



**Universidade de Brasília  
Instituto de Química  
Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Química e Biológica**

**Dissertação de Mestrado**

**Isolamento de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar  
e engaços de dendê obtidas por hidrólise enzimática**

**Eliane da Silva Simplicio**

**Orientador: Prof. Fabricio Machado Silva, D.Sc.  
Coorientador: Dr. Leonardo Fonseca Valadares, D.Sc.**

**Brasília, fevereiro de 2017.**

**Universidade de Brasília**  
**Instituto de Química**  
**Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Química e Biológica**

**Isolamento de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar  
e engaços de dendê obtidas por hidrólise enzimática**

ELIANE DA SILVA SIMPLICIO

Dissertação de mestrado, apresentada ao Instituto de Química da Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Tecnologias Química e Biológica.

**Orientador: Prof. Fabricio Machado Silva, D.Sc.**  
**Coorientador: Dr. Leonardo Fonseca Valadares, D.Sc.**

**Brasília, fevereiro de 2017.**

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Comunicamos a aprovação da Defesa de Dissertação de Mestrado do (a) aluno (a) **Eliane da Silva Simplicio**, matrícula nº **15/0102500**, intitulada ***“Isolamento de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê obtidas por hidrólise enzimática”***, apresentada no (a) Auditório Azul do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 24 de fevereiro de 2017.

Prof. Dr. Fabricio Machado Silva  
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Prof.<sup>a</sup> Dra. Sandra Maria da Luz  
Membro Titular (FGA/UnB)

Prof.<sup>a</sup> Dra. Sarah Silva Brum  
Membro Titular (IQ/UnB)

Dra. Dasciana de Sousa Rodrigues Gambetta  
Membro Suplente (EMBRAPA Agroenergia)

Em 24 de fevereiro de 2017.

***Dedicatória***

*A Deus pelo dom da vida e a oportunidade de recomeçar a cada dia,  
À minha família por todo o amor, carinho e compreensão.*

## **Agradecimentos**

Primeiramente agradeço ao grande e bom Deus, por abrir as portas para que os meus projetos pudessem ganhar vida, e por não permitir que eu desistisse por inúmeras vezes em tantos momentos de tribulação.

À minha família, pelo apoio incondicional, amor e compreensão em todos os momentos importantes deste trabalho e da minha vida.

À minha mãe, Sônia Maria, o meu maior motivo para não desistir e recomeçar a cada dia.

Ao meu pai, Manoel Henrique, pelo apoio financeiro.

Às minhas irmãs, Eliene e Elaine, por todo o carinho, amor, compreensão e incentivo para redigir este trabalho, mesmo com tantas adversidades.

À minha tia, Maria Anita, pela acolhida e incentivo em vários momentos desta jornada.

Ao meu orientador, Fabricio Machado, pela paciência, encorajamento e por todos os ensinamentos neste tempo de convivência, e que vou levar para minhas próximas experiências.

Ao meu coorientador, Leonardo Fonseca Valadares, pela confiança, paciência, comprometimento e por toda as contribuições para a construção deste trabalho.

À pesquisadora Dasciana Rodrigues por toda a ajuda com as enzimas e ensaios de hidrólise, o grande desafio deste trabalho.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Agroenergia) pela oportunidade de desenvolver as atividades experimentais, estrutura e suporte, essenciais para a finalização deste trabalho.

À Usina Jalles Machado pelo fornecimento das amostras de bagaço de cana-de-açúcar avaliadas neste trabalho.

À Empresa Dendê do Pará S/A - Denpasa, pelo fornecimento das amostras de engaços de dendê utilizadas neste trabalho.

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília (IB/UnB) pelo uso dos microscópios eletrônicos de transmissão e varredura e pelo auxílio na preparação das amostras.

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEM) pelo uso do microscópio eletrônico de transmissão.

Ao Laboratório Multiusuário da Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de Brasília pela realização das análises de difratometria de raios X (DRX) e termogravimetria (TGA), cruciais para a elaboração deste trabalho.

Aos analistas do Laboratório de processos químicos (LPQ), Laboratório de Processos Biotecnológicos (LPB) e Área de Plantas Piloto (APP) pelo suporte no desenvolvimento das atividades realizadas na Embrapa Agroenergia.

À Anna Letícia Montenegro Turtelli Pighinelli, Larissa Andreani e Felipe Carvalho por toda ajuda e paciência durante os experimentos e na rotina do laboratório.

Às minhas amigas: Erislene Almeida, Janaína Fiuza, Valérya Teles, Romaira Guedes e Jéssica Guimarães, muito obrigada pelo tempo de convivência, palavras de ânimo e pelos momentos de alegria.

À minha grande amiga Pâmela Cândido, pelo incentivo, carinho e positividade nos momentos decisivos desta caminhada.

Aos meus amigos Amanda Gonçalves, Ana Maiara Sismer, Douglas Mendes, Jéssica Sousa e Roberto Filho pelo incentivo, preocupação e amizade desde sempre.

À Universidade de Brasília e ao Instituto de Química pela oportunidade de desenvolver este trabalho e suporte em toda esta caminhada.

À Gabriela Novais, Ingrid Martins e Alan Jensen, pela ajuda nas análises nos momentos decisivos deste trabalho.

Às irmãs da Congregação do Menino Deus e Irmãs Oblatas do Menino Jesus, pelas experiências, acolhida, paciência e por todo o aprendizado.

Aos membros da banca examinadora, Profa. Sandra Maria da Luz e Profa. Sarah Silva Brum, pela disponibilidade e contribuições valiosas para a melhoria deste trabalho.

À CAPES pelo apoio financeiro.

À todos, o meu sincero muito obrigado!

## Resumo

O desenvolvimento de novos materiais utilizando como matéria-prima resíduos lignocelulósicos tem sido alvo de inúmeras pesquisas, visto o potencial e a disponibilidade destas matrizes, além da oportunidade de diversificação de produtos de interesse em vários setores produtivos no país. Neste contexto, o isolamento de nanofibras de celulose (NFC) a partir da fração celulósica de diversas fontes vegetais propicia a obtenção de nanoestruturas com elevada área superficial, cristalinidade e razão de aspecto, o que é de interesse para a prospecção de produtos diferenciados. Desse modo, o objetivo deste trabalho consiste no isolamento e caracterização de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê. Para tanto, é necessário primeiramente purificar a celulose e então realizar a hidrólise enzimática. O bagaço de cana e os engaços de dendê *in natura* foram secos, moídos e tratados com solução de clorito de sódio (2%) acidificada com ácido acético e posteriormente com solução de hidróxido de potássio (6%). Também avaliou-se o tratamento das fibras *in natura* por autohidrólise em diferentes condições (180 e 200 °C entre 10 e 30 min) aliado ao uso do clorito de sódio (2%) com um número reduzido de extrações, a fim de minimizar o uso de produtos químicos, tempo e geração de resíduos. As polpas obtidas pelos tratamentos com NaClO<sub>2</sub>/KOH e por autohidrólise/NaClO<sub>2</sub> foram hidrolisadas utilizando coquetel de celulases de *Trichoderma reesei* a 50 °C, pH = 5,0 e agitação de 200 rpm por 24, 48 e 72 horas. As NFC extraídas foram caracterizadas quanto a morfologia, dimensões, cristalinidade, estabilidade térmica e carga superficial. Os resultados evidenciaram a obtenção de nanofibras com morfologia fina, alongada e espessura inferior a 20 nm, a partir da hidrólise das polpas de celulose de bagaço de cana e engaços de dendê branqueadas pelo uso do NaClO<sub>2</sub>/KOH e autohidrólise (180 °C/20 minutos e a 200 °C/10 minutos) combinado ao uso do NaClO<sub>2</sub> (2%). Os melhores resultados avaliados foram obtidos para as nanoestruturas extraídas a partir da celulose obtida por autohidrólise a 200 °C por 10 minutos/clorito de sódio (2%) devido a menor espessura das nanoestruturas e o decréscimo não acentuado da cristalinidade, além da redução do uso de produtos químicos e resíduos gerados. Para as NFC 4 de bagaço de cana-de-açúcar a espessura variou entre 9,81 e 7,08 nm, de acordo com o aumento do tempo de hidrólise, com uma cristalinidade estimada entre 63,67 e 50,41%. Para as NFC 9 de engaços de dendê observou-se a obtenção de nanoestruturas com espessura entre 10,8 e 7,92 nm. A cristalinidade desses sistemas também sofreu um decréscimo, entre 52,68 e 33,31%, em virtude da degradação da celulose pelas enzimas em um maior tempo de hidrólise. A carga superficial das NFC isoladas apresentou potencial zeta -11 e -22 mV, no entanto a dispersão diluída de NFC apresentou estabilidade após armazenamento por meses. A análise termogravimétrica evidenciou que as NFC são mais estáveis termicamente que as fibras lignocelulósicas *in natura* e apresentam comportamento térmico semelhantes, mas com a diminuição na estabilidade térmica em função da redução da cristalinidade com o aumento do tempo de hidrólise, tendo o início da degradação entre 186 e 220 °C. Os resultados obtidos indicam que a hidrólise enzimática é capaz de extrair NFC desde que sejam controlados os tempos de reação (inferiores a 48 horas), de forma a não comprometer a cristalinidade e a estabilidade térmica das nanoestruturas isoladas. A via enzimática consiste em uma rota promissora e alternativa ao uso tradicional de catalisadores ácidos, como o ácido sulfúrico e o ácido clorídrico, onde o uso de celulases apresenta vantagens relacionadas as condições mais brandas de reação (temperatura, pH, menor periculosidade e eliminação de problemas com corrosão de equipamentos), além da especificidade dos biocatalisadores. Desse modo, estudos vem sendo liderados de forma a avaliar novos coquetéis enzimáticos, carga enzimática e o estudo do tempo de reação quanto ao rendimento de nanofibras e a produção de açúcares.



## Abstract

The development of new materials using as raw material lignocellulosic residues has been the object of numerous researches, considering the potential and the availability of these matrices, besides the opportunity of diversification of the materials of interest in various productive sectors in the country. In this context, the isolation of cellulose nanofibers (NFC) from the cellulosic fraction of several vegetable sources leads to the production of nanostructures with high surface area, crystallinity and aspect ratio, which is interesting for prospection of differentiated products with high aggregate value. Therefore, the objective of this work consists in the isolation and characterization of nanofibers from sugarcane bagasse and oil palm empty-fruit bunch. Therefore, it is first necessary to purify the cellulose and then perform the enzymatic hydrolysis. The sugarcane bagasse and oil palm empty-fruit bunch *in natura* were dried, ground and treated with sodium chlorite solution (2%), acidified with acetic acid and then with potassium hydroxide solution (6%). The treatment of *in natura* fibers was also evaluated by autohydrolysis process under different conditions (180 and 200 °C between 10 and 30 minutes), followed by the use of sodium chlorite (2%) with a reduced number of extractions, in order to minimize the use of chemicals, time and waste generation. The pulps obtained by the NaClO<sub>2</sub>/KOH or autohydrolysis/NaClO<sub>2</sub> treatments were hydrolyzed using the cocktail of cellulase of *Trichoderma reesei*, pH = 5,0 and stirring speed of 200 rpm for 24, 48 and 72 hours. The extracted NFC were characterized based on its morphology, dimensions, crystallinity, thermal stability and surface charge. The results evidenced the formation of fine and elongated nanofibers with thickness smaller than 20 nm, from the hydrolysis of sugarcane bagasse cellulose and oil palm empty-fruit bunch bleached by the use of NaClO<sub>2</sub>/KOH and autohydrolysis (180 °C/20 minutes at 200 °C/10 minutes) combined with the use of NaClO<sub>2</sub> (2%). The best results were obtained for the nanostructures extracted from the cellulose obtained by autohydrolysis at 200 °C for 10 minutes/sodium chlorite (2%) due to the lower thickness of the nanostructures and the non-accentuated decrease in crystallinity, as well the reduced the use of chemicals and waste generated. For sugarcane bagasse NFC 4, the thickness varied between 9,81 and 7,08 nm, according to the increased hydrolysis time, with a crystallinity estimated between 63,67 and 50,41%. For the NFC 9 of oil palm empty-fruit bunch, nanostructures with thickness between 10,8 and 7,9 nm were observed. The crystallinity of these systems also decreased between 52,68 and 33,31%, due to the degradation of cellulose by enzymes in a longer hydrolysis time. The surface charge of the NFCs isolated showed negative zeta potential between -11 and -22 mV, however the diluted NFC dispersion showed stability after storage for months. The thermogravimetric analysis showed that NFC are more thermally stable than the *in natura* lignocellulosic fibers and presented similar thermal behavior, but there was a decrease of thermal stability as a function of the reduction of the crystallinity and increasing hydrolysis time, with an onset degradation temperature between 186 and 220 °C. The results indicated that the enzymatic hydrolysis is able to extracted the NFC by controlling the reaction time (less than 48 hours) in order to not compromise the crystallinity and the thermal stability of the isolated nanostructures. The enzymatic process is a promising route and alternative to the traditional use of acid catalysts, such as sulfuric acid and hydrochloric acid, where the use of cellulases has advantages related to the milder reaction conditions (temperature, pH, less danger and elimination of problems associated to equipment corrosion), as well as, the biocatalyst specificity. Thus, studies have been conducted in order to evaluate new enzyme cocktails, enzymatic loading and the study of the reaction time for nanofibers yield and sugar production.

## Lista de Figuras

<b>Figura 1:</b> Desenho esquemático mostrando a planta da cana-de-açúcar e suas partes acima do solo. <sup>42</sup> .....	6
<b>Figura 2:</b> Bagaço de cana gerado na indústria após moagem. <sup>4</sup> .....	8
<b>Figura 3:</b> Engaços de dendê após colheita na usina de beneficiamento dos frutos de dendê e processados em moinho de facas tipo Willey.....	11
<b>Figura 4:</b> Estrutura de uma fibra vegetal (eucalipto como exemplo). A imagem de MEV se refere à fibra de Eucalipto. <sup>54</sup> .....	13
<b>Figura 5:</b> Estrutura representativa dos componentes majoritários de fibras lignocelulósicas: (a) celulose, (b) hemicelulose e (c) lignina. <sup>8</sup> .....	14
<b>Figura 6:</b> Estrutura da celulose destacando as regiões cristalinas e amorfas. <sup>55</sup> .....	15
<b>Figura 7:</b> Transformação de celulose em várias modificações de rede. <sup>52</sup> .....	16
<b>Figura 8:</b> Representação dos componentes dos açúcares das polioses. <sup>52</sup> .....	17
<b>Figura 9:</b> Estrutura representativa dos álcoois precursores das unidades fenilpropanóides guaiacila (G), siringila (S) e p-hidroxifenila (H). <sup>62</sup> .....	18
<b>Figura 10:</b> Tipos de pré-tratamento empregados para biomassa lignocelulósica. <sup>8</sup> .....	20
<b>Figura 11:</b> Nanocristais de celulose obtidos via hidrólise das regiões amorfas das fibrilas de celulose. <sup>57</sup> .....	25
<b>Figura 12:</b> Representação do sinergismo entre endoglucanases, exoglucanases e $\beta$ -glicosidades na decomposição da estrutura da celulose gerando glicose como produto final. <sup>55</sup> .....	26
<b>Figura 13:</b> Esquema geral da metodologia desenvolvida neste trabalho. ....	30
<b>Figura 14:</b> Sistema planejado para a etapa de autohidrólise com reator de alta pressão Parr Instrument CO, Modelo 5111 composto por: (A) vaso de reação (1L), (B) manta de aquecimento, (C) presilha para vedação, (D) manômetro, (E) válvula de alívio, (F) válvula de	

alimentação de gases, (G) saída de resfriamento do cabeçote, (H) linha de gás nitrogênio (N <sub>2</sub> ) e (I) controlador Parr 4848. ....	31
<b>Figura 15:</b> Perfis de temperatura e pressão no reator Parr. ....	32
<b>Figura 16:</b> Etapas do tratamento das fibras brutas de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê por autohidrólise: (A) autohidrólise das fibras brutas em reator de alta pressão, (B) resfriamento do sistema com banho de gelo, (C) sistema pós-reação, (D) sistema para lavagem a vácuo do sólido obtido e (E) fibra tratada após secagem em estufa a 105 °C. ....	33
<b>Figura 17:</b> Etapas de branqueamento das fibras <i>in natura</i> de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê: (A e C) primeira extração com solução de clorito de sódio (2%) e (B e D) última extração do tratamento com solução de hidróxido de potássio (6%), respectivamente, referente a celulose 1 (bagaço de cana) e a celulose 6 (engaços de dendê). ....	35
<b>Figura 18:</b> Etapas do branqueamento das fibras de bagaço de cana-de-açúcar submetidas à autohidrólise com solução de clorito de sódio (2%). ....	36
<b>Figura 19:</b> Etapas do branqueamento das fibras de engaço de dendê submetidas à autohidrólise com solução de clorito de sódio (2%). ....	37
<b>Figura 20:</b> Metodologia de preparo das amostras para análise em microscópio eletrônico de transmissão (MET). ....	47
<b>Figura 21:</b> Fibras de bagaço de cana-de-açúcar após autohidrólise nas condições estudadas: (A) 180 °C por 20 minutos, (B) 180 °C por 30 minutos, (C) 200 °C por 10 minutos e (D) 200 °C por 20 minutos. ....	49
<b>Figura 22:</b> Fibras de engaço de dendê após autohidrólise nas condições estudadas: (A) 180 °C por 20 minutos, (B) 180 °C por 30 minutos, (C) 200 °C por 10 minutos e (D) 200 °C por 20 minutos. ....	49
<b>Figura 23:</b> Micrografias registradas por MEV das fibras de bagaço de cana-de-açúcar submetidas a autohidrólise nas condições estudadas: (A) bagaço de cana <i>in natura</i> , (B) 180 °C por 20 minutos, (C) 180 °C por 30 minutos, (D) 200 °C por 10 minutos e (E) 200°C por 20 minutos. ....	53

- Figura 24:** Micrografias registradas por MEV das fibras de engaçõ de dendê submetidas a autohidrólise nas condições estudadas: (A) engaçõ de dendê *in natura*, (B) 180 °C por 20 minutos, (C) 180 °C por 30 minutos, (D) 200 °C por 10 minutos e (E) 200 °C por 20 minutos. ....55
- Figura 25:** Difratoograma de raios X das amostras de bagaçõ de cana *in natura* e após a autohidrólise nas condições estudadas: 180 °C/20 minutos, 180 °C/30 minutos, 200 °C/10 minutos e 200 °C/20 minutos. ....57
- Figura 26:** Difratoograma de raios X das amostras de engaçõ de dendê *in natura* e após a autohidrólise nas condições estudadas: 180 °C/20 minutos, 180 °C/30 minutos, 200 °C/10 minutos e 200 °C/20 minutos. ....57
- Figura 27:** Curvas termogravimétricas de TG (A) e DTG (B) das fibras de bagaçõ de cana-de-açúcar *in natura* e após autohidrólise nas condições consideradas. ....60
- Figura 28:** Curvas termogravimétricas de TG (A) e DTG (B) das fibras de engaçõs de dendê *in natura* e após autohidrólise nas condições consideradas. ....60
- Figura 29:** Polpas de celulose de bagaçõ de cana-de-açúcar obtidas por diferentes métodos de branqueamento: (A) celulose 1, (B) celulose 2, (C) celulose 3, (D) celulose 4 e (E) celulose 5. ....63
- Figura 30:** Polpas de celulose de engaçõs de dendê obtidas por diferentes métodos de branqueamento: (F) celulose 6, (G) celulose 7, (H) celulose 8, (I) celulose 9 e (J) celulose 10. ....64
- Figura 31:** Micrografias registradas por MEV das fibras celulósicas de bagaçõ de cana-de-açúcar branqueadas: (A) celulose 1 (NaClO<sub>2</sub>/KOH), (B) celulose 2 (autohidrólise a 180 °C por 20 minutos/NaClO<sub>2</sub>), (C) celulose 3 (autohidrólise a 180 °C por 30 minutos/NaClO<sub>2</sub>), (D) celulose 4 (autohidrólise a 200 °C por 10 minutos/NaClO<sub>2</sub>) e (E) celulose 5 (autohidrólise a 200 °C por 20 minutos/NaClO<sub>2</sub>). ....69
- Figura 32:** Micrografias registradas por MEV das fibras celulósicas de engaçõs de dendê branqueadas: (A) celulose 6 (NaClO<sub>2</sub>/KOH), (B) celulose 7 (autohidrólise a 180 °C por 20 minutos/NaClO<sub>2</sub>), (C) celulose 8 (autohidrólise a 180 °C por 30 minutos/NaClO<sub>2</sub>), (D)

celulose 9 (autohidrólise a 200 °C por 10 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ) e (E) celulose 10 (autohidrólise a 200 °C por 20 minutos/ $\text{NaClO}_2$ )..... 70

**Figura 33:** Difratoograma de raios X de polpas de celulose de bagaço de cana-de-açúcar (1 a 5) obtidas pelos métodos de branqueamento avaliados..... 71

**Figura 34:** Difratoograma de raios X das polpas de celulose de engaços de dendê (6 a 10) obtidas pelos métodos de branqueamento avaliados. .... 72

**Figura 35:** Curvas termogravimétricas de TG (A) e DTG (B) das fibras celulósicas de bagaço de cana-de-açúcar (1 a 5) e de engaços de dendê (6 a 10) obtidas pelos métodos de branqueamento avaliados. .... 75

**Figura 36:** Micrografias registradas por MET das NFCs obtidas a partir da hidrólise enzimática da celulose 1 de bagaço de cana-de-açúcar em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas): (A) NFC-1-24, (B) NFC-1-48 e (C) NFC-1-72 horas. .... 79

**Figura 37:** Micrografias registradas por MET das NFCs obtidas a partir da hidrólise enzimática da celulose 2 de bagaço de cana-de-açúcar em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas): (A) NFC-2-24, (B) NFC-2-48 e (C) NFC-2-72 horas. .... 80

**Figura 38:** Micrografias registradas por MET das NFCs obtidas a partir da hidrólise enzimática da celulose 4 de bagaço de cana-de-açúcar em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas): (A) NFC-4-24, (B) NFC-4-48 e (C) NFC-4-72 horas. .... 81

**Figura 39:** Micrografias registradas por MET das NFCs obtidas a partir da hidrólise enzimática da celulose 6 de engaços de dendê em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas): (A) NFC-6-24, (B) NFC-6-48 e (C) NFC-6-72 horas. .... 84

**Figura 40:** Micrografias registradas por MET das NFCs obtidas a partir da hidrólise enzimática da celulose 7 de engaços de dendê em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas): (A) NFC-7-24, (B) NFC-7-48 e (C) NFC-7-72 horas. .... 85

**Figura 41:** Micrografias registradas por MET das NFCs obtidas a partir da hidrólise enzimática da celulose 9 de engaços de dendê em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas): (A) NFC-9-24, (B) NFC-9-48 e (C) NFC-9-72 horas. .... 86

- Figura 42:** Difratoograma de raios X das amostras de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar (NFCs 1, 2 e 4) obtidas por hidrólise enzimática em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas)..... 89
- Figura 43:** Difratoograma de raios X das amostras de nanofibras de celulose de engaços de dendê (NFCs 6, 7 e 9) obtidas por hidrólise enzimática em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas). ..... 90
- Figura 44:** Curvas termogravimétricas de TG (A) e DTG (B) das amostras de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar (NFCs 1, 2 e 4) obtidas por hidrólise enzimática em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas)..... 93
- Figura 45:** Curvas termogravimétricas de TG (A) e DTG (B) das amostras de nanofibras de celulose de engaços de dendê (NFCs 6, 7 e 9) obtidas por hidrólise enzimática em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas). ..... 93

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Tecnologias de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica: vantagens e desvantagens. <sup>9, 61</sup> .....	20
<b>Tabela 2.</b> Características de nanofibras de celulose (NFC) obtidas a partir de diferentes fontes de fibras vegetais e métodos de isolamento.....	23
<b>Tabela 3.</b> Condições avaliadas para a etapa de autohidrólise de fibras de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê.....	32
<b>Tabela 4.</b> Identificação das polpas de celulose obtidas de acordo com a fibra lignocelulósica avaliada (bagaço de cana ou de engaço de dendê) e com os tratamentos estudados.....	34
<b>Tabela 5.</b> Valores de diluição testados, volume de enzima e solução tampão considerados para a determinação da Atividade FPase do Coquetel de Celulases de <i>Trichoderma reesei</i> ...38	
<b>Tabela 6.</b> Valores de diluição estipulados para a construção da curva padrão de glicose.....	39
<b>Tabela 7.</b> Programa da rampa de aquecimento da mufla para a determinação de teor de cinzas das fibras de bagaço de cana e engaços de dendê in natura e após a etapa de branqueamento. ....	44
<b>Tabela 8.</b> Valores determinados de rendimento, pressão e pH para o tratamento das fibras de bagaço de cana-de-açúcar por autohidrólise nas condições estudadas.....	50
<b>Tabela 9.</b> Valores determinados de rendimento, pressão e pH para o tratamento das fibras de engaço de dendê por autohidrólise nas condições estudadas. ....	50
<b>Tabela 10.</b> Valores de índice de cristalinidade para as fibras de bagaço de cana e engaços de dendê in natura e após o tratamento de autohidrólise nas condições estudadas.....	58
<b>Tabela 11.</b> Valores de temperatura de início de perda de massa ( $T_{\text{onset}}$ ), estágio de maior perda de massa ( $T_{\text{máx}}$ ) e resíduo formado, registrados pela análise termogravimétrica das fibras de bagaço de cana e engaços de dendê in natura e após a autohidrólise nas condições avaliadas. ....	60

<b>Tabela 12.</b> Teores de celulose, hemicelulose, lignina, extrativos, cinzas e umidade determinados para as fibras de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê in natura. ....	65
<b>Tabela 13.</b> Teores de celulose, hemicelulose, lignina, cinzas e umidade determinados para as polpas de celulose de bagaço de cana-de-açúcar (BCA – 1 a 5) e engaços de dendê (ED – 6 a 10).....	65
<b>Tabela 14.</b> Valores de índice de cristalinidade determinado para as fibras de celulose de bagaço de cana (1 a 5) e de engaços de dendê (6 a 10) branqueadas de acordo com os métodos de branqueamento avaliados.....	72
<b>Tabela 15.</b> Valores de temperatura de início de perda de massa ( $T_{\text{onset}}$ ), temperatura final de maior perda de massa ( $T_{\text{máx}}$ ) e resíduo registrado pela análise termogravimétrica das polpas de celulose de bagaço de cana (1 a 5) e de engaços de dendê (6 a 10) obtidas pelos métodos de branqueamento avaliados. ....	76
<b>Tabela 16.</b> Identificação das amostras de nanofibras de celulose (NFC) obtidas de acordo com as polpas selecionadas (celulose 1, 2 e 4 de bagaço de cana e celulose 6, 7 e 9 de engaços de dendê) e o tempo de hidrólise enzimática (24, 48 e 72 horas).....	78
<b>Tabela 17.</b> Análise dimensional das amostras de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar isoladas a partir da hidrólise enzimática das polpas de celulose selecionadas (1, 2 e 4) quanto a espessura e comprimento.....	81
<b>Tabela 18.</b> Análise dimensional das amostras de nanofibras de celulose de engaços de dendê isoladas a partir das polpas de celulose selecionadas (NFCs 6, 7 e 9) quanto a espessura e comprimento.....	86
<b>Tabela 19.</b> Valores de índice de cristalinidade determinado para as amostras de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê obtidas de acordo com os métodos de branqueamento e o tempo de hidrólise enzimática (24, 48 e 72 horas) avaliados.....	90
<b>Tabela 20.</b> Temperatura inicial ( $T_{\text{onset}}$ ) e de maior estágio de degradação térmica ( $T_{\text{máx}}$ ) das amostras de nanofibras de celulose de bagaço de cana (NFCs 1, 2 e 4) e de engaços de dendê (NFCs 6, 7 e 9) e resíduos registrados por análise termogravimétrica de acordo com o método de branqueamento e o tempo de hidrólise enzimática estipulado (24, 48 e 72 horas). ....	94



<b>Tabela 21.</b> Valores de módulo de potencial zeta determinado para as amostras de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê obtidas por hidrólise enzimática em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas).....	96
--	----

## Lista de Símbolos, Nomenclaturas e Abreviações

- ABRAPALMA** – Associação Brasileira de Produtores de Óleo de Palma
- BCA** – Bagaço de cana-de-açúcar
- CIB** – Conselho de Informação sobre Biotecnologia
- CONAB** – Companhia Nacional de Abastecimento
- DNS** – Ácido 3,5-dinitrosalicílico
- DRX** - Difractometria de raios X
- ED** – Engaços de dendê
- EDX** – Espectroscopia por fluorescência de energia dispersiva de raios X
- EDS** – Espectroscopia de Energia Dispersiva de raios X
- HPLC** – High Performance Liquid Chromatography
- IC** – Índice de cristalinidade
- MET** - Microscopia eletrônica de transmissão
- MEV** - Microscopia eletrônica de varredura
- MME** – Ministério de Minas e Energia
- NFC** – Nanofibra de celulose
- NREL** – National Renewable Energy Laboratory
- OPALMA** – Óleos de Palma S. A. Agroindustrial
- PCR** – Polymerase Chain Reaction
- POME** - Palm oil mill efluente
- PZ** - Potencial zeta
- TGA** – Análise termogravimétrica
- T<sub>onset</sub>** – Temperatura de início de degradação térmica
- T<sub>endset</sub>** – Temperatura de término de degradação térmica
- UNICA** – União da Cana-de-açúcar
- USDA** – United States Department of Agriculture
- 2G** – Segunda Geração

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Objetivo Geral .....</b>	<b>4</b>
<b>2.2. Objetivos Específicos.....</b>	<b>4</b>
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>5</b>
<b>3.1. Matérias-primas potenciais .....</b>	<b>5</b>
3.1.1. Cana-de-Açúcar.....	5
3.1.2. Resíduos da Indústria Sucroalcooleira .....	7
3.1.3. Bagaço de Cana.....	7
3.1.5. Cultura do Dendê .....	9
3.1.6. Resíduos da Cadeia Produtiva do Dendê .....	10
3.1.7. Engaços de Dendê .....	11
<b>3.2. Fibras lignocelulósicas.....</b>	<b>12</b>
3.2.1. Estrutura, Características e Composição .....	12
3.2.1.1. <i>Celulose</i> .....	14
3.2.1.2. <i>Hemicelulose</i> .....	16
3.2.1.3. <i>Lignina</i> .....	17
3.2.1.2. <i>Potencial do Uso de Fibras Lignocelulósicas</i> .....	19
<b>3.3. Pré-Tratamento de Fibras Lignocelulósicas .....</b>	<b>19</b>
3.3.1. Tratamentos Mecânicos, Químicos, Físico-Químicos e Biológicos .....	19
3.3.2. Autohidrólise.....	21

<b>3.4. Obtenção de Nanofibras de Celulose a partir de Resíduos Agroindustriais.....</b>	<b>23</b>
3.4.1. Nanofibras de Celulose .....	23
3.4.2. Hidrólise Ácida .....	24
3.4.3. Hidrólise Enzimática .....	25
<b>3.5. Aplicações de Nanofibras de Celulose .....</b>	<b>27</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>
<b>4.1. Materiais.....</b>	<b>29</b>
<b>4.2. Métodos .....</b>	<b>29</b>
4.2.1. Processamento das Fibras Lignocelulósicas <i>in Natura</i> .....	30
4.2.2. Autohidrólise.....	30
<b>4.3. Branqueamento das Fibras de Bagaço de Cana-de-Açúcar e Engaços de Dendê <i>in Natura</i> e Tratadas por Autohidrólise.....</b>	<b>34</b>
4.3.1. Branqueamento das Fibras <i>in Natura</i> com Clorito de Sódio (NaClO <sub>2</sub> ) e Hidróxido de Potássio (KOH) .....	34
4.3.2. Branqueamento das Fibras Tratadas por Autohidrólise com Clorito de Sódio (NaClO <sub>2</sub> ) .....	35
4.3.3. Isolamento de Nanofibras de Celulose de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê ..	37
4.3.3.1. <i>Determinação da Atividade FPase do Coquetel de Celulases de Trichoderma reesei</i> .....	37
4.3.3.2. <i>Curva Padrão de Glicose (10 mg/mL)</i> .....	38
4.3.3.3. <i>Ensaio de Hidrólise Enzimática</i> .....	39
4.3.3.4. <i>Inativação Enzimática</i> .....	40

<b>4.4. Caracterização Química das Fibras <i>in Natura</i>, Branqueadas e Nanofibras de Celulose de Bagaço de Cana-de-Açúcar e Engaços de Dendê .....</b>	<b>40</b>
4.4.1. Determinação do Teor de Extrativos.....	40
4.4.2. Determinação do Teor de Umidade .....	41
4.4.3. Determinação dos Teores de Celulose, Hemicelulose e Lignina.....	41
4.4.3.1. <i>Lignina solúvel</i> .....	42
4.4.3.2. <i>Lignina Insolúvel</i> .....	42
4.4.3.3. <i>Lignina Total</i> .....	42
4.4.3.4. <i>Celulose e Hemicelulose</i> .....	43
4.4.4. Determinação do Teor de Cinzas .....	43
4.4.5. Espectroscopia por Fluorescência de Energia Dispersiva de Raios X (EDX) .....	44
4.4.6. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	44
4.4.7. Difratomia de Raios X (DRX) .....	45
4.4.8. Análise Termogravimétrica (TGA).....	46
4.4.9. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) .....	46
4.4.10. Análise Dimensional das Nanofibras de Celulose (NFC).....	47
4.4.11. Análise de Potencial Zeta (PZ) .....	47
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>48</b>
<b>5.1. Autohidrólise.....</b>	<b>48</b>
5.1.1. Morfologia das Fibras de Bagaço de Cana-de-Açúcar e Engaços de Dendê .....	52
5.1.2. Cristalinidade das Fibras de Bagaço de Cana-de-Açúcar e Engaços de Dendê <i>in Natura</i> e Tratadas por Autohidrólise.....	56

5.1.3. Estabilidade Térmica das Fibras de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê <i>in natura</i> e Tratadas por Autohidrólise .....	59
<b>5.2. Branqueamento das Fibras <i>in Natura</i> e Tratadas por Autohidrólise .....</b>	<b>63</b>
5.2.1. Teores de Celulose, Hemicelulose e Lignina das Fibras de Bagaço de cana e Engaços de Dendê <i>in Natura</i> e Branqueadas .....	64
5.2.2. Morfologia das Polpas de Celulose de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê.....	68
5.2.3. Cristalinidade das Fibras Celulósicas de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê ....	71
5.2.4. Estabilidade Térmica das Polpas de Celulose de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê .....	75
<b>5.3. Nanofibras de Celulose de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê (NFC) .....</b>	<b>78</b>
5.3.1. Morfologia e Análise Dimensional das NFC de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê .....	78
5.3.2. Cristalinidade das NFC de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê.....	88
5.3.3. Estabilidade Térmica das NFC de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê .....	92
5.3.4. Estabilidade dos Sistemas Coloidais de NFC de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê .....	96
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>98</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>100</b>
<b>ANEXO I - Determinação de atividade FPase de coquetel enzimático de celulases de <i>Trichoderma reesei</i> .....</b>	<b>111</b>
<b>ANEXO II - Difratoograma de raios X de resíduo coletado após a reação de autohidrólise das fibras lignocelulósicas.....</b>	<b>113</b>
<b>ANEXO III - Espectroscopia de Fluorescência de Raios X.....</b>	<b>114</b>
<b>ANEXO IV – EDS .....</b>	<b>115</b>

<b>ANEXO V – Morfologia das fibras de bagaço de cana-de-açúcar com aumento de 4.000 vezes. ....</b>	<b>116</b>
<b>ANEXO VI – Morfologia das fibras de engaço de dendê com aumento de 4.000 vezes. ....</b>	<b>117</b>
<b>ANEXO VII – Morfologia de fibra de alfa celulose Sigma-Aldrich .....</b>	<b>118</b>
<b>ANEXO VIII – Análise por difratometria de raios X e comportamento térmico de fibras de <math>\alpha</math>-celulose Sigma-Aldrich .....</b>	<b>119</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O crescimento e a intensificação das atividades de diversos segmentos da indústria, principalmente em função do crescimento demográfico e exigências do mercado, têm refletido em uma considerável elevação da demanda de energia e matérias-primas, principalmente de origem fóssil (petróleo, gás natural e derivados). Neste contexto, aliado às discussões quanto as questões ambientais e a dependência de insumos não-renováveis, vêm sendo colocado em pauta a necessidade de propor novas alternativas para assegurar a manutenção das atividades industriais.<sup>1</sup> Os esforços têm sido direcionados a definir processos de caráter sustentável, tecnológico, eficiente e ambientalmente corretos.<sup>2</sup>

Com isso, a busca por fontes renováveis para síntese de biocombustíveis e elaboração de materiais tem despertado grande interesse e sendo foco de inúmeras pesquisas, no intuito de disponibilizar novas tecnologias e redefinir novas perspectivas no cenário mundial.<sup>3, 4</sup> Conhecendo o potencial agroindustrial de vários países, como o Brasil, a biomassa lignocelulósica surge como uma possibilidade de matéria-prima promissora que pode ser utilizada para formular materiais renováveis, por exemplo, com inúmeras aplicações e desempenho diferenciado.<sup>5, 6</sup>

Os resíduos lignocelulósicos são compostos principalmente por três frações: celulose (40-50%), hemicelulose (20-30%) e lignina (15-25%), além de outros constituintes presentes em menor proporção.<sup>7</sup> Os materiais lignocelulósicos estão disponíveis em grandes quantidades anualmente no país com potencial para diversificação de aplicações, podendo ser aproveitados para a síntese de diversos bioprodutos, biocombustíveis e biomateriais.<sup>1, 8-10</sup> A indústria sucroalcooleira é uma das grandes representantes na produção de biomassa energética, com autonomia, destaque e influência em diversos segmentos (econômico, social, ambiental e agrícola).<sup>11</sup>

Os principais produtores mundiais de cana-de-açúcar são: Brasil, Índia, China e Tailândia.<sup>12</sup> O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e o segundo maior produtor de etanol, sendo pioneiro na produção deste biocombustível.<sup>4, 13-15</sup> Visto a enorme quantidade de cana processada para obtenção dos produtos provenientes deste setor (açúcar, álcool e energia), elevadas quantidades de resíduos lignocelulósicos são gerados, onde podemos citar o bagaço, a palha, a torta de filtro e as cinzas, dentre outros.<sup>4, 16</sup>

Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB)<sup>17</sup>, para a safra 2016/2017 estima-se a produção de 694,54 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, o que disponibilizará grandes quantidades de resíduos a serem gerenciados, especialmente o bagaço



de cana, visto que para cada tonelada de cana processada gera-se entre 240 e 280 kg deste material.<sup>13</sup> A partir dos valores esperados para a safra 2016/2017 estima-se uma produção de cerca de 39,8 milhões de toneladas de açúcar e mais de 27,9 bilhões de litros de etanol (anidro e hidratado).<sup>17</sup>

O bagaço consiste no coproduto disponível em maior quantidade nas usinas, onde vem sendo utilizado para cogeração de energia na queima em caldeiras, entretanto, é observado que uma fração deste material não é aproveitada adequadamente.<sup>4, 14, 15</sup> Com isso, pesquisas vêm sendo impulsionadas de forma a avaliar o potencial do uso do bagaço de cana como matéria-prima em variados processos, especialmente para a produção de etanol celulósico (2G) e biomateriais, onde a síntese de compósitos reforçados com fibras oriundas deste resíduo pode contribuir para a diversificação de atividades para o setor e para a diminuição do uso de fibras sintéticas.<sup>18</sup>

Outro setor agroindustrial em crescente expansão mundial, inclusive no Brasil, é a cadeia produtiva do óleo de dendê, onde de acordo com dados da USDA, a produção mundial deste óleo para 2017 está estimada em cerca de 64,5 milhões de toneladas.<sup>19, 20</sup> O óleo de dendê é um produto versátil com manuseio e armazenamento simples, o que possibilita várias aplicações a partir do seu uso, principalmente direcionados a indústria alimentícia, cosméticos, higiene, lubrificantes, produtos de limpeza, lubrificantes e biocombustível, dentre outros.<sup>20-24</sup> A cultura do dendê é explorada por inúmeros países atualmente, sendo caracterizada como uma atividade com baixo custo de produção, alta produtividade e economicamente viável.<sup>5</sup> Os principais países produtores deste setor são Malásia, Indonésia e Tailândia. Os dois primeiros respondem por cerca de 85% da produção mundial de óleo de dendê.<sup>20</sup>

No Brasil, os principais estados produtores de óleo de dendê são: Pará, Amapá, Bahia e Amazonas.<sup>20</sup> A partir do processamento dos frutos do dendezeiro dentro da cadeia de produção são gerados os seguintes resíduos: cachos vazios ou engaços (22%), torta de palmiste (3,5%), fibras de prensagem do mesocarpo (12%), cascas (5%) e POME (*Palm Oil Mill Effluent*) (50%).<sup>25, 26</sup> Os engaços de dendê consistem no resíduo lignocelulósico gerado em maior quantidade no processo, sendo utilizado como combustível na manutenção das caldeiras e como adubo no campo. Entretanto, outras aplicações podem ser propostas para este material, visto a expansão desta cadeia e a oportunidade de geração de novas tecnologias para este setor.<sup>25, 26</sup>

De um modo geral, as cadeias da cana-de-açúcar e do dendê são bastante atrativas, em função da oferta de resíduos lignocelulósicos gerados anualmente e a oportunidade de

propor novos usos para os rejeitos destes setores. Estes necessitam de um tratamento que seja viável em caráter econômico e ambiental, o que se caracteriza como um desafio no contexto do uso eficiente de biomassa lignocelulósica.<sup>9</sup> Várias tecnologias vêm sendo discutidas e avaliadas para conversão de biomassa lignocelulósica, estando disponíveis processos químicos, termoquímicos, bioquímicos ou a combinação destes, com o intuito de aproveitar as três principais frações da biomassa, de acordo com as características do material, componente de interesse e as suas potencialidades.<sup>8, 27</sup>

A fração de celulose, por exemplo, tem sido amplamente explorada visando a produção de papel, síntese de polímeros de fontes renováveis, hidrogéis, biomateriais e na obtenção de etanol celulósico.<sup>18, 27-29</sup> Na área de materiais renováveis, a obtenção de nanofibras de celulose a partir da hidrólise seletiva da celulose tem sido otimizada com a finalidade de agregar valor à produção de etanol celulósico, visto suas propriedades de interesse para o desenvolvimento de materiais compósitos com características diferenciadas, como elevada área superficial e cristalinidade acentuada e razão de aspecto (relação entre o comprimento e o diâmetro).<sup>29-33</sup>

Para o isolamento de nanofibras de celulose os processos hidrolíticos explorados consideram basicamente duas possibilidades de catalisadores: ácidos inorgânicos e enzimas. No entanto o uso de ácidos como o sulfúrico ou clorídrico apresentam algumas dificuldades a serem solucionadas, tais como condições severas do meio reacional e problemas com corrosão de equipamentos, dentre outras questões a serem ajustadas.<sup>34</sup> Com isso, a hidrólise enzimática surge como uma alternativa promissora, visto que as enzimas empregadas, denominadas celulasas, são altamente específicas e trabalham em condições brandas de temperatura, pH e pressão.<sup>32, 35, 36</sup>

A rota enzimática também apresenta pontos a serem melhorados como o tempo de reação elevado, inativação e adsorção das celulasas na presença de lignina e o alto custo de produção de celulasas.<sup>34</sup> Contudo esta vem sendo amplamente estudada a fim de estabelecer meios para a produção de etanol celulósico e biomateriais, de forma integrada, eficiente e economicamente viável em escala industrial.<sup>37</sup> As nanofibras de celulose são biomateriais com potencial de aplicação na indústria, sendo avaliadas como reforço na síntese de nanocompósitos biodegradáveis e outros segmentos, visando futuramente disponibilizar uma maior variedade de produtos renováveis para a ciência de materiais.<sup>33, 38, 39</sup>

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo extrair nanofibras de celulose a partir da celulose proveniente de resíduos agroindustriais (bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê) por hidrólise enzimática, utilizando complexo comercial de celulases de *Trichoderma reesei* avaliando diferentes tempos de reação.

### 2.2. Objetivos Específicos

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Obter polpa de celulose de bagaço de cana e engaços de dendê utilizando clorito de sódio e hidróxido de potássio ( $\text{NaClO}_2$  e  $\text{KOH}$ ), avaliando vários ciclos de extrações e a eficiência da metodologia de branqueamento;
- Avaliar o potencial da autohidrólise como pré-tratamento das fibras lignocelulósicas, considerando diferentes condições de tratamento, como a temperatura e o tempo de reação;
- Obter celulose de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê por meio da combinação de autohidrólise e extrações químicas ( $\text{NaClO}_2$ ), avaliando a eficiência e a viabilidade dos tratamentos;
- Caracterizar as matérias-primas lignocelulósicas e as polpas celulósicas obtidas quanto à constituição química (celulose, hemicelulose, lignina e extrativos), cristalinidade, morfologia e estabilidade térmica;
- Isolar nanofibras por meio da hidrólise enzimática das polpas de celulose obtidas, utilizando o coquetel de celulases de *Trichoderma reesei*;
- Caracterizar as nanoestruturas obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (MET), termogravimetria (TGA), difratometria de raios X (DRX) e potencial zeta (PZ).

