



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS ENERGÉTICAS E  
NUCLEARES

TÁSSIA CRISTINA DA SILVA

**APROVEITAMENTO ENERGÉTICO DA BIOMASSA RESIDUAL VERDE DE  
SISAL: etanol e biocarvão**

Recife

2023



CARACTERIZAÇÃO E SIMULAÇÃO DE RESERVATÓRIOS, ENERGIAS RENOVÁVEIS  
E BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL

Apoio



Gestão



TÁSSIA CRISTINA DA SILVA

**APROVEITAMENTO ENERGÉTICO DA BIOMASSA RESIDUAL VERDE DE  
SISAL: etanol e biocarvão**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestra em Tecnologias Energéticas e Nucleares.

Área de concentração: Fontes Renováveis de Energia.

Orientadores: Prof. Dr. Rômulo Simões Cezar Menezes.

Prof. Dr. Everardo Valadares de Sá Barreto Sampaio.

Recife

2023

Catálogo na fonte:  
Bibliotecária Sandra Maria Neri Santiago, CRB-4 / 1267

S586a Silva, Tássia Cristina da.  
Aproveitamento energético da biomassa residual verde de sisal: etanol e biocarvão / Tássia Cristina da Silva. – 2023.  
97 f.: il., fig., tab.

Orientador: Prof. Dr. Rômulo Simões Cezar Menezes.

Orientador: Prof. Dr. Everardo Valadares de Sá Barreto Sampaio.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG.

Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares.  
Recife, 2022.

Inclui referências.

1. Energia nuclear. 2. Mucilagem de sisal. 3. Biocarvão. 4. Adsorção de inibidores. 5. Biomassa. 6. Fermentação. I. Menezes, Rômulo Simões Cezar (Orientador). II. Sampaio, Everardo Valadares de Sá Barreto (Orientador). III. Título.

UFPE

621.042 CDD (22. ed.)

BCTG/2023-141

TÁSSIA CRISTINA DA SILVA

**APROVEITAMENTO ENERGÉTICO DA BIOMASSA RESIDUAL VERDE DE  
SISAL: etanol e biocarvão**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito parcial para obtenção do título de mestra em Tecnologias Energéticas e Nucleares. Área de concentração: Fontes Renováveis de Energia.

Aprovada em: 26 / 05 / 2023.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Sarita Cândida Rabelo (Examinador Externo)  
Universidade Estadual Paulista

---

Profa. Dra. Ana Dolores Santiago de Freitas (Examinador Interno)  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Profa. Dra. Tânia Maria Basegio (Examinador Externo)  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Á minha mãe **Denise Barros Drapal da Silva** e ao meu pai **Luiz Carlos da Silva**.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, o qual me enche de ideias e me concedeu o dom da pesquisa.

Aos meus pais Luiz Carlos da Silva e Denise Barros Drapal da Silva pelo apoio incondicional e incentivo nessa jornada do meio científico, muito obrigada.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Rômulo Simões César Menezes e ao Prof. Dr. Everardo Valadares de Sá Barreto Sampaio, pelos ensinamentos e apoio no desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço a todas as pessoas que vieram antes de mim e abriram muitos caminhos para que este trabalho fosse hoje possível.

Ao laboratório LABIOTA-UFPE que realizaram parte das análises de HPLC (Carboidratos), em especial a técnica de laboratório Danúbia Maria da Silva Freitas.

Agradeço ao CENAPESQ-UFRPE pelas análises de HPLC (Inibidores de fermentação), em especial ao técnico José Júlio Ferreira Júnior.

Ao laboratório LACER-UFRGS que abriu as portas para a realização dos experimentos de pirólise e caracterização dos produtos, em especial a doutoranda Tailane Hauschild, Prof. Dra. Tânia Basegio e ao Prof. Dr. Carlos Pérez Bergmann.

Ao LABRefino-UFPE gerenciado pelo professor Dr. José Geraldo, em especial ao doutorando Denisson Libório, o qual, realizou as análises termogravimétrica da biomassa e biocarvão.

Agradeço ao CETENE pelas análises de Raman, EDXRF e BET/BJH do biocarvão, em especial a Pesquisadora Milena Fernandes da Silva, a qual, realizou as análises e auxiliou no andamento das mesmas.

Aos brasileiros que financiaram essa pesquisa, muito obrigada.

À **Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – ANP** e à **Financiadora de Estudos e Projetos – FINEP**, por meio do Programa de Formação de Recursos Humanos da ANP para o Setor de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – PRH-ANP/FINEP, pelo apoio financeiro, suportado com recursos provenientes do investimento de empresas petrolíferas qualificadas na Cláusula de P, D&I da Resolução ANP nº 50/2015. Em particular ao **PRH 48.1 “Caracterização e Simulação de Reservatórios, Energias renováveis e Biotecnologia Ambiental” (PROCESSO ANP Nº48610.201019/2019-38)**, do Departamento de Energia Nuclear do Centro de Tecnologia e Geociências da UFPE.

“Nenhum pássaro pode voar sem abrir as asas” (MARK-NEPO, 2020).

## RESUMO

A biomassa residual verde de sisal (mucilagem de sisal) é um material lignocelulósico produzido pela extração da fibra de sisal e passagem por peneira rotativa. Estima-se que apenas 4% do peso da planta *Agave sisalana* é transformado em fibras (sisal) e o material restante é descartado ao longo da cadeia produtiva. Tendo isto em vista, o presente trabalho objetivou-se valorizar a mucilagem do sisal na produção de etanol de segunda geração (2G) na região semiárida brasileira, resíduo o qual, não apresenta uso como fonte alimentar. A biomassa foi caracterizada e apresentou 39,68±0,32% de celulose, 13,12±0,22% de hemiceluloses, 6,14±0,5% de lignina, 30,57±0,48% de extrativos e 4,11±0,05% de cinzas. Os pré-tratamentos aplicados apresentaram característica destrutiva da fração celulósica, ou seja, houve liberação de carboidratos fermentescíveis nessa etapa a qual, não é de interesse. A realização de hidrólise sem pré-tratamento é uma característica de interesse da indústria alcooleira uma vez que, essa etapa é uma das mais onerosas do processo de obtenção de etanol 2G, sendo assim, o uso da hidrólise diretamente na mucilagem in-natura apresentou melhor resposta na extração dos carboidratos fermentescíveis. Entre as hidrólises utilizadas (enzimática e ácida) a hidrólise enzimática apresentou melhor conversão em hexoses (101,6 g/L de glicose) e a hidrólise ácida na liberação de 35,72 g/L de glicose. A fermentação ocorreu com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* aplicada nos hidrolisados com e sem biocarvão. O biocarvão da hidrólise enzimática produzido a 550°C apresentou melhor resposta a adsorção dos inibidores de fermentação 89,3% da solução inicial do furfural, 99,7% da solução do HMF e 29,71% da solução do ácido acético, quanto na produção de etanol, esse biocarvão aumentou a produção de etanol de 37,47 g/L para 51,82 g/L.

Palavras chaves: mucilagem de sisal; biocarvão; adsorção de inibidores; biomassa; fermentação.

## ABSTRACT

Sisal mucilage is a lignocellulosic material produced by extracting the sisal fiber and passing it through a rotary sieve. It is estimated that only 4% of the weight of the *Agave sisalana* plant is transformed into fiber (sisal) and the remaining material is discarded along the production chain. The present work aimed to valorize the sisal mucilage in the production of second-generation ethanol (2G) in the Brazilian semiarid region, a residue that has no use as a food source. The mucilage waste was characterized and presented  $39.68\pm 0.32\%$  cellulose,  $13.12\pm 0.22\%$  hemicellulose,  $6.14\pm 0.5\%$  lignin,  $30.57\pm 0.48\%$  extractives and  $4.11\pm 0.05\%$  ash. The applied pre-treatments presented a destructive characteristic of the cellulosic fraction, that is, there was a release of fermentable carbohydrates in this stage which, is not of interest. The realization of hydrolysis without pre-treatment is a characteristic of interest to the alcohol industry since this step is one of the most onerous in the process of obtaining 2G ethanol, thus, the use of hydrolysis directly on the in-natura mucilage showed better response in the extraction of fermentable carbohydrates. Among the hydrolysis used (enzymatic and acid) the enzymatic hydrolysis showed better conversion in hexoses (101.6 g/L of glucose) and the acid hydrolysis in the release of 35.72 g/L of glucose. Fermentation occurred with the yeast *Saccharomyces cerevisiae* applied to the hydrolysates with and without biochar. The biochar from the enzymatic hydrolysis produced at 550°C showed better response to the adsorption of the fermentation inhibitors 89.3% of the initial furfural solution, 99.7% of the HMF solution and 29.71% of the acetic acid solution, as for the ethanol production, this biochar increased the ethanol production from 37.47 g/L to 51.82 g/L.

Key words: sisal mucilage; biochar; inhibitor adsorption; biomass; fermentation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fio Baler Twine .....	18
Figura 2 - Produção de sisal no Brasil em 2019 .....	19
Figura 3 - Extensão territorial do semiárido brasileiro.....	25
Figura 4 - Mucilagem de sisal e peneira rotativa .....	26
Figura 5 - Estrutura química da glicose e celulose .....	29
Figura 6 - Rotas de conversão biomassa .....	30
Figura 7 - Usinas de etanol no Nordeste.....	37
Figura 8 - Resumo gráfico do presente projeto de mestrado.....	38
Figura 9 - Balança com infravermelho para análise de umidade .....	39
Figura 10 - Cinzas obtidas pós queima .....	40
Figura 11 - Extrativos em etanol.....	41
Figura 12 - Extrativos em água .....	41
Figura 13 - Holocelulose obtida pós secagem.....	42
Figura 14 - Alfa-celulose obtida pós secagem.....	43
Figura 15 - Pirolisador utilizado nos experimentos de pirólise .....	46
Figura 16 - Teste de adsorção com solução de ácido acético, HMF e..... biocarvão dos hidrolisados .....	50
Figura 17 - Fermentação com biocarvão.....	50
Figura 19 - Espuma formada pós-extração .....	55
Figura 18 - Espuma quatro horas pós-extração das saponinas.....	55
Figura 21 - TG e DTG da biomassa da hidrólise enzimática .....	57
Figura 20 - TG e DTG da biomassa in-natura .....	57
Figura 22 - TG e DTG da biomassa da hidrólise ácida.....	57
Figura 23 - Fração sólida pós-tratamento alcalino.....	59
Figura 24 - DRX pré-tratados e in-natura .....	62
Figura 25 - FT-IR pré-tratados e in-natura.....	63
Figura 26 - Rendimento médio dos produtos de pirólise .....	68
Figura 27 - Diagrama de Van Krevelen para avaliar decréscimo dos valores..... das razões.....	70
Figura 28 - Análise multi-elementar dos biocarvões.....	73

Figura 29 - Metais pesados identificados biocarvão da hidrólise ácida a..... 400°C .....	74
Figura 30 - Metais pesados identificados biocarvão da hidrólise enzimática a... 400°C .....	74
Figura 31 - Imagens via MEV da estrutura do biocarvão da hidrólise ácida a.... 550°C .....	76
Figura 32 - Imagens via MEV da estrutura do biocarvão da hidrólise..... enzimática a 550°C .....	77
Figura 33 - Biocarvões da hidrólise enzimática .....	78
Figura 34 - Decomposição térmica dos biocarvões da hidrólise ácida .....	79
Figura 35 - Decomposição térmica dos biocarvões da hidrólise enzimática .....	80
Figura 36 - Produção do etanol com o hidrolisado enzimático .....	83
Figura 37 - Cinética de fermentação com hidrolisado ácido .....	83
Figura 38 - Fermentação com os biocarvões da hidrólise enzimática .....	84
Figura 39 - Fermentação com o biocarvão da hidrólise ácida .....	85

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Coleção ativa de germoplasma de sisal, da Embrapa Algodão .....	21
Tabela 2 - Resíduos do processamento da fibra de Sisal .....	27
Tabela 3 - Rendimento de produtos obtidos por diferentes tipos de pirólise.....	31
Tabela 4 - Condições operatórias utilizadas nos experimentos de pirólise.....	47
Tabela 5 - Caracterização das biomassa in-natura e hidrolisadas .....	52
Tabela 6 - Composição da mucilagem de sisal pós-tratamentos.....	60
Tabela 7 - Caracterização dos açúcares presente pós-hidrólises.....	65
Tabela 8 - Inibidores de fermentação identificados nos hidrolisados.....	66
Tabela 9 - Caracterização das biomassas pós-hidrólises.....	67
Tabela 10 - Análise elementar biocarvões dos hidrolisados .....	68
Tabela 11 - Análise superficial BET/BJH.....	71
Tabela 12 - Concentração final dos inibidores após 24 horas .....	81
Tabela 13 - Parâmetros da fermentação do hidrolisado enzimático com e..... sem biocarvão .....	86

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>16</b>
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>17</b>
3.1 AGAVE.....	17
<b>3.1.1 Características do agave</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1.2 Produção do sisal</b> .....	<b>21</b>
<b>3.1.3 Semiárido brasileiro</b> .....	<b>23</b>
<b>3.1.4 Resíduos da produção do sisal</b> .....	<b>25</b>
3.2 COMPOSIÇÃO BIOMASSA.....	27
<b>3.2.1 Lignina</b> .....	<b>28</b>
<b>3.2.2 Hemiceluloses</b> .....	<b>28</b>
<b>3.2.3 Celulose</b> .....	<b>29</b>
3.3 CONVERSÃO DE BIOMASSAS .....	29
<b>3.3.1 Pirólise</b> .....	<b>30</b>
3.3.1.1 Biocarvão.....	31
<b>3.3.2 Fermentação</b> .....	<b>33</b>
3.3.2.1 Pré-tratamento .....	33
3.3.2.2 Hidrólise.....	34
3.3.2.3 Etanol.....	36
3.3.2.3.1 <i>Produção de etanol no Brasil</i> .....	36
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>38</b>
4.1 AMOSTRAS .....	38
4.2 EXTRAÇÃO DAS SAPONINAS .....	38
4.3 TEOR DE UMIDADE.....	39
4.4 TEOR DE CINZAS TOTAIS .....	39
4.5 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA.....	40
<b>4.5.1 Extrativos</b> .....	<b>40</b>
<b>4.5.2 Lignina</b> .....	<b>41</b>
<b>4.5.3 Holocelulose</b> .....	<b>41</b>
4.5.3.1 Lignina residual.....	43
4.6 ÍNDICE DE CRISTALINIDADE .....	44

4.7 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO POR.....	
TRANSFORMADA DE FOURIER .....	44
4.8 PRÉ-TRATAMENTOS .....	45
4.9 HIDRÓLISES .....	45
<b>4.9.1 Hidrólise Ácida.....</b>	<b>46</b>
<b>4.9.2 Hidrólise Enzimática .....</b>	<b>46</b>
4.10 PIRÓLISE .....	46
<b>4.10.1 Produção do biocarvão .....</b>	<b>46</b>
4.10.1.1 <i>Caracterização do biocarvão.....</i>	47
4.10.1.1.1 <i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....</i>	47
4.10.1.1.2 <i>Análise elementar .....</i>	47
4.10.1.1.3 <i>Difração de raios X (DRX).....</i>	48
4.10.1.1.4 <i>Método Brunauer-Emmet-Teller (BET).....</i>	48
4.10.1.1.5 <i>Análises termoquímicas .....</i>	48
4.11 FERMENTAÇÃO .....	48
4.12 ADSORÇÃO DE INIBIDORES .....	49
<b>4.12.1 Fermentação com o biocarvão .....</b>	<b>50</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>51</b>
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MUCILAGEM DE SISAL .....	51
<b>5.1.1 Caracterização termoquímica .....</b>	<b>55</b>
5.2 CONVERSÃO BIOQUÍMICA.....	57
<b>5.2.1 Pré-tratamento.....</b>	<b>58</b>
<b>5.2.2 Hidrólises.....</b>	<b>63</b>
5.3 CONVERSÃO TERMOQUÍMICA.....	66
<b>5.3.1 Pirólise .....</b>	<b>66</b>
5.3.1.1 <i>Caracterização do Biocarvão .....</i>	68
5.3.1.2 <i>Caracterização termoquímica.....</i>	78
5.3.1.3 <i>Adsorção de inibidores .....</i>	81
5.4 CONVERSÃO BIOLÓGICA .....	82
<b>5.4.1 Fermentação.....</b>	<b>82</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>87</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>88</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As terras áridas ou áreas secas ocupam 60,9 mil km<sup>2</sup> (41,3%) da superfície mundial (GAUR; SQUIRES, 2017). Com as mudanças climáticas, essas áreas estão aumentando constantemente, e as Nações Unidas declararam 2010-2020 como a Década dos Desertos e da Luta contra a Desertificação (MARTÍNEZ-VALDERRAMA; GUIRADO; MAESTRE, 2020). No Brasil, 12,8% do território nacional são caracterizados como região semiárida com baixa pluviometria anual, alta irradiação solar e alta evapotranspiração.

Nessas regiões do Brasil, a evapotranspiração está entre 1.500 e 2.000 mm por ano. Como resultado, a vegetação está sujeita a constante deficiência hídrica. No entanto, apesar das condições severas, a região semiárida brasileira apresenta uma diversidade de vegetação adaptada a essas condições edafoclimáticas como a *Agave sisalana* (sisal), planta adaptada a essas condições e cultivada para fins econômicos (EGUIARTE et al., 2021).

O sisal é uma planta de interesse econômico e social para as regiões áridas de todo o mundo. Em muitas das áreas produtoras, o sisal é a única cultura que pode gerar lucro. No Brasil, o sisal é cultivado no semiárido, para a produção de fibra dura (86 mil toneladas/ano), que abastece 40% do mercado mundial (ANDRADE; ORNELAS; BRANDÃO, 2011; IBGE, 2019).

O Brasil é o maior produtor mundial de fibra de sisal, porém, os sistemas de produção e processamento apresentam baixos níveis de modernização. Além disso, as folhas de agave têm baixo índice de aproveitamento para extração de fibras, com rendimento de até 4% da sua massa. Os 96% restantes são resíduos da produção: mucilagem ou polpa [15%] (constituída pela cutícula e tecido mole), bucha [1%] (fibras curtas) e suco [80%] (seiva clorofilada) (ALVES; SANTIAGO; LIMA, 2005).

Os resíduos da produção de sisal são uma fonte potencial para a produção de biocombustíveis no Brasil. O sisal, apresenta alta produtividade e elevados teores de carboidratos e a sua fração lignocelulósica pode ser usada para a produção de biocombustíveis. A utilização da mucilagem de sisal, para a produção de etanol de segunda geração, apresenta algumas limitações, como resíduos de fibras acarretando na dificuldade trituração do material, difícil secagem da biomassa e fácil absorção de água do ambiente. Contudo, é uma biomassa sem aplicação

econômica ou alimentícia com altos teores de açúcares em suas células podendo, portanto, ser utilizada para a produção de biocompostos, como o etanol.

Além disto, o estudo analisou a utilização do resíduo sólido dos processos de hidrólise na obtenção de biocarvão para a adsorção de inibidores de fermentação (furfural, 5-hidroximetilfurfural e ácido acético). Biocarvão (frequentemente designado pelo nome inglês de “biochar”) é um material rico em carbono, que é produzido pela carbonização de resíduos de biomassa de baixo custo, em atmosfera limitada de oxigênio (LUO et al., 2019; ONI et al., 2019). Nos últimos anos, a utilização do biocarvão vem ganhando atenção dos pesquisadores no mundo, pelas suas características adsorptivas e seu baixo custo de produção. Além de ser um produto abundante na superfície terrestre, o biocarvão pode ser produzido por diferentes métodos e sua qualidade é dependente do tipo de processo aplicado e da fonte orgânica utilizada. Através da decomposição térmica (pirólise) da matéria orgânica pelo aquecimento na ausência de oxigênio são gerados bio-óleo, biocarvão e gases (PEDROZA *et al.*, 2017). O rendimento de cada composto depende da composição química da matéria utilizada e da temperatura e duração do processo de pirólise.

Deste modo, o trabalho propõe que o aproveitamento energético da mucilagem de sisal pode resultar em um maior desenvolvimento econômico e social no semiárido brasileiro, a partir da geração de emprego e renda, com a valorização da cadeia produtiva da biomassa local.

## 2 OBJETIVO GERAL

Caracterizar e valorar a mucilagem de sisal, visando a produção de etanol de segunda geração e a utilização do biocarvão da mucilagem pós-hidrólise ácida e enzimática, como adsorvente.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a mucilagem do sisal quanto as propriedades físico-químicas., cultivada no semiárido brasileiro.
- Analisar a utilização de pré-tratamentos (ácido, alcalino, oxidativo e hidrotérmico), hidrólises ácida e enzimática e a fermentação para a produção de bioetanol.
- Avaliar as melhores condições de temperatura do processo de pirólise para a produção de biocarvão, a partir de resíduos dos hidrolisados e sua aplicação como adsorvente de inibidores da fermentação (HMF, furfural e ácido acético).

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesta seção será apresentada a revisão bibliográfica sobre o tema em questão, para fundamentar a discussão da presente pesquisa.

#### 3.1 AGAVE

O agave, também chamado de sisal, é uma planta com origem no México, na Península de Yukatan (DIAS *et al.*, 2015). Foi introduzida no Brasil no início do século passado, porém, o seu cultivo somente foi expandido em 1930, principalmente na Paraíba, na Bahia e no Rio Grande do Norte, por suas adaptações ao clima semiárido brasileiro. Atualmente, o Brasil é o maior produtor mundial da fibra de sisal e a Bahia é responsável por 90% desta produção (ANDRADE; ORNELAS; BRANDÃO, 2011).

O sisal pertence a classe Monocotiledônea, família *Agavaceae* e gênero *Agave*. O gênero *Agave* compreende aproximadamente, 300 espécies da América do Norte e América do sul. Suas folhas produzem a principal fibra dura existente entre as plantas e dentre estas espécies apenas duas se destacam com importância comercial para a produção de fibras duras, o *Agave sisalana* Perrine e o *Agave fourcroyde* Perrine (EMBRAPA, 2008).

O *Agave sisalana* tem mecanismo fotossintético facultativo tipo MAC (Metabolismo Ácido das Crassuláceas), no qual a assimilação do CO<sub>2</sub> ocorre durante a noite, pelo ciclo fotossintético C4 (PIMENTEL, 1998). O agave é considerado como MAC facultativo, pois apresenta o comportamento MAC via C4, em condições de falta de água, alta salinidade ou fotoperíodo ou termoperíodo elevados. Porém, em condições favoráveis, pode fotossintetizar pelo ciclo C3, que favorece maior produtividade de biomassa, embora com maior uso de água (OSMOND; HOLTUM, 1981).

O sisal requer clima quente e luminosidade intensa, é adaptado a regiões semiáridas, com resistência a estiagens prolongadas. Têm folhas carnosas, número reduzido de estômatos e epiderme cutinizada (CARDOSO, 2019). Estas são características adaptativas contra condições de aridez.

No Brasil, o agave é cultivado para a produção de fibra dura, que abastece 40% do mercado mundial (ANDRADE; ORNELAS; BRANDÃO, 2011). As fibras de sisal são obtidas da extração e beneficiamento de suas folhas. O interesse nas fibras

naturais está a crescer por muitas razões, incluindo o seu potencial para substituir as fibras sintéticas e por apresentar menor custo de produção, com sustentabilidade.

As fibras naturais são materiais renováveis, menos abrasivas que as fibras artificiais, de baixa densidade e alta deformabilidade, características vantajosas em relação às fibras sintéticas (MARINELLI *et al.*, 2008). Além disto, são biodegradáveis. Essa é uma das principais vantagens do uso das fibras de sisal para amarrar feno, já que podem ser consumidas pelos animais sem que lhes cause problemas, ao contrário das fibras sintéticas. Este é um nicho de mercado conseguido pelo sisal produzido no Brasil. Além destas vantagens ecológicas, as fibras naturais são uma fonte de renda para as populações rurais, em geral em locais com baixa renda per capita.

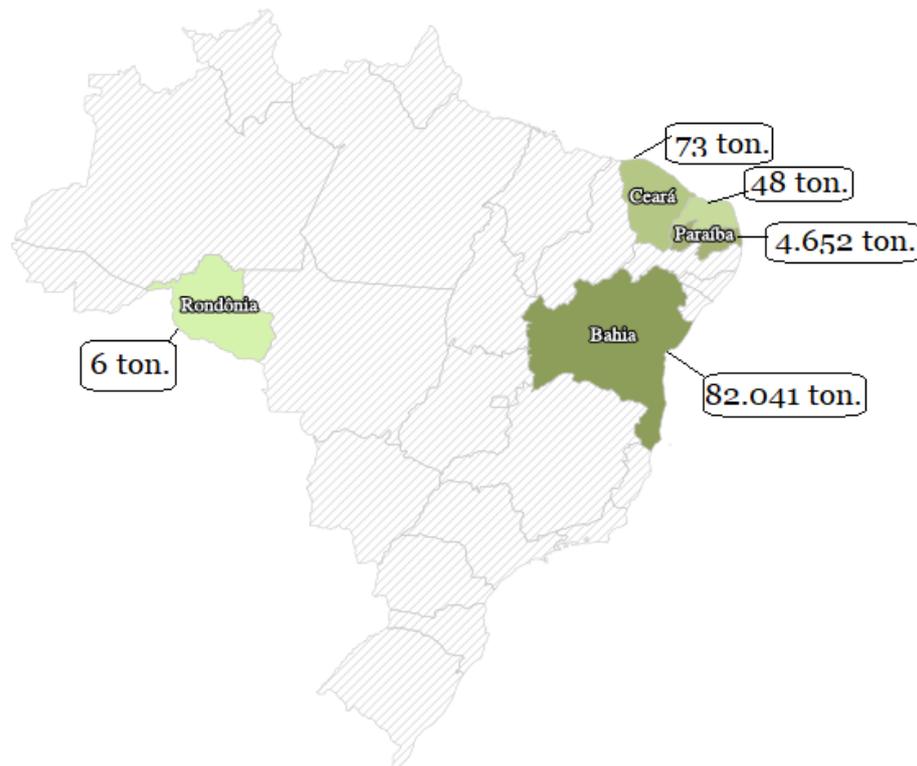
Segundo o IBGE (2019), o Brasil produziu 86.820,00 toneladas de fibra de sisal em cinco estados: Bahia, Paraíba, Ceará, Rio Grande do Norte e em Rondônia (**Figura 2**). Estima-se que 80% dessa produção sejam direcionadas ao mercado internacional, sendo a China e Portugal os maiores consumidores. As exportações do complexo sisal totalizaram 59,4 mil toneladas, em 2020, sendo seu principal fio beneficiado o Baler twine (**Figura 1**).

Figura 1 - Fio Baler Twine



Fonte: MFRural

Figura 2 - Produção de sisal no Brasil em 2019



Fonte: Dados IBGE (2019)

A industrialização das fibras proporciona a produção de diversos produtos como: cordas, barbantes, tapetes, sacos, bolsas, chapéus, vassouras, além de peças artesanais. Na indústria, são utilizadas na fabricação de pasta celulósica para a produção de papéis e outros produtos (papel Kraft, papel fino, cigarros, filtros, fraldas, entre outros) (EMBRAPA, 2008).

