEN et al., 2014).

No presente estudo, as medidas I-V foram realizadas usando um simulador solar Peccell PEC-01. A lâmpada utilizada foi a lâmpada de xênon que simulava a luz solar de 1000 W/m². A luz foi calibrada com um fotodiodo Inc Si KG5 de medições fotovoltaicas. O potenciostato usado foi um Keithley 2420 3A Sourcemeter.

As células solares foram cobertas com máscaras de fita preta para evitar que a luz refletida afetasse a medição. Todas as medições foram realizadas à temperatura ambiente.

A faixa de tensão foi de 0,3V a 0,8V com tamanho de passo de 0,01V e um atraso de 0,1 s antes do início.

2.3.3.2 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS)

No presente estudo, o EIS foi utilizado para estudar as impedâncias ocorridas nos diferentes componentes e suas interfaces durante a operação das células solares.

Como é sabido, diferentes componentes nas células solares apresentam diferentes constantes de tempo e, portanto, sua resposta de impedância aparece em diferentes frequências (HALME et al., 2010). Essas frequências podem ser estudadas por meio da varredura de uma faixa de frequências.

Em resumo, uma voltagem de corrente alternada foi sobrepondo a tensão de corrente contínua (condição de operação) através da medição da célula solar, depois disso, uma corrente alternada foi produzida para uma certa faixa de frequência, resultando em uma resposta de impedância. Após as medições, ajustando o modelo de circuito equivalente (FIGURA 63), foi possível conhecer as respostas de impedância das células solares e obter o espectro EIS.

FIGURA 63 - Modelo de circuito equivalente de uma DSSC: RS é a resistência da série ôhmica. Rt (= rtd) é a resistência de transporte de elétrons, e d é a espessura da camada. Zd é a impedância de transferência de massa no contra eletrodo causada pela difusão iônica no eletrólito. Há também vários pares de elementos de fase constante (CPE) / resistor (R) que estão relacionados a diferentes interfaces denotadas no subscript: SU substrato / eletrólito PE , CO o substrato PE / TiO₂ poroso, CT o TiO₂ / interface eletrólito, e CE o eletrodo contador / eletrólito



Fonte: MIETTUNEN, K. et al. Journal of Electroanalytical Chemistry, v. 653, n. 1, p. 93-99, 2011

Os resultados de impedância foram plotados em duas curvas: gráfico de Nyquist (FIGURA 64-a) e gráfico de Bode (FIGURA 64-b). O primeiro refere-se aos componentes da impedância real e imaginária, e o segundo refere-se à impedância imaginária em função da frequência (POSKELA, 2017).

Diferentes resistências podem ser observadas em diferentes pontos da trama de Nyquist (FIGURA 64-a) (POSKELA, 2017):

 R_s - o ponto de partida da curva de Nyquist marca a quantidade de resistência da série ôhmica na célula solar

R_{CE} - a resistência de transferência de carga na interface eletrólito-eletrodo

RPE - os resistores combinados de fotoeletrodos

R_D - a resistência à difusão através do eletrólito





Fonte: POSKELA, A. Aalto University, 2017.

As medições do EIS foram realizadas com uma unidade de Medição de Impedância IM6 da Zahner Elektrik. A faixa de frequência de corrente alternada utilizada foi de 100 MHz a 100 kHz e a amplitude foi de 10 mV. As medições do EIS foram tomadas sob iluminação em condições de circuito aberto e no escuro em faixa de tensão de 0 a -0,7 V. A análise de circuito equivalente dos espectros EIS foi realizada com o software ZView2 (Scribner Associates, Inc.).

2.3.3.3 Eficiência de conversão de fóton incidente para corrente elétrica (IPCE)

O espectro IPCE (Incident Photon to Current Conversion Efficiency) é uma medida do quão eficiente a célula é em converter luz monocromática em corrente elétrica. O dispositivo utilizado para esta análise mede a corrente elétrica em diferentes comprimentos de onda (HALME et al., 2010). No presente estudo, o sistema de medição QE / IPCE QEX7 (PV Measurements Inc.) foi usado. O intervalo de comprimento de onda utilizado foi de 300 nm a 1000 nm, sem luz de polarização.

2.3.3.4 Teste de estabilidade

Os testes de estabilidade foram realizados por 500 h. As condições de teste se aproximavam de 1 Sol (lâmpadas de halogênio que davam 100 % na faixa visível e 20 % na faixa UV), 40 °C e umidade relativa ambiente variando entre 10-30 %. As células foram cobertas com um filtro UV (corte de 400 nm, Asmetec GmbH) para reduzir os efeitos a longo prazo da luz UV. O envelhecimento foi registrado com uma Biologic SP-150 usando um Agilent 34980A como um multiplexador. Durante os testes de estabilidade, as células foram mantidas em condições de circuito aberto.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, as membranas compostas por fibras ultrafinas e nanofibras de AC foram preparadas por eletrofiação utilizando o CE como coletor, já que a função da membrana era manter o eletrólito dentro da DSSC. A membrana obtida precisava ter uma superfície com alta porosidade, boa cobertura e baixa espessura. A concentração (16 %) e o solvente (2 acetona: 1 DMAc) foram escolhidos a partir das informações obtidas na literatura (TUNGPRAPA et al., 2007).

2.4.1 Caracterização das membranas de fibras eletrofiadas

A primeira variável que foi considerada no presente estudo foi a voltagem. As membranas produzidas utilizando uma tensão de 15 kV (FIGURA 65-a) apresentaram uma quantidade significativa de fibras com diâmetros superiores a 1000 nm, isto é, fibras micrométricas. Com o aumento da tensão para 20 kV (FIGURA 65-b) e 25kV (FIGURA 65-c), foi possível obter fibras com diâmetros menores, a maioria dentro da faixa de 100-1000 nm, ou seja, fibras ultrafinas. Além disso, para a tensão de 20 kV (FIGURA 65-b) e 25 kV (FIGURA 65-c), foi observada uma quantidade significativa na escala nanométrica (1-100 nm).

Dois fatores também avaliados foram a cobertura da região demarcada do CE e a porosidade. Observou-se que para essas duas variáveis, a tensão de 20 kV (FIGURA 65-b) foi a que levou a maior cobertura e maior porosidade (12,6 %), portanto, esta foi a voltagem selecionada para a continuação do estudo.

FIGURA 65 - Imagens MEV das membranas de fibras de eletrofiadas AC em CE (direita), e os histogramas de diâmetro correspondente e porosidade (esquerda) após variar a voltagem de a) 15 kV, b) 20 kV e c) 25kV.



O passo seguinte foi produzir membranas partir da eletrofiação de soluções utilizando diferentes vazões (5,5, 15,5, 25,5, 35,5 μ L min⁻¹) (FIGURA 66). À medida que a vazão aumentou, o diâmetro das fibras diminuiu, aumentando o número de fibras com o diâmetro na faixa de 200-300 nm. As maiores porosidades foram obtidas para as vazões de 5,5 e 25,5 μ L min⁻¹, e a melhor cobertura foi obtida para as vazões de 25,5 e 35,5 μ L min⁻¹. No entanto, a membrana obtida usando a vazão de 35,5 μ L min⁻¹ se mostrou fracamente ligada à superfície do CE. Portanto, a vazão escolhida foi de 25,5 μ L min⁻¹.

FIGURA 66 - Imagens MEV das membranas de fibras de eletrofiadas AC em CE (direita), e os histogramas de diâmetro correspondente e porosidade (esquerda) após variar a vazão de fiação a) 5,5, b) 15,5, c) 25,5 e d) 35,5 μ L min⁻¹.



Usando a voltagem de 20 kV, e a vazão de 25,5 µL min⁻¹, a distância entre a agulha e o coletor foi alterada (FIGURA 67).

FIGURA 67 - Imagens MEV das membranas de fibras de eletrofiadas AC em CE (direita), e os histogramas de diâmetro correspondente e porosidade (esquerda) após variar a distância entre a agulha e o coletor em: a) 5 cm, b) 10 cm, c) 15 cm e d) 20 cm



Observou-se que a distância de 5 cm (FIGURA 67-a) levou a um material filmogênico com baixa porosidade (0,9 %), e uma deposição muito heterogênea, como observado na imagem do CE na FIGURA 67-a. Quando a distância aumentou para 10 cm (FIGURA 67-b), obteve-se uma membrana constituída por fibras e a porosidade aumentou para 2,4 %. As fibras constituintes desta membrana apresentaram diâmetros principalmente entre 1 e 700 nm, majoritariamente entre 100 e 200 nm. Quando a distância foi aumentada para 15 cm (FIGURA 67-c), a porosidade foi maior (12,6 %) que todas as outras. No entanto, os diâmetros das fibras permaneceram na faixa de 300-400 nm. Esta membrana também apresentou maiores

quantidades de fibras menores que 100 nm (nanométricas). No entanto, a maioria das fibras produzidas eram fibras ultrafinas. Quando a distância era de 20 cm (FIGURA 67-d), as fibras apresentaram principalmente diâmetros de 100 a 300 nm, mas a porosidade era menor (7,3 %) do que a obtida na distância de 15 cm (12,6 %).

