

**PRODUÇÃO DE NANOCELULOSE VIA ROTAS ÁCIDA E ENZIMÁTICA**

M. V. Oliveira<sup>1</sup>, S. Bilatto<sup>2,\*</sup>, P. Squinca<sup>2</sup>, C. S. Farinas<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Genética e Evolução – UFSCar, Rod. Washington Luis, km 235, CEP: 13565-905, São Carlos, SP, [mavilimaoliveira@gmail.com](mailto:mavilimaoliveira@gmail.com)

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, nº 1.452, CEP: 13560-970, São Carlos, SP

\* Autor correspondente, e-mail: [stanleyebr@gmail.com](mailto:stanleyebr@gmail.com)

**Resumo:** A nanocelulose é um material de alto valor agregado que pode ser obtido a partir da hidrólise de biomassa lignocelulósica. Neste trabalho são apresentadas duas frentes de pesquisa desenvolvidas pelo Laboratório de Agroenergia da Embrapa Instrumentação – São Carlos, abordando a hidrólise ácida e a hidrólise enzimática utilizando biomassas lignocelulósicas.

**Palavras-chave:** nanocelulose, hidrólise enzimática, hidrólise ácida, biorefinaria.

**NANOCELLULOSE PRODUCTION BY ACID AND ENZYMATIC ROUTES**

**Abstract:** Nanocellulose is a high aggregated value material obtained by lignocellulosic biomass hydrolysis. In this paper, it is presented two research topics developed at Agroenergy Laboratory, in Embrapa Instrumentation – São Carlos, as acid hydrolysis and enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass.

**Key words:** nanocellulose, enzymatic hydrolysis, acid hydrolysis, biorefinery

**1. Introdução**

O bioetanol, obtido através da fermentação de materiais orgânicos como a cana-de-açúcar, apresenta-se como uma interessante alternativa sustentável de combustível já que é produzido a partir de recursos renováveis, apesar de ainda oferecer certa desvantagem econômica em relação a processos não renováveis. Esse cenário, entretanto, pode ser revertido através da produção de materiais de valor agregado associados à produção de bioetanol, como a nanocelulose (NC).

A nanocelulose é um material de alta área superficial, hidrofiliabilidade e alta cristalinidade que possui diversas aplicações, como biofilme, hidrogel, uso em implantes, papéis, entre outros; podendo ser obtida através da hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar (BC), um resíduo da produção de bioetanol (KUMAR et al., 2014; LAM et al., 2012). Tal hidrólise pode ser realizada a partir de diversas vias que, de maneira comum, visam a conversão de carboidratos complexos a monômeros simples, liberando o polímero de celulose cristalino.

Diversos materiais são utilizados para a obtenção de nanocelulose, variando em sua concentração de celulose, hemicelulose e lignina, como o bagaço de cana-de-açúcar (aproximadamente 22% de lignina e 45% de celulose), algodão (26% de lignina e 50% de celulose) (SHARMA et al., 2019) e polpa de eucalipto (5% de lignina e 69% de celulose) (WANG et al., 2017).

Entre as diferentes vias de hidrólise utilizadas, a mais conhecida é a partir do uso de ácido sulfúrico, utilizando-se de condições de temperatura, tempo de hidrólise e agitação controlados. A hidrólise por ácido sulfúrico permite remoção seletiva do material amorfo e funcionalização dos nanocristais com grupamentos sulfato, que concedem aos cristais de nanocelulose (CNC) carga negativa e, conseqüentemente, aumentam sua estabilidade em suspensões aquosas. Entretanto, algumas desvantagens de tal processo são a grande corrosividade do reagente e sua incompatibilidade ambiental. Outros ácidos também costumam ser utilizados, entre eles o ácido fosfórico e hidrocloreídrico, concedendo diferentes propriedades aos CNCs produzidos (BRINCHI et al., 2013).

Já a hidrólise enzimática permite a produção de nanocristais de celulose sem a necessidade de reagentes químicos abrasivos aos reatores ou ao meio ambiente (TRACHE et al., 2017). Esta via se baseia na utilização de enzimas de efeito sinérgico, como celulasas, endoglucanases e celobiohidrolases, capazes de quebrar as ligações de hidrogênio entre microfibras de celulose. Entretanto, como desvantagem, pode-se citar o longo tempo de hidrólise e a alta sensibilidade enzimática às condições de reação e a compostos como a lignina, a qual se liga de maneira não produtiva (SHARMA et al., 2019).

