



AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO DO BCA UTILIZANDO H_2SO_4 E H_2O_2 ALCALINO PARA PRODUÇÃO DE E2G

Leila Maria Aguilera Campos¹, Samira Maria Nonato de Assumpção², Luiz Antônio Magalhães Pontes³, Camila Sobrinho Chemmés^{4,5}, Carolina Vicência Santos Garrido^{4,6}, Fernanda Cristina Saleh de Souza⁴, Gabrielle das Virgens Fraga⁴, João Marcus Grillo Moraes Santos⁴, Lucas Silva Souza⁴, Ricardo Almeida de Azevedo Junior⁴, Simone Costi Stangherlin Leal⁴, Vivian Conceição Santos de Almeida⁴.

RESUMO

Pesquisas recentes revelam que a demanda global por combustíveis se torna, a cada ano, maior que a disponibilidade de combustíveis derivados do petróleo. Desta forma, torna-se imprescindível a busca por novas tecnologias voltadas para a utilização dos biocombustíveis a fim de suprir esta demanda. Atualmente, o Brasil vem se destacando como líder mundial na utilização de etanol cuja produção é realizada a partir da fermentação do caldo da cana de açúcar. Estudos preveem que a expansão do biocombustível renovável deverá ser baseada no etanol de segunda geração (E2G), cujo processamento utiliza resíduos oriundos da cana-de-açúcar, ou seja, o bagaço e a palha. Na produção do E2G é necessária a realização de etapas de pré-tratamento do bagaço visando a remoção da hemicelulose e a destruição da estrutura recalcitrante formada pela lignina, deixando a celulose mais acessível para a etapa posterior de sacarificação, já que a presença da hemicelulose e da lignina diminuem a eficiência do processo. Com o objetivo de avaliar a eficiência dos pré-tratamentos e suas condições de operação na produção do E2G, foram realizados testes utilizando H_2SO_4 0,75% (v/v) na temperatura de 105°C durante 45 minutos, seguido de pré-tratamento básico com H_2O_2 9% (v/v). Os resultados obtidos foram analisados através de Análise Gravimétrica, Espectroscopia por Reflexão Difusa no Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (DRIFTS) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Palavras-chave: Etanol de segunda geração, cana-de-açúcar, pré-tratamento.

EVALUATION OF THE EFFICIENCY PRETREATMENT FROM SUGARCANE BAGASSE USING H_2SO_4 AND H_2O_2 ALKALINE FOR PRODUCTION OF SECOND GENERATION ETHANOL

Leila Maria Aguilera Campos⁽²⁾, Samira Maria Nonato de Assumpção⁽¹⁾, Luiz Antônio Magalhães Pontes⁽²⁾, Camila Sobrinho Chemmés⁽¹⁾, Carolina Vicência Santos Garrido⁽¹⁾, Fernanda Cristina Saleh de Souza⁽¹⁾, Gabrielle das Virgens Fraga⁽¹⁾, João Marcus Grillo Moraes Santos⁽¹⁾, Lucas Silva Souza⁽¹⁾, Ricardo Almeida de Azevedo Junior⁽¹⁾, Simone Costi Stangherlin Leal⁽¹⁾, Vivian Conceição Santos de Almeida⁽¹⁾

SUMMARY

Recent research shows that the global demand for fuels is becoming, every year, bigger than the availability of fossil fuels. Thus, it is essential to search for new technologies for the use of biofuels in order to feed this demand. Currently, Brazil has emerged as a world leader in the use of ethanol which production is made from the fermentation of sugarcane. Studies predict that the renewable biofuel expansion should be based on second generation ethanol, which process uses wastes like sugarcane bagasse and straw. In the second generation ethanol production becomes necessary to perform the bagasse pretreatment in order to remove hemicellulose and disrupt the protection formed by the lignin, which increase the accessibility of cellulose for the subsequent saccharification step, whereas the presence of hemicellulose and lignin decreases the process efficiency. In order to evaluate the efficiency of pretreatments and their operating conditions in the production of second generation ethanol, tests were performed using 0.75% H₂SO₄ (v/v) at temperatures of 105°C, for 45 minutes followed by basic pretreatment with 9% H₂O₂ (v/v). The results were achieved through Gravimetric Analysis, Diffuse Reflection Infrared Fourier Transform Spectroscopy (DRIFTS) and Scanning Electron Microscopy (SEM).

Key-words: Second generation ethanol, sugarcane, pretreatment.