2.4.2 Desacetilação das membranas de fibras eletrofiadas

Durante os primeiros testes de montagem das DSSC, constatou-se que as membranas de AC sofriam dissolução após determinado tempo de contato com o 3metoxipropionitrila (MPN), que é o principal solvente do eletrólito. Como a proposta inicial era usar uma membrana eletrolítica que tivesse a função de reter o eletrólito até que a DSSC estivesse devidamente selada, esta dissolução passaria a ser um problema para o estudo. A dissolução posterior a selagem da DSSC propriamente não interfere na operação do disposto, porém, se a membrana atuar como um suporte para outras funcionalidades, ela deve se manter também após a montagem da DSSC. Como mencionado na seção experimental, o eletrólito contém uma parte do MPN e, em contato com a membrana da AC, pode causar a dissolução gradual das fibras presentes na membrana.

Geralmente, a solubilidade de um determinado AC em solventes polares aumenta com a diminuição do grau de acetilação (grau de substituição, GS), o que leva ao aumento de grupos hidroxila, enquanto que a solubilidade em solventes apolares aumenta com o aumento do grau de acetilação. Por exemplo, AC com GS<1 pode ser solúvel em água e GS>1 tende a ser insolúvel em água e solúvel em vários solventes orgânicos (MIYAMOTO et al., 1985).

O AC utilizado no presente estudo apresentou um GS de 1,2. Em soluções de AC em solventes polares, a solubilização é dominada pelas forças de ligação hidrogênio entre os grupos funcionais e os solventes, e pode ser avaliada a partir dos parâmetros de solubilidade de Hansen [TABELA 28, (HANSEN, 2007)]. Espera-se que uma completa solubilização ocorra quando os parâmetros de Hansen sejam similares para AC e os solventes (APPAW et al., 2007).

	Polaridade	Ligação hidrogênio	Dispersão			
Acetato de celulose	12,40	7,3	18,2			
N СН3	14,4	7,8	16,6			
3-metoxipropionitrila						

TABELA 28 - Parâmetros de Solubilidade de Hansen para o acetato de celulose, MPN e a água a 25 °C, e respectivas estruturas moleculares

(MPN)

Fonte: HANSEN, C. M. Hansen Solubility Parameters: A User's Handbook. 2. ed. [s.l.] CRC Press, 2007.

É possível encontrar diferentes valores para os parâmetros de Hansen atribuídos para AC, como polaridade [12,7 (ROMERO; LEITE; GONÇALVES, 2009), e 7,10 (GHORANI; RUSSELL; GOSWAMI, 2013)] ligação hidrogênio [11,0 (ROMERO; LEITE; GONÇALVES, 2009), e 11,10 (GHORANI; RUSSELL; GOSWAMI, 2013)] e dispersão [18,6 (ROMERO; LEITE; GONCALVES, 2009), e 14,90 (GHORANI; RUSSELL; GOSWAMI, 2013)]. Acetatos de celulose podem ter diferentes graus de substituição, portanto diferentes números de hidroxilas não acetiladas, e que podem desenvolver ligação hidrogênio, o que pode impactar consideravelmente a dissolução de acetatos com diferentes graus de substituição. Os dados citados não especificaram claramente a que grau de substituição se referem. Ainda, no caso de polímeros a massa molar média e a cristalinidade têm influência sobre a solubilidade. De gualquer forma, os valores descritos indicam que AC e MPN podem desenvolver interações do tipo dispersiva e de dipolo favoráveis, além de hidroxilas que não foram acetiladas poderem estabelecer ligações hidrogênio com os sítios com pares de elétrons não ligados de MPN, o que justifica a solubilidade de AC em MPN.

As membranas de AC eletrofiadas foram então submetidas à desacetilação em diferentes tempos (20-240 min), por imersão em solução alcalina (0,1 mol L⁻¹ NaOH, temperatura ambiente), visando diminuir a solubilidade em MPN, pois a dissolução de AC em um dado solvente depende do respectivo GS. A FIGURA 68 apresenta o mecanismo de desacetilação do acetato de celulose, em que o íon hidróxido promove um ataque nucleofílico ao carbono do grupo carbonila. A seguir, ocorre a liberação

do íon alcóxido, seguida da transferência de um próton produzindo um acetato de celulose menos substituído (CARVALHO, 2009). Esta reação pode ocorrer até completa desacetilação.

FIGURA 68 - Representação do mecanismo de desacetilação do acetato de celulose em meio básico.



Espectros de FTIR (FIGURA 69) e imagens de MEV (FIGURA 70) foram obtidos para avaliar as mudanças no DS e na morfologia das fibras, respectivamente.





O tratamento alcalino por 120 min aumentou a intensidade da banda em 3400 cm⁻¹, relacionado à absorção do grupo hidroxila, enquanto a banda 1700 cm⁻¹, correspondente ao grupo carbonila, significativamente diminuiu. Após 120 min, a banda do grupo carbonila desapareceu, indicando desacetilação total do polímero, ou seja, a membrana passou a ser praticamente constituída por cadeias de celulose. Destaca-se que foi relevante obter tal membrana usando os procedimentos deste estudo. Devido à alta seletividade da celulose frente a solventes, seria impossível

obter uma membrana celulósica a partir da eletrofiação de soluções de acetona:DMAc, devido a insolubilidade de celulose neste sistema de solvente, o qual é adequado para eletrofiação.

FIGURA 70 - Imagens de MEV para membranas eletrofiadas após desacetilação usando NaOH (0,1 mol L^{-1}) em diferentes tempos.



FIGURA 71 - Ângulos de contato para a água e 3-metoxipropionitrilo (MPN) com as membranas fibras obtidas a partir de eletrofiação depois do tratamento alcalino nos tempos determinados. O ângulo de contato foi registrado após 600s para a água e 60s para o MPN.



As imagens de MEV mostraram que o aumento do tempo de tratamento alcalino, especialmente após 40 minutos, levou certa coalescência das fibras (FIGURA 70). O caráter hidrofílico/hidrofóbico e a afinidade interfacial das membranas foram avaliados pelos ângulos de contato com água e MPN. Nenhuma dissolução parcial da membrana foi observada quando a água foi usada. Entretanto, quando em contato
com o MPN por tempos >120 s, as membranas se dissolveram levemente, impedindo uma avaliação significativa. Para comparação, o ângulo de contato das membranas é apresentado na FIGURA 71. O ângulo de contato foi registrado após 600 s (água) e 60 s (MPN) de contato com as membranas. Estes tempos foram relacionados com o período mais longo em que a gota de MPN permaneceu inalterada na superfície das membranas, e o tempo final de análise do ângulo de contato usando água.

Conforme observado na FIGURA 71, sob tratamento alcalino mais severo, o ângulo de contato com a água da membrana diminuiu gradualmente de 70° (não desacetilada) para ~35° (parcialmente desacetilada por 240 min), devido a maior densidade de grupos hidroxila na superfície. O ângulo de contato MPN mostrou pouca mudança para membranas tratadas durante até 60 min, após o que ocorreu dissolução parcial. Para desacetilação mais severa, de 120 min a 180 min, o ângulo de contato de MPN aumentou devido ao número reduzido de grupos acetila.

2.4.3 Caracterização das propriedades fotovoltaicas das DSSCs

As DSSC foram montadas usando dois tipos de membranas para testar o efeito da acetilação das membranas em seu desempenho. A membrana AC obtida em condições otimizadas de eletrofiação foi denominada "célula AC". Já a obtida via desacetilação de AC (tratamento em NaOH por 180 min), foi chamada de "célula ACD" (FIGURA 72). Para fins comparativos, células de referência também foram montadas apenas com eletrólito líquido (na ausência de membrana). Para cada tipo (Célula AC, ACD e Referência), cinco DSSC foram montadas e seu desempenho fotovoltaico foi avaliado (TABELA 29).

A eficiência das células AC $(3,7 \% \pm 0,1)$ e ACD $(4,0 \% \pm 0,2)$ apresentaram valores um pouco maior que as células referência $(3,5 \% \pm 0,2)$. Embora a fotocorrente (I_{SC}) tenha sido semelhante para todas as células, a tensão de circuito aberto (V_{OC}) e o fator de preenchimento (FF) apresentaram valores superiores nas células AC e ACD. O maior valor de V_{OC} pode estar relacionado à distribuição mais uniforme do eletrólito dentro da membrana em contato com a interface do eletrodo. Na célula de Referência, o eletrólito foi preenchido bombeando através do orifício de enchimento, o que causou uma menor uniformidade da adsorção dos íons redox eletrolíticos através da célula. Isso leva a uma variação na tensão geral da célula e, finalmente, a uma queda no V_{OC} para todo o dispositivo (MIETTUNEN; HALME; LUND,

2009; MIETTUNEN et al., 2012). Em uma DSSC com pequena área fotoativa (como usada neste estudo), as perdas de V_{oc} entre os diferentes métodos de preenchimento não foram muito grandes. Estudos anteriores mostraram que quando o comprimento do PE aumentou cerca de 1 a 5 cm, o V_{co} diminiu ~ 50 mV (MIETTUNEN et al., 2012).

