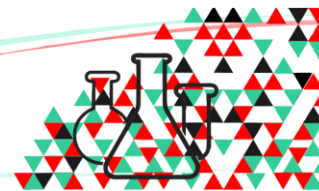




CONGRESSO BRASILEIRO
DE ENGENHARIA QUÍMICA EM
INICIAÇÃO CIENTÍFICA

21-24 Julho de 2019
Uberlândia/MG



ESTUDO DE PRÉ-TRATAMENTOS PARA DISPONIBILIZAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES A PARTIR DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

J. F. RESENDE¹, K. I. M. SOUZA¹, L. T. MONGELLI¹ e L. F. MAIA¹

¹ Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos, Departamento de Engenharia Química

E-mail para contato: jayana.freitas@hotmail.com

RESUMO – A biomassa lignocelulósica vem sendo considerada um biocombustível em potencial para obtenção do etanol de segunda geração, o grande desafio é desenvolver a melhor opção que disponibilize a glicose a partir da hidrólise da celulose considerando a viabilidade econômica, rendimento glicosídico e fermentabilidade do material hidrolisado. O objetivo desse trabalho foi identificar os melhores parâmetros para o pré-tratamento e hidrólise da celulose. Foram abordados três pré-tratamentos para a comparação e em seguida a hidrólise ácida, sendo os pré-tratamentos: ácido, alcalino e hidrotérmico. Para o delineamento experimental o pré-tratamento ácido foi realizado com ácido sulfúrico 7 e 9% (v/v), o pré-tratamento alcalino com hidróxido de sódio 4 e 7% (m/v), o pré-tratamento hidrotérmico com água destilada, e a hidrólise realizada com ácido sulfúrico 72% (v/v). No pré-tratamento a biomassa teve tempo de autoclavagem de 30, 45 e 60 minutos, enquanto na hidrólise permaneceu em autoclave durante 30 minutos, ambos submetidos a temperatura/pressão de 121°C a 1 atm. Subsequente aos experimentos foi realizada determinação de açúcares redutores para obter a concentração dos mesmos em cada teste, apresentando como melhor o pré-tratamento alcalino de 4% e tempo de 45 minutos, sendo coerente com a literatura.

1. INTRODUÇÃO

A necessidade na substituição do combustível fóssil por biocombustíveis vem sendo inevitável. O menor consumo de combustível fóssil gera a diminuição da emissão de gases ligados ao efeito estufa e aquecimento global. Além da sustentabilidade e do desafio da viabilidade econômica, substituir esse combustível é uma alternativa para a considerável restrição de petróleo no futuro. Sendo assim alguns países estão optando por utilizarem combustíveis alternativos como os biocombustíveis, empenhando-se em projetos para produzir combustíveis líquidos, tais como o etanol produzido pela fermentação de açúcares extraídos (etanol de primeira geração) da cana-de-açúcar, do milho, da beterraba, entre outras fontes (OGEDA; PETRI, 2010).

Segundo Ogeda e Petri (2010), outro método para a produção do etanol é a partir das biomassas lignocelulósicas, como bagaço e palha da cana-de-açúcar, a palha de trigo, a palha de arroz, a casca de café, entre outras, geralmente encontradas em grandes quantidades nas plantações industriais. Basicamente, esse método envolve a quebra da parede celular do material lignocelulósico através de tratamentos, que podem ser feitos por meio de enzimas ou



solventes, expondo assim a celulose e hemicelulose para o processo de hidrólise e obtenção de etanol.

2. METODOLOGIA

2.1. Preparo do bagaço de cana

Pesou-se 200g de bagaço de cana e adicionou-se quatro litros água destilada, levando a mistura para aquecimento em banho-maria a 70°C por uma hora com agitação em intervalos de 10 minutos. Em seguida o material foi filtrado em peneira comum de nylon e lavado com um litro de água destilada.

O aquecimento e a lavagem foram realizados três vezes com o objetivo de eliminar resíduos de terra, cinzas, açúcar residual e outros glicídios hidrossolúveis com massa molecular baixa.

O pH da água de lavagem foi verificado para ter-se o conhecimento sobre a acidez da matéria-prima.

Todo o bagaço foi levado para a estufa a 60°C por 24 horas, após seco o material foi submetido a moagem em um moinho de facas contínuo e peneirado, para ajuste da granulometria com peneira da série Tyler.

2.2. Pré-tratamentos

Realizou-se três diferentes pré-tratamentos: ácido, alcalino e hidrotérmico, com tempo de autoclavagem de 30, 45, e 60 minutos, sendo submetidos a mesma temperatura e pressão de 121°C e 1 atm. Todos os experimentos foram realizados com amostras de 1g de bagaço e em triplicatas.

