

PRODUÇÃO DE NANOCELULOSE INTEGRADA A OBTENÇÃO DE ETANOL 2G A PARTIR DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

Bondancia, T.J.^{1,3,*}, Aguiar, J. de^{2,3}, Mattoso, L.H.C.^{2,3}, Marconcini, J.M.^{2,3}, Farinas, C.S.^{1,3}

¹ Universidade Federal de São Carlos, Programa de pós-graduação em Engenharia Química, Rod. Washington Luís, km 235, 13565-905, São Carlos, São Paulo

² Universidade Federal de São Carlos, Programa de pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Rod. Washington Luís, km 235, 13565-905, São Carlos, São Paulo

³ Embrapa Instrumentação, Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA), São Carlos, SP, Brasil

* Autor correspondente, e-mail: thalitajkb@gmail.com

Resumo: A produção de materiais nanocelulósicos de alto valor pode contribuir significativamente para a viabilidade econômica geral das biorrefinarias. A nanocelulose pode ser obtida da fase sólida do bagaço de cana por diferentes métodos, como rota mecânica, ácida e enzimática. A lignina e a hemicelulose devem ser extraídas para isolar a celulose e facilitar a produção de nanocelulose. Este trabalho avaliou a obtenção de nanocelulose a partir do bagaço de cana-de-açúcar. O bagaço de cana in natura foi submetido a um tratamento hidrotérmico (195°C, 10 minutos) e hidrolisado com 15% do teor de sólidos e enzima Cellic Ctec 3 (novozymes). A concentração de glicose e a conversão de celulose foram determinadas no decorrer da reação por até 48 h. A concentração máxima de glicose liberada foi de 53,95 g / L e 59,68% de conversão de celulose. A metodologia de produção de nanocelulose empregou tratamento com organossolv, seguido de purificação com H₂O₂ e subsequentes testes de hidrólise enzimática. A obtenção de nanocelulose pelo bagaço de cana-de-açúcar poderia ser um processo integrado para produzir açúcares solúveis, mostrando-se muito promissor do ponto de vista da sustentabilidade e, portanto, poderia potencialmente contribuir para a implementação de futuras biorrefinarias.

Palavras-chave: Nanocelulose, etanol de segunda-geração, hidrólise enzimática, biorrefinaria.

PRODUCTION OF INTEGRATED NANOCELLULOSIS TO OBTAIN ETHANOL 2G FROM SUGAR CANE BAGASSE

Abstract: The production of high-value nanocellulosic materials can significantly contribute to the overall economic viability of the biorefineries. Nanocellulose can be obtained from solid phase of sugarcane bagasse by different methods like mechanical, acid and enzymatic route. The lignin and hemicellulose should be extracted to isolate cellulose and facilitate of nanocellulose production. This work evaluated the obtaining the nanocellulose by sugarcane bagasse. The raw sugarcane bagasse was submitted to hydrothermal treatment (195°C, 10 minutes) and was hydrolyzed using 15% of solid contents and enzyme Cellic Ctec 3. The glucose concentration and cellulose conversion were determined during the course of the reaction up to 48 h. The maximum concentration of glucose released was 53.95 g/L and 59.68% of cellulose conversion. The methodology of production of nanocellulose employed organosolv treatment followed by purification with H₂O₂ and subsequent tests of enzymatic hydrolysis. The obtaining of nanocellulose by sugarcane bagasse could be integrated process to produce soluble sugars showing to very promising from the sustainability stand point and, therefore, could potentially contribute to the implementation of future biorefineries.

Keywords: Nanocellulose, second generation ethanol, enzymatic hydrolysis, biorefinery.

1. Introdução

A demanda por produtos de característica sustentável é incentivada pela necessidade de minimizar os impactos causados pelo homem no meio ambiente, o que motiva pesquisas com fontes renováveis ou precursores ambientalmente corretos. Neste contexto, as biorrefinarias tem como objetivo a produção de biocombustíveis, bioprodutos e novos materiais, tendo em vista o uso de biomassas lignocelulósicas.

Independente da fonte, fibras celulósicas podem ser desintegradas por diferentes processos em estruturas com menor dimensão e alto valor agregado, incluindo nanocristais de celulose (NCC) e nanofibras de celulose (NFC) (KLEMM; KRAMER; MORITZ; LINDSTROM et al., 2011). Buscando englobar o conceito de biorrefinaria, a produção de nanocelulose pode ser integrada à geração de etanol, o que auxilia na viabilização econômica de ambas as rotas e permite agregar valor a um resíduo agroindustrial como o bagaço de cana, por exemplo. Assim, este trabalho apresenta um processo de aproveitamento do bagaço de cana-de-açúcar para produção integrada de nanocelulose e glicose visando a obtenção de etanol de segunda-geração (2G).