A incorporação de membranas na célula solar pode dificultar o movimento de portadores de carga no eletrólito e potencialmente bloquear alguma da superfície do catalisador no CE. Esses efeitos devem aumentar a resistência relacionada à transferência de carga no eletrólito, mas também na interface eletrólito/CE. As resistências aumentadas devem causar uma redução na célula FF; no entanto, como indica a TABELA 29, as células com membranas AC e ACD apresentaram uma melhora em seu fator de preenchimento, melhoria esta semelhante à transferência de carga que foi relatada, mesmo se a membrana ou gelificador no eletrólito ocupa apenas uma pequena fração do volume total de eletrólitos (MIETTUNEN et al., 2014), como ocorreu com as membranas AC e ACD. Considerando a estrutura molecular da membrana e sob as condições utilizadas no presente estudo, há indicação de que os grupos acetila (células AC) permitiram melhor movimentação de elétrons em comparação às células ACD, que possuem maior densidade de hidroxilas.





TABELA 29 - Parâmetros fotovoltaicos de células solares sensibilizadas por corante (DSSC) compreendendo membranas de acetato de celulose (célula AC) e parcialmente desacetilada (célula ACD) bem como célula de referência (sem membrana). lsc: densidade de corrente de

	Isc [mA cm ⁻²]	V oc [mV]	FF [%]	η[%]
Célula Referência	8,7 ± 0,3	771 ± 9	52 ± 3	3,5 ± 0,2
Célula AC	$8,8 \pm 0,4$	780 ± 10	58 ± 2	4,0 ± 0,2
Célula ACD	8,6 ± 0,4	780 ± 10	55 ± 2	3,7 ± 0,1

curto-circuito; Voc: tensão de circuito aberto; FF: fator de preenchimento; η : eficiência de conversão

A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) foi realizada em um modelo de circuito equivalente, incluindo a resistência em série (Rs) e uma impedância na interface eletrólito/eletrodo (Rct) e a capacitância relacionada CCPE. A TABELA 30 mostra que a resistência ôhmica, Rs, variou para todas as células. RS é muito dependente da resistência do revestimento FTO nos substratos de vidro. Tipicamente, as variações no Rs surgem da montagem do dispositivo, isto é, pequenas diferenças no posicionamento da fita de cobre e da tinta prateada influenciam.

A resistência de transferência de carga na interface do CE / eletrólito, R_{CE}, é útil para entender os efeitos das membranas AC e ACD. A TABELA 30 mostra que as células contendo as membranas tiveram significativamente reduzido R_{CE}, apesar de R_S foi um pouco maior nas mesmas células. O menor R_{CE} nas células incorporadas à membrana implica uma melhor transferência de carga na interface eletrodo/CE, que é causada pela adesão da membrana ao CE. Assim, melhor adsorção e acesso do eletrólito redox ao eletrodo foi obtido, resultando em maior FF e eficiência de conversão em relação às células de referência (TABELA 29).

	<i>R</i> _s (Ω)	<i>R</i> _{CE} (Ω)	Ссре-се (µF)
Célula Referência	12 ± 1	62 ± 9	32 ± 3
Célula AC	23 ± 5	34 ± 14	14 ± 6
Célula ACD	16 ± 3	50 ± 10	12 ± 2

TABELA 30 - Resistência Ôhmica RS e de transferência de carga no CE / eletrólito interface R_{CE} e capacitância Helmholtz correspondente C_{CPE-CE}

Medidas de IPCE foram realizadas e revelaram que a membrana as membranas AC e ACD não afetaram a função do PE. A análise de IPCE refere-se ao número de elétrons coletados para o número de fótons incidentes como uma função do comprimento de onda da radiação incidente, também conhecida como eficiência quântica (QE). Como mostrado na FIGURA 73, o QE máximo para todas as fotocélulas foi de cerca de 55 %, principalmente na faixa de 500-550 nm e similar em toda a faixa visível. Isso indicou que a presença das membranas AC e ACD não levou a alterações no número de fótons que são absorvidos durante o deslocamento do comprimento de onda. Em outras palavras, as membranas AC e ACD não interferiram na produção de corrente no PE.





2.4.4 Estabilidade das DSSCs

Os testes de estabilidade foram conduzidos por 500 h sob iluminação solar a 40 °C para avaliar a influência das membranas no desempenho a longo prazo das DSSC obtidas no presente estudo (I_{sc} , V_{oc} , FF e ŋ; FIGURA 74).



FIGURA 74 - Desempenho de estabilidade em função do tempo das DSSC com as membranas incorporadas à estrutura em comparação com a célula de referência, sob 1 luz solar a 40°C

Como mostrado na FIGURA 74, o desempenho fotovoltaico foi maior comparado ao desempenho inicial da DSSC relatada na TABELA 29. Os valores mais altos de Isc no sistema de imersão de luz podem ser explicados pelo fato de que nenhuma fita preta foi usada durante os testes de estabilidade ao contrário de quando foram realizados os testes prévios (TABELA 29). A ausência desta fita preta reduziu a luz difusa no simulador solar, mas causou o superaquecimento das células, elevando os valores de Isc. O desempenho da célula estabilizou durante as primeiras horas após a sua montagem devido à melhor penetração do eletrólito na camada de TiO₂ mesoporosa, que tipicamente mostra maior eficiência de fotocorrente e eficiência global (FENG et al., 2016). Pode-se observar que todas as DSSC mantiveram mais de 90 % de sua eficiência geral inicial durante 500 horas. Testes de envelhecimento mais longos, por 1000 h, causaram um declínio no desempenho da célula AC enquanto a célula ACD estava estável, semelhante à célula de referência. A eficiência da célula AC reduzida é provavelmente devida à dissolução parcial da membrana da AC em contato com o eletrólito, que continha MPN. Isso pode causar a liberação do eletrólito preso das gaiolas da rede de fibra e resulta em uma distribuição não uniforme do eletrólito sobre a célula. Isso teve um impacto no V_{OC} , como observado na FIGURA 74-b.

Durante testes de estabilidade, algumas variações nas características da célula solar são esperadas. Contudo, a variação na eficiência geral das células com as membranas eletrolíticas não foi significativa. Isto é devido ao fato que quando V_{OC}

diminuiu, I_{SC} e FF aumentaram, compensando assim a diminuição de V_{OC}, e mantendo a eficiência estável.

2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Quando utilizadas as membranas, foi observado um aumento na eficiência em torno de 14%, e as células com membranas eletrolíticas apresentaram estabilidade semelhante à das células referências.

Quando presentes, os grupos acetila (células AC) auxiliaram na movimentação dos elétrons, ao contrário do observado para célula ACD, em que grupos hidroxila estavam presentes, indicando que os grupos acetila apresentaram menos resistências a movimentação dos elétrons.

Não foram notadas alterações nos números de fótons absorvidos durante o deslocamento do comprimento de onda, quando as membranas eletrolíticas foram utilizadas, indicando que a presença das membranas não afetou a absorção dos raios de luz no fotoeletrodo.

As células solares obtidas neste estudo apresentaram eficiência geral superior a 90 % durante 500 h de incidência de luz, sendo que em tempos superiores, a eficiência de AC decaiu drasticamente, ao contrário do observado para ACD. Este resultado foi relacionado à interação da membrana AC com o solvente, o que levou a solubilização da mesma no interior da DSSC, e a uma distribuição não uniforme do eletrólito em tempos superiores a 500 h.

3 CONCLUSÕES

No presente trabalho foi observado que durante a mercerização prevaleceu a eliminação das hemiceluloses à lignina, levando a alterações nos índices de cristalinidade, rendimento e acessibilidade das enzimas celulases.

No geral, os resultados obtidos durante o estudo da hidrólise enzimática das fibras lignocelulósicas de sisal indicaram que a utilização de surfactantes durante as reações pode ou não resultar em mudanças no rendimento, bem como auxiliar positivamente ou negativamente no rendimento. Entre os fatores que predominam para estes efeitos estão a estrutura química e a concentração dos surfactantes, e a composição das fibras lignocelulósicas.

Também foi observado que a eliminação de hemiceluloses e lignina, e consequente aumento da área superficial das fibras, via mercerização, favoreceram significativamente a conversão da biomassa em glicose, mesmo sem uma eficiente eliminação de lignina.

Os altos rendimentos de glicose obtidos (SNM-R80: 51 g L⁻¹ \pm 3, SM: 95,800 g L⁻¹ \pm 0,003, e SM-LS5: 98,3 g L⁻¹ \pm 0,1) mostraram que a fibra lignocelulósica de sisal é uma fonte promissora para produção de etanol a partir da sacarificação da biomassa.

No que concerne à aplicação de membranas de acetato de celulose e de acetato de celulose parcialmente desacetilada em células solares, foi observado que as mesmas apresentaram vantagens tais como a diminuição da perda de eletrólito durante a montagem, e a distribuição uniforme de carga pela célula. A técnica utilizada (eletrofiação) para a obtenção das membranas apresentou grande potencial devido ao curto intervalo de tempo necessário para a produção das mesmas (comparando às membranas produzidas a partir de criogéis que foram utilizadas com o mesmo intuito), tornando, a aplicação deste tipo de membrana em escala industrial viável.

