



INTEGRAÇÃO DA AGROENERGIA E NANOTECNOLOGIA PARA O REAPROVEITAMENTO DA CELULOSE RESIDUAL DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

L.A. de Camargo^{1,2}, R.M.P. Barboza^{1,2}, S.C. Pereira², C.S. Farinas², J.M. Marconcini², L.H.C. Mattoso²

(1) Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís, km 235, SP-310, 13565-905, São Carlos, SP, laisangelice@gmail.com, raiza_mprado@hotmail.com

(2) Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, Centro, 13560-970, São Carlos, SP, sandracerqueirapereira@gmail.com, jose.marconcini@embrapa.br, cristiane.farinas@embrapa.br, luiz.mattoso@embrapa.br

Resumo: O Brasil está progredindo quando se trata da substituição de combustíveis fósseis por etanol renovável obtido a partir da cana-de-açúcar. Devido às demandas ambientais e econômicas, a reutilização do resíduo da etapa de hidrólise enzimática da produção de etanol celulósico tem se tornado de grande relevância para garantir a viabilidade desse processo. Assim, o presente estudo avaliou o emprego dos resíduos da hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de nanowhiskers de celulose (CNW). O bagaço foi hidrolisado com extrato enzimático comercial (12 mg de proteína/g de celulose). Os resíduos foram purificados com NaOH 5% (m/m) a 55 °C e H₂O₂ 35% (v/v) seguido de uma hidrólise a 45 °C com H₂SO₄ 60% (m/m) e extração de 30 min. A hidrólise enzimática do bagaço pré-tratado alcançou cerca de 60% de conversão, gerando um resíduo sólido de grande potencial para a produção de nanowhiskers de celulose. Os CNW apresentaram altos índices de cristalinidade sendo produzidos com sucesso. Por ser um material de alto valor agregado, a produção integrada de CNW contribui para tornar a rota enzimática da produção de etanol celulósico economicamente mais viável.

Palavras-chave: bagaço de cana-de-açúcar, hidrólise enzimática, nanowhiskers de celulose.

INTEGRATION OF AGROENERGY AND NANOTECHNOLOGY FOR THE REUSE OF RESIDUAL CELLULOSE FROM THE ENZYMATIC HYDROLYSIS OF SUGARCANE BAGASSE

Abstract: Brazil is making progress when it comes to replacing fossil fuels by renewable ethanol derived from the sugarcane. Due to environmental and economic demands, the reuse of residue from the enzymatic hydrolysis step of cellulosic ethanol production has become of great importance to ensure the viability of this process. Thus, the present study evaluated the use of residue from the enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse for the production of cellulose nanowhiskers (CNW). Sugarcane bagasse was hydrolyzed with a commercial enzymatic extract (12 mg protein/g cellulose). Then, the residues were purified employing 5% (w/w) NaOH at 55 °C and 35% (v/v) H₂O₂, followed by hydrolysis at 45 °C with 60% (w/w) H₂SO₄ and extraction of 30 min. The enzymatic hydrolysis of pretreated bagasse reached about 60% conversion by generating a solid residue of great potential for the production of cellulose nanowhiskers. The CNW showed high crystallinity index and they were produced successfully. For being a material with high added value, contributes to making the most economically viable the enzymatic route for large scale use.

Keywords: sugarcane bagasse, enzymatic hydrolysis, cellulose nanowhiskers.

1. Introdução

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar. Na safra 2014/2015, 671,69 milhões de toneladas de cana-de-açúcar serão processadas pelas usinas brasileiras (CONAB, 2014). Deste total, estima-se que 1/3 seja correspondente à geração de bagaço, que é uma potencial fonte para a produção de etanol. O bagaço é um subproduto abundante e contém teores elevados de carboidratos, sendo composto por 40-45% de celulose e 30-35% de hemicelulose. O restante é principalmente composto por lignina, além de menores quantidades de minerais, ceras e outros componentes.