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Matérias-primas potenciais

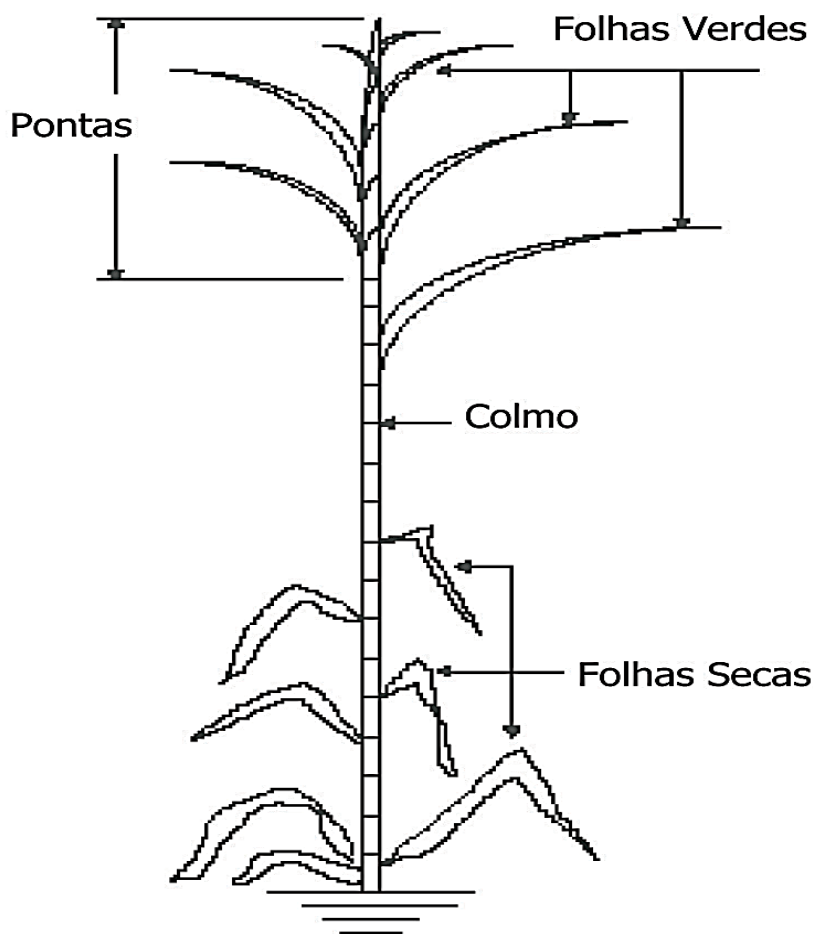
##### 3.1.1. Cana-de-Açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum ssp.*) historicamente exerceu grande influência no desenvolvimento e na economia do Brasil.<sup>40</sup> Esta foi a segunda cultura explorada no país, depois da decadência do ciclo do pau-brasil, sendo considerada a primeira atividade agroindustrial no território brasileiro.<sup>16, 41</sup> A cana foi introduzida no Brasil no ano de 1515, oriundas de Portugal, da região da Ilha da Madeira. O primeiro engenho destinado a produção de açúcar foi construído no estado de São Paulo, em 1532, na capitania de São Vicente, com a iniciativa de Martin Afonso de Souza.<sup>13</sup> Entretanto, a propagação dos engenhos de açúcar ocorreu de modo efetivo na Região Nordeste, principalmente nas capitanias dos estados de Pernambuco e Bahia.<sup>4, 16, 42</sup>

O plantio da cana-de-açúcar também foi explorado na região sudeste, visto que o estado de São Paulo é hoje um dos maiores representantes do setor sucroalcooleiro.<sup>4, 16, 42</sup> A partir do desenvolvimento das técnicas de cultivo e a intensa disseminação desta cultura, no século XVI o país era considerado como o maior produtor e fornecedor mundial de açúcar. Esta condição conquistada pelo Brasil perdurou até o fim do século XVII.<sup>13, 14</sup>

Não é estabelecida a origem exata da cana-de-açúcar, mas acredita-se que esta seja proveniente da região sudeste da Ásia.<sup>13, 14</sup> Consiste de uma cultura pertencente à família Poaceae e ao gênero *Saccharum*, que apresenta diversas variedades de espécies. É uma planta de caráter perene na sua forma natural e semiperene no cultivo extensivo, sendo própria de climas tropicais e subtropicais.<sup>13</sup> O cultivo da cana-de-açúcar necessita de solos profundos e férteis, temperaturas entre 20 e 24 °C e é intolerante à incidência de geadas. Quanto à colheita, esta deve ser realizada em determinados períodos do ano, em virtude da obtenção de índices máximos de açúcar.<sup>43</sup>

A moagem dos colmos da cana-de-açúcar extrai o caldo, rico em glicose, que é utilizado na produção de açúcar e etanol. Neste processo, é gerada uma quantidade considerável de material fibroso proveniente dos colmos, com uma umidade avaliada em 50%.<sup>43</sup> A Figura 1 apresenta a estrutura da cana-de-açúcar, onde se pode observar o colmo e a distribuição das folhas e pontas ao longo de sua estrutura.



**Figura 1:** Desenho esquemático mostrando a planta da cana-de-açúcar e suas partes acima do solo.<sup>42</sup>

A cana-de-açúcar apresenta elevada capacidade de adaptação, onde o seu cultivo pode ser observado nas mais variadas áreas com potencial de plantio, com maior ocorrência em regiões tropicais e subtropicais.<sup>13</sup> Atualmente, a maioria das variedades comerciais de cana disponíveis para cultivo são híbridas, ou seja, resultado de cruzamentos realizados no início do século XX, principalmente entre as espécies *Saccharum officinarum* e *Saccharum spontaneum*. Entretanto, é observada uma maior influência da carga genética da *Saccharum officinarum*.<sup>4, 13, 14</sup>

No setor sucroalcooleiro, os produtores de cana-de-açúcar com maior destaque mundial são o Brasil, Índia, China e Tailândia.<sup>4</sup> No Brasil, a utilização do álcool como alternativa de combustível para o abastecimento dos postos começou no ano de 1900, mas somente na década de 1970, com a crise do petróleo que uma elevada produção de álcool a partir da cana-de-açúcar foi fortemente estimulada.<sup>11</sup> Outro fator importante que impactou positivamente a produção do álcool combustível foi o surgimento do Projeto Proálcool.<sup>40</sup>

### 3.1.2. Resíduos da Indústria Sucroalcooleira

No Brasil, o setor sucroalcooleiro tem grande influência no cenário econômico, político e social do país, devido principalmente à dimensão, capacidade produtiva e tecnológica do setor. O pioneirismo na produção de etanol também é um fator que contribuiu para a consolidação e importância desta cadeia para o desenvolvimento do país. Como consequência, o aumento na geração de resíduos no sistema de produção e a necessidade de gerenciamento destes de maneira eficiente em caráter econômico, logístico e ambiental têm sido uma questão amplamente discutida.<sup>44</sup>

A indústria sucroalcooleira atualmente reutiliza uma fração dos resíduos provenientes da cadeia de produção dentro do processo produtivo, majoritariamente como matéria-prima energética para manutenção das atividades diárias.<sup>13</sup> Essa realidade torna necessário esforços na melhoria da eficiência dos processos de geração de energia elétrica e calor, principalmente nas caldeiras a fim de diminuir o uso de biomassa utilizada. O setor depende da renda proveniente da geração de bioeletricidade, visto que o excedente de energia gerado é comercializado para outras indústrias. A otimização do uso das caldeiras propiciaria uma maior parcela de biomassa para outras aplicações, como a produção de etanol celulósico por exemplo, e maior quantidade de energia para comercialização.<sup>45</sup>

Os principais resíduos produzidos no setor são o bagaço, a palha, a vinhaça e a torta de filtro.<sup>2, 13, 16</sup> As quantidades de resíduos geradas nas usinas ao longo do ano dependem de alguns fatores a serem considerados, tais como: sistema com ou sem queima de cana pré-colheita, altura dos ponteiros, variedade da cultivar plantada, idade da cultura e estágio de corte e o uso ou não de vinhaça na fertirrigação do campo, dentre outras. As condições do clima e do solo também influenciam nos índices de resíduos disponibilizados após o processamento da cana nas usinas.<sup>43</sup>

### 3.1.3. Bagaço de Cana

Dentre os resíduos produzidos, o bagaço de cana é o subproduto com maior disponibilidade e uso no setor, seguido da palha de cana (folhas e ponteiros da planta) deixada no campo após a colheita.<sup>4, 13</sup> O bagaço de cana-de-açúcar consiste em um material de caráter fibroso, obtido após a moagem da cana, composto basicamente por fibras lignocelulósicas, de baixo custo e considerável disponibilidade no Brasil, como exemplificado na Figura 2.<sup>4, 43</sup> A composição deste resíduo depende da variedade de cana investigada, mas de um modo geral é

composto em média por celulose (40,84%), hemicelulose (24,07%), lignina (33,%) e cinzas (0,68 %).<sup>46</sup>



**Figura 2:** Bagaço de cana gerado na indústria após moagem.<sup>4</sup>

O bagaço tem uma aplicação estabelecida no processo produtivo, direcionado à alimentação das caldeiras e na geração de energia elétrica e calor para manutenção do setor.<sup>47</sup> O uso do bagaço para geração de bioeletricidade contribui para que esta cadeia seja autossuficiente do ponto de vista energético, sabendo que a energia necessária para o desempenho da agroindústria é proveniente integralmente da queima deste resíduo.<sup>14</sup> O excedente de energia é comercializado para abastecimento das cidades e da indústria. Entretanto, tem se constatado que parte do bagaço permanece sem aplicação dentro do processo, podendo trazer futuros problemas ambientais e de logística nas usinas.

Desse modo, observa-se que esta fração pode ser aproveitada para outras finalidades além da cogeração de energia.<sup>4, 14</sup> Estudos têm direcionado o uso deste resíduo em uma ampla variedade de processos biotecnológicos e na obtenção de novos coprodutos como ração animal, biofertilizantes, biocombustíveis, carvão vegetal, biogás, como material alternativo na construção civil, na produção de biomassa microbiana, compósitos e polímeros, entre outros.<sup>16, 44</sup>

Dentre as aplicações investigadas para esta matéria-prima, a produção de etanol celulósico tem ganhado destaque mundial, visto a dependência acentuada de combustíveis não renováveis e o esgotamento das reservas fósseis. Para a ciência de materiais, na literatura é reportado o uso das frações da biomassa celulósica na síntese de inúmeros produtos diferenciados. Esse novo contexto para a química traz como desafio a otimização do isolamento de nanofibras de celulose e a obtenção de biopolímeros, compósitos, hidrogéis e bioadesivos, dentre outras possibilidades, agregando valor à cadeia produtiva.<sup>26</sup>

### 3.1.5. Cultura do Dendê

Considerada como uma das oleaginosas com maior potencial de produtividade no mundo e vantagens de cultivo dentre as atuais variedades plantadas, a palma de óleo, ou dendezeiro é uma cultura que tem ganhado destaque no mercado mundial.<sup>21</sup> A agroindústria do dendê consiste num setor competitivo e bastante promissor na produção de óleos, visto a versatilidade e características do produto, o que justifica a elevada demanda atual.<sup>20, 22</sup> A palma é responsável por quase um terço da produção global de óleos de origem vegetal, visto que o óleo de dendê apresenta acentuada procura, consumo e comercialização em comparação a outras variedades de óleos vegetais no mundo.<sup>5, 48</sup> Esta cultura apresenta uma taxa de mecanização inferior a de outras oleaginosas cultivadas, necessitando de intensa mão-de-obra, o que promove a geração de emprego para inúmeras famílias residentes nas regiões ligadas a esta atividade.<sup>25</sup>

A dendeicultura necessita de intensa mão-de-obra, o que promove a geração de emprego para inúmeras famílias residentes nas regiões ligadas a esta atividade.<sup>25</sup> Introduzida no país no século (XVI), o dendezeiro (*Elaeis guineensis*) consiste em uma palmeira originária do continente africano.<sup>21</sup> No Brasil, a cultura do dendê inicialmente se adaptou na Região Nordeste, litoral sul da Bahia, enquanto que na Região Norte, o primeiro plantio comercial foi registrado no município de Benevides, no estado do Pará, no ano de 1968.<sup>22</sup>

Quanto à produção de óleo de dendê, existem poucos fornecedores deste produto e o seu consumo vem crescendo nos últimos anos. Os principais produtores e exportadores são Malásia, Indonésia e Tailândia.<sup>5, 20, 48</sup> Os maiores importadores desta oleaginosa são China, Índia, Estados Unidos e Europa, sendo também os maiores consumidores mundiais. Nesse contexto pode ser observada uma maior diversidade de países que consomem o óleo de palma em relação aos países que exportam ou produzem esta matéria-prima.<sup>20</sup>

A partir dos frutos do dendezeiro são extraídos dois tipos de óleo: o óleo de palma, extraído da polpa ou mesocarpo, e o óleo de palmiste, obtido da amêndoa ou endosperma. Este último se encontra no estado semisólido a temperatura ambiente, constituído de uma maior fração de ácidos graxos saturados do que o óleo de palma.<sup>20, 21</sup> O Brasil é um produtor e consumidor deste óleo, embora não seja um dos mais significativos representantes deste setor.<sup>48</sup> A produção brasileira para 2017 está estimada em 340.000 toneladas de óleo de dendê.<sup>49</sup>

O óleo de polpa e de palmiste apresentam características que permite diversas aplicações, atribuído ao manuseio simples, armazenamento e propriedades nutricionais,



disponibilizando mais de 50 artigos para comercialização, principalmente na indústria de alimentos (margarinas, maioneses, biscoitos, sorvetes, chocolates e substituto para a manteiga de cacau, dentre outras), mas também na indústria de cosméticos, higiene e limpeza, fármacos, fabricação de velas, detergentes, crayons, tintas, lubrificantes, plastificantes, resinas, sabonetes, sabões, fabricação de confeitos e biocombustíveis.<sup>20-23</sup>

A cultura do dendê apresenta alta produtividade, plantio permanente com baixo custo de produção e condições competitivas economicamente no mercado. Apresenta produção contínua ao longo do ano, em que o rendimento desta palmeira é de 4 a 6 toneladas de óleo por hectare (1,5 vezes a produtividade do óleo de coco, 2 vezes a produtividade do óleo de oliva e 10 vezes a produtividade do óleo de soja).<sup>20, 23</sup> No Brasil, os estados responsáveis pela produção de óleo de palma são: Pará, Amapá, Bahia e Amazonas.<sup>5</sup> Entretanto, o Pará é o maior produtor desta variedade de óleo. Nesta atividade, a agricultura familiar tem um papel importante nas atividades que movimentam o setor, abrangendo produtores de pequeno e médio porte.<sup>5, 23, 48</sup>

### 3.1.6. Resíduos da Cadeia Produtiva do Dendê

A cadeia produtiva do dendê disponibiliza uma variedade de resíduos a ser gerenciado de forma eficiente e ambientalmente correta. Este setor oferece, a partir do processamento dos frutos do dendezeiro, os seguintes produtos e subprodutos: óleo de palma bruto (20 %), óleo de palmiste (1,5 %), engaços ou cachos vazios (22%), torta de palmiste (3,5 %), cascas (5 %) e fibras de prensagem do mesocarpo (12 %) e o POME (*Palm oil mill effluente*).<sup>25, 26</sup> Este último consiste em um efluente líquido gerado ao longo do beneficiamento dos frutos, sendo gerado em elevadas quantidades (50 %).

Todos estes resíduos são gerados majoritariamente dentro da própria indústria, onde têm sido utilizados como fonte de energia, nutrientes e na manufatura de diversos produtos para a agricultura e outros setores.<sup>25</sup> Desse modo, são reportados o uso dos resíduos da dendeicultura na produção de fertilizantes, cobertura do solo, alimentação das caldeiras e outras finalidades.<sup>21</sup>

Os engaços de dendê, fibras e cascas são utilizados principalmente na adubação dos dendezais e como combustível nas caldeiras.<sup>23, 25</sup> A torta de palmiste tem sido empregada na produção de ração para alimentação bovina e suína e como adubo.<sup>21, 22, 25</sup> No entanto, estes materiais podem ser direcionados para outros setores, apresentando grande potencial como matéria-prima em diversos processos industriais.<sup>25</sup> Esse gerenciamento envolve uma série de

questões a serem consideradas, visto que o aproveitamento destes resíduos envolve custos (principalmente quando o material requer um tratamento) e questões de caráter ambiental e econômico. Esta atividade pode minimizar a existência de condições favoráveis a proliferação de doenças e animais patogênicos, tal como gerar emprego nas regiões que englobam a dendeicultura.<sup>25</sup>

### 3.1.7. Engaços de Dendê

Dentre os resíduos lignocelulósicos gerados no setor, os engaços têm destaque neste cenário, visto que para cada tonelada de óleo de dendê processados são gerados 1,1 toneladas de cachos vazios (Figura 3). Os engaços consistem em um suporte fibroso que sustenta o fruto e correspondem de 22 a 25 % do peso dos cachos de frutos frescos (CFF) processados.<sup>25</sup> São materiais que necessitam de gerenciamento rápido dentro do processo produtivo, especialmente pela alta taxa de degradação, o que pode trazer problemas ambientais. Quanto a constituição química, este subproduto é formado por 59,7 % de celulose, 22,1 % de hemicelulose e 18,1 % de lignina.<sup>50</sup>



**Figura 3:** Engaços de dendê após colheita na usina de beneficiamento dos frutos de dendê e processados em moinho de facas tipo Willey.

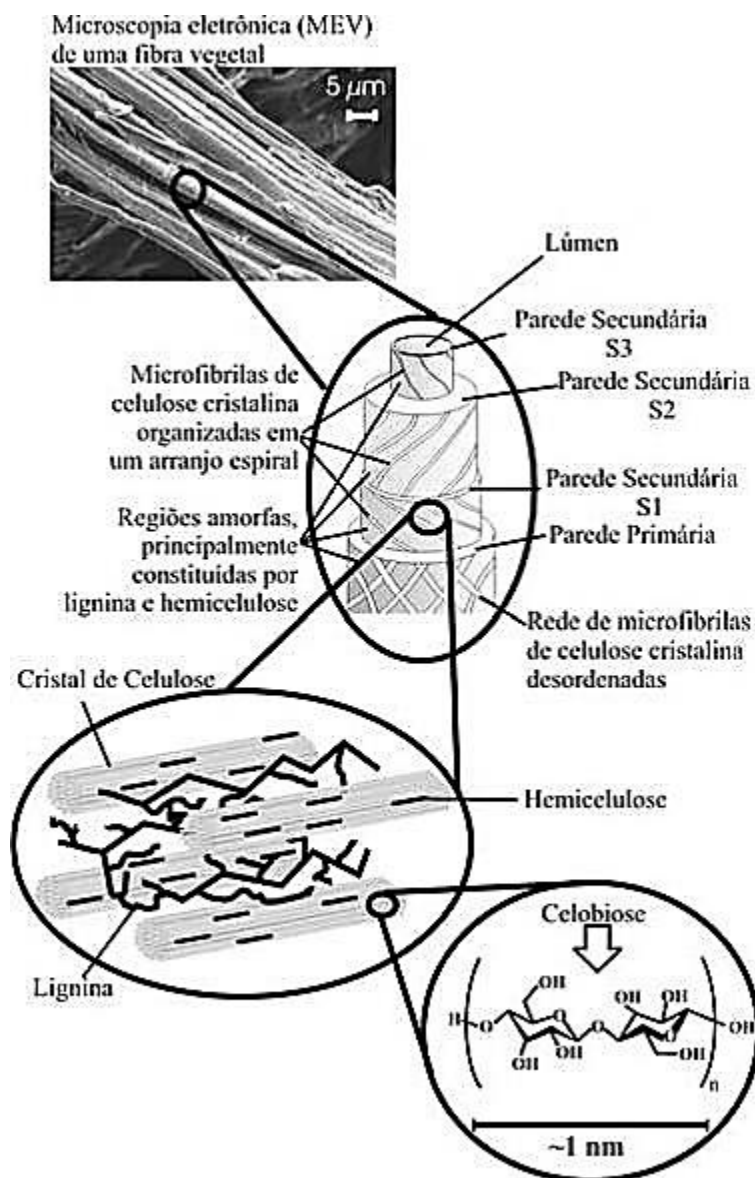
Além das aplicações dadas aos engaços de dendê dentro do setor de origem (cobertura de solo, produção de cinzas, fertilizante e fonte de energia para as caldeiras), outros destinos vem sendo discutidos para estes materiais, contribuindo para a valorização da cadeia e o gerenciamento deste resíduo,<sup>25</sup> visto o teor de celulose atrativo (59,7%), o aumento mundial no consumo do óleo de palma e as poucas atribuições tecnológicas divulgadas para esta biomassa.

## 3.2. Fibras lignocelulósicas

### 3.2.1. Estrutura, Características e Composição

O uso e estudo de fibras vegetais em processos industriais tem despertado o interesse de diversos setores, visto que esses materiais são gerados em grandes quantidades em diversos países, principalmente em regiões com intensa atividade agroindustrial e apresentam baixo custo associado.<sup>1, 51</sup> Tais fibras são denominadas lignocelulósicas, pois são formadas majoritariamente por celulose, hemicelulose e lignina, sendo encontrados outros constituintes em menor proporção como extrativos e compostos de natureza inorgânica.<sup>7, 52</sup>

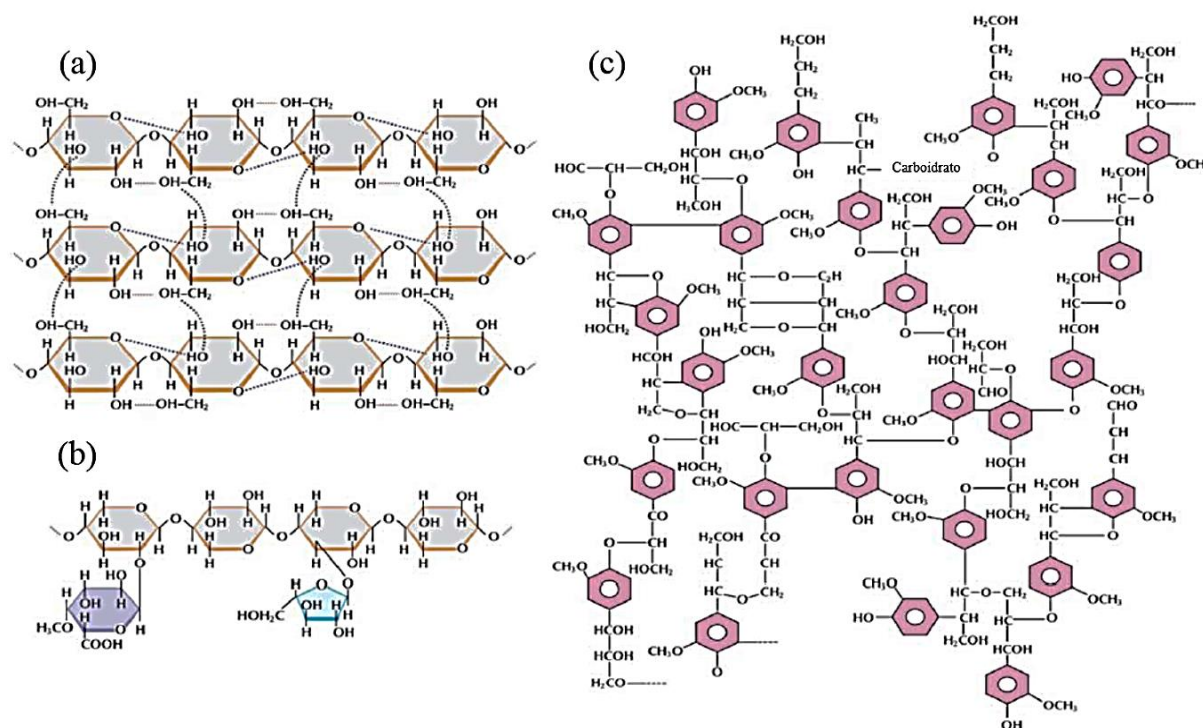
A Figura 4 apresenta os componentes das fibras lignocelulósicas citados anteriormente, onde entende-se que as propriedades e características de fibras naturais são atribuídas a inúmeros fatores, como a composição química, interação entre os constituintes e a estrutura interna da fibra. Esta última característica depende da parte da planta estudada e da variedade em questão.<sup>6</sup> Desse modo, dentre as fibras lignocelulósicas estudadas e exploradas podemos citar o curauá, coco, bambu e o eucalipto, entre outras.<sup>31, 38, 53, 54</sup>



**Figura 4:** Estrutura de uma fibra vegetal (eucalipto como exemplo). A imagem de MEV se refere à fibra de Eucalipto.<sup>54</sup>

O Brasil tem interesse quanto ao aproveitamento integral de biomassa lignocelulósica, apresentando características que contribuem para o estabelecimento de processos para o uso dessa matéria-prima, visto a grande biodiversidade, condições propícias de cultivo e potencial agroindustrial consolidado.<sup>55</sup> No entanto, a utilização efetiva mundialmente e em larga escala de biomassa depende essencialmente de três questões: estabelecimento de custos competitivos, fornecimento regular de matéria-prima e melhoria de equipamentos de processamento, associado à otimização dos custos relativos ao processo.<sup>16</sup>

A Figura 5 apresenta a estrutura representativa dos principais componentes de fibras lignocelulósicas: celulose, hemicelulose e lignina, que serão descritos mais detalhadamente a seguir.<sup>8</sup>



**Figura 5:** Estrutura representativa dos componentes majoritários de fibras lignocelulósicas: (a) celulose, (b) hemicelulose e (c) lignina.<sup>8</sup>

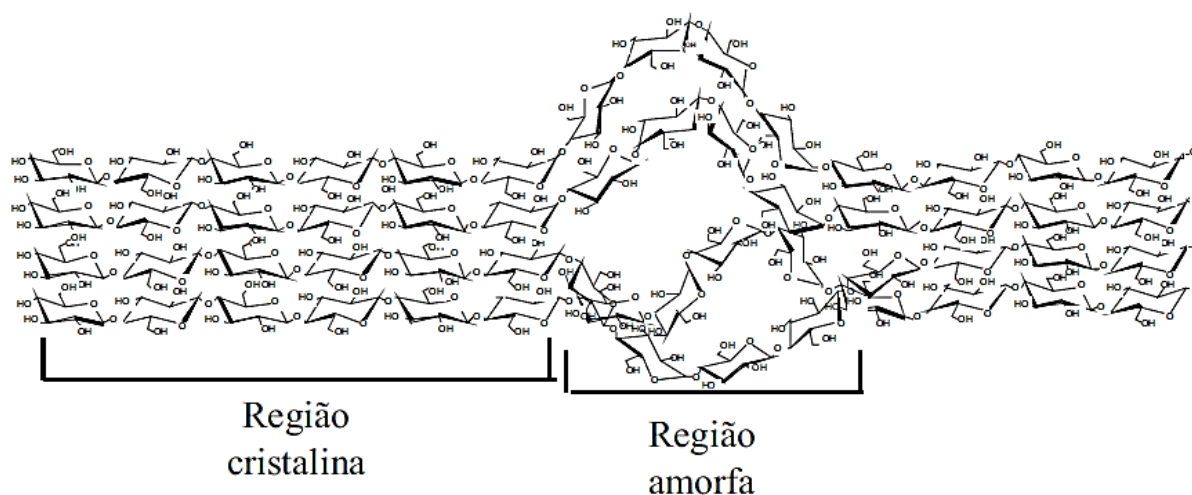
### 3.2.1.1. Celulose

A celulose ( $C_6H_{10}O_5$ )<sub>n</sub> (Figura 5a) consiste em um polímero natural, com elevada massa molar e insolúvel em água, podendo ser encontrada em todas as plantas, sendo o material orgânico em maior abundância na natureza. As cadeias da celulose são formadas por unidades de D-glicopirranose unidas linearmente por ligações glicosídicas β,1→4, podendo ser obtida por meio do branqueamento de fibras vegetais, produção por via bacteriana e extração a partir de animais marinhos, conhecidos como tunicados.<sup>56, 57</sup> Este polímero apresenta estrutura estereoregular com cadeia longa, sendo que variadas fontes de biomassa apresentam a fração de celulose disponível com diferentes graus de polimerização.<sup>7, 56</sup> visto que em uma mesma planta pode-se encontrar celulose com graus de polimerização distintos.

A cadeia deste polímero é formada pela eliminação de água entre as moléculas de glicose, onde as unidades estruturais são denominadas anidroglicose, e estão unidas entre si através dessas ligações glicosídicas, β,1→4. A estrutura da celulose é caracterizada pela

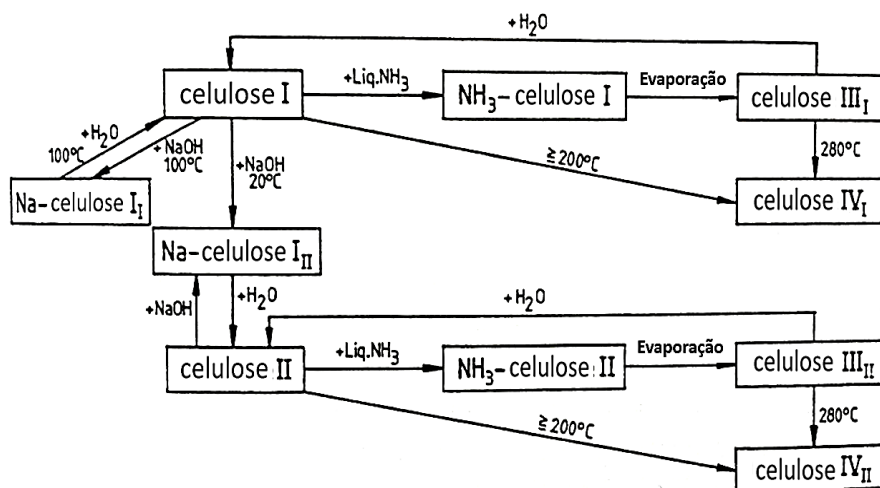
presença de grupos hidroxila (OH) onde a partir desses é observada a formação de dois tipos de ligações de hidrogênio: intramolecular e intermolecular. Tais ligações contribuem para a formação das estruturas supramoleculares da celulose e para a forte interação entre os componentes da molécula de glicose, o que justifica o fato das cadeias se organizarem eficientemente de forma compacta na parede celular das plantas, assim como as propriedades quanto a solubilidade, reatividade e cristalinidade.<sup>7, 52, 58</sup>

As fibras celulósicas apresentam duas regiões distintas ao longo de sua estrutura, denominadas cristalina e amorfa (Figura 6). As regiões cristalinas apresentam elevada ordenação, estabilizadas por ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, sendo uma área da fibra com maior dificuldade de acesso de catalisadores em processos hidrolíticos. Já as regiões denominadas amorfas, apresentam uma estrutura desorganizada, o que proporciona um maior acesso de agentes hidrolíticos na desconstrução desse material.<sup>59</sup>



**Figura 6:** Estrutura da celulose destacando as regiões cristalinas e amorfas.<sup>55</sup>

Quanto à organização da estrutura da celulose, alterações podem ocorrer de acordo com as condições do uso de tratamentos químicos e térmicos, podendo apresentar várias estruturas polimórficas, onde podemos citar a celulose tipo I, II, III, IV, IV<sub>I</sub> e IV<sub>II</sub>, por exemplo, como é apresentado na Figura 7.

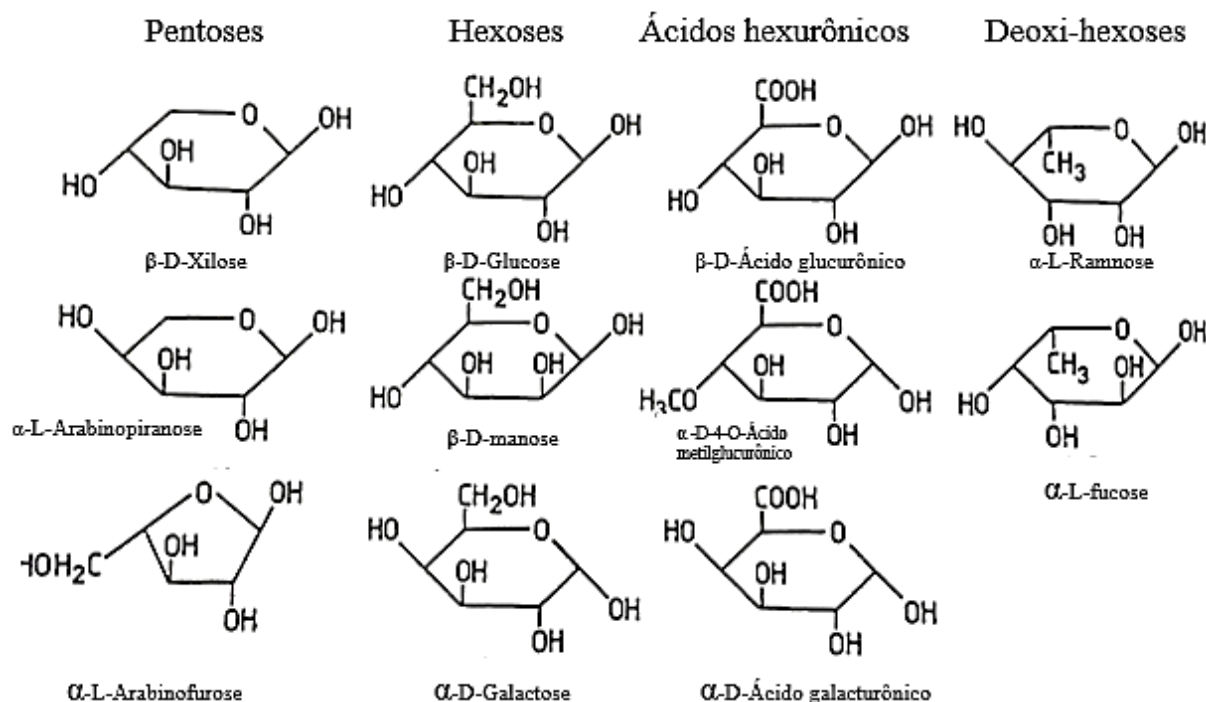


**Figura 7:** Transformação de celulose em várias modificações de rede.<sup>52</sup>

As principais estruturas polimórficas da celulose e com maior importância são a celulose I, Na-celulose I e celulose II. O polimorfo com maior ocorrência na natureza é a celulose I ou nativa, que apresenta estrutura monoclinica formada por três eixos de comprimentos diferentes. Para esta estrutura os cantos da unidade cristalina estão ocupados e as cadeias são enroscadas em torno do eixo longitudinal em 180°. Nesse contexto, as ligações de hidrogênio tem uma influência importante para a determinação do arranjo e coerência das cadeias de celulose na rede cristalina, assim como para a cristalinidade da celulose avaliada.<sup>52</sup>

### 3.2.1.2. Hemicelulose

Outro componente importante da estrutura das fibras vegetais são as polioses ou hemiceluloses (Figura 8), disponíveis em diferentes concentrações de acordo com a origem da matriz lignocelulósica e as condições de formação da parede celular.<sup>52</sup>



**Figura 8:** Representação dos componentes dos açúcares das polioses.<sup>52</sup>

As hemiceluloses são formadas por unidades de açúcar que podem ser classificadas de acordo com o principal resíduo de açúcar presente na espinha dorsal, onde podemos citar as xilanas, mananas e glucanas. As xilanas e mananas consistem nos representantes desse componente com maior ocorrência. Outras subclasses de hemiceluloses também podem ser encontradas e isoladas na natureza, tais como as glucuronoxilanos, arabinoxilanos, mananas lineares, glucomananas, *p*-glucanas, xiloglucanas, ácido hexurônico e desoxihexoses, dentre outros.<sup>52</sup>

A cadeia principal das polioses podem consistir de uma unidade de açúcar (homopolímero) ou mais unidades (heteropolímero), onde algumas das unidades podem ser grupos laterais da cadeia principal (espinha dorsal).<sup>52</sup> As hemiceluloses são macromoléculas ramificadas e com cadeia e massa molecular média menores que as cadeias de celulose, o que contribui quanto as características de alongamento das fibras, e atuam sobre as interações entre as microfibrilas de celulose, influenciando na resistência e rigidez.<sup>52, 60</sup>

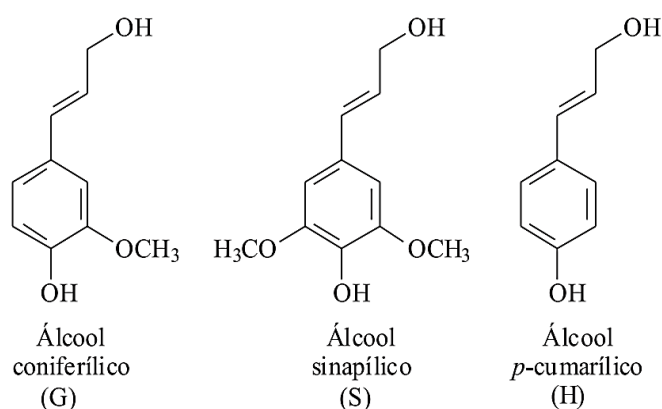
### 3.2.1.3. Lignina

O terceiro componente de fibras vegetais é a lignina. Esta consiste em um polifenol de alta massa molar com estrutura hidrofóbica, aromática, amorfa, tridimensional, complexa e altamente ramificada, sendo responsável pela recalcitrância, transporte de líquidos e rigidez



nas matrizes lignocelulósicas.<sup>52, 54, 61</sup> A estrutura da lignina é composta por um arranjo irregular de várias unidades repetitivas de fenilpropano, podendo estar presentes grupos hidroxila e metoxila. Estes dois últimos são denominados como substituintes no grupo fenil.<sup>54</sup>

A lignina é formada a partir de três alcoóis precusores: alcoóis *p*-cumarílico, coniferílico e sinapílico (Figura 9), visto que esses são a base deste polímero e levam a formação das unidades monoméricas que compõem este constituinte, ou seja, *p*-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S). Os teores destes monômeros na fração de lignina não correspondem a valores fixos, considerando diferentes fontes de fibras vegetais.<sup>62</sup>



**Figura 9:** Estrutura representativa dos álcoois precusores das unidades fenilpropanóides guaiacila (G), siringila (S) e *p*-hidroxifenila (H).<sup>62</sup>

A obtenção desta macromolécula consiste em um mecanismo complexo, onde é reportado que a constituição dos diferentes tipos de ligninas depende da frequência das unidades de construção nas reações de polimerização e a reatividade deste componente, por exemplo. Desse modo, a variação quanto a composição química da lignina disponível em determinadas células e camadas da parede celular estão intimamente associados a biossíntese intracelular deste constituinte.<sup>52</sup>

Outro componente disponível em menor proporção em uma ampla variedade de fibras vegetais são os extrativos. Estes consistem em um grupo de compostos variados que podem ser removidos das matrizes lignocelulósicas por meio do emprego de solventes de caráter polar ou apolar. Os extrativos são formados por resinas que englobam terpenos, estilbenos, flavonóides e outros aromáticos, no entanto, outros compostos orgânicos podem ser encontrados, tais como gorduras, ceras, ácidos graxos, alcoóis, esteróides e hidrocarbonetos superiores, dentre outros.<sup>52</sup>

### 3.2.1.2. Potencial do Uso de Fibras Lignocelulósicas

O uso de fibras lignocelulósicas têm sido registrado desde o início da civilização. Entretanto, para a ciência de materiais a aplicação de fibras naturais em matrizes variadas tem sido estudada nas últimas décadas. Sabendo disso, no geral algumas vantagens são atribuídas ao uso destes materiais, como o menor desgaste de equipamentos no processamento, menor densidade, maior flexibilidade, resistência, origem renovável e biodegradabilidade.<sup>18</sup> Tal atividade prospecta novos materiais e o melhoramento de produtos em uso atualmente.<sup>18</sup> Desse modo, fibras naturais de diversas fontes têm sido investigadas em vários setores, tais como o têxtil e automobilístico e também avaliadas como reforço em matrizes poliméricas termoplásticas e termofixas, entre outras.<sup>63</sup>

A resistência de fibras lignocelulósicas é fortemente relacionada ao teor de celulose e ao menor ângulo das microfibrilas (fibras em escala nanométrica que formam as macrofibrilas).<sup>6, 64</sup> Dependendo da sua origem, os diâmetros das microfibrilas pode variar desde cerca de 2 nm a 20 nm para comprimentos que podem atingir dezenas de microns.<sup>6</sup> Considerando as dimensões de fibras celulósicas a partir de uma gama de matérias-primas exploradas, observa-se que a modificação nas dimensões destas propicia mudanças e novas propriedades no produto final.<sup>6</sup>

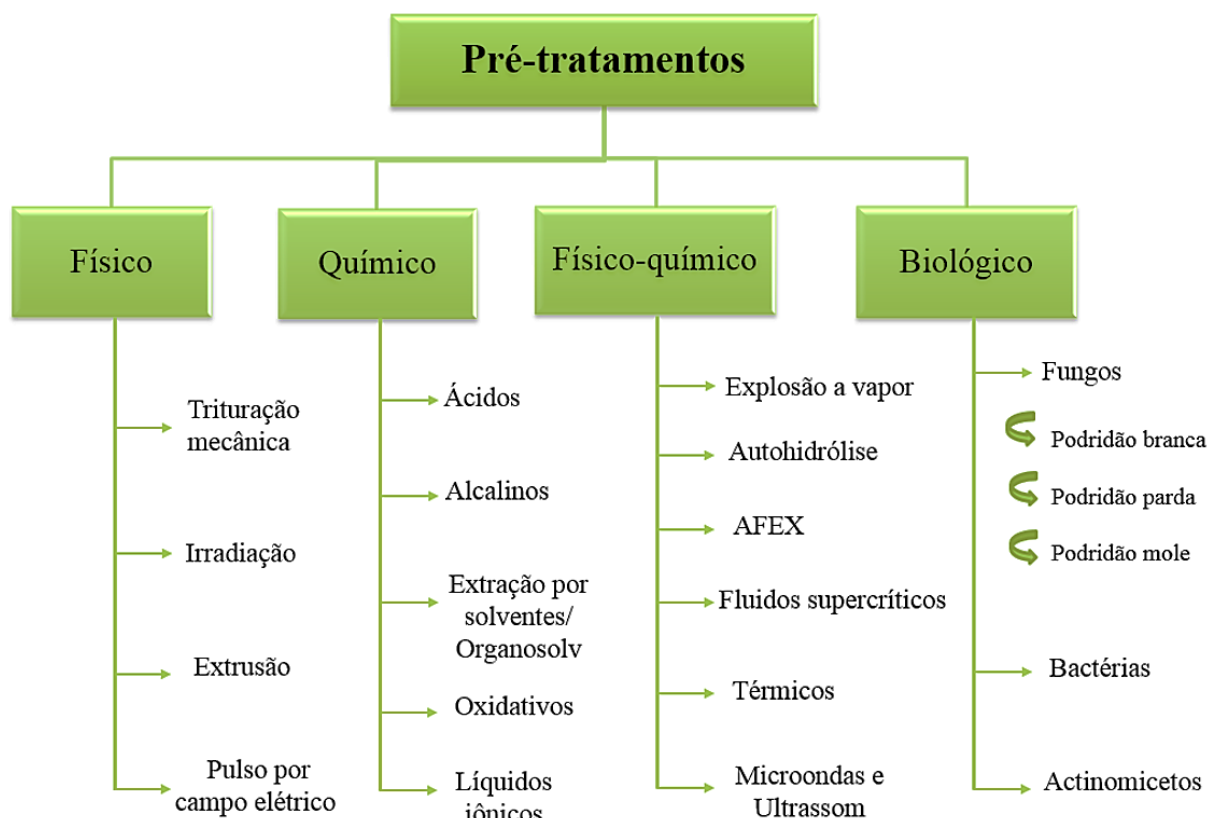
No entanto, como limitações do uso de materiais lignocelulósicos têm-se a heterogeneidade das fibras disponíveis de acordo com as condições de cultivo e de crescimento da planta, além da necessidade de oferta de matéria-prima ao longo do ano. Outros pontos são importantes quanto ao emprego de resíduos lignocelulósicos como a natureza hidrofílica e higroscópica, degradação hidrolítica e o limite de temperatura de processo (devido a decomposição de componentes em temperaturas inferiores a 220 °C em virtude da presença da fração hemicelulósica).<sup>63</sup>

## 3.3. Pré-Tratamento de Fibras Lignocelulósicas

### 3.3.1. Tratamentos Mecânicos, Químicos, Físico-Químicos e Biológicos

O pré-tratamento de fibras vegetais consiste em uma metodologia selecionada para o fracionamento dos constituintes da matriz lignocelulósica, de acordo com a fração de interesse, preservando-a ao máximo ao final do processo.<sup>10</sup> Esta etapa deve ser eficiente em termos de rendimento, seletividade, funcionalidade, simplicidade operacional, segurança e caráter ambiental (uso reduzido de produtos químicos, geração de resíduos e energia).<sup>3</sup> Desse

modo, diversos tipos de pré-tratamentos podem ser considerados quanto ao fracionamento de biomassa lignocelulósica, tais como processos mecânicos, químicos, físico-químicos e biológicos, como ilustrado na Figura 10 e na Tabela 1.<sup>8,9</sup>



**Figura 10:** Tipos de pré-tratamento empregados para biomassa lignocelulósica.<sup>8</sup>

**Tabela 1.** Tecnologias de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica: vantagens e desvantagens.<sup>9, 61</sup>