INTRODUÇÃO

Atualmente as pesquisas voltadas para a viabilização e comercialização de combustíveis renováveis vêm ganhando espaço em um cenário onde os combustíveis de origem fóssil dominam a matriz energética. O etanol de segunda geração (E2G) mostra-se como uma excelente alternativa, principalmente por utilizar resíduos agroindustriais na geração de produtos de maior valor agregado (ZHANG E SMITH, 2007). Dentre os diversos materiais que podem ser utilizados como matéria prima para a obtenção do E2G, a cana de açúcar se destaca devido ao seu elevado teor de celulose, além do que, seus resíduos, tais como o bagaço e a palha, são considerados promissores no processo de produção (COELHO et al., 2008). Os materiais lignocelulósicos possuem uma estrutura coesa e extremamente associada entre si, constituída basicamente por hemicelulose, lignina e celulose, compostos carbônicos com alto teor energético. (CARDOSO et al., 2011).

Para a produção do E2G a partir do bagaço de cana-de-açúcar faz-se necessária a realização de quatro etapas fundamentais. As mesmas consistem no pré-tratamento da fibra, sua hidrólise para liberação de açúcares, a fermentação destes para conversão à álcool e, finalmente, sua destilação (RABELO, 2010).

O pré-tratamento pode ser realizado por meios físicos, químicos, biológicos e/ou mecânicos e tem por objetivo promover o rompimento da fibra celular e aumentar o acesso à celulose, principal fonte de açúcares fermentescíveis (CANDIDO, 2012). A etapa de pré-tratamento, em termos de eficiência global, é de grande relevância na produção do E2G por impactar fortemente nas etapas posteriores. O objetivo principal desta etapa consiste na remoção da estrutura da lignina e hemicelulose, facilitando a liberação de hexoses na etapa de hidrólise, aliada a baixa produção de inibidores. (MOUTTA, 2009) A combinação de

tratamentos ácidos e básicos torna o pré-tratamento mais eficiente e tem como principal vantagem as condições amenas de operação, a exemplo das baixas temperaturas utilizadas em ambos os processos, bem como a não geração de resíduos sólidos. O tratamento com soluções ácidas remove parte da hemicelulose através da solubilização desta, enquanto que o básico retira frações de lignina, o que torna a celulose mais acessível a um posterior ataque enzimático (RABELO, 2007).

Um fator de operação que deve ser observado no pré-tratamento básico consiste no controle do pH, pois em unidades específicas ele potencializa o efeito da oxidação estrutural da lignina através dos radicais gerados – hidroxilas e superóxidos (HIGA et al., 2012).

Dentre as técnicas utilizadas para identificação e quantificação dos percentuais de hemicelulose e lignina removidos temos a Gravimetria, na qual se faz um balanço de massa da amostra *in natura* e pré-tratada, Espectroscopia por Reflexão Difusa no Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (DRIFTS), onde se analisam os espectros característicos, e a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) na qual se avaliam as alterações estruturais que ocorrem nas fibras lignocelulósicas.

OBJETIVO

Avaliar a eficiência do pré-tratamento do bagaço de cana de açúcar utilizando H_2SO_4 0,75% (v/v) e H_2O_2 9% (v/v) alcalino de forma a aumentar a acessibilidade das enzimas na etapa da hidrólise enzimática.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparação do Bagaço

Inicialmente foram realizados 5 ciclos sucessivos de lavagem do bagaço *in natura* em água corrente a fim de remover os resíduos de açúcares remanescentes na superfície do bagaço. Em seguida, o bagaço passou por 4 etapas de secagem em estufa Quimis (Q317B252) com temperatura constante de 100°C por períodos de 3 horas. Este processo foi realizado até a estabilização da massa e, portanto, máxima retirada de umidade. A granulometria do bagaço foi obtida após trituração no moinho de facas Laboratory MILL (model 4), na faixa de 42 a 60 mesh.

Pré-Tratamento Ácido e Básico

Em um evaporador rotativo Fisatom (Modelo 802D) foram adicionados bagaço, previamente lavado, e H_2SO_4 0,75% (v/v) na proporção de 1:10 (m/v) na temperatura de 105°C por 45 minutos. Ao final deste período, o sistema foi mantido sob agitação mecânica por 30 minutos à temperatura ambiente. Após o pré-tratamento, a fração sólida foi recuperada e lavada com água corrente para ajuste de pH 6.