A rota de produção de etanol celulósico é promissora e envolve basicamente três etapas, a saber: pré-tratamento da biomassa, hidrólise enzimática e fermentação alcoólica. Após a hidrólise enzimática do bagaço para a obtenção de etanol celulósico, resta um resíduo fibroso sólido que pode ser reaproveitado em outros processos, como a obtenção de celulose purificada e, também, a produção de nanowhiskers de celulose (CNW). Portanto, a reutilização do resíduo da etapa de hidrólise enzimática da produção de etanol celulósico tem se tornado de grande relevância para garantir a viabilidade econômica do processo.

As cadeias poliméricas de celulose cristalina organizam-se nas microfibrilas das células vegetais em forma de nanocristais alongados e de pequenos diâmetros, sendo que estes nanocristais são característicos de estruturas denominadas *whiskers*. Por meio da diversificação do uso de fibras celulósicas, surgiram diversos estudos relacionados à obtenção de CNW de várias fontes de celulose, inclusive de origem animal (TEIXEIRA, et al, 2011; ANGLÉS, et al., 2000).

Neste sentido, o emprego dos resíduos do processo de degradação enzimática do bagaço de cana para a produção de novos materiais, como os CNW de celulose, para a utilização em diversos setores da indústria, entre eles, o de produção de embalagens, torna-se de grande relevância para a economicidade do processo global de produção de etanol celulósico. Com esta motivação, o presente trabalho avaliou a viabilidade de reutilização dos resíduos da hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor para a produção de CNW de celulose.

2. Materiais e Métodos

2.1. Materiais

Utilizaram-se o bagaço de cana-de-açúcar in natura (BIN), o bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor (BEX) e bagaço de cana-de-açúcar com pré-tratamento hidrotérmico (BH) (Centro de Tecnologia Canavieira). O extrato enzimático comercial Cellic® CTec2 (Novozymes) foi usado na etapa de hidrólise enzimática. Para a purificação foi utilizado o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 35% (v/v) e hidróxido de sódio (NaOH) 5% (m/m) e para a hidrólise ácida foi utilizado H_2SO_4 60% (m/m).

2.2. Métodos

2.2.1. Preparação da biomassa

Primeiramente, o bagaço foi lavado e depois seco em estufa a 45 °C durante 48 horas. Por fim foi peneirado com granulometria inferior a 2 mm.

2.2.2 Caracterização química e morfológica

O índice de cristalinidade (IC%) foi calculado com base no método de Segal et al. (1959), empregando-se a difração de raios-X (DR-X) em um Shimadzu 6000. A identificação de grupos funcionais foi realizada por FTIR em um Perkin Elmer Spectrum One. As análises microscópicas foram realizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia de Força Atômica (AFM) Dimension V (Veeco, EUA).

2.2.3 Hidrólise enzimática

O bagaço foi submetido à hidrólise em tampão citrato 0,1 M, pH 5,0 com uma carga de sólidos de 10%. Utilizou-se 12 mg de proteína/g de celulose. Os ensaios foram realizados a 50 °C e 200 rpm durante 24 h. A atividade enzimática foi determinada de acordo com Ghose (1987). A concentração de proteínas foi determinada pelo método de Bradford. A produção de glicose foi monitorada por um kit enzimático (Doles, Brasil).

2.2.4 Branqueamento do resíduo

Esta etapa seguiu a metodologia de Teixeira et al. (2011). Adicionou-se 100 mL de NaOH 5% (m/m) a 55 °C, 5 g do resíduo da hidrólise enzimática (RHE) e 43 mL de H_2O_2 35% (v/v) sob agitação magnética por 1,5 h. Filtrou-se a vácuo e lavou-se o resíduo até meio neutro (pH=7). Este material foi seco a 70 °C em estufa para as análises de caracterização.

2.2.5 Hidrólise ácida

Esta etapa seguiu a metodologia de Teixeira et al. (2011) sendo que 5 g do resíduo da hidrólise enzimática após o branqueamento (RHEB) foi disperso em 100 mL de H_2SO_4 60% (m/m) a 45 °C sob agitação vigorosa por 30 min. Adicionou-se 500 mL de água. Centrifugação a 10.000 rpm durante 10 min, seguida de diálise em água com uma membrana de celulose até pH 7.