Visando diminuir interferentes da hidrólise, além de reduzir o efeito recalcitrante das biomassas lignocelulósicas, faz-se necessário um pré-tratamento do material a ser utilizado. Entre eles, o pré-tratamento alcalino se baseia na adição de hidróxido de cálcio à biomassa, possuindo como vantagens seu baixo custo, segurança, baixa severidade e aumento da digestibilidade do material (SUN et al., 2016). Já o tratamento ozonolítico constitui na oxidação seletiva de lignina a partir do gás ozônio, apresentando alta eficiência e mínima produção de inibidores hidrolíticos (TRAVAINI et al., 2013).

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Pré-tratamento e hidrólise ácida

Para preparação do material a ser utilizado, foi utilizada uma combinação de pré-tratamentos, visando remoção seletiva e eficiente de interferentes do processo. Bagaço de cana-de-açúcar foi gentilmente fornecido pelo Laboratório Nacional de Biorrenováveis (LNBR/CNPEM). Posteriormente, foi realizado o tratamento alcalino (AC) com  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  seguido por ozonólise de 90 minutos.

A hidrólise ácida então prosseguiu com a utilização de ácido sulfúrico, na proporção de 20:1 de biomassa (m/m), em agitação constante. Os nanocristais de celulose foram neutralizados e purificados a partir de centrifugação com troca constante de água e diálise. Posteriormente, o material resultante passou por sonicação em banho de gelo, por 10 minutos.

### 2.2 Hidrólise enzimática

Para a hidrólise enzimática, foi utilizada polpa branqueada de eucalipto (PBE) e enzimas celulolíticas produzidas a partir de *Aspergillus niger* cultivado sob fermentação sólida.

Após processamento das fibras de PBE em moinho de bolas, a hidrólise enzimática prosseguiu utilizando-se o coquetel enzimático não-comercial durante 96h, sendo realizada posteriormente sonicação de parte do material resultante.

### 2.3 Caracterização

Os ensaios de quantificação de constituintes (porcentagem de celulose, hemicelulose e lignina) de cada amostra foram baseados nos protocolos descritos em “Procedimentos para análise lignocelulósica, 2010” da EMBRAPA.

Diferentes ensaios físico-químicos foram realizados visando compreensão das mudanças nas propriedades químicas e estruturais de cada material diante dos diferentes tratamentos e condições de hidrólise. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para análise das fibras *in natura* e pré-tratadas, já o material nanocelulósico foi caracterizado a partir de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG).

## 3. Resultados e discussão

A combinação dos pré-tratamentos alcalino e ozonolítico permitiu uma alta retirada de extrativos (porcentagem final no material de 2,85%) e elevada eficiência de deslignificação (63%), que, juntamente aos ensaios de caracterização realizados, demonstraram grande desbastamento físico da fibra (Figura 1), além da retirada de lignina em níveis satisfatórios, aumentando o rendimento da etapa seguinte. Na hidrólise ácida foi possível produção eficaz de cristais de nanocelulose com altos índices de cristalinidade, apesar de menor estabilidade térmica devido aos grupamentos sulfato encontrados em sua superfície.

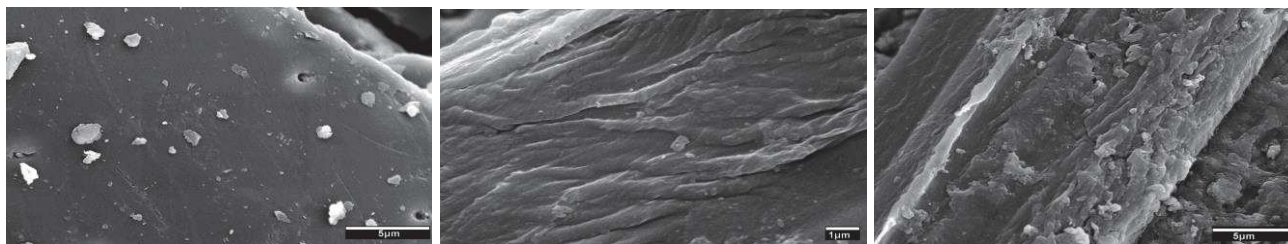


Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) do bagaço de cana-de-açúcar, a 5000x de aumento, nas condições 1 - sem tratamento, 2 – pré-tratado com  $\text{Ca(OH)}_2$  e 3 – pré-tratado com  $\text{Ca(OH)}_2$  seguido por ozonólise.