2.2.1. Pré-tratamento ácido

O pré-tratamento ácido foi efetuado com ácido sulfúrico diluído nas concentrações de 7% e 9% (v/v), com as amostras tendo razão de bagaço por H₂SO₄ igual a 1:20 (m/v).

Após a autoclavagem, o material foi submetido a filtragem em papel de filtro e lavagem com 200 mL de água destilada. Após medir o pH da solução filtrada, o mesmo foi neutralizado com solução de KOH 50% (m/v). O volume obtido foi vedado adequadamente e armazenado em local refrigerado para análises posteriores.

2.2.2. Pré-tratamento alcalino

Esse pré-tratamento foi realizado com hidróxido de sódio diluído com concentrações de 4% e 7% (v/v), com as amostras em proporção de 1:10 (m/v).

Ao retirar da autoclave o material foi submetido a filtragem em papel filtro e lavagem com 200 mL de água destilada. O volume obtido foi vedado adequadamente e armazenado em local refrigerado para análises posteriores.

2.2.3. Pré-tratamento hidrotérmico

Para essa etapa a matéria-prima foi autoclavada com água destilada em proporção 1:20 (sólido-líquido).

Ao retirar da autoclave o material foi submetido a filtragem em papel filtro e lavagem com 200 mL de água destilada.

2.3. Hidrólise ácida

Amostras de bagaço pré-tratado foram colocadas em béqueres de 100 mL adicionando-se 5 mL de H₂SO₄ 72% (v/v) em banho-maria a 45°C por 7 minutos. Posteriormente as amostras foram transferidas para erlenmeyers de 500 mL adicionando-se 140 mL de água destilada. Os erlenmeyers foram lacrados e levados para a autoclave a 121°C por 30 minutos. Após a autoclavagem as amostras foram filtradas e a acidez dessas amostras foram medidas para que fosse realizada a neutralização do pH.

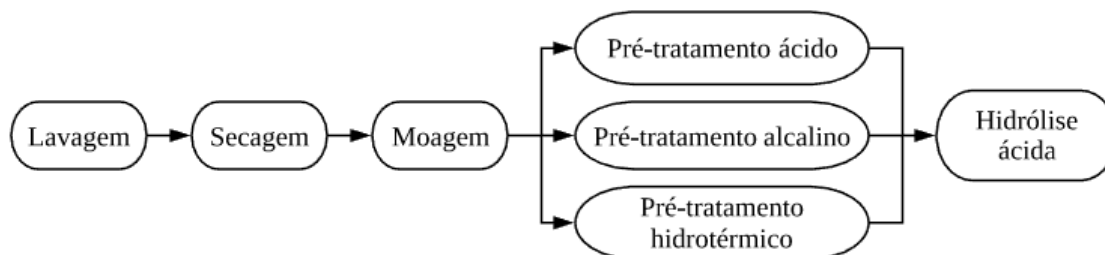
A regulagem do pH foi efetuada com solução de hidróxido de potássio 50% (m/v).

A fração líquida foi armazenada na geladeira para futuramente efetuar análise de quantificação de açúcares redutores.

A fração sólida retida no papel de filtro foi descartada.

Na figura 1 temos a representação das etapas do processo empregadas na metodologia.

Figura 1. Fluxograma das etapas empregadas.



2.4. Análises

2.4.1. Teor de umidade do bagaço de cana

Para a determinação de umidade da matéria-prima foi utilizado o método de secagem na estufa. Pesou-se um cadinho seco, que foi previamente tarado, em seguida adicionou-se 2g de bagaço de cana levando a amostra para a estufa a 105°C por 24 horas. Feito isso retirou-se a amostra, levando-a a um dessecador até resfriar. Pesou-se novamente para efetuar o cálculo da porcentagem de umidade do bagaço de cana pela equação (1).

$$\%Umidade = \frac{100 \cdot n}{Pa} \quad (1)$$

Sendo,

n: peso em g de umidade = Peso inicial (g) – Peso final (g)

Pa: peso da amostra

2.4.2. Quantificação de açúcares redutores

A fração líquida obtida a partir dos pré-tratamentos e hidrólise foi utilizada para determinar os açúcares redutores conforme a metodologia de Somogyi, adaptado por Nelson (1994).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O bagaço teve granulometria ajustada para aproximadamente 0,250 mm, e os valores obtidos de pH e umidade foram de 4,39 e 51,5% respectivamente.