O bagaço oriundo do pré-tratamento ácido, foi pesado e introduzido em um evaporador rotativo Fisatom (modelo 802D) juntamente com H_2O_2 9% (v/v) com ajuste de pH 11,5 por meio da adição de NaOH 4%, na proporção de 1:20 (m/v), à 80°C, rotação de 60 rpm, durante 3 horas. Ao final, a fração sólida foi recuperada e lavada com água corrente até estabilização do pH em 6.

Análise da Fração Insolúvel

A análise qualitativa foi realizada por Espectroscopia por Reflexão Difusa no Infravermelho com Transformada de Fourier (DRIFTS) utilizando Espectrofotômetro IR Prestige-21 por DRIFTS - Shimadzu, com ângulo de 4000 a 400 cm^{-1} , acumulando 45 leituras com 4 cm^{-1} .

Para a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) as amostras foram introduzidas em um equipamento DENTON VACUUM LLC - Desk IV, para metalização com 10 nm de ouro em atmosfera de argônio por 300 segundos (5 minutos) com vácuo de aproximadamente 500 Mtorr. Os stubs foram analisados em um equipamento JEOL JSM-6390 1.0 com uma tensão de 12kv, produzindo fótons de 4.500 keV; ângulo de incidência de aproximadamente 38deg e aproximação de 500x (tamanho dos pixels de 0.0001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando que a composição da fibra do bagaço de cana-de-açúcar é de 41- 44% de celulose, 25 - 27% de hemicelulose, 20 - 22% de lignina e 7% de extrativos foi possível realizar um estudo gravimétrico, no qual foi calculado a eficiência dos pré-tratamentos ácido e básico. A tabela 1 mostra os valores de massa com seus respectivos intervalos de confiança obtidos a partir da metodologia realizada em triplicata.

Tabela 1. Análise gravimétrica dos pré-tratamentos ácido e básico do bagaço da cana-de-açúcar.

Pré-Tratamento Ácido					
m_{inicial} (g)	m_{final} (g)	$m_{\text{hemicelulose teórica}}$ (g)	$m_{\text{hemicelulose prática}}$ (g)	$m_{\text{hemicelulose remanescente}}$ (g)	Eficiência (%)
20	16,44 ± 0,63	5,4	3,53 ± 0,61	1,86 ± 0,61	65,8 ± 11,6

Pré-Tratamento Básico					
m_{inicial} (g)	m_{final} (g)	$m_{\text{lignina+extrativos teórica}}$ (g)	$m_{\text{hemicelulose remanescente}}$ (g)	$m_{\text{removida prática}}$ (g)	Eficiência (%)
16,44 ± 0,63	9,89 ± 0,35	5,8	1,86 ± 0,61	6,55 ± 0,30	85,9 ± 3,7

Com a análise gravimétrica verifica-se que o pré-tratamento ácido foi efetivo na solubilização da hemicelulose. Já com o pré-tratamento alcalino ocorreu remoção da lignina, solubilização da hemicelulose remanescente, assim como uma provável degradação de extrativos. As significativas reduções dos teores de lignina e hemicelulose torna a celulose, presente na biomassa, mais acessível às posteriores etapas de sacarificação.

A Figura 1 apresenta o espectro obtido a partir da Espectroscopia por Reflexão Difusa no Infravermelho com Transformada de Fourier (DRIFTS) o qual mostra que o pré-tratamento ácido realizado foi eficiente, uma vez que, ao realizar o comparativo entre o bagaço *in natura* e o bagaço pré-tratado, as bandas referentes à hemicelulose e lignina sofreram significativa redução.

