

GUILHERME DA SILVEIRA DE MORAES

**OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS PRESSÃO E CONCENTRAÇÃO
DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO, EMPREGADOS NO PRÉ-TRATAMENTO
DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR, UTILIZANDO
PLANEJAMENTO FATORIAL.**

Assis

2010

GUILHERME DA SILVEIRA DE MORAES

**OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS PRESSÃO E CONCENTRAÇÃO
DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO, EMPREGADOS NO PRÉ-TRATAMENTO
DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR, UTILIZANDO
PLANEJAMENTO FATORIAL**

Trabalho de conclusão de curso de
Curso apresentado ao Instituto Municipal
de Ensino Superior de Assis, como
requisito do Curso de Graduação

Orientador: Prof^a. Dr^a. Mary Leiva de Faria

Área de Concentração: Química

Assis

2010

FICHA CATALOGRÁFICA

MORAES, Guilherme da Silveira de Moraes

Otimização dos parâmetros pressão e concentração de hidróxido de sódio, empregados no pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar, utilizando planejamento fatorial / Guilherme da Silveira de Moraes. Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA -- Assis, 2010.

69p.

Orientador: Mary Leiva de Faria.

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA.

1. Bioetanol. 2. Biomassa. 3. Cana-de-açúcar.

CDD:660
Biblioteca da FEMA

OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS PRESSÃO E CONCENTRAÇÃO
DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO, EMPREGADOS NO PRÉ-TRATAMENTO
DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR, UTILIZANDO PLANEJAMENTO
FATORIAL

GUILHERME DA SILVEIRA DE MORAES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto Municipal de Ensino Superior de
Assis, como requisito do Curso de
Graduação, analisado pela seguinte comissão
examinadora:

Orientador: Prof^a. Dr^a. Mary Leiva de Faria

Analisador: Prof^a. Dr^a. Silvia Maria Batista de Souza

Assis

2010

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado a meu avô que não poderá ver com olhos de carne seu primeiro neto a se formar, mas com os olhos de Deus esta presente sempre em meu caminhar.

Dedico também a minha família e a todas as pessoas que me incentivaram e me ajudaram nesses quatro e céleres anos

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que nos permite apreciar corretamente todas as coisas do mundo. Agradeço muito a minha família que me deu suporte financeiro emocional todo tempo acadêmico, Pai, Tios, Primos, em especial a minha Avó e minha Mãe onde eu estava presente em suas orações todas as noites. A família Monte Verde e a minha namorada esteve sempre presente em todos os momentos, principalmente nos ruins. “*Amo você Tah*”.

Assumo a liberdade para dizer que a prof. Dra. Mary Leiva de Faria mais que orientadora, foi essencial em minha graduação e no desenvolvimento direto deste trabalho, por intermédio de infinitas broncas, risadas, brincadeiras e verdadeiras orientações, ela se tornou uma amiga, parceira, camarada, linda resumindo ela é minha “*truta!!!!*”.

Também como co-orientador o amigo Rafael Martins merece um grande muito obrigado, por estar presente nos experimentos e com toda paciência para explicações das muitas dúvidas que surgiam no decorrer deste trabalho.

Quero em especial agradecer a 9ª Turma de Química Industrial da FEMA, A minha turma é Fo...!!! Alguns desistiram outros estão na sala ao lado, mas todos vocês ficarão em minha memória por toda vida, churrascos, festas, bar's, bagunças, colas, trucos, ajudas, aventuras, hematomas, piadas, estudos no laboratório. Como um grupamento militar nossa classe possui estratégias de batalha: Pam, Gra, Rando e Jarley, tomam a frente. Mazalli, Pirolo, Lê, Dri, Rafa e Cleiton dão apoio lateral esquerdo. Na retaguarda Eu, Ricardo, Lucas, Tati e Dorfo. Prestando socorro ao lado Izabel, Renan, Helton e Horse. Helita e Ângela estão sempre na discussão ao centro. E como na Lei dos Gases Ocupamos todo o volume do recipiente. Obrigado á todos, vocês ajudaram de todas as formas possíveis neste trabalho e na minha formação acadêmica e pessoal. “*Valeu galera!!!!*”

Quero agradecer a usina COCAL e à Izabel que forneceu matéria prima para o desenvolvimento do trabalho, à todos do CEPECI, e também aos que já passaram por lá, também a classe do diurno de química, aos estagiários do laboratório de química (Vanessa, Rafael, Lucas e Felipe) A Instituição FEMA, e a todos que de forma direta e indireta ajudaram para o melhor desenvolvimento deste trabalho.

Olhando para os lados, fazemo-nos irmãos de todos e de tudo. Olhando para baixo, afundamos a raiz de nosso existir no solo da Terra e da História. E para cima, sentimo-nos filhos de um Pai criador e Salvador.

J. B. Libanio, sj

RESUMO

A produção sustentável de bioetanol a partir de biomassa lignocelulósica é considerada uma das alternativas mais adequadas para substituição do petróleo. Os métodos atuais de produção de etanol a partir de biomassa celulósica, usando conversão biológica, envolvem três etapas: 1) pré-tratamento do material lignocelulósico, o qual converte a estrutura lignocelulósica recalcitrante à intermediários celulósicos mais acessíveis ao ataque enzimático; 2) aplicação de coquetéis enzimáticos especiais, os quais hidrolisam os intermediários celulósicos à açúcares fermentáveis; e 3) fermentação para produzir etanol celulósico. Este trabalho tem como objetivo otimizar os parâmetros pressão do sistema de explosão a vapor e concentração de hidróxido de sódio, empregados no pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar, utilizando planejamento fatorial. Primeiramente o bagaço foi lavado com água á $\pm 70^{\circ}\text{C}$. Empregando-se o planejamento fatorial foram realizados os pré-tratamentos do bagaço com NaOH em diferentes concentrações (4%, 5% e 6%) e diferentes pressões de trabalho (1,0; 1,25 e 1,5 Kgf/cm²). Todos os bagaços pré-tratados foram submetidos à etapa de hidrólise enzimática. Para a quantificação de açúcar produzido utilizou-se o método de DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico). Os dados estatísticos do programa de superfície de resposta indicaram que a melhor faixa de trabalho para o processo de pré-tratamento alcalino do bagaço de cana, ocorreu na região de 3,3 a 4,8 de concentração (% NaOH) e de 1,2 a 1,32 de pressão (Kgf/cm²). Isto exige, portanto, um estudo detalhado nesta região considerada ótima para validação do modelo estatístico. Este trabalho ilustra ainda, como a obtenção bioetanol a partir de biomassa pode ser abordado no ensino médio para trabalhar os temas: energia alternativa e impactos ambientais.

Palavras-chave: Bioetanol; Biomassa; Cana-de-Açúcar.

ABSTRACT

The sustainable production of bioethanol from lignocellulosic biomass is considered one of the most appropriate alternatives to replace petroleum. Current methods of producing ethanol from cellulosic biomass using biological conversion, involves three steps: 1) pre-treatment of lignocellulosic material, which converts the recalcitrant lignocellulosic structure to intermediate cellulose more accessible to enzymatic attack, 2) application of enzyme cocktails special which hydrolyze cellulose to fermentable sugars intermediate, and 3) fermentation to produce cellulosic ethanol. This work aims to optimize the pressure parameters of the steam explosion system and the concentration of sodium hydroxide employed in the pretreatment of bagasse-cane, using factorial design. First the cake was washed with water at 70 ° C. ± By employing the factorial design were performed pre-treatment of bagasse with NaOH at different concentrations (4%, 5% and 6%) and different pressures (1.0, 1.25 and 1.5 kgf/cm²). All pretreated bagasse was submitted to enzymatic hydrolysis step. For the quantification of sugar produced, we used the method of DNS (3,5-Dinitrosalicylic). The statistical data of surface program response indicated that the best working range for the pre-alkali treatment of bagasse, occurred in the region from 3.3 to 4.8 concentration (% NaOH) and 1. 2 to 1.32 Pressure (kgf/cm²). This therefore requires a detailed study in this region considered ideal for validating the statistical model. This work illustrates also how to obtain ethanol from biomass can be addressed in high school to work the following topics: alternative energy and environmental impacts.

Keywords: Bioethanol, biomass, sugar cane.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Palha deixada no solo após a colheita de cana crua (sem queimar).....	19
Figura 2	- Quantidade de bagaço de cana-de-açúcar acumulado na indústria	20
Figura 3	- Estrutura da cadeia celulósica.....	21
Figura 4	- Estrutura da O-acetil-(4-O-metilglucurônico)-xilana.....	22
Figura 5	- Estrutura proposta para a lignina.....	23
Figura 6	- Álcoois precursores da lignina.....	24
Figura 7	- Estrutura recalcitrante do material lignocelulósico.....	25
Figura 8	- Complexo lignocelulósico.....	26
Figura 9	- Fracionamento dos constituintes da biomassa após pré-tratamento.....	27
Figura 10	- Estrutura terciária da celulase de <i>Trichoderma reesei</i> (modelo de fita).	29
Figura 11	- Regiões cristalinas e amorfas na fibra de biomassa vegetal.....	30
Figura 12	- Representação da conversão enzimática de celulose em glicose por enzimas celulasas.....	31
Figura 13	- Equilíbrio químico de alguns gases responsáveis pela chuva ácida.....	35
Figura 14	- Deslocamento da reação para a direita.....	36
Figura 15	- Deslocamento da reação para a esquerda.....	36
Figura 16	- Influência da temperatura diante o equilíbrio.....	37
Figura 17	- Experimento de demonstração de chuva ácida.....	38
Figura 18	- Reações do experimento de chuva ácida.....	39
Figura 19	- Efeito estufa, gases do aquecimento global.....	40

Figura 20	- Efeito da radiação infra vermelho nos gases estufa.....	41
Figura 21	- Bagaço de cana-de-açúcar após explosão com água destilada.....	51
Figura 22	- Bagaço de cana-de-açúcar após explosão com hidróxido de sódio 4%	52
Figura 23	- Bagaço de cana-de-açúcar após explosão com hidróxido de sódio 5%	52
Figura 24	- Bagaço de cana-de-açúcar após explosão com hidróxido de sódio 6%	53
Figura 25	- Reações envolvidas no Método de dosagem de açúcares com DNS....	53
Figura 26	- Coloração de algumas soluções obtidas após reação com ácido 3,5- dinitrosilicílico.....	54
Figura 27	- Curva de calibração de açúcar redutor.....	55
Figura 28	- Gráfico de superfície de resposta.....	58
Figura 29	- Gráfico de superfície de contorno.....	59
Figura 30	- Curva de hidrólise longa utilizando bagaço pré-tratado com NaOH 4% em diferentes valores de pressão.....	60
Figura 31	- Curva de hidrólise longa utilizando bagaço pré-tratado com NaOH 5% em diferentes valores de pressão.....	61
Figura 32	- Curva de hidrólise longa utilizando bagaço pré-tratado com NaOH 6% em diferentes valores de pressão.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição fracionaria de alguns compostos lignocelulósicos.....	18
Tabela 2 - Planejamento fatorial.....	46
Tabela 3 - Concentrações e absorvâncias da curva de calibração.....	54
Tabela 4 - Valores de absorvância, diluição e concentração de açúcares redutores obtidos.....	55
Tabela 5 - Conversão enzimática de bagaço em glicose.....	57
Tabela 6 - Respostas dos níveis e variáveis do planejamento fatorial.....	57
Tabela 7 - Concentrações de AR obtido utilizando bagaço pré-tratado com NaOH4%	60
Tabela 8 - Concentrações de AR obtido utilizando bagaço pré-tratado com NaOH5%	61
Tabela 9 - Concentrações de AR obtido utilizando bagaço pré-tratado com NaOH6%	62

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	14
2.	O EMPREGO DA BIOMASSA NA GERAÇÃO DE ENERGIAS RENOVÁVEIS.....	17
3.	O EMPREGO DOS RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE CANA-DE-AÇÚCAR COMO MATÉRIA-PRIMA LIGNOCELULÓSICA.....	19
3.1	CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	21
3.2	PRÉ-TRATAMENTO DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS...	25
4.	HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS.....	29
5.	BIOETANOL: UM TEMA PARA O ENSINO DE ENERGIAS ALTERNATIVAS, VISANDO A RESOLUÇÃO DE IMPACTOS AMBIENTAIS.....	32
5.1	CHUVA ÁCIDA.....	34
5.1.1	Experimento da Chuva Ácida e Equilíbrio Químico.....	35
5.2	EFEITO ESTUFA.....	39
6.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
6.1	EQUIPAMENTOS.....	43
6.2	REAGENTES.....	44

6.3	MATERIAIS.....	44
6.4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	45
6.4.1	Seleção do Bagaço.....	45
6.4.2	Etapa de lavagem e obtenção de bagaço in-natura.....	45
6.4.3	Planejamento Fatorial.....	46
6.4.4	Pré-tratamento com água destilada variando pressões e temperaturas.....	46
6.4.5	Pré-tratamento com hidróxido de sódio variando suas concentrações.....	47
6.4.6	Preparação da curva de calibração.....	49
6.4.7	Preparação de solução tampão citrato	49
6.4.8	Preparo da solução enzimática.....	49
6.4.9	Preparo da solução de DNS (ácido 3,5 dinitro salicílico).....	50
6.5	Hidrólises enzimáticas.....	50
7.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
8.	CONCLUSÃO.....	64
	REFERÊNCIAS :.....	65

1. INTRODUÇÃO

Devido á rápida industrialização das grandes nações e o real interesse em suprir a demanda energética mundial, houve um proporcional crescimento e interesse por fontes renováveis de obtenção de energia. Considerando que o petróleo é a fonte de energia mais disponível e abundante atualmente e que a maioria da sua produção é utilizada na fabricação de combustíveis fósseis automotivos, o desenvolvimento de combustíveis líquidos economicamente viáveis tornou-se uma prioridade para muitas nações (DA COSTA SOUSA et al., 2009). A estabilidade do preço do petróleo seu fornecimento exclusivo apenas de alguns países, poluição ambiental proveniente da queima de combustíveis fósseis emitindo gases do efeito estufa e seu efeito nocivo nas mudanças climáticas são fatores que justificam o aumento no interesse por fontes de energia renováveis. Convenientemente a biomassa é um recurso sustentável, capaz de fornecer combustíveis líquidos e produtos químicos em larga escala e contribuir para sustentabilidade nas áreas ambiental, social e econômica. (DA COSTA SOUSA et al., 2009; LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009).

Segundo Suarez et al. (2009, p. 768), “as pesquisas têm se concentrado no desenvolvimento de novos insumos básicos, de caráter renovável, para a produção de combustíveis que possam substituir os derivados de petróleo”. Neste sentido, a biomassa ocupa um lugar de destaque devido sua natureza renovável, sua grande disponibilidade, biodegradabilidade e aquisição de baixo custo, além de reduzir a emissão de carbono no ambiente (SUAREZ et al., 2009; GOLDEMBERG, 2009).

A produção sustentável de biocombustível, como o etanol, a partir de biomassa lignocelulósica é considerada uma das alternativas mais adequadas. Isto porque materiais lignocelulósicos como resíduos agrícolas e florestais estão amplamente disponíveis, promovendo simultaneamente formas para a redução da emissão de gases de efeito estufa (DA COSTA SOUSA et al., 2009).

Existem vários compostos lignocelulósicos que podem ser utilizados como fonte de biomassa. No Brasil os mais abundantes são: algodão, bagaço de cana, casca de

aveia, espiga de milho, *eucalyptus globulus* e *grandis*, farelo de cevada, fibra de coco, fibra de bananeira, folhas e foragem de milho, juta (planta fibrosa cultivada no Amazonas), madeira dura, madeira mole, palha de arroz, palha de cevada, palha de sorgo, palha de trigo, ramie (planta fibrosa muito usada no continente asiático), sisal (fibra têxtil derivada do agave), talo e sabugo de milho (CANILHA, 2006; MOUTTA, 2009; DA SILVA, 2009).

Para a maioria dos países tropicais o bagaço de cana-de-açúcar é um dos principais materiais lignocelulósicos utilizados para bioconversão em etanol, uma vez que os mesmos apresentam alta concentração de carboidratos, baixo conteúdo relativo de lignina, fácil utilização, baixo custo de colheita, transporte e armazenagem (GOUVEIA; NASCIMENTO; SOUTO-MAIOR, 2009).