### 3.1.1 Características do agave

O ciclo vegetativo do agave é de 8 a 10 anos. Seu sistema radicular é fibroso, fasciculado, em forma de tufo, que emerge da base e do pseudocaule (roseta). Apresenta dois tipos de raízes: as de fixação e as de absorção de nutrientes, sem raiz principal. As raízes do tipo fixadora tem diâmetro de 2 a 4 mm e possuem muitas ramificações, com crescimento horizontal de até 3 metros. Destas raízes surgem as raízes de absorção que tem a função de absorver água e nutrientes da solução do solo. As raízes do agave são superficiais e concentram-se na profundidade de até 10 a 25 cm da superfície do solo (EMBRAPA, 2008).

O agave não apresenta caule aéreo, seu pseudocaule suculento tem a propriedade de armazenar água e nutrientes em seu interior, e nele são inseridos as folhas e o broto terminal. As folhas são rígidas de forma linear lanceolada e com comprimento entre 120 a 160 cm. Sua epiderme é composta por uma cutícula cerosa, que repele a água facilmente. Nela encontram-se numerosos estômatos distribuídos de maneira contínua, realizando as trocas gasosas. As inserções das folhas no pseudocaule ocorrem em forma de espiral ascendente, formando rosetas. O *Agave sisalana* produz entre 200 e 250 folhas durante o ciclo e cada folha contém de 1000 a 1200 fios de fibra (EMBRAPA, 2008; QUEIROGA *et al.*, 2021).

Para o cultivo do agave, os produtores têm a opção do agave comum (*Agave sisalana* Perrine) e 37 acessos (**Tabela 1**). As mais utilizadas são: *Agave comume*, o Híbrido 11648, cruzamento entre *Agave angustifolia* e o *Agave amaniensis*. Este híbrido tem algumas características vantajosas em relação ao agave comum; dentre elas, o número de folhas por planta, aproximadamente 600 folhas durante o ciclo produtivo, maior produtividade, tolerância à podridão do tronco e mais resistente a seca (EMBRAPA, 2008). Apesar dessas características mais favoráveis, a cultivar mais utilizada na Bahia e Paraíba é o agave comum.

A propagação do agave ocorre de forma assexuada através dos bulbilhos e rebentos da planta mãe (SUINAGA; SILVA; COUTINHO, 2006). Os rebentos nascem da base, e são rizomas subterrâneos emitidos pela planta. Já os bulbilhos são emitidos pela planta mãe ao final do ciclo de vida, no escapo floral (ANDRADE; ORNELAS; BRANDÃO, 2011). Na região semiárida do Brasil, o cultivo é realizado em sequeiro, ou seja, não há a utilização da irrigação e, por isto, o plantio é realizado antes do início da estação chuvosa.

Tabela 1 - Coleção ativa de germoplasma de sisal, da Embrapa Algodão

<b>Acessos</b>	<b>Identificação</b>	<b>Acessos</b>	<b>Identificação</b>
SS-01	Híbrido 11648 ( <i>A. amaniensis</i> x <i>A. angustifolia</i> )	SS-20	Sisalana Tanzânia
SS-02	Híbrido 400 folhas	SS-21	Mutante Paraíba
SS-03	Cabinho	SS-22	IAC 0101
SS-04	IAC 034	SS-23	IAC 84193
SS-05	Híbrido RN	SS-24	Mutante Bahia
SS-06	Híbrido Quênia	SS-25	IAC 84003
SS-07	<i>Agave folcloydes</i>	SS-26	IAC 84051
SS-08	Sisal do tipo Tatuí	SS-27	IAC 00200
SS-09	Sisal com espinhos nas bordas	SS-28	IAC 0067
SS-10	Sisalana de Valente/BA	SS-29	IAC 84001/4
SS-11	Sisal Híbrido, Teixeira/PB	SS-30	IAC 84005
SS-12	Híbrido de Imaculada/PB	SS-31	IAC 0056
SS-13	Sisalana ornamental	SS-32	IAC 84001/2
SS-14	Tatuí 3	SS-33	IAC 84-019
SS-15	Tatuí 4	SS-34	IAC 840096
SS-16	Mutante 1	SS-35	IAC 0097
SS-17	Hoxa México	SS-36	IAC 0069
SS-18	Tatuí 1	SS-37	Híbrido de Itaporanga
SS-19	Tatuí 2		

Fonte: Embrapa Algodão

### 3.1.2 Produção do sisal

De acordo com Suinaga et al. (2006), a colheita do agave ocorre, em média, após 36 meses do plantio, variando conforme a espécie de agave utilizada. O processo de colheita inicia-se com o corte periódico das folhas. Em média, são cortadas 55 folhas no primeiro corte do *A. sisalana* e nos cortes posteriores são colhidas aproximadamente 30 folhas. A colheita ocorre de forma manual, com auxílio de facas. Após a colheita restam, na planta, em média quatro folhas para dar seguimento à nova produção (EMBRAPA, 2008).

Após o corte, ocorre o transporte das folhas, em geral como uso de animais, principalmente jumentos, que carregam de 100 a 130 quilos de folhas de agave (EMBRAPA, 2008). Nesta etapa, são utilizados um jumento e um operador, sendo realizados 40 a 60 viagens por dia.

A operação pós-colheita é iniciada com o desfibramento do sisal, processo principal, pelo qual são eliminadas a polpa e a mucilagem que envolvem a fibra, por raspagem mecânica (EMBRAPA, 2008). Na atualidade, os produtores podem utilizar dois tipos de máquinas, a “Máquina Paraibana” ou a “Máquina Modelo Cosibra”. A primeira é a mais utilizada, principalmente pelo seu preço e fácil manutenção. Porém, apresenta baixa capacidade operacional (até 200 kg de fibra seca, em turno de 10 horas por dia), desperdício entre 20 a 30% de fibra por folha e expõe os operadores a riscos de acidentes (QUEIROGA *et al.*, 2021).

Após a extração das fibras deve-se realizar a lavagem, imergindo as fibras em água limpa, pelo período de 8 a 12 horas, durante a noite. Depois da lavagem é realizada a secagem das fibras em varais, feitos de arame, durante 8 a 10 horas, em pleno sol, evitando deixar por períodos maiores, para não amarelar as fibras, o que reduz seu valor (ALVES; SANTIAGO; LIMA, 2005). Posteriormente, é realizado o batimento, que consiste em remover o pó que envolve a fibra de sisal. Essa etapa processa-se em máquinas denominadas de batedeiras. São obtidos desse processo a fibra longa, a bucha e pó residual.

Após o batimento as fibras beneficiadas devem ser classificadas por tipo e classe, de acordo com os critérios definidos na Portaria nº 71 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Em sequência, são prensadas em fardos, identificados e pesados (BRASIL, 1983). As etapas de produção da fibra de sisal ocorrem de forma sequenciada e são realizadas a fim de obter fibras de melhor qualidade (QUEIROGA *et al.*, 2021).

A produção da fibra sisal depende da capacidade produtiva da planta que geralmente produz durante 10 a 12 anos. O agricultor renova o campo quando há declínio na produção, substituindo-as por rebentos vigorosos localizados nas fileiras próximas. Porém, quando ocorre a emissão floral em mais de 70% das plantas é aconselhada à erradicação total do campo (EMBRAPA, 2008).

Na indústria, são realizados os processos de preparação dos fios, fiação e cordoaria. Na preparação dos fios as fibras são tratadas, coloridas, penteadas, emendadas e uniformizadas. Na fiação, ocorre a torção em máquinas fiandeiras,

dando origem aos fios de sisal. Na cordoaria, os fios são processados para a confecção de cordas em máquinas emoladeiras e cordoeiras (ANDRADE; ORNELAS; BRANDÃO, 2011).

O controle de qualidade é realizado em laboratório, em todas as etapas de produção, através de análises de gramatura, umidade, peso, resistência, entre outros. Após aprovados os lotes são embalados e certificados.

### **3.1.3 Semiárido brasileiro**

De acordo com a SUDENE (2017), caracterizam-se como semiáridas as áreas que apresentam precipitação pluviométrica média anual igual ou inferior a 800 mm, índice de Aridez de Thornthwaite igual ou inferior a 0,50 e/ou percentual diário de déficit hídrico igual ou superior a 60%, considerando todos os dias do ano. Com essas características, 1.262 municípios brasileiros são classificados como zona semiárida, correspondendo a aproximadamente 982.566 Km<sup>2</sup>, ou seja, 18,2% do território nacional (**Figura 4**).

O clima no semiárido brasileiro é classificado principalmente como BSh, clima semiárido quente com escassez de chuvas (250mm a 750 mm por ano), que têm grande irregularidade em sua distribuição. A insolação é forte, com índices elevados de evapotranspiração e temperatura média elevada. Uma pequena parte do semiárido é classificada como BSw, clima seco com chuvas no verão, com precipitação anual sempre inferior a 1000 mm (KOEPPEN, 1948).

Além do clima desfavorável, essa região apresenta longos períodos de seca que ocorrem de forma cíclica a cada 10 ou 12 anos. Este é um dos principais fatores que inviabilizam a agropecuária, pois, nestes períodos, o índice pluviométrico não ultrapassa 400 mm (CODES SISAL, 2010). Essas características favorecem a situação de pobreza e miséria da região.

Os municípios pertencentes a essa região têm Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) inferiores ao nacional, 0,755, sendo classificados principalmente com índices baixos (<0,599) e muito baixos (<0,499). A região do semiárido tem sido caracterizada pelo êxodo rural, já há mais de um século.

A população do semiárido brasileiro é estimada em 22 milhões de habitantes. A indisponibilidade de cultivares agrícolas adaptadas as condições edafoclimáticas minimizam as chances de obtenção de uma renda mínima agrícola pelo menos

equivalente ao salário-mínimo oficial. Boa parte das culturas cultivadas é destinada à subsistência.

O cultivo do agave é realizado principalmente na região semiárida, por oferecer uma oportunidade econômica difícil de ser obtida com outras culturas, sendo fator de sobrevivência para a população rural e contribuindo para a fixação do homem no campo (CARDOSO, 2019).

A maior área produtora de sisal do Brasil é localizada na Bahia e é denominada “Território do sisal”. O território do sisal tem 20.405,26 km<sup>2</sup> e é composto por 20 municípios: Araci, Barrocas, Biritinga, Candeal, Cansanção, Conceição do Coité, Ichu, Itiúba, Lamarão, Monte Santo, Nordestina, Queimadas, Quijingue, Retirolândia, Santaluz, São Domingos, Serrinha, Teofilândia, Tucano e Valente (IBGE, 2010). Segundo Queiroga et al. (2021), esta atividade gera 800 mil empregos, diretos e indiretos, além de gerar divisas.

Figura 3 - Extensão territorial do semiárido brasileiro



Fonte: IBGE, 2018

### 3.1.4 Resíduos da produção do sisal

Embora o Brasil seja o maior produtor de sisal, os sistemas de produção e beneficiamento têm baixo índice de modernização (CANTALINO; TORRES; SILVA, 2015). Além disto, as folhas do agave têm baixo índice de aproveitamento para a extração de fibra, com rendimento de até 5% da sua massa. Os 95% restantes são resíduos da produção, com aproximadamente 15% de mucilagem ou polpa (constituído pela cutícula e por tecidos moles), 1% de bucha (fibras curtas) e 81% de suco (seiva clorofilada) (BUXTON; MUCK; HARRISON, 2003). Esta biomassa

residual não é aproveitada de forma eficiente ou econômica, sendo, geralmente, descartada próximo ao local de extração da fibra

O termo “Biomassa” abrange uma ampla gama de produtos diferentes, embora todos sejam de origem orgânica (KAMPMAN *et al.*, 2010). Esses produtos podem ser resíduos florestais e agrícolas, resíduos verdes municipais, lodo de esgoto, biossólidos, subprodutos de resíduos orgânicos e culturas energéticas, entre outros.

Resíduos agroindustriais são provenientes dos processos agrícolas e industriais, variando conforme a matéria-prima utilizada. Estima-se que no mundo 140 Giga toneladas de resíduos agroindustriais sejam produzidos e, no Brasil, aproximadamente 451 mega toneladas (VAZ JUNIOR, 2020). Assim como a biomassa do agave, a maior parte desses resíduos não é utilizada de forma eficiente.

As biomassas residuais, se depositadas de forma incorreta, apresentam risco para a saúde humana e potencial poluente de recursos hídricos, induzindo a eutrofização, e de solo, pelo estímulo à ação microbiótica e emissão de gases do efeito estufa (GEE), como o NO e o N<sub>2</sub>O (TRIPATHI *et al.*, 2019).

É importante salientar que há a formação de diversos resíduos de sisal como a mucilagem de sisal, bucha verde, bucha, suco de sisal, entre outros. A mucilagem de sisal é compreendida como a fração sólida pós-extração da fibra de sisal e que foi separada da bucha verde através da peneira rotativa (SOARES; ARRUDA; AMARANTE, 2022) (**Figura 4**).

Figura 4 - Mucilagem de sisal e peneira rotativa



Fonte: Wirton M. Coutinho (EMBRAPA, 2021)

Diversos estudos são realizados visando à utilização desses resíduos. Savastano et al. (1997) pesquisaram o uso de diversos resíduos agroindustriais e, principalmente, dos resíduos da produção de sisal, na construção civil. Na **tabela 2**, estão listados diferentes resíduos da produção de sisal e suas possibilidades de uso. Contudo, a utilização do bagaço do agave não foi analisada.

Tabela 2 - Resíduos do processamento da fibra de Sisal

Fibra	Resíduos		
	Produto principal	Denominação	Aproveitamento
Sisal	Fibra verde antes da secagem	Bucha verde (após separação da mucilagem)	Uso potencial para produção de celulose
	Fibra beneficiada	Refugo bucha	Reforço de gesso, produção de fios e celulose
	Fios	Bucha branca	Produção de celulose
	Cordas	Fibras curtas	Combustão e adubo
	Baler twine	Bucha (com tintura)	Reprocessamento
	Fio agrícola	Fibras curtas (com tintura)	Combustível
	Tapetes	Retalhos de fios	Uso potencial para produção de celulose

Fonte: Adaptação Savastano et al. (1997)

A biomassa lignocelulósica tem despertado interesse pela crescente produção agrícola e pela sua grande disponibilidade em diversos países. É uma fonte renovável e contínua de materiais biodegradáveis, com baixo custo (BEZAZI *et al.*, 2014).

### 3.2 COMPOSIÇÃO BIOMASSA

O material lignocelulósico é o componente principal da biomassa vegetal, compreende a metade do material produzido por fotossíntese e representa a fonte orgânica renovável mais abundante do solo. Consiste em dois tipos de polímeros: celulose, hemiceluloses e uma macromolécula a lignina, os quais estão fortemente ligados e unidos quimicamente por forças não covalentes e unidos por ligação covalente entrecruzadas (WU et al., 2013). Geralmente, o componente principal dos materiais lignocelulósicos é a celulose em seguida, a hemiceluloses e lignina. Contudo, existem variações na proporção destes componentes na biomassa

lignocelulósica, que está relacionado ao tipo de planta, tipo de solo, umidade, nutrientes, condições edafoclimáticas e manejo cultural (PÉREZ et al., 2002).

### 3.2.1 Lignina

A lignina está unida a celulose e hemiceluloses formando uma barreira impermeável da parede celular. A lignina é uma macromolécula amorfa, tridimensional e ramificado formado por álcoois aromáticos derivados de fenilpropano unidos por ligações não hidrolisado como o 4-propenil fenol, 4-propenil-2-metoxi fenol e 4-propenil-2.5-dimetoxil fenol (WEN et al., 2015). Dá suporte estrutural, rigidez, impermeabilidade e proteção aos polissacarídeos estruturais (celulose e hemiceluloses), é altamente resistente a degradação química e biológica. A lignina é altamente insolúvel, inclusive em ácido sulfúrico, sendo o agente responsável pela recalcitrância ou dureza da biomassa (GAO, CHEN & ZHANG, 2017).

Na lignina não ocorre a repetição de unidades de cadeias como ocorre na celulose e hemiceluloses. Nessas estruturas ocorrem a formação de uma rede tridimensional e sua heterogeneidade estrutural dificultam a hidrólise enzimática e na pirólise podem desencadear várias reações de despolimerização (IQBAL, KYAZZE & KESHAVARZ, 2013).

### 3.2.2 Hemiceluloses

A hemiceluloses é um polissacarídeo com baixo peso molecular comparado com a celulose é formado por diferentes unidades de açúcares de 5 e 6 carbonos (pentoses e hexoses) como a D-xilose, D-manose, D-galactose, D-glicose, L-arabinose, 4-O-metil-glicurânico, D-galacturônico e ácidos D-glicourônicos. Estes açúcares unidos por ligações  $\beta$ -1,4- e algumas vezes  $\beta$ -1,3-glicosídicos (HU; RAGAUSKAS, 2012). A principal diferença entre a celulose e a hemiceluloses é que a hemiceluloses tem ramificações com cadeias curtas laterais que são constituídas de diferentes açúcares, principalmente a xilose e outros monossacarídeos de cinco carbonos enquanto, na celulose é constituída de cadeias lineares de hexoses com ligações  $\beta$ -1,4-glicosídica (SCHELLER & ULVSKOV, 2010). Tem massa molecular médio de <30.000 g/mol e grau de polimerização entre 50 e 200, é representado geralmente pela fórmula  $(C_5H_8O_4)_n$ , tem a tendência em formar Gases da pirólise e menos quantidade de biocarvão quando comparado a celulose (GUPTA et al.,

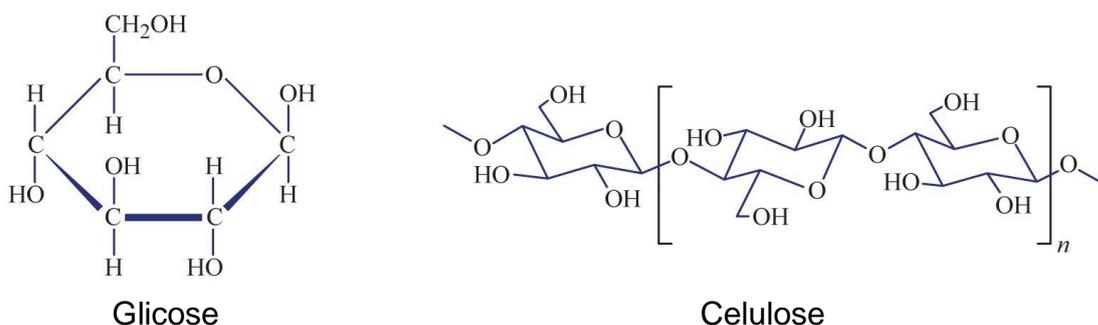
2015). As hemiceluloses são solúveis em soluções alcalinas e facilmente hidrolisada por ácidos e bases.

### 3.2.3 Celulose

A celulose é um polímero de glicose (hexoses), que consiste em cadeias lineares de (1,4)-D-glicanopiranosil unidos por ligações 1-4 em configuração  $\beta$  e com pesos molares maiores que 100 g/mol (HU & RAGAUSKAS, 2012). O segmento que se repete é comumente um dímero de glicose, chamado de celobiose (**Figura 4**). As cadeias apresentam ligações de pontes de hidrogênio intra e intermoleculares, formando uma estrutura cristalina resistente a hidrólise que por sua vez está rodeada de regiões amorfas susceptíveis a degradação enzimática (DING & HIMMEL, 2006).

A celulose é representado pela fórmula  $(C_6H_{10}O_5)_n$  e tem um alto grau de polimerização (de 500 a 10000 g/mol). Tem uma estrutura cristalina formada por milhares de unidades de glicose, sendo este componente, mecanicamente rígido permitindo uma estrutura esquelética, a maioria das plantas terrestres (ARANTES; SADDLER, 2010). É insolúvel em solventes comuns e mesmo sendo um carboidrato, não é digerido pelos humanos.

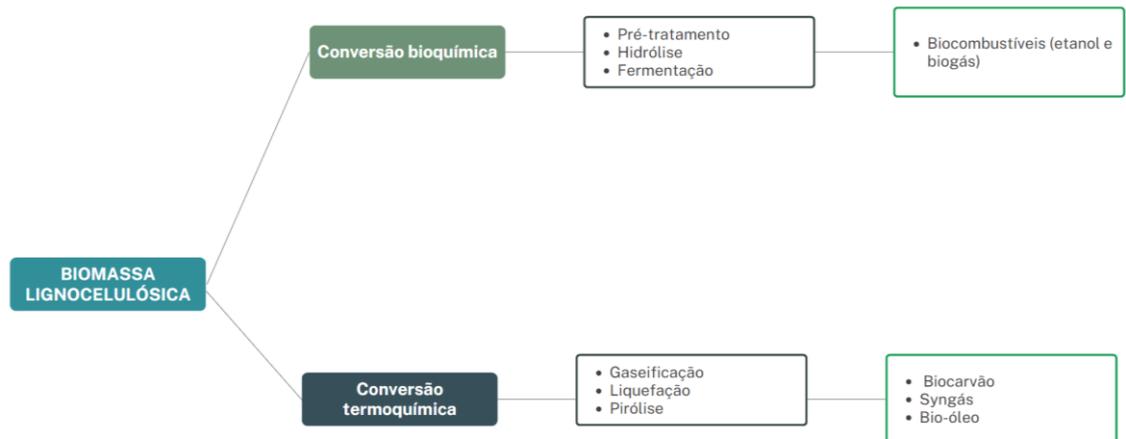
Figura 5 - Estrutura química da glicose e celulose



### 3.3 CONVERSÃO DE BIOMASSAS

A biomassa pode ser transformada em vários produtos para a produção de energia e químicos (**Figura 6**). Fatores como qualidade e quantidade da matéria-prima, disponibilidade, produto de interesse, economia do processo e impactos ambientais gerados são fatores que influenciam na escolha da tecnologia a ser utilizada e aplicada à biomassa (MATSUMURA, 2015).

Figura 6 - Rotas de conversão biomassa



Fonte: Adaptação Faaji (2006)

### 3.3.1 Pirólise

A pirólise é um processo de termo conversão de biomassa que ocorre com limitação ou ausência de oxigênio e em altas temperaturas (250°C a 900°C). Com a pirólise são obtidos três produtos: bio-óleo (líquido), biocarvão (sólido), e os gases da pirólise (mistura de CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub>), independentemente da biomassa utilizada (SILVEIRA; SALOMON; BARCELOS, 2018). Durante o processo, os componentes lignocelulósicos, como celulose, hemiceluloses e lignina, passam por várias reações, tais como despolimerização, fragmentação e reticulação, em temperaturas específicas para resultar nos produtos de maior interesse industrial (YAASHIKAA *et al.*, 2020).

A temperatura e o tempo de residência de pirólise são definidos em função dos produtos desejados. A pirólise lenta, também chamada de carbonização, ocorre entre 250°C e 750°C, com duração de horas a dias e favorece a produção de biocarvão, enquanto a pirólise rápida ocorre de 500 °C a 1000°C, com duração em segundos, favorecendo a produção de bio-óleo (EMBRAPA, 2018).

A **Tabela 3** apresenta resumidamente alguns dos parâmetros das pirólises rápida e lenta, bem como os rendimentos aproximados em produtos.

Tabela 3 - Rendimento de produtos obtidos por diferentes tipos de pirólise

Tipo de pirólise	Parâmetros	Produtos		
		Bio-óleo	Biocarvão	Gases
Rápida	T= $\sim$ 500°C e TR= $\sim$ 1s	75%	12%	13%
Intermediária	T= $\sim$ 500°C e TR= $\sim$ 10-30 s	50% em duas fases	25%	25%
Carbonização (Lenta)	T= $\sim$ 400°C e TR= horas ou dias	30%	35%	35%
Gaseificação	T= $\sim$ 750-900°C e TR=segundos	5%	10%	85%
Torrefação (Lenta)	T= $\sim$ 290°C e TR= $\sim$ 10-60 min.	Até 5%, se condensado	80%	20%

Fonte: Adaptação de (BRIDGWATER, 2012), T: temperatura; TR: tempo de residência.

As propriedades físicas e químicas assim como, o rendimento dos produtos, são afetadas pelo tipo de biomassa utilizada e pelos parâmetros aplicados (temperatura e tempo de permanência, entre outros). A temperatura é a variável com maior interferência neste processo (WEI *et al.*, 2019).

Os processos termoquímicos são classificados em pirólise, gaseificação e combustão, sendo a pirólise a tecnologia mais promissora para a transformação/conversão da biomassa (KIM *et al.*, 2013). A pirólise caracterizada como processo simples e tempo de reação variável, tem a capacidade de transformar a biomassa volumosa e não homogênea na forma líquida (chamada de bioóleo), sólida (biocarvão) e gasosa (Gases da pirólise) (BRIDGWATER, 2012).

### 3.3.1.1 Biocarvão

Biocarvão (frequentemente designado pelo nome inglês de “biochar”) é um material rico em carbono, que é produzido pela carbonização de resíduos de biomassa de baixo custo, em atmosfera limitada de oxigênio (LUO *et al.*, 2019; ONI *et al.*, 2019).

As propriedades únicas do biocarvão, como grande área de superfície, alta porosidade, diversos grupos funcionais, alta capacidade de troca catiônica e estabilidade, o tornam adequado para várias aplicações (YAASHIKAA *et al.*, 2020). A rapidez e facilidade de preparação, a natureza ecológica, a reutilização e o alto custo-benefício são algumas vantagens do biocarvão. As técnicas termoquímicas comuns usadas para a produção de biocarvão incluem pirólise, carbonização

hidrotérmica, gaseificação, carbonização rápida e torrefação (GAYATHRI; GOPINATH; KUMAR, 2021; HEMAVATHY *et al.*, 2020).

O carbono presente na biomassa é reutilizado totalmente no biocarvão, sendo a técnica de pirólise uma importante ferramenta no estoque de carbono de forma não gasosa. Este estoque contribui para a preservação do meio ambiente, uma vez que este carbono se originou do CO<sub>2</sub> atmosférico que foi imobilizado pela fotossíntese. Assim, reduz-se a concentração de um dos gases do efeito estufa (GEE). Além disto, a conversão de biomassa em biocarvão é uma técnica sustentável para o manejo de resíduos agroindustriais que são ricos em carbono (MCCARL *et al.*, 2008).

Embora o biocarvão seja totalmente feito de carbono e cinzas, a composição elementar e as características diferem com base no tipo de biomassa, condições de reação e tipo de reatores usados durante o processo de carbonização. Portanto, a aplicação e a eficiência do biocarvão, em vários campos, dependem do tipo de biomassa usada para a produção do biocarvão (YAASHIKAA *et al.*, 2020).

A determinação das características do biocarvão é fundamental para a sua utilização como adsorvente e outras aplicações. Essas características indicam a capacidade de atuar como um adsorvente altamente eficiente na remoção de contaminantes (KIM *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2017). Normalmente, o biocarvão com área de superfície aumentada e alta porosidade possui alta propriedade de sorção. As técnicas de caracterização do biocarvão estão baseadas, principalmente, em análises de sua estrutura e de sua composição química, através da identificação de grupos funcionais de superfície e análise elementar (BREWER *et al.*, 2014).

Muitos estudos têm sido realizados para o aproveitamento de resíduos das culturas para fins de mitigação de emissões de GEE (AWASTHI *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2019), melhoria do solo e dos cultivos (LATAWIEC *et al.*, 2019; PETTER *et al.*, 2016), tratamento de recursos hídricos por adsorção de poluentes (GAUTAM *et al.*, 2021; LUO *et al.*, 2021) e produção energética (XU *et al.*, 2019).

A utilização do biocarvão como bioadsorvente tem sido apontada como uma alternativa promissora aos adsorventes tradicionais, como o carvão ativado. Nesse contexto, vem sendo estudada a utilização do biocarvão produzido nos processos de conversão termoquímica da biomassa, como a pirólise. O desempenho desses materiais está diretamente ligado às suas condições de obtenção e utilização. Na adsorção de inibidores de fermentação os estudos avaliam a aplicação do biocarvão

nos hidrolisados e/ou na fermentação aumentando a taxa de conversão glicose/etanol e adsorvendo os inibidores como furfural, 5-hidroxiacetilfurfural e/ou ácido acético (KLASSON et al., 2011).

