

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Instrumentação
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

Caracterização, Aproveitamento e
Geração de Novos Produtos
de Resíduos Agrícolas,
Agroindustriais e
Urbanos

EDITORES

Débora Marcondes Bastos Pereira Milori
Ladislau Martin Neto
Wilson Tadeu Lopes da Silva
José Manoel Marconcini
Victor Bertucci Neto

Embrapa Instrumentação
São Carlos, SP
2010

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação

Rua XV de Novembro, 1452
Caixa Postal 741
CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: (16) 2107 2800
Fax: (16) 2107 2902
www.cnpdia.embrapa.br
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: João de Mendonça Naime
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,
Sandra Protter Gouvea
Washington Luiz de Barros Melo
Valéria de Fátima Cardoso
Membro Suplente: Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior

Supervisor editorial: Victor Bertucci Neto
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso
Tratamento de ilustrações: Camila Fernanda Borges
Capa: Camila Fernanda Borges
Editoração eletrônica: Camila Fernanda Borges

1ª edição

1ª impressão (2010): tiragem 300

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Instrumentação

C257 Caracterização, Aproveitamento e Geração de Novos Produtos de Resíduos Agrícolas,
Agroindustriais e Urbanos. / Débora Marcondes B. P. Milori, Ladislau Martin-Neto,
Wilson Tadeu Lopes da Silva, José Manoel Marconcini, Victor Bertucci Neto editores. -- São
Carlos, SP: Embrapa Instrumentação, 2010.
154 p.

ISBN:

1. Reciclagem. 2. Meio ambiente. 3. Agricultura. 4. Agroenergia. 5. Novos materiais.
6. Seqüestro de carbono. 7. Solos. 8. Lodo de esgoto. 9. Substância húmicas. 10. Águas
residuárias. I. Milori, Débora Marcondes B. P. II. Martin-Neto, Ladislau.
III. Silva, Wilson Tadeu Lopes da. IV. Marconcini, José Manoel. V. Bertucci Neto, Victor.

CDD 21 ED 628.4458
631
363.7

© Embrapa 2010



TECNOLOGIAS DE PRÉ-TRATAMENTO E SEUS EFEITOS NA MICROESTRUTURA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

Ursula F. Rodríguez-Zúñiga^{1,2}, Cristiane S. Farinas², Francielle N. Gonçalves², Victor Bertucci Neto², Sonia Couri³, Silvio Crestana².

¹EESC–USP Pós-graduação em Ciências da Engenharia Ambiental, São Carlos, SP

²Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP.

³Embrapa Tecnologia de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

e-mail: ursula@cnpdia.embrapa.br

Plano de Ação: PA5 n°: 02.07.06.003.00.05

Resumo -O bagaço de cana é um produto de baixo custo, de matérias-primas abundantes no Brasil e um substrato potencial para produção de etanol de 2ª geração.

Devido a sua baixa digestibilidade, esta biomassa precisa de pré-tratamentos que permitam a obtenção de elevadas taxas de conversão biológica. O presente trabalho objetiva a comparação dos efeitos na microestrutura do bagaço de cana submetido à vários pré-tratamentos físico-químicos (ácido, alcalino e sua combinação). O pré-tratamento combinado resultou na maior concentração de celulose (46.6% to 85.8%). As micrografias mostraram uma perda estrutural de células com a exposição parcial da celulose e a remoção de lignina. O grau de cristalinidade incrementou-se com o tratamento alcalino indicando a perda dos componentes amorfos o a formação de celulose microcristalina.

Palavras-chave: pré-tratamentos, bagaço de cana-de-açúcar, técnicas espectroscópicas caracterização.

Introdução

A biomassa lignocelulósica, abundante na natureza, constitui-se hoje como a maior fonte potencial de biocombustíveis de 2ª geração (SEABRA et al., 2010). Com este objetivo, os seus componentes estruturais (celulose, hemicelulose e lignina) devem ser separados através de um pré-tratamento, hidrolisados visando a produção de açúcares e finalmente fermentados para produzir etanol combustível (CARDONA et al., 2010). A etapa inicial de pré-tratamento exibe uma série de alternativas de acordo com a biomassa utilizada. Durante o processo existem vários fatores mecânicos e estruturais relevantes para sua eficiência final. Dentro dos fatores estruturais podem se mencionar o grau de cristalinidade, a estrutura microporosa e a área superficial disponível, os quais necessitam ser estudados para seu melhor entendimento e a industrialização do etanol lignocelulósico (ZHANG e LYND, 2004). Assim, este trabalho teve como objetivo a avaliação dos efeitos dos pré-tratamentos básico, ácido e sua combinação no bagaço de cana-de-açúcar (BC), abundante subproduto da indústria sucroalcooleira no Brasil. Neste sentido, foram estudados aspectos como a composição, a microestrutura e a morfologia derivados da aplicação de técnicas como raios X, espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) visando a elucidar a qualidade e o potencial das matérias pré-tratadas na conversão enzimática.