No Brasil, devido à grande quantidade de cana-de-açúcar processada todos os anos provenientes das indústrias sucroalcooleiras são gerados um excedente de bagaço e palha relacionado à quantidade de cana-de-açúcar produzida. Na safra 2007/2008 houve uma geração de quase 140 milhões de toneladas dessa biomassa vegetal, que na sua maioria é utilizado para gerar energia elétrica para a própria indústria. Entretanto há um excedente de 10-30% dependendo do tipo de caldeira empregada (CÂNDIDO et al., 2009).

O bagaço de cana-de-açúcar é constituído na sua parede celular de frações de celulose, Hemicelulose e lignina, cuja composição varia grandemente dependendo da espécie, da parte da planta, condições de crescimento etc. A organização e interação entre essas três estruturas na parede celular da planta promovem uma propriedade natural de recalcitrância à degradação biológica (DA SILVA, 2009; DA COSTA SOUSA et al., 2009; ZHANG et al., 2007).

Os métodos atuais de produção de etanol a partir de biomassa celulósica, usando conversão biológica, envolvem três etapas: 1) pré-tratamento do material lignocelulósico, o qual converte a estrutura lignocelulósica recalcitrante a intermediários celulósicos mais acessíveis ao ataque enzimático; 2) aplicação de coquetéis enzimáticos especiais, os quais hidrolisam os intermediários celulósicos a açúcares fermentáveis (glicose e xilose principalmente); e 3) fermentação dos

açúcares para produzir etanol celulósico (GOLDEMBERG, 2009; ZHANG et al., 2007).

O Pré-tratamento na fase inicial de bioconversão é necessário devido às características morfológicas dos materiais lignocelulósicos que apresentam estrutura recalcitrante, o que promove difícil acesso aos agentes enzimáticos e uma consequente baixa digestibilidade da celulose (DA COSTA SOUSA et al., 2009).

Nosso grupo de pesquisa (SILVA, 2008; MORAES, 2009), estudou vários métodos de pré-tratamentos para a deslignificação do bagaço de cana-de-açúcar: o pré-tratamento com água destilada; com hidróxido de sódio 4%; com ácido sulfúrico em varias concentrações (0,5; 1,0; 2,0; 2,5; 3,0 e 10%) com ácido fosfórico 4% e com peróxido de Hidrogênio em meio alcalino. Os estudos revelaram que o melhor pré-tratamento para a deslignificação do bagaço de cana-de-açúcar foi o pré- tratamento com hidróxido de sódio 4%.

O emprego de resíduos lignocelulósicos, como o bagaço de cana-de-açúcar, como biomassa é interessante para a produção de energias renováveis, pois o mesmo apresenta baixo custo, grande disponibilidade e contribui para um melhor balanço da quantidade de carbono no ambiente. Os combustíveis fósseis provêm de reservas de carbono que estavam isoladas no subsolo e que passam a ser emitidas na atmosfera, desequilibrando o ciclo natural do carbono. Já a produção de etanol por via agrícola, exige o cultivo de cultura de cana-de-açúcar, a qual usa o sistema de fotossíntese para seu desenvolvimento e capta o CO₂ presente na atmosfera como fonte de carbono, antes do mesmo ser emitido na atmosfera, via combustão dos seus produtos. Esse processo é chamado de “sequestro de carbono”. O emprego desta biomassa como fonte de energia renovável é menos poluente que as de origem fóssil, vêm de encontro ao Protocolo de Kyoto, no qual diversos países assumiram o compromisso de reduzir a emissão de gases do efeito estufa na atmosfera. Tais fatores justificam o estudo dos pré-tratamentos do bagaço de cana-de-açúcar, visando à posterior obtenção de etanol celulósico.

Neste contexto, este trabalho tem como objetivo otimizar os parâmetros pressão do sistema de explosão a vapor e concentração de hidróxido de sódio, empregados no pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar, utilizando planejamento fatorial.

2. O EMPREGO DA BIOMASSA NA GERAÇÃO DE ENERGIAS RENOVÁVEIS

Segundo Goldemberg (2009), carvão, petróleo e gás natural são combustíveis fósseis que dominaram a produção de energia no século 20, representando ainda cerca de 80% de toda energia produzida no mundo no início do século 21.

Surgiram com grande força no início do século 21, novas formas de substituição dos combustíveis fósseis impulsionadas por motivos como: a ameaça de escassez energética, a instabilidade de preços e o fornecimento desuniforme do petróleo e a necessidade de sanar ou suavizar os efeitos das mudanças climáticas causadas pela ação do homem, especialmente pelas emissões de CO₂, metano e óxidos de nitrogênio (GALEMBECK; BARBOSA; SOUSA, 2009).

No Brasil a biomassa seria um substituto natural para o petróleo, sendo necessário para esta substituição apenas 1% da massa produzida anualmente no país, o que não afetaria a produção de alimentos e nem causaria devastação ou qualquer forma de agressão às florestas (SILVA, 2008).

De acordo com Goldemberg (2009, p. 583) “o recente interesse na energia de biomassa tem dado ênfase em aplicações que produzem combustíveis líquidos para o setor de transportes (biocombustíveis)”. Neste setor, existe atualmente uma grande preocupação quanto ao futuro da oferta global de petróleo e quanto às novas opções de combustível disponíveis. Neste contexto, os biocombustíveis representam a melhor opção de uso de energia de biomassa.

A importância da biomassa como fonte de energia é evidente e projeções para o futuro indicam que ela representará no fim do século 21, 10 a 20% de toda energia usada no mundo (GOLDEMBERG, 2009).

No Brasil, a biomassa lignocelulósica para a produção de biocombustíveis apresenta uma série de resíduos agrícolas tais como: palhas, caules, cascas, pedúnculos, madeiras coníferas e folhosas, resíduos das indústrias de polpa e papel e colheitas

herbáceas. A tabela 1 mostra algumas biomassas produzidas no Brasil e sua composição; (DA SILVA, 2009, p. 31).

Composto lignocelulósico	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)
Forragem de milho	38-40	28	7-21
Fibra de coco	36-43	0,15-0,25	41-45
Fibra de bagaço	32-48	19-24	23-32
Fibra de bananeira	60-65	6-8	5-10
Palha de trigo	33-38	26-32	17-19
Palha de arroz	28-36	23-28	12-14
Palha de cevada	31-45	27-38	14-19

Tabela 1: Composição fracionária de alguns compostos lignocelulósicos (In: DA SILVA, 2009; p. 31).

Segundo Zhang et al. (2007) a transição da economia de combustíveis fósseis para a de combustíveis renováveis irá inevitavelmente acontecer num futuro muito próximo, devido ao esgotamento das reservas de combustíveis fósseis e ao acúmulo de gases do efeito estufa na atmosfera.

3. O EMPREGO DOS RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE CANA-DE-AÇÚCAR COMO MATÉRIA-PRIMA LIGNOCELULÓSICA

Segundo Da Silva (2009), a indústria sucroalcooleira tem crescido muito nos últimos anos e com isso tem aumentado a geração de resíduos agroindustriais como palha e bagaço de cana-de-açúcar. Tais resíduos são materiais abundantes e de baixo custo (SILVA, 2008).

O bagaço e a palha de cana-de-açúcar representam em média 14% da planta, ou seja, um total de 280 kg de material lignocelulósico por tonelada de cana processada (140kg de palha e 140Kg de bagaço chamada de matéria seca). Na safra 2008/2009 acumulou 130 toneladas desses resíduos (DA SILVA, 2009).

A palha deixada no solo após colheita mecanizada da cana (figura 1) tem a finalidade fertilizante, pois, retorna os nutrientes via processo de mineralização, controla os processos erosivos, estabelece maior retenção de água no solo e proporciona aumento na microbiota do solo (DA SILVA, 2009).



Figura 1 – Palha deixada no solo após a colheita de cana crua (sem queimar). (In: <http://www.colheitamecanizadacana.crua.com.br>; acesso em 22/07/2010).

Um problema citado por Da Silva (2009) é que a palha queimada no campo, durante a colheita, gera fuligem e CO_2 , os quais são despejados em grande quantidade na atmosfera. O CO_2 contribui para o aumento do efeito estufa e as fuligens, que chegam às cidades e pousam no chão na forma de finos flocos escuros, causam sérios problemas respiratórios na população exposta.

A indústria sucroalcooleira utiliza o bagaço de cana-de-açúcar através de sua queima por meio de caldeiras para gerar energia elétrica, por não oferecer custos de transporte e encontrar-se disponível em grande quantidade, geralmente em montes acumulados no pátio da indústria (figura 2). A queima de 6,5 toneladas de bagaço gera 1MWh de energia (DA SILVA, 2009).



Figura 2 – Quantidade de bagaço de cana-de-açúcar acumulado na indústria (In: <http://colunadosardinha.files.wordpress.com> acesso em 22/07/2010).

Segundo SILVA (2008), a geração de energia por queima do bagaço causa poluição, devido à grande quantidade de CO_2 emitido na atmosfera. Para evitar este tipo de impacto ambiental, a produção biotecnológica de etanol, a partir do bagaço de cana-

de-açúcar, seria uma via alternativa de uso deste resíduo agrícola, resultando em um produto de maior valor agregado. Nas últimas safras foram produzidos mais de 10 milhões de toneladas de bagaço de cana-de-açúcar, no qual 6 a 10% desse total não tem destinação apropriada. Desta forma, este excesso de material lignocelulósico poderia ser empregado na produção de bioetanol.

3.1 CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

O bagaço de cana-de-açúcar é um material lignocelulósico constituído basicamente por três polímeros: celulose (polímero de glicose), hemicelulose (cadeias ramificadas de açúcares, na maioria aldopentoses, principalmente xilose) e lignina (polímero de fenilpropano), na proporção aproximada de 50:30:20 respectivamente (WYMAN et al., 2005; SILVA, 2008; MOUTTA, 2009).

A celulose (figura 3) é um biopolímero linear de glicose, cujas unidades glicosídicas são unidas por ligações β -1,4 (ZHANG, 2008), o que permite às moléculas de glicose uma disposição de 180° entre si. Esta disposição no espaço torna a cadeia de celulose uma macromolécula linear (MOUTTA, 2009).

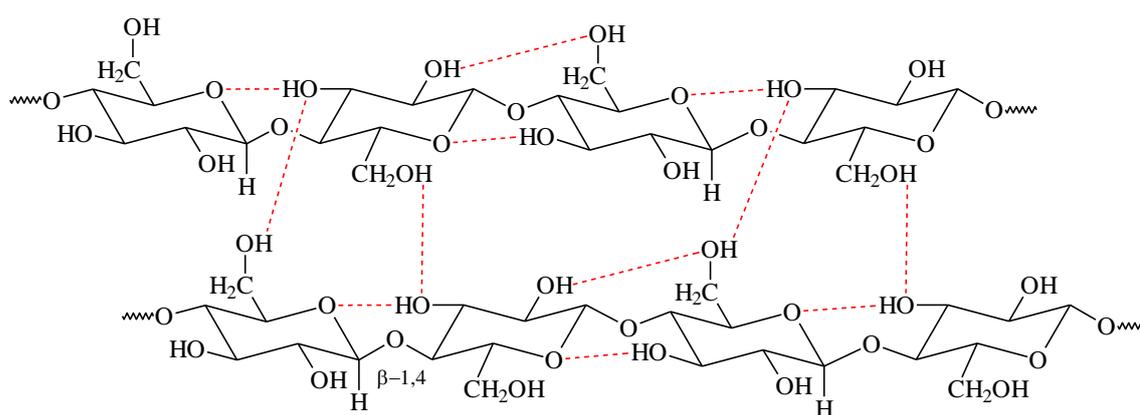


Figura 3 – Estrutura da cadeia celulósica (In: ZHANG, 2008, p. 370)

Segundo Da Silva (2009), uma cadeia de celulose pode conter mais de 15.000 unidades de glicose.

Os vários grupos hidroxilas (OH) presentes na estrutura da celulose permitem que ligações de hidrogênio inter e intramolecular (figura 3) ocorram entre as cadeias, formando regiões cristalinas. Este tipo de interação entre as cadeias possibilita a formação de micro-fibrilas com alto grau de cristalinidade. Entretanto, em algumas regiões dessas fibrilas que serão formadas, ocorrem irregularidades das interações, gerando então as regiões amorfas na rede cristalina (MOUTTA, 2009).

As regiões cristalinas da celulose tornam a mesma altamente resistente à hidrólise ácida, alcalina ou enzimática (DA SILVA, 2009).

A hemicelulose, também chamada de poliose, é uma mistura de diferentes polissacarídeos, cuja composição depende do tipo de planta (SILVA, 2008). As polioses são geralmente formadas com um grau de polimerização com variação entre 100 a 200 unidades de repetição, atingindo no conjunto uma massa molecular bem menor que a da celulose (MOUTTA, 2009). As hemiceluloses são classificadas em xilanas, glucomananas e galactanas, conforme os açúcares presentes na cadeia principal do polímero (DA SILVA, 2009). A hemicelulose do bagaço da cana consiste principalmente de xilanas (figura 4), um homopolímero unido por ligações β -1,4 de xilose, podendo apresentar arabinose, galactose, ácido 4-O-metilglucurônico e grupos acetilados ligados à cadeia principal (SILVA, 2008; DA SILVA, 2009).

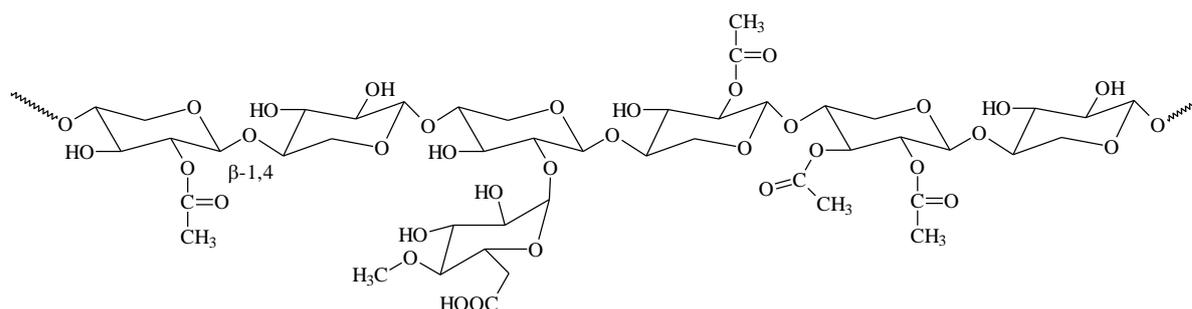


Figura 4 – Estrutura da O-acetil-(4-O-metilglucurônico)-xilana (In: SILVA, 2008, p. 7).

Como apresenta uma combinação de vários açúcares e possui grande parte de uma estrutura molecular amorfa, a hemicelulose é mais solúvel em água e apresenta

maior facilidade para ser degradada que a celulose. Nos materiais lignocelulósicos funciona como uma fase adesiva na estrutura do material, estando intimamente ligada à celulose e à lignina (DA SILVA, 2009).

A lignina (figura 5) é uma macromolécula amorfa, altamente complexa e ramificada tridimensionalmente, que resulta da condensação dos álcoois hidroxicinâmicos: *p*-cumarílico (A), coniferílico (B) e sinapílico (C) (SILVA, 2008; DA SILVA, 2009).