PRÉ-TRATAMENTO	VANTAGENS	DESVANTAGENS
<b>BIOLÓGICO</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Degrada lignina e hemicelulose</li> <li>- Baixo consumo de energia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Baixa taxa de hidrólise</li> <li>- Processo lento</li> </ul>
<b>EXPLOSÃO A VAPOR</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Reduz a cristalinidade de celulose (de interesse para a produção de etanol celulósico)</li> <li>- Provoca transformação da lignina e solubilização da hemicelulose</li> <li>- Custo efetivo</li> <li>- Maior rendimento de glicose e hemicelulose no método de duas etapas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Alto consumo de energia</li> <li>- Geração de compostos tóxicos</li> </ul>

<b>EXPLOÇÃO POR VAPOR DE AMÔNIA (AFEX)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aumenta a área de superfície acessível</li> <li>- Baixa formação de inibidores</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Não é eficiente para matérias-primas com alto teor de lignina</li> <li>- Alto custo devido à grande quantidade de amônia.</li> </ul>
<b>EXPLOÇÃO COM CO<sub>2</sub></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aumenta a área de superfície acessível               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Custo acessível</li> </ul> </li> <li>- Não acarreta na geração de compostos tóxicos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Requisita pressão muito alta</li> </ul>
<b>OXIDAÇÃO ÚMIDA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Remoção eficiente de lignina</li> <li>- Baixa formação de inibidores               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Minimiza a demanda de energia (exotérmica)</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Custo elevado de oxigênio e catalisadores alcalinos</li> </ul>
<b>OZONÓLISE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Reduz o teor de lignina</li> <li>- Não implica na geração de compostos tóxicos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Custos elevados devido à grande quantidade de ozônio necessária</li> </ul>
<b>ORGANOSSOLV</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Provoca a hidrólise da lignina e da hemicelulose</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Alto custo</li> <li>- Solventes precisam ser drenados e reciclados</li> <li>- Custo elevado de ácidos que precisam ser recuperados</li> </ul>
<b>ÁCIDO CONCENTRADO</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Alto rendimento de glicose</li> <li>- Temperaturas brandas de reação (25 °C)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Problemas com a corrosão de equipamentos</li> </ul>
<b>ÁCIDO DILUÍDO</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Menores problemas com corrosão comparado ao uso de ácido concentrado</li> <li>- Menor formação de inibidores</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Geração de produtos de degradação</li> <li>- Baixa concentração de açúcares na corrente de saída</li> </ul>

Para a obtenção de polpa celulósica visando a obtenção de nanomaterias, por exemplo, o desejável é dispor de um pré-tratamento ou a combinação de metodologias que removam eficientemente a lignina e hemicelulose, preservando a cristalinidade e o grau da polimerização da celulose, tendo custos acessíveis e que possibilitem o escalonamento do processo. No entanto, para a produção de etanol celulósico, o ideal é empregar no processo celulose com baixo grau de polimerização e cristalinidade, de modo a facilitar a conversão deste substrato em açúcares a serem fermentados.<sup>65</sup>

### 3.3.2. Autohidrólise

Considerado como um processo promissor quanto ao fracionamento de biomassa lignocelulósica, a autohidrólise consiste em um tratamento hidrotérmico que utiliza água e

que não emprega qualquer espécie de catalisador adicional. Esse processo ocorre em condições de alta temperatura e pressão a fim de que a água permaneça no estado líquido e em uma faixa de temperatura elevada (160 a 220 °C), pH entre 4,0 e 7,0 e em contato com a biomassa pelo tempo de reação determinado.<sup>9, 66</sup> Nessas condições ocorre a hidrólise da fração hemicelulósica presente no material lignocelulósico devido a liberação de ácidos orgânicos, como o ácido acético, que desempenha o papel de catalisador da reação. Este mecanismo apresenta uma taxa de reação lenta como consequência da baixa concentração dos íons hidrônio ( $H_3O^+$ ).<sup>67</sup>

A autohidrólise provoca alterações efetivas na estrutura de diferentes fontes de fibras vegetais, e apresenta como principal característica a solubilização da hemicelulose presente na biomassa, a fim de tornar a fração celulósica mais acessível e reduzir a ocorrência de formação de substâncias que podem atuar como inibidores no processo de fermentação, caso o objetivo seja a síntese de etanol celulósico.<sup>9, 66</sup> Para este tratamento, reporta-se que a lignina é parcialmente solubilizada em virtude da recondensação dos componentes solúveis derivados desta fração, e que de um modo geral os principais fatores que influenciam processos que empregam fibras vegetais são a temperatura, tempo de tratamento, atmosfera, pressão, estado de distribuição e o teor de água.<sup>27, 52, 68</sup>

Este processo apresenta vantagens quanto a minimização de problemas com corrosão de equipamentos e eliminação ou minimização de processos adicionais de neutralização de resíduos, o que influencia na diminuição de gastos e aquisição de reatores com materiais mais nobres. Outra vantagem é a redução da necessidade de diminuição do tamanho da biomassa visto a ruptura e fragilização das fibras lignocelulósicas no meio reacional, assim como a minimização da degradação de açúcares e menor formação de potenciais inibidores de processos fermentativos, comparado ao uso da explosão a vapor.<sup>68-70</sup>

Como limitações a serem otimizadas, essa tecnologia necessita de maior aperfeiçoamento em escala comercial, visto a quantidade de água utilizada, configuração do equipamento, determinação das taxas otimizadas de fluxo e demanda energética elevada.<sup>9, 70, 71</sup> No contexto atual de aproveitamento de biomassa lignocelulósica, para esta tecnologia o grande desafio é disponibilizar uma fração celulósica preservada e com maior reatividade e acessibilidade para a ação das enzimas em processos hidrolíticos visando a produção de etanol celulósico e biomateriais.<sup>69</sup> Para a obtenção de fibras celulósicas para a área de materiais, deseja-se uma polpa de celulose com maior cristalinidade, visto as propriedades associadas a resistência e a estabilidade quanto a este parâmetro.<sup>72</sup>

### 3.4. Obtenção de Nanofibras de Celulose a partir de Resíduos Agroindustriais

#### 3.4.1. Nanofibras de Celulose

Nanofibras de celulose (NFC) podem ser definidas como regiões com elevada cristalinidade (domínios cristalinos) disponíveis em diversas fontes de fibras lignocelulósicas.<sup>39, 57</sup> Tais domínios apresentam escala nanométrica e são obtidas a partir do isolamento por meio de diversas metodologias em estudo. Outras denominações podem ser atribuídas a estes materiais, tais como nanocristais, *nanowiskers* ou nanocelulose, por exemplo.<sup>31, 38, 73, 74</sup> As nanofibras de celulose exibem dimensões que são fortemente influenciadas pela fonte de celulose, mas que de uma forma geral apresentam espessura entre 2 e 50 nm, sendo que o comprimento pode variar de nanômetros a vários microns.<sup>38 57</sup>

Desse modo, tais estruturas são classificados como nanomaterias, visto que, de acordo com a Comissão da União Européia esta definição abrange todo material de origem natural ou sintetizado contendo partículas agregadas ou aglomeradas, onde 50% ou mais das nanoestruturas na distribuição de tamanhos numéricos apresentam uma ou mais dimensões na faixa de 1 a 100 nm.<sup>75</sup> Como principais características atribuídas as fibras em escala nanométrica podemos citar a elevada área superficial, cristalinidade acentuada, baixa densidade, biodegradabilidade, elevada razão de aspecto (comprimento/diâmetro) e resistência mecânica, sendo consideradas como um potencial substituto de fibras inorgânicas em uso na indústria, com alto valor agregado.<sup>38, 39, 54, 73</sup>

A Tabela 2 apresenta alguns exemplos de NFC obtidas a partir de diferentes métodos de obtenção, indicando a influência do tratamento e da matéria-prima nas propriedades do produto final.

**Tabela 2.** Características de nanofibras de celulose (NFC) obtidas a partir de diferentes fontes de fibras vegetais e métodos de isolamento.

Fonte	Método de obtenção	Diâmetro (nm)	Comprimento (nm)	Índice de cristalinidade (%)	Referência
Algodão	Hidrólise ácida	14,5	150	72	[76]
Engaços de dendê	Hidrólise ácida	2,0	100-2000	54	[29]
Casca de banana verde	Hidrólise enzimática com xilanases	8,8	615-3633	61	[32]
Fibra de	Hidrólise com	24,7	286	72	[53]

---

bambu	celulases de <i>Trichoderma</i> <i>reesei</i>
-------	---

---

O uso de nanofibras de celulose em matrizes poliméricas torna-se atrativo em virtude da elevada área superficial de tais estruturas, o proporciona uma interação mais efetiva com o polímero na obtenção de nanocompósitos, quando comparada às fibras celulósicas micrométricas com a mesma finalidade.<sup>54</sup> As características das nanofibras em suspensões coloidais (dimensionais e superficiais) podem variar a depender da fonte de celulose e do método de isolamento selecionado, o que influenciará conseqüentemente nas suas propriedades e contribuições como possível reforços em matrizes variadas, o que pode auxiliar na melhoria das propriedades mecânicas e propiciar a elaboração de novos produtos.<sup>39</sup>

Esse contexto tem despertado novas possibilidades para a ciência e engenharia de materiais, estimulando o estabelecimento de novas rotas para a obtenção destes nanomateriais. Os métodos de isolamento de nanofibras de celulose mais utilizados na literatura baseiam-se em processos hidrolíticos, ou seja, a hidrólise ácida ou enzimática. Cada processo apresenta suas particularidades e impacto nas propriedades finais das nanoestruturas obtidas.<sup>39</sup>

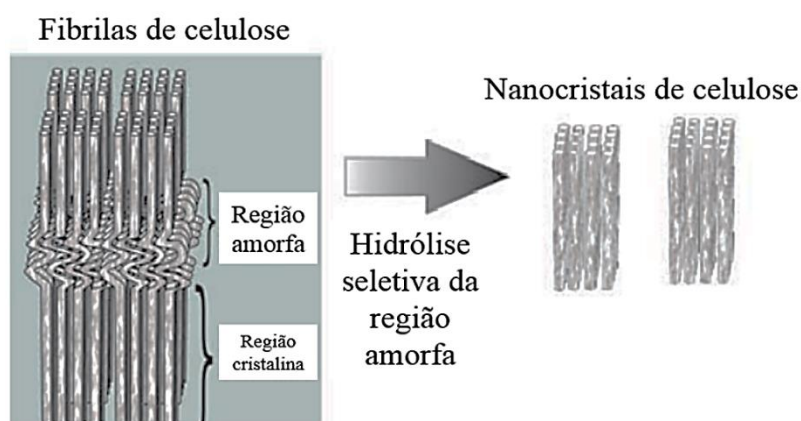
### 3.4.2. Hidrólise Ácida

A hidrólise ácida consiste na metodologia mais estudada para a obtenção de nanofibras de celulose, com o uso de ácidos como catalisadores, onde o ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e o ácido clorídrico (HCl) são os mais utilizados. Os ácidos empregados hidrolisam preferencialmente as regiões amorfas da fibra celulósica, preservando as regiões cristalinas. A fim de otimizar os resultados nesse campo, estudos têm sido conduzidos considerando a hidrólise controlada de diferentes fontes de celulose, tipo de ácido e concentração, tempo de reação e relação ácido/matéria-prima.<sup>29, 31, 76</sup> Os hidrolisados obtidos nesse processo são submetidos a lavagem por centrifugação, diálise da suspensão até pH neutro, dispersão das nanoestruturas e/ou filtração da suspensão.<sup>39</sup>

A Figura 11 apresenta as nanofibras de celulose extraídas das fibras celulósicas por métodos hidrolíticos, destacando os domínios cristalinos e as regiões amorfas encontradas em várias fontes de celulose na natureza. As nanoestruturas obtidas por hidrólise ácida apresentam morfologia definida e elevada cristalinidade, entretanto o uso do ácido sulfúrico, por exemplo, provoca a sulfonação na superfície da celulose, fato este que diminui a

estabilidade térmica do produto formado e dificulta a dispersão em matrizes apolares e etapas posteriores de modificação da superfície das nanofibras.<sup>39, 76</sup>

O uso do ácido clorídrico ou a mistura de ácido sulfúrico e clorídrico (1:1) pode ser considerada como uma alternativa para minimizar estas características. Entretanto, o HCl provoca uma maior aglomeração de nanopartículas, visto que a utilização do H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> possibilita uma maior dispersão das nanopartículas no meio aquoso, devido ao aumento de cargas superficiais que promovem uma repulsão eletrostática no meio.<sup>76</sup>



**Figura 11:** Nanocristais de celulose obtidos via hidrólise das regiões amorfas das fibrilas de celulose.<sup>57</sup>

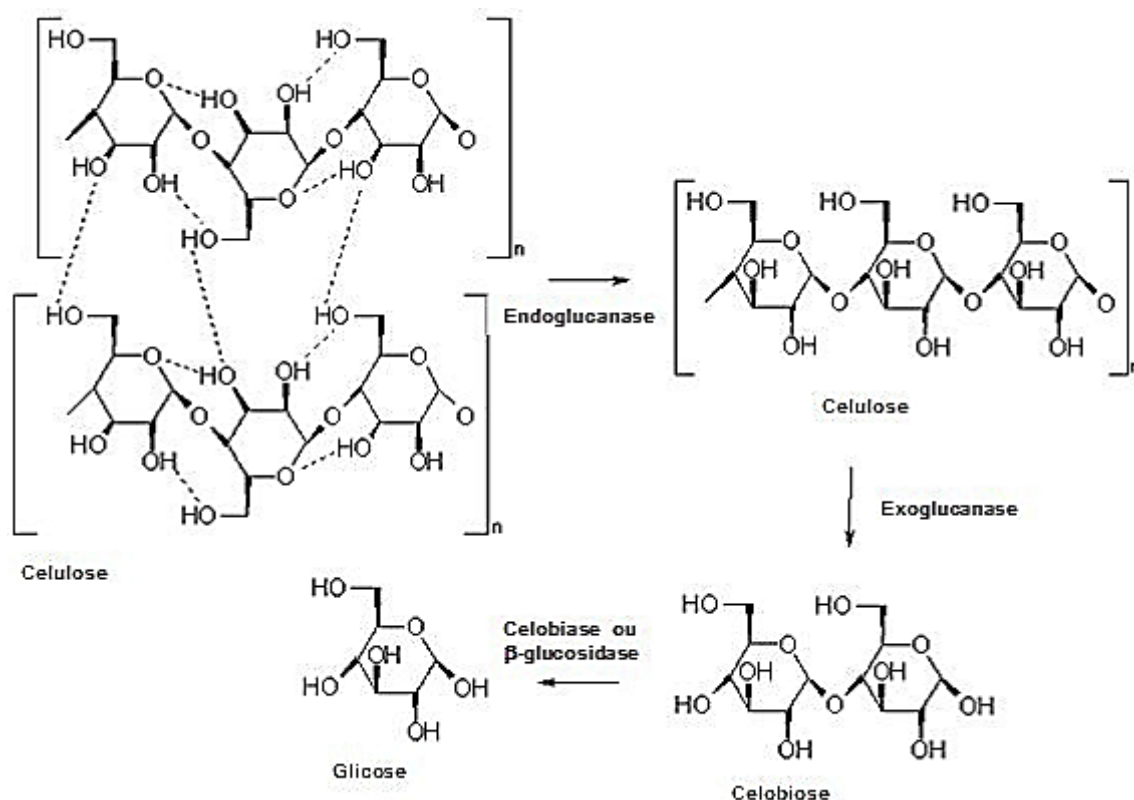
### 3.4.3. Hidrólise Enzimática

Uma possibilidade de hidrólise de substratos celulósicos consiste no uso de catalisadores biológicos, conhecidos como celulases. Dado a forma como a enzima está disponível no meio reacional, a hidrólise enzimática é considerada uma reação homogênea que ocorre pela ação sinérgica das celulases, onde o sistema é composto por um substrato insolúvel (celulose) e um catalisador solúvel (enzimas), o que torna a reação altamente complexa. As características estruturais da celulose e o modo de ação das enzimas influenciam na taxa de reação. A susceptibilidade da celulose ao ataque enzimático é determinada pela acessibilidade dos sítios de ligação para a celulose, o que determina a subsequente adsorção da enzima no substrato sólido.<sup>65</sup>

Esta nova perspectiva de rota, visando a obtenção de nanofibras de celulose, consiste em uma alternativa ao uso de ácidos inorgânicos, visto que o uso de celulases não requer equipamentos especiais (resistentes a corrosão) e apresenta simplicidade operacional.<sup>34, 71</sup>



As celulasas abrangem um conjunto de três enzimas: endoglucanases ou 1,4- $\beta$ -D-glucano-4-glucanohidrolases, exoglucanases ou 1,4- $\beta$ -D-glucano-4-glucanohidrolases e  $\beta$ -glicosidases ou  $\beta$ -glucohidrolases.<sup>35, 71</sup> Uma representação do mecanismo de ação sinérgica da celulasas que atuam na desconstrução de fibras celulósicas é apresentado na Figura 12. Primeiramente, as endoglucanases iniciam a hidrólise, através da clivagem aleatória das cadeias da estrutura da celulose, gerando oligossacarídeos com variados comprimentos e cadeias terminais. Na sequência, as exoglucanases atuam nas extremidades reductoras e não reductoras da celulose, liberando glicose (glucano-hidrolases) ou celobiose como produto. Por último, as  $\beta$ -glicosidases hidrolisam moléculas de celodextrinas solúveis e celobiose disponíveis no meio reacional gerando a glicose, que é de interesse em inúmeros processos, como para obtenção de etanol celulósico.<sup>35, 60</sup>



**Figura 12:** Representação do sinergismo entre endoglucanases, exoglucanases e  $\beta$ -glicosidases na decomposição da estrutura da celulose gerando glicose como produto final.<sup>55</sup>

Na literatura são reportados alguns fatores que afetam a eficiência da hidrólise enzimática, tais como cristalinidade da celulose, recalcitrância, porosidade, presença de lignina e área superficial do substrato, dentre outras.<sup>35, 77</sup> Outros fatores também são apontados como indispensáveis para o entendimento do mecanismo desta reação, como as propriedades das enzimas, carga de sólidos e características do substrato.<sup>71, 78</sup>

A lignina consiste em um dos fatores mais discutidos nesse contexto, onde sua presença acarreta a minimização da eficiência das enzimas no ataque aos polissacarídeos em virtude da adsorção destes catalisadores na presença deste componente.<sup>77, 79</sup> Esse fenômeno é fortemente influenciado pela fonte de lignina, visto a obtenção de estruturas diferentes para esta macromolécula varia de acordo com a origem para este componente, impactando conseqüentemente na eficiência da adsorção, inibição e digestibilidade enzimática.<sup>80</sup>

Quanto às celulasas envolvidas nas reações de hidrólise, as exoglucanases sofrem inibição pelo seu produto de hidrólise, assim como as  $\beta$ -glicosidades, o que também influencia no mecanismo e rendimento do processo. A insolubilidade e a recalcitrância da estrutura da celulose também representam um fator que influencia consideravelmente a eficiência da hidrólise enzimática.<sup>35</sup>

### 3.5. Aplicações de Nanofibras de Celulose

Os estudos realizados na área de nanotecnologia em ciência de materiais visam a diversificação e a inserção de novos produtos em diversos setores, tais como engenharia, química, física, informática e biologia. Os avanços tecnológicos obtidos nesse segmento pretendem disponibilizar novas tecnologias, contribuindo conseqüentemente para o desenvolvimento social, econômico, ambiental e explorar novas propriedades físicas, químicas e biológicas de diversos sistemas.<sup>81</sup> Desse modo, nanofibras de celulose tem potencial para aplicação em diversos segmentos da indústria, em produtos com propriedades inéditas que podem ser aplicados na área da saúde, vestuário, automotivo, alimentício, síntese de nanocompósitos de alta performance, biocompatíveis, biodegradáveis, de higiene pessoal, cosméticos, hidrogéis, ligaduras e tecidos.<sup>53, 56, 73</sup>

Nesse contexto, inúmeros trabalhos vêm sendo divulgados investigando a incorporação destes biomateriais em nanocompósitos com propriedades diferenciadas e que tenham condições de serem produzidos em escala industrial. Visto isso, dentre as matrizes estudadas podemos citar nanocompósitos formulados com EVA (copolímero de etileno e acetato de vinila),<sup>38</sup> quitosana<sup>82</sup> e amido/glicerol,<sup>83</sup> entre outras, onde tem sido reportada a melhoria das propriedades mecânicas de resistência a tração e módulo de Young, de acordo com o teor de reforço adicionado.<sup>83</sup>

No entanto, devido à natureza hidrofílica das nanofibras de celulose estes biomateriais não são miscíveis nas matrizes com maior exploração atualmente, o que mostra a limitação da fraca interação entre matrizes hidrofóbicas e este reforço na formulação de

nanocompósitos. Deste modo, uma estratégia para aplicação de NFC é utilizar matrizes poliméricas compatíveis com a celulose, de preferência biodegradáveis, para que as propriedades resultantes dos nanocompósitos sejam de interesse e apelo comercial. Assim, outras possibilidades podem ser consideradas para reverter esse comportamento, como o uso de polímeros intermediários que possibilitem interações entre as nanofibras e a matriz polimérica, a modificação química da superfície das nanofibras a fim de aumentar a sua hidrofobicidade e o uso de surfactantes, para melhoria da dispersão deste reforço em polímeros hidrofóbicos.<sup>39</sup>

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Materiais

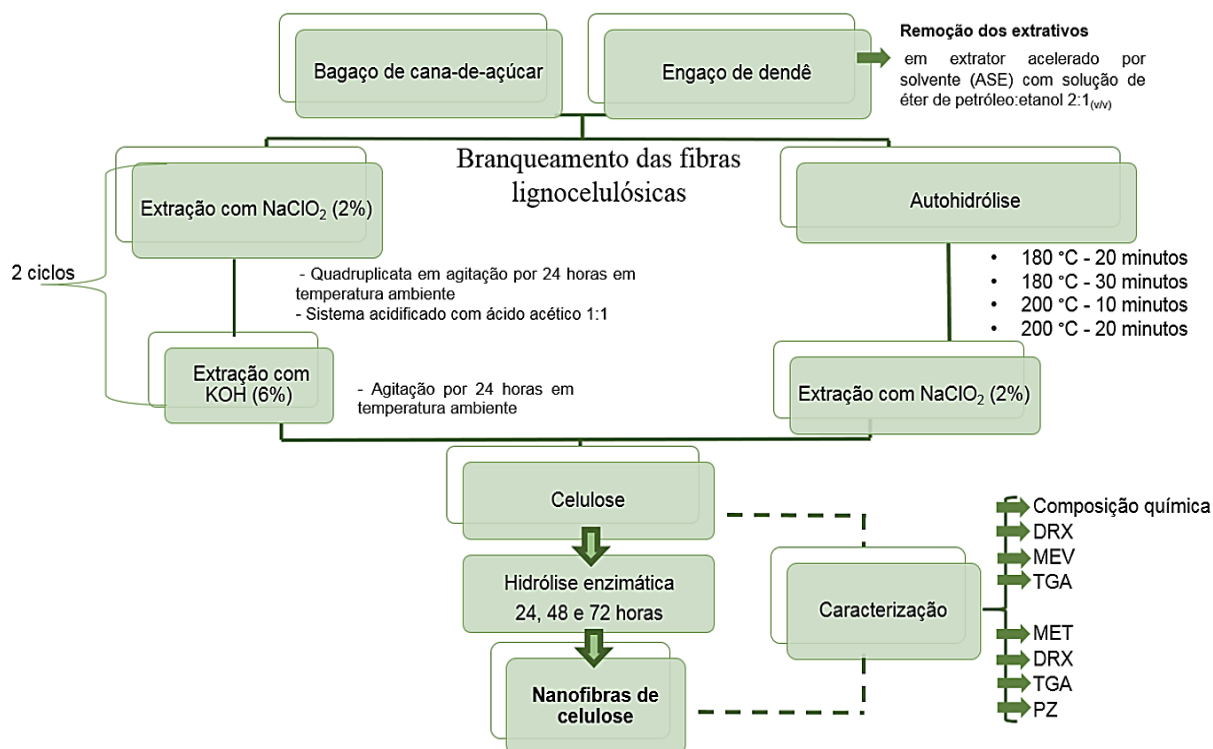
*Fibras brutas:* As amostras de bagaço de cana-de-açúcar utilizadas neste trabalho foram fornecidas pela Usina Jalles Machado, situada no município de Goianésia - GO e colhida na safra 2012/2013. As amostras de engaços de dendê empregadas nos tratamentos foram fornecidas pela Empresa Dendê do Pará S/A (Denpasa), localizada no município de Santo Antônio do Tauá - PA, e consiste em uma variedade híbrida BRS Manicoré (*Elaeis spp.*). O material recebido foi coletado em agosto de 2015 e congelado devido à elevada taxa de degradação.

*Branqueamento das fibras brutas e pré-tratadas por autohidrólise:* Para o branqueamento das fibras brutas e pré-tratadas por autohidrólise de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê foram utilizados os seguintes reagentes: clorito de sódio Sigma Aldrich 80%, hidróxido de potássio Tedia Brasil 85 % e hidróxido de potássio Vetec 85 %, e ácido acético glacial P.A. Dinâmica.

*Hidrólise enzimática:* Para a realização dos ensaios de hidrólise enzimática das polpas de celulose obtidas foram utilizados: ácido cítrico hidratado Panreac P.A., citrato de sódio tribásico P.A. ACS Dinâmica, coquetel enzimático de celulases de *Trichoderma reesei* Sigma Aldrich e água deionizada.

### 4.2. Métodos

A Figura 13 apresenta uma visão geral da metodologia proposta neste trabalho.



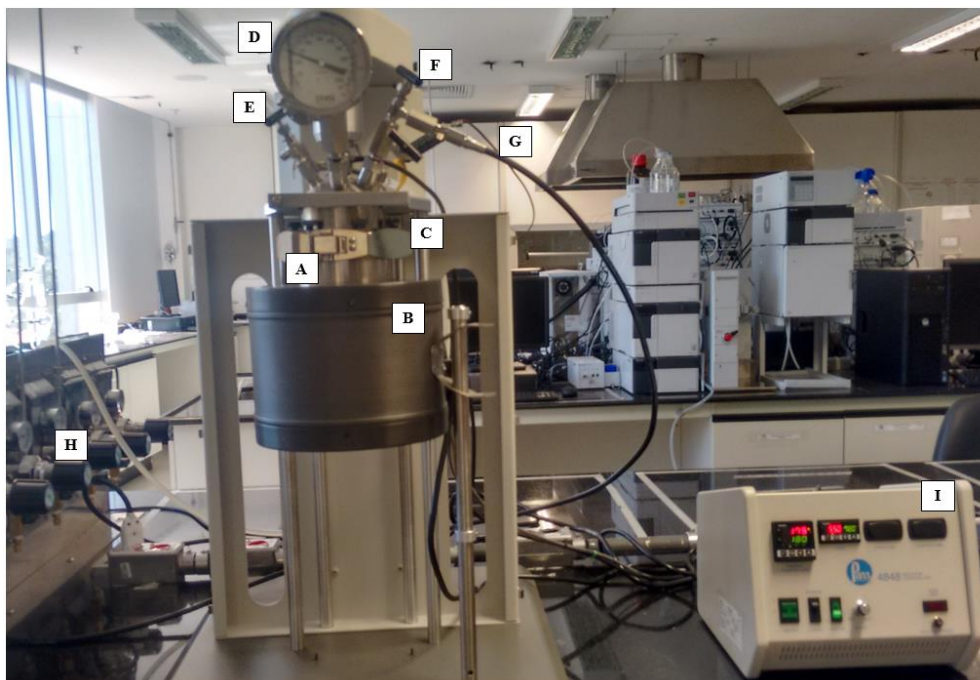
**Figura 13:** Esquema geral da metodologia desenvolvida neste trabalho.

#### 4.2.1. Processamento das Fibras Lignocelulósicas *in Natura*

As fibras de bagaço de cana-de-açúcar *in natura* (BCA) foram homogeneizadas, secas em estufa com circulação por 2 horas a 70 °C, moídas em moinho de facas tipo Willey Fortinox Marcor Star FT-60 e selecionadas em uma peneira granulométrica de 35 mesh e abertura de 425 mm/μm. As fibras de engaços de dendê *in natura* (ED) foram secas a 70 °C em estufa com circulação por um período de 9 dias. Após a secagem, o material foi processado primeiramente em moinho triturador de madeira com 24 facas Lippel modelo GXC 3280E e na sequência em moinho de facas tipo Willey Fortinox Marcor Star FT-60, e selecionado em peneira granulométrica de 35 mesh e abertura de 425 mm/μm.

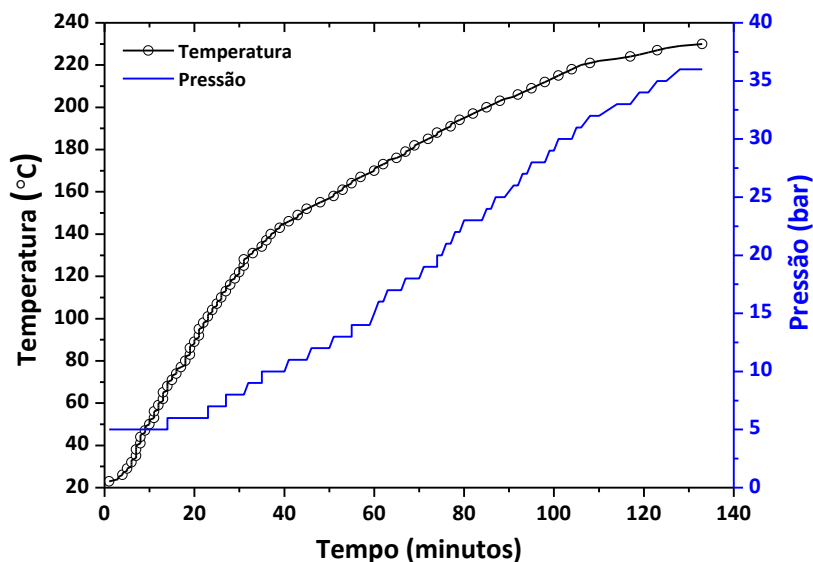
#### 4.2.2. Autohidrólise

Os experimentos de autohidrólise avaliando as amostras de bagaço de cana-de-açúcar e de engaços de dendê foram realizados em reator de alta pressão Paar Instrument CO (1L), Modelo 5111 com controlador Parr 4848. Os componentes deste sistema são apresentados na Figura 14.



**Figura 14:** Sistema planejado para a etapa de autohidrólise com reator de alta pressão Parr Instrument CO, Modelo 5111 composto por: (A) vaso de reação (1L), (B) manta de aquecimento, (C) presilha para vedação, (D) manômetro, (E) válvula de alívio, (F) válvula de alimentação de gases, (G) saída de resfriamento do cabeçote, (H) linha de gás nitrogênio (N<sub>2</sub>) e (I) controlador Parr 4848.

De acordo com as especificações do fabricante, o reator em questão é constituído basicamente por aço carbono, ferro, níquel, cromo, molibdênio, manganês, silício, cobre, cobalto, tungstênio, titânio e zircônio. No intuito de avaliar o comportamento do reator até atingir a temperatura máxima elucidada (230 °C), foi construída a respectiva rampa de aquecimento para o equipamento utilizando água destilada (600 mL), a fim de determinar o tempo de aquecimento e a pressão atingida pelo reator neste intervalo. A rampa de aquecimento obtida é apresentada na Figura 15.



**Figura 15:** Perfis de temperatura e pressão no reator Parr.

Desse modo, a partir da rampa de aquecimento obtida, verificou-se que o reator Parr apresenta uma taxa de aquecimento de aproximadamente 2 °C/minuto com uma pressão final de 36 bar. As condições determinadas para a etapa de autohidrólise estão apresentadas na Tabela 3, onde X especifica a fibra lignocelulósica tratada (bagaço de cana - BCA ou engaço de dendê - ED), o primeiro valor numérico apresentado refere-se a temperatura empregada (180 ou 200 °C) e o segundo valor indica o tempo de reação estudado (10, 20 ou 30 minutos), conforme descrito a seguir.

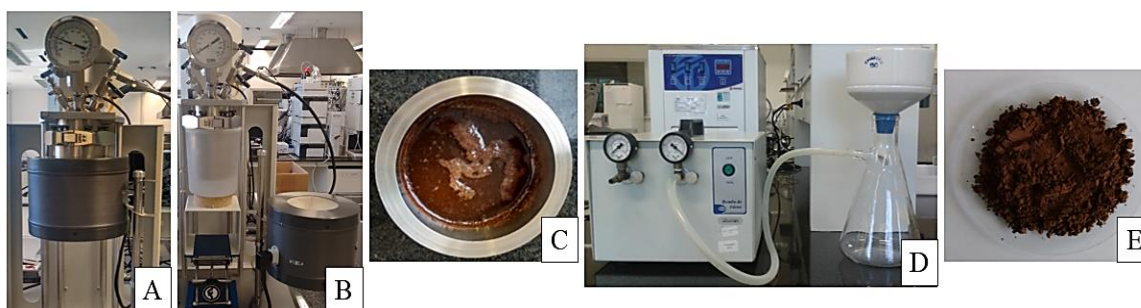
**Tabela 3.** Condições avaliadas para a etapa de autohidrólise de fibras de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê.

Condição	Temperatura (°C)	Tempo de reação (minutos)	Referência
X180°C/20min	180	20	[84] [85] [28] [86] [87]
X180°C/30min	180	30	[88]
X200°C/10min	200	10	[89] [67]
X200°C/20min	200	20	

Primeiramente as fibras brutas de bagaço de cana-de-açúcar ou os engaços de dendê (sem extrativos) foram secas em estufa a 105 °C por 24 horas e armazenadas em dessecador. Para cada reação (5% m/m) pesou-se em um béquer 30 g de fibra bruta e adicionou-se estas lentamente no vaso do reator juntamente com 570 mL de água destilada até a homogeneização completa do sistema. No reator, realizou-se a purga do sistema com gás

nitrogênio (N<sub>2</sub>) para eliminação de ar atmosférico, sendo que, em todas as reações, foi realizada a adição de nitrogênio a uma pressão de 6 bar. A frequência de agitação foi mantida em 500 rpm. Após o reator selado atingir a temperatura de reação programada (Tabela 3), marcou-se o tempo determinado, sendo que, após este período, a agitação foi interrompida e o aquecimento desligado.

O resfriamento do vaso de reação foi realizado com banho de gelo até atingir temperatura ambiente. Após isso, o vaso de reação foi retirado e verificado o pH do sistema reacional. O material sólido foi filtrado a vácuo e submetido a lavagem com água destilada até pH neutro e seco em estufa a 105 °C por 24 horas. Após a secagem, as fibras tratadas foram moídas em moinho portátil. O tratamento das fibras brutas estudadas neste trabalho por autohidrólise descrito acima é apresentado na Figura 16.



**Figura 16:** Etapas do tratamento das fibras brutas de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê por autohidrólise: (A) autohidrólise das fibras brutas em reator de alta pressão, (B) resfriamento do sistema com banho de gelo, (C) sistema pós-reação, (D) sistema para lavagem a vácuo do sólido obtido e (E) fibra tratada após secagem em estufa a 105 °C.

Os experimentos foram realizados em duplicata. O rendimento das reações foi calculado a partir do balanço de massa realizado para os sistemas, onde este foi determinado com base nos valores da massa inicial (MI) de fibras brutas submetidas a autohidrólise e a massa final (MF) obtida após secagem em estufa, conforme a Equação 1 apresentada a seguir:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{MF}{MI} \times 100 \quad (1)$$



### 4.3. Branqueamento das Fibras de Bagaço de Cana-de-Açúcar e Engaços de Dendê *in Natura* e Tratadas por Autohidrólise

As fibras de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê *in natura* e tratadas por autohidrólise após o branqueamento serão identificadas de acordo com as especificações apresentadas na Tabela 4.

**Tabela 4.** Identificação das polpas de celulose obtidas de acordo com a fibra lignocelulósica avaliada (bagaço de cana ou de engaço de dendê) e com os tratamentos estudados.

AMOSTRA	FIBRA/TRATAMENTO
CELULOSE 1	Bagaço de cana /NaClO <sub>2</sub> /KOH
CELULOSE 2	Bagaço de cana/Autohidrólise a 180°C-20 minutos/NaClO <sub>2</sub>
CELULOSE 3	Bagaço de cana/Autohidrólise a 180 °C-30 minutos/NaClO <sub>2</sub>
CELULOSE 4	Bagaço de cana/Autohidrólise a 200 °C-10 minutos/NaClO <sub>2</sub>
CELULOSE 5	Bagaço de cana/Autohidrólise a 200 °C-20 minutos/NaClO <sub>2</sub>
CELULOSE 6	Engaço de dendê /NaClO <sub>2</sub> /KOH
CELULOSE 7	Engaço de dendê/Autohidrólise a 180 °C-20 minutos/NaClO <sub>2</sub>
CELULOSE 8	Engaço de dendê/Autohidrólise a 180 °C-30 minutos/NaClO <sub>2</sub>
CELULOSE 9	Engaço de dendê/Autohidrólise a 200 °C-10 minutos/NaClO <sub>2</sub>
CELULOSE 10	Engaço de dendê/Autohidrólise a 200 °C-20 minutos/NaClO <sub>2</sub>

#### 4.3.1. Branqueamento das Fibras *in Natura* com Clorito de Sódio (NaClO<sub>2</sub>) e Hidróxido de Potássio (KOH)

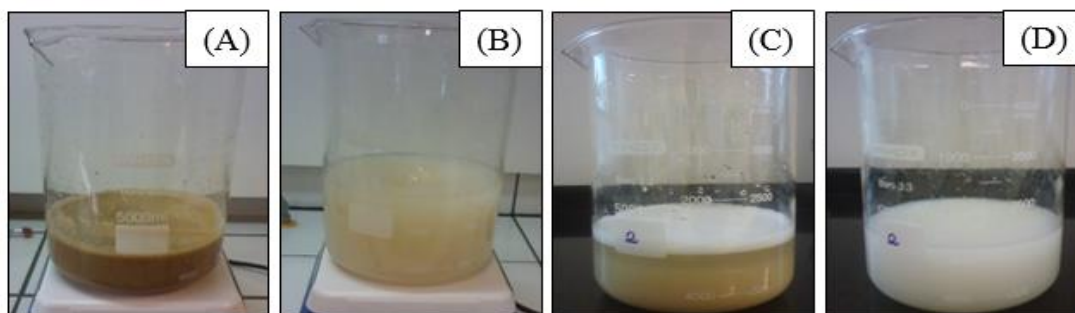
A metodologia descrita a seguir é adaptada de FAHMA et al. (2010).<sup>29</sup> Este procedimento foi realizado em dois ciclos. Para o tratamento utilizando o clorito de sódio e o hidróxido de potássio foram adicionados 50,00 g de bagaço de cana-de-açúcar ou de engaços de dendê (sem extrativos) (5% m/v), respectivamente, em béqueres e adicionou-se 25,00 g de clorito de sódio (2% m/v) e 6,00 mL de solução de ácido acético 1:1 (v/v) em sistema aquoso com um volume final de 1000 mL. A agitação dos sistemas foi realizada por agitador magnético por 24 horas em temperatura ambiente, e na sequência as reações foram

centrifugadas repetidamente a 4500 rpm por 5 minutos adicionando água destilada até apresentar pH neutro. Este processo com clorito de sódio foi novamente repetido por mais três vezes a fim de garantir uma maior remoção das frações de hemicelulose e lignina nesta etapa.

Em seguida foi adicionado solução de hidróxido de potássio (6% (m/v)) aos sistemas e as reações foram conduzidas em um sistema aberto utilizando um béquer e agitação em agitador magnético por 24 horas em temperatura ambiente e na sequência foram lavadas com água destilada centrifugando a 4500 rpm por 5 minutos para a separação, até apresentar pH neutro. Todo esse ciclo foi novamente repetido.

A Figura 17 apresenta o sistema mencionado na primeira extração do primeiro ciclo e posteriormente na última extração do segundo ciclo para as duas biomassas consideradas utilizando o clorito de sódio e o hidróxido de potássio.

Após o término do segundo ciclo as amostras foram armazenadas em água destilada e identificadas como celulose 1 (bagaço de cana) e celulose 6 (engaços de dendê) para a próxima etapa.



















**Figura 17:** Etapas de branqueamento das fibras *in natura* de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê: (A e C) primeira extração com solução de clorito de sódio (2%) e (B e D) última extração do tratamento com solução de hidróxido de potássio (6%), respectivamente, referente a celulose 1 (bagaço de cana) e a celulose 6 (engaços de dendê).

#### 4.3.2. Branqueamento das Fibras Tratadas por Autohidrólise com Clorito de Sódio ( $\text{NaClO}_2$ )

















A fim de avaliar a eficiência do tratamento de autohidrólise em relação a remoção principalmente da fração hemicelulósica presente nas fibras brutas estudadas, nesta etapa não será realizada extração com hidróxido de potássio (KOH). Para este tratamento será reduzido o número de extrações com solução de clorito de sódio em 50 % (4 extrações) onde o intuito é comparar a qualidade das polpas de celulose obtidas a partir desta metodologia com o tratamento citado anteriormente, na tentativa de reduzir os gastos com reagentes, água, manutenção do processo e geração de resíduos.

As fibras de bagaço de cana-de-açúcar ou de engaços de dendê, após o processo de autohidrólise foram tratadas com  $\text{NaClO}_2$  (2%) (Tabela 4) adicionando-se 10,00 g de material (5% m/v), 5,00 g de clorito de sódio (2% m/v), sendo o sistema acidificado com 1,20 mL de solução de ácido acético 1:1 (v/v) em um sistema aquoso com volume final de 200 mL. As reações foram mantidas sob agitação em agitador magnético por um período de 24 horas em temperatura ambiente, e na sequência foram centrifugados com água destilada a 4500 rpm por 5 minutos até pH neutro. Este processo de extração foi repetido por mais três vezes. Os sistemas reacionais após cada etapa de extração estão representados nas Figuras 18 e 19, para as fibras tratadas de bagaço de cana-de-açúcar e de engaços de dendê respectivamente.

Após o término das extrações as amostras foram armazenadas em água destilada e identificadas como celulose 2, 3, 4 e 5 (bagaço de cana) e celulose 7, 8, 9 e 10 (engaços de dendê), de acordo com o estipulado na Tabela 4.

<b>Celulose 2</b> Autohidrólise a 180 $^{\circ}\text{C}$ por 20 minutos/ $\text{NaClO}_2$				
	1 $^{\circ}$ extração	2 $^{\circ}$ extração	3 $^{\circ}$ extração	4 $^{\circ}$ extração
<b>Celulose 3</b> Autohidrólise a 180 $^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos/ $\text{NaClO}_2$				
	1 $^{\circ}$ extração	2 $^{\circ}$ extração	3 $^{\circ}$ extração	4 $^{\circ}$ extração
<b>Celulose 4</b> Autohidrólise a 200 $^{\circ}\text{C}$ por 10 minutos/ $\text{NaClO}_2$				
	1 $^{\circ}$ extração	2 $^{\circ}$ extração	3 $^{\circ}$ extração	4 $^{\circ}$ extração
<b>Celulose 5</b> Autohidrólise a 200 $^{\circ}\text{C}$ por 20 minutos/ $\text{NaClO}_2$				
	1 $^{\circ}$ extração	2 $^{\circ}$ extração	3 $^{\circ}$ extração	4 $^{\circ}$ extração

**Figura 18:** Etapas do branqueamento das fibras de bagaço de cana-de-açúcar submetidas à autohidrólise com solução de clorito de sódio (2%).

<b>Celulose 7</b> Autohidrólise a 180 °C por 20 minutos/NaClO <sub>2</sub>				
	1° extração	2° extração	3° extração	4° extração
<b>Celulose 8</b> Autohidrólise a 180 °C por 30 minutos/NaClO <sub>2</sub>				
	1° extração	2° extração	3° extração	4° extração
<b>Celulose 9</b> Autohidrólise a 200 °C por 10 minutos/NaClO <sub>2</sub>				
	1° extração	2° extração	3° extração	4° extração
<b>Celulose 10</b> Autohidrólise a 200 °C por 20 minutos/NaClO <sub>2</sub>				
	1° extração	2° extração	3° extração	4° extração

**Figura 19:** Etapas do branqueamento das fibras de engço de dndê submetidas à autohidrólise com solução de clorito de sódio (2%).

#### 4.3.3. Isolamento de Nanofibras de Celulose de Bagaço de Cana e Engços de Dndê

##### 4.3.3.1. Determinação da Atividade FPase do Coquetel de Celulases de *Trichoderma reesei*

Para a realização dos ensaios de hidrólise enzimática das polpas de celulose obtidas de bagaço de cana-de-açúcar e engços de dndê, primeiramente foi determinada a atividade FPase do complexo enzimático a ser utilizado nos experimentos, de acordo com a metodologia descrita por XIAO, STORMS & TSANG (2004).<sup>90</sup>

Foram adicionados 20 µL de cada diluição da enzima previamente preparada (Tabela 5) em um poço de microplaca de PCR contendo 40 µL de tampão de citrato de sódio/ácido cítrico 0,1 M e pH igual a 5,0, juntamente com um disco de 7 mm de diâmetro de papel de filtro Whatman n° 1.

O branco referente a enzima de celulases de *Trichoderma reesei* foi preparado para cada diluição considerada, adicionando 20 µL da mesma (Tabela 5) em um poço de microplaca de PCR contendo 40 µL de tampão citrato de sódio/ácido cítrico 0,1 M, pH igual a 5. Para o branco do substrato, foram adicionados 40 µL de tampão citrato de sódio/ácido cítrico 0,1 M, pH igual a 5,0 em um poço de microplaca contendo disco de 7 mm de diâmetro

de papel de filtro Whatman n° 1. Para o branco do meio, foram adicionados 60 µL de tampão citrato de sódio/ácido cítrico 0,1 M e pH igual a 5,0 em um poço de microplaca. Esta atividade foi realizada em quintuplicata.