Materiais e Métodos

Nos experimentos de pré-tratamento foram utilizadas amostras de 50 g de BC com uma granulometria de 1mm, amostras que foram submetidas à tratamento com soluções de NaOH, H₂SO₄ com uma concentração de 2% (m/v) em uma proporção de 1:5 (v/w). Os pré-tratamentos foram realizados em autoclave a 121 °C por 30 min. Para aplicação do pré-tratamento combinado as amostras de BC foram submetidas à ação da solução ácida à temperatura ambiente durante 24 horas, após as quais foram lavadas com abundante água destilada até pH5, o tratamento complementar com solução básica foi realizado nas mesmas

condições dos pré-tratamentos na autoclave.

Após todos os pré-tratamentos, a fração sólida foi lavada com água até não apresentar coloração amarelada no efluente da lavagem. Os substratos foram secos em estufa à 60°C durante 5 horas.

A composição química foi analisada através da metodologia sugerida por Goering e Van Soest (1970) e Silva (1998). Os espectros de infravermelho foram adquiridos no intervalo de 4000 e 400 cm^{-1} usando um disco de KBr com teor de 1% de cada amostra pré-tratada devidamente pulverizada. O índice de cristalinidade (CrI) que é correlacionado com o teor de celulose cristalina foi calculado a partir dos espectros de raios X de acordo com o metodologia sugerida por Segal et al. (1959). Finalmente os efeitos na morfologia foram monitorados por MEV das amostras de BC pré-tratados submetidas ao recobrimento de Au/Pt.

Resultados e Discussão

A Tabela 1 mostra os resultados do rendimento mássico, a composição em relação à celulose, hemicelulose e lignina e o índice de cristalinidade (CrI) de cada uma dos BC derivados de cada pré-tratamento.

Tabela 1- Composição química relativa e CrI dos BC in natura e pré-tratados.

Componente (%)	BC	Pré-tratamento		
		Alcalino	Àcido	Combinado
Rendimento	-	60,56	52	43,23
Extractivos	2,44	-	-	
Celulose	46,62	66,44	68,62	86,67
Hemicelulose	26,51	25,48	2,29	5,40
Lignina	21,7	4,42	25,98	3,67
Cinzas	2,51	1,87	1,22	1,99
CrI	58,18	69,90	69,28	73,99

Em geral, todos os pré-tratamentos concentraram a celulose devido à remoção da hemicelulose e/ou lignina. O método alcalino atingiu uma solubilização da lignina de 80%. Como relatado na literatura o principal efeito do NaOH é a deslignificação ocasionada pela redução das ligações cruzadas de éster da lignina, resultando também em uma eliminação parcial da celulose e hemicelulose. Por outro lado, os reagentes ácidos visam a solubilização da fração da hemicelulose nas suas principais frações, xilose e xilooligosacarídeos. Um decréscimo de 92% do conteúdo de hemicelulose após o pré-tratamento ácido confirma esta premissa. O pré-tratamento combinado derivou na redução nos teores de lignina e hemicelulose nas proporções de 83% e 80%, respectivamente.

Complementando estas informações, o CrI na Tabela 1 foi calculado a partir dos espectros de Raios X, relacionando a fração cristalina da celulose com sua fração amorfa.

Assim, a massiva remoção dos componentes amorfos sugere a natureza recalcitrante e cristalina da celulose após os pré-tratamentos.

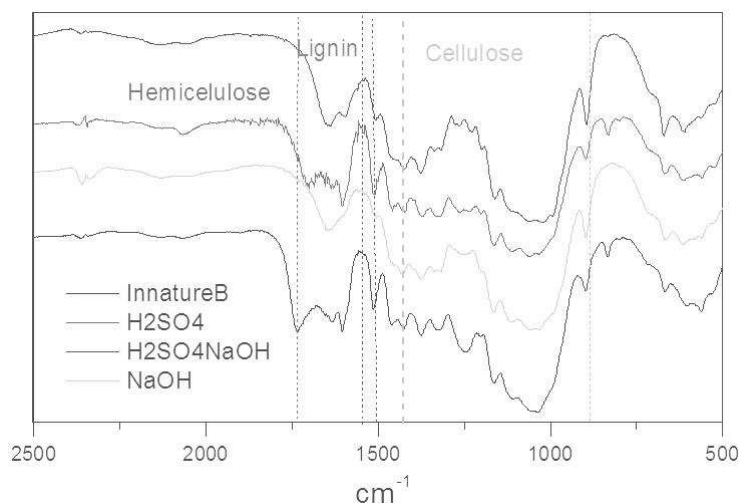


Figura 1 - Espectros de infravermelho das amostras de BC in natura e pré-tratadas.