Materiais lignocelulósicos podem ser considerados como uma das matériasprimas renováveis mais promissoras, no sentido de atender às expectativas referentes a aspectos de sustentabilidade das sociedades industriais modernas. O conjunto de resultados obtidos no presente estudo vem de encontro a estas expectativas, e corresponde a uma contribuição para o avanço de pesquisas na área de biomassa lignocelulósica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, E. V. R.; MORGADO, D. L.; RAMOS, L. A.; FROLLINI, E. Sisal cellulose and its acetates: generation of films and reinforcement in a one-pot process. **Cellulose**, v. 20, n. 1, p. 453-465, 2013.

ALVES, L.; MEDRONHO, B.; ANTUNES, F. E.; TOPGAARD, D.; LINDMAN, B. Dissolution state of cellulose in aqueous systems. 2. Acidic solvents. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 707-715, 2016.

ALWADANI, N.; FATEHI, P. Synthetic and lignin-based surfactants: challenges and opportunities. **Carbon Resources Conversion**, v. 1, n. 2, p. 126-138, 2018.

APPAW, C.; GILBERT, R. D.; KHAN, S. A.; KADLA, J. F. Viscoelastic behavior of cellulose acetate in a mixed solvent system. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 5, p. 1541-1547, 2007.

ARAÚJO, C. K. C.; CAMPOS, A. O.; PADILHA, C. E. A.; SOUSA JÚNIOR, F. C.; NASCIMENTO, R. J. A.; MACEDO, G. R.; SANTOS, E. S. Enhancing enzymatic hydrolysis of coconut husk through Pseudomonas aeruginosa AP 029/GLVIIA rhamnolipid preparation. **Bioresource Technology**, v. 237, p. 20-26, 2017.

ASGHAR, M. I. **Stability Issues of Dye Solar Cells**. 2012. 162f. Tese (Doutorado em Ciências Teconológicas) - School of Science, Aalto University, Espoo, 2012.

ASS, B. A. P.; CIACCO, G. T.; FROLLINI, E. Cellulose acetates from linters and sisal: correlation between synthesis conditions in DMAc/LiCl and product properties. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 14, p. 1696-1702, 2006.

BAI, L.; MCCLEMENTS, D. J. Formation and stabilization of nanoemulsions using biosurfactants: rhamnolipids. Journal of Colloid and Interface Science, v. 479, p. 71-79, 2016.

BELLA, F.; PUGLIESE, D.; ZOLIN, L.; GERBALDI, C. Paper-based quasi-solid dyesensitized solar cells. **Electrochimica Acta**, v. 237, p. 87-93, 2017.

BIASUTTI, M. A.; ABUIN, E. B.; SILBER, J. J.; CORREA, N. M.; LISSI, E. A. Kinetics of reactions catalyzed by enzymes in solutions of surfactants. Advances in Colloid and Interface Science, v. 136, n. 1, p. 1-24, 2008.

BORGHEI, M.; MIETTUNEN, K.; GRECA, L. G.; POSKELA, A.; LEHTONEN, J.; LEPIKKO, S.; TARDY, B. L.; LUND, P.; SUBRAMANIAN, V. R.; ROJAS, O. J. Biobased aerogels with different surface charge as electrolyte carrier membranes in quantum dot-sensitized solar cell. **Cellulose**, v. 25, n. 6, p. 3363-3375, 2018.

BURATTI, C.; FOSCHINI, D.; BARBANERA, M.; FANTOZZI, F. Fermentable sugars production from peach tree prunings: response surface model optimization of NaOH alkaline pretreatment. **Biomass and Bioenergy**, v. 112, p. 128-137, 2018.

BUSCHLE-DILLER, G.; ZERONIAN, S. H. Enhancing the reactivity and strength of cotton fibers. Journal of Applied Polymer Science, v. 45, n. 6, p. 967-979, 1992.

CAI, C.; QIU, X.; LIN, X.; LOU, H.; PANG, Y.; YANG, D.; CHEN, S.; CAI, K. Improving enzymatic hydrolysis of lignocellulosic substrates with pre-hydrolysates by adding cetyltrimethylammonium bromide to neutralize lignosulfonate. **Bioresource Technology**, v. 216, p. 968-975, 2016.

CANILHA, L.; MILAGRES, A. M. F.; SILVA, S. S.; SILVA, J. B. A.; FELIPE, M. G. A.; ROCHA, G. J. M.; FERRAZ, A.; CARVALHO, W. Sacarificação da biomassa lignocelulósica através de pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática: uma estratégia de "desconstrução" da fibra vegetal. **Revista Analytica**, v. 44, p. 48-54, 2010.

CARVALHO, L. C. Obtenção de acetato de celulose proveniente do bagaço de cana-de-açúcar e avaliação de sua aplicação em sistemas de difusão controlada. 2009. 127 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade de Campinas, Campinas, 2009.

CHEN, Y.-A.; ZHOU, Y.; QIN, Y.; LIU, D.; ZHAO, X. Evaluation of the action of Tween 20 non-ionic surfactant during enzymatic hydrolysis of lignocellulose: pretreatment, hydrolysis conditions and lignin structure. **Bioresource Technology**, v. 269, p. 329-338, 2018.

CHENG, H.; WU, Y.; SU, J.; WANG, Z.; GHIMIRE, R. P.; LIANG, M.; SUN, Z.; XUE, S. Organic dyes containing indolodithienopyrrole unit for dye-sensitized solar cells. **Dyes and Pigments**, v. 149, p. 16-24, 2018.

CHRYSIKOU, L. P.; BEZERGIANNI, S.; KIPARISSIDES, C. Environmental analysis of a lignocellulosic-based biorefinery producing bioethanol and high-added value chemicals. Sustainable Energy Technologies and Assessments, v. 28, p. 103-109, 2018.

CRAGGS, L.; GILBERT, P. Sustainable greenhouse gas reductions from bioenergy systems-climate change: a bioenergy driver and constraint. In: Greenhouse gas balances of bioenergy systems. [S.l.]: Academic Press, 2017. p. 1-10.

CREDOU, J.; BERTHELOT, T. Cellulose: from biocompatible to bioactive material. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 2, n. 30, p. 4767-4788, 2014.

D'ALMEIDA, J. R. M. Effect of surface treatments on the cross-section area and on the tensile properties of sisal fibers AU - Quinaya, D.C.P. Journal of Natural Fibers, p. 1-8, 2018.

DADI, A. P.; VARANASI, S.; SCHALL, C. A. Enhancement of cellulose saccharification kinetics using an ionic liquid pretreatment step. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 95, n. 5, p. 904-910, 2006.

DAHRAZMA, B.; MULLIGAN, C. N.; NIEH, M. P. Effects of additives on the structure of rhamnolipid (biosurfactant): a small-angle neutron scattering (SANS) study. Journal of Colloid and Interface Science, v. 319, n. 2, p. 590-593, 2008.

DAS, M.; CHAKRABORTY, D. Influence of mercerization on the dynamic mechanical properties of bamboo, a natural lignocellulosic composite. Industrial & Engineering Chemistry Research, v. 45, n. 19, p. 6489-6492, 2006.

DE PAULA, M. P.; LACERDA, T. M.; FROLLINI, E. Sisal cellulose acetates obtained from heterogeneous reactions. **Express Polymer Letters**, v. 2, n. 6, p. 423-428, 2008.

DE PAULA, M. P.; LACERDA, T. M.; ZAMBON, M. D.; FROLLINI, E. Adding value to the Brazilian sisal: acid hydrolysis of its pulp seeking production of sugars and materials. **Cellulose**, v. 19, n. 3, p. 975-992, 2012.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. Microscopia eletrônica de varredura. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007. 60 p.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimisation of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, n. 4, p. 214-219, 1980.

DOS SANTOS, A. C.; XIMENES, E.; KIM, Y.; LADISCH, M. R. Lignin-enzyme interactions in the hydrolysis of lignocellulosic biomass. **Trends in Biotechnology**, 2018. In press.

FANG, S.; WANG, W.; TONG, S.; ZHANG, C.; LIU, P. Evaluation of the effects of isolated lignin on cellulose enzymatic hydrolysis of corn stover pretreatment by NaOH combined with ozone. **Molecules**, v. 23, n. 6, p. 1495, 2018.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO. Statistics division. [S. l.]: Union Nations, 2018 .Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 12 de dez. 2018.

FENG, W.; LI, Y.; DU, J.; WANG, W.; ZHONG, X. Highly efficient and stable quasisolid-state quantum dot-sensitized solar cells based on a superabsorbent polyelectrolyte. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 4, n. 4, p. 1461-1468, 2016.

FENGEL, D.; WEGENER, G. Wood. New York: Walter de Gruyter, 1989. 613 p.

FRENCH, A. D. Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs. **Cellulose**, v. 21, n. 2, p. 885-896, 2014.

FRENCH, A. D.; SANTIAGO CINTRÓN, M. Cellulose polymorphy, crystallite size, and the Segal Crystallinity Index. **Cellulose**, v. 20, n. 1, p. 583-588, 2013.