Na sequência, a microplaca contendo as reações foi incubada em termociclador Veriti – Applied Biosystems a 50 °C por 60 minutos. Após o tempo programado de incubação, foram adicionados 120 µL de solução DNS (ácido 3,5- dinitrosalicílico) as reações, que foram incubadas novamente por 10 minutos a 95 °C em termociclador. A leitura da microplaca foi realizada em espectrofotômetro multimodal com absorvância UV/VIS – Spectramax – Molecular Devices. Para a leitura no espectrofotômetro, alíquotas de 36 µL foram retiradas das amostras e transferidas para os poços da microplaca de PCR - Elisa com o volume de 120 µL de água deionizada e homogeneizadas. A leitura de absorvância foi medida a 540 nm.

**Tabela 5.** Valores de diluição testados, volume de enzima e solução tampão considerados para a determinação da Atividade FPase do Coquetel de Celulases de *Trichoderma reesei*.

Diluição da enzima	Enzima* (µL)	Solução tampão (0,1M) (µL)
100x	100	900
200x	50	950
300x	20	580
400x	20	780
500x	20	980

\*O valor da enzima utilizado consiste em uma diluição preparada para esta atividade (10x), em que foram utilizados 900 µL de tampão citrato de sódio/ácido cítrico 0,1 M, pH igual a 5 e 100 µL do complexo comercial de *Trichoderma reesei*.

#### 4.3.3.2. Curva Padrão de Glicose (10 mg/mL)

Para a obtenção da curva padrão de glicose (10 mg/mL) pesou-se em um béquer 0,1000 g de glicose padrão - Sigma Aldrich e avolumou-se para 10 mL com água deionizada em balão volumétrico. Cada ponto foi preparado em um poço de microplaca de PCR adicionando-se 40 µL de tampão citrato de sódio/ácido cítrico 0,1 M, pH 5,0 e 20 µL de cada uma das diluições da curva padrão (Tabela 6). Por fim, novamente com a pipeta inseriu-se 120 µL de solução de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) em todos os poços, que foram homogeneizados. A placa seguiu para incubação em termociclador, a 100 °C por 10 minutos.

Na sequência, retiraram-se alíquotas de 36  $\mu\text{L}$  a cada um dos poços e transferiu-se para placa de Elisa contendo 160  $\mu\text{L}$  de água deionizada. Cada poço foi homogeneizado e a absorbância foi determinada em espectrofotômetro multimodal com absorbância UV/VIS – Spectramax – Molecular Devices a 540 nm. Esta atividade foi realizada em quintuplicata.

Para confirmar o valor de atividade enzimática encontrada, esse procedimento foi realizado em triplicata. O resultado da atividade será considerado nos experimentos seguintes e é igual a 41,7 FPU/mL (Anexo I).

**Tabela 6.** Valores de diluição estipulados para a construção da curva padrão de glicose.

Ponto	Solução-padrão 10 mg/ $\mu\text{L}$ ( $\mu\text{L}$ )	Solução Tampão ( $\mu\text{L}$ )	Concentração (mg/ $\mu\text{L}$ )	Massa de glicose (mg)
1	100	400	2,0	0,040
2	100	200	3,3	0,066
3	100	100	5,0	0,100
4	100	50	6,7	0,134
5	100	-	10	0,2
6	100	900	1,0	0,02

#### 4.3.3.3. Ensaio de Hidrólise Enzimática

Para os ensaios de hidrólise enzimática das fibras celulósicas de bagaço de cana e engaços de dendê obtidas foram consideradas como substrato as amostras de celulose 1, 2 e 4 (bagaço de cana) e celuloses 6, 7 e 9 (engaços de dendê), respectivamente. As polpas de celulose 2 e 4 (bagaço de cana) e 7 e 9 (engaços de dendê) foram escolhidas em virtude de serem isoladas a partir dos tratamentos com menor tempo de reação na etapa de autohidrólise para as duas temperaturas avaliadas (180  $^{\circ}\text{C}$  e 200  $^{\circ}\text{C}$ ), visto que condições com maior severidade podem comprometer a cristalinidade e a morfologia das fibras celulósicas avaliadas.

Nos testes enzimáticos considerou-se carga enzimática de 15 FPU/g de substrato utilizando o coquetel enzimático de celulasas de *Trichoderma reesei* com atividade enzimática determinada igual a 41,7 FPU/mL. O pH dos sistemas foi ajustado com tampão citrato de sódio/ácido acético 0,1 M (pH igual a 5,0) a fim de obter concentração final de tampão no meio igual a 0,01 M. As reações foram incubadas em shaker orbital Thermo Scientific com agitação de 200 rpm a 50  $^{\circ}\text{C}$ .<sup>37</sup> Os tempos de hidrólise enzimática determinados foram de 24, 48 e 72 horas de reação.

#### 4.3.3.4. Inativação Enzimática

O processo de desnaturação das celulasas presentes no meio após o tempo determinado de hidrólise foi realizado por aquecimento dos sistemas vedados contendo os hidrolisados em banho com água destilada mantidos a 98 °C por 1 hora e 30 minutos. Na sequência, os sistemas foram homogeneizados, sonicados por 15 minutos e lavados com água deionizada utilizando centrifugação a 18.000 rpm por 15 minutos até pH neutro.

### 4.4. Caracterização Química das Fibras *in Natura*, Branqueadas e Nanofibras de Celulose de Bagaço de Cana-de-Açúcar e Engaços de Dendê

#### 4.4.1. Determinação do Teor de Extrativos

A determinação do teor de extrativos presentes no bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê brutas foi realizada em extrator acelerado por solvente Dionex –ASE – 350 - Thermo Scientific. A remoção dos extrativos do bagaço de cana-de-açúcar foi realizada primeiramente com água e na sequência com etanol (99%) de acordo com a metodologia padronizada pelo NREL (National Renewable Energy Laboratory).<sup>91</sup> Para o engaço de dendê utilizou-se solução de éter de petróleo e etanol 2:1 (v/v). A mistura de solventes considerada para as fibras brutas de engaços de dendê é utilizada como substituta do uso do benzeno e outros solventes tóxicos, tendo sido caracterizado como um método eficiente para este procedimento. Esta metodologia foi realizada em triplicata, sendo que a etapa de extração para cada solvente considerado durou 30 minutos.

Para o bagaço de cana-de-açúcar, cerca de 1,00 g de material foi adicionado em celas de aço inox (60 mL) e inseridos no carrossel do equipamento. Cada cela utilizou cerca de 40 mL de solvente no processo com água e cerca de 60 mL para etanol, a uma temperatura de 100 °C. O material foi submetido a três ciclos de extrações. Para os engaços de dendê, cerca de 20,00 g de material foram adicionados em celas e inseridos no equipamento. Cada cela utilizou 150 mL de solução de éter de petróleo e etanol 2:1 a 105 °C, onde as fibras brutas foram submetidas a três ciclos de extrações com pressão de 120 lbf/pol<sup>2</sup>.

Após a extração, as amostras úmidas foram retiradas das celas e secas em estufa a 105 °C por 6 horas. O teor de extrativos foi determinado de acordo com a Equação 2 a seguir:

$$\% \text{ Extrativos} = \frac{MI-MF}{MI} \cdot 100 \quad (2)$$

onde, MI é a Massa inicial da fibra bruta em base seca e MF é a Massa da fibra bruta após remoção dos extrativos e secagem em estufa.

#### 4.4.2. Determinação do Teor de Umidade

O teor de umidade das fibras de bagaço de cana-de-açúcar, engaços de dendê e fibras celulósicas branqueadas foi estimado em balança analisadora de umidade Mettler Toledo. Para a análise cerca de 0,5 g de fibra homogeneizada foi inserida no equipamento, sendo realizada a leitura de cada amostra a 105 °C em triplicata. O teor de umidade obtido foi registrado para ser considerado nos cálculos posteriores dos teores de celulose, hemicelulose e lignina do material analisado.

#### 4.4.3. Determinação dos Teores de Celulose, Hemicelulose e Lignina

A determinação dos teores de celulose, hemicelulose e lignina das fibras *in natura* e branqueadas de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê foi realizada a partir da hidrólise ácida das fibras com ácido sulfúrico 72 % (V/V), de acordo com a metodologia padronizada do NREL (2008).<sup>92</sup> Desse modo, foram pesadas em balança analítica 0,3 g de fibras brutas e branqueadas de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê e adicionados em tubos de pressão de 100 mL. Quanto a granulometria, as fibras brutas foram selecionadas em peneira granulométrica de 35 mesh com abertura de 425  $\mu\text{m}$  e as dimensões das fibras branqueadas secas foram reduzidas até o menor tamanho possível manualmente.

Na sequência, foram adicionados 3 mL de ácido sulfúrico 72 % (V/V) em cada tubo, sendo a reação conduzida em banho a 30 °C por 60 minutos. Nesta etapa, os sistemas foram homogeneizados a cada 10 minutos durante o tempo citado. Após o tempo de hidrólise, os tubos foram removidos do banho, onde foram adicionados 84 mL de água Milli-Q a cada tubo contendo o produto da hidrólise, seguido de homogeneização do conteúdo dos mesmos. Em seguida os tubos foram vedados e autoclavados por 60 minutos a 121 °C.

Os tubos foram resfriados e os hidrolisados foram filtrados a vácuo em Erlenmeyer de 1000 mL utilizando funil tipo ASTM tipo M. Foram coletadas alíquotas de 50 mL dos hidrolisados filtrados e armazenados para análise posterior. O resíduo sólido obtido foi lavado com água Milli-Q quente, a fim de remover quaisquer resíduos de ácido sulfúrico da etapa anterior.



#### 4.4.3.1. Lignina solúvel

A determinação da lignina solúvel presente na fração líquida coletada foi determinada em espectrofotômetro de UV-Vis Shimadzu/UV-1800. Os hidrolisados foram diluídos em solução de ácido sulfúrico 4% (v/v) a fim de que os valores de absorbância registrados correspondam a uma faixa entre 0,7-1,0 nm. As leituras foram realizadas com alíquotas entre 200 e 400  $\mu\text{L}$  para uma absorbância no comprimento de onda de 240 nm, em triplicata.

A determinação da quantidade de lignina solúvel (LS) foi calculada a partir da Equação 3 descrita a seguir:

$$\% \text{ Lignina solúvel} = \frac{\text{UV}_{\text{abs}} \cdot \text{V}_{\text{filtrado}} \cdot \text{Diluição da amostra}}{\varepsilon \cdot P_1 \cdot \text{C}_{\text{percurso}}} \cdot 100 \quad (3)$$

onde,  $\text{UV}_{\text{abs}}$  é a absorbância média,  $\text{V}_{\text{filtrado}}$  corresponde ao volume (0,087 L),  $\varepsilon$  é a absorbância da biomassa no comprimento de onda específico,  $P_1$  é o peso da amostra e  $\text{C}_{\text{percurso}}$  é o caminho óptico da célula em centímetros (cm).

#### 4.4.3.2. Lignina Insolúvel

Para a determinação da lignina insolúvel, os cadinhos após a lavagem foram secados em estufa a 105 °C até massa constante e armazenadas em dessecador por 1 hora. Os cadinhos foram pesados em balança analítica, sendo o valor registrado referente à lignina insolúvel e às cinzas.

A determinação da lignina insolúvel (LI) foi calculada a partir da Equação 4 descrita a seguir:

$$\% \text{ Lignina insolúvel} = \frac{(P_1 - P_2) - (P_3 - P_2)}{P_4} \times 100 \quad (4)$$

onde,  $P_1$  é o peso do cadinho + resíduo insolúvel em ácido,  $P_2$  corresponde ao peso do cadinho,  $P_3$  é o peso do cadinho + cinzas e  $P_4$  é o peso da amostra (fibra bruta ou branqueada) livre de extrativos em base seca.

#### 4.4.3.3. Lignina Total

A determinação do teor de lignina total (LT) foi calculada a partir da soma dos valores referentes a lignina solúvel (LS) e lignina insolúvel (LI), de acordo com a Equação 5:

$$\text{Lignina total} = \text{LS} + \text{LI} \quad (5)$$

#### 4.4.3.4. Celulose e Hemicelulose

Para a determinação teores de celulose e hemicelulose uma alíquota de 6 mL dos hidrolisados coletados após a filtração foram neutralizados com carbonato de cálcio Sigma Aldrich - 99% e centrifugados a 4000 rpm por 10 minutos a 21 °C. Na sequência filtrou-se uma alíquota do sobrenadante com filtro de seringa de 0,22 µm, transferindo o filtrado para *vials* de vidro.

A determinação dos açúcares presentes nas amostras foi realizada em HPLC Shimadzu (High Performance Liquid Chromatography) modelo 20A em coluna AMINEX HPX-87P 300 X 7,8 mm, com detector RID/RAD, volume de injeção de 10 µL, fase móvel com água purificada em sistema Milli-Q, fluxo de 0,6 mL/min, temperatura da coluna e detector a 85 °C e tempo de corrida de 35 minutos. A partir das concentrações de açúcares nos hidrolisados coletados provenientes das pentoses e hexoses foi determinado o teor hemicelulose e celulose das fibras *in natura* e branqueadas, respectivamente, de acordo com a Equação 6 descrita a seguir:

$$\% \text{ Hemicelulose ou glicose} = \left( \frac{M_1 \cdot V_{\text{filtrado}} \cdot \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}}}{P_1} \right) \cdot 100 \quad (6)$$

onde,  $M_1$  é a massa de glicose ou xilose, manose ou galactose corrigida (correção anidro: 0,88 para a xilose, manose ou galactose e 0,90 para a glicose),  $V_{\text{filtrado}}$  corresponde ao volume do hidrolisado filtrado (correspondente a 87 mL) e  $P_1$  é o peso da amostra sem extrativos em base seca.

#### 4.4.4. Determinação do Teor de Cinzas

A determinação do teor de cinzas foi realizada de acordo com a metodologia proposta pelo NREL.<sup>93</sup> Para tal atividade, os cadinhos após a secagem em estufa foram calcinados em mufla com rampa de aquecimento de acordo com as especificações descritas na Tabela 7.

**Tabela 7.** Programa da rampa de aquecimento da mufla para a determinação de teor de cinzas das fibras de bagaço de cana e engaços de dendê *in natura* e após a etapa de branqueamento.

<i>Programa (rampa)</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Taxa de aquecimento (°C/min)</i>	<i>Tempo de permanência (min)</i>
<i>1</i>	105	5	15
<i>2</i>	300	5	60
<i>3</i>	500	5	180

Após o término do processo, os cadinhos foram retirados após o equipamento atingir 105 °C, armazenados em dessecador e pesados em balança analítica. O teor de cinzas em base úmida (b.u.) foi determinado de acordo com a Equação 7 a seguir:

$$\% \text{Cinzas (base úmida)} = \left( \frac{M_1 - M_2}{M_3} \right) \cdot 100 \quad (7)$$

onde,  $M_1$  é a massa do cadinho + cinzas,  $M_2$  é a massa do cadinho e  $M_3$  corresponde a massa da amostra.

A partir do valor encontrado foi feita a correção do teor de cinzas para uma base seca, a partir do teor de massa seca determinado, conforme a Equação 8 a seguir:

$$\% \text{Cinzas (b. s.)} = \left( \frac{\text{Cinzas em base úmida (\%)}}{\text{Teor de massa seca (\%)}} \right) \cdot 100 \quad (8)$$

#### 4.4.5. Espectroscopia por Fluorescência de Energia Dispersiva de Raios X (EDX)

As fibras de bagaço de cana e engaços de dendê *in natura* foram analisadas por espectroscopia por fluorescência de energia dispersiva de raios X (EDX) no intuito de determinar com maior clareza a composição das cinzas destes resíduos. A análise foi realizada em espectrômetro de fluorescência de raios X Shimadzu, modelo EDX – 720 HS, na faixa Na-U, com atmosfera de vácuo, tubo de ródio e colimador de 5 mm, disponível na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de Brasília (IQ/UnB).

#### 4.4.6. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia das fibras de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê *in natura*, após o tratamento de autohidrólise e posterior branqueamento, foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em equipamento JEOL-JSM-7001F. A tensão para as análises registradas foi entre 10 e 15 kV com uma corrente de 120  $\mu$ A.

As fibras de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê *in natura* e após autohidrólise foram homogeneizadas, secas em estufa a 105 °C por 24 horas e fixadas na fita de carbono aderida em porta-amostra (*stub*). Para as fibras de celulose branqueadas, as polpas foram homogeneizadas e uma gota de cada amostra foi depositada na fita adesiva de carbono fixada no porta-amostra de alumínio (*stub*) e secas em estufa a vácuo a 50 °C por 48 horas. As amostras foram metalizadas por 1 minuto a 40 µA em metalizador Balzers/SCO050 pela deposição de uma fina camada de ouro com espessura de cerca de 10 nm.

#### 4.4.7. Difratomia de Raios X (DRX)

A cristalinidade das fibras de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê *in natura*, submetidas à autohidrólise, branqueadas e as nanofibras de celulose obtidas foram avaliadas por difratometria de raios X (DRX), respectivamente. As fibras *in natura* e tratadas por autohidrólise foram homogeneizadas, secas em estufa a 105 °C por 24 horas e fixadas em porta-amostra. Para a preparação de amostra as polpas de celulose branqueadas as amostras foram homogeneizadas, adicionadas em placas de petri de plástico e secas em estufa com circulação de ar a 78 °C por 24 horas. As dimensões da película celulósica formada foram ajustadas a fim de serem fixadas no porta-amostra.

Para a análise da cristalinidade das suspensões de nanofibras de celulose obtidas, os hidrolisados foram homogeneizados, sonicados em banho ultrassônico Unique - USC 2800 por 1 hora e submetidos a secagem em estufa com circulação por 24 horas a 78 °C. Após a secagem obteve-se um filme delicado e de espessura fina.

Os difratogramas de raios X foram registrados em difratômetro Bruker/D8 Focus, operando a uma potência de 40 kV, 30 mA e radiação de CuK $\alpha$  ( $\lambda=1,54 \text{ \AA}$ ). Os ensaios foram realizados em temperatura ambiente a uma velocidade de 0,5° /minuto no intervalo de ângulos 2 $\theta$  variando de 5 a 40 °. O índice de cristalinidade (IC) foi determinado empiricamente de acordo com a Equação 9 proposta por Segal et al (1959).<sup>94</sup>

$$IC = \left(1 - \frac{I(am)}{I(200)}\right) \cdot 100 \quad (9)$$

onde, IC é o índice de cristalinidade (%), I(am) é a intensidade de difração do halo amorfo ( $18^\circ \leq 2\theta \leq 19^\circ$ ), I(200) é a intensidade máxima do principal pico de difração da celulose cristalina ( $22^\circ \leq 2\theta \leq 23^\circ$ ).

#### 4.4.8. Análise Termogravimétrica (TGA)

A estabilidade térmica das fibras de bagaço de cana-de-açúcar e engaçó de dendê *in natura*, submetidas ao tratamento de autohidrólise, branqueadas (celulose 1 a 5 de bagaço de cana e celulose 6 a 10 de engaços de dendê) e nanofibras de celulose isoladas (NFCs 1, 2 e 4 de bagaço de cana e NFCs 6, 7 e 9 de engaços de dendê) foram avaliadas em equipamento Shimadzu DTG-60H, respectivamente. As amostras referentes as fibras brutas, tratadas por autohidrólise e branqueadas foram homogeneizadas e secas em estufa a 105 °C por 24 horas. Foram pesadas entre 8 e 10 mg de cada amostra, sendo estas inseridas em porta-amostra de alumina.

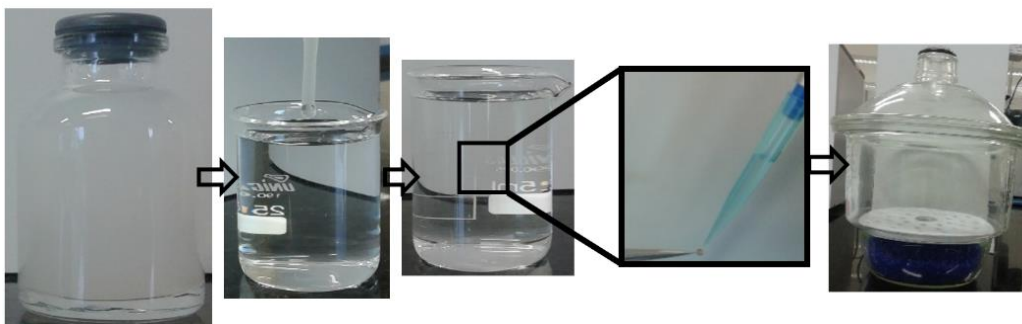
Para a análise das nanofibras de celulose isoladas as suspensões foram homogeneizadas e sonicadas por 1 hora e secas a 78 °C por 24 horas. Foram pesadas entre 3 e 9 mg de material em cada análise, onde a variação nos valores de massa registrados ocorreram em virtude da baixa densidade do material, o que dificultou avaliar uma maior quantidade de amostra. As análises foram realizadas em uma faixa de aquecimento de 25 a 900 °C com taxa de aquecimento de 10 °C/min, em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min<sup>-1</sup>.

#### 4.4.9. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A morfologia das nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê obtidas foi analisada em microscópio eletrônico de transmissão JEOL-JEM-1015 e no microscópio eletrônico de transmissão Zeiss-109, ambos operando a 80 kV.

Para a realização das análises, cada hidrolisado foi sonicado em banho ultrassônico por 15 minutos e foram retirados 1 mL de amostra, que foram diluídos em 150 mL de água deionizada. Na sequência o sistema diluído foi novamente submetido a sonicação por 15 minutos, e após esse processo, a amostra foi reservada para sedimentação por 15 minutos.

Após a sedimentação foi retirada uma gota do sistema reservado, sendo esta adicionada em grades de cobre com 400 mesh revestida com filme formvar (Ted Pella Inc.), e armazenados em dessecador para secagem por 48 horas. A representação da metodologia adotada para preparo das amostras para análise por microscopia eletrônica de transmissão está representada na Figura 20.



**Figura 20:** Metodologia de preparo das amostras para análise em microscópio eletrônico de transmissão (MET).

#### 4.4.10. Análise Dimensional das Nanofibras de Celulose (NFC)

Todas as micrografias foram registradas com uma magnificação de 30.000 vezes em imagens de campo claro. A análise da dimensão das nanofibras isoladas foi realizada nas micrografias registradas por meio do programa ImageJ, avaliando características quanto a espessura, comprimento e morfologia. Foram efetuadas a medida de cerca de 200 nanoestruturas para cada amostra.

#### 4.4.11. Análise de Potencial Zeta (PZ)

A determinação da carga superficial das amostras de nanofibras de celulose de bagaço de cana e engaços de dendê isoladas por hidrólise enzimática foi realizada em determinador de tamanho de partícula Brookhaven, modelo ZetaPals. Os sistemas coloidais (pH verificado igual a 7,0) foram sonicados por 15 minutos em banho ultrassônico e diluídos em solução de cloreto de potássio 1 mM. Para isso, cerca de 1 mL de amostra foi diluída em 200 mL da solução citada e homogeneizadas para melhor dispersão das nanoestruturas. As leituras foram realizadas adicionando-se uma alíquota de 1,0 mL do sistema diluído em cubeta de vidro e inserido no equipamento citado. As leituras foram realizadas em quintuplicata, em temperatura ambiente (25 °C).

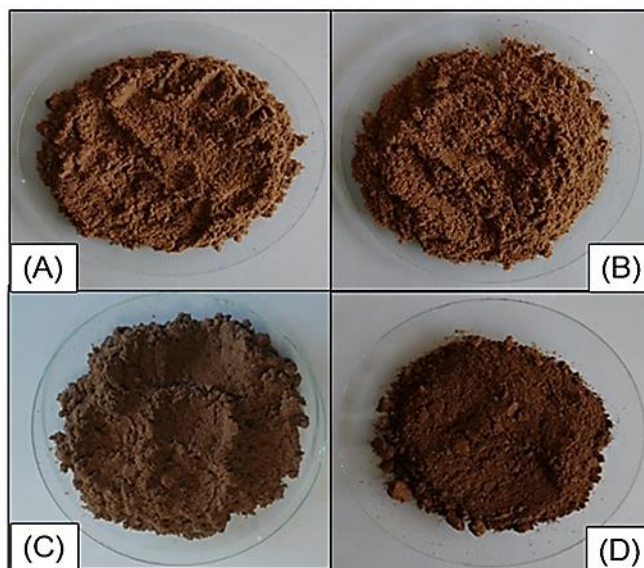
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir serão discutidos os resultados referentes ao branqueamento das fibras de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê quanto aos teores de celulose, hemicelulose e lignina, a cristalinidade, a morfologia e a estabilidade térmica. Do mesmo modo, avaliou-se a eficiência da hidrólise enzimática no isolamento de nanofibras de celulose considerando os tempos de reação estipulados (24, 48 e 72 horas) para as polpas de celulose selecionadas e quanto às características de interesse investigadas (dimensões, cristalinidade e estabilidade térmica e coloidal).

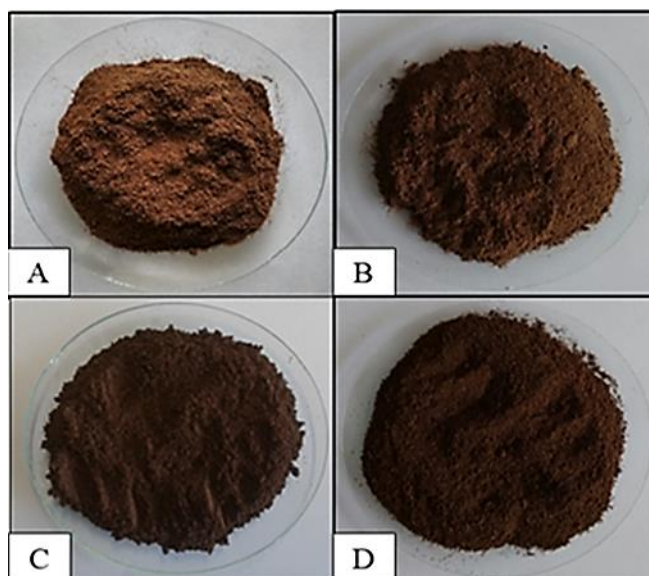
### 5.1. Autohidrólise

O tratamento das fibras de bagaço de cana-de-açúcar ou de engaços de dendê *in natura* por autohidrólise demonstrou ter causado alterações significativas na estrutura e nas características do material submetido ao processo.

Foi observado um acentuado escurecimento das fibras para as duas variedades de matéria-prima e para todas as condições de tratamento estudadas (Figuras 21 e 22). Esse fato se mostrou mais acentuado para o tratamento considerando a temperatura a 200 °C, visto que as fibras tratadas por um tempo de contato de 20 minutos apresentaram maior escurecimento que as fibras tratadas na mesma temperatura por 10 minutos. Provavelmente essa variação de coloração das fibras tratadas está associada aos produtos de degradação dos açúcares presentes na biomassa estudada, derivados da dissolução da hemicelulose, de acordo com a severidade do tratamento, assim como a degradação da lignina.<sup>95</sup>



**Figura 21:** Fibras de bagaço de cana-de-açúcar após autohidrólise nas condições estudadas: (A) 180 °C por 20 minutos, (B) 180 °C por 30 minutos, (C) 200 °C por 10 minutos e (D) 200 °C por 20 minutos.



**Figura 22:** Fibras de engaçó de dandê após autohidrólise nas condições estudadas: (A) 180 °C por 20 minutos, (B) 180 °C por 30 minutos, (C) 200 °C por 10 minutos e (D) 200 °C por 20 minutos.

Os valores de rendimento em massa seca e pH das reações realizadas empregando as fibras de bagaço de cana e de engaços de dandê *in natura* são apresentados na Tabelas 8 e 9, respectivamente. De acordo com a determinação do pH realizada para todos os sistemas, foi observado o aumento da acidez do meio de acordo com o aumento da temperatura, e para



ensaios realizados em condições similares de temperatura foram observados aumentos de acidez com um maior tempo de reação.

Tal comportamento indica que de acordo com a severidade do processo hidrotérmico ocorre uma maior liberação de ácidos orgânicos no meio, especialmente o ácido acético, além do ácido metilglucurônico, sendo a concentração destes proporcional ao grau de hidrólise da hemicelulose, visto que a estabilidade da estrutura desta fração é fortemente influenciada pela presença dos grupos O-acetil.<sup>52, 67</sup> Desse modo, o menor valor de pH para as fibras tratadas de bagaço de cana pode estar relacionado ao maior teor de hemicelulose nesta biomassa.

**Tabela 8.** Valores determinados de rendimento, pressão e pH para o tratamento das fibras de bagaço de cana-de-açúcar por autohidrólise nas condições estudadas.

<b>Condição</b>	<b>Rendimento (%)</b>	<b>Pressão (bar)</b>	<b>pH</b>
<b>180°C/20minutos</b>	60,33	14,5	3,5
<b>180°C/30minutos</b>	54,50	22,5	2,5
<b>200°C/10minutos</b>	54,60	23,0	2,0
<b>200°C/20minutos</b>	54,03	27,0	2,0

**Tabela 9.** Valores determinados de rendimento, pressão e pH para o tratamento das fibras de engajo de dendê por autohidrólise nas condições estudadas.

<b>Condição</b>	<b>Rendimento (%)</b>	<b>Pressão (bar)</b>	<b>pH</b>
<b>180°C/20minutos</b>	60,13	17,3	4,0
<b>180°C/30minutos</b>	57,50	18,2	4,0
<b>200°C/10minutos</b>	53,37	24,0	3,5
<b>200°C/20minutos</b>	53,07	25,0	3,0

Quanto ao rendimento determinado para os experimentos executados, verificou-se que as reações conduzidas em uma temperatura mais branda (180 °C) apresentaram um rendimento em massa maior comparado as reações conduzidas na temperatura de 200 °C, sugerindo uma maior remoção da fração hemicelulósica, para as duas fontes de fibras avaliadas.<sup>87</sup> Também pode ser constatado que não houve uma diferença acentuada em relação a perda de massa comparando as fibras de bagaço de cana e engajo de dendê avaliadas, embora a autohidrólise de engajo de dendê a uma temperatura de 200 °C por 10 e 20 minutos tenha registrado rendimentos menores (53,37 e 53,07%, respectivamente). Este

comportamento indica que as fibras de engajo de dendê apresentam uma maior fração amorfa, o que pode ser melhor avaliado pela cristalinidade da fibra *in natura*.

Para as fibras de bagaço de cana e engajo de dendê tratadas na temperatura de 180 °C foi observado a diminuição do rendimento com o aumento do tempo de reação (de 20 para 30 minutos) e para a temperatura de 200 °C foi observada uma redução não acentuada de massa com o aumento do tempo de reação (Tabelas 8 e 9). Para os experimentos conduzidos nas temperaturas de 180 e 200 °C por 20 minutos observa-se que considerando o mesmo tempo de reação em temperaturas distintas ocorre um decréscimo no rendimento, sugerindo uma maior perda de material em uma maior temperatura. No entanto, pode ser observado que a autohidrólise a 180 °C por 30 minutos apresenta rendimentos semelhantes ao determinado para a condição de autohidrólise a 200 °C por 20 minutos para o bagaço de cana (54,50 e 54,03%, respectivamente) e para o engajo de dendê obteve-se valores próximos (57,50 e 53,07%, respectivamente).

Desse modo, verifica-se que a autohidrólise é significativamente influenciada pela temperatura, acarretando em uma maior remoção de componentes não celulósicos no material tratado. Entretanto, considerando uma temperatura menor com um maior tempo de reação pode ser alcançado resultados similares para este tratamento, quanto ao rendimento em massa das reações.

Foi observado em todas as condições de reação e para as duas biomassas investigadas a deposição de uma considerável quantidade de material particulado e transparente no interior do vaso do reator, principalmente para as fibras de bagaço de cana-de-açúcar, o que sugeriu se tratar de partículas de natureza inorgânica. A fim de confirmar esta hipótese foi realizada a análise por difratometria de raios X do material residual coletado após secagem em estufa a 78 °C. O difratograma de raios X obtido a partir dos dados está em Anexo II e confirmou a presença de sílica (SiO<sub>2</sub>) no resíduo analisado pela ocorrência dos picos entre 26 e 27°, característicos da sílica.<sup>96</sup> Tal material pode ser proveniente de impurezas como areia e outras partículas oriundas do solo e do processo de beneficiamento desta matéria-prima.

A análise por espectroscopia de fluorescência de energia dispersiva de raios X (EDX) também confirmou a presença de silício na composição das fibras *in natura* investigadas (Anexo III), onde foram detectados para a fibra de bagaço de cana uma composição majoritária de potássio e silício (49,66 e 40,68%, respectivamente), e da mesma forma para o engajo de dendê (46,51 e 43,83%, respectivamente). Outros componentes foram

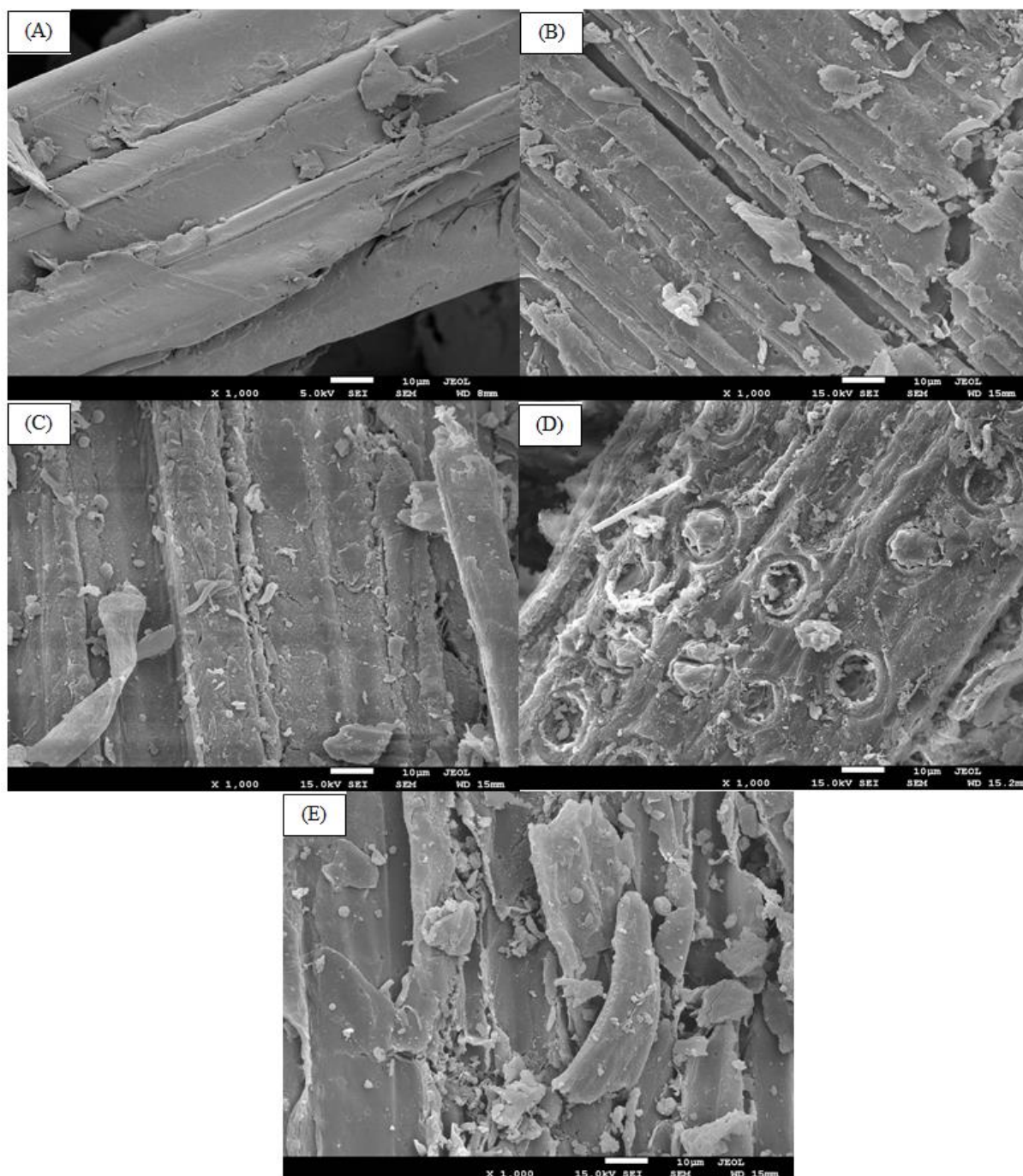
detectados em menor concentração (Fe, Ti, Al, Ru, S, Mn e V), sendo estes relacionados principalmente ao tipo de solo de cultivo destas culturas.<sup>97</sup>

#### 5.1.1. Morfologia das Fibras de Bagaço de Cana-de-Açúcar e Engaços de Dendê

A morfologia das fibras de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê após o tratamento de autohidrólise foi investigada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), de modo a avaliar a eficiência e as mudanças na superfície das fibras após o processo. As Figuras 23 e 24 apresentam as micrografias da superfície das fibras de bagaço de cana-de-açúcar e de engaços de dendê *in natura* e após a autohidrólise de acordo com as condições de tratamento avaliadas, respectivamente.

A partir das micrografias registradas é possível observar a modificação significativa na estrutura das fibras de bagaço de cana submetidas a autohidrólise em comparação à fibra *in natura* (Figura 23.A). Pode ser verificado que as fibras tratadas a 180 °C apresentaram reentrâncias e irregularidades que não são observadas no material *in natura*, o que sugere a remoção de constituintes não celulósicos da fibra, especificamente a hemicelulose. Para essa temperatura, verifica-se que o aumento do tempo de contato (de 20 para 30 minutos) causa alterações visíveis e acentuadas nas fibras em relação ao material tratado em um menor tempo de exposição.

Entretanto, para as fibras tratadas a 200 °C é observada uma maior alteração da morfologia das fibras em comparação as fibras tratadas a 180 °C, confirmado pela presença de reentrâncias, saliências e uma maior irregularidade das fibras. Para essa temperatura, observa-se uma maior alteração da superfície das fibras com o aumento do tempo de reação do material no reator (10 e 20 minutos). Nestas condições também é observada o surgimento de cavidades globulares, denominadas protruções. Esta morfologia é observada com maior intensidade nas fibras tratadas a 200 °C, especialmente considerando o tempo de exposição das fibras de 10 minutos. Tal morfologia é característica de fibras lignocelulósicas que contém silício em sua composição, como o bagaço de cana, avaliado neste trabalho, sugerindo que condições mais severas removem uma maior quantidade de material rico em silício.<sup>98</sup>

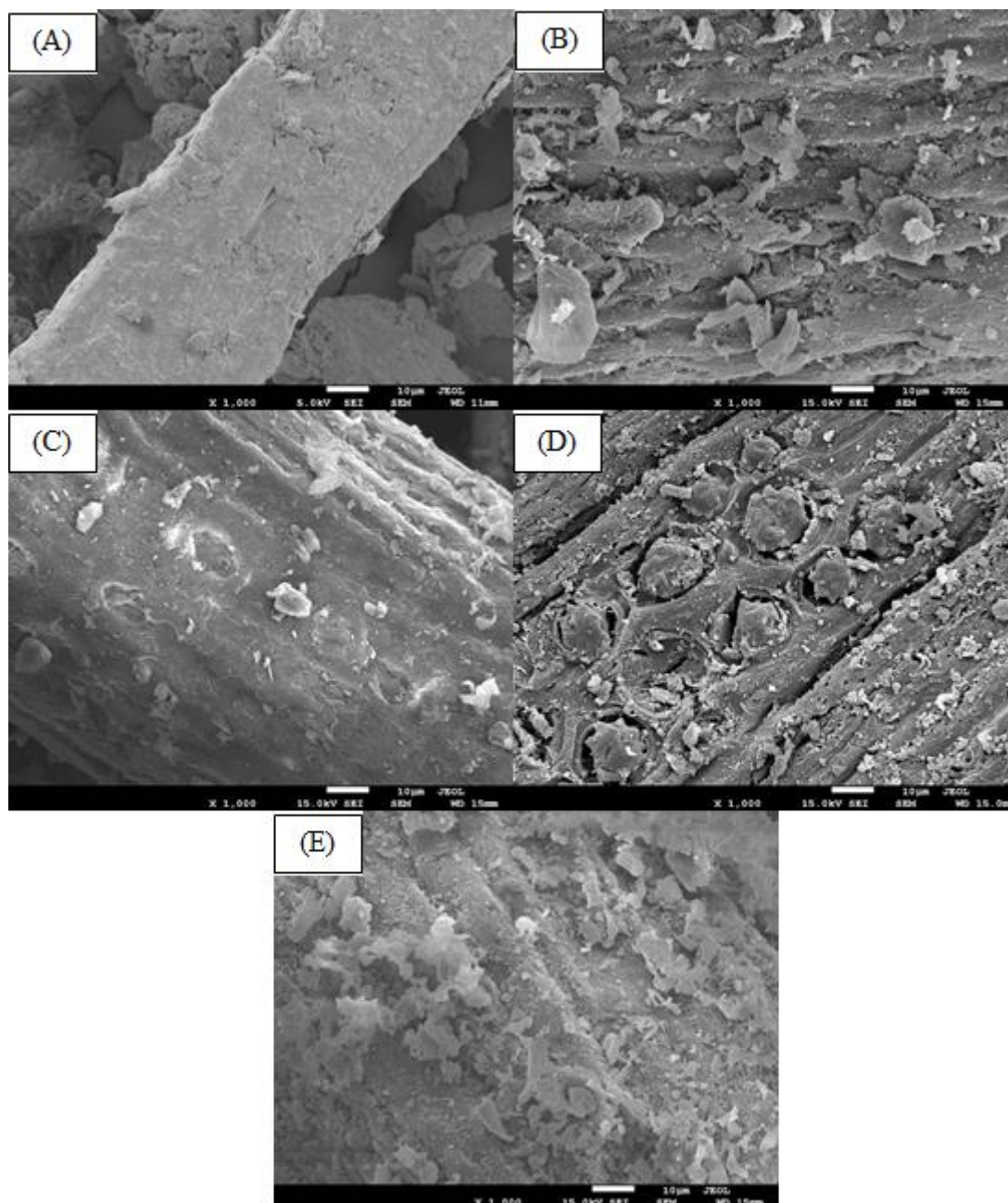


**Figura 23:** Micrografias registradas por MEV das fibras de bagaço de cana-de-açúcar submetidas a autohidrólise nas condições estudadas: (A) bagaço de cana in natura, (B) 180 °C por 20 minutos, (C) 180 °C por 30 minutos, (D) 200 °C por 10 minutos e (E) 200°C por 20 minutos.

Comparando as fibras obtidas nas temperaturas de 180 e 200 °C para o mesmo tempo de reação (20 minutos), observa-se que a temperatura apresenta um papel dominante sobre eficiência do processo, quando comparada ao tempo de reação, o que é justificado também pela maior perda de massa registrada para as reações conduzidas a 200 °C por 20 minutos.

Desse modo, é evidente as alterações que o tratamento de autohidrólise acarreta nas fibras tratadas, o que pode vir a melhorar o rendimento, exposição da celulose e a eficiência em processos de fracionamento de materiais lignocelulósicos e na hidrólise enzimática.<sup>87</sup>

A Figura 24 apresenta as modificações na superfície das fibras de engaços de dendê após autohidrólise, de acordo com a condição de reação. Pode ser observado que para todas as condições houve uma alteração da morfologia das fibras em relação à fibra *in natura* (Figura 24.A).



**Figura 24:** Micrografias registradas por MEV das fibras de engaço de dendê submetidas a autohidrólise nas condições estudadas: (A) engaço de dendê in natura, (B) 180 °C por 20 minutos, (C) 180 °C por 30 minutos, (D) 200 °C por 10 minutos e (E) 200 °C por 20 minutos.

Para as condições de autohidrólise a 180 °C por 20 e 30 minutos observa-se a presença de irregularidades ao longo da superfície da fibra, sendo que, para a condição a 180 °C por 30 minutos ocorre a presença de protruções (Figura 24.C), morfologia esta verificada nas fibras de bagaço de cana, caracterizadas como ricas em silício.<sup>98</sup> Para as fibras tratadas a 200 °C por um tempo de reação de 10 e 20 minutos ocorre uma maior fragilização da superfície da amostra, em virtude da temperatura maior de reação, sendo que para a fibra

tratada na condição a 200 °C por 10 minutos observa-se novamente a ocorrência de protruções que marcam toda a extensão desta fibra, conforme verificado para as fibras de bagaço de cana.

Para avaliar a composição química das fibras tratadas com ocorrência de protruções, foi realizada a análise por energia dispersiva de raios X (EDS) no microscópio eletrônico de varredura citado. Foram analisadas as fibras tratadas a 200 °C por 10 minutos, apresentadas no Anexo IV. A análise elementar por EDS mostra que as regiões com ocorrência deste tipo de morfologia apresentaram silício em sua composição química, o que confirma a teoria proposta. Esse resultado é também discutido com base nas análises por espectroscopia de fluorescência de raios X (EDX) e difratometria de raios X (DRX) exploradas neste trabalho.

