

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITÁRIA
CAMPUS CHAPECÓ

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**DIFERENTES TRATAMENTOS DO MILHETO PÉROLA (*Pennisetum
glaucum*) PARA RECUPERAÇÃO DA CELULOSE: EFEITOS NA
COMPOSIÇÃO LIGNOCELULÓSICA**

ACADÊMICA: ALINE PERIN DRESCH

ORIENTADOR Prof.: Dr. João Paulo Bender

Fevereiro - 2022

ALINE PERIN DRESCH

**DIFERENTES TRATAMENTOS DO MILHETO PÉROLA
(*Pennisetum glaucum*) PARA RECUPERAÇÃO DA CELULOSE:
EFEITOS NA COMPOSIÇÃO LIGNOCELULÓSICA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal da Fronteira Sul.

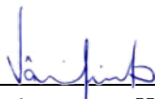
Orientador: **Prof. Dr. João Paulo Bender**

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e
aprovado pela banca em: 18/02/2022

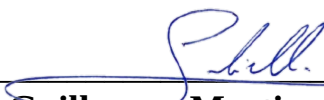
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. João Paulo Bender – UFFS



Profa. Dra. Vânia Zanella Pinto - UFFS



Prof. Dr. Guilherme Martinez Mibielli - UFFS

DIFERENTES TRATAMENTOS DO MILHETO PÉROLA (*Pennisetum glaucum*) PARA RECUPERAÇÃO DA CELULOSE: EFEITOS NA COMPOSIÇÃO LIGNOCELULÓSICA

Aline Perin Dresch¹, João Paulo Bender²

RESUMO

A valorização de resíduos vem impulsionado iniciativas sustentáveis nos últimos tempos, as quais almejam, principalmente, a produção de produtos com um alto valor agregado a partir dos resíduos lignocelulósicos gerados. O milheto pérola (*Pennisetum glaucum*), gramínea rica em celulose, hemicelulose e lignina, vem sendo descartado na forma de resíduo agrícola no Brasil, em função do seu uso como planta de cobertura do solo no período entre safras de diferentes culturas. Essas frações que constituem as biomassas lignocelulósicas – celulose, hemicelulose e lignina –, quando separadas, possuem inúmeras aplicações dentro do setor produtivo, como a produção de filmes biodegradáveis, cosméticos, materiais poliméricos, combustíveis, dentre outros. Neste contexto, o objetivo desse trabalho foi estudar o isolamento da fração celulósica da biomassa de milheto pérola por meio do emprego de tratamentos químicos (alcalinos e ácidos) e físicos (explosão a vapor e redução de tamanho). A celulose obtida foi caracterizada por meio de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR-ATR). A fração rica em celulose obtida, de 79,23%, obteve um percentual de remoção de lignina e hemicelulose de 100 e 99,86, respectivamente, após a realização do tratamento alcalino-ácido com explosão a vapor. Ademais, a partir da análise de FTIR-ATR, foi possível confirmar a remoção dos componentes de lignina e hemicelulose presentes na matriz lignocelulósica, de forma a consolidar a eficiência dos tratamentos realizados no processo de isolamento da celulose a partir do milheto pérola.

Palavras-chave: Pré-tratamento alcalino-ácido. Milheto. Valoração de resíduos. FTIR.

ABSTRACT

Waste valorization has been driving sustainable initiatives in recent times, which aim mainly at the production of products with high added value from the lignocellulosic waste generated. Pearl millet (*Pennisetum glaucum*), a grass rich in cellulose, hemicellulose, and lignin, has been discarded as agricultural waste in Brazil, due to its use as a ground cover plant between harvests of different crops. These fractions that constitute the lignocellulosic biomass - cellulose, hemicellulose and lignin - when separated, have numerous applications in the productive sector, such as the production of biodegradable films, cosmetics, polymeric materials, fuels, among others. In this context, the objective of this work was to study the isolation of the cellulosic fraction of pearl millet biomass through the use of chemical (alkaline and acid) and physical (steam explosion and size reduction) treatments. The cellulose obtained was characterized by means of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR-ATR). The cellulose-rich fraction obtained, 79.23%, obtained a lignin and hemicellulose removal percentage of 100 and 99.86, respectively, after performing the alkaline-acid treatment with steam explosion.

¹ Discente do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Chapecó, SC, Brasil. E-mail: alinepdresch@gmail.com

² Docente do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Chapecó, SC, Brasil. E-mail: joao.bender@uffs.edu.br

Furthermore, from the FTIR-ATR analysis, it was possible to confirm the removal of lignin and hemicellulose components present in the lignocellulosic matrix, in order to consolidate the efficiency of the treatments performed in the isolation process of cellulose from pearl millet.

Keywords: Alkali-acid pretreatment. Millet. Waste valorization. FTIR.

1 INTRODUÇÃO

O milheto pérola (*Pennisetum glaucum*) é uma planta pertencente a família das poaceas, de fácil manejo e curto ciclo de produção (120 dias), que se adapta em diferentes condições climáticas. No Brasil, tem-se uma área plantada de cultivo correspondente a aproximadamente 5 milhões de hectares, podendo alcançar uma capacidade de produção de matéria seca de 20 toneladas por hectare (DIAS-MARTINS et al., 2018; PACKIAM et al., 2018; YADAV; RENGASAMY; GUPTA, 2019). O milheto assume um papel de extrema importância no agronegócio brasileiro, pois é utilizado na fabricação de ração animal e, com frequência, como planta de cobertura de solo no período entre safras de diferentes culturas. Porém, após seu uso para proteger o solo de processos erosivos e da lixiviação de nutrientes, a planta acaba sendo descartada como um resíduo agrícola. (KUHE; TERHEMBA; IORTYER, 2021; PRADO; SPINACÉ, 2019; PRASOULAS et al., 2020; YADAV; RENGASAMY; GUPTA, 2019). Diante disso, o conceito de valorização de resíduos surge como uma alternativa sustentável e lucrativa para utilização completa desses resíduos, produzindo inúmeros produtos com um alto interesse econômico a partir de uma matéria-prima lignocelulósica, minimizando os impactos ambientais associados por meio da integração de tecnologias (CARMONA-CABELLO et al., 2018; DE ASSUMPÇÃO et al., 2016; LI et al., 2014; SANTIAGO; RODRIGUES, 2017; TADIOTO et al., 2022).

Os materiais lignocelulósicos são considerados os mais abundantes do planeta e uma valiosa fonte de matéria-prima renovável e barata encontrada na natureza (BOHN et al., 2021; PINALES-MÁRQUEZ et al., 2021; VENKATESWAR RAO et al., 2016; VERDINI et al., 2021). Os principais constituintes desse material são os carboidratos de celulose e hemicelulose, os quais constituem aproximadamente cerca de 75% da composição total da matriz lignocelulósica (VERDINI et al., 2021), podendo apresentar teores entre 30-50% para a celulose e 20-40% para a hemicelulose (ROBAK; BALCEREK, 2020; VENKATESWAR RAO et al., 2016). Em função do alto percentual de celulose nas biomassas lignocelulósicas, vem crescendo o interesse na produção de nanopartículas de celulose que podem ser utilizadas como reforço de materiais

poliméricos, na produção de biocombustível, cosméticos, filmes biodegradáveis, papéis e materiais plásticos (LENHANI et al., 2021; NASCIMENTO; REZENDE, 2018). As nanopartículas de celulose possuem uma alta rigidez, cristalinidade, biodegradabilidade e origem renovável, além de ser uma estrutura de celulose pura, contendo regiões predominantemente cristalinas que amorfas (FOUAD et al., 2020; LIU et al., 2018; NASCIMENTO; REZENDE, 2018; SOUZA et al., 2020).