FROLLINI, E.; SILVA, C. G.; RAMIRES, E. C. Phenolic resins as a matrix material in advanced fiber-reinforced polymer (FRP) composites. In: BAI, J. (Ed.). Advanced fibre-reinforced polymer (FRP) composites for structural applications. [S.l.]: Woodhead Publishing, 2013. p. 7-43.

FURLAN, D. M. Ésteres de celulose: síntese e posterior preparação de filmes com incorporação de nanopartículas de magnetita. 2014. 160 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

GHORANI, B.; RUSSELL, S. J.; GOSWAMI, P. Controlled morphology and mechanical characterisation of electrospun cellulose acetate fibre webs. International Journal of Polymer Science, v. 2013, p. 1-12, 2013.

GOMES, B. L. **Pré-tratamento e sacarificação da fibra de curauá**. 2017. 120 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

GONCALVES, L. M.; DE ZEA BERMUDEZ, V.; RIBEIRO, H. A.; MENDES, A. M. Dyesensitized solar cells: A safe bet for the future. **Energy & Environmental Science**, v. 1, n. 6, p. 655-667, 2008. GUDIÑA, E. J.; RODRIGUES, A. I.; DE FREITAS, V.; AZEVEDO, Z.; TEIXEIRA, J. A.; RODRIGUES, L. R. Valorization of agro-industrial wastes towards the production of rhamnolipids. **Bioresource Technology**, v. 212, p. 144-150, 2016.

GUPTA, A.; VERMA, J. P. Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 41, p. 550-567, 2014.

HALL, M.; BANSAL, P.; LEE, J. H.; REALFF, M. J.; BOMMARIUS, A. S. Cellulose crystallinity - a key predictor of the enzymatic hydrolysis rate. **FEBS Journal**, v. 277, n. 6, p. 1571-1582, 2010.

HALME, J.; VAHERMAA, P.; MIETTUNEN, K.; LUND, P.; JANNE, H.; PAULA, V.; KATI, M.; PETER, L. Device physics of dye solar cells. **Advanced Materials**, v. 22, n. 35, p. E210-E234, 2010.

HANSEN, C. M. Hansen solubility parameters: a user's handbook. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. 544 p.

HASHMI, S. G.; OZKAN, M.; HALME, J.; MISIC, K. D.; ZAKEERUDDIN, S. M.; PALTAKARI, J.; GRÄTZEL, M.; LUND, P. D. High performance dye-sensitized solar cells with inkjet printed ionic liquid electrolyte. **Nano Energy**, v. 17, p. 206-215, 2015.

HAYES, D. J. M. Biomass composition and its relevance to biorefining. In: TRIANTAFYLLIDIS, K. S.; LAPPAS, A. A.; STÖCKER, M. (Eds.) **The role of catalysis for the sustainable production of bio-fuels and bio-chemicals**. Amsterdam: Elsevier, 2013. p. 27-65.

HOLMBERG, K. Interactions between surfactants and hydrolytic enzymes. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 168, p. 169-177, 2018.

HU, F.; JUNG, S.; RAGAUSKAS, A. Pseudo-lignin formation and its impact on enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 117, p. 7-12, 2012.

HUBBE, M. A.; AYOUB, A.; DAYSTAR, J. S.; VENDITTI, R. A.; PAWLAK, J. J. Enhanced absorbent products incorporating cellulose and its derivatives: a review. **BioResources**, V 8, N 4, p. 6556-6629, 2013.

JÄGER-WALDAU, A. **PV Status Report 2016**. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2016. 60 p. (Report: science for policy report).

JIN, W.; CHEN, L.; HU, M.; SUN, D.; LI, A.; LI, Y.; HU, Z.; ZHOU, S.; TU, Y.; XIA, T.; WANG, Y.; XIE, G.; LI, Y.; BAI, B.; PENG, L. Tween-80 is effective for enhancing steam-exploded biomass enzymatic saccharification and ethanol production by specifically lessening cellulase absorption with lignin in common reed. **Applied Energy**, v. 175, p. 82-90, 2016.

JOHN, M. J.; ANANDJIWALA, R. D. Surface modification and preparation techniques for textile materials. In: WEI, Q. **Surface modification of textiles.** Sawston: Woodhead Publishing, 2009. p. 1-25.

JÖNSSON, L. J.; MARTÍN, C. Pretreatment of lignocellulose: formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 103-112, 2016.

KASCHUK, J. J. Hidrólise enzimática da polpa celulósica de sisal. 2014. 170f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

KASCHUK, J. J.; FROLLINI, E. Effects of average molar weight, crystallinity, and hemicelluloses content on the enzymatic hydrolysis of sisal pulp, filter paper, and microcrystalline cellulose. **Industrial Crops and Products**, v. 115, p. 280-289, 2018.

KASCHUK, J. J.; LACERDA, T. M.; COMA, V.; FROLLINI, E. Enzymatic hydrolysis of mercerized and unmercerized sisal pulp. **Cellulose**, v. 24, n. 6, p. 2437-2453, 2017.

KELLOCK, M.; RAHIKAINEN, J.; MARJAMAA, K.; KRUUS, K. Lignin-derived inhibition of monocomponent cellulases and a xylanase in the hydrolysis of lignocellulosics. **Bioresource Technology**, v. 232, p. 183-191, 2017.

KIM, J. S.; LEE, Y. Y.; KIM, T. H. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 42-48, 2016.

KIM, K.; LEE, J.; LEE, S.; YOO, T.; HAN, H. Synthesis of new flexible diamine for applications in transparent poly(amide-imide) thin films with low residual stress. **Progress in Organic Coatings**, v. 117, p. 130-140, 2018.

KUMAR, D.; MURTHY, G. S. Enzymatic hydrolysis of cellulose for ethanol production: fundamentals, optimal enzyme ratio, and hydrolysis modeling. In: GUPTA, V. K. (Ed.) New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering: microbial cellulase system properties and applications. Amsterdam: Elsevier, 2016. p. 65-78. LACERDA, T. M. Hidrólise de polpa de sisal como via de produção de etanol e materiais. 2012. 258 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

LACERDA, T. M.; DE PAULA, M. P.; ZAMBON, M. D.; FROLLINI, E. Saccharification of Brazilian sisal pulp: evaluating the impact of mercerization on non-hydrolyzed pulp and hydrolysis products. **Cellulose**, v. 19, n. 2, p. 351-362, 2012.

LACERDA, T. M.; ZAMBON, M. D.; FROLLINI, E. Oxalic acid as a catalyst for the hydrolysis of sisal pulp. Industrial Crops and Products, v. 71, p. 163-172, set. 2015.

LAN, T. Q.; LOU, H.; ZHU, J. Y. Enzymatic saccharification of lignocelluloses should be conducted at elevated pH 5.2-6.2. **BioEnergy Research**, v. 6, n. 2, p. 476-485, 2013.

LEVINE, S. E.; FOX, J. M.; BLANCH, H. W.; CLARK, D. S. A mechanistic model of the enzymatic hydrolysis of cellulose. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 107, n. 1, p. 37-51, 2010.

LEWIS, N. S. Research opportunities to advance solar energy utilization. **Science**, v. 351, n. 6271, p. 353-364, 2016.

LI, L.; LU, Q.; LI, J.; LIU, X.; SHI, G.; LIU, F.; LIU, S.; DING, W.; ZHAO, X.; ZHANG, Y. Application of rhenium-doped Pt3Ni on carbon nanofibers as counter electrode for dye-sensitized solar cells. **Applied Surface Science**, v. 448, p. 522-528, 2018a.

LI, L.; ZHANG, X.; WANG, D.; ZHANG, W.; LI, X.; ZHAO, X.; ZHANG, Q.; GU, L.; YU, Z.; WU, M. Electrospinning synthesis of high performance carbon nanofiber coated flower-like MoS2 nanosheets for dye-sensitized solar cells counter electrode. **Electrochimica Acta**, v. 280, p. 94-100, 2018b.

LI, P.; ZHANG, Y.; FA, W.; ZHANG, Y.; HUANG, B. Synthesis of a grafted cellulose gel electrolyte in an ionic liquid ([Bmim]I) for dye-sensitized solar cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 3, p. 1216-1220, 2011.

LIN, N.; DUFRESNE, A. Nanocellulose in biomedicine: current status and future prospect. **European Polymer Journal**, v. 59, p. 302-325, 2014.

LIN, X.; WU, L.; HUANG, S.; QIN, Y.; QIU, X.; LOU, H. Effect of lignin-based amphiphilic polymers on the cellulase adsorption and enzymatic hydrolysis kinetics of cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 207, p. 52-58, 2019.

LING, Z.; CHEN, S.; ZHANG, X.; XU, F. Exploring crystalline-structural variations of cellulose during alkaline pretreatment for enhanced enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 224, p. 611-617, 2017.

LOU, H.; WANG, M.; LAI, H.; LIN, X.; ZHOU, M.; YANG, D.; QIU, X. Reducing nonproductive adsorption of cellulase and enhancing enzymatic hydrolysis of lignocelluloses by noncovalent modification of lignin with lignosulfonate. **Bioresource Technology**, v. 146, p. 478-484, 2013.