2. Materiais e Métodos

2.1. *Pré- tratamento do bagaço de cana-de-açúcar*

O bagaço de cana foi doado pela usina Ipiranga (Descalvado) e posteriormente submetido a um processo hidrotérmico para remoção de hemicelulose em reator Parr a 195°C, 10 minutos, 200 rpm. O material tratado (celulignina) foi lavado até pH neutro. Na celulignina foi aplicado um tratamento Organosolv para remoção de lignina em reator Parr a 190°C, 90 minutos, 200 rpm. A fração sólida foi lavada até pH neutro, seco em estufa e posteriormente submetido a um processo de branqueamento. Para branqueamento, empregou-se uma mistura de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em 5% (v/v) e hidróxido de sódio (NaOH) 4% (m/v). O material final foi lavado até pH neutro e seco em estufa.

2.2. *Produção de glicose e nanocelulose*

O bagaço tratado foi submetido a hidrólise enzimática em teor de sólidos de 15% e carga de enzima de 10 FPU/ g biomassa em tampão citrato de sódio (0,1 M pH 5) durante 96h em reator do tipo tanque agitado. Após este tempo, a fração sólida (nanocelulose) foi separada da fração líquida (glicose) por um centrifugação. Após a separação o sólido foi lavado e centrifugado para remoção da glicose residual.

2.3. *Caracterizações*

Após a hidrólise enzimática, a glicose foi quantificada usando um Kit comercial GOD-POD (labtest) seguindo as especificações do fabricante.

A fração sólida foi caracterizada por difração de raio X (DRX) com ângulo de bragg (2θ) variando 5° a 40° com taxa de 2°/ min em difratômetro Shimadzu 6000 (Shimadzu Co., Japão) operado com radiação Cu K α ($\lambda = 1,54\text{\AA}$), tensão de 30 kV e corrente de 30 mA. A cristalinidade foi avaliada pela deconvolução usando funções Gaussianas e calculada pela relação da área cristalina sob amorfa. A estabilidade coloidal da suspensão foi analisada por espalhamento de luz dinâmico (DLS) e tamanho médio aparente em um equipamento Malvern 3000 Zetasizer NanoZS. Este equipamento usa espalhamento dinâmico de luz para medir a difusão de partículas que se movem sob movimento browniano e fornece o tamanho médio de partícula (ZD) e o índice de polidispersidade (PDI).

3. Resultados e Discussão

3.1. *Pré-tratamento*

A etapa de pré-tratamento consiste na remoção de componentes não celulósicos, visando melhorar os processos de hidrólise enzimática. Na Figura 1 é apresentada a fibra após cada etapa de tratamento.

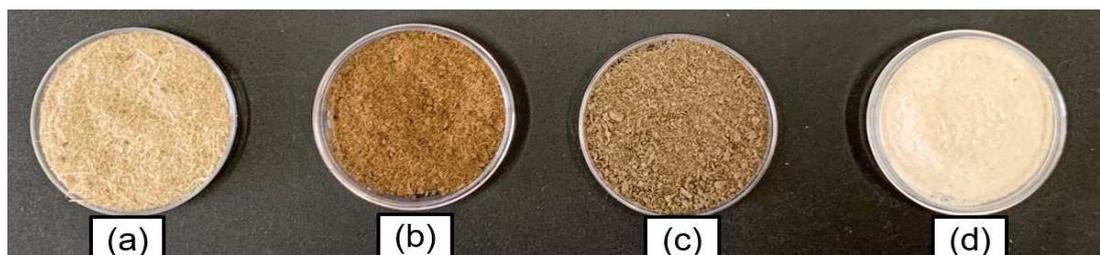


Figura 6. Fibras de bagaço de cana-de-açúcar (a) In natura (b) Hidrotérmico (c) Organosolv (d) branqueada com H_2O_2 e NaOH

A remoção de hemicelulose e lignina é de fundamental importância para melhorar os rendimentos de hidrólise enzimática e liberação de glicose. A presença inibidores derivados da degradação da hemicelulose ou lignina interfere negativamente na etapa de hidrólise enzimática, resultando em ineficientes conversões (KO; XIMENES; KIM; LADISCH, 2015). Assim, um pré-tratamento eficiente interfere nas etapas subsequentes do processo de produção de etanol e nanocelulose. O tratamento aqui realizado resultou em teores finais de celulose de $89,42\% \pm 0,66$ em contrapartida aos $46,55 \pm 0,33$ do bagaço in natura, mostrando que o tratamento resultou em um considerável aumento no teor de celulose e consequente redução nos teores de lignina e hemicelulose.

3.2. Hidrólise enzimática para obtenção de glicose e nanocelulose

A hidrólise enzimática foi feita no bagaço de cana branqueado em teor de sólidos de 15% durante 96h. Após este tempo, a máxima concentração de glicose produzida foi de $96,2 \text{ g/L} \pm 2,74$ com conversão de $61,2\% \pm 2,74$. Os valores aqui obtidos encontram-se próximos da concentração mínima para favorecer economicamente os processos de destilação na produção de etanol, que é de 100 g/L (XIMENES; KIM; MOSIER; DIEN *et al.*, 2010).