A atividade adsorviva do biocarvão na desintoxicação de compostos tóxicos está relacionada ao pH, temperatura, tempo de contato e a concentração dos compostos no meio. Lee *et al.* (2011), afirmam que biocarvão remove contaminantes como HMF, furfural e ácido acético com eficiência, porém, ocorre perda de açúcares fermentáveis no processo de adsorção.

Segundo Wang et al. (2020), a adição de biocarvão promove a remoção de mais de 94% de 5-HMF e 99% de furfural após 24 h de tempo de contato. Os métodos de remoção de furfural também é de interesse mais amplo porque o furfural é detectado como um contaminante ambiental de refinarias de petróleo e o carvão ativado tem sido sugerido como método de tratamento por adsorção (SULAYMON & AHMED, 2008).

### **3.3.2 Fermentação**

A produção do etanol de segunda geração ocorre através dos processos de disponibilização dos carboidratos celulósico e hemicelulósicos e quebra ou remoção da fração lignina. Compreende-se como etapas o pré-tratamento, hidrólise e a fermentação, com leveduras de interesse.

#### **3.3.2.1 Pré-tratamento**

As hidrólises ácida e enzimática são os principais métodos de conversão da celulose em glicose. Para facilitar as hidrólises são aplicados processos de pré-tratamento a biomassa ocasionando a diminuição da recalcitrância da biomassa. As hemiceluloses e lignina ocasionam dificuldade ao acesso das enzimas e ácidos, o que reduz a eficácia da sacarificação. Ou seja, a remoção da lignina e hemiceluloses aumenta a porosidade do material aumentando a eficácia do processo de hidrólise.

Quando utilizado pré-tratamento forte como os pré-tratamentos ácidos, ocorre a degradação das celuloses e geram inibidores de fermentação como o 5-hidroxiacetilfurfural e furfural, porém, se o pré-tratamento utilizado for fraco, o acesso da enzima continuará baixo (AGUIAR; LUCENA, 2011). Para o caso da formação de inibidores a utilização do biocarvão pode ser utilizado para a remoção desses

inibidores. É importante ressaltar que o surgimento desses inibidores, furfural e HMF são decorrentes da reação de desidratação da xilose e glicose, respectivamente. Esses inibidores quando presentes podem inibir a ação dos microrganismos aumentando a fase “lag” de crescimento (BADGER, 2002).

Os pré-tratamentos podem ser agrupados em quatro diferentes grupos sendo eles: físicos (secagem, moagem e radiação), físico-químico (explosão a vapor, AFEX e extração com água quente), químicos (ácido diluído, alcalino, óxido-alcalino e organosolv), e o biológico (SÁNCHEZ; CARDONA, 2008). Eles podem ser utilizados separadamente ou serem realizados em conjunto para a melhor remoção da lignina e/ou hemiceluloses.

A escolha do pré-tratamento a ser utilizado dependerá de diversos fatores da biomassa como a cristalinidade da biomassa, quantidade de lignina e hemiceluloses presentes, se ocorre a formação de inibidores como HMF, furfural e ácido acético e o custo benefício desse processo (OLIVEIRA, F. M. V. De, 2010).

### 3.3.2.2 Hidrólise

A segunda etapa antes da fermentação é o uso das hidrólises que possuem a função de liberar os carboidratos de interesse no processo fermentativo, no caso da produção de etanol, a glicose é o principal carboidrato utilizado.

Durante a etapa de hidrólise, as celulosas e hemicelulosas são hidrolisadas em açúcares fermentáveis. As hemicelulosas são mais fáceis de sofrer processo de hidrólise quando comparadas a celulose. Porém, a levedura mais utilizada para a obtenção de etanol na indústria, a *Saccharomyces cerevisiae*, utiliza a glicose como carboidrato para sua metabolização em etanol e as fermentações, com pentoses, para a produção de etanol ainda não demonstram ser economicamente viáveis (KUHAD *et al.*, 2011).

As hidrólises ácidas e enzimáticas são as mais utilizadas pelas indústrias. A hidrólise ácida é a metodologia de sacarificação mais antiga para a conversão da biomassa celulósica para etanol. Os ácidos reagem com a celulose, ocasionando a dilatação e ruptura das ligações glicosídicas, quando é uma ruptura total irá produzir glicose, porém, quando a ruptura é parcial irá gerar celobiose.

Esta hidrólise ocorre em altas temperaturas e pressão, em duas etapas. Na primeira etapa, que ocorre em baixas temperaturas, é realizado a quebra das hemicelulosas levando a produção de pentoses e posteriormente do furfural. Já na

segunda etapa, que é em altas temperaturas há a quebra da celulose gerando hexoses (VELMURUGAN; MUTHUKUMAR, 2011). A glicose produzida nesse processo, pode ser degradada a hidroximetilfurfural e outros produtos os quais, são inibidores de ação microbiana (GIRISUTA *et al.*, 2013).

Essa metodologia de sacarificação apresenta como principal desvantagem econômica a diminuição do tempo de vida dos equipamentos pela acidez do processo, altas temperaturas o que leva a necessidade do uso de equipamentos específicos contra a corrosão (HUBER; IBORRA; CORMA, 2006). Além disso, após a hidrólise são necessários o ajuste do pH, resfriamento do meio e a remoção dos inibidores da fermentação, onerando ainda mais o processo de produção do etanol lignocelulósico (VIKARI; VEHEMAANPERÄ; KOIVULA, 2012).

A hidrólise enzimática consiste no uso de enzimas que atuam em celulose e hemiceluloses liberando monômeros, como a glicose. As enzimas são biomoléculas que atuam como catalizadoras das reações bioquímicas que ocorrem em todas as células vivas (PACHECO; MENDES, 2021). A hidrólise enzimática de materiais celulósicos ocorre pela interação do complexo enzimático celulase/xilanase com seus sítios ativos. A enzima utilizada para a liberação da glicose na celulose é o complexo enzimático celulase que são constituídas por endoglucanases, exoglucanases e  $\beta$ -glicosidases. As glucanases liberam produtos intermediários durante a hidrólise da biomassa e essa fração líquida composta por oligossacarídeos de celulose e celobiose são transformados em glicose pela ação das  $\beta$ -glicosidases (NIU; SHAH; KONTORAVDI, 2016).

Essas ações são reguladas por diferentes fatores que afetam o sinergismo das enzimas que podem estar relacionado as próprias enzimas quanto aos substratos (KASCHUK, 2019). Dentre os fatores que afetam o funcionamento enzimático temos a acessibilidade das enzimas a superfície da celulose, que estão ligadas a cristalinidade e aos teores de hemiceluloses e lignina (SUN *et al.*, 2016). Ou seja, quanto maior a cristalinidade e teores de lignina menor será a ação das enzimas.

A sacarificação enzimática tem como grande vantagem a especificidade do sítio de ação ou seja, no uso da celulase irá produzir glicose, celobiose ou celo-oligossacarídeos sem ocorrer a formação de produtos de decomposição como ocorre com a hidrólise enzimática (YOON *et al.*, 2014). Contudo, em materiais com altas concentrações de hemiceluloses e lignina é necessário realização de pré-

tratamento para que as enzimas consigam alcançar seu sítio de ação. Outro fator negativo do uso desta metodologia são os altos preços das enzimas o que onera ainda mais o processo de obtenção do etanol de segunda geração (KASCHUK, 2019).

### 3.3.2.3 Etanol

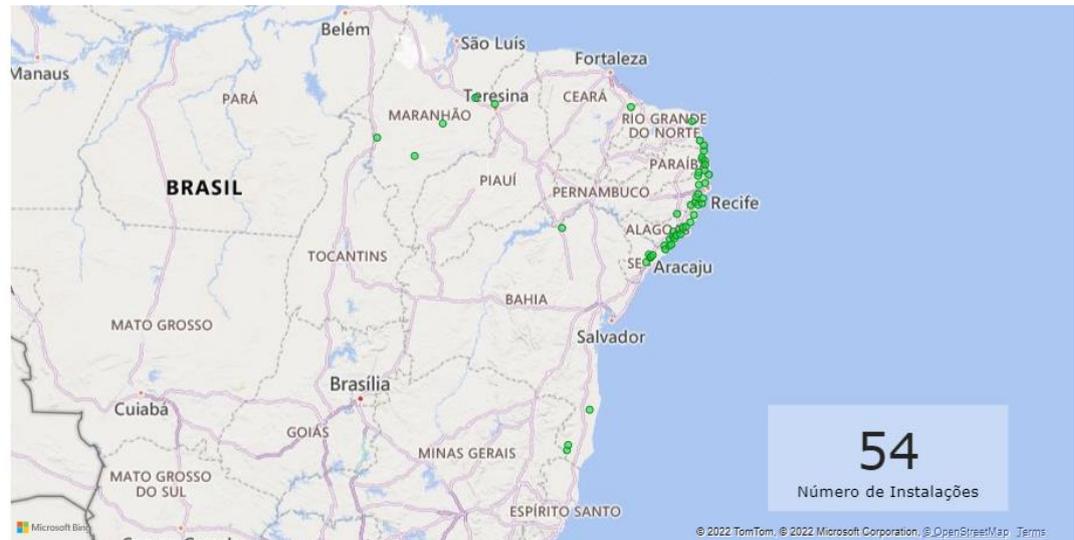
O etanol é obtido a partir do processamento e fermentação de produtos sacarinos como fonte principal no Brasil a cana-de-açúcar. O etanol de primeira geração (1G) é produzido basicamente por três etapas: extração da solução de açúcares fermentáveis, fermentação desses açúcares em etanol e por último a separação e purificação deste etanol. No caso da produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos, ou seja, etanol de segunda geração (2G), é acrescido a esse processo as etapas de pré-tratamento e hidrólises para a obtenção dos açúcares fermentáveis (MUSSATTO *et al.*, 2010).

A fermentação alcoólica é a via para obtenção de etanol, tanto para o etanol 1G como para 2G. O microrganismo mais utilizado pela indústria é a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, devido a sua capacidade de assimilar facilmente a glicose. Este microrganismo converte a glicose em etanol e gás carbônico e apresenta tolerância ao etanol (MONTAGNOLI *et al.*, 2015; MOREIRA; ARANTES, 2018). Contudo, esta levedura consome apenas hexoses celulosas, como a glicose, e não as pentoses como a xilose. Todavia, há cepas fermentadoras alteradas geneticamente são capazes de fermentar xilose e arabinose, através da engenharia metabólica (MUSSATTO *et al.*, 2010).

#### 3.3.2.3.1 Produção de etanol no Brasil

Segundo o Vidal (2022), o Brasil produziu 29.873.796 litros de etanol na safra de 2021/2022. Suas principais fontes de carboidratos foram a cana de açúcar e milho. As usinas produtoras de etanol estão concentradas principalmente no Sudeste e Centro-oeste do Brasil os quais, são os principais produtores nacionais de etanol. No Nordeste, as usinas produtoras de etanol estão concentradas no litoral (**Figura 7**), próximas as áreas de cultivo da cana de açúcar e de acordo com a ETENE (2021), Pernambuco é o segundo maior produtor de etanol nesta região.

Figura 7 - Usinas de etanol no Nordeste



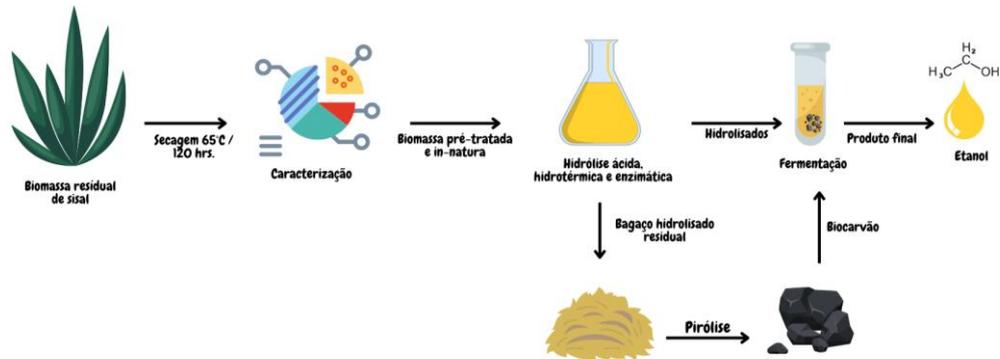
Fonte: Dados do sistema de movimentação de produtos (SIMP) da ANP e ODK (2022)

A cana de açúcar é matéria-prima tanto do etanol quando para a produção de açúcar, o que acarreta na oscilação dos preços e ofertas. Nesse contexto, a produção de etanol 2G com matérias-primas sem interesse alimentar, como a biomassa residual verde de sisal torna-se interessante. Com isto, o presente trabalho objetiva-se a investigar o potencial desta biomassa para a produção de etanol alterando fatores como pré-tratamento, hidrólises e fermentação com biocarvão.

## 4 METODOLOGIA

Os procedimentos aplicados para a execução do presente trabalho estão descritos na **figura 7**:

Figura 8 - Resumo gráfico do presente projeto de mestrado



Fonte: A Autora (2023)

### 4.1 AMOSTRAS

A biomassa residual verde de sisal foi obtida de produtores familiares de sisal, no município de Valente (Latitude 11° 24' 48" Sul e Longitude: 39° 27' 48" Oeste, no estado da Bahia, Brasil). Os resíduos foram retirados das máquinas de decorticação de fibras foliares no campo, logo após o desfiamento das folhas e foram secos ao sol por três dias, em piso de concreto. Após a secagem, foram transportados até o Laboratório de Biomassas (UFPE). No Laboratório de biomassas, o resíduo de sisal foi seco em estufa por 120 horas a 65°C e posteriormente triturado em moinho de facas, até a obtenção da biomassa com 20 mesh.

### 4.2 EXTRAÇÃO DAS SAPONINAS

A remoção das saponinas ocorreu em um banho de água quente a 70°C por 45 minutos, sob agitação constante. Esse método foi escolhido por ser uma metodologia de baixo custo e poder ser aplicada na indústria de álcool. E por permitir a baixa perda de carboidratos fermentescíveis (glicose, xilose, sacarose) que estão presentes na parte extracelular do agave.

A avaliação dos grupos funcionais da mucilagem do sisal foi executada por intermédio da técnica de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR). As amostras, previamente secas, foram misturadas a uma razão de 1:100 gramas de KBr (brometo de potássio) /amostra. Como

resultado será obtido uma curva com picos de transmitância na região de comprimento de onda entre 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 400  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 4.3 TEOR DE UMIDADE

Para a determinação do teor de umidade 2 gramas da biomassa residual de sisal, foram aplicados em balança com infravermelho, em triplicata (**Figura 9**).

Figura 9 - Balança com infravermelho para análise de umidade



Fonte: A Autora (2023)

#### 4.4 TEOR DE CINZAS TOTAIS

Para a determinação do teor de cinzas totais (Equação 5), foram pesados 2g de das mucilagens in-natura e pré-tratadas, em cadinhos de porcelana com tampa, previamente tarados. O conjunto (biomassa e cadinho) foi submetido à temperatura de 800°C, por 2h, em forno do tipo mufla. Posteriormente, o cadinho com a biomassa foi dessecado e pesado (**Figura 10**). O procedimento foi realizado em triplicata.

Eq. 8:

$$Ct (\%) = \frac{Mcb - Mc}{Mb} * 100$$

Onde Ct(%) corresponde ao percentual de cinzas totais na palma forrageira, Mcb corresponde a massa do conjunto (cadinho e biomassa) após a mufla, Mc corresponde a massa do cadinho e Mb corresponde ao valor da massa da biomassa usada para a determinação de cinzas totais (2 g).

Figura 10 - Cinzas obtidas pós queima



Fonte: A Autora (2023)

#### 4.5 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA

A composição química da biomassa foi determinada de acordo com os métodos descritos a seguir.

##### 4.5.1 Extrativos

O percentual de extrativos foi determinado pesando 5 gramas de biomassa seca em cartucho de papel de filtro (14 cm x 4 cm). O conjunto foi fechado e transferido para o tubo de extração acoplado ao equipamento Soxlet. Como produto de extração, foram utilizados água destilada para remoção de solúveis em água e etanol para remover extrativos solúveis em solventes orgânicos. Na extração em água (Figura 12), as lavagens sucessivas no equipamento duraram 28 horas e na extração com etanol, o procedimento durou 6 horas (Figura 11). Em ambos os solventes, foram adicionados 250 mL no balão de fundo chato acoplado ao Soxlet, todos os procedimentos experimentais foram realizados em triplicata. Ao fim do tempo de extração, as biomassas restantes foram secas em estufa a  $65\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 horas até atingir massa constante e pesadas. A parte líquida, foi armazenada em freezer para posterior análise dos extrativos, através do equipamento GC/MS. Para a quantificação de extrativos foi utilizado a equação 1:

Eq. 1:

$$E(\%) = \frac{M_{ce} - M_{se}}{M_{ce}} * 100$$

Onde E(%) corresponde ao percentual de extrativos na biomassa, Mce corresponde ao valor da massa inicial, ou seja, aquela que ainda não sofreu extração e Mse corresponde à massa remanescente do processo.

Figura 12 - Extrativos em água



Fonte: Autora (2023)

Figura 11 - Extrativos em etanol



Fonte: Autora (2023)

Após estes procedimentos, foram realizadas as análises, em triplicata, para determinação do teor de lignina, hemiceluloses, celulose.

#### 4.5.2 Lignina

Para a quantificação da lignina foi utilizado a metodologia de Klason (TAPPI, 2022). Os teores de hemiceluloses e celulose foram quantificados através da extração da holocelulose, com a adaptação da metodologia de Browning (1967).

#### 4.5.3 Holocelulose

Em um erlenmeyer de 250 mL, adicionam-se cerca de 2g da mucilagem, sem extrativos. A seguir, adicionam-se 85 mL de água destilada a 70°C. Na capela de exaustão, foi preparado banho-maria sob agitação magnética com temperatura a  $70 \pm 5^\circ\text{C}$ . No Erlenmeyer foram adicionados 0,66 gramas de clorito de sódio (NaCl), com pureza de aproximadamente 80% e 0,3mL de ácido acético glacial, com pureza  $\geq 99,85\%$ . A solução ficou por uma hora, depois desse período foram adicionados mais 0,66 gramas de NaCl e mais 0,3 mL de ácido acético glacial. Após essa

segunda adição, foram adicionados mais duas vezes as mesmas quantidades, com intervalo de uma hora entre cada adição.

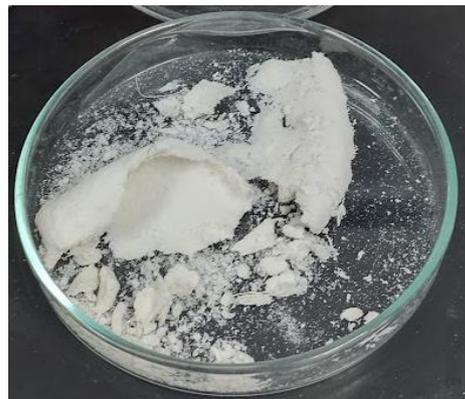
Observação: ao todo foram utilizados 1,2mL de ácido acético glacial e 2,64g de clorito de sódio.

Ao término da quarta adição (última adição), a solução ficou sob agitação e aquecimento por duas horas e posteriormente a solução foi resfriada sob banho de gelo durante 30 minutos. Após refrigeração a solução foi filtrada com auxílio de bomba a vácuo, kitassato, filtro de porcelana e pano de algodão. Com o precipitado recolhido no pano de algodão foi realizado o enxague com água destilada até total remoção da cor amarela e ao fim foi aplicado 10 mL de acetona e mais uma lavagem com água destilada. O pano de algodão juntamente com a holocelulose foram secos em estufa durante 24 horas a 65°C. O material foi pesado e quantificou-se a quantidade de holocelulose (**Figura 13**). Com base na massa do funil limpo e seco (MF); na massa da amostra (MA); e na massa do funil somada à massa de holocelulose, após a secagem em estufa (MFH), pode-se calcular o teor de holocelulose (TH%), conforme a fórmula a seguir:

Eq. 2:

$$TH\% = \frac{MFH - MF}{MAH} \times 100\%$$

Figura 13 - Holocelulose obtida pós secagem



Fonte: A Autora (2023)

A Celulose foi mesurada através da holocelulose obtida. Em um almofariz foram adicionados 1 grama da holocelulose e 15 mL de solução de NaOH a 17,5% após 2 minutos de contato entre a solução e a holocelulose foram triturados por 8 minutos. Depois deste período foram adicionados 40mL de água destilada. O

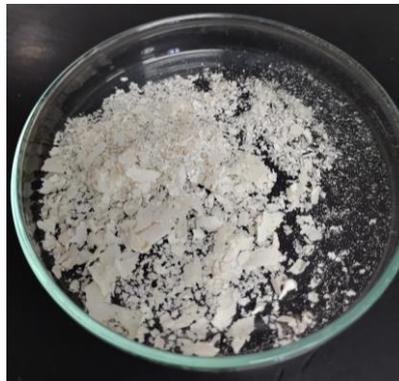
material foi filtrado em pano de algodão e filtro acoplado a bomba a vácuo, seco a temperatura de 65°C, por 24 horas. Para medir a alfa-celulose obtida o material pós seco (**Figura 14**) foi pesado e calculado através da fórmula:

Eq. 3:

$$TA\% = \frac{MFA - MF}{MAH} \times 100\%$$

Sendo: massa do funil limpo e seco (MF); na massa da amostra de holocelulose (MAH); e na massa do funil somada à massa de alfa-celulose, após a secagem em estufa (MFA) e o teor de alfa-celulose (TA%).

Figura 14 - Alfa-celulose obtida pós secagem



Fonte: A Autora (2023)

Para o cálculo das hemiceluloses foi utilizado a diferença entre a holocelulose pela alfa-celulose.

Eq. 4:

$$The\% = TH\% - TA\%$$

#### 4.5.3.1 Lignina residual

Para a quantificação da lignina residual na holocelulose foi utilizado a norma TAPPI-T 236 cm-85. A análise do número Kappa pode informar o teor de lignina residual ou o grau de deslignificação em polpas celulósicas. Para calcular o número Kappa, utilizou-se as fórmulas abaixo:

Eq.5:

$$K = \frac{p \times f}{W}$$

Eq.6:

$$p = (b-a)N$$

Eq.7:

$$0,1 \log K = \log p/w + 0.00093 (p - 50)$$

onde: K = número Kappa; f = fator de correção do consumo de 50% de permanganato que depende de p; w = peso de polpa seca, em gramas; p = quantidade de 0,1 N de permanganato de potássio, em mL; b = quantidade de tiosulfato consumido no branco, em mL; a = quantidade de tiosulfato consumido na análise, em mL; N = normalidade do tiosulfato de sódio.

Para se calcular K, primeiramente calcula-se o p na fórmula [Eq. 03] e na sequência há a necessidade de se calcular o f. A incógnita f é calculada a partir da equação [Eq. 04] juntamente com uma tabela contida na norma Tappi 236 cm – 85 (TAPPI, 1994). Logo após os valores de p e f, é possível o cálculo do número Kappa (K).

#### 4.6 ÍNDICE DE CRISTALINIDADE

As medidas de difração de raios X foram realizadas em um difratômetro Siemens, nas condições de 40 kV e 30 mA. O índice de cristalinidade ( $I_c$ ) da celulose foi calculado através da equação 8:

Eq.8:

$$I_c = 1 - \frac{I_1}{I_2}$$

onde  $I_1$  = intensidade do mínimo de difração, relacionada à parte amorfa ( $2\theta = 18,8^\circ$ ) e  $I_2$  = intensidade do máximo de difração, relacionada à parte cristalina ( $2\theta = 22,4^\circ$ ).

#### 4.7 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER

A avaliação dos grupos funcionais da mucilagem foi executada por intermédio da técnica de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR). As amostras, previamente secas, foram misturadas a uma razão de 1:100 gramas de KBr (brometo de potássio) /amostra. Como resultado será obtido

uma curva com picos de transmitância na região de comprimento de onda entre  $4000\text{ cm}^{-1}$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ .

#### 4.8 PRÉ-TRATAMENTOS

Para a verificação da eficácia na extração da lignina e hemiceluloses, utilizou-se quatro pré-tratamentos (ácido, alcalino, oxidativo-alcalino e térmico). No pré-tratamento ácido, foram adicionados 5 gramas de biomassa e 35 mL de solução aquosa de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , a 1,5% v/v, em erlenmeyer de 125mL. A reação ocorreu em autoclave a  $121^\circ\text{C}$  durante 30 minutos. Após este período, a fração líquida foi separada para análise em HPLC, a fração sólida foi lavada com água destilada (1,5L) e seca em estufa a  $65^\circ\text{C}$ , por 24 horas.

Para o pré-tratamento alcalino utilizou-se 5 g de biomassa e 35mL de solução aquosa de NaOH, a 3% v/v, em erlenmeyer de 125mL. A reação ocorreu nas mesmas condições que a solução ácida.

O tratamento alcalino-oxidativo com  $\text{H}_2\text{O}_2$  foram pesados 5 g da amostra, transferiu-se para um erlenmeyer de 500 mL juntamente com solução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 7,5% em base volumétrica (9 mL de solução por grama de biomassa), ou seja, 35 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Ajustou-se o pH da solução com NaOH para 11,5. Levou-se as amostras a mesa agitadora 150 rpm, a  $35^\circ\text{C}$ , por 1 hora (ALENCAR *et al.*, 2017). Após este período foi realizado filtragem em papel filtro qualitativo, a fração líquida foi separada para posterior análise no HPLC e a fração sólida foi lavada com 1,5 L de água destilada, seca em estufa a  $65^\circ\text{C}$ , por 24 horas.

No pré-tratamento hidrotérmico foram utilizados 5 gramas do material de estudo e acrescidos 35 mL de água destilada. A mistura foi submetida a temperatura de  $121^\circ\text{C}$ , por 30 minutos em autoclave. Após este período o material foi filtrado, a fração líquida foi armazenada para análise em HPLC e a fração sólida foi seca em estufa a  $65^\circ\text{C}$ , por 24 horas.

#### 4.9 HIDRÓLISES

Para verificar o melhor tipo de hidrólise para a obtenção de açúcares fermentescíveis foram aplicados dois tipos de hidrólises: ácida e enzimática. Todas foram realizadas em triplicata e analisadas em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

#### 4.9.1 Hidrólise Ácida

Na hidrólise ácida foram aplicados 25% de carga de sólidos (in-natura e nas biomassas pré-tratadas) e solução de aquosa de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, a 1% v/v, em Erlenmeyer de 500 mL. A mistura foi levada a autoclave a 121°C por, 45 minutos. Após este tempo de reação a solução foi filtrada em filtro qualitativo onde, a fração líquida foi separada para análise em HPLC e a fração sólida foi lavada com água destilada e levada a secagem em estufa a 65°C, por 24 horas. Essa fração sólida foi guardada para ser utilizada na pirólise.

#### 4.9.2 Hidrólise Enzimática

Para hidrolisar a biomassas sem pré-tratamento e as pré-tratadas foram aplicados a celulase comercial Cellulase, enzyme blend, da Sigma-Aldrich ( $\geq 5.000$  units/g). Utilizou-se uma carga de sólidos de 23% ((in-natura e nas biomassas pré-tratadas), 7,5 FPU/g do complexo enzimático e completou o volume reacional com H<sub>2</sub>O, em um erlenmeyer de 125 mL. O conjunto foi submetido à agitação de 150 rpm, em mesa incubadora rotativa, a 45° e a 50°C, por 48h. A fração líquida foi separada para análise por cromatografia líquida de alta eficiência e fração sólida foi seca em estufa para aplicação na pirólise.