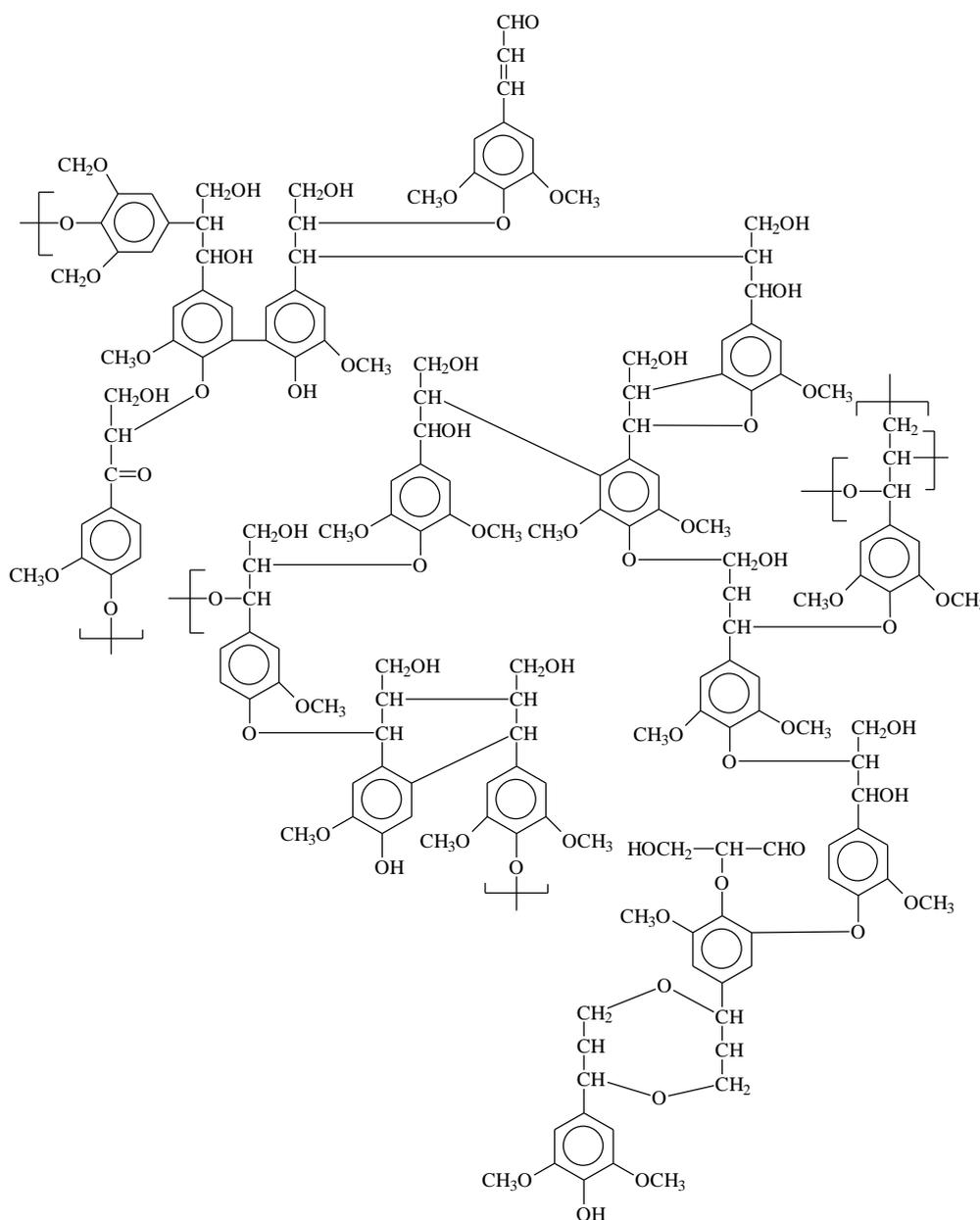


Figura 5 – Estrutura proposta para a lignina (In: SANTOS et al., 2001, p. 5).

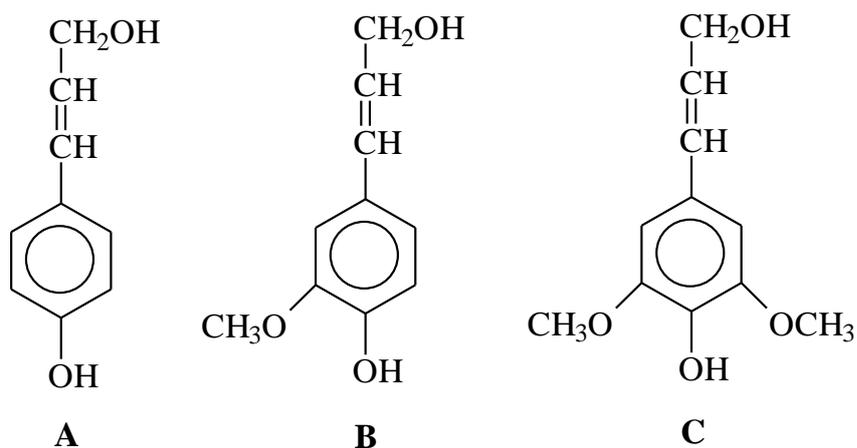


Figura 6 – Álcoois precursores da lignina: A – álcool p-cumarílico; B – álcool coniferílico; C – álcool sinapílico (In: FIALHO, 2010, p. 364).

A lignina aumenta a resistência mecânica das plantas, atuando como um agente de endurecimento e protegendo a parede celular contra o ataque enzimático de microorganismos (SANDGREN; STAHLBERG; MITCHINSON, 2005).

Os materiais lignocelulósicos podem conter ainda extrativos orgânicos como: ácidos graxos, ceras, alcalóides, proteínas, fenólicos, açúcares simples, pectinas, gomas, resina, terpenos, amido, glicosídeos, saponinas e óleos essenciais. Estes compostos podem ser extraídos por solventes apolares ou polares (DA SILVA, 2009).

A celulose, hemicelulose e lignina, são os principais componentes da parede celular das plantas e juntas formam uma estrutura complexa e rígida (figura 7).

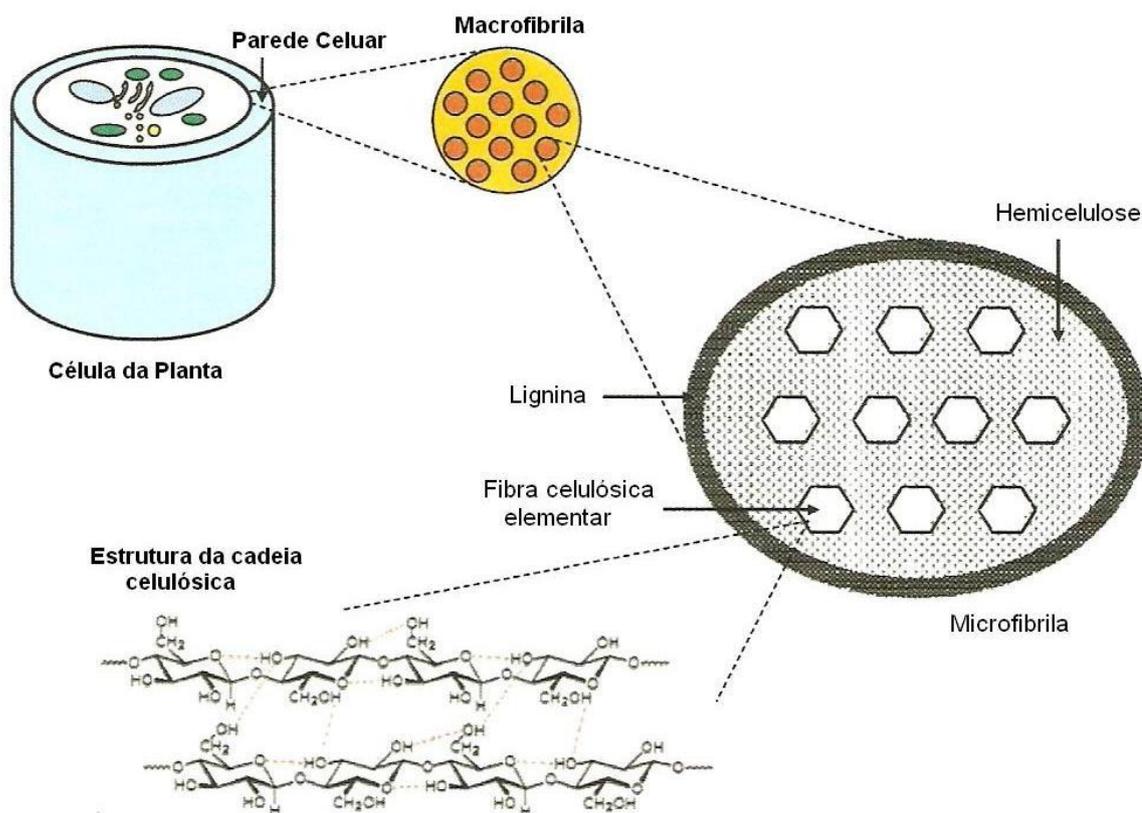


Figura 7 – Estrutura recalcitrante do material lignocelulósico, o qual é composto por celulose, hemicelulose e lignina (In: ZHANG, 2008, p. 370)

3.2 PRÉ-TRATAMENTO DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

A complexa estrutura do material lignocelulósico é que confere a esta biomassa resistência à degradação química e biológica (ZHANG, 2008). Segundo Da Silva (2009, p. 38), “a eficiente redução desta estrutura recalcitrante dos materiais lignocelulósicos e a liberação dos polissacarídeos estão entre uma das mais importantes e urgentes nas áreas de pesquisa e desenvolvimento para a indústria do etanol celulósico”.

Embora a recalcitrância do material lignocelulósico tenha sido atribuída a fatores como o grau de polimerização e cristalinidade da celulose e área superficial acessível, duas são as causas principais de resistência desta biomassa à hidrólise enzimática: 1) baixa acessibilidade às fibras celulósicas micro-cristalinas, a qual

impede a ação eficiente das celulases, e 2) presença de hemicelulose e principalmente de lignina na superfície da celulose (figura 8), que impede a celulase de acessar o substrato eficientemente. (ZHANG, 2008; DA SILVA, 2009)

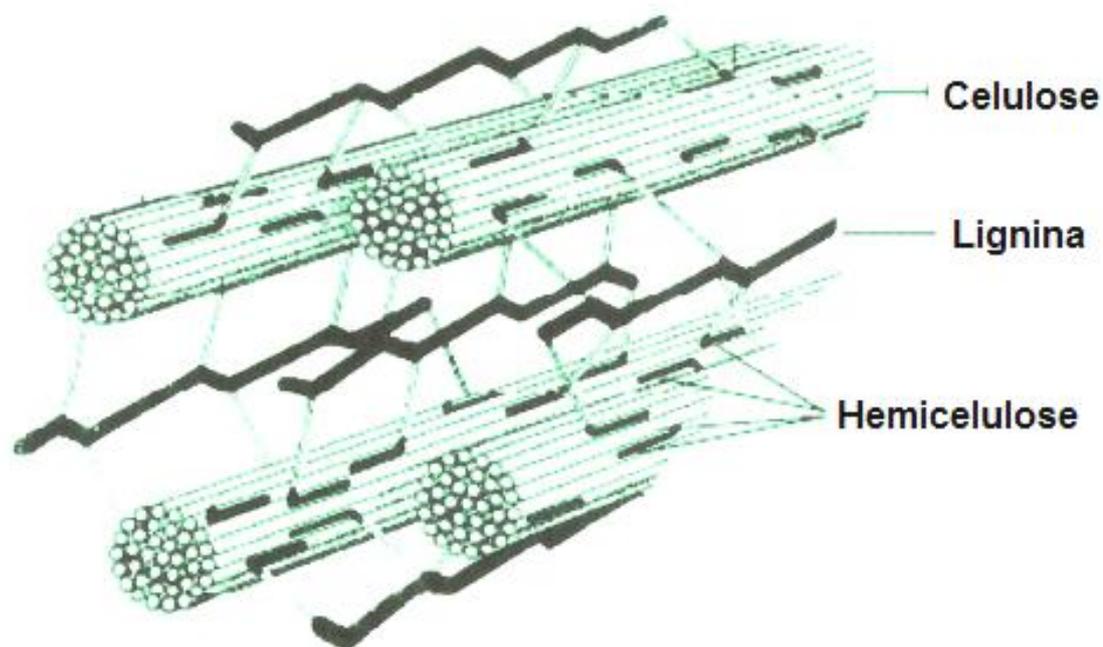


Figura 8 – Complexo lignocelulósico (In: SILVA, 2008, p. 9).

Neste complexo lignocelulósico, a hemicelulose está ligada por ligações covalentes, sendo que uma destas ligações ocorre entre a lignina e o ácido glucurônico ligado a xilana. Com as fibras de celulose a hemicelulose se liga por ligações de hidrogênio (ZHANG, 2008).

Para eliminar a recalcitrância dos materiais lignocelulósicos torna-se necessário um pré-tratamento para romper a parede celular, bem como diminuir a cristalinidade da celulose e a associação com a lignina, permitindo assim, que as enzimas hidrolíticas tenham maiores acesso a macroestrutura da biomassa, resultando em uma conversão da celulose em glicose mais eficiente (DA SILVA, 2009; WYMAN et al., 2005).

Neste pré-tratamento os três constituintes da fitobiomassa são fracionados (figura 9), levando a um conseqüente aumento da suscetibilidade da celulose ao ataque enzimático (SILVA, 2008).

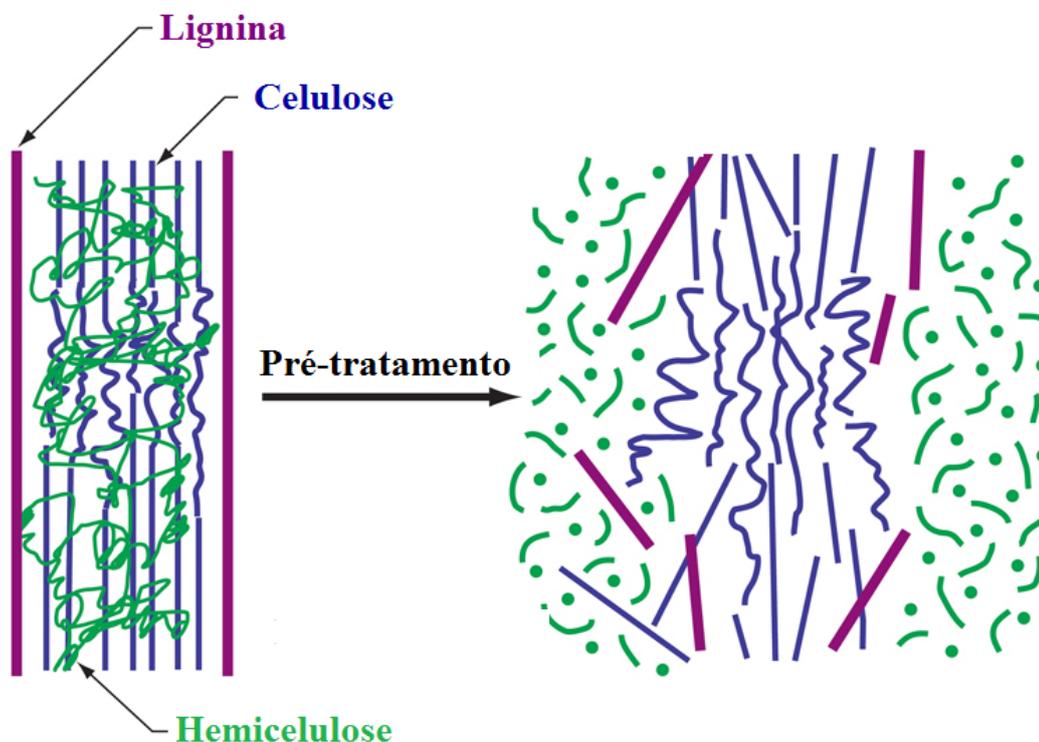


Figura 9 – Fracionamento dos constituintes da biomassa após pré-tratamento (In: Silva, 2008, p. 10).

Para a etapa de pré-tratamento têm sido propostos vários processos, destacando-se os processos físicos químicos e biológicos ou uma combinação dos mesmos (DA SILVA, 2009).

RAMOS (2003) descreve vários métodos de tratamento físico e químico para a deslignificação de materiais lignocelulósicos. Contudo, o autor salienta que a melhor opção de tratamento é aquela que combina os dois métodos, o físico e o químico.

Segundo WYMAN et al (2005), pré-tratamentos com ácido sulfúrico diluído e com hidróxido de cálcio estão entre as opções mais promissoras.

REYES et al. (1998) empregaram tratamentos químicos como clorito de sódio e peróxido de hidrogênio para diminuir o teor de lignina da casca de arroz e facilitar posterior hidrólise enzimática por celulasas.

O trabalho de DA COSTA SOUSA et al. (2009) descreve que uma grande variedade de tecnologias para o pré-tratamento de material lignocelulósico estão disponíveis hoje em dia, podendo ser processos físicos, químicos ou biológicos. De acordo com os pesquisadores, entre os processos citados, os pré-tratamentos químicos (ácido, alcalino e oxidativo) são considerados os mais promissores para o futuro das biorefinarias.

CÂNDIDO et al. (2009) fizeram um estudo comparativo de pré-tratamentos do bagaço de cana. Foram testados três diferentes tipos de pré-tratamentos, a explosão a vapor, a auto-hidrólise por impregnação com vapor e um tratamento biológico com xilase. Os resultados preliminares mostraram a eficiência dos pré-tratamentos na remoção da lignina e hemicelulose. O estudo indicou ainda, que somente uma etapa de pré-tratamento não é suficiente, sendo necessário um processo complementar. Este fato foi evidenciado pelos resultados da hidrólise enzimática do material tratado por explosão a vapor, que apresentou maior concentração de glicose quando o material foi tratado juntamente com NaOH (hidróxido de sódio).