A obtenção de nanocelulose foi posteriormente avaliada, visando um processo de integração. Assim, na Figura 2 são apresentados os difratogramas de raio-x do bagaço após a etapa de branqueamento e posterior a hidrólise enzimática.

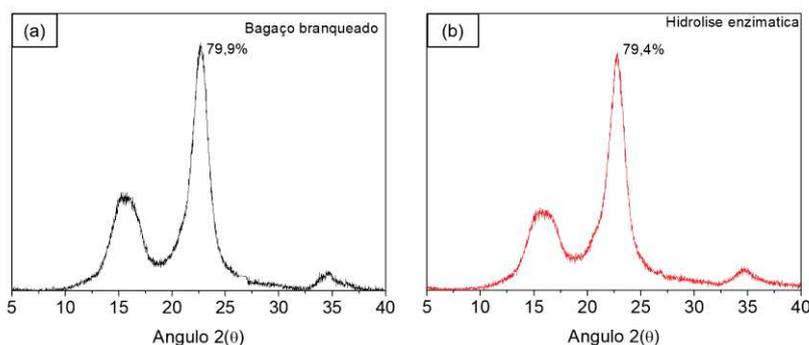


Figura 7. Difratograma de raio-x (a) bagaço branqueado; (b) sólido residual da hidrólise enzimática

Após a etapa de hidrólise enzimática o sólido residual manteve os valores de índice de cristalinidade, mantendo o aspecto característico de celulose tipo I, com planos característicos em $2\theta = 15^\circ$ (plane 101), 17° (plane $10\bar{1}$), 21° (plane 021), 23° (plane 002) and 34° (plane 004) (PARK; BAKER; HIMMEL; PARILLA *et al.*, 2010), indicando que a hidrólise não afetou a estrutura cristalina do material.

Por fim, para avaliar mudanças no tamanho médio aparente, a suspensão contendo nanocelulose foi submetida análise de espalhamento de luz dinâmico (DLS). Os resultados de DLS não podem ser diretamente associados ao comprimento e diâmetro das nanopartículas, porém o tamanho médio aparente e o índice de polidispersividade (PDI) podem ser usados como uma

medida relativa (MOON; MARTINI; NAIRN; SIMONSEN et al., 2011). Aqui, os valores foram de $532,0 \pm 33,8$ nm de tamanho médio aparente e $0,75 \pm 0,09$ de PDI. O tamanho médio aparente pode ser usado para uma comparação aproximada do tamanho das nanopartículas em diferentes amostras analisadas da mesma forma. Por outro lado, PDI indica o grau de homogeneidade de tamanho em cada amostra. Um valor mais próximo de 1 de PDI indica uma ampla distribuição de tamanho, enquanto amostras monodispersas têm valor zero de PDI (NOVO; BRAS; GARCIA; BELGACEM et al., 2015).

4. Conclusões

O presente trabalho mostra que foi possível extrair nanocelulose integrada a elevadas concentrações de glicose para obtenção de etanol. Através da análise de raio-X, observou-se que inicialmente a reação enzimática não degradou as estruturas cristalinas da celulose, favorecendo a produção de nanoestruturas. Por fim, o tamanho médio aparente revelou estruturas na escala nanométrica, além disso o índice de polidispersividade revelou estruturas com ampla distribuição de tamanho.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. FAPESP, CNPQ.

Referências

- KLEMM, D.; KRAMER, F.; MORITZ, S.; LINDSTROM, T. *et al.* Nanocelluloses: A New Family of Nature-Based Materials. **Angewandte Chemie-International Edition**, 50, n. 24, p. 5438-5466, 2011. Review.
- KO, J. K.; XIMENES, E.; KIM, Y.; LADISCH, M. R. Adsorption of Enzyme Onto Lignins of Liquid Hot Water Pretreated Hardwoods. **Biotechnology and Bioengineering**, 112, n. 3, p. 447-456, 2015.
- MOON, R. J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSEN, J. *et al.* Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chemical Society Reviews**, 40, n. 7, p. 3941-3994, 2011.
- NOVO, L. P.; BRAS, J.; GARCIA, A.; BELGACEM, N. *et al.* Subcritical Water: A Method for Green Production of Cellulose Nanocrystals. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, 3, n. 11, p. 2839-2846, Nov 2015.
- PARK, S.; BAKER, J. O.; HIMMEL, M. E.; PARILLA, P. A. *et al.* Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. **Biotechnology for Biofuels**, 3, May 2010.
- XIMENES, E.; KIM, Y.; MOSIER, N.; DIEN, B. *et al.* Inhibition of cellulases by phenols. **Enzyme and Microbial Technology**, 46, n. 3-4, p. 170-176, 2010.