### 4.10 PIRÓLISE

Em todas as hidrólises aplicadas há a formação de biomassa residual, esse resíduo é constituído majoritariamente por lignina. Os ensaios de pirólise desse material foram realizados no sistema termoquímico de pirólise apresentado na **Figura 15**.

Figura 15 - Pirolisador utilizado nos experimentos de pirólise



Fonte: A Autora (2023)

#### 4.10.1 Produção do biocarvão

Os experimentos de pirólise foram realizados no Laboratório de materiais cerâmicos (LACER), na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

(Figura 14). Para definir as condições de pirólise as amostras foram submetidas a ensaios de análise térmica (TG/DTG), o qual foi realizada em um equipamento Shimadzu, com fluxo de nitrogênio de 20 mL/min, razão de aquecimento de 10 °C/min, e faixa de temperatura do ambiente até 900 °C. As temperaturas utilizadas na pirólise foram os resultados dos pontos de flexão da curva de TG que ocorreram nas temperaturas 400, 500 e 650°C, (Figuras 21 e 22), os quais, representaram a decomposição das frações de celulose, hemiceluloses e lignina. Os dados de pirólise estão descritos na **tabela 4**.

Tabela 4 - Condições operatórias utilizadas nos experimentos de pirólise

Condições operatórias	Biomassa de Sisal hidrolisado		
	400	500	650
Temperatura [°C]	400	500	650
Taxa Aquecimento [°C/min]	10	10	10
Tempo aquecimento [min]	40	55	65
Tempo de residência [min]	30	30	30
Tempo arrefecer	30	30	30
Vazão gás de arraste N <sub>2</sub> (m <sup>3</sup> /min)	100	100	100

Fonte: A Autora (2023)

#### 4.10.1.1 Caracterização do biocarvão

Os biocarvões produzidos foram caracterizados quanto sua morfologia química como estruturalmente. A seguir encontra-se as análises utilizadas:

##### 4.10.1.1.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A estrutura superficial foi identificada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em microscópio Zeiss DSM 960, operando a 20 kV na modalidade de SEI (elétrons secundários). Após a preparação das amostras, foram feitas a deposição de carbono pelo método de "Sputtering", utilizando um equipamento Sputter Coater Balzers SCD 50.

##### 4.10.1.1.2 Análise elementar

Análise da composição elementar (C, N, H, O) fornece a composição em percentagem mássica em base seca (wt% bs) de carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N) e enxofre (S) presentes em uma determinada amostra. No caso deste estudo, foi desconsiderado o enxofre. O total dos elementos presentes em uma

amostra pode ser expresso de acordo com a Equação 9, em que o oxigênio (O) é estimado por diferença de acordo com a norma DIN 51733.

Eq. 9:

$$[\text{wt. \% bs}] = \text{C} + \text{H} + \text{O} + \text{N} + \text{CT} = 100\%$$

A análise elementar foi realizada com um Analisador elementar Vario Macro, em triplicata, no Laboratório de Combustíveis e Energia (POLICOM) da Escola Politécnica da Universidade de Pernambuco (POLI-UPE).

#### 4.10.1.1.3 Difração de raios X (DRX)

Para determinar as fases cristalinas e os tamanhos de cristalitos das amostras obtidas na forma de pó, foi utilizado um difratômetro SmartLab SE Rigaku, com radiação  $\text{CuK}\alpha$ , comprimento de onda 1,5406 Å, tensão de 40 kV, corrente de 30 mA e monocromador de grafite. Os difratogramas foram obtidos com variação do ângulo  $2\theta$  entre 10 e 50°, incremento de 0,02° e velocidade de 1°min<sup>-1</sup>.

#### 4.10.1.1.4 Método Brunauer-Emmett-Teller (BET)

Para determinar a área superficial específica (SBET) das amostras dos biocarvões in-natura e hidrolisados, pelo método Brunauer-Emmett-Teller (BET) foi utilizado um equipamento da marca Quantachrome, modelo NOVA 1000e. No pré-tratamento das amostras, estas foram mantidas a 300°C por aproximadamente 2h, sob vácuo.

#### 4.10.1.1.5 Análises termoquímicas

As análises dos biocarvões foram realizadas conforme descrito no tópico 4.2.1.2, nas mesmas condições que a análise das biomassas.

### 4.11 FERMENTAÇÃO

A fermentação foi realizada com a espécie *Saccharomyces cerevisiae*, 5g de biomassa microbiana foram inoculadas em 45 mL de solução hidrolisada enzimática de sisal. A etapa fermentativa ocorreu de forma estática, em mesa incubadora, durante 8h, a 33°C. Alíquotas de 1mL foram retiradas a cada 2 h durante o processo. As amostras foram devidamente filtradas em membranas de 0,22mm e analisadas através da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), tanto para os carboidratos, quanto etanol e glicerol. O procedimento foi realizado em triplicata, para cada tipo de hidrolisado. Durante o processo fermentativo, foram calculados os

rendimentos (g/g), eficiências (%) e produtividades volumétricas (g/L.h<sup>-1</sup>) da fermentação alcoólica, através das equações:

Eq. 10:

$$Y_{p/s} \text{ (g/g)} = \frac{E}{G}$$

Eq.11:

$$Ef \text{ (\%)} = \frac{Y_{p/s}}{Y_t} * 100$$

Eq.12:

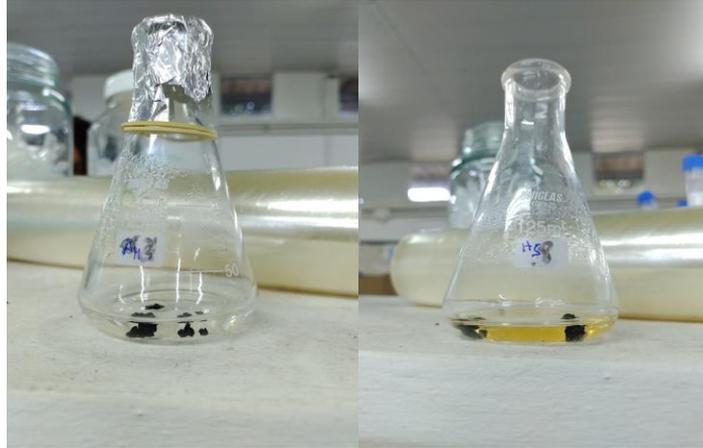
$$Q_p \text{ (g/L. h}^{-1}\text{)} = \frac{E}{t}$$

Onde  $Y_{p/s}$  corresponde ao rendimento da produção de etanol,  $E$  a concentração de etanol (g/L),  $G$  a concentração de glicose (g/L),  $Ef$  (%) a eficiência de fermentação,  $Y_t$  ao rendimento teórico estequiométrico da produção de etanol (0,511),  $Q_p$  a produtividade volumétrica (g/L.h<sup>-1</sup>) e  $t$  ao tempo de fermentação (h).

#### 4.12 ADSORÇÃO DE INIBIDORES

Para os testes de adsorção foram conduzidos inicialmente os estudos de adsorção com furfural, HMF e ácido acético sintéticos (**Figura 16**). No primeiro estudo, foram aplicados 0,1 gramas de biocarvão das diferentes temperaturas (400, 500 e 650°C) das biomassas residuais dos hidrolisados e 10 mL da solução dos inibidores de fermentação, a 3g/L de ácido acético e 1g/L de concentração para HMF e furfural, essas concentrações foram definidas com os dados obtidos pós-hidrólises. O experimento foi realizado em mesa agitadora a 90 RPM durante 24 horas de contato entre os biocarvões e as soluções, posteriormente, 1mL do sobrenadante foi obtido, filtrado em membrana de 0,22mm e analisado em HPLC.

Figura 16 - Teste de adsorção com solução de ácido acético, HMF e biocarvão dos hidrolisados



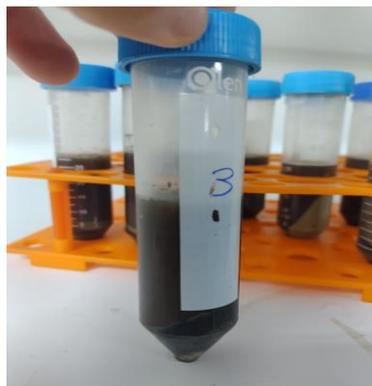
Fonte: A Autora (2023)

#### 4.12.1 Fermentação com o biocarvão

Com os dados obtidos da etapa 4.2.6, foram definidos a aplicação do biocarvão juntamente ao hidrolisado e levedura para o processo de fermentação.

Foram adicionados 44,5mL do hidrolisado enzimático em tubo Falcon de 50mL, 5 gramas de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) e 0,5 g do biocarvão do seu respectivo hidrolisado. Todo o experimento foi realizado em triplicata, em temperatura ambiente e de forma estática (**Figura 17**).

Figura 17 - Fermentação com biocarvão



Fonte: A Autora (2023)

A fermentação ocorreu durante 8 horas com retirada de 1 mL a cada 2 horas da fermentação. As amostras foram filtradas em filtros de membrada de 0,22mm e posteriormente analisados em HPLC. Os carboidratos foram analisados na coluna HPX-87H da Aminex e os inibidores furfural e HMF na coluna C-18, conforme descrito no tópico 4.2.6.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o entendimento da biomassa residual verde de sisal o presente estudo iniciou pela caracterização. A análise composicional da biomassa é a base para compreender a química de conversão e desenvolvimento de processos. Além disto, fornece a base para determinar o desempenho do processo tanto em eficiência da conversão quanto na otimização dos processos visando maximizar o rendimento do produto de interesse (DAYTON & FOUST, 2020). Sobre a caracterização da biomassa residual verde de sisal é importante salientar que pouquíssimos estudos foram realizados, visando a parte energética. Com isto, para a discussão deste trabalho outras espécies do gênero agave (*Agave americana*, *Agave tequilana*, *Agave salmiana*, *Agave cupreata* e *Agave fourcroyde*), foram utilizadas para a melhor compreensão dos dados encontrados.

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MUCILAGEM DE SISAL

A composição da biomassa residual verde de sisal está descrita na **tabela 5**. É importante ressaltar que a composição das biomassas varia conforme as condições edafoclimáticas e manejos culturais durante todo o desenvolvimento da cultura. No presente trabalho, a fração de lignina é muito baixa 6,41%, quando comparado a outros estudos com a mesma biomassa residual. O que se torna interessante para os tratamentos de extração dos carboidratos de interesse para a fermentação ou outros biotecnológicos diminuindo os números de processos para a obtenção das frações de celulose e/ou hemiceluloses. As concentrações elevadas de celulose e hemiceluloses são de interesse para a produção de etanol do presente projeto o que, é um ponto positivo para o uso dessa biomassa como fonte de açúcares fermentáveis. Possibilitando assim, sua aplicação para a conversão bioquímica desse material e sua conversão termoquímica.

Quando comparado a biomassa in-natura com as biomassas residuais hidrolisadas, observamos que há o aumento da lignina 31,51% da hidrólise ácida e 24,45% da hidrólise enzimática, o que é decorrente da liberação dos carboidratos das hemiceluloses e celulosas, presentes na biomassa.

Tabela 5 - Caracterização das biomassa in-natura e hidrolisadas

Caracterizações	Análises	Biomassa in-natura	Palma forrageira (ALENCAR <i>et al.</i> , 2018)	Bagaço da cana-de-açúcar (RANA <i>et al.</i> , 2021)	Mucilagem de sisal (DE MEDEIROS <i>et al.</i> , 2018)	Mucilagem de sisal (MEDEIROS <i>et al.</i> , 2020)	Mucilagem de sisal (LI, <i>et al.</i> , 2021)
<b>Caracterização química</b>	Lignina	6,41±0,5	6,40%	21,28%	29,42%	17,9%	18,7%
	α-Celulose	39,68±0,32	28,51%	45,66%	18,28%	28,72%	43,6%
	Hemiceluloses	13,12±0,22	10,59%	26,58%	14,8%	22,91%	18,8%
	Extrativos totais	30,57±0,48	31,03%	2,37%	-	10,24%	-
<b>Caracterização imediata</b>	Cinzas	4,11±0,05	11,15%	4,20%	-	8,62%	-
	Umidade	5,84±0,67	-	-	12,21%	8,55%	-
	Fibras	19,45±0,11	-	-	-	-	-
	Proteínas	4,51±0,5	-	-	-	-	-
	C	44,20±0,1	-	-	-	-	-
	N total	1,20±0,2	-	-	-	-	-
	Ca	7,4±1,14	-	-	-	-	-
	Mg	3,1 ±1,22	-	-	-	-	-
K	5,2 ±0,89	-	-	-	-	-	

Fonte: A Autora (2023)

A biomassa residual de sisal é composta majoritariamente por extrativos e celulose, com 34,57 e 35,68% respectivamente. Valores em acordo ao trabalho de LI e colaboradores (2021) no qual, foram encontrados 43,6% de celulose na biomassa residual de sisal. Tendo em vista que para a extração de glicose utiliza-se a celulose como fonte deste carboidrato, o aumento desse componente em sua composição é um fator favorável para o uso desta biomassa na fermentação. É importante contemplar que as biomassas são resultado direto dos eventos edafoclimáticos e manejo cultural ocorridos durante a fase de desenvolvimento da planta. Embora, os dados sobre a celulose, dos trabalhos de Medeiros (**tabela 5**), estejam um pouco abaixo do encontrado nesta pesquisa, os valores se assemelham na quantidade de hemiceluloses.

Com a lignina observamos que os valores são muito diferentes, isso pode estar vinculado, além dos tratos culturais, a idade da planta e modo de armazenamento da mucilagem. Porém, os valores são próximos aos encontrados por Alencar et al. (2018), que trabalharam com outra cactácea, a Palma forrageira. Ao comparar essas biomassas com o bagaço da cana-de-açúcar (RANA *et al.*, 2021), observa-se que o valor da celulose é aproximadamente 22% menor. No entanto, a quantidade de lignina da cana-de-açúcar é aproximadamente 70% maior que a da mucilagem do sisal.

Sobre a caracterização deste material é importante ressaltar que não foram utilizados a mesma metodologia de caracterização, entre os estudos discutidos e para biomassas de plantas com metabolismo fotossintético das crassuláceas (CAM) não há, na literatura, metodologia específica para este tipo de planta. O presente trabalho, propôs uma metodologia específica, de fácil operação e baixo custo para plantas cactáceas. Os valores encontrados foram repetidos e analisados por outros pesquisadores que encontraram valores semelhantes com o resíduo de sisal e outras cactáceas. Com isto, esta metodologia demonstrou aplicabilidade para este tipo de biomassa residual.

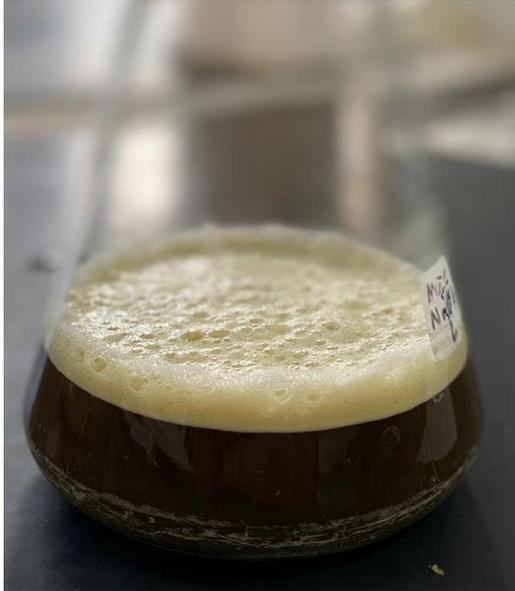
Durante o processo de reciclo do solvente (água e álcool), através do soxlet, foram identificados a presença das saponinas com a formação de bolhas que podem ser observadas nas figuras 9 e 10. As saponinas são substâncias produzidas pelas plantas por metabólitos secundários os quais, estão ligadas às propriedades antimicrobiana, fungicida, alelopática, inseticida e moluscicida (COLLING, 2017; DINDA *et al.*, 2010; FRANCIS *et al.*, 2002; LAMBERT; FAIZAL; GEELLEN, 2011)

Segundo Augustin et al. (2011), o termo saponina é derivado do latim “sapo” que significa “sabão” e tem a propriedade de formar espumas em soluções aquosas, semelhante ao sabão. As saponinas integram o grupo dos terpenos e podem estar relacionadas de forma direta no sistema de defesa natural da planta frente a interferências ambientais como, estresse hídrico, aumento da irradiação solar, predadores, patógenos, entre outros. Saponinas possivelmente localizam-se nos vacúolos e possuem função de defesa (KESSELMEIER; URBAN, 1983; YENDO *et al.*, 2014).

A *Agave sisalana* apresenta saponinas e sapogeninas com potencial citotóxico e atividade antifúngica, na levedura *Saccharomyces cerevisiae* (CARDOSO, 2019; UJIKAWA; PURCHIO, 1989). Nesse contexto, para a produção de bioetanol com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, é necessária a remoção desses compostos. A fração líquida apresentou 22,7 g/L de sacarose, 4,5 g/L de glicose e 5,7 g/L de xilose. Esses carboidratos eram esperados porque as saponinas esteroidais, típicas dessa biomassa, apresentam moléculas anfipáticas, com uma cadeia de aglicona e uma cadeia de açúcar (DURÁN *et al.*, 2021). Porém, novos estudos devem ser realizados, a fim de, investigar outras fontes para os açúcares extracelulares encontrados no presente estudo.

A formação de bolhas foi outro fator analisado, após a extração das saponinas a espuma formada foi medida e monitorada por 4 horas. A espuma, que era muito densa, permaneceu estável a 1,7 cm de altura durante a primeira hora (**Figura 19**). Nas duas horas seguintes, a espuma se dispersou e, ao final das 4 horas, a presença da espuma era perceptível, mas com menor altura (0,15 cm) e uniformidade (**Figura 18**).

Figura 19 - Espuma formada pós-extração das saponinas



Fonte: A Autora (2023)

Figura 18 - Espuma quatro horas pós-extração das saponinas



Fonte: A Autora (2023)

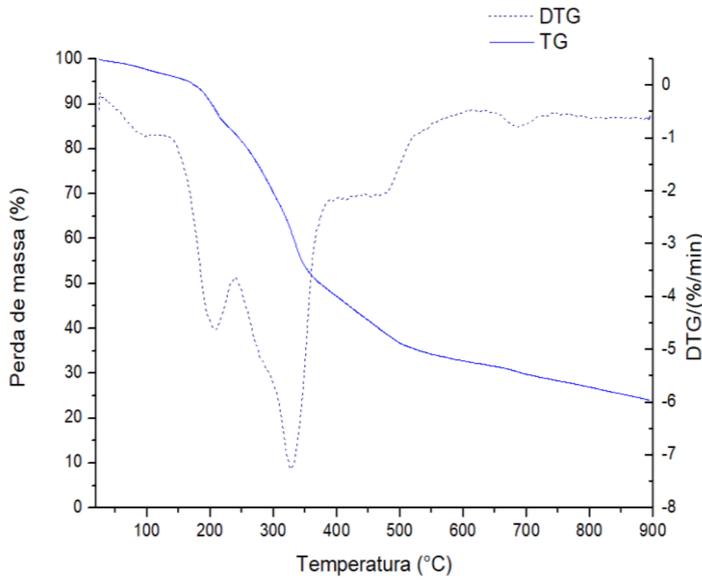
### 5.1.1 Caracterização termoquímica

A composição química da biomassa é importante para os processos tanto bioquímicos quanto para os termoquímicos. Exemplo disto, é a lignina ao qual, quanto maior for seu teor maior será o rendimento em biocarvão, já as hemiceluloses e celulosas altera o rendimento em bio-óleo ou seja, quando maior a porcentagem desses compostos maior será o rendimento final da fase aquosa (FARAVELLI *et al.*, 2010). Além disto, a degradação térmica também é influenciada pela composição da biomassa, conforme podemos observar nas figuras 19, 20 e 21.

A primeira perda de massa está relacionada a umidade do material de análise. A segunda perda por volta dos 200°C é o início da decomposição das hemiceluloses, pectinas e parte da celulose. Nos materiais lignocelulósicos as hemiceluloses é o polímero menos estável quando comparado as celulosas e a lignina, seu término de decomposição para a biomassa residual de sisal e hidrolisada enzimaticamente ocorreu aos 340°C enquanto, para a biomassa da hidrólise ácida ocorreu aos 380°C. Essa diferença, possivelmente, está relacionada a liberação de uma grande quantidade de ácido acético devido as reações de desacetilação (HOSSEINAEI *et al.*, 2012).

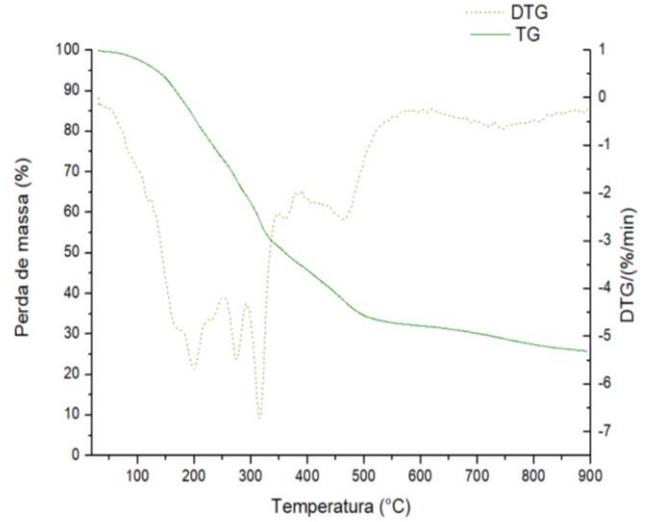
A seguinte curva da perda de massa está relacionada a decomposição das celuloses. A depender da cristalinidade da celulose ela é mais estável quando comparada as hemiceluloses que são formadas por estrutura amorfa (POLETTI *et al.*, 2012). A última parte da decomposição da biomassa que ocorre a partir dos 500°C está relacionada a decomposição da lignina e a formação de cinzas. A lignina é o componente mais estável nos processos de decomposição tanto térmico como químico. O modelo de degradação observado para a biomassa in-natura como das biomassas hidrolisadas seguiu o modelo de reação de Waterloo o qual, a teoria estabelece que, em condições de pirólise lenta, a biomassa se decompõe a carvão e a gases através de reações de desidratação (CABEZA *et al.*, 2015). A partir desta teoria este trabalho, assume que qualquer sólido orgânico de biomassa pode ser convertido em biocarvão e a voláteis, independente das reações que possa ocorrer paralelamente. Exemplo disto, são as celuloses que podem gerar biocarvão e Gases da pirólise durante a pirólise e que por sua vez, o biocarvão poderá produzir Gases da pirólise, com o aumento das temperaturas ou tempo de residência.

Figura 20 - TG e DTG da biomassa in-natura



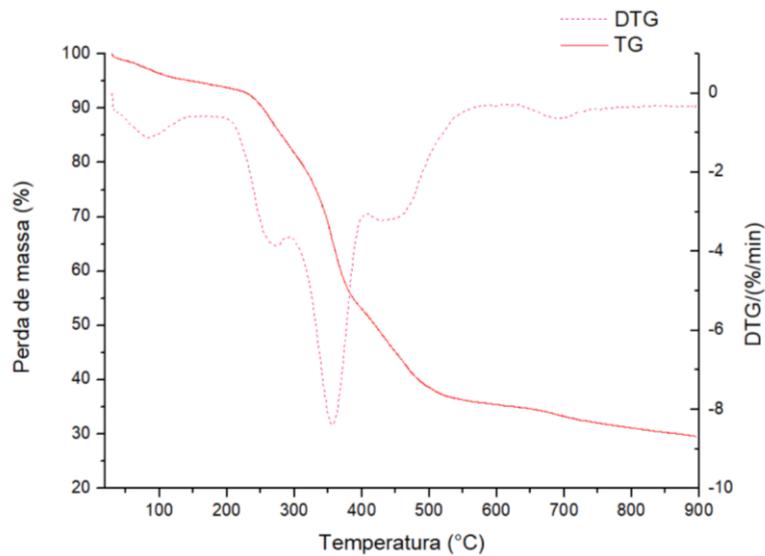
Fonte: A Autora (2023)

Figura 21 - TG e DTG da biomassa da hidrólise enzimática



Fonte: A Autora (2023)

Figura 22 - TG e DTG da biomassa da hidrólise ácida



Fonte: A Autora (2023)

## 5.2 CONVERSÃO BIOQUÍMICA

Nesta sessão iremos discutir as etapas de extração dos carboidratos fermentescíveis com o uso das técnicas de pré-tratamento (ácido, alcalino, oxidativo-

alcalino e hidrotérmico) e as hidrólises ácida e enzimática, aplicados na mucilagem de sisal.

### 5.2.1 Pré-tratamento

O pré-tratamento eficaz da biomassa lignocelulósica tem como objetivos: aumentar a área de superfície acessível e decristalizar a celulose, a despolimerização parcial da celulose e hemiceluloses, solubilizar as hemiceluloses e/ou lignina, modificar a estrutura da lignina, maximizar a digestibilidade enzimática do material pré-tratado, minimizar a perda de açúcares, e minimizar os custos de capital e de operação. Além disto, um pré-tratamento eficaz deve também preservar as frações de pentose (hemiceluloses), evitar a necessidade de reduzir o tamanho das partículas de biomassa, e limitar a formação de componentes tóxicos que inibem o crescimento de microrganismos fermentativos (ALVIRA *et al.*, 2010)

Dentre os pré-tratamentos encontrados na literatura quatro foram testados na biomassa residual verde de sisal. Sendo eles o hidrotérmico, ácido, alcalino e óxido-alcalino. Na tabela 6, podemos observar, as respostas dos pré-tratamentos tanto na fração sólida como na fração líquida. Entre os pré-tratamentos utilizados todos apresentaram liberação de carboidratos e aumento da lignina.

O pré-tratamento oxidativo-alcalino apresentou a menor quantidade de lignina, cristalinidade e liberação de carboidratos, entre os tratamentos utilizados. Quando analisamos a  $\alpha$ -celulose liberada observamos que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos. Já nos tratamentos hidrotérmico em alta pressão e no alcalino houve perdas nas hemiceluloses.

Yang *et al.* (2018), analisaram o uso do pré-tratamento óxido-alcalino, com a biomassa residual de sisal. O referido estudo demonstrou os mesmos dados em relação a hemiceluloses, porém, no experimento do autor foi observado maior quantidade de celulose e cristalinidade. Possivelmente, esses dados foram afetados pelo maior tempo de reação, por seis horas, quando comparado ao presente estudo que utilizou o tempo de uma hora de reação. Além disto, Yang e colaboradores não hidrolisaram ou fermentaram esses pré-tratados, o que falta ser elucidado sobre a eficácia deste tratamento com esta biomassa.