3.1 Quantificação de açúcares

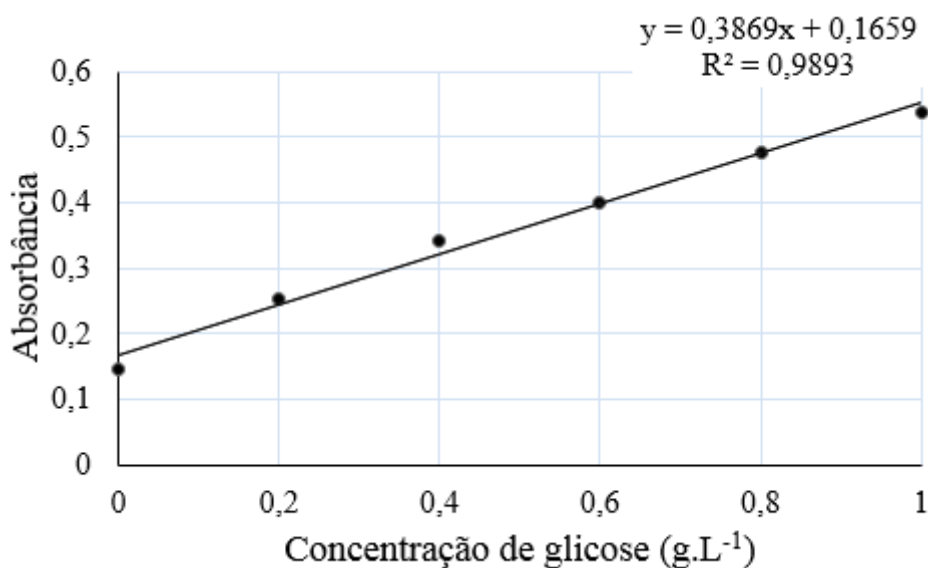
Para a análise do teor de açúcares redutores, foi realizado por espectrofotometria o método de Somogyi adaptado por Nelson.

Inicialmente construiu-se uma curva de calibração de glicose, tendo como base a lei de Lambert-Beer, para relacionar e comparar posteriormente com o gráfico de teor de açúcares redutores presentes nas amostras.

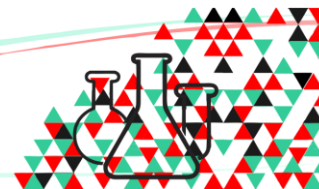
O gráfico de absorvância vs concentração de glicose g.L^{-1} está representado na figura 2, onde y representa os valores de absorvância e o x os valores de concentração de glicose g.L^{-1} , gerando a equação da reta (1).

$$y = 0,3869x + 0,1659 \quad (1)$$

Figura 2. Curva padrão de glicose.

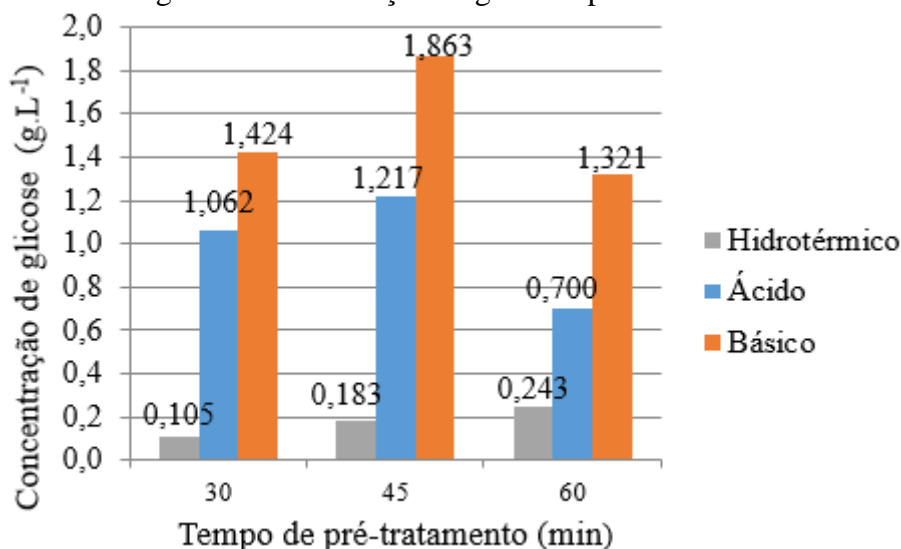


3.2 Dados dos pré-tratamentos



Após os experimentos, com as amostras líquidas que foram armazenadas, realizou-se as análises em espectrofotômetro para obtenção do teor de açúcares redutores. Por meio das leituras efetuadas nas análises obteve-se os valores de absorbância, a partir desses dados determinou-se os valores de concentração de açúcares redutores encontrados em cada hidrólise. Fez-se a construção do gráfico representado na figura 3.