3. Resultados e Discussão

A composição dos materiais lignocelulósicos está apresentada na Tabela 1. A comparação entre o BEX, BIN e BH mostra que o pré-tratamento por explosão a vapor resulta na remoção de fração hemicelulósica, possibilitando um enriquecimento da biomassa em celulose, o que já não é tão expressivo para o pré-tratamento hidrotérmico. Observa-se no RHE, tanto no BEX quanto no BH, uma diminuição da quantidade de celulose e, conseqüentemente, um enriquecimento em lignina, resultado da degradação de uma porção da celulose por parte das enzimas. A hidrólise enzimática do bagaço gerou um resíduo composto por um teor de celulose residual cristalina

que pode ser confirmado pelos resultados apresentados na Tabela 1 e corroborados pelo índice de cristalinidade apresentado na Tabela 2.

Tabela 1. Composição do material lignocelulósico (%).

	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)
BIN	46,6	26,5	21,7
BEX	61,5	4,5	32,0
BH	54,6	6,5	33,4
RHE	32,0	2,0	53,0

A Figura 1 apresenta as micrografias obtidas por MEV. O BIN (Figura 1A) apresenta uma morfologia rígida e compactada, enquanto os outros materiais exibiram morfologia mais desorganizada, com uma maior exposição das fibras.

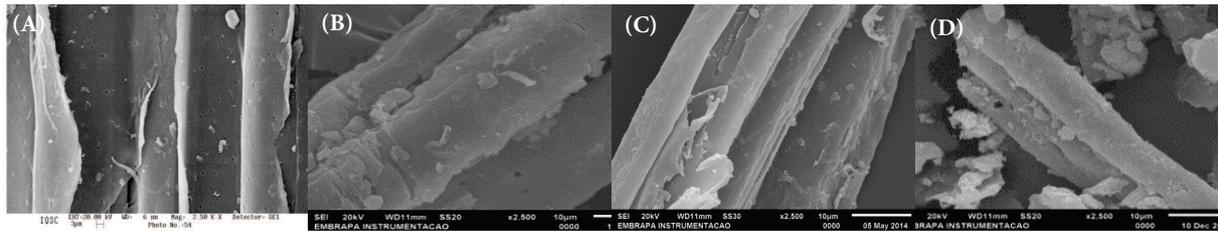


Figura 1. Micrografia de MEV do bagaço de cana: (A) BIN (B) BEX (C) BH (D) RHE.

A Figura 2 apresenta os espectros de FTIR e os de DR-X para todo o processo, desde a matriz até o CNW. A Figura 2A mostra que os espectros FTIR do BEX e RHE foram semelhantes ao do BIN, sugerindo que os processos químicos não provocaram alterações drásticas na sua estrutura química. A Figura 2B refere-se às amostras de BEX e a 2C para às amostras de BH.

Entre 2995 a 4000 cm^{-1} , estão representadas as ligações OH, que podem ser características tanto de celulose, quanto de lignina e hemicelulose (MORÁN, et al., 2008). Em todos os casos, é possível observar bandas entre 1730 e 1700 cm^{-1} , característica de grupos aromáticos da lignina. A banda em 1735 cm^{-1} é proveniente das carbonilas da hemicelulose. Em contrapartida, no espectro dos CNW estas bandas não estão presentes, devido à remoção da lignina pela etapa de hidrólise ácida e hemicelulose pelo pré-tratamento por explosão a vapor. Entre as linhas pontilhadas, de 1082 a 1270 cm^{-1} , estão presentes as bandas características das ligações C-O-C e entre 500 a 700 cm^{-1} aparecem apenas bandas de celulose e estas são intensificadas no espectro dos CNW, mostrando que os CNW foram produzidos com elevado grau de pureza.

