

Otimização das etapas de hidrólise e filtração para a quantificação de carboidratos estruturais e lignina de bagaço de cana-de-açúcar

Letícia M. C. Filardi^{1,2*}, Raquel B. Campanha¹

Introdução

O etanol, uma importante fonte de energia renovável, pode ser produzido a partir de diversas matérias-primas e diferentes tecnologias de conversão. No Brasil, as tecnologias de primeira geração baseiam-se na fermentação do caldo de cana-de-açúcar, enquanto que as de segunda geração, o processo fermentativo é baseado nos açúcares liberados do bagaço por hidrólise da celulose (SOCCOL et al., 2010). O bagaço de cana-de-açúcar, nos países tropicais, é um dos principais materiais lignocelulósicos usados na produção de etanol de segunda geração, já que apresentam alto teor de carboidratos e baixo teor relativo de lignina (PANDEY et al., 2000).

O desenvolvimento de processos para a produção de etanol, envolve a otimização de diversas etapas: pré-tratamento, hidrólise e fermentação. Para a avaliação da eficiência desses processos, é fundamental a exata composição química da biomassa (GOUVEIA et al., 2009). O método de determinação de carboidratos estruturais e lignina consiste em uma hidrólise ácida com duas etapas que fraciona a lignina em material insolúvel em ácido (lignina insolúvel) e material solúvel em ácido (lignina solúvel). Os carboidratos poliméricos são também hidrolisados e os monômeros formados são solubilizados na fração líquida do hidrolisado (SLUITER et al., 2008).

Esse trabalho teve como objetivo otimizar as etapas de hidrólise e filtração para a implementação de um método confiável de quantificação de carboidratos estruturais e lignina de bagaço de cana-de-açúcar.

Materiais e Métodos

A determinação dos teores de carboidratos estruturais e lignina foi realizada segundo método proposto por Sluiter et al. (2008), com adaptações. Amostras de 0,3 g foram transferidas para tubos de pressão com 3 mL de ácido sulfúrico 72% e colocadas em banho termostático a 30°C por 1 h, a cada 10 min os tubos eram agitados. Após a adição de 84 mL de água, os tubos foram tampados e autoclavados a 121°C por 1 h. O material resultante foi

1 Embrapa Agroenergia, PqEB, W3 Norte, Brasília/DF, 70770-901

2 Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Brasília/DF, 70910-900

*lmcfilardi@gmail.com; raquel.campanha@embrapa.br

filtrado em cadinhos tipo Gooch, nessa etapa, três modelos de cadinho foram testados: um de porcelana, recomendado pelo método, e dois de vidro, sendo um de porosidade n° 2 (C2) (40 a 100 μm) e outro n° 4 (C4) (10 a 16 μm). Para o teor de lignina solúvel (LS), a absorvância do filtrado foi determinada a 240 nm. Para o teor dos carboidratos estruturais (CE), 10 μL do filtrado foi injetado em HPLC-RID e as concentrações de glicose, xilose, arabinose e ácido acético foram determinadas. Os cadinhos contendo a lignina insolúvel (LI) foram secos em estufa a 105°C *overnight* e, em seguida, levados à mufla a 500°C por 3 h. As análises foram feitas em duplicata e a diferença entre as médias foi analisada estatisticamente pelo teste t de Student ($p < 0,05$).

Resultados e Conclusões

Foram realizados diversos testes para a implementação do método. Primeiramente o cadinho de porcelana recomendado foi testado. No entanto, por ser pouco poroso, não foi possível filtrar a amostra mesmo com o uso de bomba de vácuo. Deste modo, como alternativa, foram testados cadinhos de vidro com duas porosidades diferentes, C2 e C4. Como o método recomenda realizar a queima do resíduo insolúvel a 575°C, teve-se que reduzir a temperatura da queima para 500°C devido à substituição do cadinho.

Quatro repetições de uma amostra de bagaço de cana-de-açúcar foram hidrolisadas, duas delas foram filtradas no C2 e duas no C4. Após a filtração, foi observada a presença de partículas no filtrado do C2 (FC2), enquanto que, o filtrado do C4 (FC4) mostrou-se límpido. Foi necessário passar o FC2 em um filtro de seringa de 0,22 μm , antes da leitura no espectrofotômetro, para evitar a interferência das partículas insolúveis. Os teores de LS encontrados foram 4,96 e 4,98% para FC2 e FC4, respectivamente. Os valores de LI obtidos foram 18,92% para C2 e 24,34% para C4. Analisando estatisticamente esses resultados, observa-se que os teores de LS não diferiram, ao contrário dos valores de LI, indicando que, a diferença de porosidade dos cadinhos influenciou apenas o teor de LI. Esses resultados sugerem que C2 permitiu a passagem de parte da LI para o filtrado, que foi removida antes da determinação de LS. O teor de lignina total (LT) foi obtido a partir da soma dos teores de LS e LI. Com isso, os valores de LT encontrados foram 19,26% para C2 e 25,04% para C4.

O ponto de controle da hidrólise ácida é a observação do pico cromatográfico referente à celobiose, sua presença indica que a reação não foi completa. Durante a implementação do método foi observada a presença da celobiose em duas situações, ambas na primeira etapa da hidrólise. Uma foi no uso do banho com temperatura abaixo de 30 \pm 1°C e outra, na agitação que deve ser realizada ao menos 5 vezes para cada tubo durante o tempo de reação. Os teores de CE foram os mesmos, tanto para C2 quanto C4, que apresentou 41,97% de celulose e 23,56% de hemicelulose.

Todos os valores encontrados para C4 foram próximos ao publicados por NREL (ESTADOS UNIDOS, 2015), que variam de 23,09 a 27,56% para LT, 31,87 a 43,39% para celulose, e,

12,23 a 25,47% para hemicelulose. Com isso, conclui-se que, para a determinação de teor de lignina, o cadinho C4 foi melhor que o C2, e, mesmo com as adaptações, a exatidão dos resultados não foi comprometida.

Apoio Financeiro

Esse trabalho foi financiado pela Embrapa.

Referências

ESTADOS UNIDOS. Department of Energy. Biomass Program. **All struct properties**. Disponível em: <<http://www.afdc.energy.gov/biomass/progs/search1.cgi>>. Acesso em: 31 jul. 2015. Consulta à Biomass Feedstock Composition and Property Database.

GOUVEIA, E. R.; NASCIMENTO, R. T. do; SOUTO-MAIOR, A. M.; ROCHA, G. J. D. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 6, p. 1500-1503, 2009.

PANDEY A.; SOCCOL C. R.; NIGAM P.; SOCCOL V. T. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, Oxon, v. 74, n. 1, p. 69-80, 2000.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; CROCKER, D. **Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass**. Colorado: NREL, 2008. Technical Report NREL/TP-510-42618. Disponível em: <<http://www.nrel.gov/publications/>>. Acesso em: 25 mar. 2014.