Figura 3. Concentração de glicose após a hidrólise.



Para melhor visualização dos resultados e rendimentos, foi realizada também uma hidrólise da biomassa sem pré-tratamento, obtendo o valor de concentração de açúcares redutores igual a 0,519 g.L⁻¹ (0,186 de absorbância).

Com base na literatura, foi possível comparar e verificar que os valores obtidos nos experimentos foram consideravelmente baixos, sendo assim pode-se afirmar que os pré-tratamentos não foram eficientes, tendo como o melhor pré-tratamento o alcalino.

Sukumaran *et al* (2009) também realizaram uma comparação entre os pré-tratamentos alcalino e ácido, a partir disso verificaram que o pré-tratamento alcalino apresentou maior rendimento em açúcares fermentescíveis.

Portanto compreendeu-se que hidróxido de sódio favorece a deslignificação, de acordo com Chang *et al* (2002) o principal efeito do pré-tratamento com o hidróxido é a remoção da lignina presente na biomassa, facilitando a reatividade dos polissacarídeos restantes.

Observou-se que após a hidrólise ácida os valores de concentração de glicose não apresentaram muita mudança, sendo o maior aumento de 35,78% no pré-tratamento de 45 minutos com NaOH 4%. As possíveis explicações para esse ocorrido são a inalteração da morfologia da biomassa; degradação de carboidratos; formação de subprodutos (furfural, HMF, ácido acético, entre outros); presença de fibras cristalinas na celulose; presença de resíduos de lignina e hemicelulose. Esses aspectos podem resultar na redução de eficiência no processo de hidrólise (PIETROBON, 2008).

Segundo Millett; Baker e Satter (1976), para que ocorra a reação de hidrólise nesse processo as duas regiões da celulose, amorfa e cristalina devem ser rompidas. Condições mais leves são adequadas para regiões amorfas, e para regiões cristalinas são necessários processos drásticos.



Uma outra hipótese para a hidrólise não apresentar valores consideráveis é a degradação de açúcares fermentescíveis, devido à elevada concentração do ácido empregado nessa etapa.

4. CONCLUSÃO

Obteve-se como melhor resultado o pré-tratamento alcalino com concentração de 4% e tempo de 45 minutos, apresentando um valor de concentração de açúcares redutores de 1,863 g.L⁻¹ após a hidrólise ácida.

Compreende-se que o desafio foi converter a parte cristalina em celulose, pois mesmo utilizando ácido concentrado nos experimentos desse trabalho, vinculado à temperatura e pressão requeridas, a hidrólise não apresentou valores de concentração de açúcares redutores desejáveis, concluindo que a celulose cristalina leva um tempo maior para ser convertida.

Esse trabalho não é uma pesquisa conclusiva, sugerindo para os seguintes estudantes aumentar o tempo, temperatura e pressão de hidrólise, na intenção de analisar se assim a região cristalina da celulose é capaz de ser convertida, ou então mudar a concentração do ácido usado na hidrólise para um ácido diluído, pois por ter usado um ácido concentrado pode ter ocorrido a degradação de carboidratos.

Para ter a confirmação das hipóteses, seria interessante realizar uma caracterização do hidrolisado por meio de análise em cromatógrafo, já que essa análise indicaria os produtos ou subprodutos formados após a hidrólise.

5. REFERÊNCIAS

CHANDEL, A.K.; CHANDRASEKHAR, G.; RADHIKA, K. et al. **Bioconversion of pentose sugar into ethanol**; A review and future directions. *Biotechnology and Molecular Biology Review*, v. 6, n.1, p.8-20, 2011

CHANG C-C, YANG M-H, WEN H-M AND CHERN J-C. **Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods**. *J Food Drug Anal* 10: 178-182, 2002.

MILLET, M. A., BAKER, A. J., SETTER, L. D. **Physical and chemical pretreatments for enhancing cellulose saccharification**. *Biotechnol and Bioeng. Symp. No. 6*, p. 125-153. John Wiley e Sons, Inc. 1976.

OGEDA, T.; PETRI, D. **Hidrólise enzimática de biomassa**. 7. ed. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 748, 05508-900 São Paulo - SP, Brasil: *Quim. Nova*, 2010. 1549-1558 2010. p. v. 33. Disponível em: <<http://producao.usp.br/handle/BDPI/12290>>. Acesso em: 01 ago. 2018.

PIETROBON, C. V. **Hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com ácido e álcali utilizando enzimas microbianas comerciais**. Piracicaba, 2008. Dissertação (Mestrado).