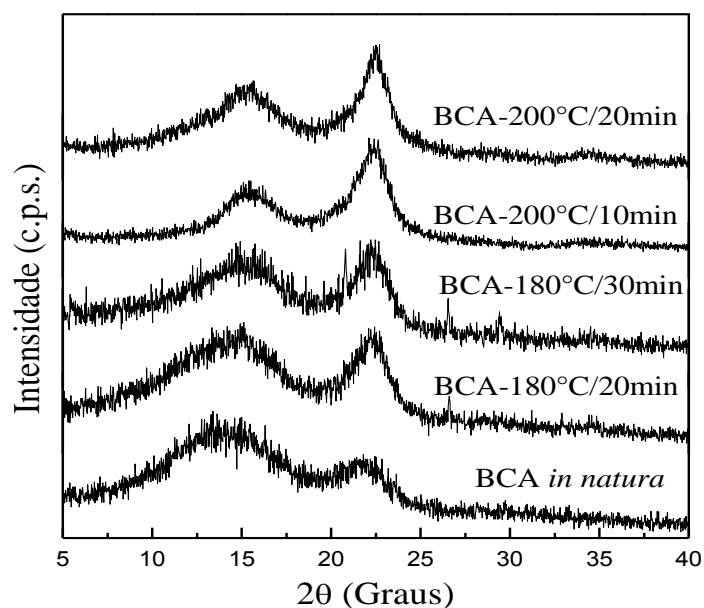
Outra morfologia observada nas fibras analisadas por microscopia eletrônica de varredura tratadas a 200 °C por 10 minutos foi a presença de partículas esféricas ou gotículas na superfície do material tratado (Anexos V e VI). Tais partículas foram verificadas por KO et al (2015) e MEIGHAN (2016) após a autohidrólise de fibras de bagaço de cana, atribuindo esta morfologia a provável redeposição da fração de lignina disponível das fibras.<sup>27, 99, 100</sup> Este fenômeno pode ocorrer devido à natureza amorfa e hidrofóbica da lignina, sendo depositadas na superfície da fibra.<sup>27, 99</sup> As micrografias das fibras de bagaço de cana e engaços de dendê tratadas por autohidrólise com aumento de 4.000 vezes e apresentando a morfologia citada estão em Anexo V e VI, respectivamente.

### 5.1.2. Cristalinidade das Fibras de Bagaço de Cana-de-Açúcar e Engaços de Dendê *in Natura* e Tratadas por Autohidrólise

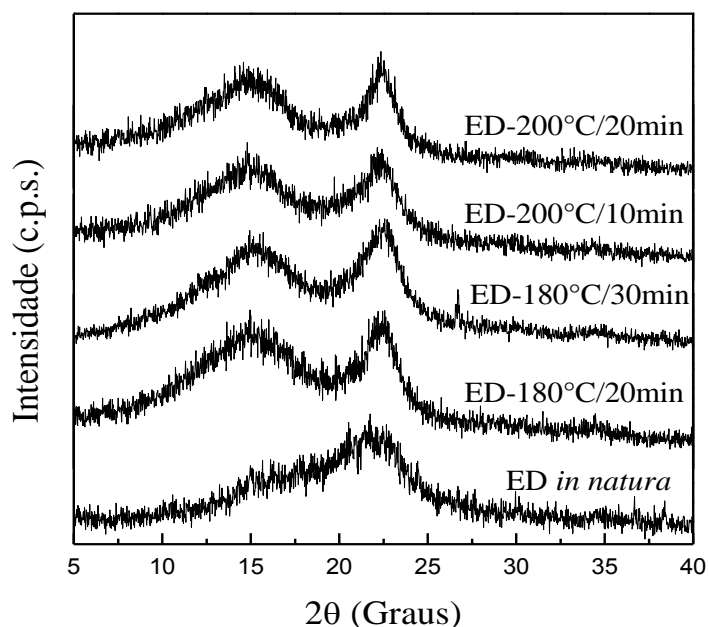
A cristalinidade das fibras de bagaço de cana e engaços de dendê *in natura*, obtidas pelas condições de autohidrólise, foi avaliada por difratometria de raios X a partir dos difratogramas apresentados nas Figuras 25 e 26, respectivamente.

Os difratogramas apresentados nas Figuras 25 e 26 apresentam um pico em 22,4 °, referente à fração cristalina da celulose, e um halo amorfo entre 12° e 16°, que se refere aos componentes de estrutura amorfa da biomassa. Alguns difratogramas apresentam um pico discreto em torno de 26,5 e 26,7° correspondente a provável presença de sílica oriunda das fibras avaliadas.<sup>96</sup> Empregando a Equação 9 para comparar o pico da celulose cristalina com as fases amorfas é possível estimar o índice de cristalinidade da amostra,<sup>94</sup> onde é importante ressaltar que este método fornece apenas uma estimativa do índice de cristalinidade e, para uma quantidade precisa, é necessário obter difratogramas com baixo ruído e refinar os dados adquiridos (varredura de alta potência de raios X).

O índice de cristalinidade determinado para as fibras de bagaço de cana (BCA) e de engaços de dendê (ED) *in natura* e após o tratamento por autohidrólise nas condições estudadas são apresentados na Tabela 10.



**Figura 25:** Difratograma de raios X das amostras de bagaço de cana *in natura* e após a autohidrólise nas condições estudadas: 180 °C/20 minutos, 180 °C/30 minutos, 200 °C/10 minutos e 200 °C/20 minutos.



**Figura 26:** Difratograma de raios X das amostras de engaço de dendê *in natura* e após a autohidrólise nas condições estudadas: 180 °C/20 minutos, 180 °C/30 minutos, 200 °C/10 minutos e 200 °C/20 minutos.



**Tabela 10.** Valores de índice de cristalinidade para as fibras de bagaço de cana e engaços de dendê *in natura* e após o tratamento de autohidrólise nas condições estudadas.

<b>Amostra</b>	<b>IC (%)</b>
<b>BCA <i>in natura</i></b>	19,79
<b>BCA-180°C/20min</b>	45,79
<b>BCA-180°C/30min</b>	40,92
<b>BCA-200°C/10min</b>	63,64
<b>BCA-200°C/20min</b>	59,29
<b>ED <i>in natura</i></b>	17,94
<b>ED-180°C/20min</b>	38,52
<b>ED-180°C/30min</b>	34,33
<b>ED-200°C/10min</b>	36,90
<b>ED-200°C/20min</b>	49,49

Observou-se por meio dos difratogramas registrados para todas as amostras a ocorrência do pico de maior intensidade entre 22 e 23 °C, característico da celulose tipo I. A partir dos valores determinados constatou-se que para os dois tipos de biomassa investigadas (bagaço de cana e engaços de dendê), todas as fibras tratadas por autohidrólise nas condições estudadas apresentaram o teor de material cristalino superior a fibra *in natura* (19,79 e 17,94%, respectivamente), confirmando a eficiência da autohidrólise quanto a remoção de componentes amorfos no material investigado<sup>28</sup>, mas também pode comprometer as regiões cristalinas referentes a fração de celulose disponível.

Para as fibras de bagaço de cana tratadas, comparando as condições empregadas observa-se a diminuição da cristalinidade das fibras tratadas a 180 °C por 20 minutos em relação as fibras tratadas a 180 °C por 30 minutos, devido ao maior tempo de reação da biomassa no reator, o que sugere o decréscimo do teor de material cristalino referente a fração de celulose disponível nas fibras avaliadas. O mesmo comportamento é observado para as fibras tratadas a 200 °C por um tempo de reação de 10 a 20 minutos, respectivamente. Desse modo, a partir dos valores obtidos para as fibras de bagaço de cana tratadas pode-se inferir que o menor tempo de reação de 10 minutos para uma maior temperatura de autohidrólise (200 °C) favorece a obtenção de celulose com melhor conteúdo cristalino, o que é de interesse para as próximas etapas deste trabalho visando a extração de nanofibras de celulose com cristalinidade preservada.

Comparando o índice de cristalinidade das fibras tratadas a 180 e 200 °C por 20 minutos, respectivamente, pode ser observado que ocorre um aumento na cristalinidade de 45,79% para 59,29%, respectivamente, o que indica uma influência expressiva da temperatura sobre a remoção de componentes não celulósicos da fibra, melhorando o conteúdo cristalino

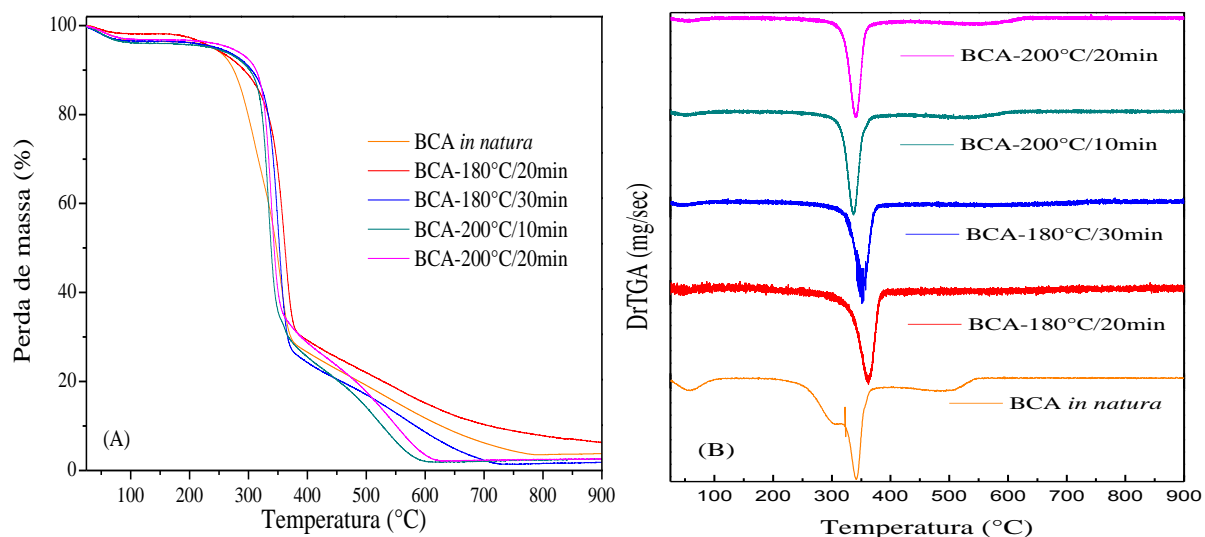
do material oriundo do tratamento por autohidrólise. As fibras que apresentaram o menor índice de cristalinidade, ou seja, tratadas a 180 °C por 30 minutos, não exibiram o rendimento em massa inferior e discrepante aos valores encontrados para as fibras tratadas nas demais condições (Tabela 10), levando a entender que um maior tempo de reação em uma temperatura menor acarreta na amorfização da celulose.

Quanto a biomassa de engaços de dendê submetida a autohidrólise, para as fibras tratadas a 180 °C por 20 e 30 minutos respectivamente, nota-se a redução do índice de cristalinidade das fibras com o aumento do tempo de reação, indicando a ocorrência do decréscimo do teor de material cristalino na fração sólida obtida. No entanto, para as condições de autohidrólise a 200 °C por 10 e 20 minutos, respectivamente, observa-se o aumento da cristalinidade das fibras com o aumento do tempo de reação. Esse comportamento pode estar associado ao fato das fibras de engaço de dendê apresentarem cristalinidade inferior ao bagaço de cana utilizado neste trabalho, tendo um maior teor de material amorfo, que provavelmente é removido com o aumento do tempo de contato.

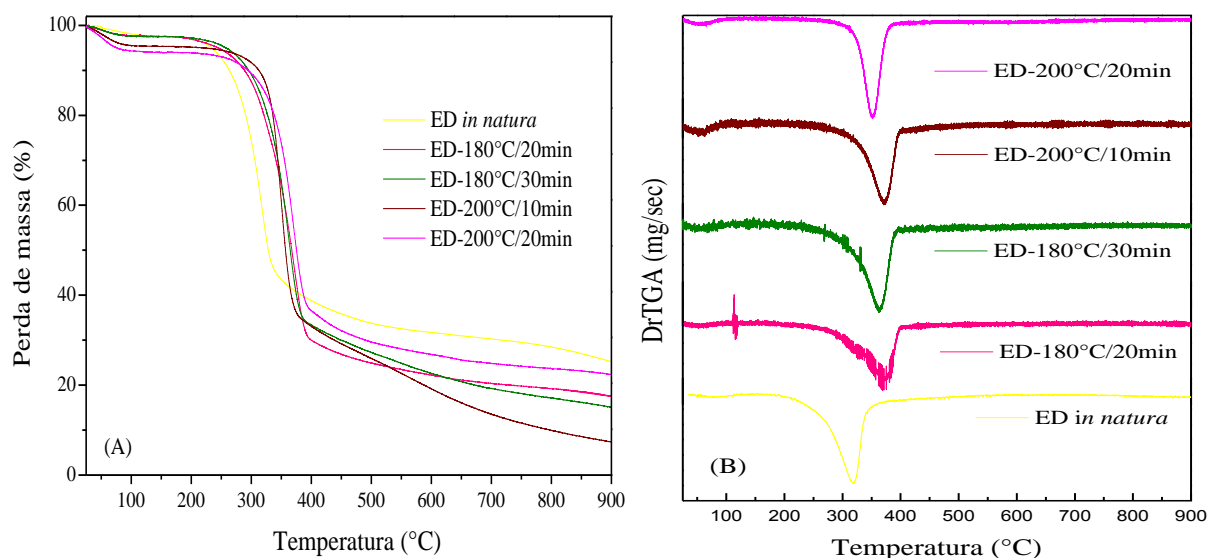
Comparando as fibras de dendê tratadas a 180 e 200 °C por 20 minutos respectivamente, verificou-se o aumento da cristalinidade entre as fibras, de 38,52% para 49,49% e a diminuição no rendimento das reações, respectivamente (Tabela 9), evidenciando a perda efetiva de material para esta biomassa. Os engaços de dendê avaliados apresentaram menor teor de celulose e um maior teor de lignina comparado ao bagaço de cana, o que também influencia nos resultados obtidos, assim como o maior teor de material amorfo, embora a diferença não seja acentuada.

### 5.1.3. Estabilidade Térmica das Fibras de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê *in natura* e Tratadas por Autohidrólise

O comportamento térmico das fibras de bagaço de cana e engaços de dendê *in natura* e após o tratamento por autohidrólise nas condições estudadas pode ser observado de acordo com as curvas termogravimétricas apresentadas nas Figuras 27 e 28, respectivamente.



**Figura 27:** Curvas termogravimétricas de TG (A) e DTG (B) das fibras de bagaço de cana-de-açúcar *in natura* e após autohidrólise nas condições consideradas.



**Figura 28:** Curvas termogravimétricas de TG (A) e DTG (B) das fibras de engaços de dendê *in natura* e após autohidrólise nas condições consideradas.

A partir da análise das curvas termogravimétricas obtidas pode ser observado a temperatura de início de perda de massa ( $T_{\text{onset}}$ ), temperatura de maior perda de massa ( $T_{\text{máx}}$ ) e material residual, valores estes apresentados na Tabela 11.

**Tabela 11.** Valores de temperatura de início de perda de massa ( $T_{\text{onset}}$ ), estágio de maior perda de massa ( $T_{\text{máx}}$ ) e resíduo formado, registrados pela análise termogravimétrica das

fibras de bagaço de cana e engaços de dendê *in natura* e após a autohidrólise nas condições avaliadas.

<b>AMOSTRA</b>	<b>T<sub>ONSET</sub> (°C)</b>	<b>T<sub>MÁX</sub> (°C)</b>	<b>RESÍDUO (%)</b>
<b>BCA IN NATURA</b>	160	357	4,12
<b>BCA-180°C/20MIN</b>	171	382	6,25
<b>BCA-180°C/30MIN</b>	193	367	1,87
<b>BCA-200°C/10MIN</b>	181	360	2,56
<b>BCA-200°C/20MIN</b>	195	359	2,57
<b>ED IN NATURA</b>	176	335	25,15
<b>ED-180°C/20MIN</b>	180	393	17,45
<b>ED-180°C/30MIN</b>	198	389	15,03
<b>ED-200°C/10MIN</b>	199	390	22,33
<b>ED-200°C/20MIN</b>	217	376	7,33

Para todas as amostras foi registrada uma perda de massa entre 30 e 100 °C, correspondente a água livre presente no material, referente a umidade absorvida pelas fibras armazenadas. Em todas as condições verifica-se que as fibras obtidas após a autohidrólise apresentam estágio inicial de perda de massa (T<sub>onset</sub>) superior ao encontrado para as fibras de bagaço de cana e engaços de dendê *in natura* (160 °C e 176 °C, respectivamente), o que é reportado como um indício da remoção de componentes amorfos do material, conforme verificado por Gao<sup>28</sup> e Chen<sup>30</sup> avaliando fibras de bagaço de cana, madeira, bambu e palha de trigo, por exemplo.<sup>28, 30</sup>

Este comportamento pode ser atribuído ao fato de que a composição das fibras e a cristalinidade da celulose são fatores que contribuem para a estabilidade térmica das fibras celulósicas, visto que as frações de lignina e hemicelulose tem início da degradação térmica em temperaturas inferiores a celulose, e a celulose cristalina é termicamente mais estável do que a celulose amorfa.<sup>72, 101, 102</sup>

Para as fibras de bagaço de cana-de-açúcar tratadas por autohidrólise observa-se o aumento da temperatura de início de perda de massa (T<sub>onset</sub>) de acordo com o aumento do tempo de autohidrólise, considerando a mesma temperatura de reação (180 °C por 20 e 30 minutos e a 200 °C por 10 e 20 minutos, respectivamente), o que indica a melhoria da estabilidade térmica do material, embora a diferença não seja acentuada, conforme observado na Tabela 11. Para o mesmo tempo de autohidrólise de 20 minutos e considerando temperaturas distintas (180 e 200 °C), verifica-se da mesma forma o aumento da temperatura de início de perda de massa, indicando a melhoria da estabilidade térmica do material.

Os valores de T<sub>máx</sub> para as fibras de bagaço tratadas foram superiores ao valor estimado para as fibras *in natura* (357 °C), variando entre 359 e 382 °C, porém sofrem um decréscimo não acentuado com o aumento do tempo de reação, de acordo com os valores da

Tabela 11, o que pode ser um indício das alterações que este tratamento acarreta na estrutura da celulose, impactando no comportamento térmico deste componente disponível nas fibras.

Para as fibras tratadas de engãos de dendê observa-se de acordo com as curvas termogravimétricas (Figura 28) e os valores da Tabela 11 o aumento da temperatura de perda inicial de massa ( $T_{\text{onset}}$ ) para um maior tempo de reação da biomassa no reator, considerando as duas temperaturas exploradas, respectivamente (180 °C por 20 e 30 minutos e a 200 °C por 10 e 20 minutos, respectivamente). Considerando as fibras tratadas em temperaturas distintas (180 e 200 °C) por um tempo de contato de 20 minutos, nota-se da mesma forma o aumento da temperatura de perda inicial de massa ( $T_{\text{onset}}$ ), para uma maior temperatura de autohidrólise, respectivamente, sugerindo que o comportamento térmico das fibras tratadas sofre uma melhoria na estabilidade com o aumento do tempo de reação.

Quanto aos valores de  $T_{\text{máx}}$ , ocorre o mesmo comportamento observado para as fibras de bagaço de cana, com valores superiores ao da fibra *in natura* (335 °C) e variando entre 375 e 393 °C, com decréscimo de acordo com o aumento do tempo de exposição da fibra no reator de autohidrólise. Tal comportamento é justificado pelo fato de que o tratamento de autohidrólise remove preferencialmente a fração hemicelulósica da biomassa, aumentando proporcionalmente a estabilidade térmica da fibras em relação ao material *in natura*, sabendo que a hemicelulose sofre despolimerização em temperaturas na faixa de 250 e 320 °C.<sup>101</sup> Contudo, de acordo com a severidade do processo, especialmente avaliando a temperatura, ocorre uma maior exposição da celulose, que influencia no estágio de degradação dessa fração.<sup>103</sup>

Os valores de  $T_{\text{máx}}$  estão de acordo com a faixa de maior perda de massa atribuída a celulose, onde a degradação desta fração ocorre devido a despolimerização das cadeias celulósicas, a desidratação e decomposição das unidades de glicose, onde estes processos ocorrem em uma faixa de temperatura entre 300 e 400 °C.<sup>76, 101</sup>

A ocorrência de protruções registradas por microscopia eletrônica de varredura na superfície de algumas das fibras tratadas por autohidrólise pode ser associada a presença de silício nas amostras estudadas, o que pode ser melhor avaliado pelo teor de cinzas determinado (Tabela 11) e o pico característico detectado entre 26 e 27°, característico da sílica determinado via difratometria de raios X (Anexo II).<sup>96</sup> No entanto, outros componentes inorgânicos podem ser encontrados em fibras lignocelulósicas de um modo geral, como carbonatos de metais alcalino terrosos, por exemplo.<sup>52</sup>

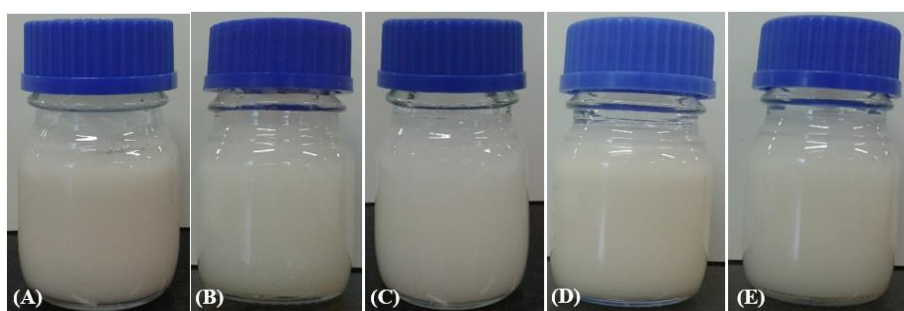
Observa-se de acordo com as curvas termogravimétricas, de um modo geral, todas as fibras obtidas apresentaram perda de massa em temperaturas acima de 500 °C, o que

provavelmente está associado a presença de lignina residual nas amostras, visto que esta consiste em uma estrutura caracterizada por sua complexidade, sendo o componente que apresenta o maior intervalo de perda de massa nessas matrizes.<sup>7, 104</sup> Nesse sentido o decréscimo de massa registrado entre 350 °C e 500 °C também é atribuído a degradação de lignina residual e a oxidação do material resultante da degradação da celulose gerando produtos de baixa massa molar.<sup>38</sup>

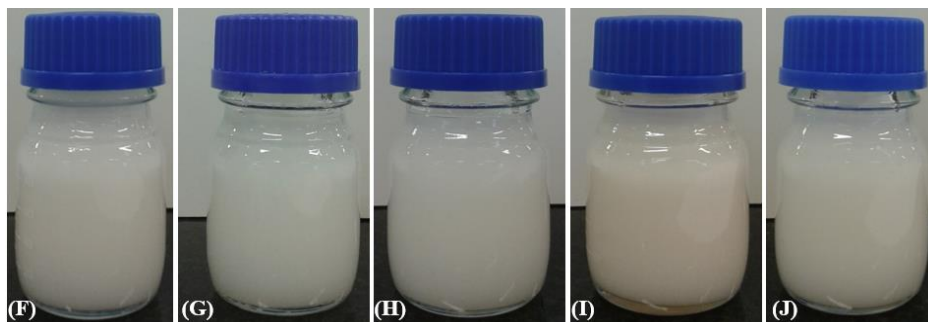
De um modo geral, a fração de resíduos gerados de acordo com a análise termogravimétrica apresentaram valores para o bagaço de cana entre 1,87 e 6,25%, enquanto que para o engaço de dendê os valores foram superiores, entre 7,33 e 25,15%. Essa diferença sugere que o engaço de dendê apresente um maior teor de componentes inorgânicos em comparação ao bagaço de cana, mas devido as porcentagens expressivas de resíduo formado, esse comportamento indica que esta biomassa gera uma maior quantidade de resíduo carbonáceo, o que de fato é verificado para uma ampla variedade de processos termoquímicos.<sup>76</sup>

## 5.2. Branqueamento das Fibras *in Natura* e Tratadas por Autohidrólise

A seguir são apresentados os resultados obtidos quanto à eficiência do processo de branqueamento e as caracterizações realizadas para as fibras branqueadas de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê. As Figuras 29 e 30 apresentam as polpas de celulose obtidas para o bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê, respectivamente.



**Figura 29:** Polpas de celulose de bagaço de cana-de-açúcar obtidas por diferentes métodos de branqueamento: (A) celulose 1, (B) celulose 2, (C) celulose 3, (D) celulose 4 e (E) celulose 5.



**Figura 30:** Polpas de celulose de engaços de dendê obtidas por diferentes métodos de branqueamento: (F) celulose 6, (G) celulose 7, (H) celulose 8, (I) celulose 9 e (J) celulose 10.

Pode ser observado que as polpas de celulose de bagaço de cana tratadas por autohidrólise (celulose 2 a 5) apresentaram coloração amarela e a presença de partículas (impurezas), o que pode ser evidenciado após o armazenamento por 72 horas em repouso. Entretanto, para a polpa de celulose 1 observou-se uma coloração branqueada e a presença de material particulado foi evidentemente inferior as demais amostras para essa biomassa.

As polpas de celulose de engaços de dendê apresentaram elevado grau de branqueamento, notavelmente superior as polpas de bagaço de cana obtidas com a mesma metodologia. A alvura das polpas celulósicas pode ser interpretada como um indício da eficiência do tratamento utilizado, especialmente na remoção da fração de lignina, evidenciado por meio dos resultados quanto aos teores dos componentes majoritários desse material. Outro fator que possivelmente influenciou na alvura das polpas de celulose de bagaço de cana isoladas foi o fato de que não foi realizada a remoção dos extrativos das fibras brutas antes do branqueamento, o que pode ter comprometido a eficiência e a interação dos reagentes químicos empregados no fracionamento dos componentes da biomassa estudada.

### 5.2.1. Teores de Celulose, Hemicelulose e Lignina das Fibras de Bagaço de cana e Engaços de Dendê *in Natura* e Branqueadas

Foram determinados os teores de celulose, hemicelulose, lignina, extrativos, cinzas e umidade das fibras de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê *in natura* e após os tratamentos de branqueamento em base seca, conforme apresentado nas Tabelas 12 e 13.

**Tabela 12.** Teores de celulose, hemicelulose, lignina, extrativos, cinzas e umidade determinados para as fibras de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê *in natura*.

<b>Fibra <i>in natura</i></b>	<b>Celulose (%)</b>	<b>Hemicelulose (%)</b>	<b>Lignina (%)</b>	<b>Extrativos (%)</b>	<b>Cinzas (%)</b>	<b>Umidade (%)</b>
<b>Bagaço de cana</b>	38,24±1,39	26,31±0,59	24,71±0,70	9,51±0,40	1,45±1,90	8,39±0,13
<b>Engaços de dendê</b>	31,64±1,03	22,06±3,34	29,52±3,96	4,74±0,38	1,42±0,28	7,53±0,44

**Tabela 13.** Teores de celulose, hemicelulose, lignina, cinzas e umidade determinados para as polpas de celulose de bagaço de cana-de-açúcar (BCA – 1 a 5) e engaços de dendê (ED – 6 a 10).

<b>Amostra</b>	<b>Celulose (%)</b>	<b>Hemicelulose (%)</b>	<b>Lignina (%)</b>	<b>Cinzas (%)</b>	<b>Umidade (%)</b>
<b>Celulose 1 (BCA)</b>	73,18±0,01	23,83±0,27	4,39±0,30	2,90±0,20	8,32±0,32
<b>Celulose 2 (BCA)</b>	77,81±1,28	10,26±1,65	6,17±0,64	6,70±0,03	8,12±0,50
<b>Celulose 3 (BCA)</b>	92,69±2,13	11,0±0,31	3,82±0,18	0,63±0,15	4,83±2,47
<b>Celulose 4 (BCA)</b>	71,90±1,59	8,43±0,09	13,57±1,60	2,13±0,18	2,52±128
<b>Celulose 5 (BCA)</b>	80,41±2,71	n.d.*	9,14±0,18	2,73±0,12	4,14±2,88
<b>Celulose 6 (ED)</b>	70,99±7,72	19,90±0,6	6,01±1,83	2,66±0,51	7,66±0,28
<b>Celulose 7 (ED)</b>	69,45	15,17	5,08	1,94±0,15	6,3±0,36
<b>Celulose 8 (ED)</b>	76,93±0,51	n.d.*	n.d.*	1,46±1,68	3,86±1,64
<b>Celulose 9 (ED)</b>	89,25±3,09	8,73±2,39	5,08±0,93	1,79±0,09	3,65±2,24
<b>Celulose 10 (ED)</b>	90,24±1,49	8,08±2,14	5,98±0,26	0,93±0,97	3,42±1,08

\*Valores não detectados pela análise.

A remoção da lignina pelo uso do clorito de sódio em meio ácido envolve reações redox entre lignina,  $\text{ClO}_2^-$  e  $\text{ClO}^-$  formando compostos solúveis e oriundos do ácido mucônico e quinona.<sup>78, 87</sup> O uso do clorito de sódio pode acarretar na redução da cristalinidade e do grau de polimerização da celulose branqueada, o que é minimizado pela acidificação do sistema com ácido acético.<sup>105</sup>



De acordo com os valores da Tabela 13 nota-se que para a maioria das polpas de celulose isoladas verificou-se a presença de hemicelulose e lignina, embora os teores encontrados tenham sido baixos e inferiores ao determinado para as fibras *in natura* tratadas, onde entende-se que a presença destes componentes é inevitável, visto a dificuldade de remover completamente os constituintes das fibras lignocelulósicas, devido à forte interação entre os formadores da matriz lignina-carboidrato.<sup>52</sup>

Como pode ser observado, para as polpas celulósicas de bagaço de cana (celuloses 1 a 5), as celuloses 1 e 3 apresentaram os menores teores de lignina, explicado pelo maior número de extrações com clorito de sódio (8 extrações) para a celulose 1 e a menor cristalinidade da celulose 3 (40,9%), como consequência do tratamento de autohidrólise realizada na primeira etapa. Para a celulose 3 a baixa cristalinidade acarreta em uma maior eficiência dos reagentes na etapa de branqueamento, visto que a celulose amorfa é mais acessível a penetração dos agentes químicos utilizados.

A variação no teor de lignina dentre as polpas tratadas por autohidrólise e clorito de sódio diminuiu da celulose 2 para a celulose 3, e da celulose 4 para a celulose 5, como mostrado na Tabela 13, o que pode ser decorrente da modificação causada pela autohidrólise na estrutura da lignina, facilitando a sua remoção. Os valores para a hemicelulose mostram a eficiência da autohidrólise quanto a remoção desta fração, visto que os resultados encontrados para as celuloses de bagaço de cana 2, 3, 4 e 5 mostraram-se inferiores ao encontrado para a celulose 1 (23,83 %).

Este comportamento pode ser associado a variação no tempo de contato na autohidrólise da biomassa no reator, para o tratamento de autohidrólise, removendo uma maior fração deste componente. Observa-se que para a celulose de bagaço de cana 5 não foi detectado a presença de hemicelulose a partir da análise por HPLC, o que pode estar relacionado ao fato de que a condição de autohidrólise utilizada nesta polpa ter sido a mais drástica dentre as estudadas neste trabalho (200 °C por 20 minutos).

Para o teor de celulose, a partir dos valores determinados, observa-se que para as polpas de celulose considerando a etapa por autohidrólise (celuloses 2 a 5), com o aumento do tempo de reação, ocorre uma melhoria no fracionamento da celulose disponível nas fibras, como pode ser observado na Tabela 13. Comparando estes valores com a celulose 1 obtida por extração com clorito de sódio (NaClO<sub>2</sub>) e hidróxido de potássio (KOH), nota-se que o maior número de extrações com clorito de sódio em meio ácido e o uso do hidróxido de potássio não influenciam no teor de celulose, e sim na remoção da fração de lignina, embora a

diferença em comparação as polpas submetidas à autohidrólise e clorito de sódio em quadruplicata não tenha sido acentuada.

Para as polpas celulósicas obtidas a partir das fibras de engaços de dendê *in natura* e tratadas por autohidrólise (celuloses 6 a 10) pode ser observado que os teores de lignina não apresentam uma variação significativa, entre 5,08 e 6,01%. Entretanto, observa-se que não há uma diferença acentuada entre os valores obtidos para as polpas de celulose de engaços de dendê 9 e 10, enquanto que o teor de lignina da celulose de engaço 8 não foi detectado pelo método de análise, o que impossibilita uma comparação mais detalhada.

Quanto ao teor de hemicelulose, observa-se que os valores determinados para as polpas considerando a autohidrólise como tratamento são inferiores aqueles encontrados para a celulose de engaço 6 branqueada com clorito de sódio e hidróxido de potássio. Entretanto, não é possível fazer uma correlação da variação deste componente para as polpas de celulose de engaços 7 e 8, em virtude do teor da celulose 8 não ter sido detectado pelo equipamento, mesmo que o esperado seja a diminuição desse valor.

Para as celuloses de engaços 9 e 10 verifica-se uma diminuição com o aumento do tempo de reação, embora esta não seja acentuada, o que também foi observado a partir do rendimento estimado para esse tratamento (Tabela 13), sugerindo que para a temperatura de 200 °C o aumento do tempo de reação não aumenta a remoção de hemicelulose. Para as condições de autohidrólise a 180 e 200 °C por 20 minutos, respectivamente, verifica-se que o aumento da temperatura acarreta uma maior remoção da fração hemicelulósica, o que é esperado visto uma maior influência da autohidrólise na eficiência do tratamento.

Os resultados obtidos para as polpas de celulose de engaços de dendê demonstram que os teores de celulose aumentaram comparando a celulose 7 (autohidrólise a 180 °C por 20 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ) e a celulose 8 (autohidrólise a 180 °C por 30 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ), o que pode estar relacionado as mudanças efetivas causadas na morfologia das fibras na etapa de autohidrólise, para um maior tempo de reação, o que pode contribuir aliado ao uso do clorito de sódio em uma remoção mais efetiva dos componentes amorfos presentes nas fibras.

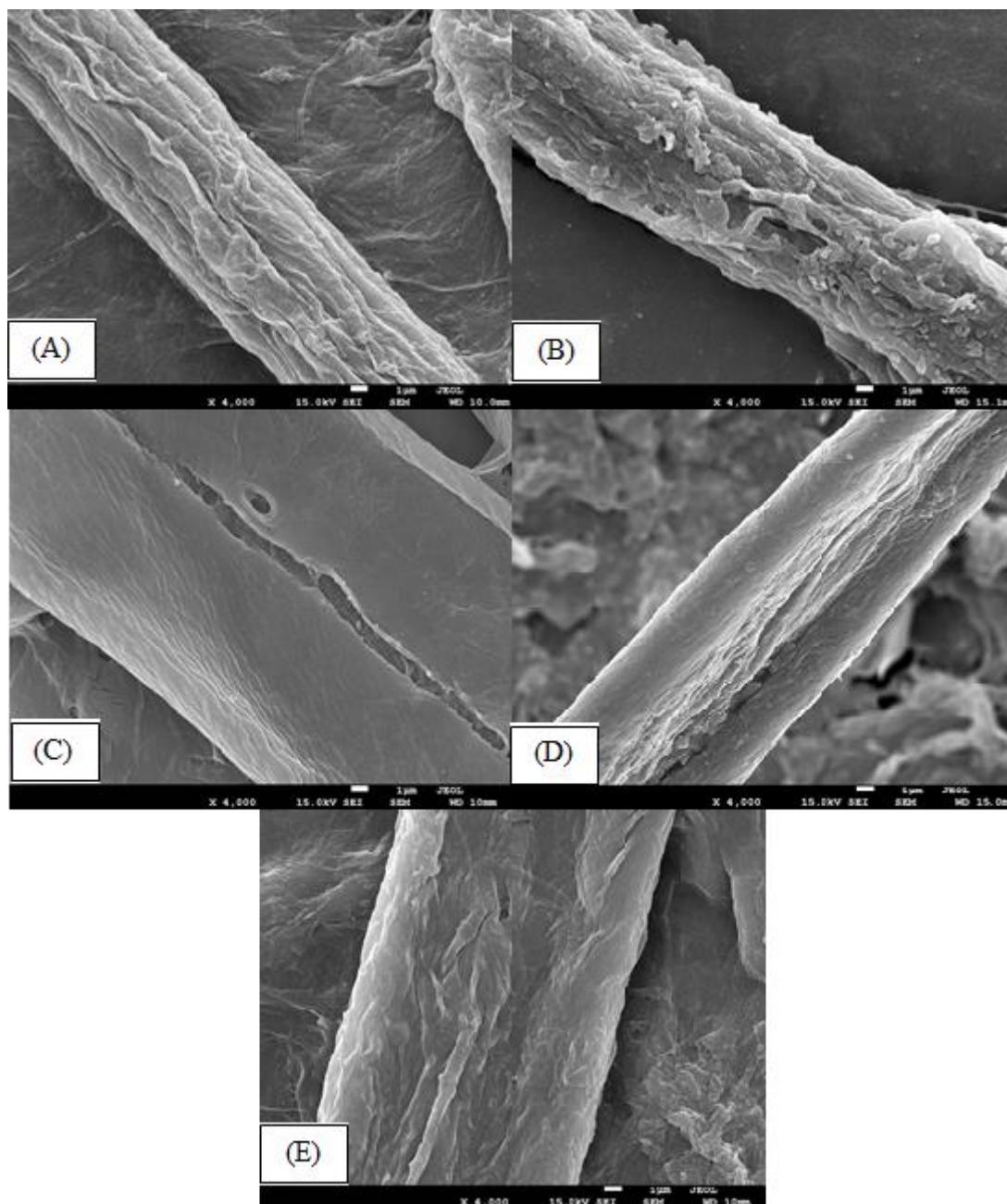
No entanto, comparando a celulose 9 (autohidrólise a 200 °C por 10 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ) e a celulose 10 (autohidrólise a 200 °C por 20 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ) de engaço de dendê o teor de celulose não apresentou uma variação significativa comparando estas duas amostras, embora o emprego de uma maior temperatura de autohidrólise combinado a um maior tempo de reação contribua efetivamente para a polpação da celulose, a diferença registrada não foi acentuada considerando esta biomassa (89,25 e 90,24%, respectivamente), embora os valores registrados evidenciam a eficiência do branqueamento utilizado.

Observa-se que as polpas de celulose de engaços de dendê 6, 7 e 8 apresentaram teores de celulose semelhantes, enquanto que, para as celuloses de engaços 9 e 10 alcançou-se os maiores valores para essa biomassa. Desse modo contata-se a eficiência das metodologias empregadas no branqueamento da celulose para as duas biomassas citadas. Quanto as limitações da metodologia empregada, alguns pontos dificultam uma análise mais precisa da composição total (100%) do material analisado, onde podemos citar o uso de diferentes técnicas para determinar os componentes da biomassa (termogravimetria, espectrometria e cromatografia) e a quantidade mínima de material, o que influencia nos valores obtidos e na interpretação dos resultados coletados.

### 5.2.2. Morfologia das Polpas de Celulose de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê

Os resultados obtidos por microscopia eletrônica de varredura (MEV) para as amostras de celulose de bagaço de cana e engaços de dendê obtidas pelos tratamentos citados são apresentadas nas Figuras 31 e 32 respectivamente.

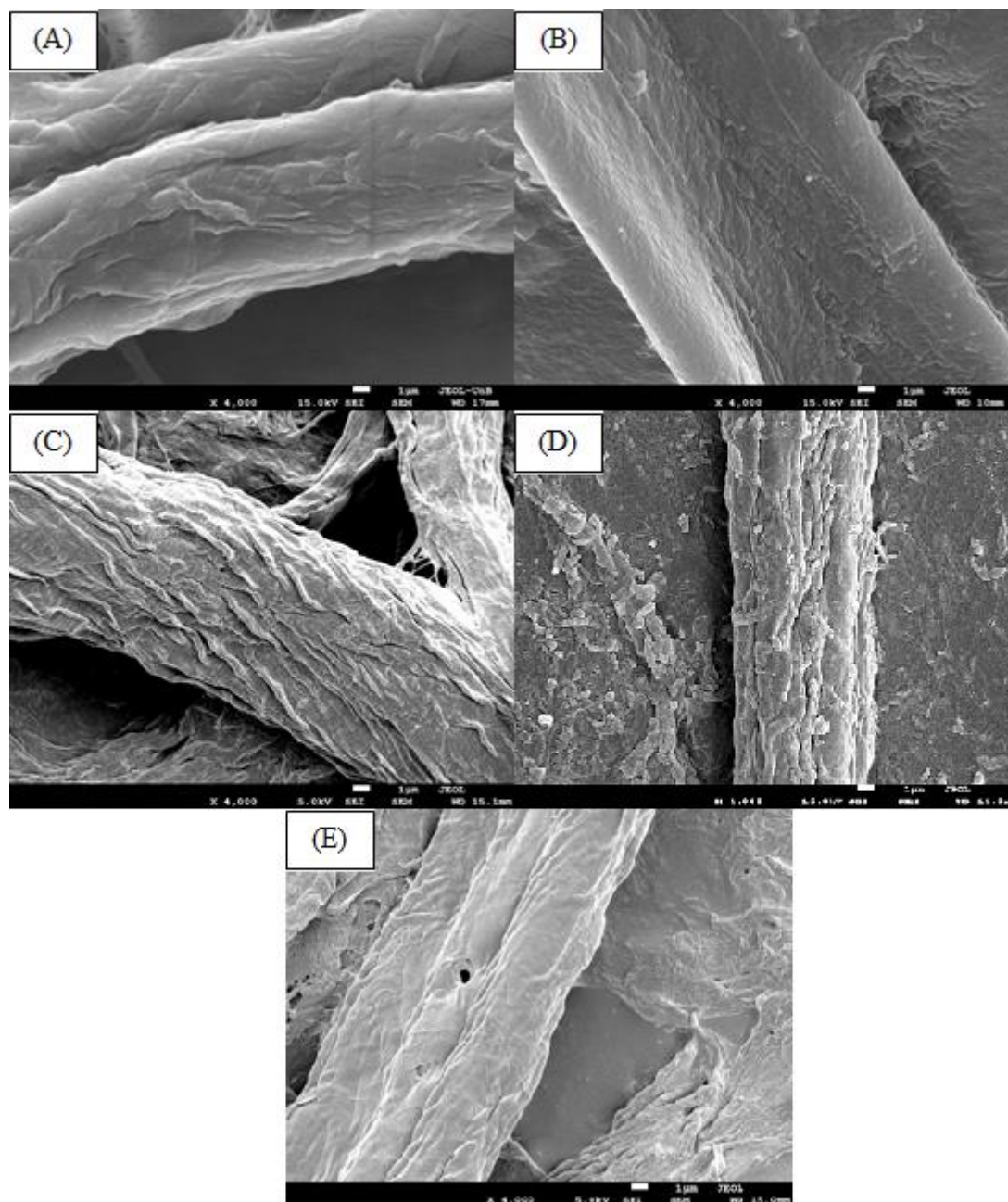
Para as amostras de celulose de bagaço de cana (1, 2, 3, 4 e 5) apresentadas na Figura 31 podem ser observadas fibras com morfologia caracterizada por irregularidades e dobras ao longo das extensões do material avaliado, no entanto apresentam aspecto de fibras derivadas da celulose, conforme verificado na literatura.<sup>57, 106</sup> Nota-se que as fibras celulósicas de bagaço apresentaram morfologia com características semelhantes, sendo que a polpa de celulose com maiores irregularidades consiste na polpa de celulose 2 obtida pelo uso da autohidrólise a 180 °C por 20 minutos combinada com a extração com clorito de sódio (2%), o que pode inferir que este tratamento disponibiliza fibras celulósicas com caráter heterogêneo acentuado (Figura 31.B).



**Figura 31:** Micrografias registradas por MEV das fibras celulósicas de bagaço de cana-de-açúcar branqueadas: (A) celulose 1 ( $\text{NaClO}_2/\text{KOH}$ ), (B) celulose 2 (autohidrólise a  $180\text{ }^\circ\text{C}$  por 20 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ), (C) celulose 3 (autohidrólise a  $180\text{ }^\circ\text{C}$  por 30 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ), (D) celulose 4 (autohidrólise a  $200\text{ }^\circ\text{C}$  por 10 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ) e (E) celulose 5 (autohidrólise a  $200\text{ }^\circ\text{C}$  por 20 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ).

Para as polpas celulósicas de engaços de dendê (6, 7, 8, 9 e 10) apresentadas na Figura 32 é verificada a obtenção de fibras com morfologia caracterizada pela presença de reentrâncias na superfície do material, sendo que as celuloses de engaços 6 e 7 apresentaram uma maior preservação e lisura na superfície da fibra (32.A e 32.B). No entanto, para as

demais fibras (celulose 8, 9 e 10) a predominância de reentrâncias e estrias ao longo das dimensões da fibra, indica uma mudança efetiva na morfologia das fibras de celulose considerando a etapa de autohidrólise no processo de branqueamento de acordo com o aumento do tempo de exposição da biomassa no reator e considerando a temperatura de 200 °C.