LOU, H.; YUAN, L.; QIU, X.; QIU, K.; FU, J.; PANG, Y.; HUANG, J. Enhancing enzymatic hydrolysis of xylan by adding sodium lignosulfonate and long-chain fatty alcohols. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 48-54, 2016.

LOU, H.; ZENG, M.; HU, Q.; CAI, C.; LIN, X.; QIU, X.; YANG, D.; PANG, Y. Nonionic surfactants enhanced enzymatic hydrolysis of cellulose by reducing cellulase deactivation caused by shear force and air-liquid interface. **Bioresource Technology**, v. 249, p. 1-8, 2018.

LOU, H.; ZHOU, H.; LI, X.; WANG, M.; ZHU, J. Y.; QIU, X. Understanding the effects of lignosulfonate on enzymatic saccharification of pure cellulose. **Cellulose**, v. 21, n. 3, p. 1351-1359, 2014.

LOVIKKA, V. A.; RAUTKARI, L.; MALONEY, T. C. Changes in the hygroscopic behavior of cellulose due to variations in relative humidity. **Cellulose**, v. 25, n. 1, p. 87-104, 2018.

LU, X.; FENG, X.; LI, X.; ZHAO, J. The adsorption properties of endoglucanase to lignin and their impact on hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 267, p. 110-116, 2018.

MALI, S. S.; PATIL, P. S.; HONG, C. K. Low-cost electrospun highly crystalline kesterite Cu2ZnSnS4 nanofiber counter electrodes for efficient dye-sensitized solar cells. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 6, n. 3, p. 1688-1696, 2014.

MARCOS, M.; GARCÍA-CUBERO, M. T.; GONZÁLEZ-BENITO, G.; COCA, M.; BOLADO, S.; LUCAS, S. Optimization of the enzymatic hydrolysis conditions of steamexploded wheat straw for maximum glucose and xylose recovery. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 88, n. 2, p. 237-246, 2013.

MATHEW, S.; YELLA, A.; GAO, P.; HUMPHRY-BAKER, R.; CURCHOD, B. F. E.; ASHARI-ASTANI, N.; TAVERNELLI, I.; ROTHLISBERGER, U.; NAZEERUDDIN, M. K.; GRÄTZEL, M. Dye-sensitized solar cells with 13% efficiency achieved through the molecular engineering of porphyrin sensitizers. **Nature Chemistry**, v. 6, p. 242, 2014. MEGIATTO JR, J. D.; HOAREAU, W.; GARDRAT, C.; FROLLINI, E.; CASTELLAN, A. Sisal fibers: surface chemical modification using reagent obtained from a renewable source; characterization of hemicellulose and lignin as model study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 21, p. 8576-8584, 2007.

MEGIATTO JR, J. D.; SILVA, C. G.; ROSA, D. S.; FROLLINI, E. Sisal chemically modified with lignins: correlation between fibers and phenolic composites properties. **Polymer Degradation and Stability**, v. 93, n. 6, p. 1109-1121, 2008.

MIETTUNEN, K.; ASGHAR, I.; MASTROIANNI, S.; HALME, J.; BARNES, P. R. F.; RIKKINEN, E.; O'REGAN, B. C.; LUND, P. Effect of molecular filtering and electrolyte composition on the spatial variation in performance of dye solar cells. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 664, p. 63-72, 2012.

MIETTUNEN, K.; HALME, J.; LUND, P. Spatial distribution and decrease of dye solar cell performance induced by electrolyte filling. **Electrochemistry Communications**, v. 11, n. 1, p. 25-27, 2009.

MIETTUNEN, K.; VAPAAVUORI, J.; TIIHONEN, A.; POSKELA, A.; LAHTINEN, P.; HALME, J.; LUND, P. Nanocellulose aerogel membranes for optimal electrolyte filling in dye solar cells. **Nano Energy**, v. 8, p. 95-102, 2014.

MIYAMOTO, T.; SATO, Y.; SHIBATA, T.; TANAHASHI, M.; INAGAKI, H. 13C-NMR spectral studies on the distribution of substituents in water-soluble cellulose acetate. Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition, v. 23, n. 5, p. 1373-1381, 1985.

MONDAL, P.; DAS, D. Further improvements in conducting and transparent properties of ZnO:Ga films with perpetual c-axis orientation: Materials optimization and application in silicon solar cells. **Applied Surface Science**, v. 411, p. 315-320, 2017.

MONSCHEIN, M.; REISINGER, C.; NIDETZKY, B. Enzymatic hydrolysis of microcrystalline cellulose and pretreated wheat straw: a detailed comparison using convenient kinetic analysis. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 679-687, 2013.

MORGADO, D. L. **Biocompósitos a partir de celulose de linter:** filmes de acetatos de celulose/celulose e quitosana/celulose. 2009. 304 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

MUHARJA, M.; UMAM, D. K.; PERTIWI, D.; ZUHDAN, J.; NURTONO, T.; WIDJAJA, A. Enhancement of sugar production from coconut husk based on the impact of the combination of surfactant-assisted subcritical water and enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 274, p. 89-96, 2019.

MULLAN, B.; HAQQ-MISRA, J. Population growth, energy use, and the implications for the search for extraterrestrial intelligence. **Futures**, p. 1-30, 2018.

MÜLLER, M. M.; KÜGLER, J. H.; HENKEL, M.; GERLITZKI, M.; HÖRMANN, B.; PÖHNLEIN, M.; SYLDATK, C.; HAUSMANN, R. Rhamnolipids—next generation surfactants? **Journal of Biotechnology**, v. 162, n. 4, p. 366-380, 2012.

NAGARAJAN, S.; SKILLEN, N. C.; IRVINE, J. T. S.; LAWTON, L. A.; ROBERTSON, P. K. J. Cellulose II as bioethanol feedstock and its advantages over native cellulose. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 77, p. 182-192, 2017.

NAKAMURA, A.; IINO, R. Visualization of functional structure and kinetic dynamics of cellulases. In: YAMAGUCHI, Y.; KATO, K. (Eds.). **Glycobiophysics.** Singapore: Springer Singapore, 2018. p. 201-217. (Advances in Experimental Medicine and Biology, 1104)

NAM, S.; FRENCH, A. D.; CONDON, B. D.; CONCHA, M. Segal crystallinity index revisited by the simulation of X-ray diffraction patterns of cotton cellulose IB and cellulose II. **Carbohydrate Polymers**, v. 135, p. 1-9, 2016.

NANDA, S.; MOHAMMAD, J.; REDDY, S. N.; KOZINSKI, J. A.; DALAI, A. K. Pathways of lignocellulosic biomass conversion to renewable fuels. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 4, n. 2, p. 157-191, 2014.

NARGOTRA, P.; SHARMA, V.; GUPTA, M.; KOUR, S.; BAJAJ, B. K. Application of ionic liquid and alkali pretreatment for enhancing saccharification of sunflower stalk biomass for potential biofuel-ethanol production. **Bioresource Technology**, v. 267, p. 560-568, 2018.

NASIR, M.; SUBHAN, A.; PRIHANDOKO, B.; LESTARININGSIH, T. Nanostructure and property of electrospun SiO2-cellulose acetate nanofiber composite by electrospinning. **Energy Procedia**, v. 107, p. 227-231, 2017.

NECHYPORCHUK, O.; BELGACEM, M. N.; BRAS, J. Production of cellulose nanofibrils: a review of recent advances. Industrial Crops and Products, v. 93, p. 2-25, 25 dez. 2016.

NEVES, P. V. V; PITARELO, A. P. P.; RAMOS, L. P. P. Production of cellulosic ethanol from sugarcane bagasse by steam explosion: effect of extractives content, acid catalysis and different fermentation technologies. **Bioresource technology**, v. 208, p. 184-94, 2016.

NIU, H.; SHAH, N.; KONTORAVDI, C. Modelling of amorphous cellulose depolymerisation by cellulases, parametric studies and optimisation. **Biochemical engineering journal**, v. 105, Pt B, p. 455-472, 2016.

OLIVEIRA, F. **Lignopoliuretanos:** preparação, caracterização e aplicação em compósitos de sisal. 2014.174 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

OLIVEIRA, F.; SILVA, C. G.; RAMOS, L. A.; FROLLINI, E. Phenolic and lignosulfonatebased matrices reinforced with untreated and lignosulfonate-treated sisal fibers. Industrial Crops and Products, v. 96, p. 30-41, 2017.

O'REGAN, B.; GRÄTZEL, M. A low-cost, high-efficiency solar cell based on dyesensitized colloidal TiO2 films. **Nature**, v. 353, p. 737-740, 1991.

PANDIYAN, K.; SINGH, A.; SINGH, S.; SAXENA, A. K.; NAIN, L. Technological interventions for utilization of crop residues and weedy biomass for second generation bio-ethanol production. **Renewable Energy**, v. 132, p. 723-741, 2019.

PARDO, A. G. Effect of surfactants on cellulase production by Nectria catalinensis. **Current Microbiology**, v. 33, n. 4, p. 275-278, 1996.