ZHANG et al. (2007) descrevem um novo tipo de pré-tratamento do material lignocelulósico empregando condições reacionais suaves (50 °C e pressão atmosférica), usando um solvente celulósico não volátil (ácido fosfórico concentrado) e um solvente orgânico altamente volátil (acetona) e água. Segundo os autores, o alto rendimento de açúcares depois da hidrólise enzimática é atribuído à não degradação do açúcar durante o fracionamento e à alta digestibilidade enzimática da celulose (~ 97% em 24h) durante a etapa de hidrólise.

4. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

Para a obtenção de açúcares redutores a partir do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado, é necessário à hidrólise da celulose presente nessa biomassa (DA SILVA, 2009). Para que não haja formação de produtos inibitórios na posterior etapa de fermentação e produção de etanol, a reação de hidrólise é catalisada por enzimas específicas, (enzimas celulolíticas), geralmente um complexo enzimático constituído de celulasas (figura 10) e xilanases (MORAES, 2009).

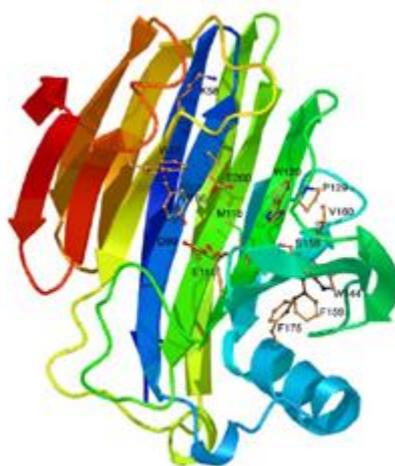


Figura 10 – Estrutura terciária da celulase de *Trichoderma reesei* (modelo de fita) (In: Silva, 2008, p. 12).

A celulose encontrada na parede celular de vegetais, apresenta regiões cristalinas, bem estabilizadas por ligações inter e intra moleculares (figura 3), sendo mais resistentes á degradação biológica, enquanto outras regiões menos organizadas ditas regiões amorfas, (figura 11), são mais suscetíveis ao ataque de enzimas (DA SILVA, 2009).

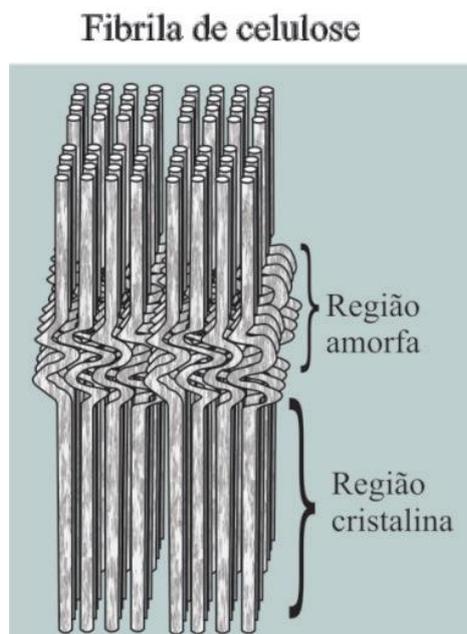


Figura 11 – Regiões cristalinas e amorfas na fibra de biomassa vegetal (In: RUBIRA et al, 2009, p. 666).

Para uma efetiva hidrólise da celulose precedente de biomassa vegetal em açúcares de baixo peso molecular é necessária à ação de complexos enzimáticos, os quais têm se mostrado efetivos na sacarificação da celulose (DA SILVA, 2009; MORAES, 2009).

A conversão enzimática da celulose em glicose é uma difícil tarefa devido à cristalinidade do substrato, porém complexos de enzimas produzidos por microrganismos se mostram capazes de catalisar a reação de hidrólise. Essa conversão dar-se-á pelo sinergismo de ação das enzimas celulases, estando envolvidos pelo menos três grupos principais: 1) Endoglucanases (β -1,4-glicano-glicanoidrolase), as quais são responsáveis por dividir aleatoriamente a cadeia da celulose, possibilitando a formação de cadeias menores de celotriose, celobiose e glicose; 2) Exoglucanases (β -1,4-glicano-celobioidrolases), as quais agem nas extremidades não redutoras das cadeias, produzindo frações de celobiose ou glicose, e por fim 3) Glicosidases (β -glicosidases), as quais convertem as moléculas de celobiose em duas moléculas de glicose, com a finalidade de eliminar a inibição da atividade das celulases pelo acúmulo de celobiose (REYES; PERALTA-ZAMORA; DURÁN, 1998; ZHANG; HIMMEL; MIELENZ, 2006)

A figura 12 representa o trabalho mútuo das enzimas para a conversão de celulose em glicose.

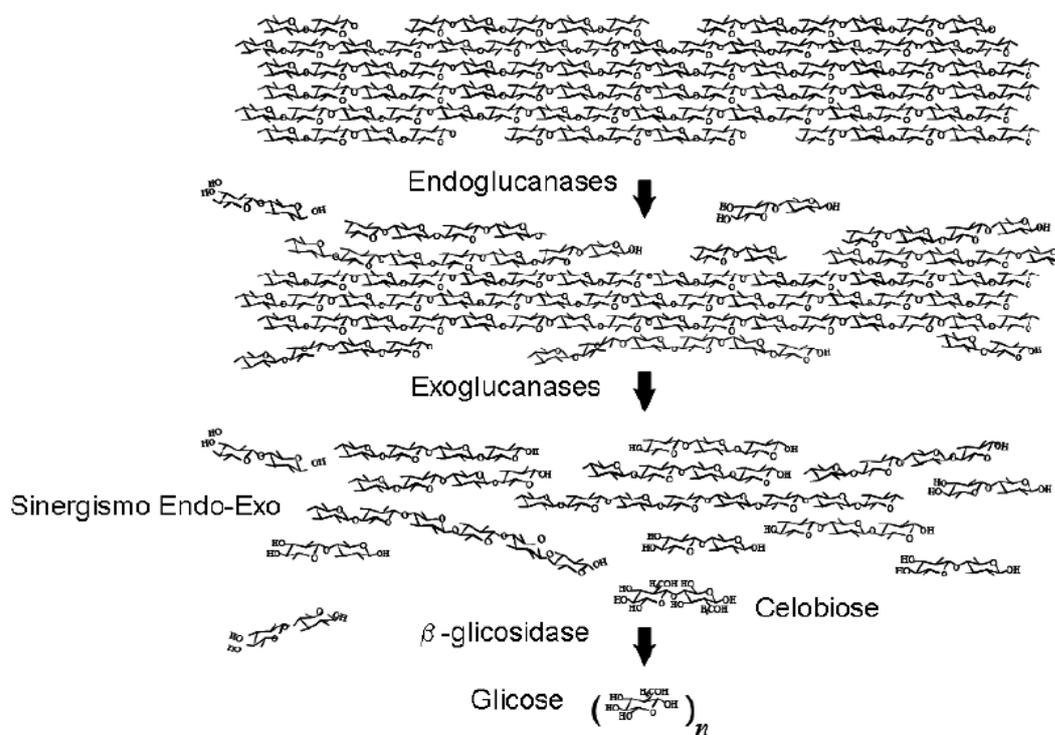


Figura 12 – Representação da conversão enzimática de celulose em glicose por enzimas celulases (In: DA SILVA, 2009, p.46).

Segundo Da Silva (2009), o fungo *Trichoderma reesei* é o microorganismo mais empregado para a produção de celulases. Contudo, por apresentar baixa produção de β -glicosidase, a conversão de celobiose a glicose pode ser restringida, o que pode levar a inibição da atividade das celulases pelo acúmulo da celobiose. Assim, um suplemento de β -glicosidase, obtido a partir do fungo *Aspergillus sp*, é necessário para reduzir o efeito inibitório da celobiose nas celulases e por consequência, aumentar o rendimento de conversão de celulose em glicose.

5. BIOETANOL: UM TEMA PARA O ENSINO DE ENERGIAS ALTERNATIVAS, VISANDO A RESOLUÇÃO DE IMPACTOS AMBIENTAIS

É de crucial importância usar fatos do cotidiano para o processo de ensino e aprendizagem, principalmente no estudo das ciências. Novos trabalhos tomam como desafio relacionar os assuntos estudados com a vida cotidiana, não se restringindo apenas na abordagem de um tema específico e formal, mas sim, usando meios para que a ciência deixe de ter, na mentalidade do aluno uma forma abstrata e se torne uma ferramenta sólida e demonstrativa para entendimento da tecnologia e avanços científicos. O não uso destas relações cotidianas gera uma apatia por parte do aprendiz, levando ao distanciamento e a dispersão entre eles, promovendo um total prejuízo no aprendizado e desgaste principalmente dos professores (VALADARES, 2001).

É importante que as escolas relacionem assuntos do cotidiano para que os alunos desenvolvam uma consciência crítica e melhore a qualidade de seu ambiente, e em consequência a sociedade. Dessa forma, a escola usa de suas ferramentas como: linguagem específica, procedimentos e sistema de conceitos para arquitetar um aprendizado concreto e fornecer um exercício também para a vida e não só para o trabalho (CANELA, RAPKIEWICZ, DOS SANTOS, 2003).

A obtenção de bioetanol, abordado nesse trabalho, está relacionado com o cotidiano da população no que se refere à aquisição de uma forma de energia alternativa, que é uma grande preocupação futura no quadro energético do Brasil e do mundo. Desta forma, a obtenção de bioetanol a partir de biomassa pode ser abordada no ensino médio como uma forma de obtenção de energia alternativa que tem o objetivo de minimizar impactos ambientais, além de poder trabalhar também o tema energia renovável e não renovável.

É possível salientar para os alunos do ensino médio que as principais fontes de energia renováveis são: carvão vegetal, etanol (álcool), biogás, biogás de síntese, biodiesel e bi-óleo, pode-se ainda abordar temas referentes a processos de

obtenção e composição química desses compostos (OLIVEIRA, GOUVEIA, QUADROS 2009). Pensando de forma multidisciplinar é possível tomar assuntos como: biomassa, fermentação e biogás, e relacioná-las com a biologia e falar de temas como: classificação dos reinos, tipos de microrganismos (fungos, bactérias, etc.), respiração celular (via aeróbica e anaeróbica), desenvolvimento das plantas (fotossíntese, classificação dos vegetais).

Já com as fontes de energias não renováveis como carvão e o petróleo, pode ser elencado a infinidade de produtos que podem ser obtidos destas fontes como: gasolina, diesel, gás natural, querosene, óleos lubrificantes, parafina e asfalto, todos de grande importância para a sociedade (DAZZANI et al., 2003).

Essas fontes esgotáveis de energia também podem trazer tópicos de estudo para o ensino médio como: surgimento dos minérios (carvão mineral, xisto, etc), craqueamento do petróleo, diferentes formas de separação de misturas (destilação, destilação fracionada, filtração, peneiramento, etc.), propriedades dos hidrocarbonetos, densidade, demonstrando assim, a vastidão de conteúdos que podem ser abordados em na sala de aula tendo com o tema energia não renovável.

É possível fazer pontes com outras matérias tais como: História e Geografia, pois o tema fontes não renováveis de obtenção de energia também está presente na Revolução Industrial (surgimento do carvão mineral e petróleo), na Segunda Guerra Mundial (desenvolvimento de novas fontes de energia), na economia regional movimentada por minérios, na destruição do meio ambiente causada por extração de minérios. Enfim, as fontes renováveis e não renováveis estão presentes em todos os níveis da sociedade e da história do mundo e são diversos os exemplos para auxiliar no processo ensino-aprendizagem das matérias do nível de ensino médio.

Confrontando as formas de exploração de energias renováveis e não renováveis, pode-se listar alguns impactos ambientais gerados pelas fontes não renováveis. A queima dos combustíveis fósseis, por exemplo, tem maior balanço na emissão de dióxido de carbono (CO_2), o principal causador do efeito estufa. Já o lançamento de partículas derivadas da queima do petróleo provoca um aumento da poluição atmosférica e a ocorrência de chuvas ácidas (SANTOS, PINTO, 2009).

Conteúdos como impactos ambientais, são de grande interesse para a aprendizagem, pois permite que o aluno entenda e conheça as transformações que acontecem em seu meio, criando uma necessidade de conservação e preservação do meio ambiente e evoluindo assim seu senso crítico como cidadão (MAIA et al, 2005).

Na questão de Química Ambiental para a abordagem de temas como a preservação e o entendimento do Meio Ambiente o estudo das ciências, (Biologia, Química, Física e Matemática) deve ser postos em prática através de experimentos que auxiliem o entendimento dos problemas reais e ambientais, adquirindo caráter multidisciplinar e demonstrando exemplos do dia-dia (CARDOSO; MACHADO; PERREIRA, 2008).

Um experimento simples que pode ilustrar um fenômeno ambiental do dia-a-dia e que pode fazer uma ponte com temas da química estudados no ensino médio é a chuva ácida e o efeito estufa.

5.1 CHUVA ÁCIDA

O fenômeno da chuva ácida é um tema químico social causado pela indústria carbonífera. O ser humano no mundo consumista em que vive, está sujeito a vivenciar problemas relacionados ao extrativismo, como rejeitos poluentes e doenças relacionadas. Isso é um tema gerador de discussão que pode ser levado a dentro sala de aula para debate e desenvolver soluções para problemas reais locais. A chuva ácida é causada pela poluição da atmosfera, por partículas como óxidos de enxofre (SO_2 e SO_3) e óxidos de nitrogênio (N_2O , NO e NO_2) liberados na queima de combustíveis fósseis e chaminés industriais. Esses óxidos reagem com a água da chuva formando ácidos fortes e aumentando a acidez da água, proporcionando vários problemas para as plantas, animais, solo, água, construções, monumentos históricos e conseqüentemente para toda a sociedade (COELHO, MARQUES, 2007).

A inclusão do tema de chuva ácida já é rotineiramente utilizada no ensino médio, para abordar conceitos de acidez e basicidade. Maia et al (2005), propõem juntamente com o tema de chuva ácida, a aprendizagem e o estudo de equilíbrio químico através de um experimento simples, onde se promove uma atmosfera de NO_2 e N_2O_4 , alguns dos gases responsáveis pela chuva ácida, dentro de um recipiente, o qual fornece ou retira-se calor (energia), deslocando assim o equilíbrio da seguinte equação química, figura 13.



Figura 13 – Equilíbrio químico de alguns gases responsáveis pela chuva ácida (In: MAIA et al, 2005, p.45).

Para a demonstração de equilíbrio químico propõe-se a seguinte prática descrita abaixo.

5.1.1 Experimento da Chuva Ácida e Equilíbrio Químico

Em um frasco de vidro com tampa (azeitona, maionese ou palmito) adicione um fio de cobre de 1cm de comprimento, com 2-5mm de diâmetro e acrescente 1,5 mL de ácido nítrico concentrado (HNO_3), pode-se usar um conta gotas (1,5mL equivale aproximadamente a 30 gotas) . Após fechado o frasco observa-se a formação de um gás castanho avermelhado o dióxido de nitrogênio (NO_2), que entra em equilíbrio com outro gás, porém incolor o tetróxido de dinitrogênio (N_2O_4).

Instituído o equilíbrio, a retirada ou adição de calor do sistema através de banho de gelo (0°C) e água fervente (100°C), consegue-se deslocar o equilíbrio da reação, representando a Lei de Le Chatelier. O deslocamento é visualmente observado pelo avivamento ou abrandamento da coloração castanho avermelhado.

Ao retirar calor (energia) do sistema, a reação desloca no sentido exotérmico e o interior do vidro fica menos avermelhado, aumentando a concentração de $\text{N}_2\text{O}_4(\text{g})$ (figura 14). Portanto, o sentido do equilíbrio favorece a produção de tetraóxido de dinitrogênio (N_2O_4).



Figura 14 – Deslocamento da reação para a direita

Ao fornecer calor (energia) ao sistema, a reação desloca no sentido endotérmico e o interior do vidro fica mais avermelhado, aumentando a concentração de $\text{NO}_2(\text{g})$ (figura 15). Portanto, o sentido do equilíbrio favorece a produção de dióxido de nitrogênio (NO_2).