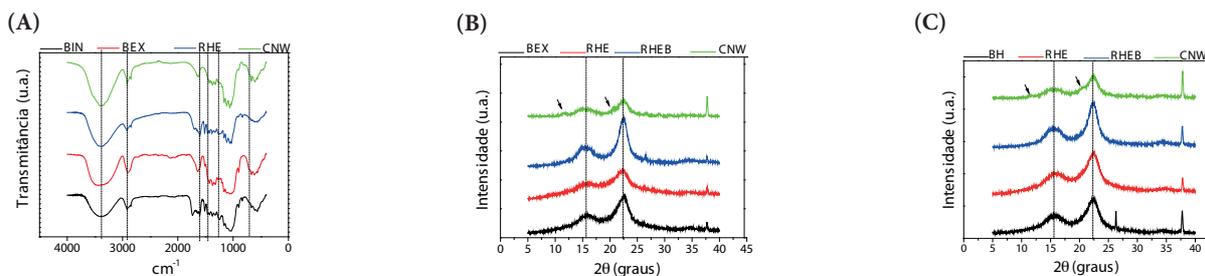


Figura 2. (A) Espectros FTIR e difratogramas de raios X: (B) BEX (C) BH

Os difratogramas exibiram picos típicos de polimorfos de celulose I (a $2\theta \sim 15,7^\circ$ e $22,4^\circ$) e o CNW apresentou uma mistura de polimorfos de celulose I e celulose II (a $\sim 11,6^\circ$ e $22,1^\circ$) (GOUVEIA, et al. 2009). Houve uma diminuição na cristalinidade da amostra de bagaço em relação à amostra do RHE, para ambas as matrizes, onde os picos de difração se tornaram menos intensas. Analisando-se os IC% (da Tabela 2), verifica-se que este diminuiu 11% no BEX e de 2,5% no BH confirmando o observado nos difratogramas. Esta diminuição ocorre devido à alta concentração de lignina (substância amorfa) encontrada no resíduo após a hidrólise enzimática. O DR-X do BIN (espectros não mostrados) apresentou um IC% de 55,0% o que quando comparado com o IC% para o BEX e para o BH confirma a remoção de substâncias amorfas, como a de hemicelulose, a partir destes pré-tratamentos.

Tabela 2. IC (%) para amostras de BEX e BH

	BEX	BH
Bagaço	65,0	67,8
RHE	54,0	65,3
RHEB	83,2	82,0
CNW	79,0	79,7

Após o branqueamento podemos ver no difratograma do RHEB e confirmar na Tabela 2 que ocorreu novamente um aumento da cristalinidade devido ao alto índice de remoção da lignina, sendo o esperado para este tipo de procedimento. Este alto IC% indica que grande parte da celulose residual após os processos de hidrólise enzimática e branqueamento está sob a forma cristalina. Os CNW produzidos apresentaram alto IC% e com valores muito próximos, independente do material de partida, mostrando que o método de obtenção se adequa a ambas as matrizes estudadas. Os aspectos visuais das amostras são apresentados na Figura 3 abaixo. Ambos os CNW apresentaram aspecto castanho acinzentado em suspensão e, quando secos, castanho amarelado.

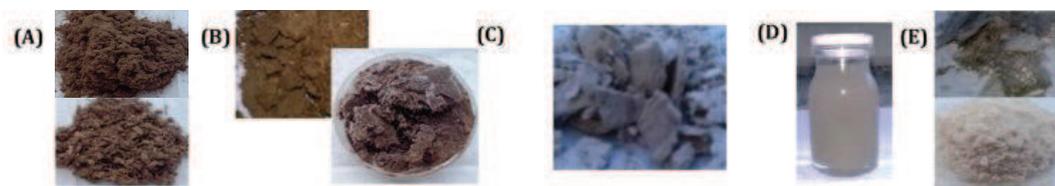


Figura 3. Amostras de: (A) Bagaço (B) RHE (C) RHEB (D) CNW-suspensão (E) CNW-seco.

A morfologia dos CNW das matrizes de BEX e BH foram estudadas a partir de imagens de AFM como apresentado na Figura 4.