PASQUINI, D.; PIMENTA, M. T. B.; FERREIRA, L. H.; CURVELO, A. A. S. Sugar cane bagasse pulping using supercritical CO2 associated with co-solvent 1-butanol/water. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 34, n. 2, p. 125-131, 2005.

POSKELA, A. New semi-solid electrolytes for mass production and increased lifetime of dye solar cells. 2017. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia) - School of Science, Aalto University, Espoo, 2017.

POSKELA, A.; VAPAAVUORI, J.; GRECA, L. G.; LEHTONEN, J.; SOLIN, K.; AGO, M.; LUND, P. D.; ROJAS, O. J. Bio-based aerogels aid preparation and improve efficiency of solar cells. [s.d.]

RABEMANOLONTSOA, H.; SAKA, S. Various pretreatments of lignocellulosics. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 83-91, 2016.

RAHMAN, M. M.; KHAN, M. A. Surface treatment of coir (Cocos nucifera) fibers and its influence on the fibers' physico-mechanical properties. **Composites Science and Technology**, v. 67, n. 11, p. 2369-2376, 2007.

RAHUL; SINGH, P. K.; BHATTACHARYA, B.; KHAN, Z. H. Environment approachable dye sensitized solar cell using abundant natural pigment based dyes with solid polymer electrolyte. **Optik**, v. 165, p. 186-194, 2018.

RAMIRES, E. C.; OLIVEIRA, F.; FROLLINI, E.; DE OLIVEIRA, F.; FROLLINI, E. Composites based on renewable materials: polyurethane-type matrices from forest byproduct/vegetable oil and reinforced with lignocellulosic fibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 129, n. 4, p. 2224-2233, 2013.

RAVINDRAN, R.; JAISWAL, A. K. A comprehensive review on pre-treatment strategy for lignocellulosic food industry waste: challenges and opportunities. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 92-102, 2016.

ROCHA, G. J. M.; NASCIMENTO, V. M.; SILVA, V. F. N. da; CORSO, D. L. S.; GONÇALVES, A. R. Contributing to the environmental sustainability of the second generation ethanol production: delignification of sugarcane bagasse with sodium hydroxide recycling. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p. 63-68, ago. 2014.

RODRIGUES, B. M.; HEIKKILÄ, E.; FROLLINI, E.; FARDIM, P. Multi-technique surface characterization of bio-based films from sisal cellulose and its esters: A FE-SEM, µ-XPS and ToF-SIMS approach. **Cellulose**, v. 21, n. 3, p. 1289-1303, 2014.

RODRIGUES, B. V. M.; RAMIRES, E. C.; SANTOS, R. P. O.; FROLLINI, E. Ultrathin and nanofibers via room temperature electrospinning from trifluoroacetic acid solutions of untreated lignocellulosic sisal fiber or sisal pulp. Journal of Applied Polymer Science, v. 132, n. 16, p.41826 (1-8), 2015.

ROMERO, R. B.; LEITE, C. A. P.; GONÇALVES, M. do C. The effect of the solvent on the morphology of cellulose acetate/montmorillonite nanocomposites. **Polymer**, v. 50, n. 1, p. 161-170, 2009.

RONG, Y.; LI, X.; LIU, G.; WANG, H.; KU, Z.; XU, M.; LIU, L.; HU, M.; YANG, Y.; ZHANG, M.; LIU, T.; HAN, H. Monolithic quasi-solid-state dye-sensitized solar cells based on iodine-free polymer gel electrolyte. **Journal of Power Sources**, v. 235, p. 243-250, 2013.

RUDHZIAH, S.; AHMAD, A.; AHMAD, I.; MOHAMED, N. S. Biopolymer electrolytes based on blend of kappa-carrageenan and cellulose derivatives for potential application in dye sensitized solar cell. **Electrochimica Acta**, v. 175, p. 162-168, 2015.

SAETRE, T. O.; MIDTGÅRD, O.-M.; YORDANOV, G. H. A new analytical solar cell I-V curve model. **Renewable Energy**, v. 36, n. 8, p. 2171-2176, 2011.

SAINI, J. K.; PATEL, A. K.; ADSUL, M.; SINGHANIA, R. R. Cellulase adsorption on lignin: a roadblock for economic hydrolysis of biomass. **Renewable Energy**, v. 98, p. 29-42, 2016.

SALVADOR, G. P.; PUGLIESE, D.; BELLA, F.; CHIAPPONE, A.; SACCO, A.; BIANCO, S.; QUAGLIO, M. New insights in long-term photovoltaic performance characterization of cellulose-based gel electrolytes for stable dye-sensitized solar cells. **Electrochimica Acta**, v. 146, p. 44-51, 2014.

SAMSI, N. S.; EFFENDI, N. A. S.; ZAKARIA, R.; ALI, A. M. M. Efficiency enhancement of dye-sensitized solar cell utilizing copper indium sulphide/zinc sulphide quantum dot plasticized cellulose acetate polymer electrolyte. **Materials Research Express**, v. 4, n. 4, p. 44005, 2017.

SANNIGRAHI, P.; KIM, D. H.; JUNG, S.; RAGAUSKAS, A. Pseudo-lignin and pretreatment chemistry. **Energy Environmental Science**, v. 4, n. 4, p. 1306-1310, 2011.

SANSANIWAL, S. K.; SHARMA, V.; MATHUR, J. Energy and exergy analyses of various typical solar energy applications: a comprehensive review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 1576-1601, fev. 2018.

SANTOS, R. P. O. **Compósitos baseados em PET reciclado, fibras de sisal e plasticizantes oriundos de fontes renováveis:** estudo e processamento destes materiais. 2012. 157 f. Dissertação (Mestrado em Ciências, Programa Ciência e Engenharia de Materiais) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

SANTOS, R. P. O.; CASTRO, D. O.; RUVOLO-FILHO, A. C.; FROLLINI, E. Processing and thermal properties of composites based on recycled PET, sisal fibers, and renewable plasticizers. Journal of Applied Polymer Science, v. 131, n. 12, p. 40386 (1-13), 2014.

SANTOS, R. P. O.; ROSSI, P. F.; RAMOS, L.; FROLLINI, E. Renewable resources and a recycled polymer as raw materials: mats from electrospinning of lignocellulosic biomass and PET solutions. **Polymers**, v. 10, n. 5, p. 538, 2018.

SANTOS, R. P. O.; RAMOS, L. A.; FROLLINI, E. Cellulose and/or lignin in fiberaligned electrospun PET mats: the influence on materials end-properties. **Cellulose**, v.26, p. 617-630, 2019.

SANTOS, R. P. O.; RODRIGUES, B. V. M.; RAMIRES, E. C.; RUVOLO-FILHO, A. C.; FROLLINI, E.; DE OLIVEIRA SANTOS, R. P.; RODRIGUES, B. V. M.; RAMIRES, E. C.; RUVOLO-FILHO, A. C.; FROLLINI, E. Bio-based materials from the electrospinning of lignocellulosic sisal fibers and recycled PET. **Industrial Crops and Products**, v. 72, p. 69-76, 2015.

SANTOS, R. P. O.; RODRIGUES, B. V. M.; SANTOS, D. M.; CAMPANA-FILHO, S. P.; RUVOLO-FILHO, A. C.; FROLLINI, E. Electrospun recycled PET-based mats: Tuning the properties by addition of cellulose and/or lignin. **Polymer Testing**, v. 60, p. 422-431, 2017.

SARI, A. A.; KURNIAWAN, H. H.; NURDIN, M.; ABIMANYU, H. Decolorization of black liquor wastewater generated from bioethanol process by using oil palm empty fruit bunches. **Energy Procedia**, v. 68, p. 254-262, 2015.

SEGAL, L.; CREELY, J. J.; MARTIN, A. E.; CONRAD, C. M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. **Textile Research Journal**, v. 29, n. 10, p. 786-794, 1959.

SEO, D.-J.; FUJITA, H.; SAKODA, A. Structural changes of lignocelluloses by a nonionic surfactant, Tween 20, and their effects on cellulase adsorption and saccharification. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 20, p. 9605-9612, 2011.

SEO, S.-J.; CHA, H.-J.; KANG, Y. S.; KANG, M.-S. Printable ternary component polymer-gel electrolytes for long-term stable dye-sensitized solar cells. **Electrochimica Acta**, v. 145, p. 217-223, 2014.

SHAHABAZUDDIN, M.; SARAT CHANDRA, T.; MEENA, S.; SUKUMARAN, R. K.; SHETTY, N. P.; MUDLIAR, S. N. Thermal assisted alkaline pretreatment of rice husk for enhanced biomass deconstruction and enzymatic saccharification: physico-chemical and structural characterization. **Bioresource Technology**, v. 263, p. 199-206, 2018.

SILVEIRA, M. H. L.; VANELLI, B. A.; CHANDEL, A. K. Second generation ethanol production: potential biomass feedstock, biomass deconstruction, and chemical platforms for process valorization. In: CHANDEL, A. K.; SILVEIRA, M. H. L. (Eds.). Advances in sugarcane biorefinery: technologies, commercialization, policy issues and paradigm shift for bioethanol and by-products. [S.l.]: Elsevier, 2018. p. 135-152.