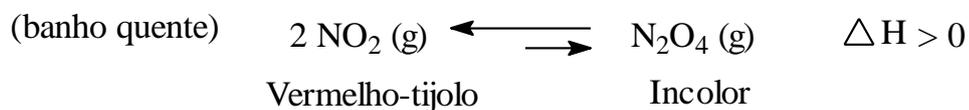


Figura 15 – Deslocamento da reação para a esquerda

A figura 16 mostra a influência da temperatura no sistema de equilíbrio químico estudado.



Figura 16 – Influência da temperatura diante o equilíbrio: (A) sentido exotérmico (banho de gelo - redução da temperatura) (B) sentido endotérmico (banho de água fervendo - elevação da temperatura)

Na demonstração de chuva ácida, utiliza-se uma garrafa de refrigerante de 2 litros descartável de preferência transparente para coletar o gás no interior do vidro. Aperta-se a garrafa para que saia pouco do ar de seu interior e em um lugar arejado abre-se o vidro contendo o gás em equilíbrio, acopla-se a garrafa ao vidro e coleta-se o gás. Com um borrifador contendo água (borrifador tipo de cabeleireiro ou de desodorante), borrifar algumas vezes água dentro da garrafa. A água em contato com o NO_2 leva a formação de ácido nítrico (HNO_3), aumentando a acidez da água. Um papel tornassol azul pode ser colocado dentro da garrafa contendo apenas o gás e outro após a adição de água, para consolidar a formação da chuva ácida.

A figura 17 mostra os passos do experimento para a realização de demonstração da chuva ácida.



Figura 17 – Experimento de demonstração de chuva ácida: (A e B) coleta de gás do vidro; (C) adição de água para a formação de ácido; (D) papel tornassol antes da coleta do gás; (E) papel tornassol depois da adição da água.

O experimento estudado propõe o estudo de equilíbrio químico e conceitos de acidez e basicidade. As reações químicas ao decorrer do experimento também são de grande importância para o entendimento dos temas. As reações estão descritas na figura 18.

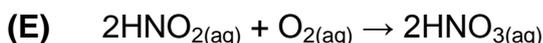
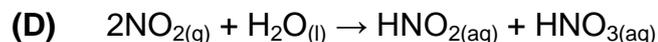
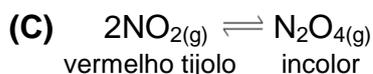
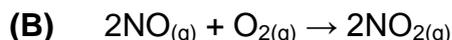
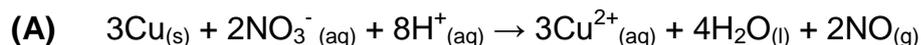


Figura 18 – Reações do experimento de chuva ácida.

A reação acontece no frasco de vidro quando é adicionado ácido nítrico ao fio de cobre. O monóxido de nitrogênio (NO), formado pela reação do fio de cobre com ácido nítrico (A), reage com o oxigênio do ar presente dentro do frasco, e oxida formando dióxido de nitrogênio (NO₂) (B). O dióxido de nitrogênio (NO₂) formado na etapa anterior entra em equilíbrio com o tetraóxido de dinitrogênio (N₂O₄) (C). Na representação de chuva ácida na garrafa de plástico, a água entra em contato NO₂ gasoso para formar ácido nítrico (HNO₃) e ácido nitroso (HNO₂) (D). Este último reage com o oxigênio dissolvido na água, formando também ácido nítrico (E).

5.2 EFEITO ESTUFA

Problemas gerados pelo aquecimento global estão muito próximos e cada vez mais perceptivos pela sociedade, produzindo consequências como: elevação do nível dos mares; novos padrões no regime de ventos, pluviosidade e circulação dos oceanos; aumento da biomassa terrestre e oceânica; modificações profundas na vegetação; aumento na incidência de doenças; proliferação de insetos nocivos ou vetores de doenças, dentre outras. Em virtude desses problemas causados pela poluição, há necessidade de debater o tema de aquecimento global e efeito estufa no ensino médio. É preciso entender que certos gases como vapor d'água, dióxido de carbono (CO₂), óxidos de nitrogênios (N_xO_y), metano (CH₄), e outros, acumulam na atmosfera e retém o calor emitido pelo Sol, aumentando a temperatura da na superfície da Terra. É preciso salientar também que se não houvesse esses gases na atmosfera,

a temperatura da Terra seria em média 30°C menor e não existiria vida como se conhece hoje. O Sol emite radiação que em parte é absorvida pela matéria na superfície da Terra. Essa radiação é convertida e emitida novamente para a atmosfera em forma de radiação infravermelha (menos energética). Devido a um grande acúmulo de gases do efeito estufa essa radiação devolvida fica aprisionada, devido à absorção da radiação infravermelha por esses gases. Tal absorção provoca outra emissão de radiação novamente para a superfície terrestre. Essa energia aprisionada causa um aumento da temperatura na superfície-troposfera, figura 19 (NERES DA SILVA et al., 2009).

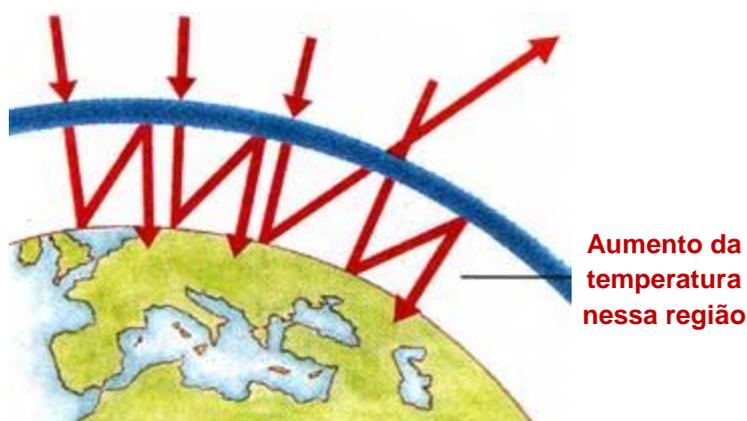


Figura 19 – Efeito estufa, gases do aquecimento global. (In: <http://www.petvale.com.br>).

O problema acontece devido a um aumento excessivo dos gases responsáveis pelo efeito estufa na atmosfera, por causa das atividades humanas. Conseqüentemente há também um proporcional aumento do efeito estufa e um aquecimento global do planeta (TOLENTINO; ROCHA-FILHO, 1998).

Estudando os gases do efeito estufa é possível levar o tema para a multidisciplinaridade, questionando quais suas fontes geradoras. Estes gases são provenientes da indústria, do ambiente doméstico, da combustão de vários compostos, da respiração celular, da decomposição de matéria orgânica, da ação microbiana e etc.

Segundo Neres da Silva et al. (2009), livros distribuídos para o ensino médio tratam do assunto do efeito estufa, relacionando química e o meio ambiente. Os temas abordados são: composição da atmosfera, cálculo de fórmulas, estudo dos gases, leis de transformações, estrutura da matéria, impactos e química ambiental. Porém, o autor sugere para um estudo mais detalhado do fenômeno a explicação da interação da radiação eletromagnética com a matéria, através de conceitos de absorção e emissão, onde as diferentes formas de radiação mais energéticas (eletromagnética) são absorvidas pela matéria e transformadas em radiação menos energética (infravermelho), que é devolvida para a atmosfera (emissão). Nessa região gases tais como CO_2 , H_2O , O_3 , CH_4 , S_xO_y e N_xO_y , absorvem a radiação infravermelha emitida pela matéria da superfície tendo participação no efeito estufa. Esses gases absorvem a radiação infravermelha e sofrem uma vibração de seus grupos atômicos figura 20, provocando assim o aumento do movimento da molécula e sua energia interna onde se libera calor.



Figura 20 – Efeito da radiação infra vermelho nos gases estufa. (In: NERES DA SILVA et al., 2009 p.271)

Entendimento da radiação ultravioleta, visível, infravermelho e componentes que envolvem a energia de uma molécula é de grande importância para aprofundar o tema efeito estufa, atuando como pré-requisitos para o estudo do mesmo. (NERES DA SILVA et al., 2009).

Segundo Goi (2009), experimentos auxiliam na demonstração da poluição atmosférica, o autor propõe combustões de diferentes materiais com o intuito de relatar a origem de alguns gases do efeito estufa produzidos pela sociedade, e conscientizar o aluno da poluição causada no ambiente que ele vive. O autor propõe práticas para que o aluno pesquise sobre o assunto organize suas ideias, crie hipóteses e sugira resoluções para problemas do dia-dia.

Uma das práticas é a queima de carvão com óleo, queima de papel umedecido com álcool e gasolina, observando os gases desprendidos. Uma segunda prática seria a queima, em recipientes separados de álcool e gasolina, coletando os gases com algodão úmido para depois ser feito teste de pH. Para este teste o algodão utilizado na coleta dos gases deve ser mergulhado em água para solubilizar as substâncias formadas e em seguida ser feita a medida do pH da água. Uma terceira prática seria a queima de enxofre em recipiente fechado para formação de óxidos de enxofre que em presença de água gera ácido sulfúrico. Todas essas substâncias podem ser queimadas em lugares propícios com segurança e de maneira correta, sempre orientada pelos professores, com o intuito de mostrar a poluição causada pelas combustões diárias provocadas, por exemplo, pelos veículos e comprovar a emissão de partículas poluidoras.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 EQUIPAMENTOS

- Agitador de tubo de ensaio (Phoenix)
- Agitador magnético/Chapa aquecedora TE – 085 – (Tecnal).
- Agitador mecânico (Fisatom 713).
- Autoclave vertical (Phoenix).
- Balança analítica (Gehaka, BG 1000).
- Balança semi-analítica (modelo: B-tec-1300)
- Bico de bunsen.
- chapa aquecedora (Fisatom 503)
- Espectrofotômetro (Tecnal/Fentom 700 Plus).
- Estufa (Tecnal-397/4).
- Estufa para cultura Bacteriológica (Tecnal TE-398/2).
- Micropipeta (Lab Mate, vol. 0,50 – 5 mL).
- Micropipeta (Lab Mate, vol. 100 – 1000 µL).
- Peneira de 100 mesh (Bertel Ind. Metalúrgica Ltda).
- Peneira de 60 mesh (Bertel Ind. Metalúrgica Ltda).
- pHmetro digital (Tecnal).
- Termômetro (Icoterm – 635).

6.2 REAGENTES

- Ácido 3,5 - dinitro salicílico (Vetec).
- Ácido cítrico (Carlo Erba).
- Água destilada.
- Bagaço de cana-de-açúcar cedido pela Usina Cocal de Tarumã-SP.
- Celulase de origem microbiana *Trichoderma reesei*-Novozymes A/S (NS 50013).
- Citrato de sódio (Vetec).
- Glicose (Vetec).
- Hidróxido de sódio (Quimex).
- Indicador universal (Merck).
- Solução indicador sal sódico vermelho de metila
- Solução hidróxido de sódio 4, 5 e 6%
- Solução indicador fenolftaleína
- Solução HCl 0.1%
- Sulfito de sódio (Synth).
- Tartarato de sódio e potássio. (Chemco)

6.3 MATERIAIS

- Balão Volumétrico de 1000, 200, 50 mL
- Bastão de vidro.
- Béquer de 2000, 1000, 600, 250 e 100mL.

- Boneca (algodão papel alumínio e fita adesiva).
- Cubeta de vidro.
- Espátula.
- Erlenmeyer 500 e 125 mL.
- Frasco de vacina.
- Funil de vidro.
- Gamela
- Grade para tubo de ensaio.
- Pinça stainless LB2 – S4
- Bureta de 50mL.
- Proveta de 250 mL.
- Rolha de borracha.
- Tubo de Folin Won de 25 mL.

6.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

6.4.1 Seleção do Bagaço.

Os 8Kg de bagaço de cana-de-açúcar cedido pela Usina Cocal de Paraguaçu Paulista-SP , foram selecionados para retirar partículas maiores e sujidades obtendo 4,0Kg de bagaço de cana-de-açúcar de menores dimensões.

6.4.2 Etapa de lavagem e obtenção de bagaço in-natura

Os 4,0Kg bagaço de cana foram divididas em frações, para que todas tivessem como massa inicial 50 gramas. Cada fração de 50 gramas foi adicionada em um

béquer de 2000 mL com 1500 mL de água destilada. A mistura foi aquecida a 70°C e mantida nesta temperatura por 2 horas sob agitação mecânica constante de 1000 RPM, trocando a água a cada meia hora. Em seguida a mistura foi filtrada e as frações foram secas em estufa a 70°C até obter massa constante, obtendo-se o bagaço in-natura.

6.4.3 Planejamento Fatorial

O planejamento fatorial foi desenvolvido para encontrar as melhores variáveis de processos na etapa do pré-tratamento. Para isso foi considerada as variáveis pressão da autoclave (em Kgf/cm²) e concentração da solução de hidróxido de sódio (em %). A escolha dessas variáveis se deu pelo fato das mesmas estarem ligadas diretamente ao processo de pré-tratamento. A tabela 2 representa o planejamento fatorial realizado.

Variáveis	Níveis		
	-1	Ponto central	+1
Concentração (%)	4	5	6
Pressão (Kgf/cm ²)	1,00	1,25	1,50

Tabela 2 – Planejamento Fatorial

6.4.4 Pré-tratamento com água destilada variando pressões e temperaturas

O pré-tratamento com água destilada à pressão 1,0Kgf/cm² e temperatura 121°C, denominado explosão á vapor, foi realizado em uma etapa. Foram introduzidos 12,5 gramas de bagaço e 250 mL de água destilada em um erlenmeyer de 500mL, o qual

foi vedado com uma boneca. Em seguida, este sistema foi introduzido em uma autoclave e autoclavado à pressão $1,0 \text{ Kgf/cm}^2$ e temperatura 121°C durante 30 minutos. Depois o bagaço foi filtrado simultaneamente em peneira tamis de 60 e 100 mesh e lavado com bastante água destilada. Após ficar em média 12 horas filtrando em tamis, o bagaço retido na peneira de 60 mesh foi seco em estufa a 70°C até obter massa constante, obtendo-se o primeiro bagaço pré-tratado denominado $B_0P_{1,0}$.

O pré-tratamento com água destilada à pressão $1,25 \text{ Kgf/cm}^2$ e temperatura $123,5^\circ\text{C}$, denominado explosão à vapor, foi realizado em uma etapa, a mesma descrita anteriormente, variando os parâmetros da autoclavagem, pressão e temperatura para $1,25 \text{ Kgf/cm}^2$ e $123,5^\circ\text{C}$, respectivamente, obtendo o bagaço pré-tratado denominado $B_0P_{1,25}$.

O pré-tratamento com água destilada à pressão $1,5 \text{ Kgf/cm}^2$ e temperatura 127°C , denominado explosão à vapor, foi realizado em uma etapa, a mesma descrita anteriormente, variando os parâmetros da autoclavagem, pressão e temperatura para $1,5 \text{ Kgf/cm}^2$ e temperatura 127°C , respectivamente. Obtendo o bagaço pré-tratado denominado $B_0P_{1,5}$.

6.4.5 Pré-tratamento com hidróxido de sódio variando suas concentrações

O pré-tratamento com hidróxido de sódio 4% à pressão $1,0 \text{ Kgf/cm}^2$ e temperatura 121°C , denominado explosão à vapor alcalino, foi realizado em uma etapa. Foram introduzidos 12,5 gramas de bagaço e 250 mL de solução hidróxido de sódio 4% em um erlenmeyer de 500mL, o qual foi vedado com uma boneca. Em seguida, este sistema foi colocado em uma autoclave e autoclavado à pressão $1,0 \text{ Kgf/cm}^2$ e temperatura 121°C durante 30 minutos. Depois o bagaço foi filtrado simultaneamente em peneira tamis de 60 e 100 mesh, lavado com bastante água destilada e neutralizado com uma solução de ácido clorídrico 0,1%. A neutralização foi verificada com indicadores de ácido e base adicionados na água de lavagem do sistema filtrante do bagaço. Após ficar em média 12 horas filtrando em tamis, o

bagaço retido na peneira de 60 mesh foi seco em estufa a 70°C até obter massa constante, obtendo-se o bagaço pré-tratado denominado B₄P_{1,0}.

O pré-tratamento com hidróxido de sódio 4% à pressão 1,25Kgf/cm² e temperatura 123,5°C, denominado explosão á vapor alcalino, foi realizado em uma etapa, a mesma descrita anteriormente, variando os parâmetros da autoclavagem, pressão e temperatura para 1,25 Kgf/cm² e 123,5°C, respectivamente, obtendo-se o bagaço pré-tratado denominado B₄P_{1,25}.