Entretanto, além do carboidrato de celulose estar aderido a hemicelulose, ele também está envolto por uma matriz amorfa de lignina, a qual atua como uma barreira natural ao ataque de microorganismos, proporcionando rigidez, resistência e impermeabilidade aos tecidos vegetais (LENHANI et al., 2021; SANTIAGO; RODRIGUES, 2017; SCHMATZ; MASARIN; BRIENZO, 2021). A planta pode apresentar teores de lignina entre 10-20%, que podem variar de acordo com o tipo de biomassa em estudo (CAVALI et al., 2020; ROBAK; BALCEREK, 2020).

À vista disso, faz-se necessário realizar processos de pré-tratamento que irão promover a quebra dessas ligações entre os três polímeros de celulose, hemicelulose e lignina, objetivando aumentar a área superficial da biomassa, maximizar os rendimentos e minimizar a formação de compostos indesejáveis ao longo do processo (DAS et al., 2019; PRADO; SPINACÉ, 2019). As tecnologias de pré-tratamento utilizadas atualmente podem ser físicas, químicas, biológicas ou combinadas, e incluem tratamentos alcalinos, com ácidos diluídos, organossolventes, hidrotermais, explosão a vapor, entre outros (LU et al., 2019; REZANIA et al., 2020; YANG et al., 2016). Todos os diferentes tratamentos possuem limitações e mecanismos diferentes, portanto, a escolha dos métodos utilizados deve levar em consideração os propósitos finais de cada estudo (YANG et al., 2016).

Os tratamentos alcalinos são eficientes para a deslignificação, e podem remover um pouco da hemicelulose (DAS et al., 2019; NASCIMENTO; REZENDE, 2018; SOUZA et al., 2020). Por outro lado, os pré-tratamentos com ácidos diluídos e de explosão a vapor são eficazes para a completa solubilização das hemiceluloses. Os ácidos são comumente utilizados em baixas concentrações (<5%) e temperaturas moderadas (120-160°C), enquanto a explosão a vapor envolve altas temperaturas e pressões seguidas de uma rápida descompressão, levando assim a ruptura mecânica do material lignocelulósico (DAS et al., 2019; LI et al., 2019; PIELHOP et al., 2016; VERDINI et al., 2021). Porém, ainda pode-se realizar o tratamento alcalino-ácido de forma sequencial, realizado por duas etapas: a primeira consiste em remover totalmente a lignina com a utilização do pré-tratamento alcalino, e a segunda na utilização do ácido diluído e/ou explosão a vapor para

completa solubilização da hemicelulose (BARUAH et al., 2018; BHUTTO et al., 2017; CAVALI et al., 2020; DE ASSUMPÇÃO et al., 2016; PIELHOP et al., 2016; QING et al., 2015).

Desse modo, este estudo teve como objetivo isolar a celulose da biomassa lignocelulósica de milho pérola por meio de tratamentos químicos e físicos, objetivando uma máxima recuperação da celulose e uma total solubilização da hemicelulose e lignina. E ainda, avaliar o efeito dos diferentes tratamentos sobre a morfologia da celulose obtida através da análise de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR-ATR).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

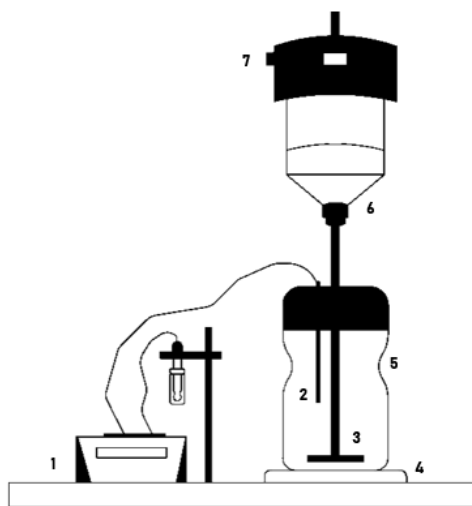
2.1 Materiais

O milho pérola é proveniente da área experimental agrícola da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS, *Campus Chapecó* - Santa Catarina, Brasil (27°11' S e 52°70' W). Após a colheita, a biomassa foi seca em estufa (AmericanLab modelo AL – 102/480) à uma temperatura de 60 °C por 48 horas, e moída em moinho de facas tipo *Willye*, a fim de obter partículas de 0,6 mm de diâmetro máximo (AmericanLab modelo AL – 032S). Todos os produtos químicos e solventes utilizados na caracterização e nos pré-tratamentos foram de grau analítico.

2.2 Isolamento das fibras de celulose

Foi adaptada uma unidade experimental (Figura 1), composta por um reator tipo tanque agitado e um agitador mecânico (Fisatom, Modelo 713D) acoplado à um impelidor de três hélices do tipo naval. Por meio dessa unidade experimental, foram realizados quatro pré-tratamentos à biomassa de milho.

Figura 1. Representação esquemática do aparato experimental: (1) pHmetro de bancada; (2) Eletrodo de temperatura; (3) Impelidor; (4) Chapa aquecedora com controle de temperatura; (5) Reator; (6) Motor de agitação e; (7) Controlador de agitação (rpm).



Fonte: Elaborado pelos autores, 2022.

2.2.1 Tratamento alcalino

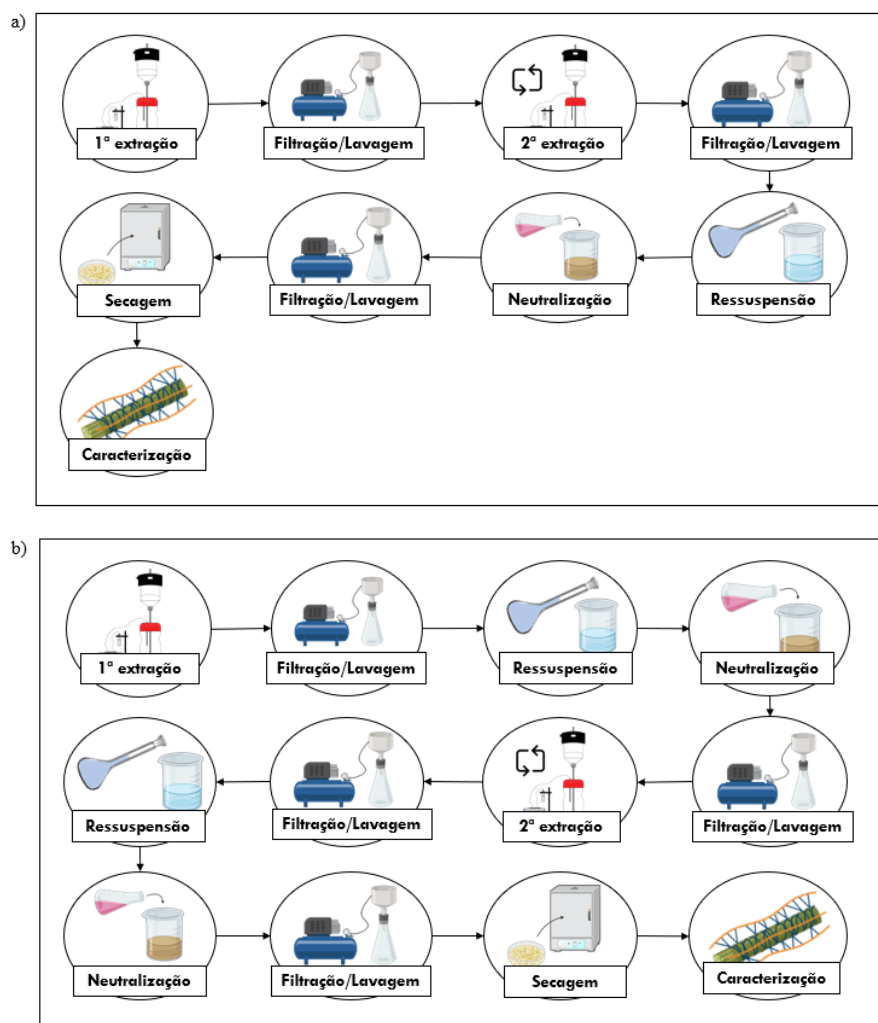
O método de extração da celulose foi baseado no estudo realizado por SOUZA et al. (2020). O milho foi tratado com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 4% (m/v) a 80°C e 1200 rpm por 4, 8 e 12 horas (totalizando uma, duas e três extrações, respectivamente), sob agitação mecânica. A cada 4 horas de extração, o meio reacional – contendo biomassa e solução de hidróxido de sódio – foi neutralizado com ácido acético (CH_3COOH) 3% (v/v) até a faixa de pH 6-7, filtrado em funil de Büchner utilizando o tecido VOAL e lavado com água destilada. Assim, para a extração de 8 horas, a biomassa proveniente da primeira batelada foi tratada mais uma vez em solução de hidróxido de sódio, enquanto para a extração de 12 horas a biomassa foi tratada mais duas vezes. Transcorridas as extrações de 4, 8 e 12 horas, as frações celulósicas isoladas foram secas em estufa a 60°C por 12 horas, seguindo posteriormente para a etapa de caracterização físico-química dos três ensaios (4, 8 e 12 horas) de tratamento.