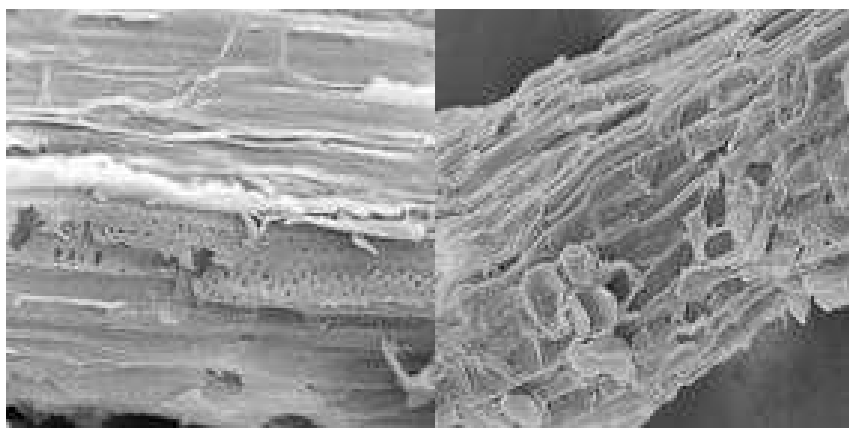
A Figura 1 mostra os espectros de infravermelho dos BC in natura e pré-tratados. As linhas verticais em vermelho, azul e verde indicam as posições das bandas características da hemicelulose, lignina e celulose respectivamente (ZHAO et al., 2008).

A região entre 1200 e 1000 cm⁻¹ é correlacionada com os vários grupos funcionais dos carboidratos (celulose e hemicelulose). A sobreposição de bandas é atribuída a estiramentos C–O–H de álcoois primários e secundários a 1064 cm⁻¹, estiramento de ligações glicosídicas C–O–C a 1160 cm⁻¹ e vibrações aromáticas a C–O–C a 1100 cm⁻¹.

Já a banda a 910 cm⁻¹, dominada principalmente pelas ligações β-(1 →4) glicosídicas, tornou-se mais aparente após tratamentos químicos, confirmando a concentração da celulose (ZHANG e LYND, 2004).

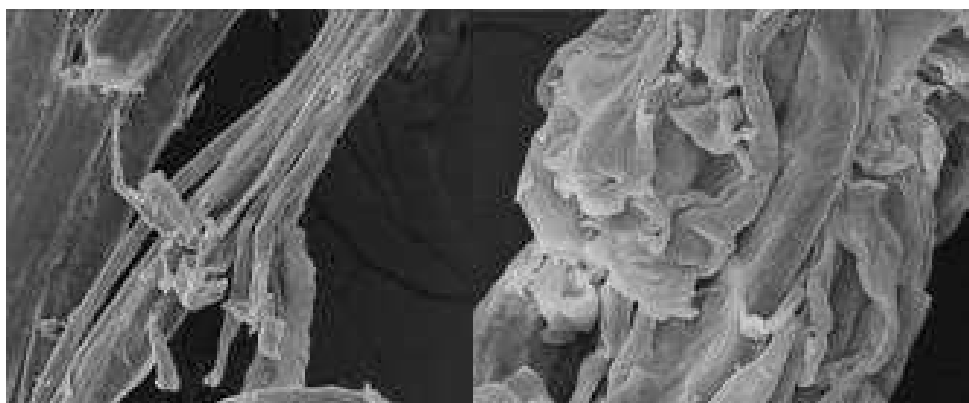
Por outro lado, sinais registrados a 1725 cm⁻¹ são atribuídos a estiramentos C=O (vibrações devidas a ácidos carboxílicos e cetonas) das poliozes, podendo se verificar seu desaparecimento, dada sua maior susceptibilidade físico-química (KUMAR et al., 2009). Finalmente, bandas representativas de compostos fenólicos entre 1610 e 1516 cm⁻¹, também foram reduzidas em maior proporção nos tratamentos alcalinos e combinados confirmando a solubilização da lignina (ALVIRA et al., 2010). Apesar disso, a sua recalcitrância pode ser derivada de alguns compostos aromáticos derivados retidos no material remanescente (HENDRIX e ZEEMAN, 2009).