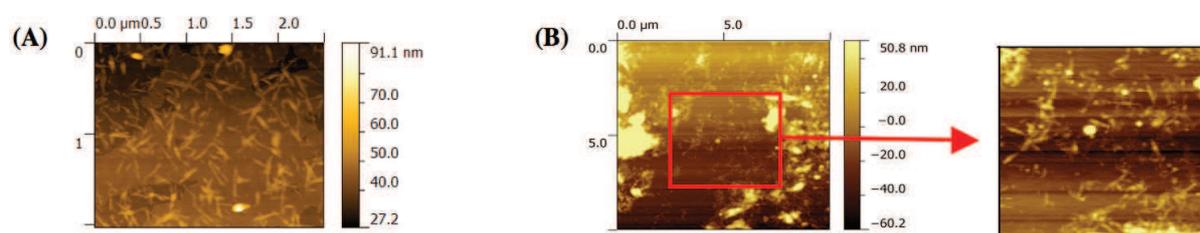


Figura 4. Micrografia de AFM para o CNW: (A) BEX (B) BH.

Comparando-se os difratogramas do CNW, ocorreu uma pequena diminuição da porção cristalina, isto reflete em um IC% (IC% 79,0 para o BEX e 79,7 para o BH) pouco menor que o RHEB. Por esta diferença ser de apenas aproximadamente 3%, este está dentro do limite de erro aceitável e pode ser desconsiderado. Assim, mesmo com os resultados citados, a micrografia de AFM (Figura 4) aliada ao aspecto físico da suspensão, como visto na Figura 4, e o IC% sugerem com confiabilidade que os CNW foram sintetizados com sucesso neste trabalho.

4. Conclusões

Os CNW obtidos a partir da rota enzimática de produção de etanol são um material de alto valor agregado com aplicação em diversos setores e foram produzidos com sucesso neste trabalho. Assim, a utilização dos resíduos do processo de degradação para a produção de novos materiais como nanowhiskers de celulose para a utilização em diversas áreas da indústria, entre elas a de embalagens, faz com que a rota de hidrólise enzimática apresente características de interesse para utilização em grande escala.

Agradecimentos

Agradecemos a todos os funcionários da Embrapa Instrumentação para os atendimentos úteis neste trabalho e também apoios financeiros da Embrapa, FAPESP, FINEP, CNPq e CAPES.

Referências

- ANGLÉS, M. N.; DUFRESNE, A. Plasticized Starch/Tunicin Whiskers Nanocomposites. 1. Structural Analysis. *Macromolecules*, v. 33, p. 8344–8353, 2000.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: < <http://www.conab.gov.br/>>, acessado em: 20 Ago. 2014.
- GHOSE, T.K. Measurement of cellulase activities. *Pure Appl. Chem.*, v. 59, p.257-268, 1987.
- GOUVEIA, E.R.; NASCIMENTO, R.T; SOUTO-MAIOR, A.M. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. *Quim. Nova*, v. 32, p.1500-1503, 2009.
- MORÁN, J. I.; ALVAREZ, V. A.; CYRAS, V. P. & VÁZQUEZ, A. Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose*, v. 15, p. 149, 2008.
- SEGAL, L.; CREELY, J.J.; MARTIN, A.E.; CONRAD, C.M. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Text. Res. J.*, v. 29, p. 786-794, 1959.
- TEIXEIRA, E. M.; BONDANCIA, T. J.; TEODORO, K. B. R.; CORREA, A. C.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C. Sugarcane bagasse whiskers: Extraction and characterizations. *Ind. Crop. Prod.* v. 33, p.63–66, 2011.