2.2.1.1 Etapa de neutralização e lavagem das amostras

Visando aprimorar a etapa de neutralização, foi realizado um processo de ressuspensão, no qual a solução era filtrada em funil de Büchner, e a fração sólida era ressuspensa em 200 mL de água destilada, para assim ser neutralizada com ácido acético 3% (v/v) até pH 6-7. Por fim, a amostra neutralizada era filtrada novamente e

lavada com água destilada. Desse modo, utilizando como base o tratamento de 8 horas, realizou-se dois experimentos: 1) realização da neutralização com ressuspensão e lavagem após as 8 horas de tratamento (Figura 2a) e; 2) realização da neutralização com ressuspensão e lavagem a cada 4 horas de extração (Figura 2b).

Figura 2. Fluxograma das etapas de: a) neutralização com ressuspensão e lavagem após as 8 horas de tratamento e b) neutralização com ressuspensão e lavagem a cada 4 horas de extração.



Fonte: Elaborado pelos autores, 2022.

2.2.2 Tratamento alcalino combinado com peróxido de hidrogênio (CT)

Esse método de extração foi baseado no estudo realizado por LENHANI et al. (2021). O milho foi tratado com uma solução de hidróxido de sódio a 4% (m/v) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 1% (v/v) a 80°C e 1200 rpm por 4 horas, sob agitação mecânica. Posteriormente, a solução foi filtrada em funil de Büchner, ressuspensa com

200 mL de água destilada, neutralizada com ácido acético 3% (v/v) até pH 6-7, filtrada novamente, lavada com água destilada e submetida a mais uma extração sob a mesma condição. Por fim, a celulose isolada, nomeada CT, foi seca em estufa a 60°C por 12 horas para determinação da caracterização físico-química.

2.2.3 Tratamento alcalino-ácido

Realizou-se, também, um tratamento com ácido oxálico ($C_2H_2O_4$) em duas diferentes concentrações, 3,8 e 5% (m/v). Para cada concentração, foram executadas três etapas: duas extrações alcalinas com hidróxido de sódio (4% m/v) – conforme descrito no item 2.2.1.1 -, e uma extração ácida, na concentração de 3,8% ou 5%, realizada sob agitação mecânica, a 80°C e 1200 rpm por 2 horas. Por fim, a celulose obtida, nomeada respectivamente de OA 3,8% e OA 5%, foi ressuspensa com 200 mL de água destilada, neutralizada com hidróxido de sódio 2% (m/v) até pH 6-7, filtrada em funil de Büchner, lavada com água destilada e seca em estufa a 60°C por 12 horas para determinação da caracterização físico-química.

2.2.4 Tratamento físico de explosão a vapor

O tratamento físico em autoclave foi realizado para três diferentes agentes químicos: hidróxido de sódio (4% m/v), ácido oxálico (5% m/v) e ácido sulfúrico (H_2SO_4) (1% v/v). Para cada agente químico, foram executadas três etapas: duas extrações alcalinas com hidróxido de sódio (4% m/v) – conforme descrito no item 2.2.1.1 -, e uma extração física de explosão a vapor realizada em uma autoclave vertical (AV Phoenix Luferco – 75 L) por 2 horas, a 1,4 bar e 125,6°C. Por fim, a celulose obtida, nomeada respectivamente de ATA4%, OAA 5%, SAA 1%, foi ressuspensa com 200 mL de água destilada, neutralizada até pH 6-7, filtrada, lavada com água destilada e seca em estufa a 60°C por 12 horas para determinação da caracterização físico-química.

2.3 Caracterização físico-química

O teor de umidade, cinzas, extrativos, lignina total e carboidratos foram determinados a partir dos métodos analíticos descritos pela National Renewable Energy Laboratory (SLUITER et al., 2012).

Para determinação do teor de lignina, celulose e hemicelulose, 3,0 mL de ácido sulfúrico (72% m/m) foram adicionados para cada 0,3 g de amostra. As amostras foram colocadas em um banho termostático a 30°C durante 1 h, para a realização da hidrólise

ácida, sendo homogeneizadas a cada 5-10 min. Decorrido o tempo da hidrólise ácida concentrada, removeu-se as amostras do banho e diluiu-se a concentração do meio para 4%, utilizando 84 mL de água destilada. Para a completa hidrólise dos oligômeros, os frascos foram vedados e autoclavados por 1 h a 121°C e 1,1 bar. Por fim, as frações sólidas e líquidas obtidas foram armazenadas para quantificação da lignina insolúvel, lignina solúvel, carboidratos, conteúdo acetil, furfural e 5-hidroximetilfurfural (RABELO et al., 2014; SLUITER et al., 2012).

Para a quantificação dos carboidratos e produtos de decomposição, utilizou-se um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE), modelo LC-MS 2020 da marca SHIMADZU, equipado com a coluna RID-10A (Refractive Index – IR).

2.4 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho foram obtidos para biomassa seca e para as fibras isoladas de celulose utilizando um espectrofotômetro equipado com acessório de refletância total atenuada (FTIR-ATR IRTrace-100, Shimadzu). Os espectros foram obtidos na região de 4000-800 cm^{-1} , após 45 leituras em uma resolução de 4 cm^{-1} (LENHANI et al., 2021; SOUZA et al., 2020).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