O pré-tratamento com hidróxido de sódio 4% à pressão 1,5Kgf/cm² e temperatura 127°C, denominado explosão á vapor alcalino, foi realizado em uma etapa, a mesma descrita anteriormente, variando os parâmetros da autoclavagem, pressão e temperatura para 1,5 Kgf/cm² e 127°C, respectivamente, obtendo-se o bagaço pré-tratado denominado B₄P_{1,5}.

O pré-tratamento com hidróxido de sódio 5% foi realizado da mesma forma descrita acima. O bagaço submetido ao pré-tratamento com NaOH 5% e nas condições de pressão 1,0Kgf/cm² e temperatura 121°C foi denominado B₅P_{1,0}. O bagaço submetido ao pré-tratamento com NaOH 5% e nas condições de pressão 1,25Kgf/cm² e temperatura 123,5°C foi denominado B₅P_{1,25}. O bagaço submetido ao pré-tratamento com NaOH 5% e nas condições de pressão 1,5Kgf/cm² e temperatura 127°C foi denominado B₅P_{1,5}.

O pré-tratamento com hidróxido de sódio 6% foi realizado da mesma forma descrita acima. O bagaço submetido ao pré-tratamento com NaOH 6% e nas condições de pressão 1,0Kgf/cm² e temperatura 121°C foi denominado B₆P_{1,0}. O bagaço submetido ao pré-tratamento com NaOH 6% e nas condições de pressão 1,25Kgf/cm² e temperatura 123,5°C foi denominado B₆P_{1,25}. O bagaço submetido ao pré-tratamento com NaOH 6% e nas condições de pressão 1,5Kgf/cm² e temperatura 127°C foi denominado B₆P_{1,5}.

6.4.6 Preparação da curva de calibração

Primeiramente foi preparada uma solução de glicose 2g/L, e diluída para concentrações 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; 1,4; 1,6g/L. Para preparar a solução de 2g/L, pesou-se em um béquer 0,5058g de glicose. Adicionou-se água para dissolver o soluto e em seguida transferiu-se para um balão de 200 mL e completou-se com água destilada. Para preparar as demais soluções foram retiradas alíquotas da solução mais concentrada com auxílio de uma bureta e transferidas para balões volumétricos de 50 mL e completado com água destilada. Em seguida foi realizada a quantificação de açúcar redutor pelo método de Miller (AGUIAR E MENEZES 2002).

Em seguida as soluções foram lidas na em espectrofotômetro á absorbância em 540nm. Com os dados de absorbância obtidos foi realizada a confecção da curva de calibração.

6.4.7 Preparação de solução tampão citrato

Para o preparo da solução tampão citrato 0,01M pH 4,8, adicionou 4,4g de ácido cítrico, 8,6g de citrato de sódio em balão volumétrico de 1000mL. A solução foi transferida para um becker de 1000mL e com o auxílio de um pHmetro corrigiu-se o pH da solução com hidróxido de sódio 2M para pH 4,8.

6.4.8 Preparo da solução enzimática

Para o preparo da solução enzimática, adicionou 500 μ L de complexo enzimático (50013) em uma proveta de 100mL e completado com água destilada até 100mL.

6.4.9 Preparo da solução de DNS (ácido 3,5 dinitro salicílico)

Para o preparo da solução DNS (ácido dinitro salicílico), adicionou 300 g de tartarato de sódio e potássio, 10 g de ácido 3,5 dinitrosalicílico, 200 mL de solução de hidróxido de sódio 2M e 200 mL de água destilada em um becker de 1000 mL, que foi colocado em agitação magnética. Após completa dissociação, a mistura foi transferida para um balão volumétrico onde foi avolumada com água destilada até 1000 mL.

6.5 Hidrólises enzimáticas

Todos os 12 tipos de bagaços pré-tratados foram submetidos a esta etapa, em duplicata.

Foram adicionados em um erlenmeyer de 125 mL, 0,50g de bagaço pré-tratado, 50 mL de solução enzimática e uma barra magnética. O sistema foi vedado com uma rolha de borracha e colocado em estufa bacteriológica a 50°C sobre um agitador magnético, o qual prosseguiu sob agitação constante por 24 horas.

Foram coletadas amostras durante todo o tempo de hidrólise. Coletas com, 2; 4; 6; 9; 12; 15 e 24 horas de reação. A concentração de açúcar redutor destas amostras foi determinada pelo método de Miller (AGUIAR E MENEZES 2002).

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A lavagem do bagaço com água quente teve a finalidade de remover substâncias que se encontram aderidas ao mesmo, derivadas da lavoura e do processo industrial, tais como: sacarose, glicídios de baixa massa molecular, sais inorgânicos, terra, adubos e outros resíduos agrícolas.

O pré-tratamento com água a diferentes pressões foi realizado seguindo a metodologia de AGUIAR e MENEZES (2002), com algumas modificações.

Segundo WYMAN et al. (2005) a água sob pressão pode penetrar na estrutura recalcitrante do composto lignocelulósico, hidratar a celulose e liberar a hemicelulose e a lignina (SILVA 2008). A figura 21 mostra o bagaço de cana-de-açúcar após pré-tratamento com água a diferentes pressões.

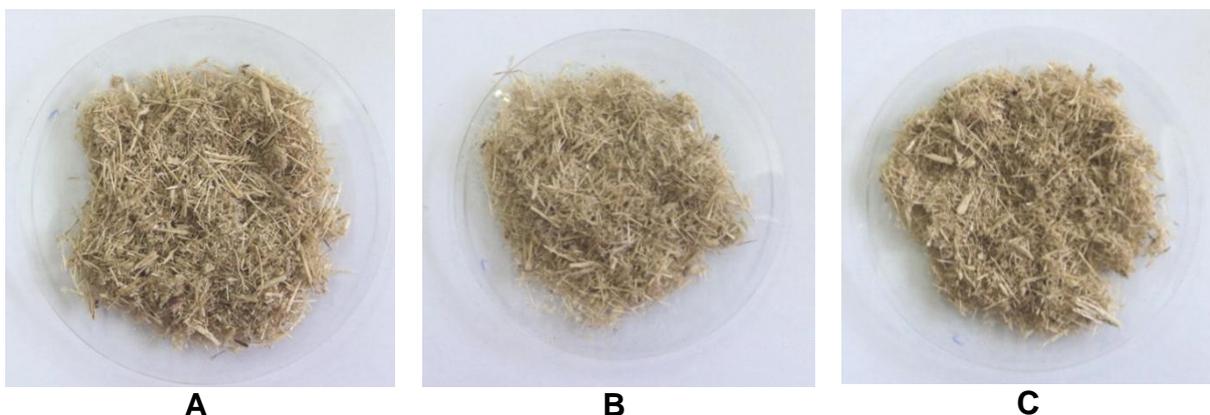


Figura 21 – Bagaço de cana-de-açúcar após explosão com água destilada e pressão: A) 1 kgf/cm², B) 1,25 kgf/cm² e C) 1,5 kgf/cm²

O pré-tratamento com hidróxido de sódio a diferentes pressões foi realizado seguindo a metodologia de AGUIAR e MENEZES (2002), com algumas modificações, o autor promovia o pré-tratamento em duas etapas primeiro físico para remoção da hemicelulose e depois pré-tratamento químico para deslignificação, promovemos todo o pré-tratamento em apenas uma etapa combinando o tratamento físico e químico.

Segundo Ereno (2010), no pré-tratamento térmico, quando há uma descompressão brusca no meio, o bagaço é desestruturado removendo a hemicelulose que fica solúvel no meio. O tratamento químico com hidróxido de sódio em condições bem suaves promove uma deslignificação do material sem a produção de compostos inibitórios. Esses tratamentos combinados diminuem na recalcitrância do bagaço.

A figura 22 mostra o bagaço de cana-de-açúcar após explosão alcalina com hidróxido de sódio 4%, a diferentes pressões.

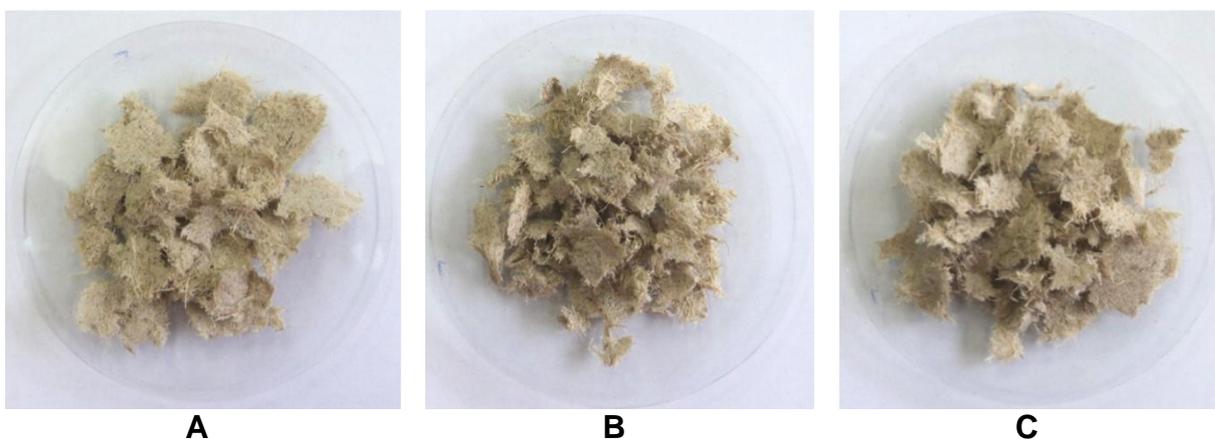


Figura 22 – Bagaço de cana-de-açúcar após explosão com hidróxido de sódio 4% com pressão: A) 1 kgf/cm², B) 1,25 kgf/cm² e C) 1,5 kgf/cm²

A figura 23 mostra o bagaço de cana-de-açúcar após explosão alcalina com hidróxido de sódio 5%, a diferentes pressões.

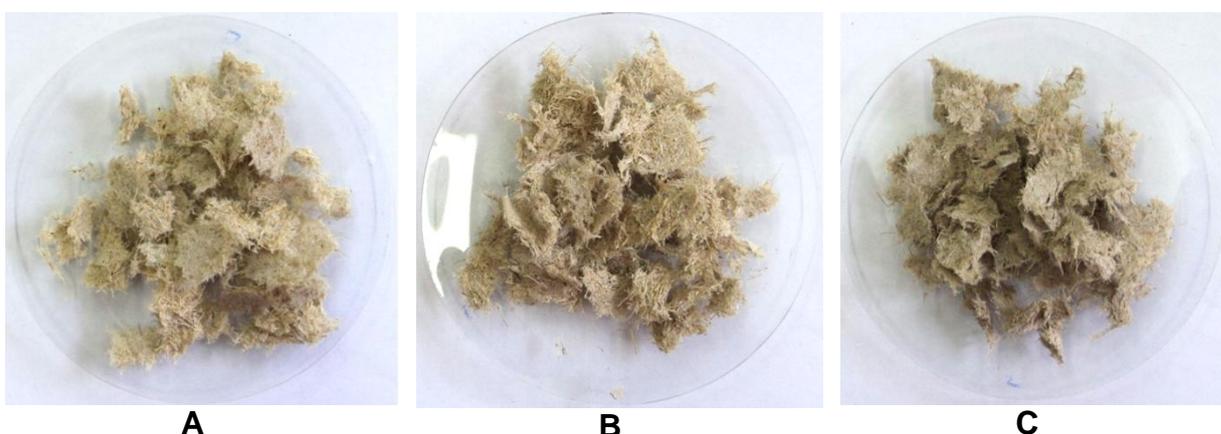


Figura 23 – Bagaço de cana-de-açúcar após explosão com hidróxido de sódio 5% com pressão: A) 1 kgf/cm², B) 1,25 kgf/cm² e C) 1,5 kgf/cm²

A figura 24 mostra o bagaço de cana-de-açúcar após explosão alcalina com hidróxido de sódio 6%, a diferentes pressões.

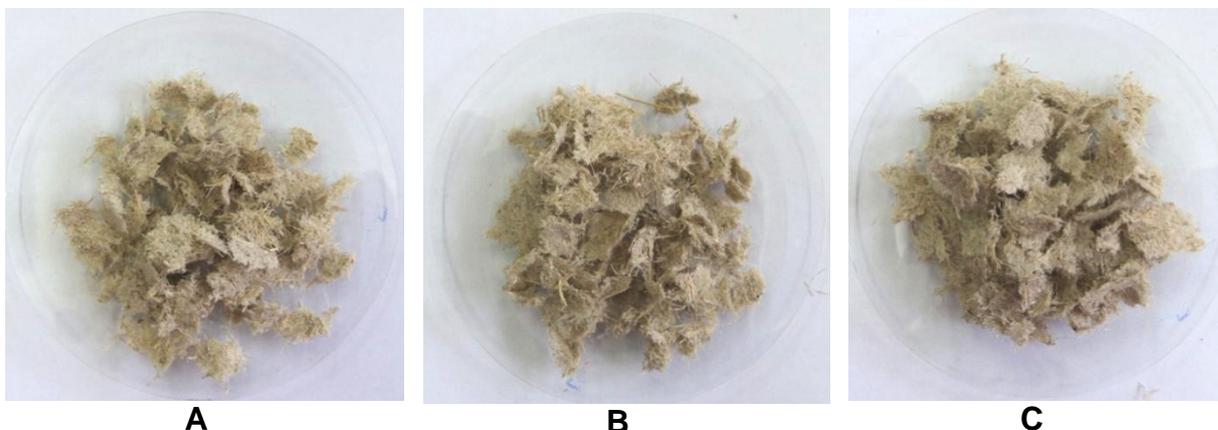


Figura 24 – Bagaço de cana-de-açúcar após explosão com hidróxido de sódio 6% com pressão: A) 1 kgf/cm², B) 1,25 kgf/cm² e C) 1,5 kgf/cm²

Toda quantificação de açúcar redutor, obtida após a hidrólise enzimática foi realizada pelo método de DNS (3,5-dinitrosalicílico). Neste método, a dosagem de açúcares redutores é baseada em uma reação de oxiredução, em meio alcalino, onde o grupo aldeído do açúcar é oxidado a carboxila e o grupo nitro do DNS e reduzido á amina (figura 25) (RABELO, 2007).

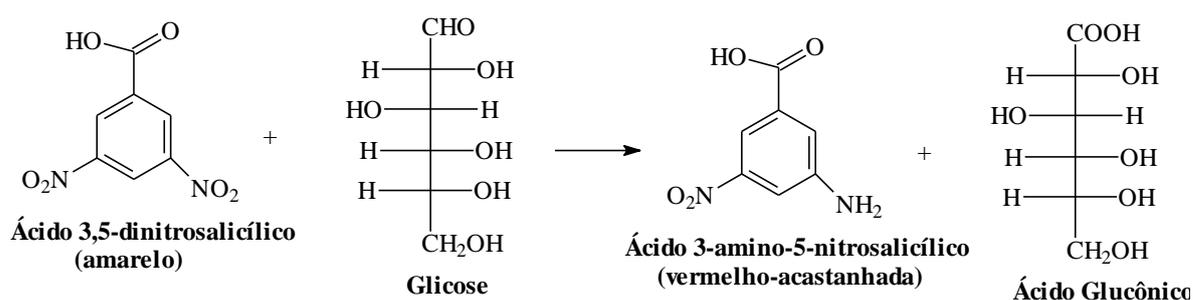


Figura 25 – Reações envolvidas no Método de dosagem de açúcares com DNS (In: SILVA, 2008, p. 26)

O composto resultante da reação, o ácido 3-amino-5-nitrosalicílico, tem cor vermelho-acastanhada (figura 26) e a intensidade da cor da solução obtida é diretamente proporcional á concentração de açúcares redutores da solução de

partida. A intensidade da cor da solução é medida pela absorvância em 540 (nm) (SILVA, 2008). A figura16 ilustra a coloração de algumas das soluções obtidas após a reação com o ácido 3,5-dinitrosalicílico.



Figura 26 – Coloração de algumas soluções obtidas após reação com ácido 3,5-dinitrosalicílico.

Para determinar a concentração dos açúcares redutores obtidos após a hidrólise dos bagaços pré-tratados, foi feita uma curva de calibração com concentrações conhecidas de glicose. Os valores médios das concentrações e as absorvâncias da curva de calibração estão apresentados na tabela 3 e figura 27.