SONKER, R. K.; RAHUL; SABHAJEET, S. R. ZnO nanoneedle structure based dyesensitized solar cell utilizing solid polymer electrolyte. **Materials Letters**, v. 223, p. 133-136, 2018.

STAUNER, T.; SILVA, I.; EL SEOUD, O.; FROLLINI, E.; PETRI, D. S. Cellulose loading and water sorption value as important parameters for the enzymatic hydrolysis of cellulose. **Cellulose**, v. 20, n. 3, p. 1109-1119, 2013.

SUGATHAN, V.; JOHN, E.; SUDHAKAR, K. Recent improvements in dye sensitized solar cells: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 54-64, 2015.

SUN, S.; SUN, S.; CAO, X.; SUN, R. The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 49-58, jan. 2016.

TUNGPRAPA, S.; PUANGPARN, T.; WEERASOMBUT, M.; JANGCHUD, I.; FAKUM, P.; SEMONGKHOL, S.; MEECHAISUE, C.; SUPAPHOL, P. Electrospun cellulose acetate fibers: effect of solvent system on morphology and fiber diameter. **Cellulose**, v. 14, n. 6, p. 563-575, 2007.

ULLAH, S.; PAKKANEN, H.; LEHTO, J.; ALÉN, R. A comparable study on the hotwater treatment of wheat straw and okra stalk prior to delignification. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 8, n. 2, p. 413-421, 2018.

VAZ, S. Biomass and the Green Chemistry Principles In: VAZ JÚNIOR, S. (Ed.). Biomass and green chemistry: building a renewable pathway. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 1-9.

VENKATESWARI, R.; SREEJITH, S. Factors influencing the efficiency of photovoltaic system. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 101, p. 376-394, 2019.

WADA, M.; IKE, M.; TOKUYASU, K. Enzymatic hydrolysis of cellulose I is greatly accelerated via its conversion to the cellulose II hydrate form. **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, n. 4, p. 543-548, 2010.

WAGAW, T.; RB, C. Optimization of caustic soda concentration for causticization of cotton. **Open Access Scientific Reports**, v. 1, n. 9, p. 1-9, 2012.

WANG, C.; WANG, L.; SHI, Y.; ZHANG, H.; MA, T. Printable electrolytes for highly efficient quasi-solid-state dye-sensitized solar cells. **Electrochimica Acta**, v. 91, p. 302-306, 2013.

WANG, H.-Y.; FAN, B.-Q.; LI, C.-H.; LIU, S.; LI, M. Effects of rhamnolipid on the cellulase and xylanase in hydrolysis of wheat straw. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 11, p. 6515-6521, 2011.

WANG, S.; LU, A.; ZHANG, L. Recent advances in regenerated cellulose materials. **Progress in Polymer Science**, v. 53, p. 169-206, 2016.

WANG, W.; TAN, X.; YU, Q.; WANG, Q.; QI, W.; ZHUANG, X.; WANG, Z.; YUAN, Z. Effect of stepwise lignin removal on the enzymatic hydrolysis and cellulase adsorption. Industrial Crops and Products, v. 122, p. 16-22, 2018.

WEN, J.-L.; SUN, S.-L.; XUE, B.-L.; SUN, R.-C. Recent advances in characterization of lignin polymer by solution-state nuclear magnetic resonance (NMR) methodology. **Materials (Basel, Switzerland)**, v. 6, n. 1, p. 359-391, 2013.

WURM, F. R.; WEISS, C. K. Nanoparticles from renewable polymers. **Frontiers in Chemistry**, v. 2, p. 1-13, 2014.

XIANG, J.; FAN, J.-B.; CHEN, N.; CHEN, J.; LIANG, Y. Interaction of cellulase with sodium dodecyl sulfate at critical micelle concentration level. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 49, n. 2, p. 175-180, 2006.

XING, Y.; BU, L.; SUN, D.; LIU, Z.; LIU, S.; JIANG, J. Enhancement of high-solids enzymatic hydrolysis and fermentation of furfural residues by addition of Gleditsia saponin. **Fuel**, v. 177, p. 142-147, 2016.

XU, J.-K.; SUN, R.-C. Recent advances in alkaline pretreatment of lignocellulosic biomass. In: MUSSATTO, S. I. (Ed.) **Biomass fractionation technologies for a lignocellulosic feedstock-based biorefinery.** Amsterdam: Elsevier, 2016. p. 431-459.

YANG, H.; SHI, Z.; XU, G.; QIN, Y.; DENG, J.; YANG, J. Bioethanol production from bamboo with alkali-catalyzed liquid hot water pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 274, p. 261-266, 2019.

YANG, Q.; PAN, X. Correlation between lignin physicochemical properties and inhibition to enzymatic hydrolysis of cellulose. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 113, n. 6, p. 1213-1224, 2015.

YE, Z.; BERSON, R. E. Kinetic modeling of cellulose hydrolysis with first order inactivation of adsorbed cellulase. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 24, p. 11194-11199, 2011.

YEH, M. H.; LEU, Y. A.; CHIANG, W. H.; LI, Y. S.; CHEN, G. L.; LI, T. J.; CHANG, L. Y.; LIN, L. Y.; LIN, J. J.; HO, K. C. Boron-doped carbon nanotubes as metal-free electrocatalyst for dye-sensitized solar cells: heteroatom doping level effect on triiodide reduction reaction. **Journal of Power Sources**, v. 375, p. 29-36, 2018.

YOON, L. W.; ANG, T. N.; NGOH, G. C.; CHUA, A. S. M. Fungal solid-state fermentation and various methods of enhancement in cellulase production. **Biomass and Bioenergy**, v. 67, p. 319-338, 2014.

YOUNESI, M.; WU, X.; AKKUS, O. Controlled mercerization of bacterial cellulose provides tunability of modulus and ductility over two orders of magnitude. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, v. 90, p. 530-537, 2019.

YU, L.; DEAN, K.; LI, L. Polymer blends and composites from renewable resources. **Progress in Polymer Science**, v. 31, n. 6, p. 576-602, 2006.

YUTAKA, I.; YASUO, G.; HITOSHI, N.; MUNEO, Y.; HISAE, N.; TOSHIO, K. The pHsensitive conversion of molecular aggregates of rhamnolipid biosurfactant. **Chemistry Letters**, v. 16, n. 5, p. 763-766, 1987.

ZAKARIA, M. R.; NORRRAHIM, M. N. F.; HIRATA, S.; HASSAN, M. A. Hydrothermal and wet disk milling pretreatment for high conversion of biosugars from oil palm mesocarp fiber. **Bioresource Technology**, v. 181, p. 263-269, 2015.

ZANCHETTA, A.; DOS SANTOS, A. C. F.; XIMENES, E.; NUNES, C. C. C.; BOSCOLO, M.; GOMES, E.; LADISCH, M. R. Temperature dependent cellulase adsorption on lignin from sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 252, p. 143-149, 2018.

ZHANG, Q.; HE, G.; WANG, J.; CAI, W.; XU, Y. Mechanisms of the stimulatory effects of rhamnolipid biosurfactant on rice straw hydrolysis. **Appl Energy**, v. 86, p. S233-S237, 2009.

ZHANG, X. L.; HUANG, W.; GU, A.; XIANG, W.; HUANG, F.; GUO, Z. X.; CHENG, Y.-B.; SPICCIA, L. High efficiency solid-state dye-sensitized solar cells using a cobalt(ii/iii) redox mediator. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 5, n. 20, p. 4875-4883, 2017.

ZHANG, Y.-H. H. P.; LYND, L. R. Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: noncomplexed cellulase systems. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 88, n. 7, p. 797-824, 2004.

ZHAO, W.; LI, S.; YAO, H.; ZHANG, S.; ZHANG, Y.; YANG, B.; HOU, J. Molecular optimization enables over 13% efficiency in organic solar cells. **Journal of the American Chemical Society**, v. 139, n. 21, p. 7148-7151, 2017.

ZHENG, Y.; ZHANG, R.; PAN, Z. Investigation of adsorption kinetics and isotherm of cellulase and B-glucosidase on lignocellulosic substrates. **Biomass and Bioenergy**, v. 91, p. 1-9, 2016.

ZHOU, H.; LOU, H.; YANG, D.; ZHU, J. Y.; QIU, X. Lignosulfonate to enhance enzymatic saccharification of lignocelluloses: role of molecular weight and substrate lignin. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 52, n. 25, p. 8464 – 8470, 2013.

ZHOU, M.; HE, J.; WANG, L.; ZHAO, S.; WANG, Q.; CUI, S.; QIN, X.; WANG, R. Synthesis of carbonized-cellulose nanowhisker/FeS2@reduced graphene oxide composite for highly efficient counter electrodes in dye-sensitized solar cells. **Solar Energy**, v. 166, p. 71-79, 2018.

ZHOU, Y.; CHEN, H.; QI, F.; ZHAO, X.; LIU, D. Non-ionic surfactants do not consistently improve the enzymatic hydrolysis of pure cellulose. **Bioresource Technology**, v. 182, p. 136-143, 2015.

APÊNDICE I - Difratogramas do estudo de mercerização das fibras lignocelulósicas de sisal