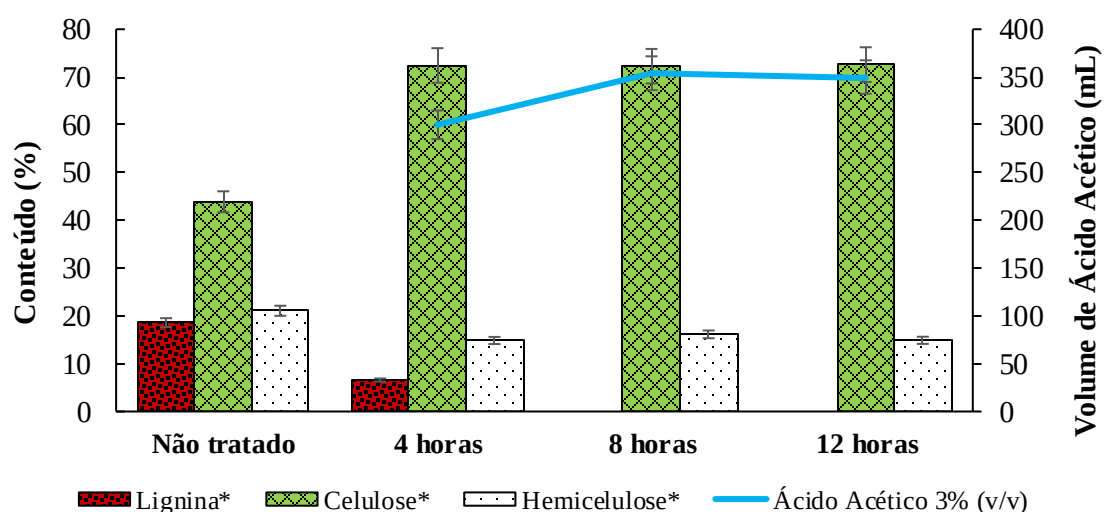
3.1 Caracterização da matéria-prima

O milho pérola apresentou teores percentuais em relação às cinzas, extrativos, lignina total, celulose e hemicelulose em base seca de: $3,03 \pm 0,26$; $15,39 \pm 0,09$; $18,55 \pm 0,65$; $43,89 \pm 2,62$; $21,08 \pm 1,31$, respectivamente. Para a mesma biomassa, outro trabalho encontrou valores de 36,43% para a celulose e 25,28% para a hemicelulose (KUMAR et al., 2019). O conteúdo de lignina total foi similar ao obtido em outro estudo, de 21,81% (PACKIAM et al., 2018). O teor de extrativos obtido para o milho pérola está em conformidade com o trabalho realizado por YADAV; RENGASAMY; GUPTA (2019), que reportou 15,63%. O teor de cinzas, está dentro dos teores relatados na literatura, a qual apresenta uma variação entre 1,8-9,46% (DIAS-MARTINS et al., 2018; PACKIAM et al., 2018; YADAV; RENGASAMY; GUPTA, 2019). Essa diferente composição relatada entre os estudos é devida a composição dos materiais lignocelulósicos, as quais podem variar de acordo com a espécie, cultivares, tipo de solo, condição climática e tempo de cultivo (YADAV; RENGASAMY; GUPTA, 2019).

3.2 Caracterização dos substratos sólidos após as etapas de pré-tratamento

Os resultados obtidos por meio do tratamento alcalino com hidróxido de sódio - 4% (m/v) à 80°C e 1200 rpm por 4, 8 e 12 horas, sob agitação mecânica – são apresentados na Figura 3. Nesta figura pode-se observar a composição química da biomassa em termos de lignina, celulose e hemicelulose, antes e após cada extração, bem como o volume de ácido acético 3% (v/v) utilizado para neutralização das amostras.

Figura 3. Composição lignocelulósica do milho pérola antes e após a realização das três extrações alcalinas de 4, 8 e 12 horas (a 80°C e 1200 rpm utilizando 4% (m/v) de hidróxido de sódio) seguida de neutralização com ácido acético 3% (v/v).



(*): Os resultados são expressos em média $\pm$ desvio padrão; (4 horas): Uma extração; (8 horas): Duas extrações; (12 horas): Três extrações.

Fonte: Elaborado pelos autores, 2022.

O milho pérola não tratado apresentou em sua composição química 18,55% de lignina, 21,08% de hemicelulose e 43,89% de celulose. Após a realização das três extrações, de 4, 8 e 12 horas com hidróxido de sódio, a celulose aumentou de 43,89% para 72,42%, 72,27% e 72,60%, respectivamente. Isso é devido à quebra das ligações éter entre os polissacarídeos de celulose e hemicelulose com a lignina, que fazem com que esses componentes sejam solubilizados mais facilmente (SCHMATZ; MASARIN; BRIENZO, 2021; YADAV; RENGASAMY; GUPTA, 2019). Por outro lado, o tratamento químico não se mostrou efetivo para solubilização total da hemicelulose, após a primeira, segunda e terceira extração, restou ainda 14,86%, 16,14% e 14,90%, respectivamente. Em relação a lignina, o tratamento com hidróxido de sódio a 4% (m/v)

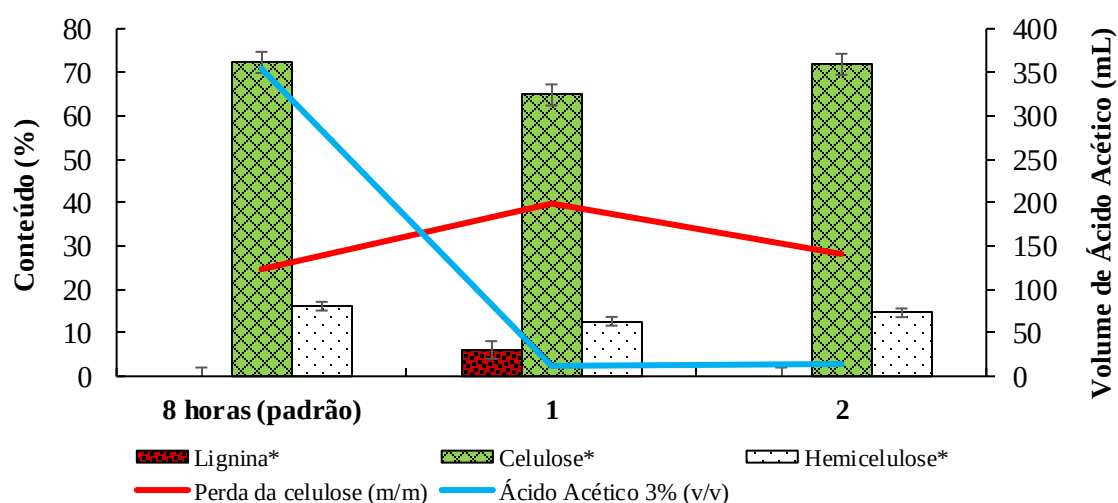
foi capaz de remover 100% da lignina presente na matriz lignocelulósica, nos ensaios com duas e três extrações.

Diante disso, para dar sequência ao estudo, optou-se pelo tratamento com duas extrações alcalinas. Haja vista que, com 8 horas de tratamento, já foi possível remover 100% da lignina presente na biomassa, não havendo necessidade de adicionar mais 4 horas de extração ao processo, reduzindo portanto o consumo de reagentes, energia e resíduos gerados, enquanto obtêm-se o mesmo rendimento de celulose (CHEMAT et al., 2017; DAHIYA et al., 2018).

Para a condição padrão definida de duas extrações alcalinas (que totalizam 8 horas de pré-tratamento), nota-se, conforme mostrado na Figura 3, que estava sendo utilizado um elevado volume da solução de ácido acético (3% v/v) para neutralizar as amostras entre e, ao fim de cada extração. Utilizou-se em média cerca de 345 mL de ácido acético (3% v/v) para neutralizar 200 mL de amostra a pH entre 6 e 7.

Assim sendo, visando reduzir o volume de ácido acético utilizado para a neutralização das amostras, realizou-se duas metodologias de neutralização e lavagem com ressuspensão: 1) neutralização com ressuspensão e lavagem após 8 horas de tratamento e; 2) neutralização com ressuspensão e lavagem a cada 4 horas de extração. Os resultados de cada neutralização estão apresentados em termos da composição lignocelulósica da biomassa e do volume de ácido acético (3% v/v) utilizado para a neutralização, conforme mostra a Figura 4.

Figura 4. Resultados da etapa de neutralização e lavagem expressos em termos da composição lignocelulósica da biomassa e do volume de ácido acético (3% v/v).