O pré-tratamento alcalino é baseado nos efeitos da adição de bases diluídas sobre a biomassa ocasionando o aumento de superfície interna por expansão, diminuição do grau de polimerização e cristalinidade, destruição das ligações entre a

lignina e outros polímeros, e a quebra da lignina (SÁNCHEZ; CARDONA, 2008). Esse método é baseado em uma reação de saponificação que cliva a estrutura da lignina por meio dos grupos ésteres presentes na biomassa lignocelulósica, tornando a fração celulósica mais reativa (SOCCOL et al., 2011). As saponinas são biossurfactantes naturais presentes em alguns tipos de plantas, como o agave sisalana (DURÁN et al., 2021; RIBEIRO; COELHO; MARRUCHO, 2013). Os biossurfactantes têm a propriedade de hidrólise (NITSCHKE; PASTORE, 2002; ZHANG et al., 2023), no presente estudo foi observada a destruição da biomassa após o tratamento alcalino (**Figura 23**), provavelmente, devido à presença de saponinas, que podem intensificar a ação do pré-tratamento alcalino (SHI et al., 2012; ZHANG et al., 2023).

Figura 23 - Fração sólida pós-tratamento alcalino



Fonte: A Autora (2023)

No trabalho de Yang & Pan (2012), utilizaram os pré-tratamento alcalino (8% de NaOH) e ácido (2%  $H_2SO_4$ ) na biomassa do pedúnculo da Agave americana, outra espécie utilizada para a extração de fibra. Observaram que após os pré-tratamentos ácido e alcalino na fração sólida apresentava 51,2% e 58,8% de celulose, respectivamente. E apenas 0,4% de glicose foram perdidas no tratamento

ácido. Esses pré-tratamentos foram eficazes para essa parte do resíduo que é naturalmente mais fibrosa que o bagaço.

Tabela 6 - Composição da mucilagem de sisal pós-tratamentos

Pré-tratamento	Composição da fração sólida (g/100 g)			Carboidratos presentes na fração líquida (g/L)			
	Lignina	$\alpha$ -Celulose	Hemiceluloses	Glicose	Xilose/Frutose	Sacarose	Arabinose
<b>Ácido (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)</b>	31,51±0,63	34,74±1,62	19,46±0,53	11,79±2,14	13,58±0,22	NI	12,68±0,24
<b>Hidrotérmico</b>	24,45±0,22	37,32±1,51	10,78±0,8	6,56±4,5	0,78±0,04	48,42±4,6	11,97±0,28
<b>Alcalino (NaOH)</b>	23,59±0,23	35,96±1,11	19,36±0,47	1,21±0,5	0,18±0,02	0,48±0,9	0,12±0,32
<b>Oxidativo-alcalino</b>	18,03±0,41	37,05±1,14	18,19±0,39	8,44±0,46	10,65±0,9	NI	0,40±0,88

Fonte: A Autora (2023)  
Ni= Não identificado;

Nos pré-tratamentos utilizados, no presente experimento, observamos na tabela 6 a perda de 11,8 g/L e 8,4 g/L de glicose, nos tratamentos ácidos e óxido-alcalino, respectivamente. A perda desses carboidratos é elevada para biomassas com finalidade energética, via fermentação. Além disto, os pré-tratamentos liberaram grandes quantidades de ácido acético, principalmente o tratamento ácido (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 21,67g/L. Nesse contexto os pré-tratamentos utilizados são inviáveis para o presente material, sendo necessários novos estudos a fim de investigar se outros tipos de pré-tratamento são aplicáveis para essa biomassa.

Sobre os dados do pré-tratamento hidrotérmico não foram encontrados dados sobre essa prática com a biomassa residual de sisal. Porém, no estudo com o bagaço da *Agave tequilana*, utilizada para a produção de tequila, Hernández-Vázquez *et al.* (2020), avaliaram a utilização do pré-tratamento hidrotérmico para a obtenção da fração celulósica desta biomassa. A melhor resposta com este pré-tratamento foi a 154°C por 10 min, com baixa perda de carboidratos na fração líquida e melhor taxa na deslignificação dessa biomassa. Contudo, para a biomassa residual de sisal que é estruturalmente mais simples, altas temperaturas e pressões faz com que haja perda de açúcares (**Tabela 6**) tanto por decomposição quanto na liberação na fração sólida. Tornando esta metodologia inadequada para esse tipo de biomassa.

Ainda sobre pré-tratamento, Li *et al.* (2014), analisaram a recalcitrância de três agaves (*Agave americana*, *Agave salmiana* e *Agave tequilana*). Neste estudo, os autores demonstraram que a estrutura morfológica do agave favorece a ação das

enzimas, o que permite a hidrólise dos polissacarídeos da parede celular sem pré-tratamento. Além disto, a biomassa do agave apresenta hidrofiliçidade a água o que facilita a mobilidade das enzimas em meio aquoso. Ou seja, a biomassa do agave é uma biomassa com baixa recalcitrância e as características estruturais dessas espécies favorecem sua conversão em produtos com menores etapas de produção. Estando esses achados, em consonância com este presente trabalho.

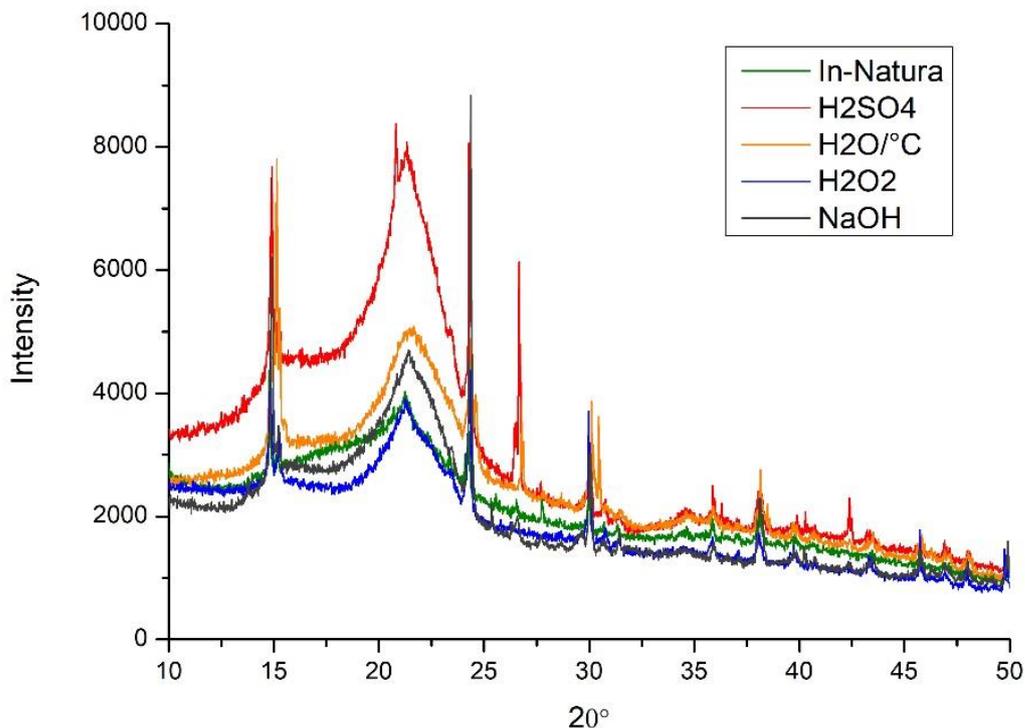
De acordo com Mathew *et al.* (2016), os pré-tratamentos são definidos pelas características da biomassa e pelo processo de conversão a ser utilizado. O pré-tratamento deve proporcionar a formação de açúcares e evitar a formação de inibidores, quando o processo for fermentativo, por exemplo. Neste contexto, todos os pré-tratamentos utilizados não obedeceram a esses preceitos o que acarretou a liberação de carboidratos, ou seja, ocorre uma sacarificação e em todos os pré-tratamentos ocorreu a formação de inibidores tendo o pré-tratamento ácido, a pior resposta. Para a biomassa residual verde de sisal, os pré-tratamentos utilizados não foram eficazes e não demonstrou aplicabilidade no presente projeto, ou seja, não recomendamos a utilização desta etapa para esse tipo de material.

Através do DRX (**figura 24**) foi realizado a análise da cristalinidade dessa biomassa descritas na tabela 6. A cristalinidade das substâncias celulósicas é um fator importante na determinação da digestibilidade dessa biomassa. A alteração da cristalinidade da celulose do bagaço de sisal e da biomassa pré-tratada demonstraram através do DRX ser celulose típica I com picos característicos em  $2\theta = 14,8^\circ, 15,2^\circ, 21,5^\circ, 24,3^\circ$  e  $35,8^\circ$ , que correspondem a 101, 101, 021, 002 e 004 dos planos de difração, respectivamente (Wen *et al.*, 2017). Os pré-tratamentos não alteraram a posição dessas zonas de cristalinidade, indicando que a estrutura cristalina das biomassas não sofreu alterações significativas, com os pré-tratamentos utilizados. Além disto, quando comparado as cristalinidades dos pré-tratamentos com a biomassa in-natura, podemos observar que as biomassas pré-tratadas apresentam cristalinidade mais elevada. O aumento da cristalinidade pode ser atribuído principalmente a forte remoção da lignina amorfa e das hemiceluloses durante os processos de pré-tratamento (YANG, Y. *et al.*, 2018).

A espectrometria na região do infravermelho responde a excitação da radiação a números de onda entre  $4000\text{ cm}^{-1}$  a  $600\text{ cm}^{-1}$ . A diferença de intensidade entre os feixes de referência e os feixes transmitidos mede a quantidade de radiação absorvida. Os números de onda de absorção referem-se ao modo de vibração, da

diferença do momento dipolar nesta mesma ligação (REGIANI *et al.*, 2001). A partir desta informação é possível estimar a função química a qual pertence cada composto. Esta técnica foi utilizada para a identificação dos grupos funcionais presentes nas estruturas da biomassa residual verde de sisal e a biomassa pós-tratamento químico. Sendo, as principais características deste espectro ligadas a presença da lignina, hemiceluloses e celulose, características de materiais lignocelulósicos (IGISU *et al.*, 2022; MOTHÉ; DE MIRANDA, 2009).

Figura 24 - DRX pré-tratados e in-natura

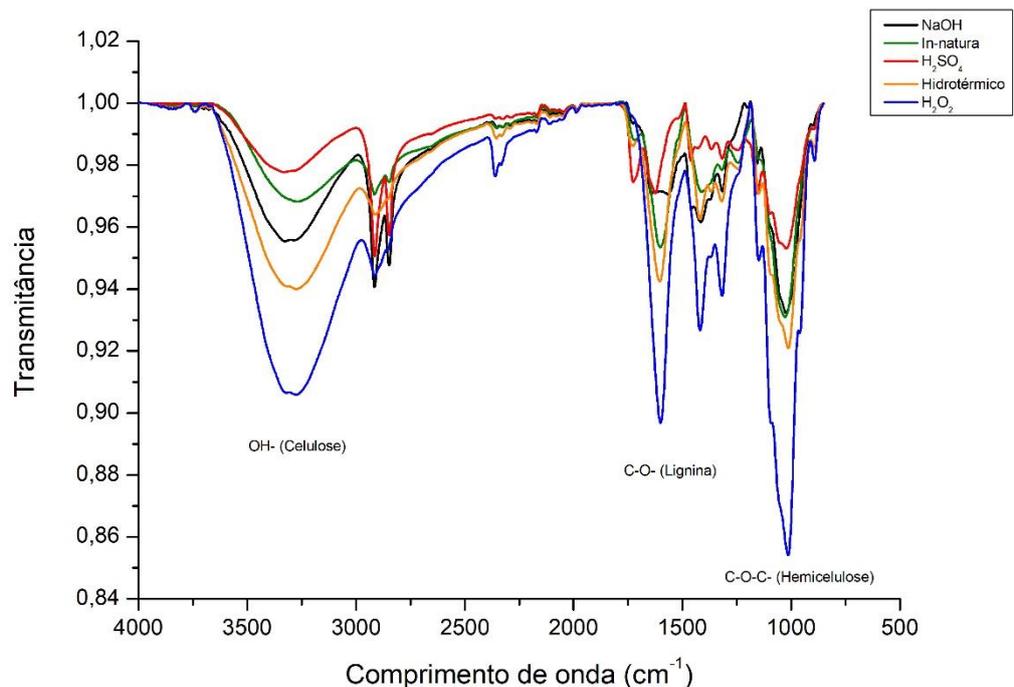


Fonte: A Autora (2023)

Foram realizados o FT-IR das biomassa in-natura e dos pré-tratamentos (**Figura 25**). Entre as bandas  $3000\text{ cm}^{-1}$  de  $3600\text{ cm}^{-1}$  é relacionado a deformação axial das ligações O-H, na biomassa residual do sisal com e sem pré-tratamento esse pico foi identificado em  $3315\text{ cm}^{-1}$ . Também presentes nos picos entre  $3000\text{ cm}^{-1}$  a  $2800\text{ cm}^{-1}$  pelas vibrações do estiramento de C-H do metileno (CH<sub>2</sub>) e metil (CH<sub>3</sub>), para a biomassa de sisal ocorreu em  $2888\text{ cm}^{-1}$ . Estes grupos também estão presentes nos picos  $1460\text{ cm}^{-1}$ , pela movimentação do CH<sub>2</sub> e são decorrentes dos

grupos alcanos. No pico  $1423\text{ cm}^{-1}$ , encontramos a deformação simétrica de  $\text{CH}_2$  da celulose. Podemos observar também picos por volta de  $1520\text{ cm}^{-1}$  que surgem pelo estiramento das ligações  $\text{C}=\text{C}$  das estruturas aromáticas. O pico em  $1721\text{ cm}^{-1}$  é característico da banda carbonila ( $\text{C}=\text{O}$ ), atribuído à hemiceluloses, presente nesse resíduo. A região de  $1625\text{ cm}^{-1}$  está relacionada à lignina (XU et al., 2013), particularmente a ligação  $\text{C}-\text{O}$  do anel siringil, presente em sua composição. A banda em  $1243\text{ cm}^{-1}$  está relacionada as ligações  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$  na cadeia da celulose. Na região  $1155\text{ cm}^{-1}$ , é um pico relativo à deformação assimétrica de  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ , relativo a presença hemiceluloses e celulose (IGISU et al., 2022; MOTHÉ; DE MIRANDA, 2009).

Figura 25 - FT-IR pré-tratados e in-natura



Fonte: A Autora (2023)

## 5.2.2 Hidrólises

Os teores de carboidratos e inibidores de fermentação, presentes nos hidrolisados ácido e enzimático, para as biomassas sem pré-tratamento e pré-tratadas, são apresentados na **Tabela 7**. É possível observar que as concentrações de glicose e xilose/frutose, se mostraram maiores nos ensaios realizados na

ausência de pré-tratamento. Os dados encontrados no presente estudo, estão de acordo com os dados encontrados por Li *et al.* (2014), o qual, avaliou a hidrólise enzimática com diferentes biomassa sendo quatro delas, do gênero agave, com pré-tratamento e sem pré-tratamento. Os autores concluíram seu estudo que as biomassas analisadas apresentaram baixa recalcitrância e que não é necessário a realização de pré-tratamento com essas biomassas. O mesmo dado pode ser observado no presente estudo no qual, há a perda de carboidratos com as biomassas pré-tratadas.

Quando comparamos as duas hidrólises utilizadas observamos que, a melhor extração de hexoses é através da hidrólise enzimática, que para o presente estudo são os carboidratos de interesse. Já para a extração de pentoses a hidrólise ácida demonstrou ser a melhor hidrólise sendo, todas as hidrólises sem pré-tratamento.

A etapa de pré-tratamento representa aproximadamente 40% dos custos de produção do etanol de segunda geração (ALVIRA *et al.*, 2010). A redução dessa etapa na produção é de interesse comercial e é benéfica tanto economicamente quanto ambientalmente, além disso, a biomassa de estudo não apresenta uso socioeconômico, outra vantagem para o uso dessa biomassa para a produção de biocombustível. A hidrólise enzimática embora seja uma técnica mais cara a curto prazo, apresenta-se como metodologia com menor impacto ambiental e a longo prazo os equipamentos apresentam mais durabilidade quando comparados a hidrólise ácida (COSTA *et al.*, 2021). Vale ressaltar que após a hidrólise ácida não foi necessário ajustar o pH pois, a biomassa residual verde de sisal tem efeito tampão (pH 4,6). O mesmo efeito foi observado na hidrólise enzimática (pH 4,8) na qual, não foi utilizado solução tampão, nessa metodologia foi utilizado água deionizada. Possivelmente, essa característica deva estar ligada a liberação de Ca, Mg e K presentes na biomassa (**Tabela 7**). Porém, novos estudos devem ser realizados para a verificação desse achado.

Tabela 7 - Caracterização dos açúcares presente pós-hidrólises

Pré-tratamento	Hidrólise ácida (g/L)				Hidrólise enzimática 50°C (g/L)			
	Sacarose	Glicose	Xilose/Frutose	Arabinose	Sacarose	Glicose	Xilose/Frutose	Arabinose
<b>In-Natura</b>	NI	37,94±0,65 <sup>a</sup>	87,07±7,83	14,8±0,61	19,77±0,86	94,35±16,63 <sup>a</sup>	31,14±13,61	NI
<b>H2SO4</b>	NI	2,84 ±2,3 <sup>b</sup>	14,84±12,06	9,61±10,16	NI	43,81±21,13 <sup>b</sup>	NI	NI
<b>H2O/°C</b>	NI	11,84±2,35 <sup>c</sup>	54,94±3,92	8,19±0,27	NI	32,26±9,86 <sup>b</sup>	49,28±7,64	NI
<b>NaOH</b>	NI	0,63±0,3 <sup>b</sup>	5,76±0,65	2,85±0,45	NI	NI	NI	NI
<b>H2O2</b>	2,43±0,21	NI	14,67±0,66	5,49±0,10	NI	5,75±2,83 <sup>c</sup>	3,56±0,36	NI

Fonte: A Autora (2023)

NI: não identificado; As indicações a, b e c, ao lado dos respectivos valores de glicose, representam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,005$ ).

Na etapa de hidrólise, outro fator importante da mucilagem de sisal é a liberação das saponinas. A biomassa residual verde de sisal é rica em terpenos e, em meio aquoso sob agitação acima de 30°C, há a liberação das saponinas (RIBEIRO; COELHO; MARRUCHO, 2013; SIDANA; SINGH; SHARMA, 2016). A temperatura de 50°C, é a temperatura ótima para a liberação das saponinas e a melhor temperatura para a atividade enzimática da celulase. Nesse contexto, a remoção dessas saponinas é necessária antes da etapa de hidrólise. A hidrólise enzimática foi aplicada na biomassa com as saponinas e na biomassa pós-extração. A menor liberação das saponinas ocorreu a 45°C por 48h sob agitação a 150 rpm. No entanto, a essa temperatura ocorreu a formação de celobiose (30,42 g/L), o que torna inviável o uso dessa temperatura. Com o uso da mucilagem pós-extração das saponinas, a melhor resposta em glicose foi a 50°C por 48 horas e sob agitação, a 150 rpm, com a formação de 0,4 g/L de celobiose e sem a formação de bolhas (indicador da presença das saponinas). Contudo, novos estudos devem ser realizados para a verificação e identificação das saponinas presentes na mucilagem de sisal.

Além das saponinas, o agave possui grandes quantidades de açúcares livres e polifrutoses. Durante o crescimento das plantas cactáceas, são formados vários carboidratos solúveis, não estruturais, que servem como reserva energética (MIELENZ *et al.*, 2015). O presente trabalho não removeu esses açúcares e, conseqüentemente, foram obtidos altos teores de carboidratos na fase de hidrólise. Em outras palavras, a resposta da hidrólise está relacionada à presença natural de açúcares livres mais os carboidratos celulares (celulose hidrolisada).

Dentre os inibidores produzidos, o Furfural foi a fração com menor representatividade para ambos os tipos de hidrólise. Na hidrólise ácida a biomassa é afetada tanto quimicamente como fisicamente, a xilose é rapidamente degradada a

furfural e outros produtos de condensação e a glicose pode ser degradada em hidroximetilfurfural e outros produtos (COSTA *et al.*, 2021). Conforme podemos observar na **tabela 8**, a hidrólise ácida apresenta a pior resposta na liberação de inibidores. Esses inibidores, por sua vez, afetam negativamente a ação da levedura, gerando glicerol no lugar do etanol.

Tabela 8 - Inibidores de fermentação identificados nos hidrolisados

Hidrólises/Inibidores	HMF (g/L)	Furfural (g/L)	Ácido acético (g/L)
Hidrólise ácida	1,78	1,508	16,32
Hidrólise enzimática	0,0958	0,0782	11,09

Fonte: A Autora (2023)

### 5.3 CONVERSÃO TERMOQUÍMICA

Após a aplicação das hidrólises ácidas e enzimáticas duas frações foram produzidas: a sólida e a líquida. A fração líquida é empregada no processo de fermentação, porém, a fração sólida não é utilizada no processo fermentativo. Tendo em vista, uma biorrefinaria, foi aplicado o processo de conversão termoquímica para o uso do biocarvão como adsorvente de inibidores de fermentação (HMF, furfural e ácido acético) assim como, imobilizador de colônia microbiana. Nesta sessão, iremos discutir a produção e a caracterização dos biocarvões obtidos.

#### 5.3.1 Pirólise

Aproximadamente 30% da mucilagem inicial é convertida em resíduo sólido, pós hidrólise ácida e enzimática. Podemos observar na **tabela 9** a caracterização dessas biomassas. A remoção das frações de celulose e hemiceluloses acarretam na concentração da fração lignina a qual, é importante para a produção e qualidade do biocarvão. Os elementos Ca ( $7,4 \pm 1,14$ ), K ( $5,2 \pm 0,89$ ) e Mg ( $3,1 \pm 1,22$ ) apresentam redução quando comparados a biomassa inicial. Essa liberação na fração líquida (hidrolisado) é responsável pelo efeito tampão que ocorre na hidrólise. Em ambos os hidrolisados, o pH foi mensurado em 4,6 que para a hidrólise ácida torna-se um fator de interesse para a indústria uma vez que, não é necessário neutralizar a reação. E para a hidrólise enzimática não foi necessário a aplicação de solução tampão na reação, o uso de água destilada é suficiente para que ocorra a reação enzimática.

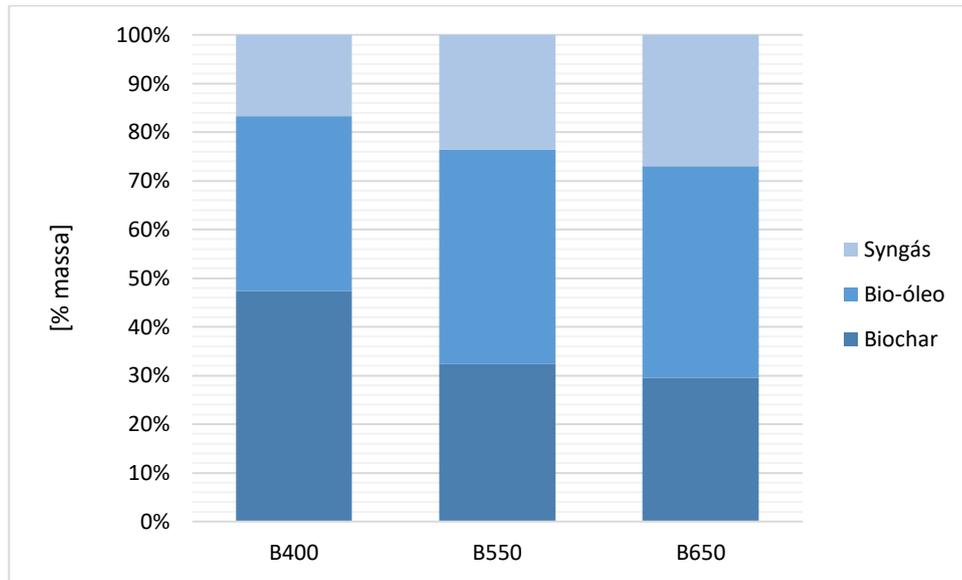
Tabela 9 - Caracterização das biomassas pós-hidrólises

Caracterizações	Análises	Biomassa hidrólise ácida	Biomassa hidrólise enzimática
<b>Caracterização química</b>	Lignina	42,51%	48,45%
	α-Celulose	21,14%	6,89%
	Hemiceluloses	9,94%	6,30%
	Extrativos totais	12,75%	27,68%
<b>Caracterização imediata</b>	Cinzas	5,21%	3,41%
	Umidade	7,00%	7,42%
	Fibras	24,13%	20,12%
	Proteínas	7,00%	6,31%
	C	32,92%	41,12%
	N total	1,12%	1,01%
	Ca	2,9 g/Kg	4,8 g/Kg
	Mg	0 g/Kg	0,5 g/Kg
	K	0,1 g/Kg	1,8 g/Kg

Fonte: A Autora (2023)

A conversão da biomassa residual pós-hidrólise apresentou a mesma proporção de conversão da biomassa residual verde de sisal, em biocarvão, bio-óleo e Gases da pirólise (**Figura 26**). Com maior produção da fase sólida na menor temperatura a 400°C (47,31% de biocarvão, 35,95% de bio-óleo e 16,74% de Gases da pirólise). As menores temperaturas tendem a ter maior rendimento em biocarvão e temperaturas maiores aumentam o rendimento do Gases da pirólise e bio-óleo (RÓZ et al., 2015).

Figura 26 - Rendimento médio dos produtos de pirólise



Fonte: A Autora (2023)

### 5.3.1.1 Caracterização do Biocarvão

Os teores de carbono (C), hidrogênio (H), oxigênio (O) e nitrogênio (N) elementar dos biocarvões obtidos estão descritos na **tabela 10**.

Tabela 10 - Análise elementar biocarvões dos hidrolisados

Biocarvão	Carbono	Hidrogênio	Oxigênio	Nitrogênio	Enxofre	H/C	O/C	Poder calorífico [Kj/Kg]
HE400	57,99%	7,83%	30,18%	0	0	0,135	0,520	24.768,70
HE550	51,34%	6,63%	38,03%	0	0	0,129	0,740	19.360,61
HE650	51,85%	6,31%	37,84%	0	0	0,121	0,729	19.104,17
HA400	46,43%	6,27%	43,28%	0	0,02%	0,135	0,932	16.229,96
HA550	48,45%	6,20%	42,31%	0	0,03%	0,128	0,873	17.169,46
HA650	46,02%	5,65%	39,29%	0	0,03%	0,122	0,853	15.011,64

Fonte: A Autora (2023)

HE: Hidrólise enzimática; HA: Hidrólise ácida

A análise de caracterização dos biocarvões produzidos foram realizadas através do diagrama de Van Krevelen, através do qual, as razões anatômicas molares de H/C e O/C devido a diferença das temperaturas utilizadas e tipos de biomassas ocasionaram diferentes graus de intensidade de carbonização na atmosfera reacional controlada (LENG *et al.*, 2019). O aumento do teor de carbono e a diminuição dos teores de oxigênio e hidrogênio resultam na diminuição das frações

molares de H/C e O/C, conforme a temperatura pirolítica aumenta (CAO *et al.*, 2014; ENDERS *et al.*, 2012). A razão H/C é utilizada para descrever o grau de carbonização, pois, o hidrogênio está associado a matéria orgânica da biomassa. A fração O/C está relacionada a hidrofiliabilidade da superfície do biocarvão que indica a presença de grupos polares. A aromaticidade da estrutura carbonácea está relacionada a esta fração sendo a fração O/C baixa indicando que a superfície do biocarvão é mais aromática e menos hidrofílica, pela perda dos grupos funcionais polares em temperaturas mais elevadas (CROMBIE *et al.*, 2013). Portanto, a fração O/C é um indicador de polaridade do biocarvão e a fração H/C é um indicador de grau de carbonização da biomassa.