No tangente às mudanças estruturais, as micrografias de MEV (Figuras 2A, 2B, 2C, 2D) revelaram uma perda geral de células vegetais (tecido epidérmico e parenquimatoso). A Figura 1, correspondente ao BC in natura (Figura 2A) evidencia uma estrutura fragmentada derivada das operações prévias de moenda e lavagem utilizadas do processamento industrial original.



A)

B)



C)

D)

Figura 2 - Micrografias das amostras de BC in natura e pré-tratados A) BC in natura 500x. B) BC tratado com ácido 1000x. C) BC tratado com álcali 1000x e D) BC tratado com ácido/álcali 2000x.

A Figura 2B mostra os efeitos produzidos no BC quando submetido ao pré-tratamento ácido, a remoção de hemicelulose e celulose é corroborada nas micrografias pela perda de grande parte das células de parênquima (células de formato achatado e floculoso) ao redor das fibras celulósicas. A mudança na morfologia superficial foi também relacionada com a diminuição das ligações H das microfibrilas, favorecendo uma aparência fibrilar destorcida e compactada (HENDRIX e ZEEMAN, 2008; YU et al., 2008). O pré-tratamento alcalino (Figura 2C) causou uma maior exposição da celulose microfibrilar derivada da solubilização da lignina e hemicelulose. Finalmente o pré-tratamento combinado (Figura 2D) gerou uma polpa celulósica na forma de agregados amorfos corroborando a extensiva solubilização dos componentes que fornecem resistência e rigidez estrutural à biomassa vegetal.

A informação previa obtida pela MEV deve ser correlacionada com outras técnicas analíticas visando um maior entendimento das mudanças fisiológicas e morfológicas dos efeitos do pré-tratamento.

Conclusões

Os resultados mostraram em geral a remoção da lignina e hemicelulose dependente ao tipo de pré-tratamento aplicado. Apesar disso, fatores como o tipo de grupos funcionais na biomassa remanescente, o índice de cristalinidade e a porosidade microestrutural mostraram-se relevantes na avaliação da digestibilidade do bagaço de cana-de-açúcar visando seu uso como substrato enzimático.

Agradecimentos

Embrapa Instrumentação Agropecuária, Embrapa Pecuária Sudeste, CNPq.

Referências

- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 13th ed. Washington, D.C, 1980.
- ALVIRA, P.; TOMÁS-PEJÓ, E.; BALLESTEROS, M.; NEGRO, M. J. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, p. 4851–4861, 2010.
- CARDONA, C. A.; QUINTERO, J. A.; PAZ, I. C. Production of bioethanol from sugarcane bagasse: Status and perspectives. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, p. 4754–4766, 2010.

- GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. Forage fiber analyses, apparatus, reagents, procedures and some applications. Washington, DC: USDA, 1970. 20 p. (USDA. Agricultural handbook, 379).
- HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, Essex, v. 100, p. 10–18, 2009.
- KUMAR, R.; MAGO, G.; BALAN, V.; WYMAN, C. E. Physical and chemical characterization of corn stover and polar solids resulting from leading pretreatment technologies. **Bioresource Technology**, Essex, v. 100, p. 3948–3962, 2009.
- 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. **Textile Research Journal**, Princeton, v. 29, p. 786-794, 1959.
- SEABRA, J. E. A.; TAO, L.; CHUM, H. L.; MACEDO, I. C. A Techno-Economic Evaluation of the Effects of Centralized Cellulosic Ethanol and Co-Products Refinery Options with Sugarcane Mill Clustering **Biomass & Bioenergy**, Oxford, v. 34, p. 1065–1078, 2010.
- SILVA, D. J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: Ed. UFV, 1998. 166 p.
- YU, Y.; LOU, X.; WU, H. Some Recent Advances in Hydrolysis of Biomass in Hot-Compressed Water and Its Comparisons with Other Hydrolysis Methods. **Energy and Fuels**, Washington, v. 22, p. 46–60, 2008.
- ZHANG, Y. H. P.; LYND, L. R. Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: Noncomplexed cellulase systems. **Biotechnology & Bioengineering**, New York, v. 88, p. 797-824, 2004.
- ZHAO, X. B.; WANG, L.; LIU, D. H. Peracetic acid pretreatment of sugarcane bagasse for enzymatic hydrolysis: a continued work. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, London, v. 83, p. 950-956, 2008.