(*): Os resultados são expressos em média $\pm$ desvio padrão; (1): Neutralização com ressuspensão e lavagem após as 8 horas de tratamento; (2): Neutralização com ressuspensão e lavagem a cada 4 horas de extração.

Fonte: Elaborado pelos autores, 2022.

Diante dos resultados expostos na Figura 4, consegue-se perceber a importância da realização da neutralização seguida de lavagem entre e ao fim das extrações. O ensaio 1, correspondente a realização da lavagem com ressuspensão somente após 8 horas de tratamento, apresentou um percentual de 6,07 de lignina. Ou seja, a realização da neutralização seguida pela lavagem é de extrema importância para remover a lignina que pode ficar aderida a fração sólida da celulose. Os teores de celulose e hemicelulose diminuíram para 64,77% e 12,67%, respectivamente, porém, isso ocorre devido à não remoção da lignina da parede celular, pois quando ela é removida, ocorre um aumento aparente na porcentagem dos demais constituintes remanescentes (NASCIMENTO; REZENDE, 2018; SCHMATZ; MASARIN; BRIENZO, 2021).

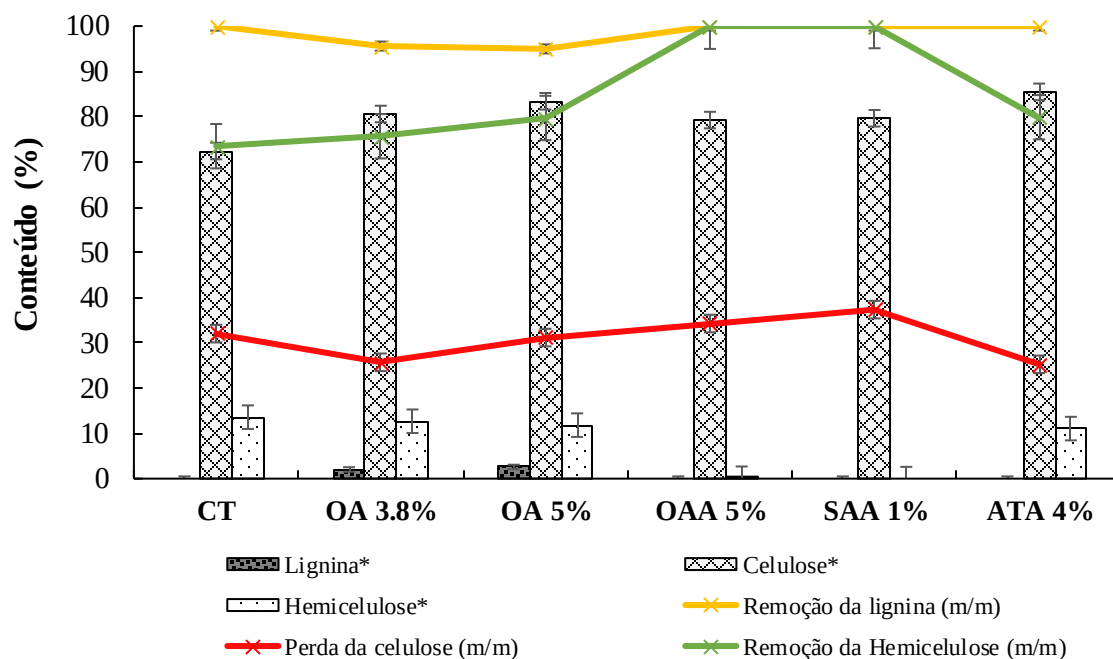
Para o ensaio 2, no qual realizou-se a neutralização com ressuspensão e lavagem a cada 4 horas de extração, a lignina foi 100% removida, confirmando assim a importância desse processo no tratamento alcalino para deslignificar a matriz lignocelulósica (LU et al., 2019). Além disso, pode-se observar uma redução no volume necessário de ácido acético 3% (v/v) para a neutralização das amostras, a diminuição foi de 345 mL, quando a neutralização foi realizada com ácido acético 3% (v/v) sem prévia ressuspensão da amostra, para 12 mL (ensaio 1) e 15 mL (ensaio 2) quando a amostra foi resuspensa em água antes da neutralização. Portanto, o consumo de reagentes utilizados no processo de neutralização foi reduzido.

O ensaio 2 ainda apresentou uma menor perda da celulose isolada, de 28,29% do que o ensaio 1, com 39,77%. No ensaio padrão de 8 horas, obteve-se uma perda de celulose de 24,67%, essa diferença entre o teste padrão e o ensaio 2 pode ser devida ao maior número de vezes em que a biomassa foi submetida ao processo de filtração e lavagem. Nessa etapa, pode-se perder um pouco da fração celulósica que fica retida no tecido de filtração utilizado. Porém, essa diferença (3,62%) se torna justificável quando se analisa a diminuição do volume de ácido acético utilizado para cada neutralização. Portanto, para dar sequência ao estudo optou-se pelo método de neutralização com ressuspensão previa à neutralização da celulose (ensaio 2).

Após a obtenção de um método efetivo de deslignificação, investigou-se tratamentos combinados, com ácidos diluídos e de explosão a vapor para conseguir solubilizar a hemicelulose remanescente na matriz lignocelulósica. Na Figura 5 são

mostrados os resultados em termos da sua composição, perda e remoção do complexo lignina-polissacarídeos para os novos tratamentos realizados.

Figura 5. Conteúdo de lignina-polissacarídeos para os diferentes tratamentos aplicados.



(*): Os resultados são expressos em média $\pm$ desvio padrão; (CT): Duas extrações alcalinas de 4 horas com NaOH 4% e H_2O_2 1%; (OA): Duas extrações alcalinas de 4 horas com NaOH 4% e uma extração ácida de 2 horas com $C_2H_2O_4$ 3,8% ou 5%; (OAA, SAA e ATA): Duas extrações alcalinas de 4 horas com NaOH 4% e uma extração ácida de 2 horas com $C_2H_2O_4$ 5%, H_2SO_4 1% e NaOH 4% em autoclave, respectivamente.

Fonte: Elaborado pelos autores, 2022.

De acordo com os resultados expostos na Figura 5, constata-se que o tratamento alcalino combinado (CT) realizado com hidróxido de sódio e peróxido de hidrogênio, não foi eficiente para remover a hemicelulose remanescente. O ensaio apresentou um percentual de 13,58% para a hemicelulose, e, ao comparar-se com o ensaio padrão de número 2, essa redução foi equivalente a apenas 1,48%. Essa baixa remoção pode ser devido ao fato de o agente químico de peróxido de hidrogênio ser um agente de branqueamento. O principal objetivo do branqueamento é branquear e limpar a polpa através da remoção das substâncias que absorvem luz, como a lignina, sendo que, esse agente pode até remover pequenos percentuais de hemicelulose, mas, seu principal objetivo é deixar que os polissacarídeos se mantenham preservados na matriz lignocelulósica (COLODETTE et al., 2002; LONGUE; COLODETTE, 2011).

A remoção da hemicelulose após os tratamentos alcalinos-ácidos OA 3,8% e OA 5% realizados sob agitação mecânica à 80°C, foi apenas de 13,58% para 12,68% e 11,82%, respectivamente. O uso dos ácidos diluídos são uma forma eficiente para realizar a degradação da hemicelulose, porém, para obter-se um alto rendimento, temperaturas mais elevadas, na faixa de 120°-160°C, devem ser empregadas (DAS et al., 2019; ZHANG et al., 2020). No estudo realizado por HONG et al. (2014), os autores constataram que sua condição ótima para solubilizar 95,74% da hemicelulose foi utilizando 178,4°C por 28,4 min, empregando uma concentração de 3,68% de ácido oxálico.