Absorbância (540 nm)	Concentração (AR* g/L)
0,003	0,10
0,033	0,20
0,073	0,40
0,128	0,60
0,193	0,80
0,240	1,00
0,308	1,20
0,362	1,40
0,400	1,60

* A.R. – Açúcar Redutor em gramas por litro em solução após hidrólise enzimática

Tabela 3 – Concentrações e absorvâncias da curva de calibração.

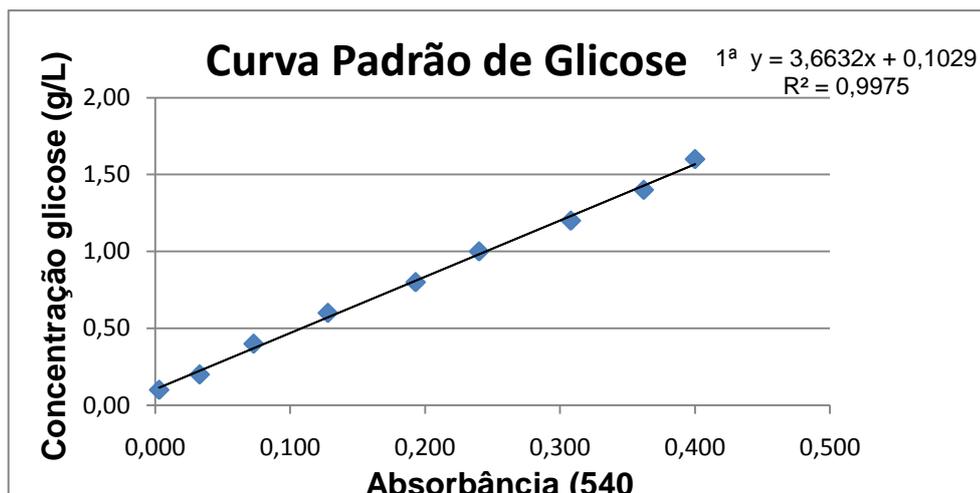


Figura 27 – Curva de calibração de açúcar redutor.

Os valores das concentrações de açúcares redutores encontrados, após hidrólise enzimática de cada bagaço que foi efetuado o pré-tratamento, está apresentado na tabela 4.

Pré-tratamento	Abs. 540 nm (média)	Concentração de Açúcar redutor Total (g/L) 24h de reação	Diluição	Concentração final de Açúcar Redutor (g/L)
B ₀ P _{1,0}	0,037	0,161	1:4	0,64
B ₀ P _{1,25}	0,039	0,169	1:4	0,68
B ₀ P _{1,5}	0,028	0,133	1:4	0,53
B ₄ P _{1,0}	0,284	1,143	1:8	9,15
B ₄ P _{1,25}	0,289	1,162	1:8	9,29
B ₄ P _{1,5}	0,287	1,154	1:8	9,23
B ₅ P _{1,0}	0,289	1,162	1:8	9,29
B ₅ P _{1,25}	0,295	1,183	1:8	9,47
B ₅ P _{1,5}	0,269	1,088	1:8	8,71
B ₆ P _{1,0}	0,251	1,022	1:8	8,18
B ₆ P _{1,25}	0,300	1,202	1:8	9,61
B ₆ P _{1,5}	0,346	1,135	1:8	9,07

Tabela 4 – Valores de absorbância, diluição e concentração de açúcares redutores obtidos.

Para os bagaços pré-tratados ($B_0P_{1,0}$ / $B_0P_{1,25}$ / $B_0P_{1,5}$ e $B_6P_{1,5}$), foi utilizado uma segunda curva de calibração, cuja equação está apresentada em eq (1) abaixo.

$$\begin{aligned} 2^a \quad y &= 3,1502x + 0,0449 \\ R^2 &= 0,9996 \end{aligned} \quad \text{eq. (1)}$$

Ao efetuar a determinação de açúcar redutor pelo método de Miller, as amostras foram diluídas para que as mesmas estivessem dentro da linearidade, obedecendo a Lei de Beer-Lambert.

A conversão enzimática do bagaço em açúcar obedeceu à equação em eq. (2) abaixo.

$$X \% = \left(\frac{(C_{\text{glicose}})}{(\% \text{ celulose} \times C_{\text{BCA}})} \times 90,9 \right) \times 100 \quad \text{eq. (2)}$$

Onde:

Fator de conversão: 90,9.

X% = conversão enzimática do bagaço de cana-de-açúcar em %.

C_{glicose} (concentração de glicose) e C_{BCA} (concentração de bagaço de cana-de-açúcar) é dada por g/L.

Para os cálculos, foram considerados 88% de celulose após os tratamentos alcalinos e 60% após somente tratamento a vapor de acordo com Adriano (2008).

A tabela 5 mostra as conversões enzimáticas obtidas de bagaço em glicose.

Conversão Enzimática do BCA (%)			
Tratamento % NaOH (m/V)	Pressão Aplicada (Kgf/cm²)		
	1,00	1,25	1,50
0	9,65%	10,29%	8,00%
4	94,45%	95,47%	94,78%
5	95,69%	97,53%	89,60%
6	84,31%	98,87%	93,63%

Tabela 5 – Conversão enzimática de bagaço em glicose

Analisando as respostas das interações entre os níveis e as variáveis do planejamento fatorial obtém-se a tabela 6.

Ensaio	Concentração (% NaOH)	Pressão (Kgf/cm²)	Resposta Conversão (%)
B ₄ P _{1,0}	4	1,00	94,45%
B ₄ P _{1,25}	4	1,25	95,47%
B ₄ P _{1,5}	4	1,50	94,78%
B ₅ P _{1,0}	5	1,00	95,69%
B ₅ P _{1,25}	5	1,25	97,53%
B ₅ P _{1,5}	5	1,50	89,60%
B ₆ P _{1,0}	6	1,00	84,31%
B ₆ P _{1,25}	6	1,25	98,87%
B ₆ P _{1,5}	6	1,50	93,63%

Tabela 6 – Respostas dos níveis e variáveis do planejamento fatorial

Com os dados obtidos foi construído o gráfico de superfície de resposta, o qual está representado na figura 28 e 29. A aplicação do planejamento fatorial como

ferramenta estatística contribui para que se possa varrer adequadamente o espaço amostral, na busca de melhores condições de pressão e concentração de NaOH para o pré-tratamento.

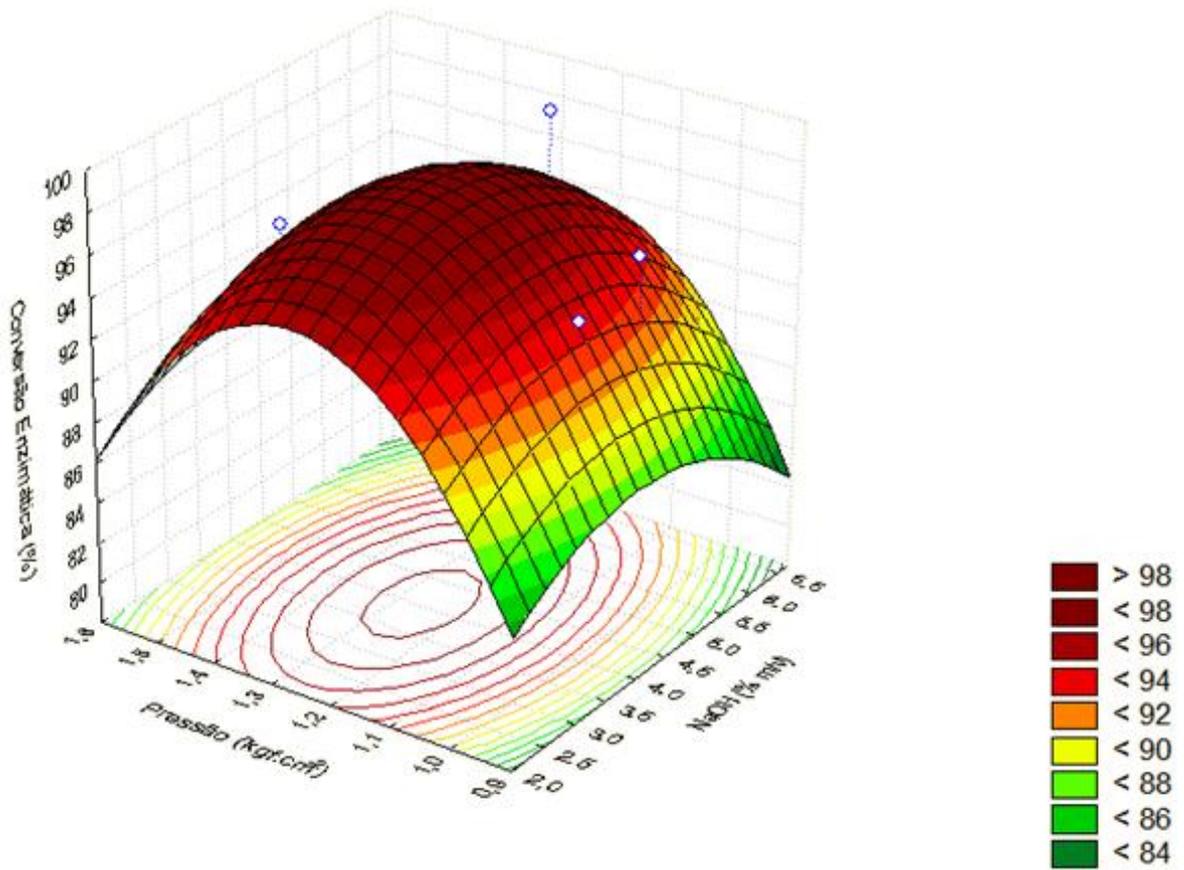


Figura 28 - Gráfico de superfície de resposta

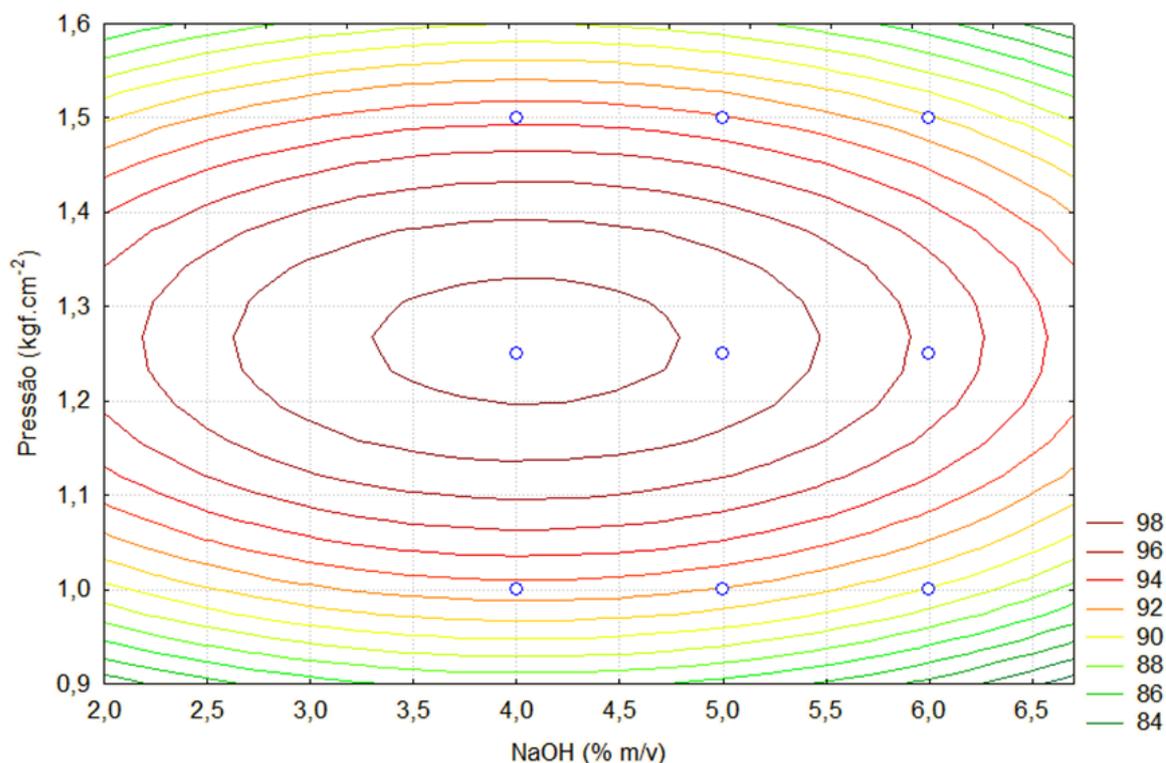


Figura 29 – Gráfico de superfície de contorno

O gráfico de superfície de resposta indicou, pelo modelo estatístico, que a melhor interação entre as variáveis ocorreram na região de 3,3 a 4,8 de concentração (% NaOH) e de 1,2 a 1,32 de pressão (Kgf/cm²). Portanto, para a otimização do processo propõe-se um estudo mais detalhado nesta faixa considerada ótima.

Foi realizado também um ensaio de hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar num período de 24 horas, denominado hidrólise longa. A tabela 7 apresenta as concentrações de açúcar redutor obtido utilizando substrato pré-tratado com concentração de NaOH 4% nos diferentes valores de pressão e em diferentes intervalos de tempo.

Tempo (h)	Concentração final de Açúcar Redutor (g/L) NaOH 4%-1,0 kgf	Concentração final de Açúcar Redutor (g/L) NaOH 4%-1,25kgf	Concentração final de Açúcar Redutor (g/L) NaOH 4%-1,5 kgf
2	5,3	5,9	6,0
4	5,9	7,4	7,4
6	6,8	7,7	8,0
9	7,0	8,2	8,3
12	7,2	8,4	8,6
15	7,4	8,9	8,6
24	9,1	9,3	9,2

Tabela 7 – Concentrações de AR obtido utilizando bagaço pré-tratado com NaOH 4%.

A figura 30 mostra a curva de hidrólise longa utilizando NaOH 4% em diferentes valores de pressão.

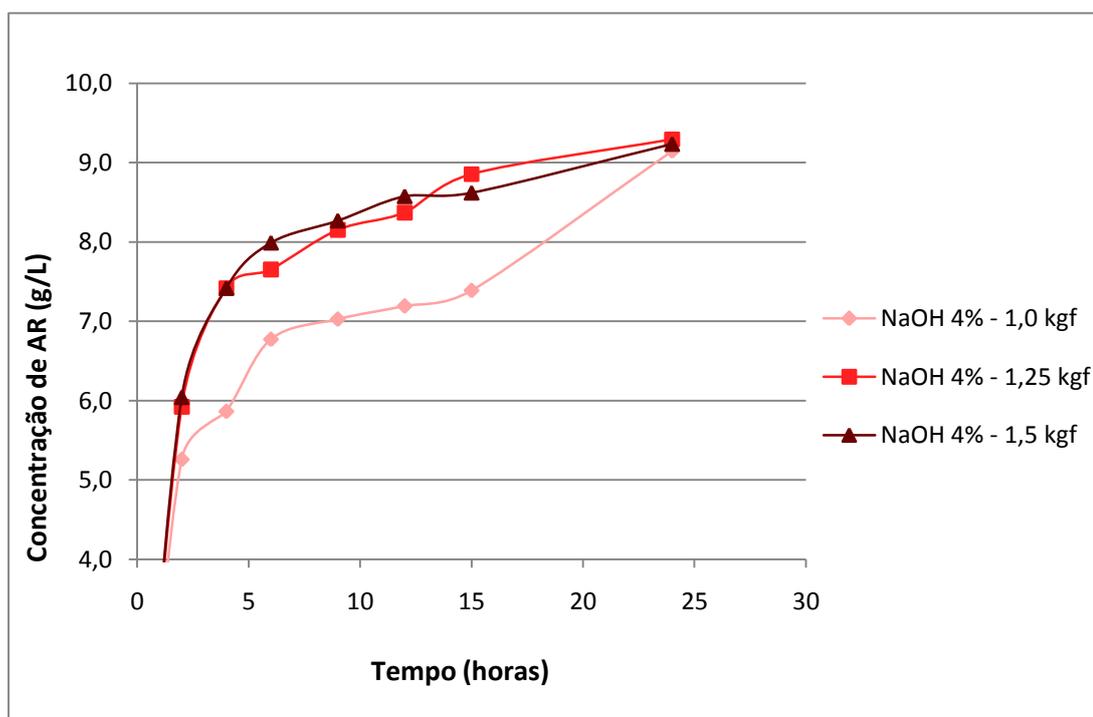


Figura 30 – Curva de hidrólise longa utilizando bagaço pré-tratado com NaOH 4% em diferentes valores de pressão.