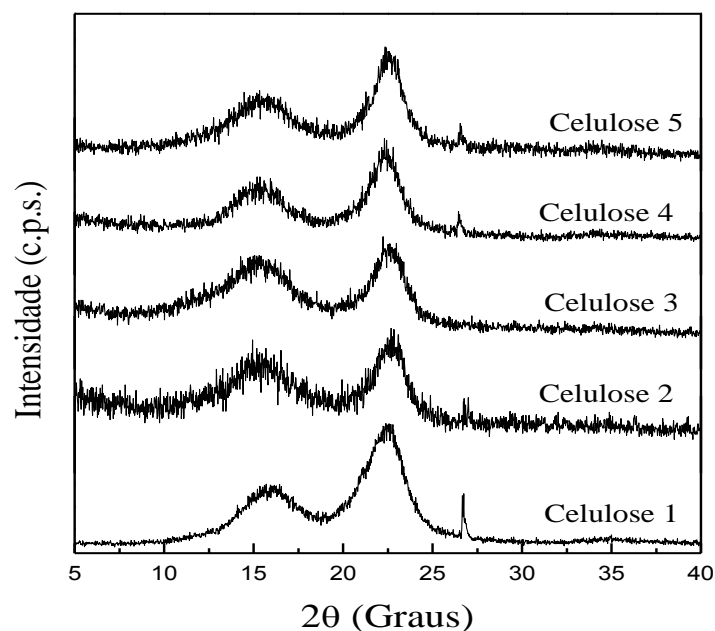


**Figura 32:** Micrografias registradas por MEV das fibras celulósicas de engaços de dente branqueadas: (A) celulose 6 ( $\text{NaClO}_2/\text{KOH}$ ), (B) celulose 7 (autohidrólise a 180 °C por 20 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ), (C) celulose 8 (autohidrólise a 180 °C por 30 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ), (D) celulose 9 (autohidrólise a 200 °C por 10 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ) e (E) celulose 10 (autohidrólise a 200 °C por 20 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ).

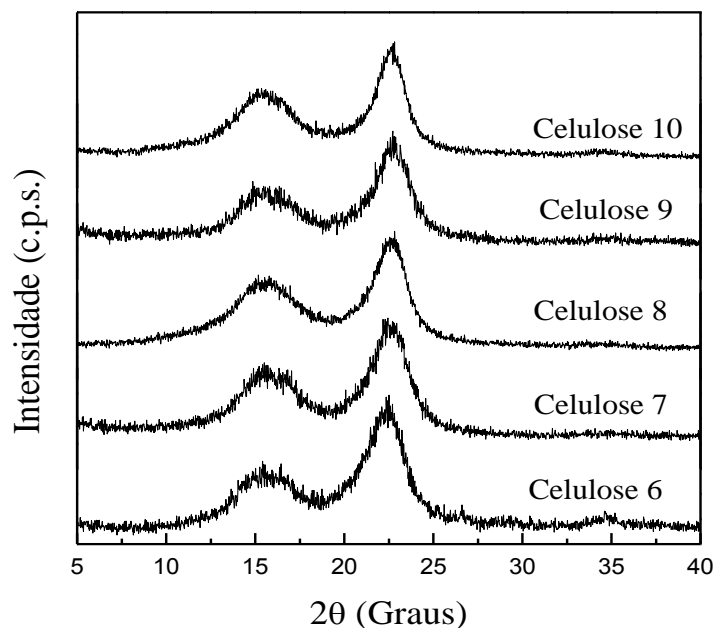
Verificando a morfologia das fibras de celulose de bagaço de cana e engaços de dendê isoladas (celulose 1 a 10) e comparando as características destas com a morfologia de uma amostra de alfa celulose comercial (Sigma Aldrich) apresentada em Anexo VII nota-se que os processos de branqueamento empregados no fracionamento da celulose foram eficientes, onde grande parte das polpas de celulose produzidas apresentaram morfologia preservada e comparável a celulose comercial.

### 5.2.3. Cristalinidade das Fibras Celulósicas de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê

A cristalinidade das fibras celulósicas de bagaço de cana e engaços de dendê obtidas foram avaliadas por difratometria de raios X. Os difratogramas construídos a partir dos dados registrados são apresentados nas Figuras 33 e 34 respectivamente.



**Figura 33:** Difratograma de raios X de polpas de celulose de bagaço de cana-de-açúcar (1 a 5) obtidas pelos métodos de branqueamento avaliados.



**Figura 34:** Difratoograma de raios X das polpas de celulose de engaços de dendê (6 a 10) obtidas pelos métodos de branqueamento avaliados.

Os picos registrados correspondentes as fibras celulósicas para as duas variedades de biomassa apresentaram picos característicos de celulose I, ou seja, entre 10 e 18°, que correspondem a região amorfa da celulose, e entre 22,2 e 22,7°, que corresponde a região de maior intensidade do pico cristalino da celulose. O índice de cristalinidade (IC) determinado a partir das análises realizadas é apresentado na Tabela 14.

**Tabela 14.** Valores de índice de cristalinidade determinado para as fibras de celulose de bagaço de cana (1 a 5) e de engaços de dendê (6 a 10) branqueadas de acordo com os métodos de branqueamento avaliados.

<b>Amostra</b>	<b>IC (%)</b>
<b>Celulose 1</b>	69,26
<b>Celulose 2</b>	56,62
<b>Celulose 3</b>	54,00
<b>Celulose 4</b>	74,25
<b>Celulose 5</b>	61,31
<b>Celulose 6</b>	69,67
<b>Celulose 7</b>	65,20
<b>Celulose 8</b>	61,11
<b>Celulose 9</b>	72,91
<b>Celulose 10</b>	66,66

De acordo com os valores registrados é observado que para a celulose 1 de bagaço de cana e a celulose de engaços de dendê 6, a cristalinidade das polpas produzidas apresentaram valores próximos, correspondentes a 69,26% e 69,67%, respectivamente. Esta pequena variação sugere que a combinação do uso do  $\text{NaClO}_2$  e  $\text{KOH}$  avaliada influenciou de maneira uniforme as duas biomassas estudadas, visto que a cristalinidade do bagaço de cana e engaço de dendê *in natura* apresentaram valores semelhantes (19,79% e 17,92%, respectivamente).

Pode ser verificado a partir dos difratogramas que não ocorreu a conversão da celulose nesses tratamentos, ou seja, da celulose I para a celulose II, por exemplo, mediante o uso do agente alcalino ( $\text{KOH}$ ) empregado para a remoção da hemicelulose na etapa de branqueamento, embora também ocorra a remoção da lignina. A preservação da estrutura típica da celulose I pode ser atribuída a baixa concentração da solução de hidróxido de potássio utilizada, inferior a 10%, visto que concentrações superiores a 15% para soluções alcalinas, como o hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ), acarretam na obtenção de celulose com estrutura tipo II, conforme verificado por YUE et al (2015).<sup>107, 108</sup>

Além da concentração, outros fatores influenciam o efeito do uso do hidróxido de potássio e de outros agentes alcalinos, visto que estes promovem o inchamento efetivo da estrutura da celulose, de acordo com as características do agente considerado e a temperatura empregada, principalmente.<sup>52</sup>

De um modo geral, todas as polpas celulósicas apresentaram cristalinidade superior as respectivas fibras tratadas por autohidrólise (Tabelas 8 e 9), indicando a eficiência do uso do clorito de sódio na remoção de componentes amorfos no material de interesse.<sup>28</sup>

É importante ressaltar que as celulosas produzidas apresentaram cristalinidade entre 54 e 74,25%, valores estes que foram superiores a cristalinidade verificada por Fahma et al.<sup>29</sup> para a polpa de celulose de engaços de dendê obtida, correspondente a 55,09%, sendo que os métodos de branqueamento empregados neste trabalho foram adaptados a partir da metodologia apresentada por estes autores.<sup>29</sup> As polpas de celulose produzidas também apresentaram valores de cristalinidade comparáveis a amostras de  $\alpha$ -celulose comercial, com cristalinidade estimada em 64,45%, de acordo com o difratograma de raios X apresentada em Anexo VIII, ressaltando a eficiência dos métodos de branqueamento empregados, quanto a este parâmetro.

Para a celulose de bagaço de cana-de-açúcar, a celulose 2 de bagaço de cana apresentou alvura inferior em relação às demais polpas celulósicas produzidas (Figura 29.B), sugerindo uma menor remoção da fração de lignina. Isso pode ser atribuído a condição de autohidrólise mais branda (180 °C por 20 minutos) empregada e a ação limitada do clorito de



sódio, devido as menores alterações na morfologia das fibras brutas na etapa de autohidrólise para essa condição, considerando também o número reduzido de extrações realizadas com o clorito de sódio.

Em relação às polpas de celulose de bagaço de cana 2 e 3 observa-se a diminuição da cristalinidade entre as fibras branqueadas (56,62 e 54,00%, respectivamente), comportamento este que se repete para as celulosas de bagaço 4 e 5 (74,25 e 61,29%, respectivamente). Este decréscimo sugere que a severidade da condição empregada na etapa de autohidrólise disponibiliza fibras com maior exposição e alterações significativas na morfologia, onde após o tratamento em quadruplicata com clorito de sódio (2%) as fibras sofrem alterações nas ligações entre as cadeias celulósicas, reduzindo a cristalinidade e possivelmente o grau de polimerização.<sup>105, 107, 108</sup>

Nos difratogramas referentes às celulosas de bagaço de cana, nota-se o aparecimento de um pico de intensidade não acentuada e não característico da celulose, registrado em  $2\theta$  entre  $26$  e  $27^\circ$ . Esse pico foi investigado e indica provavelmente a presença de sílica ( $\text{SiO}_2$ ) nas amostras citadas, visto que esse material pode ser proveniente de impurezas do bagaço de cana utilizado, sabendo que não foi realizada qualquer etapa de lavagem da fibra *in natura*. Essa última hipótese também é reforçada pela caracterização das fibras tratadas por autohidrólise estudadas por espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS).

Para as polpas de celulose de engaços de dendê pode ser observado o decréscimo no índice da cristalinidade comparando a celulose 7 (autohidrólise a  $180^\circ\text{C}$ -20 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ) e a celulose 8 (autohidrólise a  $180^\circ\text{C}$ -30 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ), decréscimo este que também é verificado entre a celulose 9 (autohidrólise a  $200^\circ\text{C}$ -10 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ) e a celulose 10 (autohidrólise a  $200^\circ\text{C}$ -10 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ), respectivamente, comportamento este que está de acordo com a variação verificada para a cristalinidade das polpas de celulose de bagaço de cana.

O comportamento quanto a variação da cristalinidade para as celulosas obtidas, de um modo geral, sugere que para a obtenção de fibras celulósicas com maior cristalinidade considerando a autohidrólise e o clorito de sódio (2%) como etapas do branqueamento, necessita-se ajustar as condições de temperatura e tempo de reação na etapa de autohidrólise, de modo a fracionar a biomassa e causar mudanças efetivas na morfologia das fibras sem comprometer a cristalinidade da celulose para o posterior processo de extração com o clorito de sódio, visto sua ação oxidante.<sup>105, 107, 108</sup>

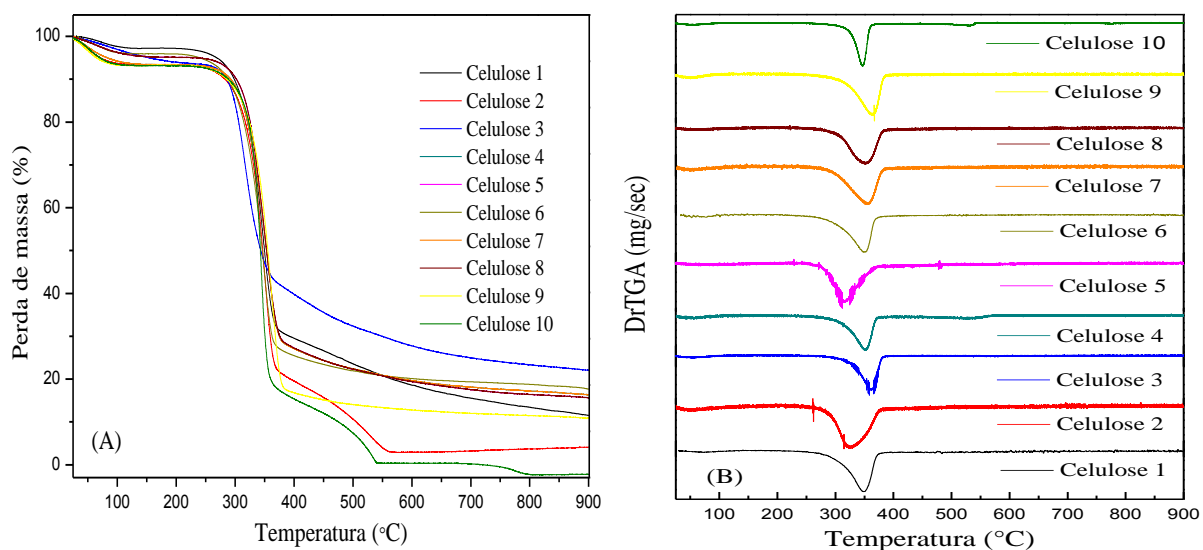
Nesse sentido, para as duas biomassas investigadas o melhor método de branqueamento corresponde ao emprego da autohidrólise a  $200^\circ\text{C}$  por 10 minutos de reação,

seguido da extração com clorito de sódio, correspondendo a celulose 4 de bagaço de cana e a celulose 9 de engaços de dendê, que apresentaram índice de cristalinidade calculado iguais a 74,25% e 72,91%, respectivamente.

Em contrapartida, no geral as polpas de celulose com menores índices de cristalinidade foram a celulose 3 de bagaço de cana e a celulose 8 de engaço de dendê, obtidas empregando a autohidrólise a 180 °C por 30 minutos e o clorito de sódio (2%), devido ao maior tempo de contato da biomassa na etapa de autohidrólise, o que provavelmente acarreta em uma amorfização das fibras tratadas e alterações na morfologia do material, resultando consequentemente na redução da cristalinidade pela clivagem oxidativa ou destruição parcial da rede de ligações intra e intermoleculares de hidrogênio da estrutura da celulose, com o uso combinado do clorito de sódio.<sup>105, 107, 108</sup>

#### 5.2.4. Estabilidade Térmica das Polpas de Celulose de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê

O comportamento das fibras celulósicas de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê quanto à estabilidade térmica pode ser avaliada a partir das curvas termogravimétricas apresentados na Figura 35.



**Figura 35:** Curvas termogravimétricas de TG (A) e DTG (B) das fibras celulósicas de bagaço de cana-de-açúcar (1 a 5) e de engaços de dendê (6 a 10) obtidas pelos métodos de branqueamento avaliados.

De acordo com os resultados obtidos quanto ao estágio de maior perda de massa verificado de acordo com as curvas termogravimétricas (Tabela 15), observa-se que para o tratamento com  $\text{NaClO}_2$  e  $\text{KOH}$  (celulose 1 de bagaço e celulose 6 de engaço) que estas

polpas celulósicas apresentaram estágios de degradação térmica diferentes das demais amostras quanto a temperatura de início de perda de massa (185 e 209 °C, respectivamente). Este comportamento pode ser atribuído ao maior percentual de hemicelulose para as celulosas 1 de bagaço e celulose 6 de engaço, respectivamente, como apresentado na Tabela 13, visto que a hemicelulose tem início de perda de massa em torno de 220 °C.<sup>63</sup>

Todas as amostras apresentaram os valores de  $T_{\text{onset}}$  superiores aos respectivos valores das fibras empregadas no tratamento com clorito de sódio (fibras *in natura* e submetidas a autohidrólise) evidenciando a eficiência do clorito de sódio na remoção proporcional dos constituintes não celulósicos da fibra, acarretando na maior resistência térmica do material.<sup>28, 30</sup>

**Tabela 15.** Valores de temperatura de início de perda de massa ( $T_{\text{onset}}$ ), temperatura final de maior perda de massa ( $T_{\text{máx}}$ ) e resíduo registrado pela análise termogravimétrica das polpas de celulose de bagaço de cana (1 a 5) e de engaços de dendê (6 a 10) obtidas pelos métodos de branqueamento avaliados.

AMOSTRA	$T_{\text{ONSET}}$ (°C)	$T_{\text{MÁX}}$ (°C)	RESÍDUO (%)
CELULOSE 1	185	370	11,50
CELULOSE 2	214	371	21,30
CELULOSE 3	243	378	3,74
CELULOSE 4	218	367	4,13
CELULOSE 5	243	365	22,00
CELULOSE 6	209	363	17,62
CELULOSE 7	241	378	16,34
CELULOSE 8	244	378	15,62
CELULOSE 9	222	381	10,84
CELULOSE 10	233	363	-

De acordo com as curvas termogravimétricas registradas observa-se que para as polpas de celulose de bagaço de cana submetidas a autohidrólise (celulose 2, 3, 4 e 5), a temperatura inicial de degradação térmica ( $T_{\text{onset}}$ ) aumenta conforme o aumento do tempo de reação na etapa de autohidrólise considerando uma mesma temperatura, aumentando entre a celulose 2 (180 °C por 20 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ) e a celulose 3 (180 °C por 30 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ) e entre a celulose 4 (200 °C por 10 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ) e a celulose 5 (200 °C por 20 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ), respectivamente.

Para as celulosas 2 e 5 de bagaço de cana verifica-se o mesmo comportamento, onde considera-se diferentes temperaturas (180 e 200 °C) para o mesmo tempo de contato (20 minutos). Entretanto, comparando com a celulose 2 de bagaço de cana (autohidrólise a 180 °C

por 20 minutos/clorito de sódio) não é observada diferença em virtude do aumento da temperatura, onde alcançou-se estágios de degradação iguais para as celulose 3 e 5 (243 °C). Esse comportamento infere uma maior remoção dos componentes não celulósicos das polpas de celulose obtidas sob a influência do tratamento de autohidrólise, utilizado como parte do tratamento.<sup>28,30</sup>

Para as polpas de celulose de engaços de dendê observa-se o mesmo comportamento quanto à temperatura inicial de perda de massa ( $T_{\text{onset}}$ ) verificado para as polpas de celulose de bagaço de cana, ou seja, evidencia-se que a estabilidade térmica das amostras de celulose de engaços de dendê aumenta para um maior tempo de exposição das fibras na etapa de autohidrólise, considerando uma mesma temperatura, conforme é apresentado na Tabela 15. No entanto, comparando a celulose 7 (180 °C por 20 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ) e a celulose 10 (200 °C por 20 minutos/ $\text{NaClO}_2$ ), observa-se que houve um decréscimo na temperatura da  $T_{\text{onset}}$  de 241 °C para 233 °C, em virtude do emprego de uma maior temperatura na etapa de autohidrólise, o que afetou a estabilidade térmica das fibras de celulose avaliadas de engaços de dendê.

Para  $T_{\text{máx}}$  nota-se que as celuloses de bagaço de cana apresentam valores semelhantes, entre 365 e 378 °C, enquanto que as polpas de celulose de engaços de dendê apresentaram comportamento similar, com valores entre 363 e 381 °C, onde esta faixa é atribuída a degradação majoritária da celulose presente no material, reportada entre 300 e 400 °C.<sup>76, 101</sup> A partir da análise do comportamento térmico das polpas de celulose obtidas e considerando a temperatura referente ao maior estágio de perda de massa ( $T_{\text{máx}}$ ) observa-se que a estabilidade térmica das amostras produzidas é comparável ao estágio de degradação térmica máxima verificado pela análise termogravimétrica de fibras de  $\alpha$ -celulose comercial conforme apresentado em Anexo VIII, com  $T_{\text{máx}}$  estimado em 378 °C.

Quanto ao resíduo registrado, observa-se uma variação para as celuloses de bagaço de cana entre 11,50 e 22%, enquanto que para as celuloses de engaço de dendê tais valores foram registrados entre 10,84 e 17,62%, referentes ao resíduo carbonáceo formado ao final da análise.<sup>76</sup> As polpas referentes às celuloses 1 e 6 apresentaram expressivas quantidades de material residual, o que pode estar associado ao número extensivo de extrações com insumos químicos ( $\text{NaClO}_2$  e  $\text{KOH}$ ), contribuindo para um maior teor de resíduos do processo de polpação.

### 5.3. Nanofibras de Celulose de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê (NFC)

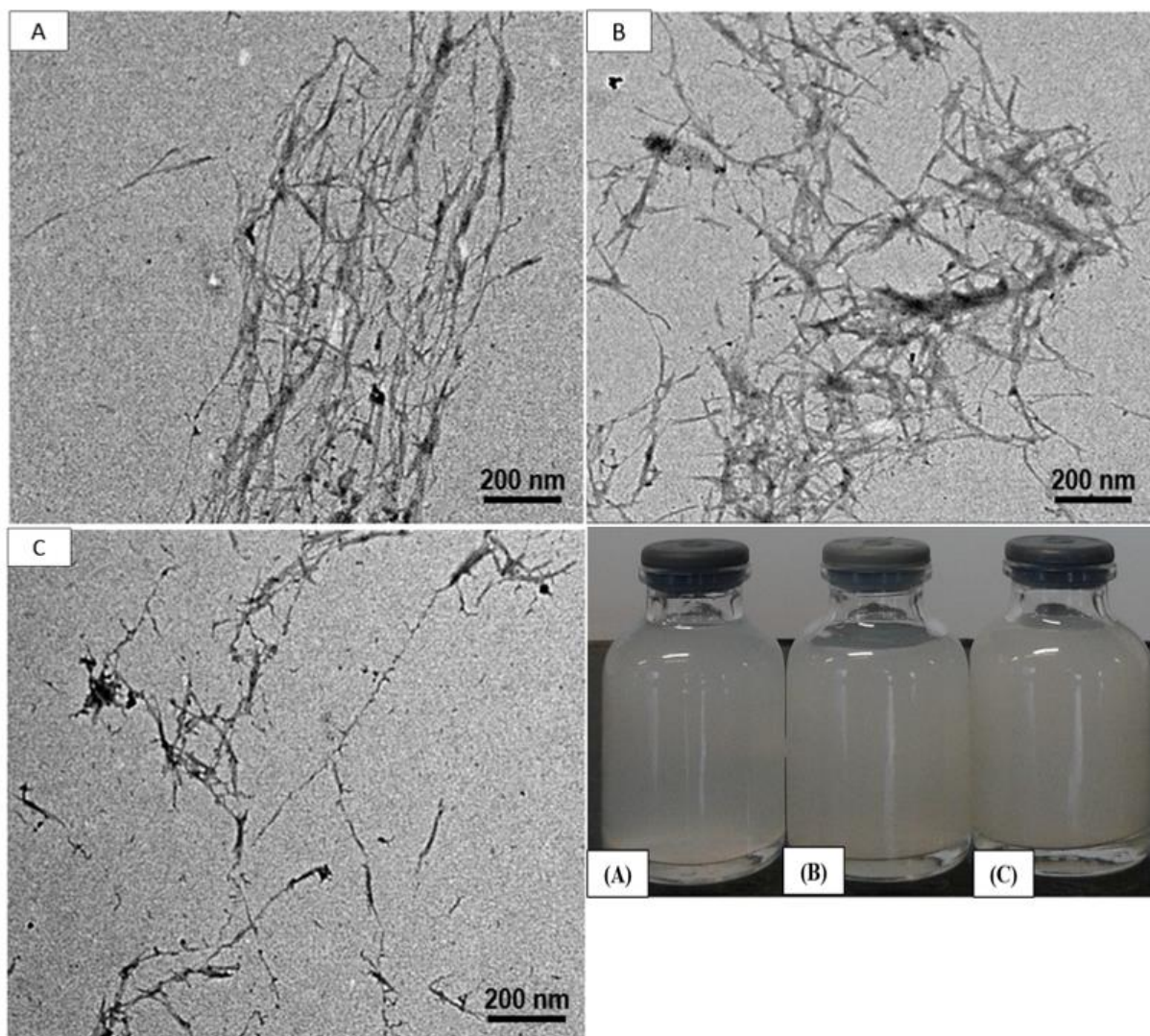
Os hidrolisados gerados neste trabalho foram identificados e os resultados das caracterizações realizadas serão apresentados de acordo com as especificações descritas a seguir na Tabela 16, que relaciona as amostras de NFC obtidas com o tratamento de branqueamento e o tempo de hidrólise enzimática.

**Tabela 16.** Identificação das amostras de nanofibras de celulose (NFC) obtidas de acordo com as polpas selecionadas (celulose 1, 2 e 4 de bagaço de cana e celulose 6, 7 e 9 de engaços de dendê) e o tempo de hidrólise enzimática (24, 48 e 72 horas).

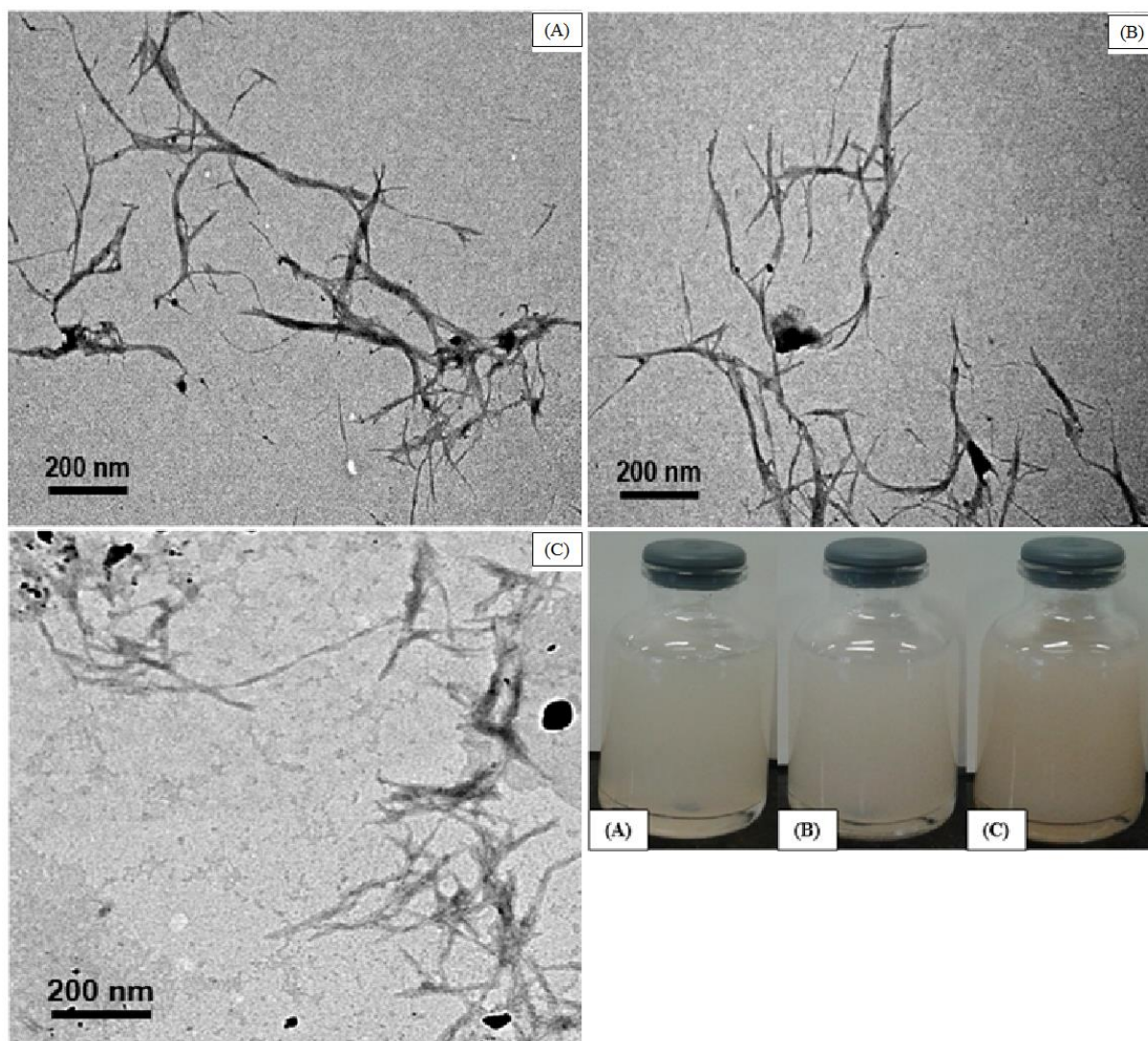
CELULOSE (TRATAMENTO)	TEMPO DE HIDRÓLISE (HORAS)	NANOFIBRA (NFC)
1	24	NFC-1-24
1	48	NFC-1-48
1	72	NFC-1-72
2	24	NFC-2-24
2	48	NFC-2-48
2	72	NFC-2-72
4	24	NFC-4-24
4	48	NFC-4-48
4	72	NFC-4-72
6	24	NFC-6-24
6	48	NFC-6-48
6	72	NFC-6-72
7	24	NFC-7-24
7	48	NFC-7-48
7	72	NFC-7-72
9	24	NFC-9-24
9	48	NFC-9-48
9	72	NFC-9-72

#### 5.3.1. Morfologia e Análise Dimensional das NFC de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê

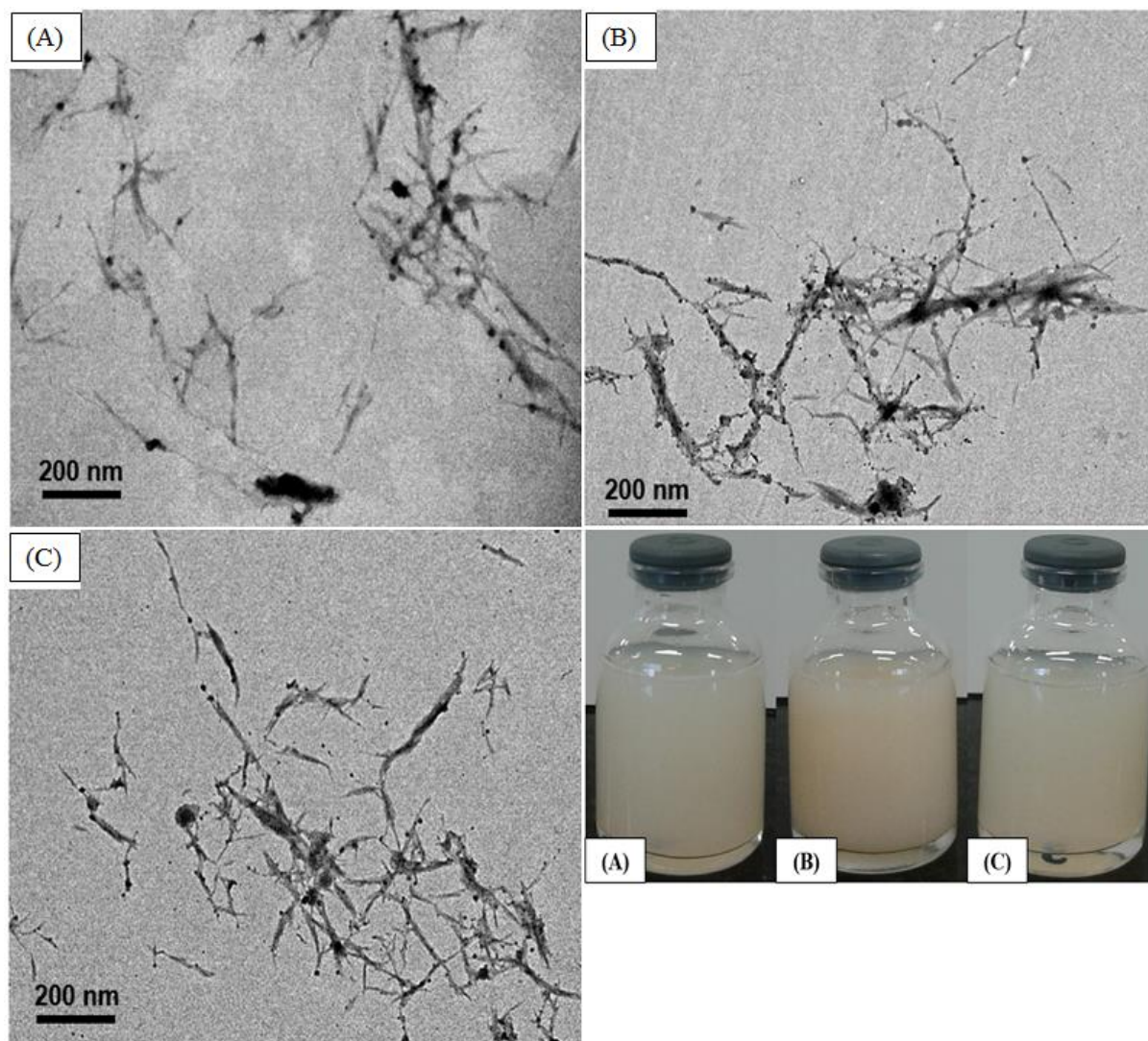
As micrografias registradas para os hidrolisados obtidos para as polpas de celulose de bagaço de cana-de-açúcar (1, 2 e 4) são apresentadas nas Figuras 36, 37 e 38, respectivamente.



**Figura 36:** Micrografias registradas por MET das NFCs obtidas a partir da hidrólise enzimática da celulose 1 de bagaço de cana-de-açúcar em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas): (A) NFC-1-24, (B) NFC-1-48 e (C) NFC-1-72 horas.



**Figura 37:** Micrografias registradas por MET das NFCs obtidas a partir da hidrólise enzimática da celulose 2 de bagaço de cana-de-açúcar em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas): (A) NFC-2-24, (B) NFC-2-48 e (C) NFC-2-72 horas.



**Figura 38:** Micrografias registradas por MET das NFCs obtidas a partir da hidrólise enzimática da celulose 4 de bagaço de cana-de-açúcar em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas): (A) NFC-4-24, (B) NFC-4-48 e (C) NFC-4-72 horas.

Os resultados quanto à análise dimensional das nanofibras de celulose isoladas (espessura e comprimento) são apresentados na Tabela 17.

**Tabela 17.** Análise dimensional das amostras de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar isoladas a partir da hidrólise enzimática das polpas de celulose selecionadas (1, 2 e 4) quanto a espessura e comprimento.

Nanofibra de celulose (NFC)	Espessura (nm) (E)	Comprimento (nm) (L)
NFC-1-24	12,90±7,0	275,61±127,3
NFC-1-48	6,80±2,1	235,61±123,2
NFC-1-72	7,87±2,1	266,38±129,0



<b>NFC-2-24</b>	9,20±3,2	238,27±128,1
<b>NFC-2-48</b>	7,69±2,8	238,33±125,5
<b>NFC-2-72</b>	8,06±2,6	304,39±129,9
<b>NFC-4-24</b>	9,81±3,6	270,84±132,8
<b>NFC-4-48</b>	8,11±3,0	192,43±96,0
<b>NFC-4-72</b>	7,08±2,9	193,22±91,1

De acordo com as micrografias registradas foi observada a obtenção de nanofibras de celulose a partir das polpas celulósicas de bagaço de cana. Para todos os hidrolisados evidenciou-se a obtenção de nanofibras finas (com espessura inferior a 20 nm), longas e emaranhadas. As duas últimas características citadas se apresentaram como um fator limitante para a determinação com maior clareza do comprimento das nanoestruturas obtidas.

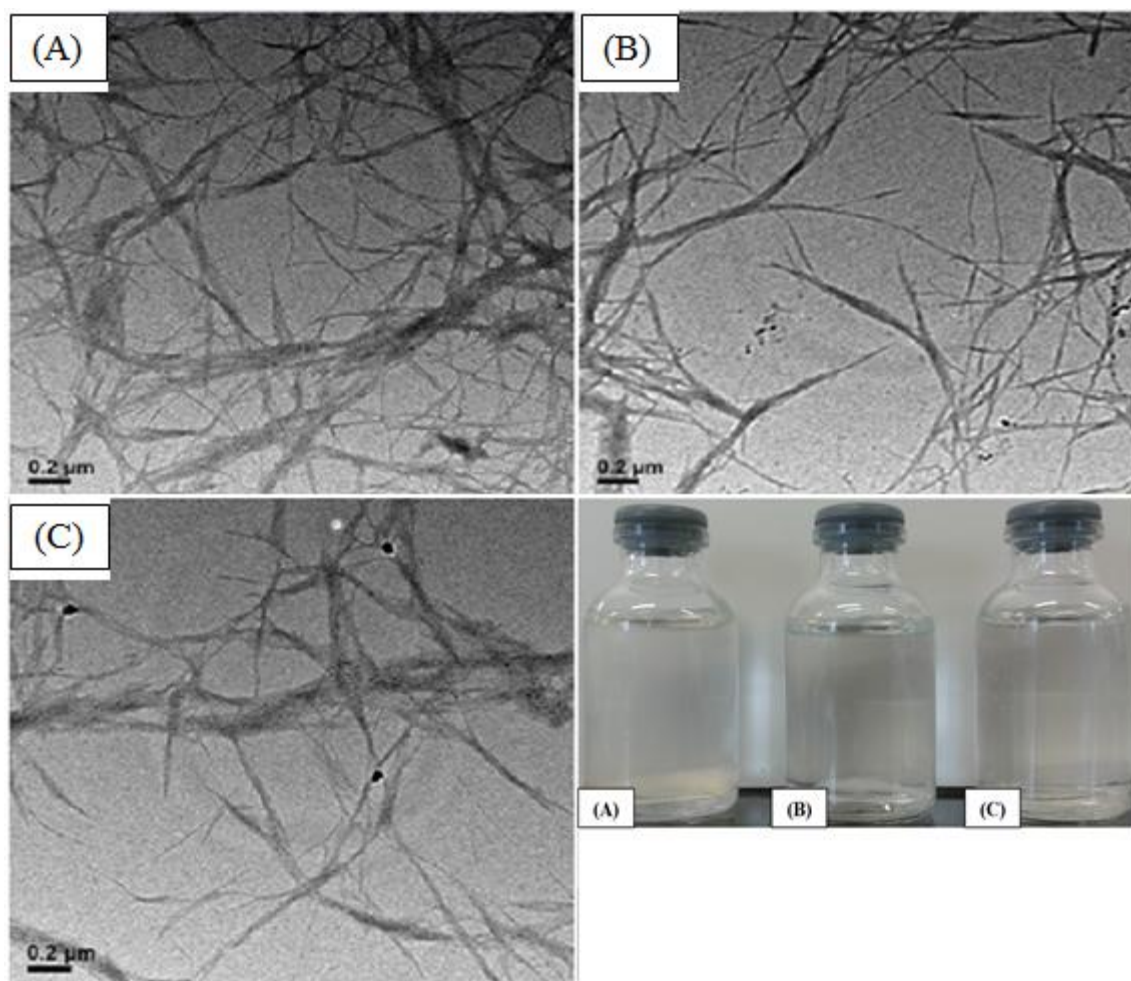
Os sistemas coloidais referentes às nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar apresentaram coloração mais escura e deposição de material particulado após 48 horas de armazenamento dos hidrolisados, para as amostras geradas a partir da hidrólise das polpas considerando a autohidrólise com uma das etapas de tratamento (NFCs 2 e 4), em virtude do maior teor de lignina presente nas polpas utilizadas. Contudo, a lignina residual presente nos hidrolisados pode agir como compatibilizador em matrizes hidrofóbicas, o que é de interesse para a indústria, visto a otimização das interações entre matriz e reforço e um maior número de matrizes para investigação quanto as propriedades e características do nanocompósito elaborado.<sup>31</sup>

Para as nanofibras obtidas a partir da polpa de celulose 1 em diferentes tempos de reação (NFC-1-24, NFC-1-48 e NFC-1-72) pode ser observado a partir dos valores da Tabela 14 a obtenção de nanoestruturas com espessura de 12,9 nm em 24 horas de reação, enquanto que para as NFC obtidas em 48 horas ocorre um decréscimo na espessura das nanoestruturas, com um valor igual a 6,8 nm. Entretanto, com o aumento do tempo de hidrólise não é observada a redução da espessura das fibras, sugerindo que a partir de 48 horas de reação ocorre a degradação da celulose pelas enzimas em glicose, o que pode ser melhor avaliado com base no índice de cristalinidade determinado para as nanoestruturas efetivas.

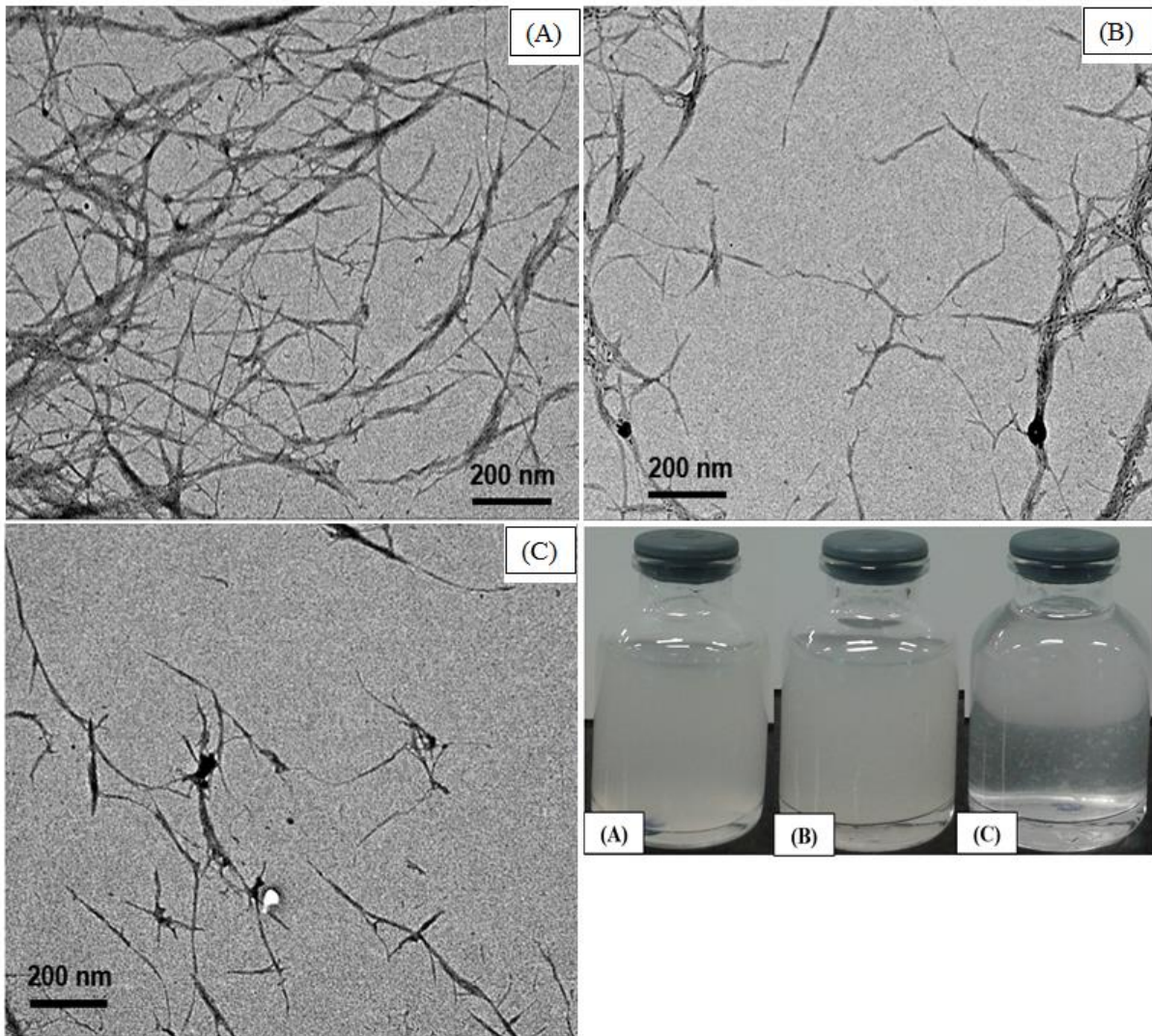
Para as NFC 2 obtidas em diferentes tempos de reação, é observada a obtenção de nanoestruturas com espessura igual a 9,2 nm em 24 horas de reação, valor este que diminuiu para 7,69 nm após 48 horas. Contudo, assim como foi observado para as NFC obtidas a partir da celulose 1, para o tempo de 72 horas não é observada a redução da espessura do material obtido, confirmando a atuação das enzimas nessa condição na degradação das cadeias de celulose.

Para as NFC isoladas a partir da celulose 4 (NFC-4-24, NFC-4-48 e NFC-4-72) pode ser observada a partir da análise dimensional a obtenção de nanoestruturas com 9,81 nm de espessura após 24 horas de reação, confirmando a ação efetiva das enzimas sobre as dimensões das fibras desta polpa de celulose. Após 48 horas de reação é verificado a obtenção de nanoestruturas com espessura de 8,11 nm e para o maior tempo de reação (72 horas) a espessura das NFC isoladas foi de 7,08 nm. Esses resultados mostram a eficiência do coquetel comercial de celulasas de *Trichoderma reesei* para a obtenção de celulose nanométrica, entretanto, visto a diferença não acentuada entre os valores registrados entre 48 e 72 horas e os valores registrados neste intervalo para as NFC discutidas anteriormente, entende-se que um tempo superior a 48 horas não justifica os gastos com manutenção do processo e maior geração de açúcares no meio, minimizando o rendimento do processo.