BIODEGRADAÇÃO DE BLENIDAS DE AMIDO TERMOPLÁSTICO/ POLICAPROLACTONA COM NANOFIBRAS DE SISAL

A.C. Pastre¹, K.B.R. Teodoro^{1,2}, E.M. Teixeira³, A.C. Corrêa¹, L.H.C. Mattoso¹, J.M. Marconcini¹

(1) Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP, dridecampos@yahoo.com.br, carol_correa@hotmail.com, luiz.mattoso@embrapa.br, jose.marconcini@embrapa.br

(2) Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, Rodovia Washington Luiz, Km 235 SP 310, São Carlos, SP, rakelcilene@ig.com.br

(3) Universidade Federal do Mato Grosso, Campus Universitário do Araguaia, Instituto de Ciências Exatas e da Terra, CEP: 78698-000, Pontal do Araguaia-MT, eliangelat@yahoo.com.br

Resumo: Nanofibras de sisal foram preparadas por hidrólise ácida e utilizadas como reforço em matrizes biodegradáveis de amido termoplástico (TPS) e TPS/policaprolactona (TPS/PCL). As nanofibras de sisal apresentaram dimensões de 5 ± 2 nm de diâmetro, 210 ± 60 nm de comprimento e 78% de cristalinidade. Os nanocompósitos com 5 e 10% (m/m) de nanofibras de sisal foram obtidos por extrusão dupla rosca. A influência das nanofibras de sisal na biodegradação da blenda de TPS/PCL foi investigada. Os resultados mostraram que a adição das nanofibras de sisal como reforço aumentou a biodegradabilidade da matriz de TPS/PCL.

Palavras-chave: amido termoplástico, policaprolactona, nanofibra, sisal, biodegradação.

BIODEGRADATION OF THERMOPLASTIC STARCH/POLYCAPROLACTONE WITH SISAL NANOFIBERS.

Abstract: Sisal nanofibers were prepared by acid hydrolysis and used as reinforcement in biodegradable matrices of thermoplastic starch (TPS) and TPS / polycaprolactone (TPS/PCL). The sisal nanofibers had dimensions of 5 ± 2 nm in diameter, 210 ± 60 nm in length and 78% of crystallinity. Nanocomposites with 5 and 10% (w/w) of sisal nanofibers were obtained by twin screw extrusion. The influence of nanofibers sisal on the biodegradation of TPS/PCL blends were investigated. The results showed that the addition of nanofibers sisal as reinforcing increased the biodegradability of TPS/PCL matrix.

Keywords: thermoplastic starch, polycaprolactone, nanofibers, sisal, biodegradation.

1. Introdução

Há um grande interesse em substituir os polímeros sintéticos e não-biodegradáveis com polímeros biodegradáveis que tenham boas propriedades funcionais, tais como policaprolactona, poli (ácido láctico), e poli (hidroxibutirato). No entanto, o custo destes polímeros é muito superior quando comparado com os produtos à base de petróleo (Avella et al., 2002). Uma alternativa é misturar estes polímeros biodegradáveis, com polímeros naturais renováveis tais como amido e fibras vegetais, que possuem baixo custo.

Blendas de amido termoplástico (TPS) com policaprolactona (PCL) são renováveis, biodegradáveis e de baixo custo (Li et al., 2010; Shin et al., 2004). Campos et al. (2011) relataram melhoria das propriedades mecânicas em compósitos com fibras de sisal branqueada em TPS/PCL, devido à eficiente capacidade de dispersão das fibras em blendas de TPS/PCL.

Nanocelulose ou nanofibras têm sido usados em diversas aplicações, tais como no reforço de nanocompósitos e no desenvolvimento de materiais de nano-escala.

Neste trabalho, nanofibras de sisal (SW) foram incorporadas no TPS e blendas de TPS/PCL. PCL foi misturado no nanocompósito de TPS/SW para obter um nanocompósito TPS/SW/PCL. Em ambas as etapas, os materiais foram processados em uma extrusora de co-rotação dupla. Foram investigadas a influência de nanofibras de sisal na biodegradação de TPS e nas matrizes de TPS/PCL em solo compostado.

2. Materiais e Métodos

2.1. Preparo das nanofibras de sisal e dos nanocompósitos

As fibras de sisal foram fornecidas pela Embrapa Algodão (Campina Grande - PB - Brasil). Estas fibras foram purificadas com tratamentos que removeram seus constituintes não celulósicos (branqueamento), e encon-