Com o avanço do grau de carbonização da biomassa via pirólise ocorre a redução gradativa dos teores de hidrogênio e oxigênio, através da desidrogenação. Ao mesmo período, há o aumento gradativo do conteúdo de carbono e conseqüentemente a formação do material carbonáceo poroso (JINDO *et al.*, 2014). Tendo como efeito, aumento da aromaticidade com a formação de estruturas gráficas e redução da polaridade devido a perda dos grupos funcionais oxigenados.

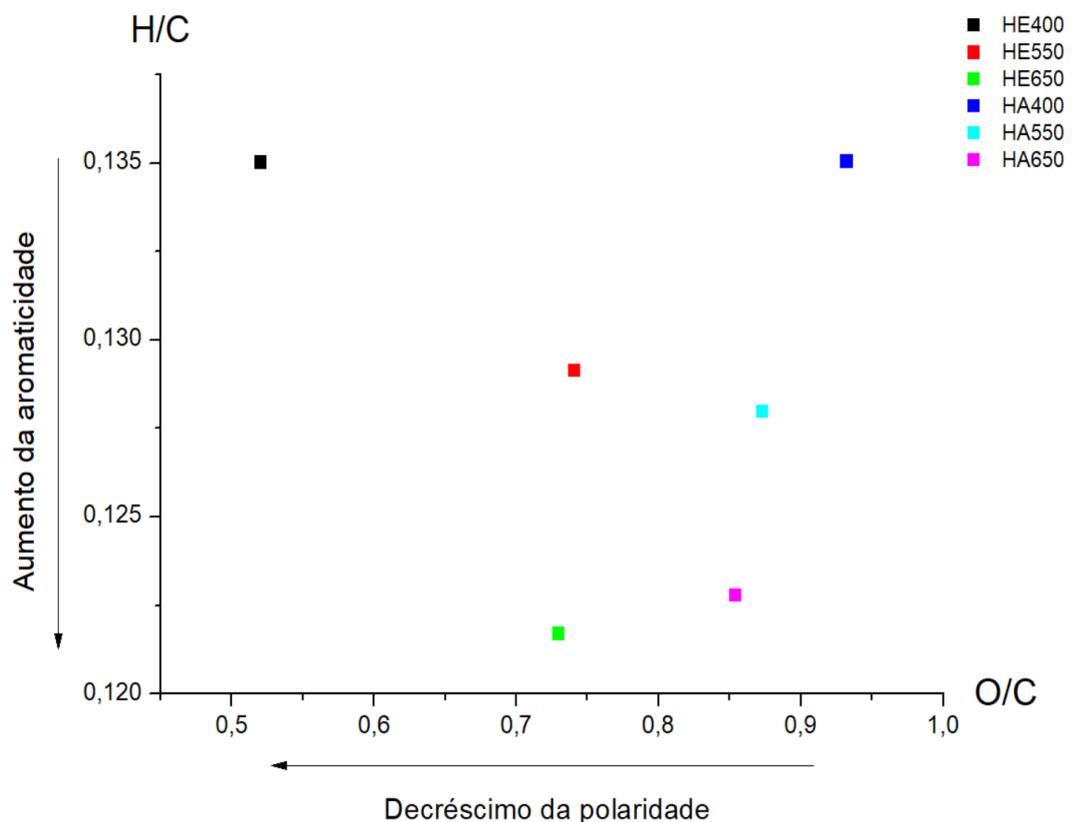
A relação O/C do biocarvão pode indicar a presença de mais grupos funcionais como hidroxilas, carboxilas e carbonilas, os quais podem contribuir para o aumento da capacidade de troca de cátions (CTC), que representa a carga superficial negativa dos biocarvões (JIANG *et al.*, 2012). E a depender o material a ser adsorvido o pH e a porosidade do biocarvão são características fundamentais para sua aplicação.

A análise comparativa, no sentido da direita para esquerda, conforme setas ilustradas na Figura 27, evidencia o decréscimo de polaridade (relativo ao eixo x) que ocorre simultaneamente ao aumento da aromaticidade (relativo ao eixo y). Em conseqüência tem-se o correspondente aumento da aromaticidade e conteúdo de carbono, do biocarvão em formação. Nesse contexto, os biocarvões da hidrólise enzimática apresentaram melhor resposta para a estabilidade, carbonização e menor polarização. Sendo, o biocarvão produzido a 650°C com melhores características a partir do diagrama de Van Krevelen. Para a adsorção dos inibidores de fermentação (HMF, furfural e ácido acético) que são substâncias polares, os biocarvões da hidrólise enzimática, por serem mais apolares, apresentam como melhores biocarvões para essas substâncias. Os biocarvões da hidrólise ácida apresentaram maior polaridade entre os biocarvões analisados que por sua vez,

para o material de adsorção estudado, não são indicados. Porém, para a adsorção são necessárias outras características como a porosidade e o tamanho da área superficial.

O processo de adsorção de um composto depende de três fatores: a natureza do adsorvente e seu modo de ativação, a natureza do adsorvato e das condições do processo de adsorção (temperatura, pH, agitação, relação adsorvato/adsorvente, entre outros). Além disso, os efeitos ao qual o sistema está sujeito são outros fatores importantes para que ocorra a adsorção. Dentre eles as interações eletrostáticas, efeito hidrofóbico, frações carbonizadas e não carbonizadas, que a depender do composto apresenta diferentes mecanismos de adsorção (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Dentre os estudos analisados o principal efeito na adsorção está a atração eletrostática para com os contaminantes orgânicos.

Figura 27 - Diagrama de Van Krevelen para avaliar decréscimo dos valores das razões



Fonte: A Autora (2023)

Outro fator importante a partir desta análise é a possibilidade de certificação IBI (International Biochar Initiative) a qual, estabeleceu padrões para a produção do biocharvão. Nesta certificação, o IBI determina que o valor máximo da razão H/C deve

ser de até 0,7 e que para o produto carbonáceo produzido seja reconhecido como biocarvão deve ter a porcentagem de carbono orgânico maior que 10% (%Corg >10%). Além disso, os biocarvões são classificados em: Classe 1: %C  $\geq$  60%; classe 2: 30%  $\leq$  %C < 60% e classe 3: 10%  $\leq$  %C < 30%. Neste contexto, o produto carbonáceo produzido com a biomassa residual das hidrolises são realmente biocarvões e são de classe 2.

A análise superficial dos biocarvões foram realizadas através da técnica de Brunauer, Emmett e Teller (BET). Os dados obtidos estão descritos na **tabela 11**.

Tabela 11 - Análise superficial BET/BJH

<b>Biocarvão</b>	<b>BET (m<sup>2</sup>/g)</b>	<b>BJH (m<sup>2</sup>/g)</b>	<b>Volume de poros (cm<sup>3</sup>/g)</b>	<b>Tamanho médio dos poros (nm)</b>
HE400	0,348	0,481	0,000322	2,6772
HE550	0,269	0,292	0,000450	27,5218
HE650	0,013	0,005	0,000520	3,9442
HA400	1,330	1,180	0,002929	9,9282
HA550	3,021	2,117	0,020763	39,2388
HA650	1,507	1,499	0,016207	43,2567

Fonte: A Autora (2023)

Os poros são classificados em microporos, mesoporos e macroporos. Os macroporos são os poros com diâmetro maior que 50nm, o volume desses poros fica entre 0,2 a 0,5 cm<sup>3</sup>/g e sua área superficial é entre 0,5 a 2 m<sup>2</sup>/g. Esses poros por ter baixa área específica normalmente não são considerados relevantes para a adsorção de poluentes. Os mesoporos, também chamados poros de transição, possuem diâmetro entre 2nm a 50nm e são importantes na adsorção de substâncias com moléculas maiores. Já os microporos apresentam diâmetro menor que 2nm, com volume entre 0,15 a 0,50 cm<sup>3</sup>/g, esses poros são responsáveis pela adsorção de substâncias com moléculas menores (IUPAC, 1985). É importante salientar que, cada tipo de poro exibe uma função específica no processo de adsorção.

Os biocarvões produzidos apresentam baixa área superficial, que são características de biomassas residuais. Quanto aos tipos de poros, os biocarvões apresentam majoritariamente mesoporos e macroporos. Nos biocarvões da hidrólise ácida podemos observar maior área superficial, esse dado está relacionado ao início da ativação que ocorre durante o processo de hidrólise, ativação ácida, porém, como

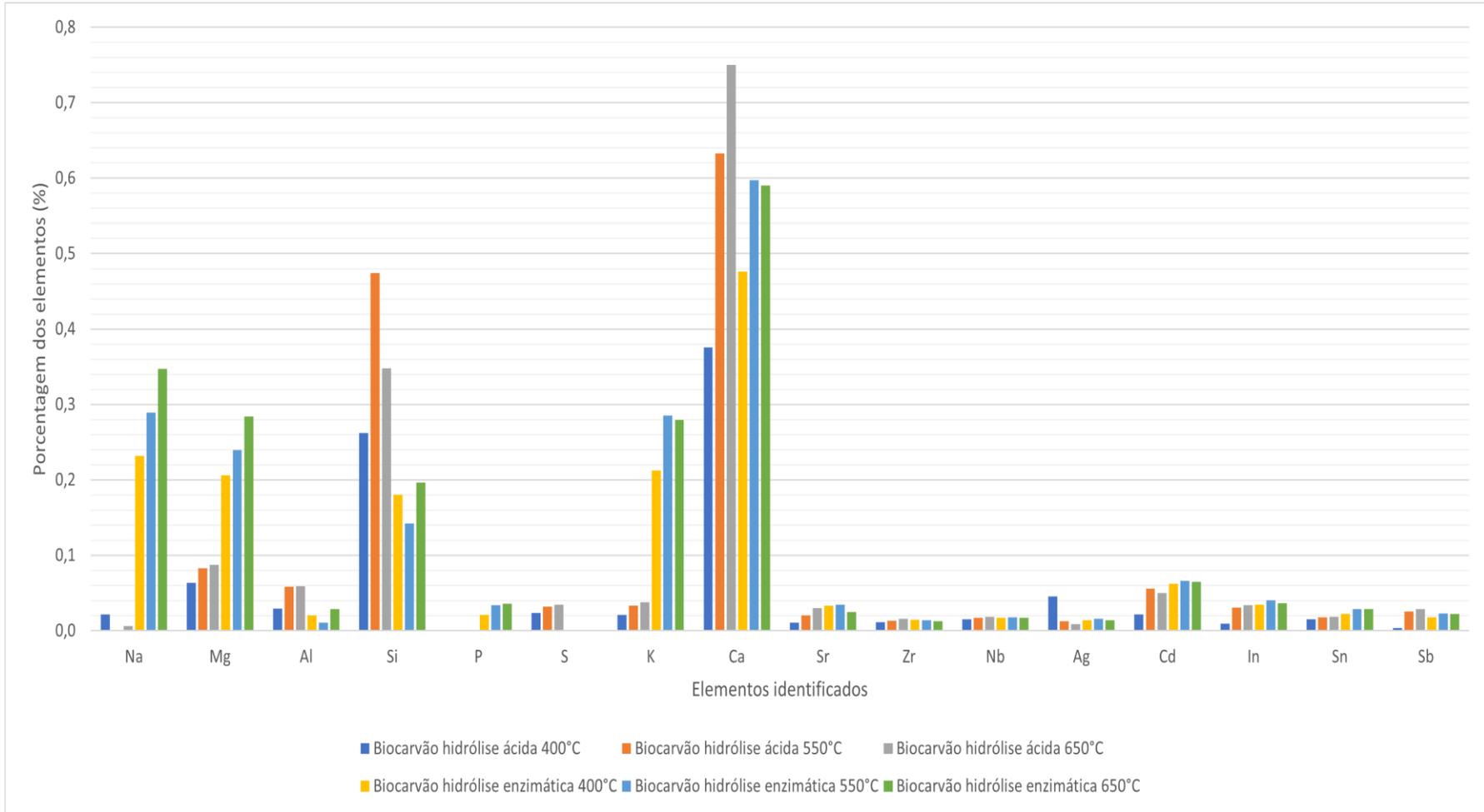
a área é baixa, menor que 300 m<sup>2</sup>/g não pode ser considerado uma ativação do biocarvão (YANG, 1997).

Segundo Zhu *et al.* (2014), a área superficial e o volume de poros elevado geralmente promovem a adsorção de compostos orgânicos, devido ao efeito de preenchimento dos poros. Contudo, para os presentes biocarvões que apresentam área superficial e volume de pores baixos, essa afirmativa não é o principal fator que afeta a adsorção dos inibidores da fermentação (furfural, HMF e ácido acético).

Através da fluorescência de raios X por energia dispersiva, elementos como cálcio (Ca), Magnésio (Mg), potássio (K), sódio (Na), silício (Si), entre outros foram identificados nas amostras de biocarvão. Os resultados apresentados na **figura 28**, resumizam as análises quantitativas da análise EDXRF em porcentagem de massa da composição dos biocarvões com diferentes temperaturas de síntese. Pode-se observar que à medida em que aumenta a temperatura da pirólise maiores são as concentrações de Mg, K e Ca. Outro elemento presente nos biocarvões em grandes concentrações foi o silício (Si) o qual, é o segundo maior elemento nos biocarvões da hidrólise ácida. O silício é considerado como elemento benéfico por estar relacionado ao aumento da capacidade fotossintética, aumento da resistência ao acamamento, redução das taxas transpiratórias, resistências a pragas e doenças, redução do efeito tóxico do Mn, Fe, Al e Na, além do aumento na absorção de outros elementos como fósforo (LANA *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2021). A presença do silício é possível ser observado a olho nu pelo brilho emitido pelo biocarvão.

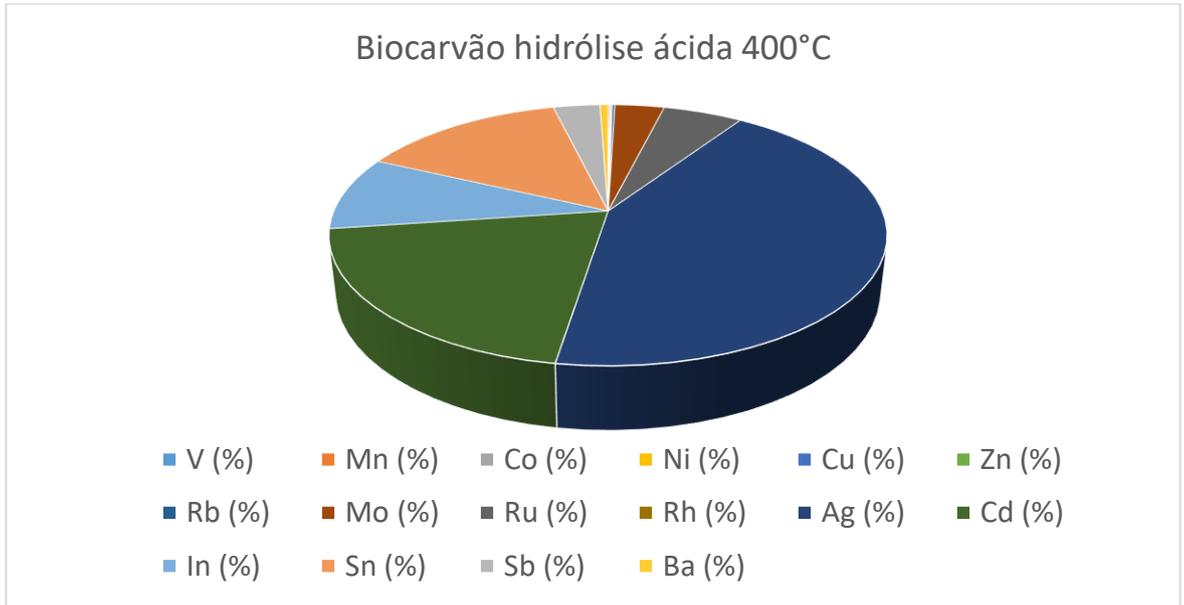
O elemento enxofre (S) que foi identificado no biocarvão da hidrólise ácida, está vinculado a hidrólise que utilizou o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> como reagente, pois, esse elemento não está presente na biomassa in-natura.

Figura 28 - Análise multi-elementar dos biocarvões



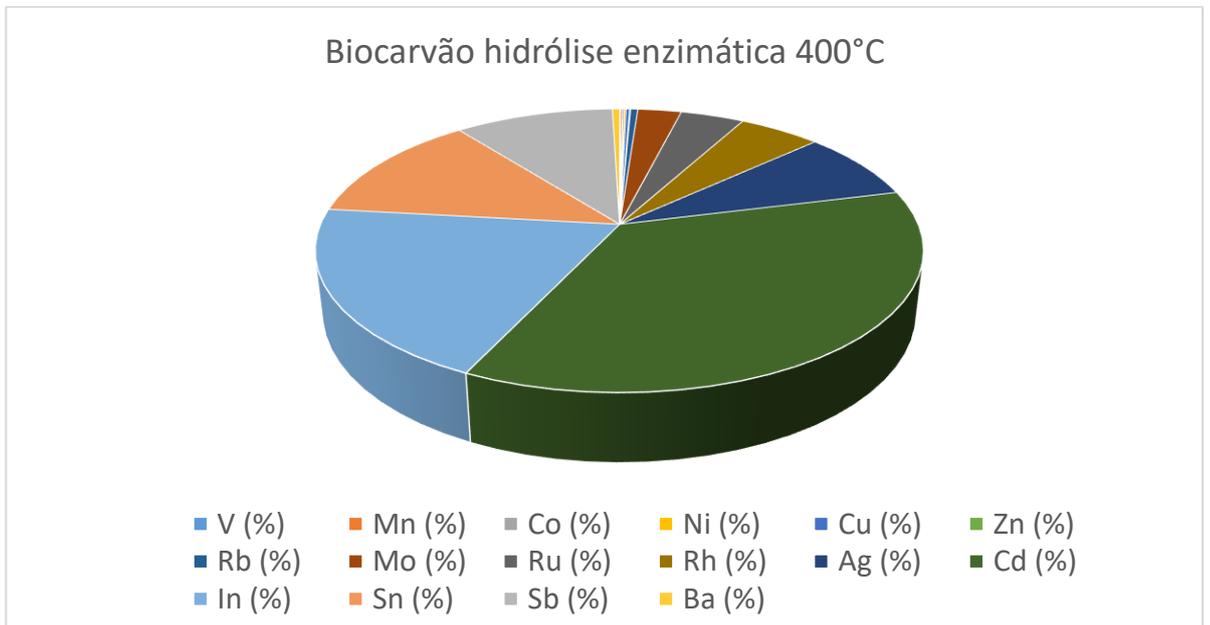
Fonte: A Autora (2023)

Figura 29 - Metais pesados identificados biocarvão da hidrólise ácida a 400°C



Fonte: A Autora (2023)

Figura 30 - Metais pesados identificados biocarvão da hidrólise enzimática a 400°C



Fonte: A Autora (2023)

Dentre os biocarvões produzidos, o biocarvão a 400°C da hidrólise ácida foi o único a apresentar composição diferenciada, dos metais pesados. Este biocarvão apresentou porcentagem maior de prata seguido do cádmio e estanho (**Figura 29**). Os outros biocarvões seguiram a mesma proporção do biocarvão da hidrólise

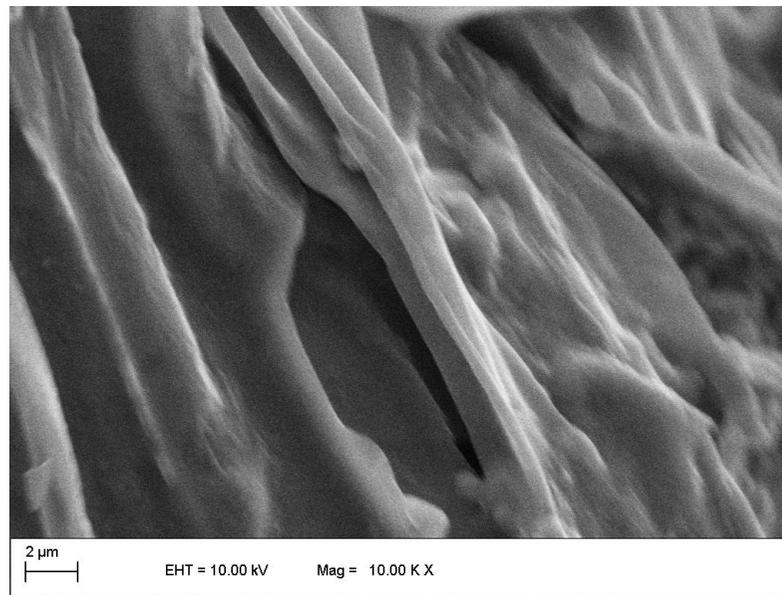
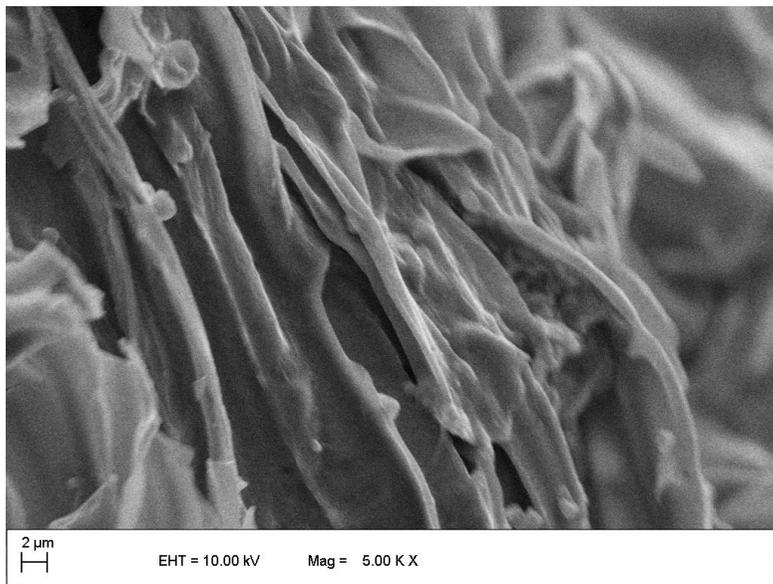
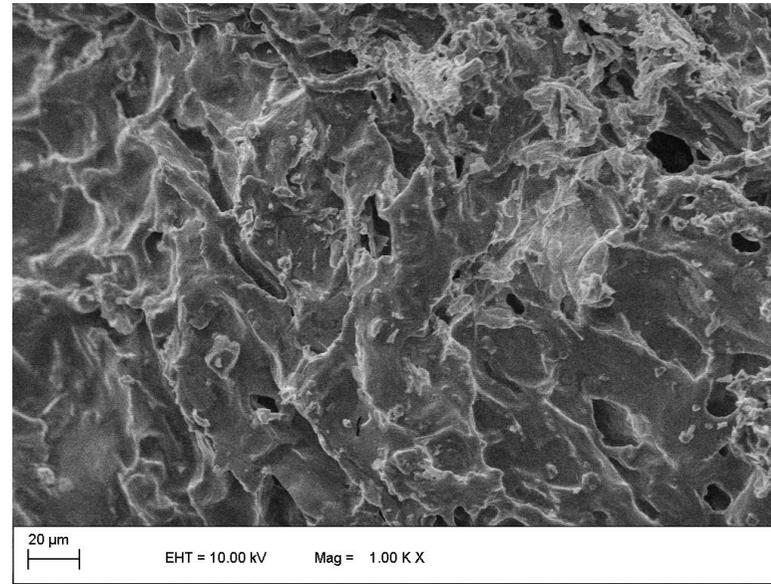
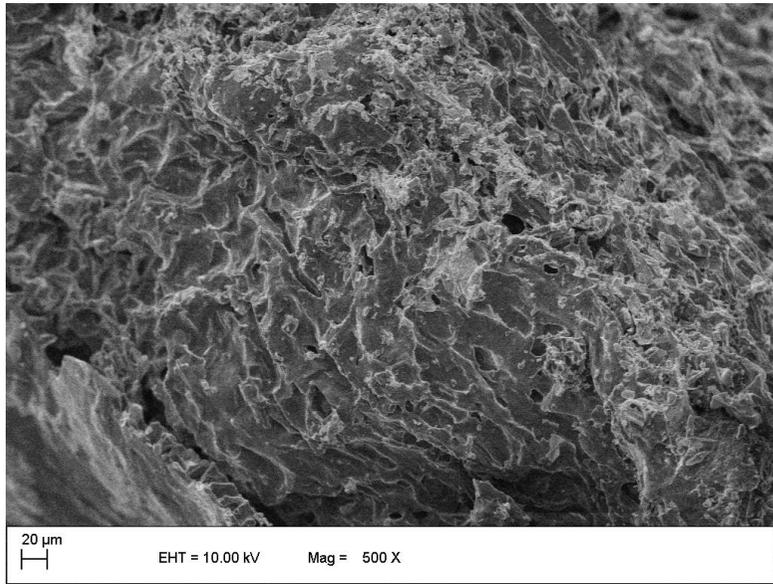
enzimática, na constituição dos metais pesados com maior porcentagem de cádmio, índio e estanho (**Figura 30**).

A concentração do cádmio foi maior no biocarvão da hidrólise enzimática produzido a 550°C com 0,0663% da composição deste biocarvão. E com menor concentração no biocarvão da hidrólise ácida a 400°C, com 0,0214% da composição dos metais pesados. O cádmio é um elemento químico altamente poluente no meio ambiente e sua presença na agricultura está ligada diretamente com os agroquímicos fosfatados, utilizados no manejo cultural das culturas. Segundo o CONAMA 420/2009, a concentração máxima permitida para áreas agrícolas é de 3mg/Kg valor muito maior que o encontrado no biocarvão com maior concentração desse metal pesado, 0,663 mg/Kg. Neste contexto, os biocarvões estão com quantidades muito abaixo (4,5 vezes menor) do limite recomendado pelo CONAMA, o que torna o uso desse biocarvão aplicável como adsorvente mesmo com a presença desse metal pesado.

Nas figuras 31 e 32, podemos observar a microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos biocarvões das hidrólises ácidas e enzimática produzidos a 550°C. A morfologia desses biocarvões apresentam superfície rugosa que é consequência do processo térmico, assim como a porosidade da superfície que é devido a liberação da matéria volátil durante a carbonização.