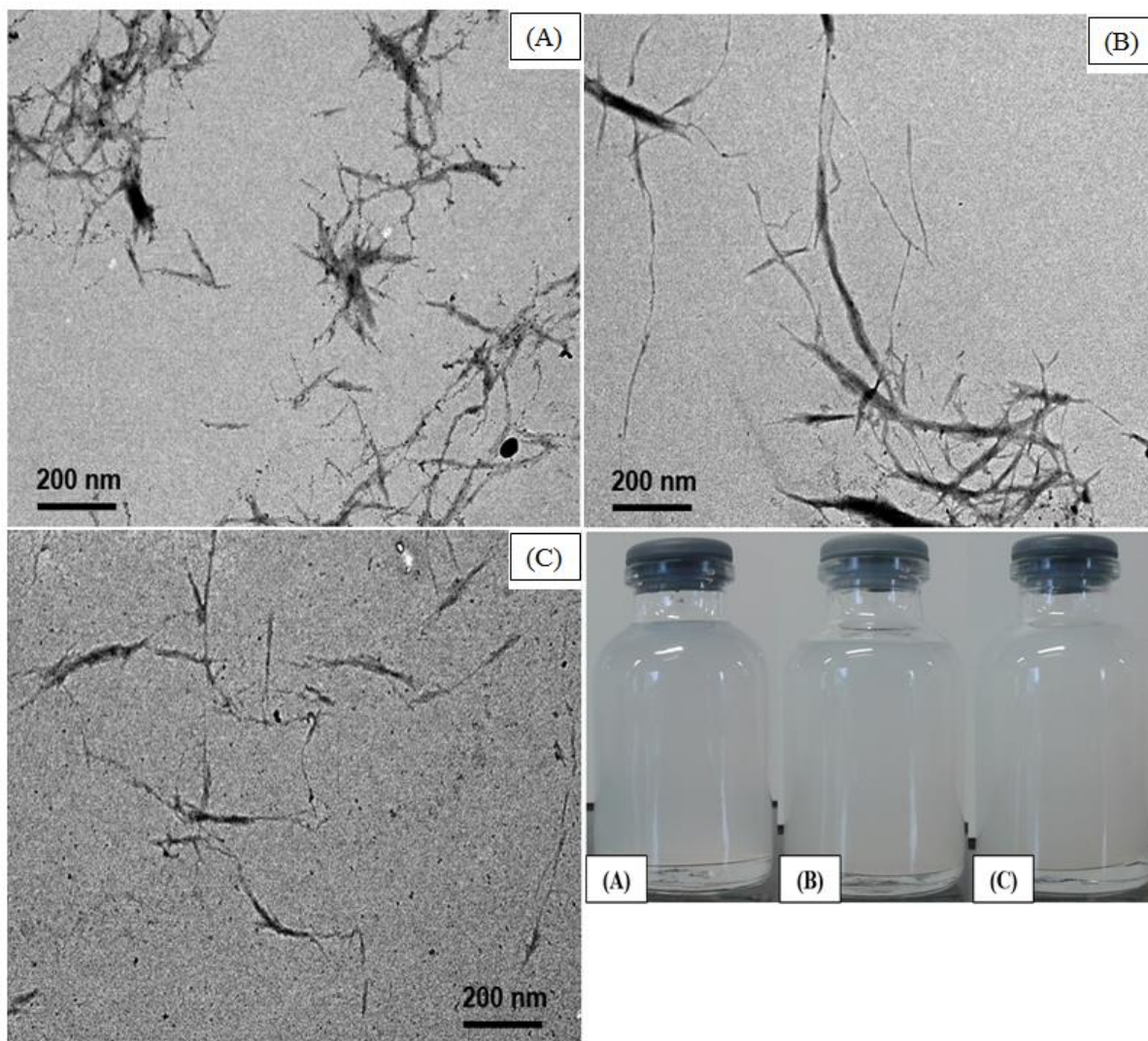
As micrografias registradas para os hidrolisados obtidas para as polpas de celulose de engaços de dendê (6, 7 e 9) são apresentadas nas Figuras 39, 40 e 41, respectivamente.



**Figura 39:** Micrografias registradas por MET das NFCs obtidas a partir da hidrólise enzimática da celulose 6 de engaços de dendê em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas): (A) NFC-6-24, (B) NFC-6-48 e (C) NFC-6-72 horas.



**Figura 40:** Micrografias registradas por MET das NFCs obtidas a partir da hidrólise enzimática da celulose 7 de engaços de dendê em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas): (A) NFC-7-24, (B) NFC-7-48 e (C) NFC-7-72 horas.



**Figura 41:** Micrografias registradas por MET das NFCs obtidas a partir da hidrólise enzimática da celulose 9 de engaços de dendê em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas): (A) NFC-9-24, (B) NFC-9-48 e (C) NFC-9-72 horas.

A Tabela 18 apresenta os resultados quanto à análise das dimensões das nanofibras de celulose de engaços de dendê obtidas, quanto a espessura (E) e comprimento (L).

**Tabela 18.** Análise dimensional das amostras de nanofibras de celulose de engaços de dendê isoladas a partir das polpas de celulose selecionadas (NFCs 6, 7 e 9) quanto a espessura e comprimento.

Nanofibra de celulose (NFC)	Espessura (nm) (E)	Comprimento (nm) (L)
NFC-6-24	17,40±7,3	782,10±341,2
NFC-6-48	12,90±6,2	414,20±207,0
NFC-6-72	11,80±5,9	640,40±384,2

<b>NFC-7-24</b>	6,88±2,4	273,06±156,9
<b>NFC-7-48</b>	6,67±2,0	245,20±113,7
<b>NFC-7-72</b>	6,47±1,8	321,80±130,3
<b>NFC-9-24</b>	10,81±4,0	255,01±130,0
<b>NFC-9-48</b>	9,41±4,1	322,47±170,8
<b>NFC-9-72</b>	7,92±3,0	307,47±134,1

De acordo com as micrografias e a análise estatística das nanofibras obtidas observa-se a obtenção de fibras celulósicas em escala nanométrica (espessura inferior a 20 nm), compridas e emaranhadas, o que dificultou a determinação com maior clareza do comprimento das nanoestruturas isoladas, característica essa que também foi observada para as NFC de bagaço de cana. As amostras de nanofibras de celulose de engaços de dendê apresentaram com coloração esbranquiçada, onde não foi observada a deposição acentuada de material após armazenamento dos hidrolisados.

De acordo com os valores apresentados na Tabela 18, para as NFC obtidas pela hidrólise enzimática da polpa de celulose 6 pode ser verificado a diminuição do diâmetro das nanoestruturas com o aumento do tempo de reação de hidrólise enzimática, o que confirma a atuação das celulasas empregadas na remoção da celulose amorfa presente no material e das regiões cristalinas conseqüentemente. Entretanto, comparando a variação do diâmetro para o material obtido em 48 e 72 horas (12,9 nm e 11,8 nm, respectivamente) observa-se que não há uma diferença significativa nos valores encontrados considerando um acréscimo de 24 horas de reação. Esse comportamento sugere que com um maior tempo de reação ainda é possível observar a ocorrência de nanoestruturas nos hidrolisados, porém a maior parte da celulose disponível foi quase que completamente hidrolisada pelas enzimas presentes no meio, gerando glicose e pequenos oligossacarídeos.

Para as NFC obtidas a partir da polpa de celulose 7 observa-se que não ocorreu uma variação significativa em relação aos valores obtidos nos diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas), onde a espessura das fibras variou entre 6,88 a 6,47 nm. Esse resultado sugere que em menos 24 horas as enzimas são capazes de atuar sobre a estrutura da celulose, disponibilizando as nanoestruturas no hidrolisado.

Para a terceira polpa de celulose de engaços de dendê hidrolisada (celulose 9) pode ser observado que as nanofibras de celulose isoladas apresentaram espessura entre 10,81 e 7,92 nm (Tabela 18), de acordo com o tempo de hidrólise. Pode ser observada a diminuição da espessura das NFC analisadas de acordo com o aumento do tempo de hidrólise enzimática, o que sugere a eficiência das enzimas na obtenção de celulose em escala nanométrica e a influência do tempo na redução da espessura das fibras.

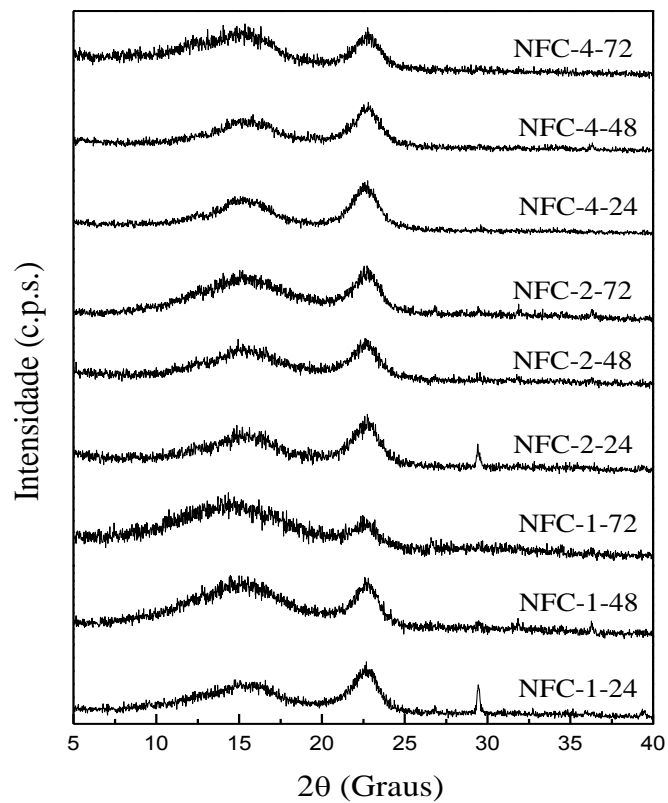
Quanto ao comprimento das nanofibras obtidas, de uma forma geral, não há uma relação direta do tempo de hidrólise com a redução do comprimento da fibra, o que é limitado de ser melhor avaliado pela característica alongada das fibras celulósicas de bagaço de cana e engaços de dendê, principalmente, o que dificulta a medida de um maior número de nanoestruturas.

Tal característica limita a determinação mais precisa da razão de aspecto das nanoestruturas obtidas, definida como a relação entre o comprimento (L) e a espessura (E) calculada para uma ampla variedade de fibras, sendo que, para o sistema estudado, esta medida é associada ao melhor desempenho das NFC como reforço em nanocompósitos para teores controlados de cargas adicionadas.<sup>31</sup>

Comparando os resultados alcançados quanto a espessura e comprimento para a melhor condição avaliada de isolamento de NFCs por FAHMA et al.<sup>29</sup> empregando o uso de ácido sulfúrico (64% a 45 °C) sob agitação por 60 minutos em que obteve-se NFCs de engaços de dendê com espessura igual a 2,05 nm, comprimento entre 100 nm e 2 µm e forte tendência a aglomeração, verifica-se que em relação as NFCs de bagaço de cana e engaços de dendê extraídas por hidrólise enzimática avaliadas neste trabalho estas tendem a serem mais espessas (espessura entre 6 e 18 nm) e quanto ao comprimento o comportamento está de acordo com o que foi verificado pelos autores, assim como a aglomeração das nanoestruturas.

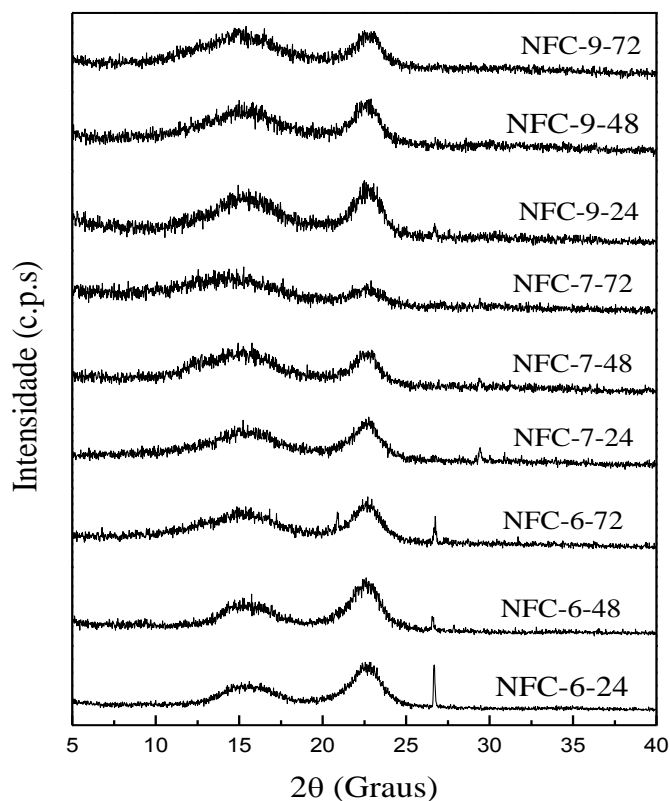
### 5.3.2. Cristalinidade das NFC de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê

A partir dos dados obtidos por difratometria de raios X foram construídos os difratogramas para as amostras de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar em diferentes tempos de reação (Figura 42) e nanofibras e celulose de engaços de dendê (Figura 43), respectivamente.



**Figura 42:** Difratoograma de raios X das amostras de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar (NFCs 1, 2 e 4) obtidas por hidrólise enzimática em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas).





**Figura 43:** Difratoograma de raios X das amostras de nanofibras de celulose de engaços de dendê (NFCs 6, 7 e 9) obtidas por hidrólise enzimática em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas).

Avaliando os difratogramas de raios X construídos para todas as nanoestruturas obtidas verifica-se que para todas as NFC isoladas ocorreu uma diminuição do índice de cristalinidade do material, como apresentado nas Figuras 42 e 43 pela minimização do pico de maior intensidade da celulose, entre 22,4 e 22,7 °C. Os índices de cristalinidade calculados para as amostras isoladas são apresentados na Tabela 19.

**Tabela 19.** Valores de índice de cristalinidade determinado para as amostras de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê obtidas de acordo com os métodos de branqueamento e o tempo de hidrólise enzimática (24, 48 e 72 horas) avaliados.

Nanofibra de celulose (NFC)	IC (%)
NFC-1-24	57,01
NFC-1-48	35,42
NFC-1-72	5,5
NFC-2-24	61,46
NFC-2-48	47,62
NFC-2-72	38,18
NFC-4-24	63,67

<b>NFC-4-48</b>	60,48
<b>NFC-4-72</b>	50,41
<b>NFC-6-24</b>	69,73
<b>NFC-6-48</b>	67,35
<b>NFC-6-72</b>	51,39
<b>NFC-7-24</b>	49,74
<b>NFC-7-48</b>	37,25
<b>NFC-7-72</b>	25,43
<b>NFC-9-24</b>	52,68
<b>NFC-9-48</b>	43,97
<b>NFC-9-72</b>	33,31

A redução do índice de cristalinidade das NFC isoladas com o tempo de hidrólise enzimática pode ser explicada pela redução nas ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, onde ocorre a conversão da celulose I em celulose amorfa. Conclui-se que as enzimas agem também sobre os domínios cristalinos, amorfizando a celulose ao transcorrer da reação.<sup>109</sup>

Quanto ao comportamento do índice de cristalinidade das NFCs de bagaço de cana e engaços de dendê obtidas após hidrólise enzimática em diferentes tempos de reação (24 a 72 horas), nota-se que as NFC-1 apresentaram os menores índices de cristalinidade, o que pode estar associado ao baixo teor de lignina verificado para a polpa de celulose 1 hidrolisada (4,39%), visto que a lignina é reportada como um dos fatores que influenciam na ação das enzimas sobre o substrato celulósico, comprometendo a eficiência da hidrólise. Para as NFC-1 também pode ser evidenciado que o material obtido após 72 horas de hidrólise (NFC-1-72) apresentou o IC igual a 5,5%, indicando a degradação majoritária da celulose em glicose para um maior tempo de reação e a diminuição no rendimento de nanofibras no hidrolisado.

Para as NFC-2 e NFC-4 observa-se que os índices de cristalinidade foram semelhantes, no entanto os sistemas de NFC-4 apresentaram uma preservação mais efetiva da cristalinidade da celulose, além das menores espessuras para as nanoestruturas isoladas (7,08 a 9,81 nm), sugerindo que quanto a este parâmetro a NFC 4 consiste na alternativa mais viável, com uma hidrólise por um tempo de 48 horas, com cristalinidade estimada em 60,48%.

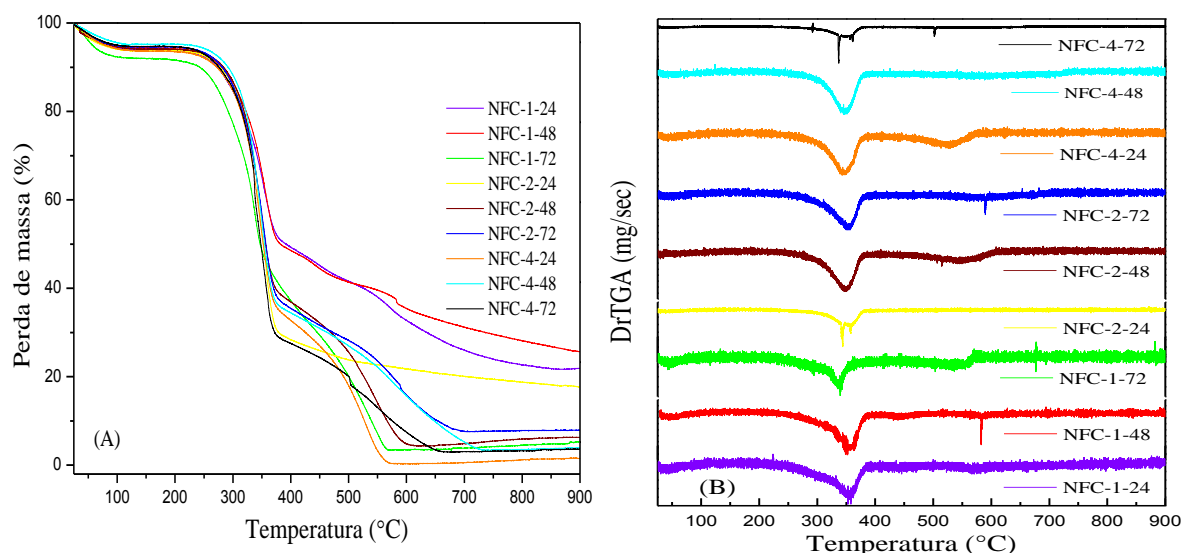
Para as NFC de engaços de dendê, verifica-se que as NFC 6 apresentaram os maiores índices de cristalinidade (entre 51,39 e 69,73%), onde a celulose 6 hidrolisada registrou um maior teor de lignina (6,01%), o que pode ter influenciado a ação das celulasas sobre as dimensões das fibras celulósicas, visto também que estas nanoestruturas apresentaram maior espessura comparada as demais NFCs de engaços de dendê isoladas, entre 11,8 e 17,4 nm.

Comparando as NFC-7 e NFC-9 os valores quanto ao índice de cristalinidade não apresentaram uma diferença acentuada, onde as NFC-9 isoladas evidenciaram uma maior preservação da cristalinidade com o aumento do tempo de reação, sabendo que os teores de lignina tanto para a NFC-7 quanto para a NFC-9 foram iguais a 5,08%, respectivamente. Desse modo, as NFC-9 de engaços de dendê foram as nanoestruturas com melhor comportamento quanto a cristalinidade para esta biomassa, considerando tempo de 48 horas de reação, onde foi possível extrair NFC com cristalinidade avaliada em 43,97% e espessura de 9,41 nm, de acordo com a análise dimensional (Tabela 18).

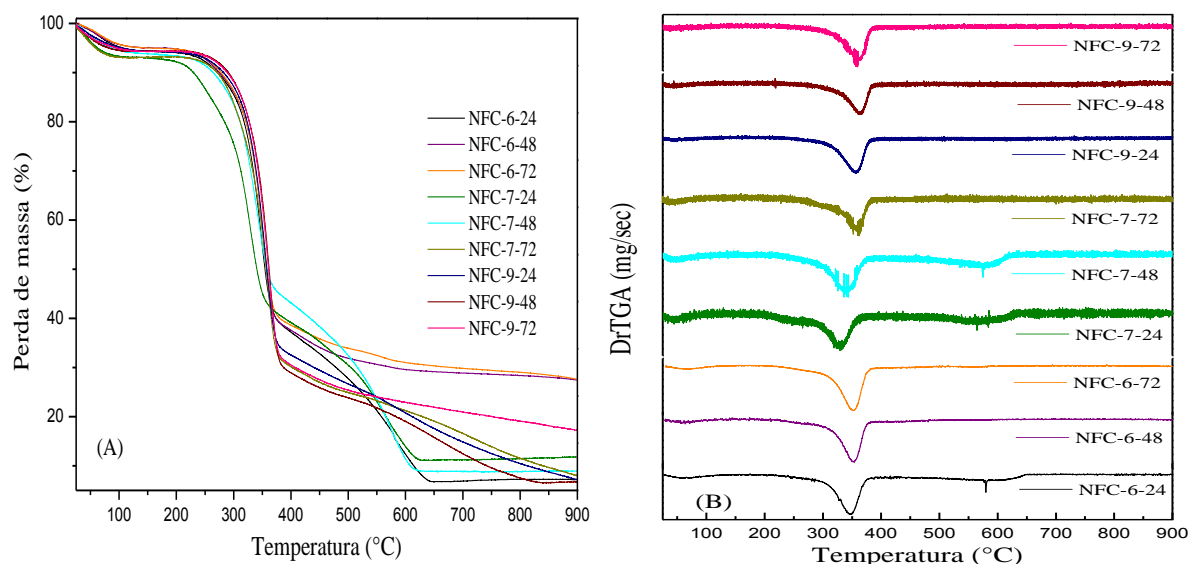
Os resultados reportados na literatura empregando ácidos como o sulfúrico e/ou clorídrico mostram a obtenção de nanoestruturas com maior cristalinidade em comparação aos valores encontrados com o uso de enzimas na hidrólise seletiva da celulose, conforme observado por Zhang et al.<sup>53</sup>, que alcançou valores referentes a cristalinidade e a espessura empregando a hidrólise com ácido sulfúrico e o uso de celulases de *Trichoderma reesei* iguais a 78,8 e 72% e espessura estimada em 14,0 e 24,7 nm, respectivamente. Do mesmo modo, segundo os resultados obtidos por Fahma et al.<sup>29</sup> observa-se que o aumento do tempo de hidrólise com ácido sulfúrico (entre 15 e 90 minutos) não acarretou na perda acentuada da cristalinidade, onde os valores quanto a este parâmetro variaram entre 58,78 e 53,83%, de acordo com o aumento do tempo de hidrólise.

### 5.3.3. Estabilidade Térmica das NFC de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê

As análises termogravimétricas (TGA) para as nanofibras de celulose de bagaço de cana e engaços de dendê são apresentadas nas Figuras 44 e 45, respectivamente.



**Figura 44:** Curvas termogravimétricas de TG (A) e DTG (B) das amostras de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar (NFCs 1, 2 e 4) obtidas por hidrólise enzimática em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas).



**Figura 45:** Curvas termogravimétricas de TG (A) e DTG (B) das amostras de nanofibras de celulose de engaços de dendê (NFCs 6, 7 e 9) obtidas por hidrólise enzimática em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas).

A Tabela 20 apresenta os valores quanto ao estágio de início ( $T_{\text{onset}}$ ) e maior perda de massa ( $T_{\text{máx}}$ ) das nanofibras obtidas a partir da hidrólise das polpas de celulose de bagaço de cana e engaços de dendê selecionadas e o resíduo formado após o término da análise.

A estabilidade térmica das NFC isoladas, de uma forma geral, registrou comportamento semelhante, onde observa-se que as NFC tem início de degradação em temperaturas superiores a biomassa *in natura* (160 e 175 °C), em virtude da composição

destas ser formada majoritariamente por celulose devido a remoção parcial de lignina e hemicelulose pelos métodos de branqueamento avaliados.

De acordo com os valores obtidos, para as NFC de bagaço de cana observa-se uma diminuição não acentuada para as respectivas temperaturas de  $T_{\text{onset}}$  e  $T_{\text{máx}}$ , conforme o aumento do tempo de hidrólise para as nanoestruturas obtidas (Tabela 20). Esse decréscimo pode estar associado a diminuição da cristalinidade das NFCs em virtude do aumento do tempo de hidrólise, o que provoca uma diminuição na estabilidade térmica dos sistemas, visto a degradação da celulose pelas celulasas empregadas no processo. A cristalinidade é reportada como um fator importante para a estabilidade de materiais celulósicos, sendo atribuído a esse parâmetro as características das fibras celulósicas relacionadas a resistência a tração, estabilidade dimensional e reatividade química, dentre outras.<sup>72, 102, 109</sup>

**Tabela 20.** Temperatura inicial ( $T_{\text{onset}}$ ) e de maior estágio de degradação térmica ( $T_{\text{máx}}$ ) das amostras de nanofibras de celulose de bagaço de cana (NFCs 1, 2 e 4) e de engaços de dendê (NFCs 6, 7 e 9) e resíduos registrados por análise termogravimétrica de acordo com o método de branqueamento e o tempo de hidrólise enzimática estipulado (24, 48 e 72 horas).

AMOSTRA	$T_{\text{ONSET}}$ (°C)	$T_{\text{MÁX}}$ (°C)	RESÍDUO (%)
NFC-1-24	204	377	21,92
NFC-1-48	202	375	25,59
NFC-1-72	198	353	5,29
NFC-2-24	223	375	17,64
NFC-2-48	218	372	6,31
NFC-2-72	212	371	7,90
NFC-4-24	208	368	1,49
NFC-4-48	222	367	3,85
NFC-4-72	192	366	3,61
NFC-6-24	201	369	7,22
NFC-6-48	191	368	27,42
NFC-6-72	186	368	27,55
NFC-7-24	182	355	11,80
NFC-7-48	199	365	8,93
NFC-7-72	198	372	7,94
NFC-9-24	212	378	7,12
NFC-9-48	220	378	6,72
NFC-9-72	209	377	17,00

Comparando as NFC 1, 2 e 4 de bagaço de cana, para os valores de  $T_{\text{onset}}$  essa variação pode estar associada a diferença na composição das polpas produzidas, visto que as NFC 1 degradam em uma menor temperatura em relação as NFC 2 e 4, possivelmente devido a maior presença de hemicelulose na celulose 1, visto que este componente é o que apresenta

a menor estabilidade dentre os constituintes de matrizes lignocelulósicas (em torno de 220 °C).<sup>63</sup> Desse modo, para as NFC-2 e NFC-4 nota-se que as temperaturas para  $T_{\text{onset}}$  registradas foram semelhantes, devido aos teores de hemicelulose verificados (10,26 e 8,43%, respectivamente), não apresentarem uma diferença acentuada.

Para as NFC de engaços de dendê observa-se que, de acordo com os valores de  $T_{\text{onset}}$  e  $T_{\text{máx}}$ , para a NFC-6 ocorre o decréscimo das temperaturas citadas, como ocorrido para os sistemas de NFC de bagaço de cana, o que pode ser atribuído neste caso a maior presença de hemicelulose na polpa de celulose 6 de engaços de dendê hidrolisada. Para as NFC-9, apesar do aumento entre as nanofibras obtidas em 24 e 48 horas (NFC-9-24 e NFC-9-48), verifica-se que a menor temperatura para  $T_{\text{onset}}$  e  $T_{\text{máx}}$  ocorrem em 72 horas de reação, o que era esperado devido ao decréscimo da cristalinidade e consequente degradação da estrutura da celulose pelo ataque enzimático.

No entanto, para as NFC-7 observa-se um comportamento contrário ao observado para as demais NFC avaliadas, onde é observado o aumento da  $T_{\text{onset}}$  e  $T_{\text{máx}}$  com o aumento do tempo de hidrólise enzimática. Comparando as NFC 6, 7 e 9 de engaços de dendê verifica-se que as nanofibras 6 e 7 degradam em temperaturas menores quando comparado as NFC 9, o que pode estar associado a maior presença de componentes não celulósicos, principalmente a hemicelulose.<sup>30</sup>

Por fim, para os valores quanto aos resíduos registrados pela análise, observa-se que para as duas biomassas estudadas as nanofibras com maior percentual de resíduo carbonáceo foram as amostras produzidas a partir da hidrólise enzimática da celulose 1 de bagaço de cana e celulose 6 de engaços de dendê, submetidas ao tratamento extensivo com clorito de sódio e hidróxido de potássio.<sup>76</sup> Esses valores acentuados, entre 5,29 e 27,55%, sugerem que essas amostras podem conter resíduos dos produtos químicos empregados no branqueamento ( $\text{NaClO}_2$  e  $\text{KOH}$ ), visto o maior número de extrações, além do fato da autohidrólise possibilitar a remoção de uma grande parcela de material inorgânico oriundo das fibras investigadas, pela deposição no interior do reator.

Observa-se que todas as NFCs isoladas de bagaço de cana e engaços de dendê apresentam curvas termogravimétricas que registram perda de massa acima de 400 °C, sendo que a faixa que corresponde ao intervalo da degradação majoritária da celulose está entre 300 e 400 °C.<sup>76, 101</sup> Tal comportamento verificado pode ser associado a presença de componentes como a hemicelulose e a lignina nos hidrolisados, sabendo que o decréscimo de massa registrado entre 350 °C e 500 °C é atribuído a degradação de lignina residual e a oxidação do material resultante da degradação da celulose gerando produtos de baixa massa molar.<sup>38</sup>

Outros autores também atribuem a presença de lignina residual a perda de massa registradas em temperaturas acima de 500 °C.<sup>104</sup>

#### 5.3.4. Estabilidade dos Sistemas Coloidais de NFC de Bagaço de Cana e Engaços de Dendê

As análises de potencial zeta dos sistemas coloidais de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê em diferentes tempos de reação e polpas de celulose são apresentados na Tabela 21.

**Tabela 21.** Valores de módulo de potencial zeta determinado para as amostras de nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê obtidas por hidrólise enzimática em diferentes tempos de reação (24, 48 e 72 horas).

AMOSTRA	POTENCIAL ZETA (MV)
NFC-1-24	-11,03±1,71
NFC-1-48	-19,73±1,07
NFC-1-72	-22,77±2,09
NFC-2-24	-13,34±1,30
NFC-2-48	-14,40±0,76
NFC-2-72	-14,89±0,98
NFC-4-24	-12,52±0,75
NFC-4-48	-12,70±1,28
NFC-4-72	-15,09±3,31
NFC-6-24	-14,04±2,09
NFC-6-48	-14,24±0,64
NFC-6-72	-17,90±2,26
NFC-7-24	-13,65±1,33
NFC-7-48	-12,98±1,08
NFC-7-72	-12,76±0,33
NFC-9-24	-15,33±1,27
NFC-9-48	-13,33±1,69
NFC-9-72	-11,06±0,88

Para todas as amostras, os valores registrados são negativos, variando entre -11 e -22,7 mV, sugerindo que as cargas negativas estão presentes na superfície da amostra, visto que nanofibras de celulose apresentam caráter polar e medidas de potencial zeta negativo em meio aquoso e em pH neutro, conforme verificado.<sup>32, 33, 110</sup>

De um modo geral, para as NFC de bagaço de cana observa-se que para as nanoestruturas isoladas pela hidrólise enzimática da celulose 1 (NFC-1-24, NFC-1-48 e NFC-1-72) verifica-se que o aumento no tempo de reação acarreta no aumento do módulo de potencial zeta dos sistemas obtidos, de acordo com a Tabela 21, acarretando numa menor

aglomeração das nanoestruturas, o que está de acordo com as micrografias registradas (Figura 36). Para as nanofibras obtidas a partir da celulose 2 e 4 de bagaço de cana constatou-se o mesmo comportamento, com o aumento do módulo de potencial zeta para um maior tempo de hidrólise, entretanto a variação não foi acentuada.

Quanto às nanoestruturas obtidas a partir da celulose de engaços de dendê, para as NFC 6 observou-se o aumento dos valores de módulo de potencial zeta para os sistemas obtidos entre 24 e 72 horas, conforme observado para as nanofibras de celulose de bagaço de cana-de-açúcar. No entanto, para as NFC 7 e 9 ocorreu a diminuição do módulo de potencial zeta de acordo com o aumento do tempo de hidrólise, respectivamente, porém esta variação não foi acentuada. Esse comportamento para as cargas superficiais dos sistemas coloidais sugere que as nanoestruturas obtidas a partir de celulose de dendê apresentam uma maior tendência a aglomeração, o que pode ser observado nas micrografias obtidas (Figuras 39, 40 e 41).

O aumento dos valores da medida de módulo de potencial zeta sugere a obtenção de sistemas mais estáveis, com menor tendência a formação de agregados. Entretanto, os valores encontrados para os sistemas de NFC de bagaço de cana e engaços de dendê apresentaram valores baixos, o que deve ser considerado para uma posterior aplicação destas nanoestruturas, visto a possibilidade de aglomeração nas matrizes investigadas.<sup>33, 76</sup> Apesar das nanofibras de celulose isoladas por métodos enzimáticos apresentarem menor estabilidade em comparação aos resultados relatados por hidrólise ácida, o uso de celulasas não altera a superfície das nanoestruturas isoladas, o que para a hidrólise ácida é atribuído a inserção de grupos sulfatos provenientes do uso do ácido sulfúrico, por exemplo.<sup>38, 76</sup> Desse modo, o uso de celulasas nesse contexto facilita posteriores estratégias de modificação da superfície destas nanoestruturas, o que contribui para a melhor compatibilização entre matriz e reforço.<sup>53</sup>



## 6. CONCLUSÕES

Nanofibras de celulose com espessura inferior a 20 nm e açúcares podem ser obtidas a partir da hidrólise de celulose de bagaço de cana-de-açúcar e do engaço de dendê por rota enzimática. O branqueamento da celulose pode ser realizado por meio do uso de diversos produtos químicos, no entanto, o processo de autohidrólise foi avaliado como uma etapa alternativa como parte do processo de branqueamento, onde foi possível reduzir os gastos com insumos químicos, a geração de resíduos e o tempo de polpação (cerca de 50%).

As frações celulósicas foram isoladas a partir de diversos métodos de branqueamento, onde os resultados registrados avaliando a autohidrólise e o uso reduzido de clorito de sódio evidenciaram a eficiência dos tratamentos com a obtenção de celulose com elevado grau de alvura, teores de celulose entre 73 e 92% e cristalinidade entre 54 e 74%. Os valores de cristalinidade das amostras de celulose de bagaço de cana e engaços de dendê sofreram um decréscimo de acordo com o aumento do tempo de exposição da fibra na etapa de autohidrólise, comparando o processo em uma mesma temperatura. Esse comportamento sugere a amorfização da estrutura da celulose para um tratamento hidrotérmico mais severo, o que contribuiu para a clivagem oxidativa das cadeias da celulose pelo uso posterior do clorito de sódio, em virtude das mudanças efetivas na morfologia das fibras avaliadas.

Desse modo, para a etapa de autohidrólise a melhor condição é a uma temperatura de 200 °C por 10 minutos de reação considerando as duas biomassas estudadas (bagaço de cana e engaços de dendê), onde a cristalinidade determinada das fibras celulósicas correspondeu a valores iguais a 74 e 73%, respectivamente. Quanto a morfologia das microfibras de celulose obtidas, verifica-se que o emprego de temperaturas maiores na etapa de autohidrólise acarretam em fibras mais homogêneas, sugerindo a remoção de componentes não celulósicos, como observado pelas micrografias registradas. A análise termogravimétrica sugere uma maior remoção dos componentes não celulósicos com o aumento do tempo de reação na etapa de autohidrólise para as temperaturas de 180 e 200 °C.

Foi possível obter nanoestruturas com espessura inferior a 20 nm por rota enzimática em 24 horas de reação. O prolongamento do tempo de hidrólise (24 a 72 horas) resultou em fibras mais finas e com menor cristalinidade, como consequência do ataque enzimático à estrutura da celulose. Quanto à estabilidade térmica, as nanoestruturas obtidas apresentaram comportamento térmico semelhante, com início de perda de massa por degradação entre 186 e 220 °C, o que consiste em uma informação crucial quanto ao delineamento das aplicações

para estes biomateriais como reforço em matrizes diversas visando a elaboração de nanocompósitos.

Desse modo, levando em consideração os gastos (insumos químicos, tratamento de resíduos e a manutenção do processo) e as propriedades das NFCs extraídas (espessura e a cristalinidade, principalmente), avalia-se que a melhor condição consiste no branqueamento das fibras de bagaço de cana e engaços de dendê empregando a autohidrólise a 200 °C por 10 minutos combinado ao uso restrito do clorito de sódio e a hidrólise enzimática da polpa de celulose por 48 horas, correspondente as NFC-4-48 e NFC-9-48, respectivamente, sabendo que os valores quanto à estabilidade térmica e coloidal das NFC isoladas não apresentaram uma variação significativa.

A hidrólise enzimática, utilizando o complexo de enzimas comerciais de *Trichoderma reesei* consiste em uma rota alternativa para a extração de nanoestruturas de celulose frente ao uso tradicional de catalisadores ácidos, como o ácido sulfúrico e o ácido clorídrico. O uso de celulasas apresenta vantagens relacionadas as condições mais brandas de reação (temperatura, pH, menor periculosidade e eliminação de problemas com corrosão de equipamentos), além da especificidade dos biocatalisadores. Desse modo, estudos vem sendo liderados de forma a avaliar novos coquetéis enzimáticos com ênfase na avaliação do tempo de reação quanto ao rendimento de nanofibras e a produção de açúcares, assim como o escalonamento deste processo, visando tornar essa tecnologia viável em escala industrial.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- [1] JÚNIOR, S. V. E. **Biomassa Para Química Verde**. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2013. 181p.
- [2] ROSILLO-CALLE, F. B., S. V.; ROTHMAN, H. (ORGS.). **Uso De Biomassa Para Produção De Energia Na Indústria Brasileira**. Campinas-SP: Editora Unicamp, 2005. 448 p.
- [3] CORTEZ, L. A. B. **Bioetanol De Cana-De-Açúcar: P & D Para Produtividade E Sustentabilidade**. São Paulo: Blucher, 2010. 954p.
- [4] UNICA. União Da Indústria Da Cana-De-Açúcar. Disponível em: < <http://www.unica.com.br> >, Acesso em: setembro de 2016.
- [5] CASTRO, A. M. G. D. & LIMA, S. M. V., SILVA, J. F. V. **Complexo Agroindustrial De Biodiesel No Brasil: Competitividade Das Cadeias Produtivas De Matérias-Primas**. Brasília-DF: Embrapa Agroenergia, 2010. 712p.
- [6] DUFRESNE, A. & BELGACEM, M. N. Cellulose-Reinforced Composites: From Micro to Nanoscale. **Polímeros**, v. 23, n. 3, p. 277-286, 2013.
- [7] GÓMEZ, E. O.; ROCHA, J. D.; PÉREZ, J. M. M. & PÉREZ, L. E. B. Pirólise Rápida De Materiais Lignocelulósicos Para a Obtenção De Bioóleo. In: CORTEZ, L. A. B.; LORA, E. E. S. & GÓMEZ, E. O. O. (Ed.). **Biomassa Para Energia**. Campinas-SP: Unicamp, 2008. cap. 11, p.353-418.
- [8] AKHTAR, N.; GUPTA, K.; GOYAL, D. & GOYAL, A. Recent Advances in Pretreatment Technologies for Efficient Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 35, n. 2, p. 489-511, 2015.
- [9] ALVIRA, P.; TOMÁS-PEJÓ, E.; BALLESTEROS, M. & NEGRO, M. J. Pretreatment Technologies for an Efficient Bioethanol Production Process Based on Enzymatic Hydrolysis: A Review. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 4851-4861, 2010.
- [10] ANWAR, Z.; GULFRAZ, M. & IRSHAD, M. Agro-Industrial Lignocellulosic Biomass a Key to Unlock the Future Bio-Energy: A Brief Review. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v. 7, p. 163-173, 2014.
- [11] HALL, D. O., HOUSE, J. I., SCRASE, J. Visão Geral De Energia E Biomassa. In: ROSILLO-CALLE, F. B., S. V.; ROTHMAN, H. (ORGS.) (Ed.). **Uso Da Biomassa Para**

**Produção De Energia Na Indústria Brasileira.** Campinas-SP: Editora Unicamp, 2005. cap. 1, p.25-67.

[12] DINARDO-MIRANDA, L. L. V., A. C. M.; LANDELL, M. G. A. (EDS). **Cana-De-Açúcar.** Campinas: Instituto Agrônômico, 2008. 882p.

[13] CIB. Guia Da Cana-De-Açúcar: Avanço Científico Beneficia O País. Conselho de Informações sobre Biotecnologia, p. 20p, São Paulo, **2009**.

[14] CONAB. Acompanhamento Da Safra Brasileira - Cana-De-Açúcar. Companhia Nacional de Abastecimento, ISSN: 2318-7921, p. 33, Brasília-DF, **2015**.

[15] CIB. Conselho De Informações Sobre Biotecnologia. Disponível em: <<https://www.cib.org.br>>, Acesso em: novembro de 2015.

[16] BRAUNBECK, O. A. & CORTEZ, L. A. B. O Cultivo Da Cana-De-Açúcar E O Uso Dos Resíduos. In: ROSILLO-CALLE, F.; BAJAY, S. V. & ROTHMAN, H. (Ed.). **Uso Da Biomassa Para Produção De Energia Na Indústria Brasileira.** Campinas-SP: Editora Unicamp, 2005. cap. 5, p.215-246.

[17] CONAB. Acompanhamento Da Safra Brasileira - Cana-De-Açúcar. Companhia Nacional de Abastecimento, ISSN: 2318-7921, p. 78, Brasília-DF, **2016**.

[18] MONTEIRO, S. N.; LOPES, F. P. D.; BARBOSA, A. P.; BEVITORI, A. B.; DA SILVA, I. L. A. & COSTA, L. L. Natural Lignocellulosic Fibers as Engineering Material - an Overview. **Metallurgical and Materials Transactions A**, v. 42A, p. 2963-2974, 2011.

[19] USDA. Oilseeds: World Markets and Trade. United States Department of Agriculture, **2017**.

[20] ABRAPALMA. Associação Brasileira De Produtores De Óleo De Palma. Disponível em: <<http://www.abrapalma.org.br>>, Acesso em: outubro de 2016.

[21] MÜLLER, A. A. **A Cultura Do Dendê.** Belém-PA: Embrapa - Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido, 1980.

[22] SUFRAMA. Projeto Potencialidades Regionais: Estudo De Viabilidade Econômica - Dendê. Superintendência da Zona Franca de Manaus, p. 39, Manaus-AM, **2003**.

[23] MIRANDA, R. D. M. & MOURA, R. D. Óleo De Dendê, Alternativa Ao Óleo Diesel Como Combustível Para Geradores De Energia Em Comunidades Da Amazônia. **ENCONTRO DE ENERGIA NO MEIO RURAL**, v. 3, p. 1-9, 2003.

- [24] LIMA, S. M. V. & CASTRO, A. M. G. O Agronegócio Do Biodiesel E Suas Matérias-Primas. In: CASTRO, A. M. G. D.; LIMA, S. M. V. & SILVA, J. F. V. (Ed.). **Complexo Agroindustrial De Biodiesel No Brasil: Competitividade Das Cadeias Produtivas De Matérias-Primas**. Brasília-DF: Embrapa Agroenergia, 2010. cap. 2, p.45-110.
- [25] FURLAN JÚNIOR, J. **Dendê: Manejo E Uso Dos Subprodutos E Dos Resíduos**. Belém-PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2006.
- [26] ROSA, M. F.; SOUZA FILHO, M. S. M.; FIGUEIREDO, M. C. B.; MORAIS, J. P. S.; SANTAELLA, S. T. & LEITÃO, R. C. Valorização De Resíduos Da Agroindústria. **II Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais – II SIGERA**, p. 98-105, 2011.
- [27] KUMAR, P.; BARRETT, D. M.; DELWICHE, M. J. & STROEVE, P. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 18, p. 3713-3729, 2009.
- [28] GAO, Y.; XU, J.; ZHANG, Y.; YU, Q.; YUAN, Z. & LIU, Y. Effects of Different Pretreatment Methods on Chemical Composition of Sugarcane Bagasse and Enzymatic Hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 144, p. 396-400, 2013.
- [29] FAHMA, F.; IWAMOTO, S.; HORI, N.; IWATA, T. & TAKEMURA, A. Isolation, Preparation, and Characterization of Nanofibers from Oil Palm Empty-Fruit-Bunch (Opefb). **Cellulose**, v. 17, p. 977-985, 2010.
- [30] CHEN, W.; YU, H.; LIU, Y.; HAI, Y.; ZHANG, M. & CHEN, P. Isolation and Characterization of Cellulose Nanofibers from Four Plant Cellulose Fibers Using a Chemical-Ultrasonic Process. **Cellulose**, v. 18, p. 433-442, 2011.
- [31] ROSA, M. F.; MEDEIROS, E. S.; MALMONGE, J. A.; GREGORSKI, K. S.; WOOD, D. F.; MATTOSO, L. H. C.; GLENN, G.; ORTS, W. J. & IMAM, S. H. Cellulose Nanowhiskers from Coconut Husk Fibers: Effect of Preparation Conditions on Their Thermal and Morphological Behavior. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, p. 83-92, 2010.
- [32] TIBOLLA, H.; PELISSARI, F. M. & MENEGALLI, F. C. Cellulose Nanofibers Produced from Banana Peel by Chemical and Enzymatic Treatment. **Food Science and Technology**, v. 59, p. 1311-1318, 2014.
- [33] TIBOLLA, H. **Produção De Nanofibras De Celulose Por Hidrólise Enzimática**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, p. 142, 2014.