O tratamento alcalino ATA 4% com hidróxido de sódio realizado em autoclave, possibilitou remover apenas 3,56% da hemicelulose presente na matriz lignocelulósica em comparação com o ensaio 2. Esse resultado reforça o que se encontra relatado na literatura, que o uso dos ácidos diluídos são uma forma mais eficiente para realizar a degradação da hemicelulose em comparação aos tratamentos alcalinos.

Nos ensaios OAA 5% e SAA 1%, foi possível remover respectivamente cerca de 99,86% e 100% da hemicelulose remanescente na matriz lignocelulósica. Além disso, o teor de celulose na fração residual foi de 79,23% com a utilização do ácido oxálico e de 79,63% utilizando o ácido sulfúrico. Portanto, dentre todos os tratamentos efetuados a fim de promover a remoção da hemicelulose, observa-se que os melhores resultados obtidos foram os quais se realizou a explosão a vapor em autoclave à uma temperatura de 125,6°C e 1,4 bar.

Entretanto, mesmo conseguindo-se obter um maior percentual de celulose e uma maior remoção da hemicelulose utilizando o ácido sulfúrico no processo de explosão a vapor, o uso do ácido oxálico se mostra mais atrativo, pois ele nos leva a menores perdas da celulose ao longo do processo de isolamento, de 34,27%, enquanto, o ácido sulfúrico gera uma perda de 37,34%.

A alta eficiência na obtenção da celulose, de 79,23%, utilizando o método alcalino-ácido e de explosão a vapor se mostra um resultado promissor, visto que há poucos estudos discutindo o uso do ácido oxálico como uma estratégia na remoção da hemicelulose (HONG et al., 2014). Os tratamentos mais tradicionais são a base de agentes alcalinos ou de ácidos mais fortes, como o ácido sulfúrico (HONG et al., 2014; NASCIMENTO; REZENDE, 2018; REZANIA et al., 2020).

3.3 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia no infravermelho detecta os movimentos vibracionais das ligações químicas dos compostos em análise. Através da energia vibracional específica que cada grupo químico absorve, é possível diferenciá-los pelo seu espectro (KANN; SHURGALIN; KRISHNASWAMY, 2014). Diante disso, os espectros de infravermelho para as principais bandas de absorção encontradas para a amostra de biomassa de milho seco e para a celulose isolada estão relatados na Figura 6.

Figura 6. Espectros de FTIR-ATR do: a) biomassa livre de extrativos; b) tratamento alcalino de 8 horas; c) ensaio OAA 5%; d) ensaio SAA 1%; e) ensaio ATA 4%.

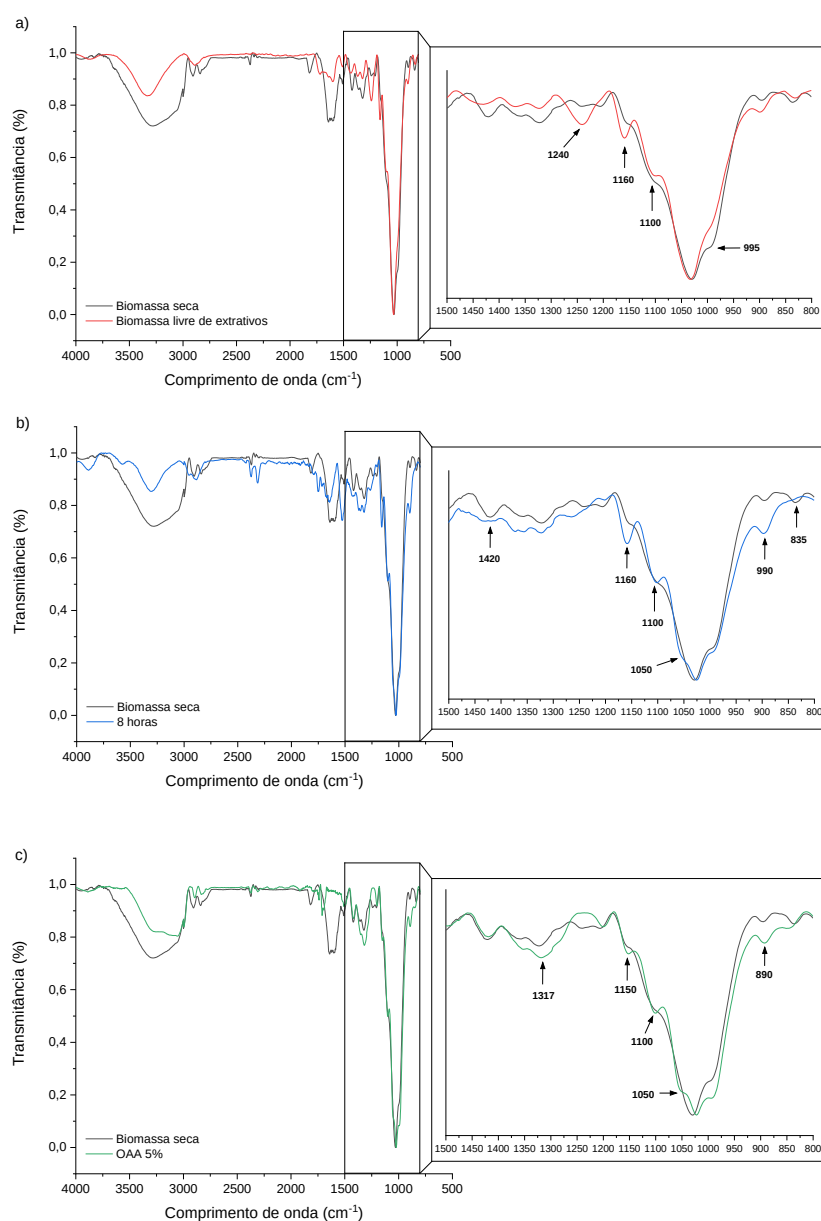
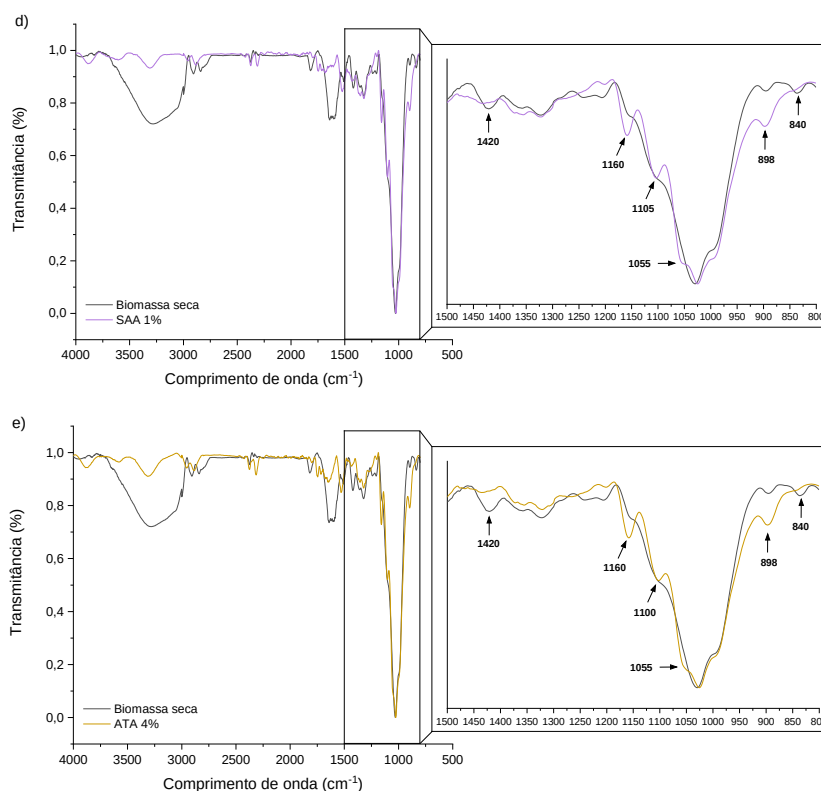


Figura 6. Continuação...