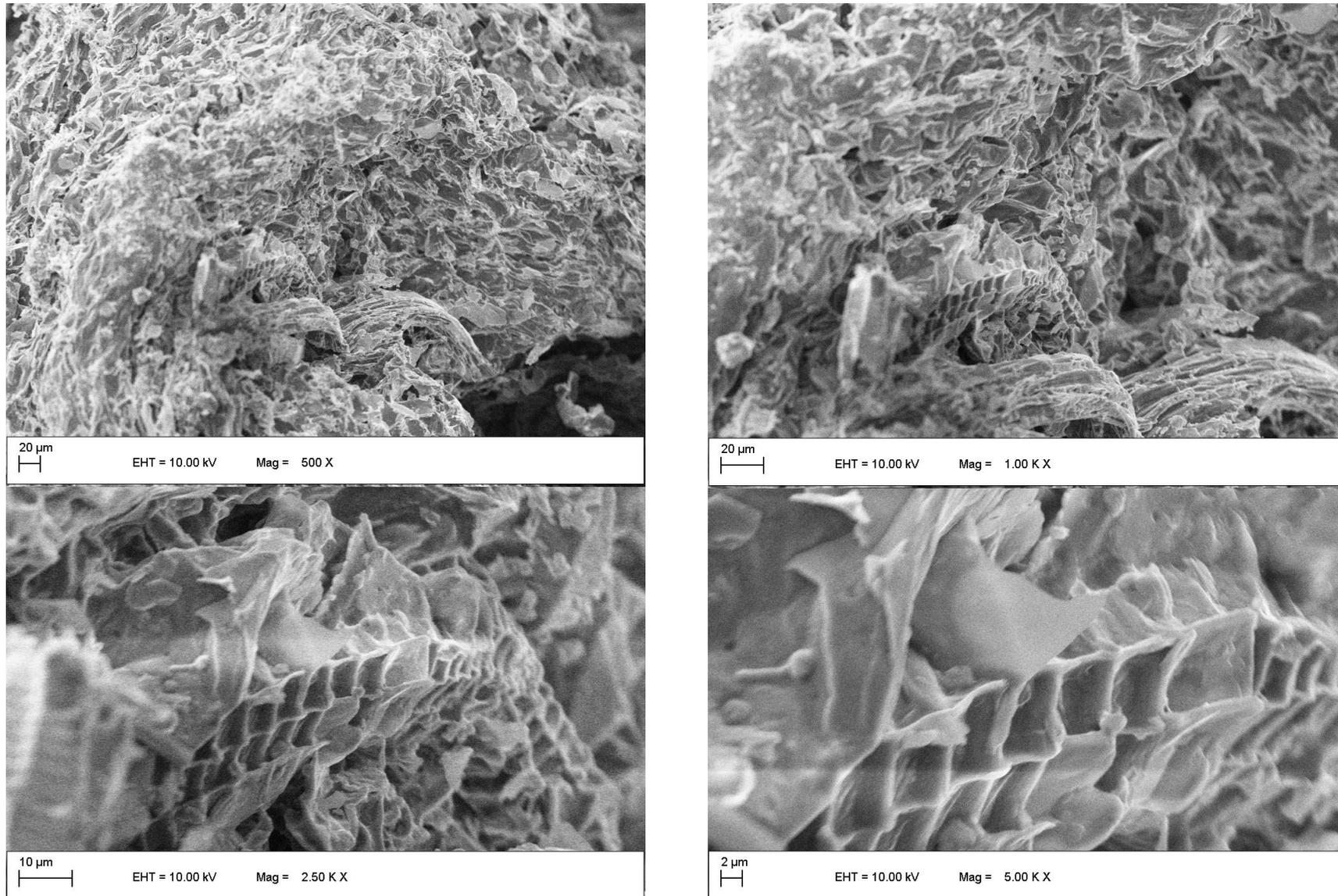
Quando observamos os dois biocarvões é nítido a diferença na estrutura superficial entre as duas biomassas residuais das hidrólises. No biocarvão da hidrólise ácida a superfície é menos porosa que a o biocarvão da hidrólise enzimática. Além disso, o biocarvão da hidrólise enzimática apresenta arcabouços na sua superfície. Esses arcabouços foram identificados no trabalho de (AGUILLÓN, 2018). Neste trabalho Aguillón trabalhou com a *Agave fourcroydes*, que assim como a *Agave sisalana*, é utilizada para a extração de fibras, foi investigado o processo de pirólise e gaseificação da folha, tronco e pedúnculo floral. Esses arcabouços podem ser utilizados tanto para a adsorção de compostos como para a colonização das leveduras fermentadoras. Contudo, novas análises devem ser realizadas para investigar o uso desses espaços em meios aquosos.

Figura 31 - Imagens via MEV da estrutura do biocarvão da hidrólise ácida a 550°C



Fonte: A Autora (2023)

Figura 32 - Imagens via MEV da estrutura do biocarvão da hidrólise enzimática a 550°C



Fonte: A Autora (2023)

### 5.3.1.2 Caracterização termoquímica

As curvas de TG-DTG para a decomposição térmica, sob atmosfera de N<sub>2</sub>, dos biocarvões das biomassas hidrolisadas com ácido e enzima, são apresentadas nas figuras 34 e 35, respectivamente. Nos biocarvões produzidos a 400°C podemos observar quatro estágios, que são típicos da decomposição térmica da matéria orgânica. Para esses biocarvões a perda de massa mais pronunciada ocorre entre os 450°C a 700°C.

No segundo estágio observamos a decomposição das hemiceluloses e posteriormente a celulose, que ocorrem entre a temperatura de 450 °C a 650°C, com perda de massa de 35%. O estágio final de decomposição, que ocorre após 650°C, está relacionado a decomposição da lignina. Em temperaturas mais elevadas a estrutura do biocarvão sofre transição de fase, o que ocasiona o aparecimento do grafite (GAI *et al.*, 2021).

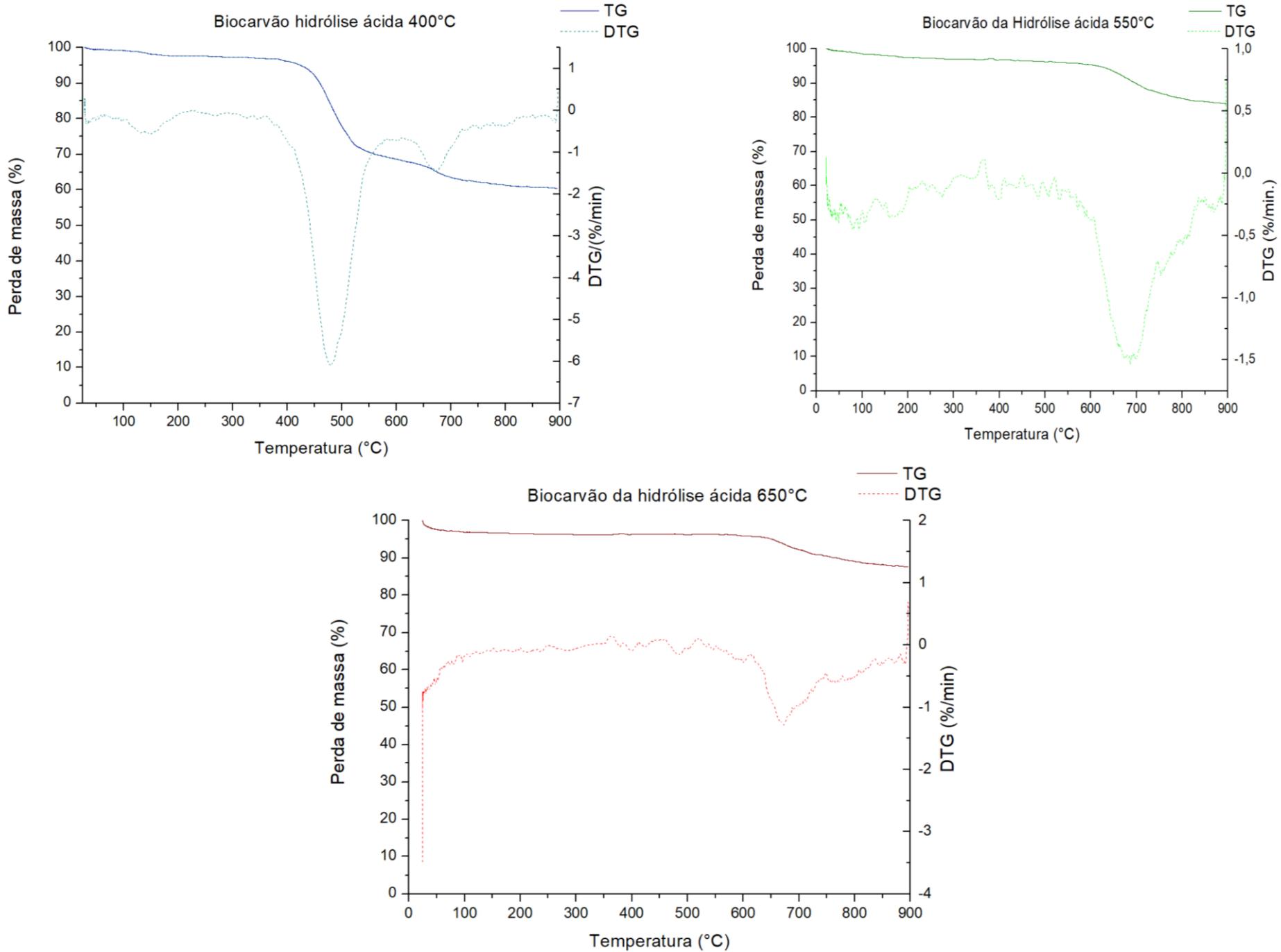
Para os biocarvões produzidos a 550°C e 650°C da hidrólise ácida apresentaram menor perda de massa e apenas dois estágios. Nesses biocarvões há pouca presença de hemiceluloses e celulose. Nos biocarvões da hidrólise enzimática apresenta maior perda de massa, que possivelmente é decorrente da lignina residual do processo de pirólise e tamanho granulométrico do biocarvão (**figura 33**).

Figura 33 - Biocarvões da hidrólise enzimática



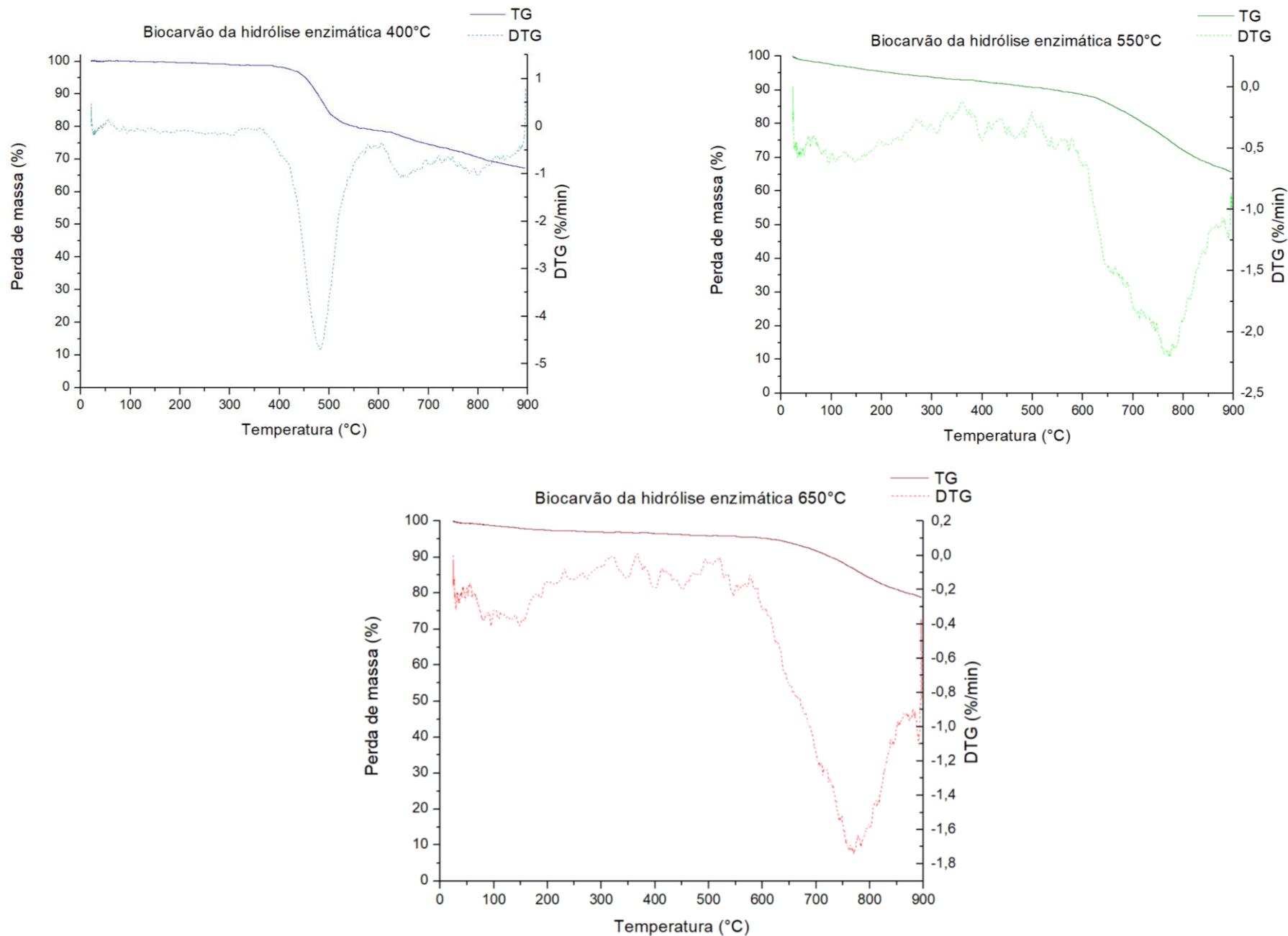
Fonte: A Autora (2023).  
a) BHE400, b) BHE550, c) BHE650

Figura 34 - Decomposição térmica dos biocarvões da hidrólise ácida



Fonte: A Autora (2023)

Figura 35 - Decomposição térmica dos biocarvões da hidrólise enzimática



Fonte: A Autora (2023)

### 5.3.1.3 Adsorção de inibidores

Para os testes de adsorção dos inibidores de fermentação com os biocarvões podemos observar na **tabela 12** a resposta final após o período de contato entre as soluções e os biocarvões. Entre as três temperaturas utilizadas para a produção do biocarvão com as biomassas residuais das hidrólises, não houve diferença estatística significativa ( $p > 0,005$ ) para a adsorção do furfural e ácido acético, para ambas as biomassas. Quando observamos a adsorção do HMF pelos biocarvões da hidrólise enzimática as temperaturas 550 e 650°C apresentaram as melhores respostas a adsorção. Os biocarvões da hidrólise ácida apresentaram as piores resposta a adsorção de furfural e HMF, nesses dois inibidores as respostas foram quase zero. Para os biocarvões de ambas as hidrólises têm baixa capacidade adsorptiva para o ácido acético contudo, este inibidor apresenta outras formas de remoção, como o uso do roto-evaporador.

Tabela 12 - Concentração final dos inibidores após 24 horas

Biocarvão/ Inibidores	Furfural (g/L)	HMF (g/L)	Ácido acético (g/L)
Concentração inicial	1	1	3
HE400	0,108±0,0005 <sup>a</sup>	0,306±0,0151 <sup>a</sup>	2,7991±0,3114 <sup>a</sup>
HE550	0,107±0,0002 <sup>a</sup>	0,003±0,0005 <sup>b</sup>	2,1085±0,0787 <sup>a</sup>
HE650	0,107±0,0001 <sup>a</sup>	0,003±0,0080 <sup>b</sup>	2,7092±0,2617 <sup>a</sup>
HA400	0,896±0,1004 <sup>b</sup>	1,0±0,0075 <sup>c</sup>	2,7844±0,1617 <sup>a</sup>
HA550	1,0±0,2427 <sup>b</sup>	1,0±0,0319 <sup>c</sup>	2,7287±0,1236 <sup>a</sup>
HA650	0,929±0,0984 <sup>b</sup>	1,0±0,0135 <sup>c</sup>	2,8913±0,1145 <sup>a</sup>

Letras iguais correspondem a médias iguais ao nível de 5% de acordo com o teste de Tukey.  
Fonte: A Autora (2023).

Após 24 horas de contato entre os biocarvões e os inibidores observamos que o biocarvão da hidrólise enzimática a 550°C adsorveu 89,3% da solução inicial do furfural, 99,7% da solução do HMF e 29,71% da solução do ácido acético. Monlau *et al.* (2015), avaliaram a aplicação do biocarvão produzido a partir de digestato seco e obtiveram a remoção de 94% do 5-HMF e 99% do furfural após 24 h de contato com hidrolisado de milho e hidrolisado de madeira. Resultados próximos ao encontrado pelo presente estudo, além disso, o mesmo autor sugere que a adsorção do ácido acético não é eficiente com a utilização de biocarvão.

Os inibidores formados durante o pré-tratamento podem ter efeito sobre a hidrólise enzimática contudo, o principal produto que afeta diretamente a ação enzimática é a lignina e produtos derivados da lignina (ALVIRA *et al.*, 2010; JU *et al.*, 2014). Esse composto forma uma barreira física impedindo a digestibilidade de parte do substrato ou reduzindo a atividade da celulase (MES-HARTREE; SADDLER, 1993; TENGBORG; GALBE; ZACCHI, 2001). Nesse contexto, a mucilagem de sisal apresenta-se como material pouco recalcitrante e com pouca lignina, favorecendo a ação enzimática sem pré-tratamentos, conforme observamos na tabela 7.

Todavia, os inibidores têm ação sobre as levedura e bactérias, utilizadas na fermentação. Tendo isto em vista, os biocarvões dos respectivos hidrolisados foram aplicados na fermentação com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

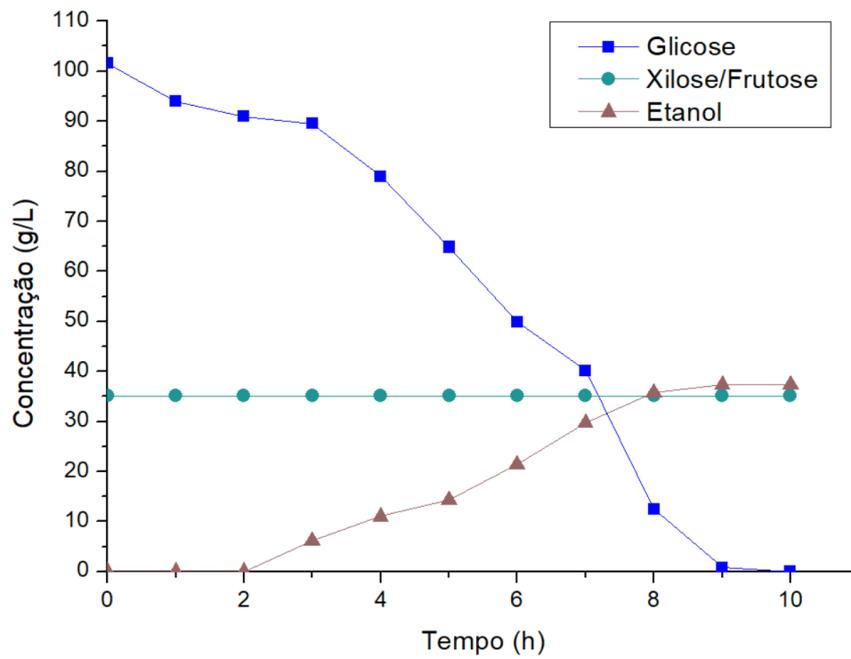
## 5.4 CONVERSÃO BIOLÓGICA

### 5.4.1 Fermentação

O efeito positivo do biocarvão na colônia microbiana são atribuídas as suas características físicas como os poros presente em sua estrutura. Neste caso, os poros do biocarvão servem como refúgio aos microrganismos protegendo-os de fatores como acidez, dessecação e predação (JINDO *et al.*, 2012; WARNOCK *et al.*, 2007). Além disto, sua capacidade de adsorção e o efeito tampão são outros fatores que favorecem e protegem a colônia microbiana em diferentes meios (LEHMANN; JOSEPH, 2009; ROUSK *et al.*, 2010).

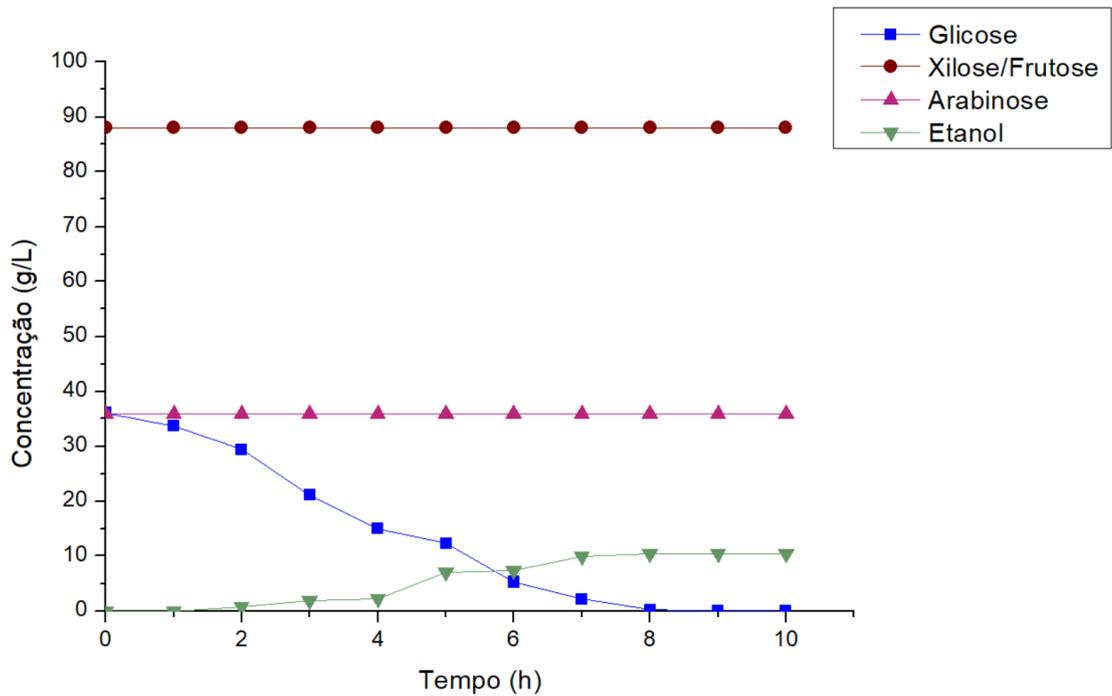
A cinética da produção do etanol a partir do hidrolisado enzimático e ácido podem ser observados nas figuras 36 e 37, respectivamente. A melhor conversão da glicose foi com a presença do biocarvão produzido a 550°C, com eficiência de 97,85% e produção de aproximadamente 52 g/L de etanol, no hidrolisado enzimático (**tabela 13**). A fermentação do hidrolisado ácido apresentou melhor rendimento com a presença do biocarvão a 550°C, com eficiência de 90,96% e produção de aproximadamente 17 g/L de etanol. Porém, a adsorção dos inibidores de fermentação HMF e furfural não houve adsorção significativa. Ou seja, este biocarvão não tem propriedades adequadas para adsorver estes tipos de compostos contudo, novos estudos devem ser realizados para investigar sua melhor aplicação.

Figura 36 - Produção do etanol com o hidrolisado enzimático



Fonte: A Autora (2023)

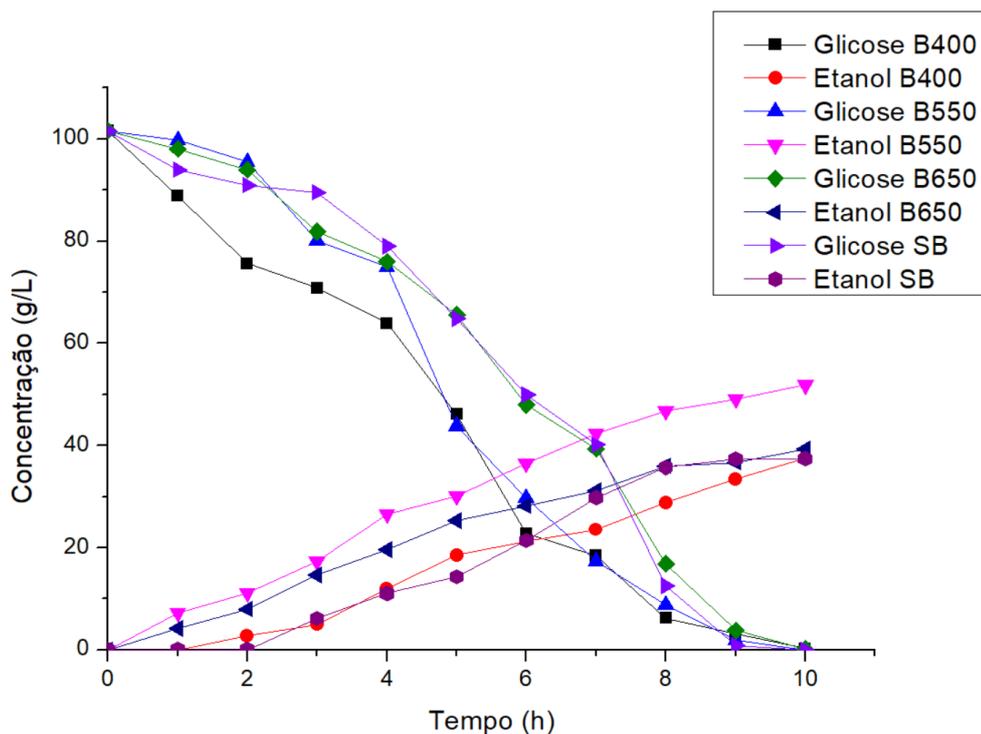
Figura 37 - Cinética de fermentação com hidrolisado ácido



Fonte: A Autora (2023)

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre a fermentação sem biocarvão e as fermentações com os biocarvões a 400°C e a 650°C, da hidrólise enzimática, na produção de etanol. Porém, os biocarvões adsorveram o HMF e furfural e parcialmente o ácido acético (**tabela 13**). Na fermentação com biocarvão a 550°C possivelmente, ocorreu além da adsorção dos inibidores a proteção e desenvolvimento da colônia microbiana. Wang et al. (2020), analisaram a presença do biocarvão na fermentação com *Zymomonas mobilis* e sob estresse por HMF e furfural. Nesse estudo, observaram que a presença do biocarvão favoreceu a fermentação e diminuiu o tempo fermentativo. Além disso, os tratamentos com biocarvão aumentaram a eficiência de conversão, corroborando com o presente estudo.

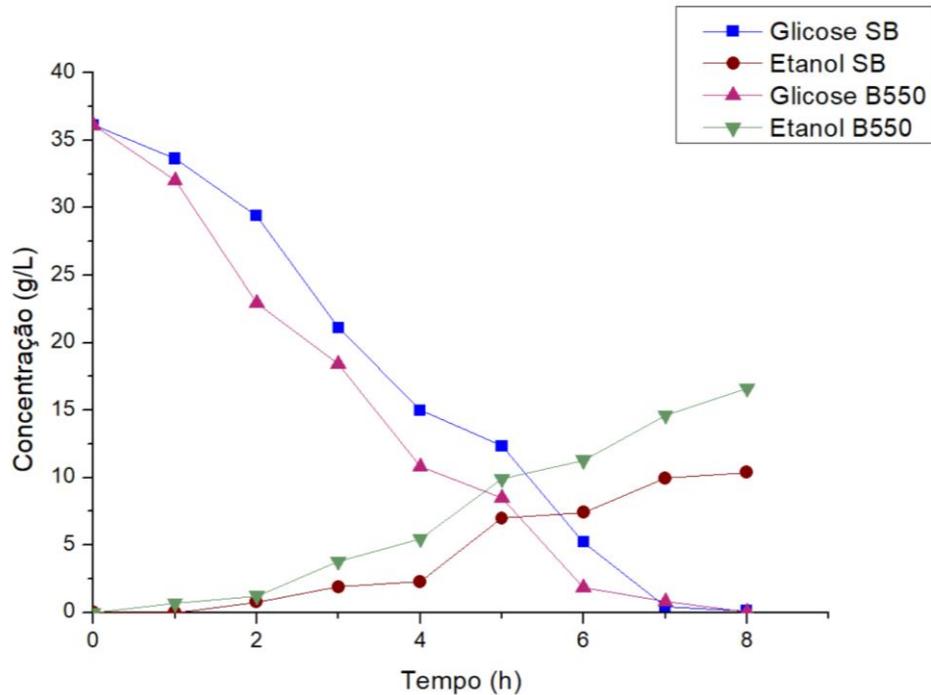
Figura 38 - Fermentação com os biocarvões da hidrólise enzimática



Fonte: A Autora (2023)

Podemos observar na figura 38 e 39 a diminuição do início do tempo de fermentação, aumento na produção total com a presença dos biocarvões e adsorção dos inibidores de fermentação, fatores fundamentais para o uso dessa técnica no meio industrial. Além disso, a fermentação com a presença do biocarvão não acrescenta etapas na produção industrial fator importante, economicamente, para a sua utilização na produção de etanol celulósico com a mucilagem do sisal.