- [34] BONONI, A. Workshop Hidrólise De Material Lignocelulósico. In: CORTEZ, L. A. B. C. (Ed.). **Bioetanol De Cana-De-Açúcar: P&D Para Produtividade E Sustentabilidade**. São Paulo: Blucher, 2010. cap. 11, p.679-695.
- [35] LYND, L. R.; WEIMER, P. J.; ZYL, W. H. V. & PRETORIUS, I. S. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 66, n. 3, p. 506-577, 2002.
- [36] ZHAO, X., ZHANG, L., LIU, D. Biomass Recalcitrance. Part I: The Chemical Compositions and Physical Structures Affecting the Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulose. **Biofuels Bioproducts and Biorefining**, v. 6, n. 4, p. 465–482, 2012.
- [37] ZHU, J. Y.; SABO, R. & LUO, X. Integrated Production of Nano-Fibrillated Cellulose and Cellulosic Biofuel (Ethanol) by Enzymatic Fractionation of Wood Fibers. **Green Chemistry**, v. 13, p. 1339-1344, 2011.
- [38] CORRÊA, A. C. **Preparação De Nanofibras De Celulose a Partir De Fibras De Curauá Para Desenvolvimento De Nanocompósitos Poliméricos Com Eva**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, p. 130, **2010**.
- [39] SILVA, D. J. & D'ALMEIDA, M. L. O. Nanocristais De Celulose. **O Papel**, v. 70, n. 07, p. 34-52, 2009.
- [40] ROTHMAN, H. & FURTADO, A. A Possível Contribuição Da Avaliação Tecnológica Para Os Programas De Bioenergia. In: ROSILLO-CALLE, F. B., S. V.; ROTHMAN, H. (ORGS.). (Ed.). **Uso Da Biomassa Para Produção De Energia Na Indústria Brasileira**. Campinas-SP: Editora Unicamp, 2005. cap. 3, p.121-162.
- [41] FILHO, A. A. V.; FRONZAGLIA, T. & TORQUATO, S. A. A Necessidade De Inovação Tecnológica Agrícola Para Sustentar O Novo Ciclo Expansionista Do Setor Sucroalcooleiro. In: DINARDO-MIRANDA, L. L. V., A. C. M.; LANDELL, M. G. A. (EDS). (Ed.). **Cana-De-Açúcar**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2008. cap. 40, p.855-868.
- [42] FIGUEIREDO, P. Breve História Da Cana-De-Açúcar E Do Papel Do Instituto Agrônômico No Seu Estabelecimento No Brasil. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; DE VASCONCELOS, A. C. M. & LANDELL, M. G. A. (Ed.). **Cana-De-Açúcar**. Campinas: Instituto Agrônômico 2008. cap. 1, p.31-44.
- [43] MME - Ministério De Minas E Energia. Brasil. Plano Nacional De Energia 2030 - Colaboração Empresa De Pesquisa Energética. MME:EPE, Brasília, **2007**.

- [44] SANTANA, C. A. M. & DURÃES, F. O. M. Oferta E Distribuição De Biomassa No Brasil. In: JÚNIOR, S. V. (Ed.). **Biomassa Para Química Verde**. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2013. cap. 2, p.17-46.
- [45] Nova Cana. Disponível em: <<http://www.novacana.com>>, 2015. Acesso em: setembro de 2016.
- [46] PHILIPPINI, R. R. **Varietades Híbridas De Bagaço De Cana-De-Açúcar: Caracterização Química E Hidrólise Enzimática Em Condições De Pré-Tratamento Diferenciadas**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Lorena-SP, p. 84, 2012.
- [47] MACEDO, I. C., CORTEZ, L. A. B. O Processamento Industrial Da Cana-De-Açúcar No Brasil. In: ROSILLO-CALLE, F. B., S. V.; ROTHMAN, H. (ORGS.). (Ed.). **Uso Da Biomassa Para Produção De Energia Na Indústria Brasileira**. Campinas-SP: Editora Unicamp, 2005. cap. 6, p.247-268.
- [48] CASTRO, A. M. G. D. & LIMA, S. M. V. O Complexo Agroindustrial (Cai) Do Biodiesel No Brasil. In: CASTRO, A. M. G. D.; LIMA, S. M. V. & SILVA, J. F. V. (Ed.). **Complexo Agroindustrial De Biodiesel No Brasil: Competitividade Das Cadeias Produtivas De Matérias-Primas**. Brasília-DF: Embrapa Agroenergia, 2010. cap. 3,
- [49] USDA. United States Department of Agriculture. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline/pshome.aspx>>, 2016. Acesso em: setembro de 2016.
- [50] SULAIMAN, F. & ABDULLAH, N. Optimum Conditions for Maximising Pyrolysis Liquids of Oil Palm Empty Fruit Bunches. **Energy**, v. 36, p. 2352-2359, 2011.
- [51] JÚNIOR, S. V. Potencialidades Da Biomassa Para a Química Verde. In: JÚNIOR, S. V. (Ed.). **Biomassa Para Química Verde**. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2013. cap. 7, p.169-181.
- [52] FENGEL, D. & WEGENER, G. **Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions**. Munich: Verlag Kessel, 2003. 613p.
- [53] ZHANG, Y.; LU, X.; GAO, C.; LV, W. & YAO, J. Preparation and Characterization of Nano Crystalline Cellulose from Bamboo Fibers by Controlled Cellulase Hydrolysis. **Journal of Fiber Bioengineering & Informatics**, v. 5, n. 3, p. 263-271, 2012.
- [54] SILVA, R.; HARAGUCHI, S. K.; MUNIZ, E. C. & RUBIRA, A. F. Aplicações De Fibras Lignocelulósicas Na Química De Polímeros E Em Compósitos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 661-671, 2009.

- [55] SEIDL, P. R. Biomassa E Química Verde. In: JÚNIOR, S. V. (Ed.). **Biomassa Para Química Verde**. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2013. cap. 1, p. 5-14.
- [56] IOELOVICH, M. Cellulose as a Nanostructured Polymer: A Short Review. **BioResources**, v. 3, n. 4, p. 1403-1418, 2008.
- [57] KRISHNAMACHARI, P.; HASHAIKEH, R. & TINER, M. Modified Cellulose Morphologies and Its Composites; Sem and Tem Analysis. **Micron**, v. 42, p. 751-761, 2011.
- [58] SANTOS, F. A.; DE QUEIRÓZ, J. H.; COLODETTE, J. L.; FERNANDES, S. A.; GUIMARÃES, V. M. & REZENDE, S. T. Potencial Da Palha De Cana-De-Açúcar Para Produção De Etanol. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 1004-1010, 2012.
- [59] FARINAS, C. S. **A Parede Celular Vegetal E as Enzimas Envolvidas Na Sua Degradação**. São Carlos-SP: Embrapa Instrumentação, 2011.
- [60] WYMAN, C. E.; DECKER, S. R.; BRADY, J. W.; VIKARI, L. & HIMMEL, M. E. Hydrolysis of Cellulose and Hemicellulose. p. 168, 2005.
- [61] SALIBA, E. O. S.; RODRIGUEZ, N. M.; MORAIS, S. A. L. & PILÓ-VELOSO, D. Ligninas – Métodos De Obtenção E Caracterização Química. **Ciência Rural**, v. 31, n. 5, p. 917-928, 2001.
- [62] BARBOSA, L. C. A.; MALTHA, C. R. A.; SILVA, V. L. & COLODETTE, J. L. Determinação Da Relação Siringila/Guaiacila Da Lignina Em Madeiras De Eucalipto Por Pirólise Acoplada À Cromatografia Gasosa E Espectrometria De Massas (PI-CG/EM). **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 2035-2041, 2008.
- [63] MARINELLI, A. L.; MONTEIRO, M. R.; AMBRÓSIO, J. D.; BRANCIFORTI, M. C.; KOBAYASHI, M. & NOBRE, A. D. Desenvolvimento De Compósitos Poliméricos Com Fibras Vegetais Naturais Da Biodiversidade: Uma Contribuição Para a Sustentabilidade Amazônica. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 18, n. 2, p. 92-99, 2008.
- [64] BLEDZKI, A. K. & GASSAN, J. Composites Reinforced with Cellulose Based Fibres. **Progress in Polymer Science**, v. 24, p. 221-274, 1999.
- [65] FINGUERUT, J.; MEIRELLES, A. J. A.; GUIRARDELLO, R. & COSTA, A. C. Fermentação, Hidrólise E Destilação. In: CORTEZ, L. A. B.; LORA, E. E. S. & GÓMEZ, E. O. O. (Ed.). **Biomassa Para Energia**. Campinas-SP: Editora Unicamp, 2008. cap. 13, p.435-474.



- [66] MOOD, S. H.; GOLFESHAN, A. H.; TABATABAEI, M.; JOUZANI, G. S.; NAJAFI, G. H.; GHOLAMI, M. & ARDJMAND, M. Lignocellulosic Biomass to Bioethanol, a Comprehensive Review with a Focus on Pretreatment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 77-93, 2013.
- [67] LIU, C. & WYMAN, C. E. Partial Flow of Compressed-Hot Water through Corn Stover to Enhance Hemicellulose Sugar Recovery and Enzymatic Digestibility of Cellulose. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 1978-1985, 2005.
- [68] MOSIER, N.; HENDRICKSON, R.; HO, N.; SEDLAK, M. & LADISCH, M. R. Optimization of Ph Controlled Liquid Hot Water Pretreatment of Corn Stover. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 1986-1993, 2005.
- [69] PÉREZ, J. A.; BALLESTEROS, I.; BALLESTEROS, M.; SÁEZ, F.; NEGRO, M. J. & MANZANARES, P. Optimizing Liquid Hot Water Pretreatment Conditions to Enhance Sugar Recovery from Wheat Straw for Fuel-Ethanol Production. **Fuel**, v. 87, p. 3640-3647, 2008.
- [70] LIU, C. & WYMAN, C. E. The Effect of Flow Rate of Compressed Hot Water on Xylan, Lignin, and Total Mass Removal from Corn Stover. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 42, n. 21, p. 5409-5416, 2003.
- [71] ZHUANG, X.; WANG, W.; YU, Q.; QI, W.; WANG, Q.; TAN, X.; ZHOU, G. & YUAN, Z. Liquid Hot Water Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Bioethanol Production Accompanying with High Valuable Products. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 68-75, 2016.
- [72] CALAHORRA, M. E.; CORTÁZAR, M.; EGUIAZÁBAL, J. I. & GUZMÁN, G. M. Thermogravimetric Analysis of Cellulose: Effect of the Molecular Weight on Thermal Decomposition. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 37, p. 3305-3314, 1989.
- [73] BONDANCIA, T. J.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C. & FARINAS, C. S. Obtenção De Nanocelulose Integrada a Produção De Etanol 2g. **XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química (COBEQ)**, 2016.
- [74] PÄÄKKÖ, M.; ANKERFORS, M.; KOSONEN, H.; NYKÄNEN, A.; AHOLA, S.; ÖSTERBERG, M.; RUOKOLAINEN, J.; LAINE, J.; LARSSON, P. T.; IKKALA, O. & LINDSTRÖM, T. Enzymatic Hydrolysis Combined with Mechanical Shearing and High-Pressure Homogenization for Nanoscale Cellulose Fibrils and Strong Gels. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 6, p. 1934-1941, 2007.

- [75] European Commission. Definition of a Nanomaterial. Disponível em: <[http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/faq/definition\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/faq/definition_en.htm)> Acesso em: março de 2017.
- [76] TEIXEIRA, E. M.; OLIVEIRA, C. R.; MATTOSO, L. H. C.; CORRÊA, A. C. & PALADIN, P. D. Nanofibras De Algodão Obtidas Sob Diferentes Condições De Hidrólise Ácida. **Polímeros**, v. 20, n. 4, p. 264-268, 2010.
- [77] SIQUEIRA, G.; VÁRNAI, A.; FERRAZ, A. & MILAGRES, A. M. F. Enhancement of Cellulose Hydrolysis in Sugarcane Bagasse by the Selective Removal of Lignin with Sodium Chlorite. **Applied Energy**, v. 102, p. 399-402, 2013.
- [78] REYES, J.; PERALTA-ZAMORA, P. & DURÁN, N. Hidrólise Enzimática De Casca De Arroz Utilizando-Se Celulases. Efeito De Tratamentos Químicos E Fotoquímicos. **Química Nova**, v. 21, p. 140-143, 1998.
- [79] OGEDA, T. L. P., D. F. S. Hidrólise Enzimática De Biomassa. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1549-1558, 2010.
- [80] AN, Y.; ZONG, M.; HU, S. & LI, N. Effect of Residual Lignins Present in Cholinium Ionic Liquid-Pretreated Rice Straw on the Enzymatic Hydrolysis of Cellulose. **Chemical Engineering Science**, v. 161, p. 48-56, 2017.
- [81] SIMÕES, F. R. & TAKEDA, H. H. Conceitos E Princípios Básicos. In: RÓZ, A. L.; LEITE, F. L.; FERREIRA, M. & OLIVEIRA JÚNIOR, O. N. (Ed.). **Nanoestruturas: Princípios E Aplicações. Coleção Nanociência E Nanotecnologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, v.1, 2015. cap. 1, p.1-38.
- [82] LACERDA, T. M. **Hidrólise De Polpa De Sisal Como Via De Produção De Etanol E Materiais**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Carlos-SP, p. 252, 2012.
- [83] CAO, X.; CHEN, Y.; CHANG, P. R.; STUMBORG, M. & HUNEALD, M. A. Green Composites Reinforced with Hemp Nanocrystals in Plasticized Starch. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 109, p. 3804-3810, 2008.
- [84] WANG, W.; ZHUANG, X.; YUAN, Z.; YU, Q.; QI, W.; WANG, Q. & TAN, X. High Consistency Enzymatic Saccharification of Sweet Sorghum Bagasse Pretreated with Liquid Hot Water. **Bioresource Technology**, v. 108, p. 252-257, 2012.

- [85] VALLEJOS, M. E.; FELISSIA, F. E.; KRUYENISKI, J. & AREA, M. C. Kinetic Study of the Extraction of Hemicellulosic Carbohydrates from Sugarcane Bagasse by Hot Water Treatment. **Industrial Crops and Products**, v. 67, p. 1-6, 2015.
- [86] YU, Q.; ZHUANG, X.; YUAN, Z.; QI, W.; WANG, W.; WANG, Q. & TAN, X. Pretreatment of Sugarcane Bagasse with Liquid Hot Water and Aqueous Ammonia. **Bioresource Technology**, v. 144, p. 210-215, 2013.
- [87] HONGDAN, Z.; SHAOHUA, X. & SHUBIN, W. Enhancement of Enzymatic Saccharification of Sugarcane Bagasse by Liquid Hot Water Pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 143, p. 391-396, 2013.
- [88] ZHU, M.; WEN, J.; SU, Y.; WEI, Q. & SUN, R. Effect of Structural Changes of Lignin During the Autohydrolysis and Organosolv Pretreatment on *Eucommia Ulmoides* Oliver for an Effective Enzymatic Hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 185, p. 378-385, 2015.
- [89] YANG, B. & WYMAN, C. E. Characterization of the Degree of Polymerization of Xylooligomers Produced by Flowthrough Hydrolysis of Pure Xylan and Corn Stover with Water. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5756-5762, 2007.
- [90] XIAO, Z. S., R.; TSANG, A. . Microplate-Based Filter Paper Assay to Measure Total Cellulase Activity. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 88, n. 7, p. 832-837, 2004.
- [91] SLUITER, A.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J. & TEMPLETON, D. Determination of Extractives in Biomass Nrel/Tp-510-42619. Laboratory Analytical Procedure (LAP). National Renewable Energy Laboratory (NREL), Golden, CO, **2008**.
- [92] SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, R.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. & CROCKER, D. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass Nrel/Tp-510-42618. Laboratory Analytical Procedure (LAP). National Renewable Energy Laboratory (NREL), Golden, CO, **2012**.
- [93] SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J. & TEMPLETON, D. Determination of Ash in Biomass Nrel/Tp-510-42622. Laboratory Analytical Procedure (LAP). National Renewable Energy Laboratory (NREL), Golden, CO, **2008**.
- [94] 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, p. 786-794, 1959.

- [95] MILÉO, P. C. **Aplicações Da Celulose De Palha De Cana-De-Açúcar: Obtenção De Derivados Partindo De Celulose Branqueada E De Biocompósitos Com Poliuretana Obtida a Partir De Óleo De Mamona (*Ricinus Communis L.*)**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Lorena, p. 114, **2011**.
- [96] MORRIS, M. C.; MCMURDIE, H. F.; EVANS, E. H.; PARETZKIN, B.; PARKER, H. S. & PANAGIOTOPOULOS, N. C. Standard X-Ray Diffraction Powder Patterns Section 18 - Data for 58 Substances. U.S. Department of commerce/National Bureau of Standards, 25, p. 114, Washington, **1981**.
- [97] OLIVEIRA, D. L. A. **Caracterização Da Cinza De Bagaço De Cana-De-Açúcar E Aplicação No Solo**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, p. 171, **2015**.
- [98] MIRANDA, C. S.; FIUZA, R. P.; CARVALHO, R. F. & JOSÉ, N. M. Efeito Dos Tratamentos Superficiais Nas Propriedades Do Bagaço Da Fibra De Piaçava *Attalea Funifera Martius*. **Química Nova**, v. 38, n. 2, p. 161-165, 2015.
- [99] KO, J. K.; KIM, Y.; XIMENES, E. & LADISCH, M. R. Effect of Liquid Hot Water Pretreatment Severity on Properties of Hardwood Lignin and Enzymatic Hydrolysis of Cellulose. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 112, n. 2, p. 252-262, 2015.
- [100] MEIGHAN, B. N. **Fracionamento De Bagaço De Cana-De-Açúcar Por Processo Hidrotérmico E Organossolve No Contexto Da Biorrefinaria Lignocelulósica**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto-MG, p. 138, **2016**.
- [101] OUAJAI, S. & SHANKS, R. A. Composition, Structure and Thermal Degradation of Hemp Cellulose after Chemical Treatments. **Polymer Degradation and Stability**, v. 89, p. 327-335, 2005.
- [102] TERINTE, N.; IBBETT, R. & SCHUSTER, K. C. Overview on Native Cellulose and Microcrystalline Cellulose I Structure Studied by X-Ray Diffraction (Waxd): Comparison between Measurement Techniques. **Lenzinger Berichte**, v. 89, p. 118-131, 2011.
- [103] GARROTE, G.; DOMÍNGUEZ, H. & PARAJÓ, J. C. Hydrothermal Processing of Lignocellulosic Materials. **Journal Holz als Roh- und Werkstoff**, v. 57, p. 191-202, 1999.
- [104] YANG, H.; YAN, R.; CHEN, H.; LEE, D. H. & ZHENG, C. Characteristics of Hemicellulose, Cellulose and Lignin Pyrolysis. **Fuel**, v. 86, p. 1781-1788, 2007.

- [105] HUBBELL, C. A. & RAGAUSKAS, A. J. Effect of Acid-Chlorite Delignification on Cellulose Degree of Polymerization. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 7410-7415, 2010.
- [106] ZHAO, H.; KWAK, J. H.; ZHANG, Z. C.; BROWN, H. M.; AREY, B. W. & HOLLADAY, J. E. Studying Cellulose Fiber Structure by Sem, Xrd, Nmr and Acid Hydrolysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, p. 235-241, 2007.
- [107] YUE, Y.; HAN, J.; HAN, G.; AITA, G. M. & WU, Q. Cellulose Fibers Isolated from Energycane Bagasse Using Alkaline Andsodium Chlorite Treatments: Structural, Chemical and Thermalproperties. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 355-363, 2015.
- [108] YUE, Y.; HAN, J.; HAN, G.; ZHANG, Q.; FRENCH, A. D. & WU, Q. Characterization of Cellulose I/II Hybrid Fibers Isolated from Energycane Bagasse During the Delignification Process: Morphology, Crystallinity and Percentage Estimation. **Carbohydrate Polymers**, v. 133, p. 438-447, 2015.
- [109] CIOLACU, D.; CIOLACU, F. & POPA, V. I. Amorphous Cellulose – Structure and Characterization. **Cellulose Chemistry Technology**, v. 45, p. 13-21, 2011.
- [110] CHIROMITO, E. M. S. **Preparação De Placas Rígidas De Polpa Celulósica E De Nanofibras De Celulose Com Polímeros Acrílicos**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Carlos-SP, p. 97, 2016.

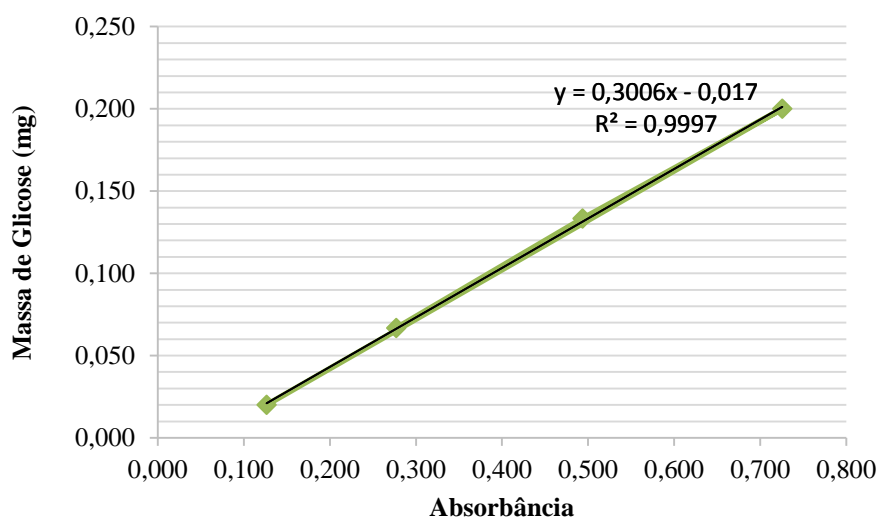
**ANEXO I - Determinação de atividade FPase de coquetel enzimático de celulases de *Trichoderma reesei***

**Tabela 22.** Determinação de atividade FPase de coquetel enzimático de celulases de *Trichoderma reesei*.

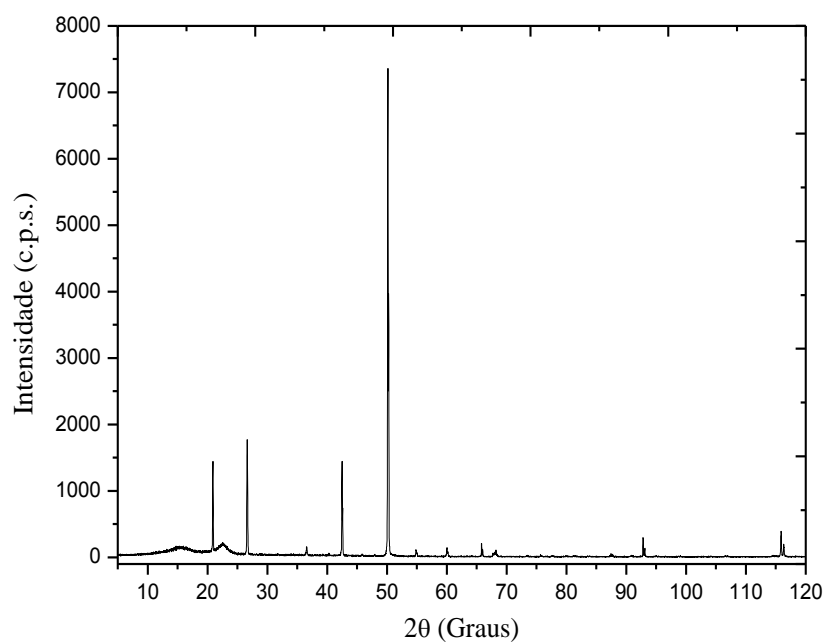
<b>Curva Padrão 10 mg/mL</b>				
<b>Absorbância</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>A1</b>	0,2806	0,5023	0,711	0,1253
<b>A2</b>	0,2755	0,493	0,7434	0,1277
<b>A3</b>	0,2751	0,4857	0,7232	0,1259
<b>Média de absorbância</b>	0,277	0,494	0,726	0,126
<b>Concentração em mg/ml</b>	3,333	6,667	10	1
<b>Massa de glicose (mg)</b>	0,067	0,133	0,200	0,020
<b>Desvio padrão (Dp)</b>	0,306649	0,832006	1,636378	0,1249
<b>Tratamentos dos Brancos</b>				
<b>Branco dos substratos</b>				
<b>Absorbância</b>	0,0062	0,0062	0,007	
<b>Glicose gerada (mg) no sub.</b>	-0,02	-0,02	-0,01	
<b>Média da Massa de glicose (mg)</b>	-0,02			
<b>Branco das Enzimas</b>				
<b>Diluições</b>	<b>10Xtr</b>	<b>100xTR</b>	<b>10XC3</b>	<b>300XC3</b>
<b>Absorbância</b>	0,111	0,0015	0,6114	0,0085
	0,1112	0,0002	0,6101	0,0085
	0,107	0,0014	0,6093	0,006
<b>Média de Absorbância</b>	0,109733	0,001033	0,610267	0,0076667
<b>Massa de Glicose (mg)</b>	0,02	0,00	0,17	0,00
<b>Total de Glicose nos brancos</b>				
<b>Diluição</b>	<b>10xTR</b>	<b>100xTR</b>	<b>10xC3</b>	<b>300xC3</b>
<b>Massa de Glicose</b>	0,001	-0,015	0,152	-0,015
<b>Atividade enzimática</b>				
<b>Massa de Glicose (mg)</b>	<b>10</b>	<b>100</b>	<b>10</b>	<b>300</b>
<b>A1</b>	0,9134	0,3231	2,0722	0,3262
<b>A2</b>	0,9621	0,3033	2,2333	0,352
<b>A3</b>	0,9618	0,3069	2,0479	0,3535
<b>Média da absorbância</b>	0,96180	0,30690	2,07220	0,35200
<b>Glicose Gerada (mg)</b>	0,27212	0,07525	0,60590	0,08881
<b>Glicose realmente gerada (mg)</b>	0,27103	0,09015	0,45435	0,10371
<b>µmol</b>	1,50571	0,50083	2,52418	0,57615
<b>(µmol/min.mL)</b>	1,25475	0,41736	2,10349	0,48013
<b>(µmol/min.mL) final</b>	12,54755	<b>41,73608</b>	21,03486	144,04
<b>Desvio padrão</b>	<b>10x TR</b>	<b>100xTR</b>	<b>10xC3</b>	<b>100xC3</b>
	0,022887	0,008612	0,082271	0,0125308
<b>Erro relativo</b>	<b>10x TR</b>	<b>100xTR</b>	<b>10xC3</b>	<b>100xC3</b>
	2,379603	2,806002	3,970231	3,5598756

Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5	Ponto 6				
0,1771	0,2806	0,4106	0,5023	0,711	0,1253				
0,1762	0,2755	0,4162	0,493	0,7434	0,1277				
0,1754	0,2751	0,4196	0,4857	0,7232	0,1259				
Branco do substrato	10 x TR	B. 10x TR	100x TR	B. 100 TR	10x C3	B. 10x C3	100x C3	B. 300x C3	Branco do tampão
<b>0,0062</b>	0,9134	0,111	0,3069	0,0015	2,0722	0,6114	0,3262	0,0085	<b>0,0005</b>
<b>0,0062</b>	0,9621	0,1112	0,3231	0,0002	2,2333	0,6101	0,352	0,0085	<b>0,0006</b>
<b>0,007</b>	0,9618	0,107	0,3033	0,0014	2,0479	0,6093	0,3535	0,006	<b>-0,0007</b>

**Gráfico 1.** Absorbância em função da massa de glicose (mg)



**ANEXO II - Difratoograma de raios X de resíduo coletado após a reação de autohidrólise das fibras lignocelulósicas**



**Figura 46:** Difratoograma de raios X de resíduo coletado após a reação de autohidrólise das fibras lignocelulósicas.



### ANEXO III - Espectroscopia de Fluorescência de Raios X

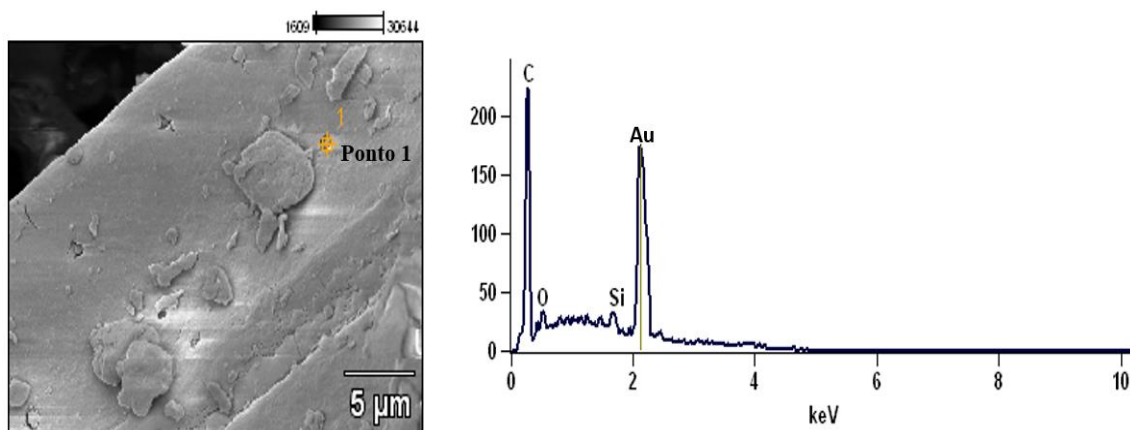
**Tabela 23.** Elementos químicos identificados na fibra de bagaço de cana-de-açúcar por EDX.

<b>Elemento químico identificado</b>	<b>Porcentagem (%)</b>
Potássio (K)	49,66
Silício (Si)	40,68
Ferro (Fe)	4,72
Ti (Titânio)	1,83
Alumínio (Al)	1,43
Rutênio (Ru)	1,13
Enxofre (S)	0,39
Mn (Manganês)	0,12
V (Vanádio)	0,04

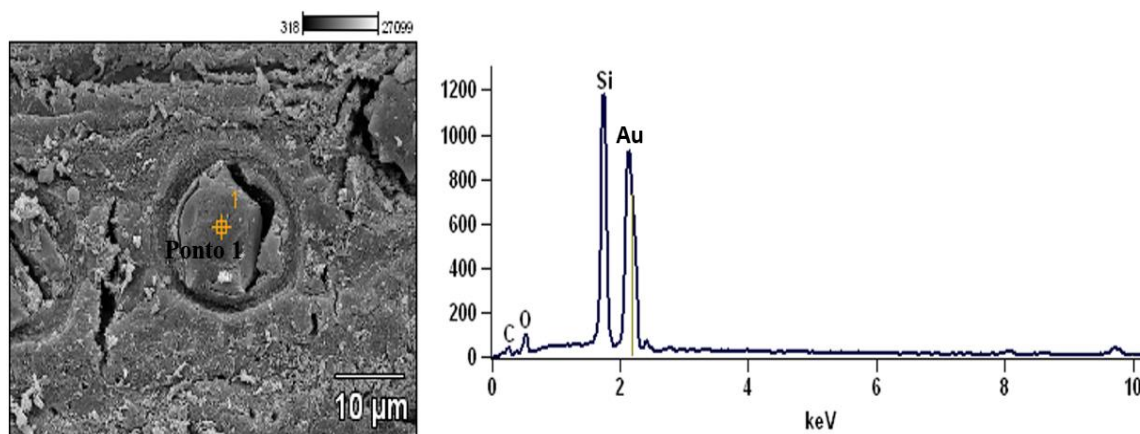
**Tabela 24.** Elementos químicos identificados na fibra de bagaço engaços de dendê por EDX.

<b>Elemento químico identificado</b>	<b>Porcentagem (%)</b>
Potássio (K)	46,51
Silício (Si)	43,83
Rutênio (Ru)	3,73
Ferro (Fe)	3,37
Alumínio (Al)	1,95
Enxofre (S)	0,61

## ANEXO IV – EDS



**Figura 47:** Imagem de elétrons secundários, obtida por MEV (voltagem de 5 kV com magnificação de 4000 vezes), da morfologia da amostra (A) e espectros de EDS dos pontos indicados na Figura para a fibra de bagaço de cana-de-açúcar submetida a autohidrólise (condição III).

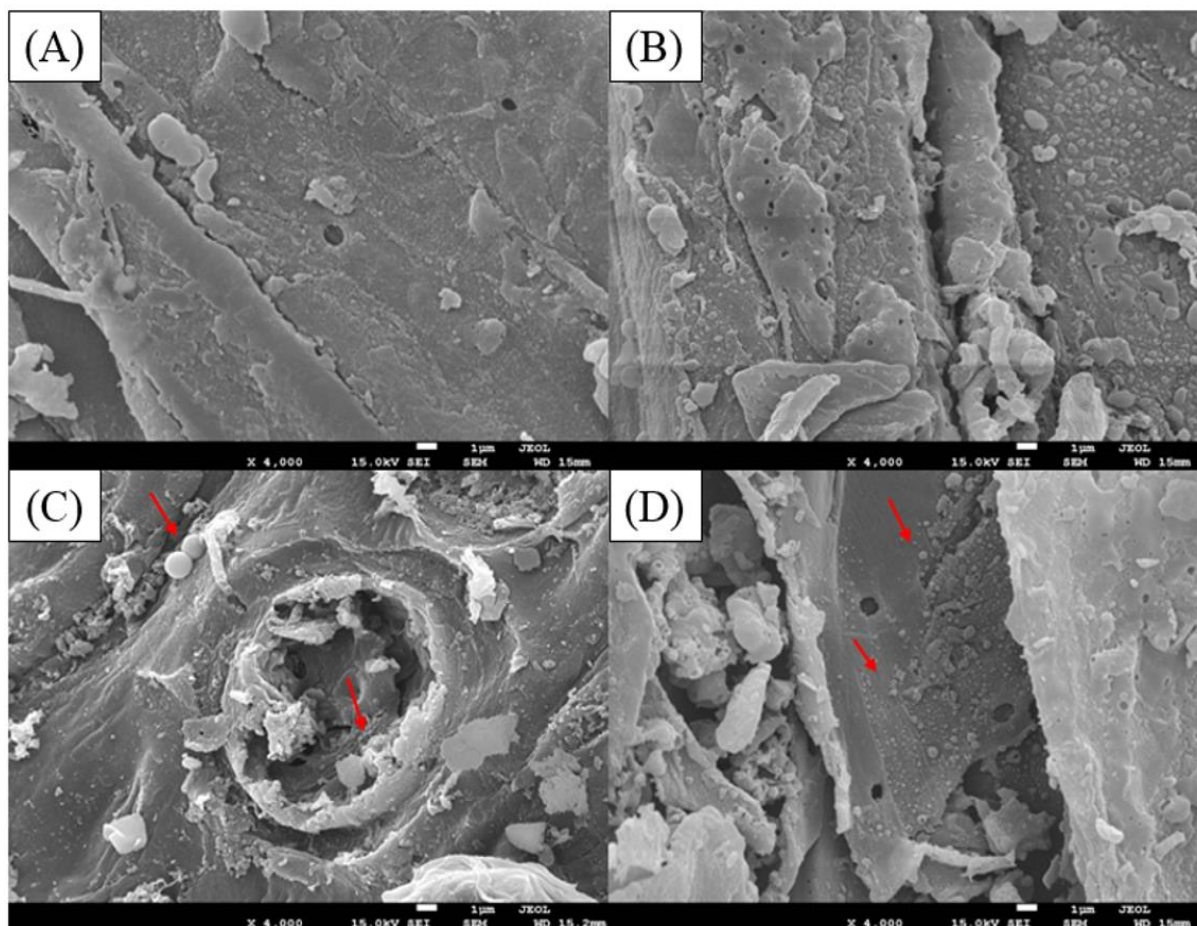


**Figura 48:** Imagem de elétrons secundários, obtida por MEV (voltagem de 15 kV com magnificação de 2000 vezes), da morfologia da amostra (A) e espectros de EDS dos pontos indicados na Figura para a fibra de engaço de dendê submetida a autohidrólise (condição III).

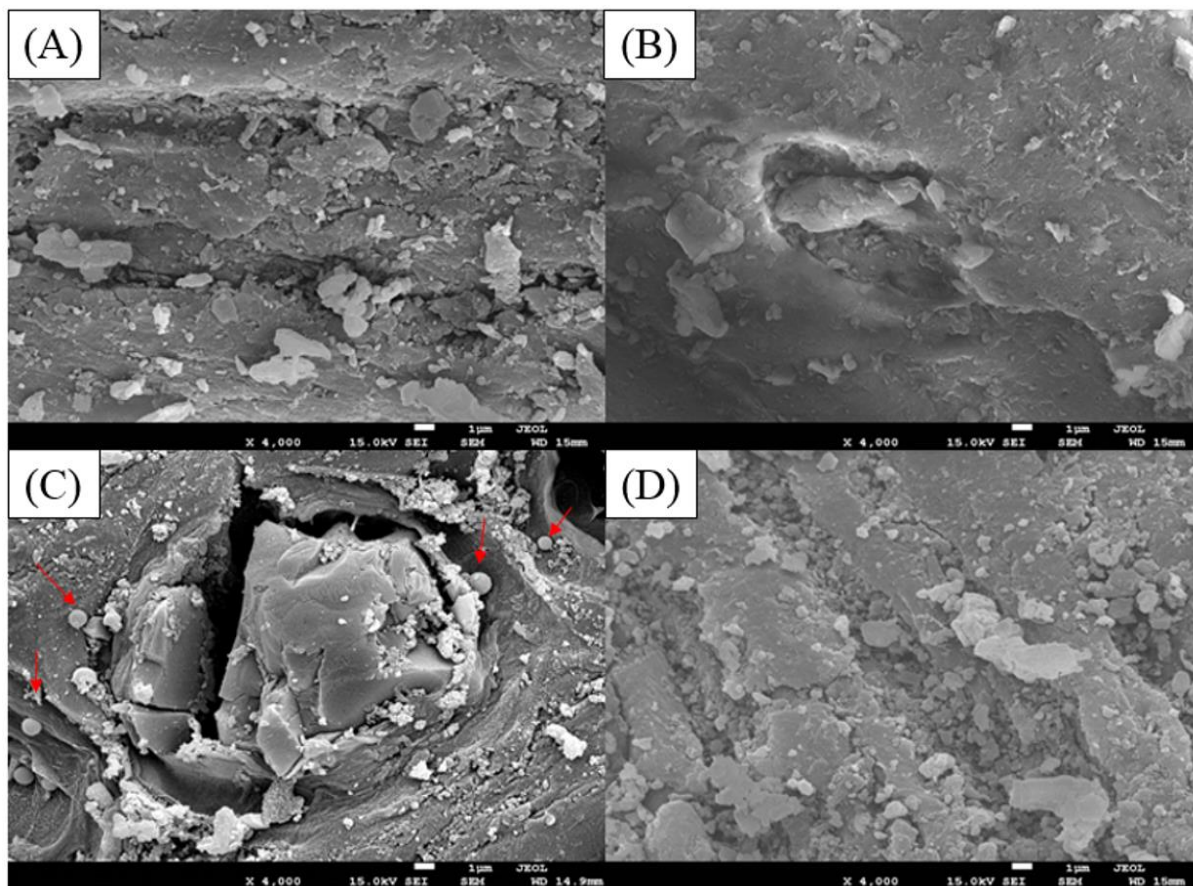
**Tabela 25.** Composição química da região da fibra de bagaço de cana-de-açúcar e engaços de dendê após autohidrólise (condição III) com incidência de protrusão.

Fibra	Carbono (%)	Oxigênio (%)	Silício (%)
Bagaço de cana	74,29	20,30	5,41
Engaço de dendê	10,09	16,07	73,84

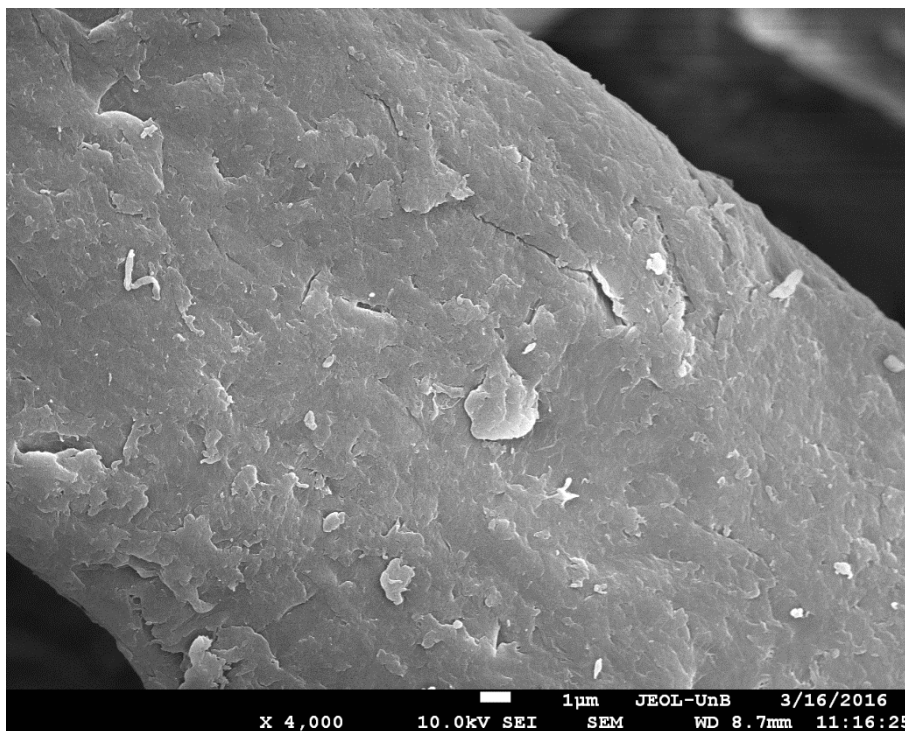
**ANEXO V – Morfologia das fibras de bagaço de cana-de-açúcar com aumento de 4.000 vezes.**



**Figura 49:** Microscopias registradas por MEV das fibras de bagaço de cana-de-açúcar tratadas por autohidrólise em diferentes condições, indicando a presença de deposição de partículas de lignina na superfície do material: (A) 180 °C por 20 minutos, (B) 180°C por 30 minutos, (C) 200 °C por 10 minutos e (D) 200 °C por 20 minutos.

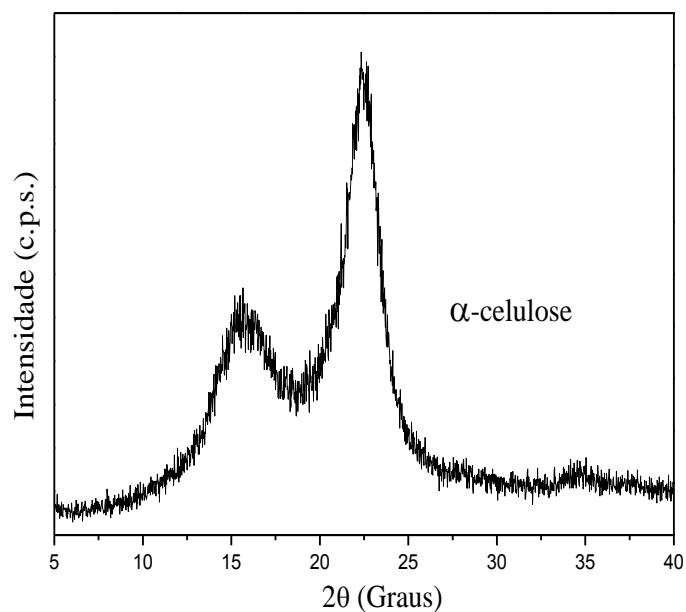
**ANEXO VI – Morfologia das fibras de engajo de dente com aumento de 4.000 vezes.**

**Figura 50:** Microscopias registradas por MEV das fibras de engajos de dente tratados por autohidrólise em diferentes condições, indicando a presença de deposição de partículas de lignina na superfície do material: (A) 180 °C por 20 minutos, (B) 180°C por 30 minutos, (C) 200 °C por 10 minutos e (D) 200 °C por 20 minutos.

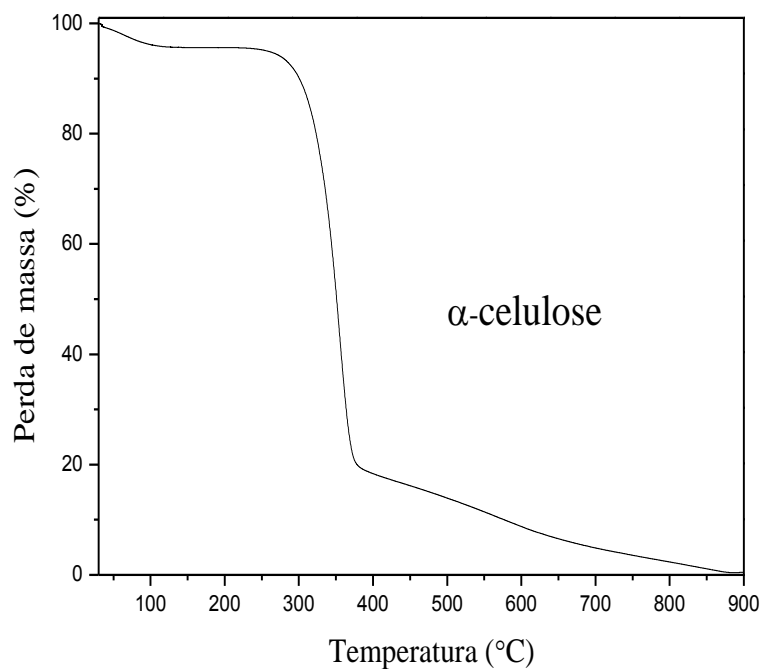
**ANEXO VII – Morfologia de fibra de alfa celulose Sigma-Aldrich**

**Figura 51:** Microscopia registrada por MEV das fibras de alfa celulose comercial Sigma-Aldrich com aumento de 4.000 vezes.

**ANEXO VIII – Análise por difratometria de raios X e comportamento térmico de fibras de  $\alpha$ -celulose Sigma-Aldrich**



**Figura 52:** Difratograma de raios X de amostra comercial de celulose Sigma Aldrich.



**Figura 53:** Curvas termogravimétricas de TG de amostra comercial de celulose Sigma Aldrich.