Fonte: Elaborado pelos autores, 2022.

É possível observar que todas as amostras apresentam intervalos de bandas de absorção para duas regiões principais, a primeira corresponde a região compreendida entre 3750 a 3000 cm^{-1} , e a segunda entre 1750 a 800 cm^{-1} . As bandas correspondentes ao intervalo entre 3500 e 3000 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento dos grupos hidroxilas -OH (LEE et al., 2015; RAHIMI KORD SOFLA et al., 2016; TRACHE et al., 2016; YADAV; RENGASAMY; GUPTA, 2019). Para todos os tratamentos, essa largura de estiramento -OH se tornou mais reduzida, isso pode nos sugerir uma ruptura das ligações de hidrogênio intermoleculares na lignina (DAS et al., 2019; MENG et al., 2016). Para os gráficos b e c, houve uma redução na banda de absorção de 2900 cm^{-1} , que corresponde a vibração e estiramento C-H e CH_2 da molécula de celulose, essa redução, pode nos indicar que o tipo de tratamento realizado pode ter sido um pouco severo, degradando a celulose presente na matriz lignocelulósica (CHEN et al., 2016; JIANG; HSIEH, 2015; RAHIMI KORD SOFLA et al., 2016).

As bandas de absorção 1515, 1230 e 860 a 817 cm^{-1} atribuídas a molécula de lignina, são correspondentes aos compostos fenólicos da lignina, a vibração do anel aromático da lignina e a curvatura C-H fora de plano, respectivamente (HORIKAWA et

al., 2019; ILYAS; SAPUAN; ISHAK, 2018; JIANG; HSIEH, 2015; YUE et al., 2015). Já para a molécula de hemicelulose, as bandas que a representam são as de 1730 e 1245 cm^{-1} , no qual correspondem respectivamente ao grupo acetil e ester urônico da hemicelulose e a vibração do estiramento da hemicelulose (CHEN et al., 2016; HORIKAWA et al., 2019; ILYAS; SAPUAN; ISHAK, 2018; JIANG; HSIEH, 2015; RAHIMI KORD SOFLA et al., 2016). Para todas as amostras pode-se observar que ocorre o desaparecimento de uma ou mais bandas de absorção referentes a esses compostos, comprovando assim, o indicativo de isolamento da celulose reportada por meio da caracterização físico-química.

Além disso, quando se observa as bandas 1454, 1420, 1370, 1315, 1150, 1110, 988 e 895 cm^{-1} , correspondentes a molécula de celulose, para os gráficos b, c, d e e, percebe-se mais uma vez a eficiência do processo de isolamento, devido ao aparecimento dos picos em comparação com a biomassa seca.

4 CONCLUSÃO

A biomassa de milho pérola é um resíduo agrícola rico em celulose, hemicelulose e lignina, que possui potencial para ser convertido em diversos produtos, como materiais poliméricos, combustíveis, cosméticos, filmes biodegradáveis, entre outros. Por consequência, a produção desses produtos a partir de resíduos lignocelulósicos envolve a otimização dos processos de pré-tratamento para isolar esses constituintes e, a caracterização físico-química e estrutural é de extrema importância para que se consiga avaliar a eficiência dos diferentes processos.

A celulose foi isolada do milho pérola por meio de duas extrações alcalinas com hidróxido de sódio (4% m/v) e uma extração ácida com ácido oxálico (5% m/v) em autoclave, de forma sequencial. Após o tratamento alcalino-ácido, foi possível aumentar o teor de celulose de 43,89% para 79,23%, e remover 100% da lignina e 99,86% da hemicelulose presente na matriz lignocelulósica. Além disso, conseguiu-se reduzir o volume de ácido acético 3% (v/v) utilizado no processo de neutralização das amostras, que passou de 345 mL para 15 mL, reduzindo, portanto, o consumo de reagentes utilizados ao longo do processo.

Além disso, com o auxílio da análise FTIR, foi possível confirmar a remoção da lignina e da hemicelulose, bem como o incremento da celulose presente no material lignocelulósico após a realização dos diferentes tratamentos.

Ainda, foi possível mostrar que é possível empregar o uso de diferentes ácidos, como o oxálico, na estratégia de remoção da hemicelulose, visto que são ácidos orgânicos, que não agredem tanto a estrutura da matriz lignocelulósica, e que não causam tantos problemas na geração de resíduos como os ácidos fortes.

Portanto, esse estudo mostrou que a celulose pode ser isolada do milho pérola através do tratamento alcalino-ácido e de explosão a vapor, podendo assim, ser aproveitada como uma importante fonte para obtenção de diversos produtos, transformando-o em um matéria-prima de valor agregado, evitando o descarte impróprio desse resíduo.

REFERÊNCIAS

BARUAH, J. et al. Recent trends in the pretreatment of lignocellulosic biomass for value-added products. **Frontiers in Energy Research**, v. 6, n. DEC, p. 1–19, 2018.

BHUTTO, A. W. et al. Insight into progress in pre-treatment of lignocellulosic biomass. **Energy**, v. 122, p. 724–745, 2017.

BOHN, L. R. et al. Alkaline pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover for bioethanol production. **Research, Society and Development**, v. 2021, n. 2525–3409, p. 1–13, 2021.

CARMONA-CABELLO, M. et al. Valorization of food waste based on its composition through the concept of biorefinery. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 14, p. 67–79, 2018.

CAVALI, M. et al. Effect of sequential acid-alkaline treatment on physical and chemical characteristics of lignin and cellulose from pine (*Pinus spp.*) residual sawdust. **Bioresource Technology**, v. 316, n. July, 2020.

CHEMAT, F. et al. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540–560, 2017.

CHEN, Y. W. et al. Production of new cellulose nanomaterial from red algae marine biomass *Gelidium elegans*. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 1210–1219, 2016.

COLODETTE, J. L. et al. Influence of pulping conditions on eucalyptus kraft pulp yield, quality, and bleachability. **Tappi Journal**, v. 1, n. 3, p. 14–20, 2002.

DAHIYA, S. et al. Food waste biorefinery: Sustainable strategy for circular bioeconomy. **Bioresource Technology**, v. 248, n. May 2017, p. 2–12, 2018.

DAS, P. et al. Effects of one-step alkaline and two-step alkaline/dilute acid and alkaline/steam explosion pretreatments on the structure of isolated pine lignin. **Biomass and Bioenergy**, v. 120, n. December 2018, p. 350–358, 2019.

DE ASSUMPÇÃO, S. M. N. et al. Pre-treatment combined $H_2SO_4/H_2O_2/NaOH$ to obtain the lignocellulosic fractions of sugarcane bagasse. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 3, p. 803–822, 2016.

DIAS-MARTINS, A. M. et al. Potential use of pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) in Brazil: Food security, processing, health benefits and nutritional products. **Food Research International**, v. 109, n. December 2017, p. 175–186, 2018.

DIONÍSIO, S. R. et al. Second-generation ethanol process for integral use of hemicellulosic and cellulosic hydrolysates from diluted sulfuric acid pretreatment of sugarcane bagasse. **Fuel**, v. 304, n. February, p. 121290, 2021.

FOUAD, H. et al. Characterization of microcrystalline cellulose isolated from conocarpus fiber. **Polymers**, v. 12, n. 12, p. 1–11, 2020.

HONG, B. et al. Optimization of oxalic acid pretreatment of moso bamboo for textile fiber using response surface methodology. **Cellulose**, v. 21, n. 3, p. 2157–2166, 2014.