A tabela 8 apresenta as concentrações de açúcar redutor obtido utilizando substrato pré-tratado com concentração de NaOH 5% nos diferentes valores de pressão e em diferentes intervalos de tempo.

Tempo (h)	Concentração final de Açúcar Redutor (g/L) NaOH 5%-1,0 kgf	Concentração final de Açúcar Redutor (g/L) NaOH 5%-1,25kgf	Concentração final de Açúcar Redutor (g/L) NaOH 5%-1,5 kgf
2	6,3	6,2	6,5
4	7,1	7,8	7,3
6	7,3	8,1	7,6
9	7,9	8,5	8,2
12	8,3	9,1	8,0
15	8,4	8,9	8,7
24	9,3	9,5	8,7

Tabela 8 - Curva de hidrólise longa utilizando bagaço pré-tratado com NaOH 5% em diferentes valores de pressão.

A figura 31 mostra a curva de hidrólise longa utilizando NaOH 5% em diferentes valores de pressão.

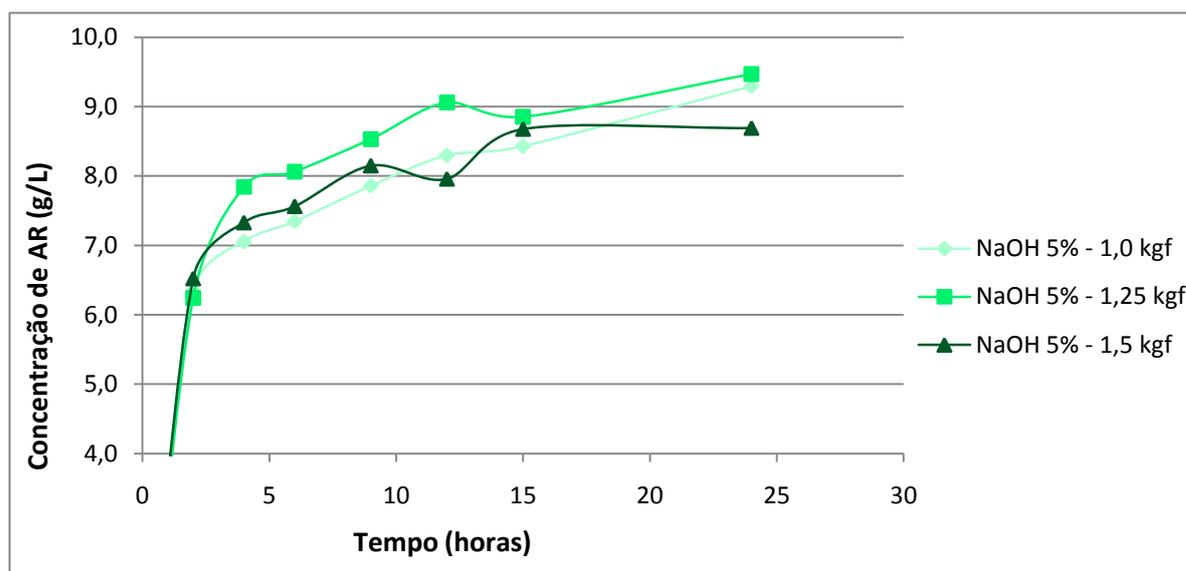


Figura 31 – Curva de hidrólise longa utilizando bagaço pré-tratado com NaOH 5% em diferentes valores de pressão.

A tabela 9 apresenta as concentrações de açúcar redutor obtido utilizando substrato pré-tratado com concentração de NaOH 6% nos diferentes valores de pressão e em diferentes intervalos de tempo.

Tempo (h)	Concentração final de Açúcar Redutor (g/L) NaOH 6% - 1,0 kgf	Concentração final de Açúcar Redutor (g/L) NaOH 6% - 1,025kgf	Concentração final de Açúcar Redutor (g/L) NaOH 6% - 1,5 kgf
2	6,2	6,5	5,1
4	7,1	7,8	6,6
6	7,2	8,1	7,1
9	7,5	8,4	7,9
12	7,5	8,8	8,3
15	8,2	-	8,5
24	8,2	9,6	9,1

Tabela 9 - Curva de hidrólise longa utilizando bagaço pré-tratado com NaOH 6% em diferentes valores de pressão.

A figura 32 mostra a curva de hidrólise longa utilizando NaOH 6% em diferentes valores de pressão.

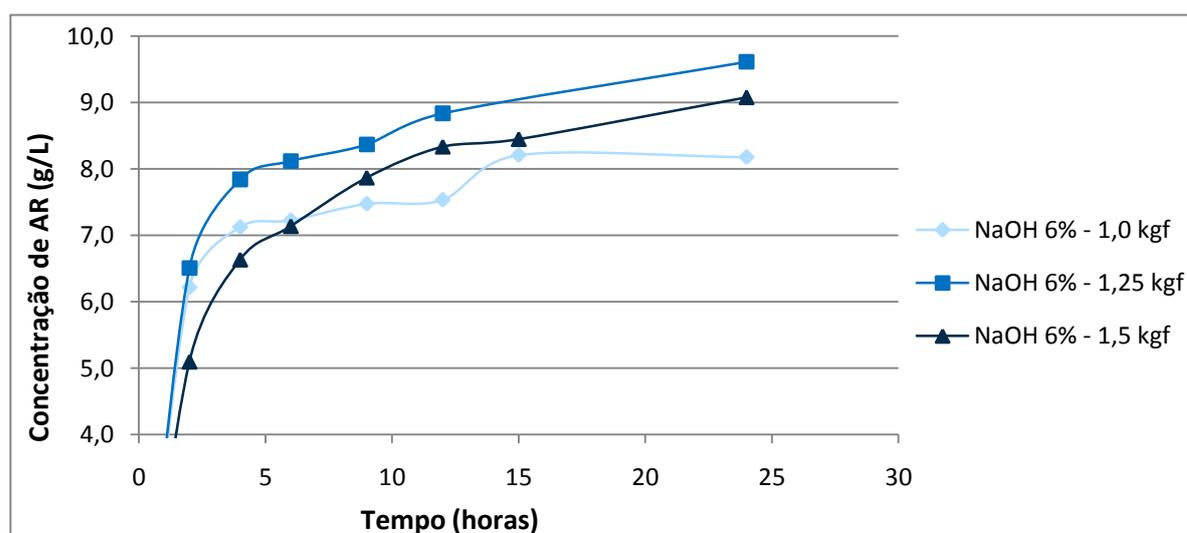


Figura 32 – Curva de hidrólise longa utilizando bagaço pré-tratado com NaOH 6% em diferentes valores de pressão.

Os resultados obtidos na hidrólise enzimática longa, nas diferentes concentrações e pressões demonstraram o mesmo perfil de hidrólise variando em faixas bem próximas.

8. CONCLUSÃO

Os dados estatísticos do programa de superfície de resposta indicaram que a melhor faixa de trabalho para o processo pré-tratamento alcalino do bagaço de cana-de-açúcar, ocorreu na região de 3,3 a 4,8 de concentração (% NaOH) e de 1,2 a 1,32 de pressão (Kgf/cm²). Isto exige, portanto, um estudo detalhado nesta região considerada ótima para validação do modelo estatístico.

REFERÊNCIAS

ADRIANO, Wellington Sabino. **Preparação e caracterização de derivados de enzimas industriais em quitosana**. 2008 161p. Tese (doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2008

AGUIAR, C. L. e MENEZES, T. J. B. Conversão Enzimática do Bagaço de Cana-de-Açúcar. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n.26, p.52-55, maio/jun.,2002.

CÂNDIDO, Rafael Garcia; DA SILVA, Vinícius Fernandes Nunes; OLIVEIRA, Luís Ricardo Martins; GONÇALVES, Adilson Roberto; ROCHA, George Jackson de Moraes. Estudo comparativo de pré-tratamentos do bagaço de cana visando à obtenção de etanol celulósico, In: XVII SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 2009, Natal, Brasil.

CANELA, Maria Cristina; RAPKIEWICZ, Cleli Elena; DOS SANTOS, Angélica Freitas. A visão dos Professores sobre a Questão Ambiental no Ensino Médio do Norte Fluminense. **Química Nova na Escola**, n.18, novembro 2003, p. 37-41.

CANILHA, Larissa. **Produção de xilitol no hidrolisado hemicelulósico de palha de trigo**. 2006. 153p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de Lorena – Universidade de São Paulo, Lorena, 2006.

CARDOSO, Arnaldo Alves; MACHADO, Cristine de Mello Dias; PEREIRA, Elisabete Alves. Biocombustível, o Mito do Combustível Limpo. **Química Nova na Escola**, n. 28, maio, 2008, p.9-14.

COELHO, Juliana Cardoso; MARQUES, Carlos Alberto. A Chuva Ácida na Perceptiva de Tema Social: Um Estudo com Professores de Química. **Química Nova na Escola**, n.25, maio, 2007, p.14-19.

DA COSTA SOUSA, Leonardo; CHUNDAWAT, Shishir PS, BALAN, Venkatesh; DALE, Bruce E. 'Cradle-to-grave' assessment of existing ignocellulose pretreatment technologies. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 20, 2009, p. 339-347.

DA SILVA, Vinícius Fernandes Nunes. **Estudos de pré-tratamentos e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapas no processo de obtenção de etanol celulósico**. 2009. 116p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de Lorena– Universidade de São Paulo, Lorena, 2009.

DAZZANI, Melissa; CORREIA, Paulo R.M.; OLIVEIRA, Pedro V.; MARCONDES, Maria Eunice R.. Explorando a Química na Determinação do Teor de Álcool na Gasolina. **Química Nova na Escola**, n.17, maio, 2003, p.42-45.

ERENO, Dinorah; CESAR, Eduardo, Rota enzimática. **Revista FAPESP**, n.169, março, 2010, p. 69-71.

FERREIRA, Vitor Francisco; ROCHA David Rodrigues da. Potencialidades e oportunidades na química da sacarose e outros açúcares. **Química Nova**, v. 32, n. 3, abril, 2009, p. 623-638.

FIALHO, Lucimar Lopes; DA SILVA, Wilson Tadeu Lopes; MILORI, Débora M. B.; SIMÕES, Marcelo Luiz; MARTIN-NETO, Ladislau; SAAB, Sérgio da Costa. Interferência da Lignina na Quantificação de Radicais Livres no Processo de Compostagem. **Química Nova**, v. 33, n. 2, 2010, p. 364-369.

GALEMBECK, Fernando; BARBOSA, César Augusto Sales; SOUSA, Rafael Arromba de. Aproveitamento sustentável de biomassa e de recursos naturais na inovação química. **Química Nova**, v. 32, n. 3, abril, 2009, p. 571-581.

GOI, Mara Elisângela Jappe; DOS SANTOS, Flávia Maria Teixeira. Reações de Combustão e Impacto Ambiental por meio de Resolução de Problemas e Atividades Experimentais **Química Nova na Escola**, v.31, n.3, agosto, 2009, p.203-209.

GOLDEMBERG, José. Biomassa e energia **Química Nova**, v. 32, n. 3, março, 2009, p. 582-587.

LÔBO, Ivon Pinheiro; FERREIRA, Sérgio Luis Costa; CRUZ, Rosenira Serpa da. Biodiesel: Parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, v. 32, n. 6, julho, 2009, p. 1596-1608.

MAIA, Daltamir J.; GAZOTTI, Wilson A.; CANELA, Maria C.; SIQUEIRA, Aline E.. Chuva Ácida: Um Experimento para Introduzir Conceitos de Equilíbrio Químico e Acidez no Ensino Médio. **Química Nova na Escola**, n.21, maio, 2005, p.44-46.

MORAES, Guilherme da Silveira de. **Efeito dos Diferentes Tratamentos Químicos na Hidrólise Enzimática do Bagaço de Cana-de-Açúcar**. 2009. 27p. Relatório de Iniciação Científica – Fundação Educacional do Município de Assis, Química Industrial, Assis, 2009.

MOUTTA, Rondinele de Oliveira. **Hidrólise ácida de palha de cana-de-açúcar para obtenção de hidrolisado hemicelulósico visando à utilização em processos de obtenção de bioetanol**. 2009. 101p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de Lorena– Universidade de São Paulo, Lorena, 2009.

NERES DA SILVA, Cristina; LOBATO, Anderson Cezar; LAGO, Rochel Montero; CARDEAL, Zenilda de Lourdes; QUADROS, Ana Luiza de. Ensinando a Química do Efeito Estufa no Ensino Médio: Possibilidades e Limites. **Química Nova na Escola**, v.31, n.4 , novembro, 2009, p.268-274

OLIVEIRA, Sheila Rodrigues; GOUVEIA, Viviane de Paula; QUADROS, Ana Luiza de. Uma Reflexão sobre Aprendizagem Escolar e o Uso do Conceito de Solubilidade/Miscibilidade em Situações do Cotidiano. **Química Nova na Escola**, v.31, n.1, fevereiro, 2009, p. 23-30.

RABELO, S. C. **Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar**. 2007, 150 p. Dissertação (mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química. Campinas, 2007.

RAMOS, Luiz Pereira. The chemistry Involved in the Steam Treatment of Lignocellulosic Materials. **Química Nova**, v. 26, nº. 6, 2003, p. 863-871.

REYES, Juan; PERALTA-ZAMORA, Patrício; DURÁN, Nelson. Hidrólise Enzimática de Casca de Arroz Utilizando-se Celulases. Efeito de Tratamentos Químicos e Fotoquímicos. **Química Nova**, v. 21, nº. 2, 1998, p. 140-143.

RUBIRA, Adley F.; SILVA, Rafael; HARAGUCHI, Shirani K.; MUNIZ, Edvani C. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Química Nova** v. 32, nº 3, 2009, p.661-671.

SANDGREN, Mats; STAHLBERG, Jerry; MITCHINSON, Colin. Structural and biochemical studies of GH family 12 cellulases: improved thermal stability, and ligand complexes. *Biophysies & Molecular Biology*, v. 89, 2005, p. 245-291.

SANTOS, Ana Paula B.; PINTO, Angelo C.; Biodiesel: Uma Alternativa de Combustível Limpo. **Química Nova na Escola**, v. 31, n. 1, fevereiro, 2009, p.58-62

SANTOS, Celênia Pereira; DOS REIS, Lêda Nunes; MOREIRA, José Eduardo Borges; BRASILEIRO, Lilian Borges. Papel: como se fabrica?. **Química Nova na Escola**, nº. 14, novembro, 2001, p. 3-7.

SILVA, Andressa Arianne Souza e. **Efeito dos Diferentes Métodos de Tratamento do Bagaço de Cana-de-açúcar na Obtenção de Açúcares Fermentáveis por Conversão Enzimática**. 2008. 33p. Trabalho de Conclusão de Curso (Química Industrial) – Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA/Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA.

SUAREZ, Paulo A. Z.; SANTOS, André L. F.; RODRIGUES, Juliana P.; ALVES, Melquizedeque B.. Biocombustíveis a partir de óleos e gorduras, desafios tecnológicos para viabilizá-los. **Química Nova**, v. 32, n. 3, abril, 2009, p. 768-775.

TOLENTINO, Mario; ROCHA-FILHO, Romeu C.. A química no efeito estufa. **Química Nova na Escola**, n.8, novembro,1998, p. 10-14.

VALADARES, Eduardo de Campos. Propostas de Experimentos de Baixo Custo Centradas no Aluno e Na Comunidade **Química Nova na Escola**, n.13, maio, 2001, p.38-40.

WYMAN, Charles E.; DALE, Bruce E.; ELANDER, Richard T.; HOLTZAPPLE, Mark; LADISCH, Michael R.; LEE, Y. Y. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. **Bioresource Technology**, v. 96, 2005, p. 1959-1966.

ZHANG, Percival Y.-H.; HIMMEL, Michael E.; MIELENZ, Jonathan R. Outlook for cellulase improviment: Screening and selection strategies, **Biotechnology Advances**, v. 24, 2006, p. 452-481.

ZHANG, Yi-Heng Percival. Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocellulose biorefineries. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, 2008, p. 367-375.

ZHANG, Yi-Heng Percival; DING, Shi-You; MIELENZ, Jonathan R.; CUI, Jing-Biao; ELANDER, Richard T.; LASER, Mark; HIMMEL, Michael E.; MCMILLAN, James R.; LYND, Lee R. Fractionating Recalcitrant Lignocellulose at Modest Reaction Conditions. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 97, n^o 2, junho, 2007, p. 214-223.