Além disso, verificou-se a produção com êxito de material nanocelulósico a partir da via enzimática, utilizando coquetel não-comercial de enzimas produzidas *on-site* (Figura 2):

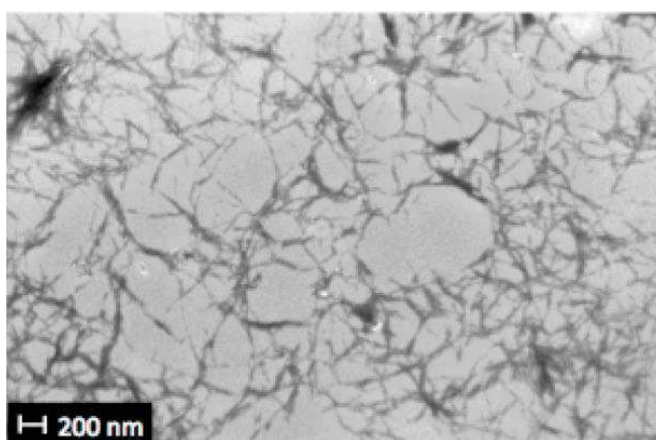


Figura 2. MEV-FEG de nanocelulose obtida a partir de hidrólise enzimática de polpa branqueada de eucalipto.

#### 4. Conclusões

Apresentou-se a capacidade de produção de nanocelulose a partir das duas vias testadas. Na hidrólise ácida, a realização de pré-tratamento se mostrou necessária, sendo a combinação dos pré-tratamentos alcalino e ozonolítico efetiva no desbastamento físico da fibra, além de produzir níveis de deslignificação satisfatórios, desse modo gerando material ideal para a produção de nanocelulose com altos índices de cristalinidade.

Para a hidrólise enzimática, a produção *on site* de enzimas hidrolíticas se mostrou uma boa alternativa para produção de nanocelulose de alta qualidade. Ambos os trabalhos apresentam estratégias promissoras para produção deste material em biorrefinarias.

#### Agradecimentos

FAPESP (Processos 2018/10899-4 e 2016/10636-8), Embrapa Instrumentação, CNPq, SisNANO/MCTI e Rede AgroNano.

#### Referências

- BRINCHI, L.; COTANA, F.; FORTUNATI, E.; KENNY, J. Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: Technology and applications. *Carbohydrate Polymers*, v. 94, n. 1, p. 154 – 169, 2013.
- KUMAR, A.; SINGH NEGI, Y.; CHOUDHARY, V.; KANT BHARDWAJ, N. Characterization of Cellulose Nanocrystals Produced by Acid-Hydrolysis from Sugarcane Bagasse as Agro-Waste. *Journal of Materials Physics and Chemistry*, v. 2, n. 1, p. 8, 2014.

- LAM, E.; MALE, K.; CHONG, J.; LEUNG, A.; LUONG, J. Applications of functionalized and nanoparticle-modified nanocrystalline cellulose. *Trends in Biotechnology*, v. 30, n. 5, p. 283-290, 2012.
- SHARMA, A.; THAKUR, M.; BHATTACHARYA, M.; MANDAL, T.; GOSWAMIS; Commercial application of cellulose nano-composites – A review. *Biotechnology Reports*, v. 21, p. e00316, 2019.
- SUN, S.; SUN, S.; CAO, X.; SUN, R. The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. *Bioresource Technology*, v. 199, p. 49 – 48, 2016.
- TRACHE, D.; HUSSIN, M.; HAAFIZ, M.; THAKUR, V. Recent progress in cellulose nanocrystals: sources and production. *Nanoscale*, v. 9, n. 5, p. 1763-1786, 2017.
- TRAVAINI, R.; OTERO, M.; COCA, M.; DA-SILVA, R.; BOLADO, S. Sugarcane bagasse ozonolysis pretreatment: Effect on enzymatic digestibility and inhibitory compound formation. *Bioresource Technology*, v. 133, p. 332-339, 2013.
- WANG, Y.; WEI, X.; LI, J. et al. Homogeneous isolation of nanocellulose from eucalyptus pulp by high pressure homogenization. *Industrial Crops and Products*, v. 104, p. 237 – 241, 2017.