HORIKAWA, Y. et al. Prediction of Lignin Contents from Infrared Spectroscopy: Chemical Digestion and Lignin/Biomass Ratios of *Cryptomeria japonica*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 188, n. 4, p. 1066–1076, 2019.

ILYAS, R. A.; SAPUAN, S. M.; ISHAK, M. R. Isolation and characterization of nanocrystalline cellulose from sugar palm fibres (*Arenga pinnata*). **Carbohydrate Polymers**, v. 181, n. June 2017, p. 1038–1051, 2018.

JIANG, F.; HSIEH, Y. LO. Cellulose nanocrystal isolation from tomato peels and assembled nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 60–68, 2015.

KANN, Y.; SHURGALIN, M.; KRISHNASWAMY, R. K. FTIR spectroscopy for analysis of crystallinity of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) polymers and its utilization in evaluation of aging, orientation and composition. **Polymer Testing**, v. 40, p. 218–224, 2014.

KUHE, A.; TERHEMBA, A. V.; IORTYER, H. Biomass valorization for energy applications: A preliminary study on millet husk. **Heliyon**, v. 7, n. 8, p. e07802, 2021.

KUMAR, S. et al. Weak alkaline treatment of wheat and pearl millet straw for enhanced biogas production and its economic analysis. **Renewable Energy**, v. 139, p. 753–764, 2019.

LEE, C. et al. Correlations of Apparent Cellulose Crystallinity Determined by XRD, NMR, IR, Raman, and SFG Methods. **Advances in Polymer Science**, v. 271, p. 115–131, 2015.

LENHANI, G. C. et al. Application of Corn Fibers from Harvest Residues in Biocomposite Films. **Journal of Polymers and the Environment**, n. 0123456789, 2021.

LI, H. Q. et al. PH pre-corrected liquid hot water pretreatment on corn stover with high hemicellulose recovery and low inhibitors formation. **Bioresource Technology**, v. 153, p. 292–299, 2014.

LI, J. et al. Comparison and intrinsic correlation analysis based on composition, microstructure and enzymatic hydrolysis of corn stover after different types of pretreatments. **Bioresource Technology**, v. 293, n. June, p. 122016, 2019.

LIU, Y. et al. Isolation and characterization of microcrystalline cellulose from pomelo peel. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 111, p. 717–721, 2018.

LONGUE, D.; COLODETTE, J. L. Remoção de hemiceluloses da madeira por tratamento de auto-hidrólise. **Ciencia Florestal**, v. 21, n. 3, p. 539–548, 2011.

LU, X. et al. Enzymatic sugar production from elephant grass and reed straw through pretreatments and hydrolysis with addition of thioredoxin-His-S. **Biotechnology for Biofuels**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 2019.

MENG, X. et al. Physicochemical structural changes of poplar and switchgrass during biomass pretreatment and enzymatic hydrolysis. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 4, n. 9, p. 4563–4572, 2016.

NASCIMENTO, S. A.; REZENDE, C. A. Combined approaches to obtain cellulose nanocrystals, nanofibrils and fermentable sugars from elephant grass. **Carbohydrate Polymers**, v. 180, n. October 2017, p. 38–45, 2018.

PACKIAM, M. et al. Suitability of Pearl Millet as an Alternate Lignocellulosic Feedstock for Biofuel Production in India "Suitability of Pearl Millet as an Alternate Lignocellulosic Feedstock for Biofuel Production in India. **Journal of Applied & Environmental Microbiology**, v. 6, n. 2, p. 51–58, 2018.

PIELHOP, T. et al. Steam explosion pretreatment of softwood: The effect of the explosive decompression on enzymatic digestibility. **Biotechnology for Biofuels**, v. 9, n. 1, p. 1–13, 2016.

PINALES-MÁRQUEZ, C. D. et al. Circular bioeconomy and integrated biorefinery in the production of xylooligosaccharides from lignocellulosic biomass: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 162, n. October 2020, 2021.

PRADO, K. S.; SPINACÉ, M. A. S. Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from pineapple crown waste and their potential uses. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, p. 410–416, 2019.

PRASOULAS, G. et al. Bioethanol production from food waste applying the multienzyme plasma at laboratory and bench-scale levels and its application as a starter culture in a meat product. **Fermentation**, v. 6, n. 2, 2020.

QING, Q. et al. Dilute Oxalic Acid Pretreatment for High Total Sugar Recovery in Pretreatment and Subsequent Enzymatic Hydrolysis. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 177, n. 7, p. 1493–1507, 2015.

RABELO, S. C. et al. Alkaline hydrogen peroxide pretreatment, enzymatic hydrolysis and fermentation of sugarcane bagasse to ethanol. **Fuel**, v. 136, p. 349–357, 2014.

RAHIMI KORD SOFLA, M. et al. A comparison of cellulose nanocrystals and cellulose nanofibres extracted from bagasse using acid and ball milling methods. **Advances in**

Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology, v. 7, n. 3, 2016.

REZANIA, S. et al. Different pretreatment technologies of lignocellulosic biomass for bioethanol production: An overview. **Energy**, v. 199, p. 117457, 2020.

ROBAK, K.; BALCEREK, M. Current state-of-the-art in ethanol production from lignocellulosic feedstocks. **Microbiological Research**, v. 240, n. February, p. 126534, 2020.

SANTIAGO, B. L. S.; RODRIGUES, F. D. Á. Processamento De Biomassa Lignocelulósica Para Produção De Etanol: Uma Revisão. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 3, n. 7, p. 1011–1022, 2017.

SCHMATZ, A. A.; MASARIN, F.; BRIENZO, M. Lignin Removal and Cellulose Digestibility Improved by Adding Antioxidants and Surfactants to Organosolv Pretreatment of Sugarcane Bagasse. **BioEnergy Research**, 2021.

SLUITER, A. et al. Determination of structural carbohydrates and lignin in Biomass - NREL/TP-510-42618. **Laboratory Analytical Procedure (LAP)**, n. April 2008, p. 17, 2012.

SOUZA, A. G. et al. Innovative process for obtaining modified nanocellulose from soybean straw. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 1803–1812, 2020.

TADIOTO, V. et al. Analysis of glucose and xylose metabolism in new indigenous *Meyerozyma caribbica* strains isolated from corn residues. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 2, p. 1–14, 2022.

TRACHE, D. et al. Microcrystalline cellulose: Isolation, characterization and bio-composites application—A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 789–804, 2016.

VENKATESWAR RAO, L. et al. Bioconversion of lignocellulosic biomass to xylitol: An overview. **Bioresource Technology**, v. 213, p. 299–310, 2016.

VERDINI, F. et al. Cellulose recovery from agri-food residues by effective cavitation treatments. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 11, n. 10, 2021.

YADAV, M.; RENGASAMY, R. S.; GUPTA, D. Characterization of Pearl Millet (*Pennisetum glaucum*) waste. **Carbohydrate Polymers**, v. 212, n. December 2018, p. 160–168, 2019.

YANG, S. et al. Valorization of lignin and cellulose in acid-steam-exploded corn stover by a moderate alkaline ethanol post-treatment based on an integrated biorefinery concept. **Biotechnology for Biofuels**, v. 9, n. 1, p. 1–14, 2016.

YUE, Y. et al. Cellulose fibers isolated from energycane bagasse using alkaline and sodium chlorite treatments: Structural, chemical and thermal properties. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 355–363, 2015.

ZHANG, H. et al. Extraction and comparison of cellulose nanocrystals from lemon

(*Citrus limon*) seeds using sulfuric acid hydrolysis and oxidation methods.
Carbohydrate Polymers, v. 238, n. 2, p. 116180, 2020.