Figura 39 - Fermentação com o biocarvão da hidrólise ácida



Fonte: A Autora (2023).

Láinez et al. (2019), analisaram a fermentação com folhas de *A. salmiana* para a produção de etanol usando pré-tratamento ácido-alcalino e sacarificação enzimática. A concentração de glicose foi de  $50,88 \pm 0,54$  g/L e produziu 24,15 g/L de etanol após 24 horas de fermentação. Delfin-Ruíz et al. (2021), analisaram a sacarificação enzimática do bagaço de *Agave tequilana* e *Agave karwinskii*. A concentração inicial de glicose da *Agave tequilana* foi de 100,06 g/L e 60 g/L na *Agave karwinskii*, 47,30 g/L e 27,27 g/L de etanol foram produzidos a partir das respectivas glicoses, usando *Saccharomyces cerevisiae* e com 24 horas de fermentação.

A diferença entre as concentrações de glicose e etanol podem estar relacionadas às diferentes espécies utilizadas, ao manejo cultural das culturas, à idade da planta e ao tipo de biomassa utilizada. No presente trabalho, foi utilizada a mucilagem do sisal, ou seja, a biomassa verde residual após a extração da fibra do sisal. Esse tipo de biomassa não apresenta estudos específicos para a produção de energia; portanto, são necessários novos estudos para analisar os resultados.

Delfin-Ruíz et al. (2021), identificaram a concentração inicial de 9,14 g/L de ácido acético no hidrolisado de *Agave tequilana*. No *Agave karwinskii*, foram

determinados 4,94 g/L de ácido acético. No presente estudo, as concentrações de ácido acético foram determinadas para o hidrolisado ácido em  $17,56 \pm 1,83$  g/L e para o hidrolisado enzimático em  $12,05 \pm 0,3$  g/L. Essas concentrações não afetaram o metabolismo da levedura; no entanto, é necessário analisar a remoção dessa fração e sua relação com a fermentação.

Tabela 13 - Parâmetros da fermentação do hidrolisado enzimático com e sem biocarvão

Parâmetros fermentativos	Sem biocarvão HA	Biocarvão HA550°C	Sem biocarvão HE	Biocarvão HE400°C	Biocarvão HE550°C	Biocarvão HE650°C
Yp/s (g/g)	0,29	0,46	0,36	0,34	0,5	0,38
Ef (%)	56,86	90,27	71,46	65,71	97,85	74,82
Qp (g/L/h)	1,04	1,66	3,72	3,42	5,1	3,9
Etanol (g/L)	10,39	16,63	37,47	34,46	51,82	39,24
Glicose residual (g/L)	0,14	0,02	0,4	0,23	NI	0,13
HMF residual (g/L)	1,80	1,23	0,0982	0,0439	0,0097	0,012
Furfural residual (g/L)	1,51	1,19	0,04	0,008	NI	0,005
Ácido acético (g/L)	17,56	16,73	12,05	11,17	8,02	11,09

Fonte: A Autora (2023)

NI: Não identificado; Y p/s = rendimento da produção de etanol, em relação ao consumo de carboidratos; Qp = produtividade volumétrica; Ef = eficiência de fermentação. HA: hidrólise ácida; HE: hidrólise enzimática.

Por fim, o Brasil tem aproximadamente 101 mil hectares de sisal plantados distribuídos entre os estados da Bahia, Rio grande do Norte e Paraíba (IBGE, 2021). No ano de 2021, foram produzidos 98 mil toneladas de fibras das quais, estima-se que produziram 1.869.657 toneladas de resíduos, os quais, foram em sua maior parte depositada próximas as áreas de extração da fibra (QUEIROGA *et al.*, 2021). Estimando com os dados encontrados para a fermentação sem biocarvão, o Nordeste brasileiro está deixando de produzir 64 milhões de litros de etanol, por ano. Com o a presença do biocarvão esse volume sobre para 88 milhões de litros de etanol, por ano.

Tendo isto em vista, é possível produzir etanol no semiárido brasileiro e que sua produção não compete com a produção de alimentos e a biomassa a ser utilizada não apresenta interesse financeiro ou social. Espera-se que a partir desses dados, novos projetos e financiamentos, com essa cultura possam ser realizados.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho comprova a possibilidade de produzir etanol de segunda geração com a biomassa residual verde de sisal a partir, da hidrólise enzimática e sem pré-tratamento químico. A aplicação da hidrólise diretamente na mucilagem de sisal sem pré-tratamentos é um fator importante para com esta biomassa, favorecido pela baixa recalcitrância como a baixa quantidade de lignina. A carga de biomassa ideal é de 23% e que para a fermentação com hexoses a hidrólise enzimática é a melhor metodologia quando comparada a hidrólise ácida que mesmo otimizada produz baixa quantidade de glicose e grandes quantidades de inibidores de fermentação. Porém, em caso de uso das pentoses a melhor resposta está na hidrólise ácida.

Outro ponto fundamental nessa pesquisa foi a possibilidade da utilização do resíduo da hidrólise para a produção de biocarvão que demonstrou ser de excelente qualidade para a aplicação como adsorvente de inibidores assim como, na melhoria da colônia microbiana. O uso do biocarvão da hidrólise enzimática com compostos mais apolares há melhor resposta para com os biocarvões da hidrólise ácida, que apresentam maior polaridade. Além disso, a aplicação dos biocarvões diretamente na fermentação é uma opção para o aumento da produção de etanol e possivelmente de outros compostos de interesse. Houve maior produção de etanol (51,8 g/L) de etanol com a presença do biocarvão da hidrólise enzimática, com seu respectivo hidrolisado e aceleração no início do processo fermentativo. Outro ponto interessante foi a colonização do biocarvão pela levedura.

Por fim, são necessários mais estudos com essa biomassa para a sua aplicação para a produção de biocombustíveis assim como, na biotecnologia ambiental. Novas tecnologias e metodologias devem ser desenvolvidas para que esse processo seja ainda mais viável garantindo assim, o desenvolvimento socioeconômico da região semiárida brasileira. Além disso, a aplicação do biocarvão pós-fermentação em outras etapas como: biodigestão, aplicação do digestato com o biocarvão, viabilidade econômica do processo e cálculo de crédito de carbono.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, Caroline Mariana; LUCENA, Sérgio Luiz. Produção de celulasas por *Aspergillus niger* e cinética da desativação celulásica. **Acta Scientiarum. Technology**, [s. l.], v. 33, n. 4, p. 385–391, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v33i4.10204>
- AGUILLÓN, Lee Guin. **Estudio de los procesos de Piorisis-Gasificación de residuos agrícolas del cultivo de henequén**. 1–74 f. 2018. - Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C, [s. l.], 2018. Disponível em: [https://www.cambridge.org/core/product/identifier/CBO9781107415324A009/type/book\\_part](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/CBO9781107415324A009/type/book_part)
- ALENCAR, Bárbara Ribeiro Alves *et al.* Enzymatic hydrolysis of cactus pear varieties with high solids loading for bioethanol production. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 250, n. October 2017, p. 273–280, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.042>
- ALENCAR, Bárbara Ribeiro Alves *et al.* Recycling the liquid fraction of alkaline hydrogen peroxide in the pretreatment of corn stover. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 241, p. 928–935, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.022>
- ALVES, Maria Odete; SANTIAGO, Eduardo Girão; LIMA, Antonio Renan Moreira. **Diagnóstico socioeconômico do setor sisaleiro do Nordeste do Brasil Banco do Nordeste do Brasil**. Fortaleza: [s. n.], 2005.
- ALVIRA, P. *et al.* Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 101, n. 13, p. 4851–4861, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.093>
- ANDRADE, Robson; ORNELAS, Jackson; BRANDÃO, Weilton. Situação atual do sisal na Bahia e suas novas possibilidades de utilização e aproveitamento. **Revista Bahia Agrícola**, [s. l.], v. 9, n. 01, p. 14–19, 2011. Disponível em: [http://www.seagri.ba.gov.br/sites/default/files/3\\_comunicacao01v9n1.pdf](http://www.seagri.ba.gov.br/sites/default/files/3_comunicacao01v9n1.pdf)
- BADGER, PC. Ethanol from cellulose: A general review. **Trends in new crops and new uses**, [s. l.], p. 17–21, 2002. Disponível em: <http://large.stanford.edu/publications/coal/references/docs/badger.pdf>
- BEZAZI, A. *et al.* Novel extraction techniques, chemical and mechanical

- characterization of Agave Americana L. natural fibres. **Composites: Part B Engineering**, [s. l.], v. 66, p. 194–203, 2014.
- BRASIL. **Portaria nº 71, de 16 de março de 1983** Brasília, Brasil: Ministério da agricultura pecuária e abastecimento, 1983. p. 9.
- BROWNING, G. L. **Methods in Wood Chemistry**. 1. ed. New York: INTERSCIENCE PUBLISHERS INC, 1967.
- BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. **Silage science and technology**. Wisconsin: American Society of Agronomy, 2003.
- CABEZA, A. *et al.* Autocatalytic kinetic model for thermogravimetric analysis and composition estimation of biomass and polymeric fractions. **Fuel**, [s. l.], v. 148, p. 212–225, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.01.048>
- CANTALINO, Adalberto; TORRES, Ednildo Andrade; SILVA, Marcelo Santana. Sustainability of sisal cultivation in Brazil using co-products and wastes. **Journal of Agricultural Science**, [s. l.], v. 7, n. June, p. 64–74, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.5539/jas.v7n7p64>
- CAO, Xuefei *et al.* Comparative study of the pyrolysis of lignocellulose and its major components: Characterization and overall distribution of their biochars and volatiles. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 155, p. 21–27, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.006>
- CARDOSO, M.S. Panorama tecnológico de uso de resíduos do sisal. **SEMIOSES: Inovação, Desenvolvimento e Sustentabilidade**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 13–23, 2019.
- CODES SISAL, conselho regional de desenvolvimento rural sustentável da região sisaleira do estado da Bahia. **Plano territorial de desenvolvimento sustentável do sisal**. Bahia: Codes Sisal, 2010.
- COLLING, Luana Caroline. **Avaliação da atividade antifúngica de saponinas de Quillaja brasiliensis (A.St.-Hil. & Tul.) Mart.** 2017. [s. l.], 2017.
- COSTA, Bruna Ezequielle Bernardes *et al.* Comparison between chemical and enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass for bioethanol production: A review. **Revista Virtual de Química**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 242–259, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200140>
- CROMBIE, Kyle *et al.* The effect of pyrolysis conditions on biochar stability as determined by three methods. **GCB Bioenergy**, [s. l.], p. 81–226, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/gcbb.12030>
- DE MEDEIROS, Lorena Lucena *et al.* Efficient hydrolysis of cellulosic biomass into

- free sugars for a future development processing a biorefinery context. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 16, n. July, p. 448–452, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.09.004>
- DELFIN-RUÍZ, M. E. *et al.* Ethanol Production from Enzymatic Hydrolysates Optimized of Agave tequilana Weber var. azul and Agave karwinskii bagasses. **Bioenergy Research**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 785–798, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12155-020-10196-7>
- DIAS, Acácia Batista *et al.* Potencial de indicação geográfica do sisal na Bahia. **Cadernos de Prospecção**, [s. l.], v. 8, p. 174–181, 2015.
- DINDA, B. *et al.* Naturally occurring triterpenoid saponins. **Chemistry & Biodiversity**, [s. l.], v. 7, n. 10, p. 2327–2580, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cbdv.200800070>
- DURÁN, Alexandra G. *et al.* Agave steroidal saponins as potential bioherbicides. **Agronomy**, [s. l.], v. 11, n. 12, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy11122404>
- EMBRAPA. Cultivo do Sisal no Nordeste Brasileiro. **Circular Técnica**, [s. l.], v. 123, p. 1–24, 2008.
- ENDERS, Akio *et al.* Characterization of biochars to evaluate recalcitrance and agronomic performance. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 114, p. 644–653, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.022>
- FARAVELLI, T. *et al.* Detailed kinetic modeling of the thermal degradation of lignins. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 290–301, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2009.10.018>
- FRANCIS, G. *et al.* The biological action of saponins in animal systems: a review. **The British Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 88, n. 6, p. 587–605, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/BJN2002725>
- GAI, Lili *et al.* Evolution of biomass to porous graphite carbon by catalytic graphitization. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. 106678, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106678>
- GIRISUTA, B. *et al.* A kinetic study of acid catalysed hydrolysis of sugar cane bagasse to levulinic acid. **Chemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 217, p. 61–70, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.11.094>
- HERNÁNDEZ-VÁZQUEZ; *et al.* Hydrothermal pretreatment of agave bagasse for biomethane production: Operating conditions and energy balance. **Biomass and**

**Bioenergy**, [s. l.], v. 142, n. 105753, p. 9, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105753>

HOSSEINAEI, Omid *et al.* Effects of hemicellulose extraction on properties of wood flour and wood-plastic composites. **Composites Part A: Applied Science and**

**Manufacturing**, [s. l.], v. 43, n. 4, p. 686–694, 2012. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2012.01.007>

HUBER, George W.; IBORRA, Sara; CORMA, Avelino. Synthesis of transportation fuels from biomass: Chemistry, catalysts, and engineering. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 106, n. 9, p. 4044–4098, 2006. Disponível em:

<https://doi.org/10.1021/cr068360d>

IGISU, Motoko *et al.* Spatial distribution of organic functional groups in Ediacaran acritarchs from the Doushantuo Formation in South China as revealed by micro-FTIR spectroscopy. **Precambrian Research**, [s. l.], v. 373, n. January, p. 106628, 2022.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.precamres.2022.106628>

IUPAC, INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY.

**REPORTING PHYSISORPTION DATA FOR GAS/SOLID SYSTEMS with Special Reference to the Determination of Surface Area and Porosity Pure & Appl.**

**Chem.** [S. l.: s. n.], 1985. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pola.26338>.

JIANG, Tian Yu *et al.* Adsorption of Pb(II) on variable charge soils amended with rice-straw derived biochar. **Chemosphere**, [s. l.], v. 89, n. 3, p. 249–256, 2012.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.028>

JINDO, Keiji *et al.* Biochar influences the microbial community structure during manure composting with agricultural wastes. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 416, p. 476–481, 2012. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.12.009>

JINDO, Keiji *et al.* Physical and chemical characterization of biochars derived from different agricultural residues. **Biogeosciences**, [s. l.], v. 11, n. 23, p. 6613–6621, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5194/bg-11-6613-2014>

JU, Xiaohui *et al.* Investigating commercial cellulase performances toward specific biomass recalcitrance factors using reference substrates. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 98, n. 10, p. 4409–4420, 2014. Disponível em:

<https://doi.org/10.1007/s00253-013-5450-4>

KAMPMAN, Bettina *et al.* **BUBE: Better use of biomass for energy - background report to the position paper of IEA RETD and IEA bioenergy** IEA RETD and IEA

**Bioenergy**. [S. l.: s. n.], 2010.

KASCHUK, Joice Jaqueline. **BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA COMO FONTE DE AÇÚCARES FERMENTESCÍVEIS E DE MATERIAIS : SACARIFICAÇÃO DE FIBRAS DE SISAL E PREPARAÇÃO DE**. 210 f. 2019. - Universidade de São Paulo-USP, [s. l.], 2019.

KESSELMEIER, J.; URBAN, B. Subcellular localization of saponins in green and etiolated leaves and green protoplasts of oat (*Avena sativa* L.). **Protoplasma**, [s. l.], v. 114, n. 1, p. 133–140, 1983.

KOEPPEN, W. **Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra**. Mexico: DF: Fondo de Cultura Econômica, 1948.

KUHAD, R. C. *et al.* Bioethanol production from pentose sugars: Current status and future prospects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 15, n. 9, p. 4950–4962, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.07.058>

LÁINEZ, Magdiel *et al.* Bioethanol production from enzymatic hydrolysates of Agave salmiana leaves comparing *S. cerevisiae* and *K. marxianus*. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 138, p. 1127–1133, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.02.058>

LAMBERT, E.; FAIZAL, A.; GEELEN, D. Modulation of triterpene saponin production: in vitro cultures, elicitation, and metabolic engineering. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s. l.], v. 164, n. 2, p. 220–237, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12010-010-9129-3>

LANA, Regina Maria Quintão *et al.* Efeito do silicato de cálcio sobre a produtividade e acumulação de silício no tomateiro. **Bioscience Journal**, [s. l.], v. 19, n. 2, p. 15–20, 2003.

LEE, Jung Myoung *et al.* Detoxification of woody hydrolyzates with activated carbon for bioconversion to ethanol by the thermophilic anaerobic bacterium *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 626–636, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.10.021>

LEHMANN, Johannes; JOSEPH, Stephen. **Biochar for environmental management: An Introduction**. In: Lehmann, J., Joseph, S. (Eds.). London: Earthscan, 2009.

LENG, Lijian *et al.* Biochar stability assessment methods: A review. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 647, p. 210–222, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.402>

- LI, Hongjia; *et al.* Agave proves to be a low recalcitrant lignocellulosic feedstock for biofuels production on semi-arid lands. **Biotechnology for Biofuels**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 1–11, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-50>
- LI, Wenqian *et al.* Production and characterization of lignocellulosic fractions from sisal waste. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 160, n. July 2020, p. 113109, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113109>
- LUO, Kun *et al.* Enhanced ciprofloxacin removal by sludge-derived biochar: Effect of humic acid. **Chemosphere**, [s. l.], v. 231, p. 495–501, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.151>
- MARINELLI, Alessandra L. *et al.* Desenvolvimento de compósitos poliméricos com fibras vegetais naturais da biodiversidade: Uma contribuição para a sustentabilidade Amazônica. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 92–99, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0104-14282008000200005>
- MATHEW, Anil Kuruvilla *et al.* An evaluation of dilute acid and ammonia fiber explosion pretreatment for cellulosic ethanol production. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 199, p. 13–20, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.121>
- MEDEIROS, Lorena Lucena *et al.* Structural-chemical characterization and potential of sisal bagasse for the production of polyols of industrial interest. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 451–461, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s43153-020-00049-3>
- MES-HARTREE, M; SADDLER, J.N. The nature of inhibitory materials present in pretreated lignocellulosic substrates which inhibit the enzymatic hydrolysis of cellulose. **Biotechnol Lett**, [s. l.], v. 5, p. 531–536, 1993. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/BF01184944>
- MIELENZ, Jonathan R. *et al.* Development of Agave as a dedicated biomass source: Production of biofuels from whole plants. **Biotechnology for Biofuels**, [s. l.], v. 8, n. 1, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0261-8>
- MONLAU, F *et al.* Pyrochars from bioenergy residue as novel bio-adsorbents for lignocel- lulosic hydrolysate detoxification. **Bioresour Technol.**, [s. l.], v. 187, p. 379–386, 2015.
- MONTAGNOLI, M. S. *et al.* Determinação Da Eficiência Alcoólica De Diferentes Micro-Organismos Visando a Produção De Etanol 2G. [s. l.], n. February, p. 1124–1130, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.5151/chemeng-cobeq2014-0722->

24293-140927

MOREIRA, Marcelo Melo Ramalho;; ARANTES, Sofia Marques; ANÁLISE SOCIOECONÔMICA E AMBIENTAL DA PRODUÇÃO DE ETANOL DE MILHO NO CENTRO OESTE BRASILEIRO. **POLICY BRIEF**, [s. l.], p. 1–11, 2018.

MOTHÉ, Cheila G.; DE MIRANDA, Iara C. Characterization of sugarcane and coconut fibers by thermal analysis and FTIR. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 97, n. 2, p. 661–665, 2009. Disponível em:

<https://doi.org/10.1007/s10973-009-0346-3>

MUSSATTO, Solange I. *et al.* Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 28, n. 6, p. 817–830, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.07.001>

NIU, Hongxing; SHAH, Nilay; KONTORAVDI, Cleo. Modelling of amorphous cellulose depolymerisation by cellulases, parametric studies and optimisation. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 105, p. 455–472, 2016. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.10.017>

OLIVEIRA, Fernando Moreira Vasconcelos De. **Avaliação de diferentes pré-tratamentos e deslignificação alcalina na sacarificação da celulose de palha de cana**. 98 f. 2010. - Universidade de São Paulo (USP), [s. l.], 2010.

OLIVEIRA, Fernanda R *et al.* Environmental application of biochar: Current status and perspectives. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 246, p. 110–122, 2017.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.122>.

ONI, Babalola Aisosa; OZIEGBE, Olubukola; OLAWOLE, Obembe O. Significance of biochar application to the environment and economy. **Annals of Agricultural Sciences**, [s. l.], v. 64, n. 2, p. 222–236, 2019. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.aogas.2019.12.006>

OSMOND, C. B.; HOLTUM, J. A. M. **Crassulacean acid metabolism. in: Photosynthesis. The biochemistry of plants, a comprehensive treatise. HATCH, M. D. e BOARDMAN, N. K.** 2. ed. New York: Climate Change Biology, 1981.

PACHECO, Thályta Fraga; MENDES, Thais Demarchi. **Guia prático para caracterização de enzimas**. 1º edição. Brasília- DF: Embrapa Algodão, 2021. *E-book*.

PEDROZA, Marcelo Mendes *et al.* Aproveitamento Energético De Resíduos Sólidos Urbanos Em Processo De Pirólise. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, [s. l.], v. 6, n. 2, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.5380/rber.v6i2.46577>

PIMENTEL, Carlos. **Metabolismo de carbono na agricultura tropical**. 1. ed. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1998.

POLETTO, Matheus *et al.* Thermal decomposition of wood: Influence of wood components and cellulose crystallite size. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 109, p. 148–153, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.122>

QUEIROGA, V.P. *et al.* **Sisal (Agave sisalana, Perrine) tecnologias de palntio e utilização**. 1. ed. Campina Grande: A Barriguda, 2021.

RANA, Vikas *et al.* Preparation of alpha cellulose from sugarcane bagasse and its cationization: Synthesis, characterization, validation and application as wet-end additive. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 170, p. 793–809, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.165>

REGIANI, Anelise Maria *et al.* Cellulose derivatives as solid electrolyte matrixes. **Macromolecular symposia**, [s. l.], v. 175, n. 1, p. 45–54, 2001. Disponível em: [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/1521-3900\(200110\)175:1<45::AID-MASY45>3.0.CO;2-M](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/1521-3900(200110)175:1<45::AID-MASY45>3.0.CO;2-M)

RIBEIRO, Bernardo Dias; COELHO, Maria Alice Zarur; MARRUCHO, Isabel M. Extraction of saponins from sisal (*Agave sisalana*) and juá (*Ziziphus joazeiro*) with cholinium-based ionic liquids and deep eutectic solvents. **European Food Research and Technology**, [s. l.], v. 237, n. 6, p. 965–975, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2068-9>

ROUSK, Johannes *et al.* Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. **ISME Journal**, [s. l.], v. 4, n. 10, p. 1340–1351, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.58>

SÁNCHEZ, Óscar J.; CARDONA, Carlos A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 99, n. 13, p. 5270–5295, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.013>

SANTOS, Leônidas Canuto dos *et al.* O papel do silício nas plantas. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 10, n. 7, p. 19, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16247>

SIDANA, Jasmeen; SINGH, Bikram; SHARMA, Om P. Saponins of Agave: Chemistry and bioactivity. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 130, p. 22–46, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.06.010>

SOARES, José Hildemarcio Mendes; ARRUDA, Danilo Raimundo de; AMARANTE, Patrícia Araújo. Transformações tecnológicas e econômicas do sisal no Nordeste do

- Brasil. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 11, n. 5, p. e15611527847, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i5.27847>
- SUDENE. **Resolução nº 107, de 27 de julho de 2017** Brasília: Superintendência do desenvolvimento do nordeste (SUDENE), 2017. p. 6–7.
- SUINAGA, Fábio Akiyoshi; SILVA, Odilon Reny Ribeiro Ferreira da; COUTINHO, Wirton Macedo. **Cultivo do Sisal**. [S. l.], 2006. Disponível em: [https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio\\_sisal/arvore/CONT000fckhw7I702wx5eo0a2ndxyvn8jmrq.html](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio_sisal/arvore/CONT000fckhw7I702wx5eo0a2ndxyvn8jmrq.html). Acesso em: 11 abr. 2021.
- SUN, Shaoni *et al.* The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 199, p. 49–58, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.061>
- TENGBORG, Charlotte; GALBE, Mats; ZACCHI, Guido. Reduced inhibition of enzymatic hydrolysis of steam-pretreated softwood. **Enzyme and Microbial Technology**, [s. l.], v. 28, n. 9–10, p. 835–844, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(01\)00342-8](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00342-8)
- TRIPATHI, Nimisha *et al.* Biomass waste utilisation in low-carbon products: harnessing a major potential resource. **Climate and Atmospheric Science**, [s. l.], v. 2, n. 1, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41612-019-0093-5>
- UJIKAWA, K; PURCHIO, A. Substâncias antifúngicas, inibidoras de *Aspergillus flavus* e de outras espécies fúngicas, isoladas de *Agave sisalana* (sisal). **Cienc. Cult.**, [s. l.], v. 41, n. 2, p. 1218–1224, 1989.
- VAZ JUNIOR, Silvio. **Aproveitamento de resíduos agroindustriais: uma abordagem sustentável**. 1ª edição. Brasília: Embrapa Agroenergia, 2020.
- VELMURUGAN, Rajendran; MUTHUKUMAR, Karuppan. Utilization of sugarcane bagasse for bioethanol production: Sono-assisted acid hydrolysis approach. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 102, n. 14, p. 7119–7123, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.045>
- VIDAL, Maria de Fátima. **Agroindústria - Etanol Banco do Nordeste**, Fortaleza-CE: set. 2022. p. 1–16.
- VIIKARI, L.; VEHMAANPERÄ, J.; KOIVULA, A. Lignocellulosic ethanol: From science to industry. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 46, p. 13–24, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.05.008>
- WANG, Wei Ting *et al.* Biochar-mediated enhanced ethanol fermentation (BMEEF) in *Zymomonas mobilis* under furfural and acetic acid stress. **Biotechnology for**

**Biofuels**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 1–11, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.1186/s13068-020-1666-6>

WARNOCK, Daniel D. *et al.* Mycorrhizal responses to biochar in soil - Concepts and mechanisms. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 300, n. 1–2, p. 9–20, 2007. Disponível em:

<https://doi.org/10.1007/s11104-007-9391-5>

YANG, Qiang; PAN, Xuejun. Pretreatment of Agave americana stalk for enzymatic saccharification. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 126, p. 336–340, 2012.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.018>

YANG, Ralph T. **Gas Separation by Adsorption Processes**. Stoneham, MA: Butterworth, 1997.

YANG, Yishuo *et al.* Pretreatment with concurrent UV photocatalysis and alkaline H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> enhanced the enzymatic hydrolysis of sisal waste. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 267, n. July, p. 517–523, 2018. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.038>

YENDO, A. C. A. *et al.* Biosynthesis of Plant Triterpenoid Saponins: Genes, Enzymes and their Regulation. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 292–306, 2014.

YOON, Li Wan *et al.* Fungal solid-state fermentation and various methods of enhancement in cellulase production. **Biomass and Bioenergy**, [s. l.], v. 67, p. 319–338, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.05.013>

ZHU, X. *et al.* A novel porous carbon derived from hydrothermal carbon for efficient adsorption of tetracycline. **Carbon**, [s. l.], v. 77, p. 627–636, 2014.