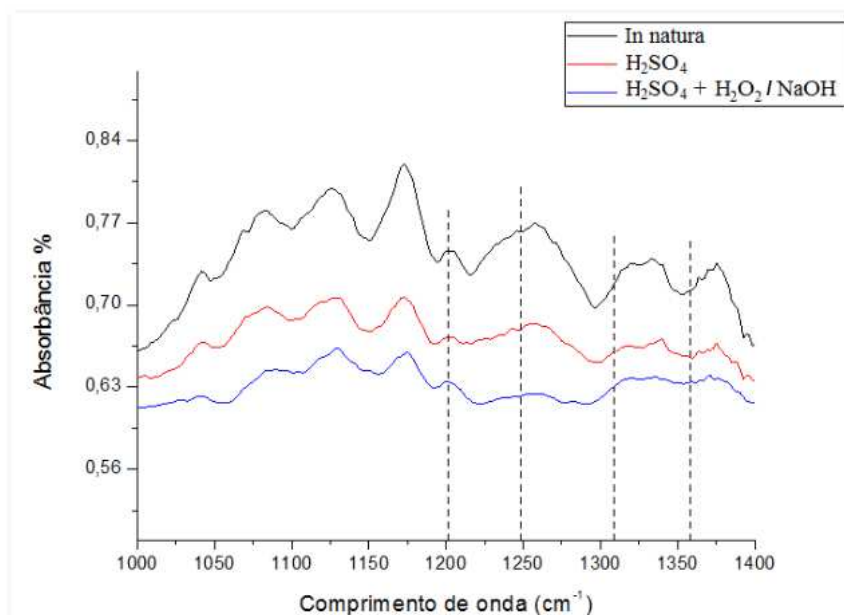


Figura 1. Espectro de IR do bagaço de cana-de-açúcar *in natura*, pré-tratado com H_2SO_4 0,75% (v/v) e com H_2SO_4 0,75% (v/v) + H_2O_2 9% (v/v) / NaOH 4%.

A evidência da retirada de lignina se dá no comprimento de onda 1366 cm^{-1} , característico do estiramento do grupo $-\text{OH}$ relativo ao fenol. Em relação à remoção da hemicelulose observa-se uma redução do pico no comprimento de onda 1247 cm^{-1} , referente ao grupo acetil. Outra evidência da eficácia do pré-tratamento pode ser observada nos comprimentos de onda 1334 cm^{-1} e 1202 cm^{-1} , característicos dos grupos das celuloses cujas estruturas são, predominantemente, cristalinas. Com a redução destes picos conclui-se que boa parte da celulose cristalina presente na estrutura se transformou em celulose amorfa, estrutura esta que permite maior acessibilidade às moléculas de celulose para a quebra em monômeros de glicose, viabilizando, assim a etapa de hidrólise enzimática.

Com o intuito de verificar qualitativamente a retirada de hemicelulose e lignina da estrutura lignocelulósica foram realizadas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) na biomassa pré-tratada, primeiramente com H_2SO_4 e, em seguida, com H_2O_2 alcalino. As micrografias do bagaço *in natura* e pré-tratado foram comparadas a fim de avaliar alterações na estrutura morfológica deste último, conforme mostradas na Figura 2.

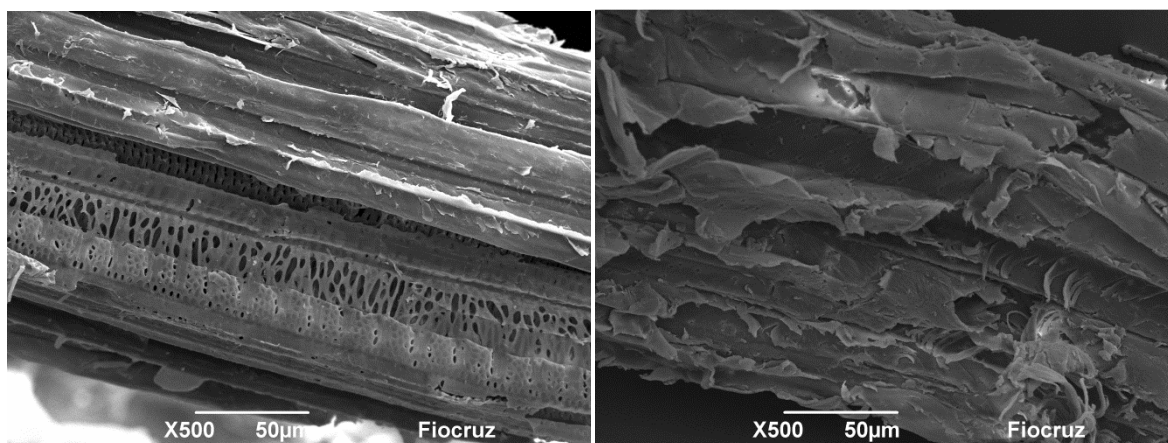


Figura 2. Micrografias da fibra de bagaço de cana-de-açúcar *in natura* (esquerda) e pré-tratada com H₂SO₄ 0,75% (v/v) e posteriormente com H₂O₂ 9% (v/v) + NaOH 4% (direita).

No bagaço de cana *in natura* é possível identificar uma maior organização da estrutura lignocelulósica devido às fibras lisas e ordenadas, bem como aos elementos de vasos apresentados pelas células contendo diversas perfurações. Quando a biomassa é submetida aos processos de pré-tratamento, observa-se que sua estrutura sofre uma fragmentação a qual é evidenciada pela remoção dos elementos de vasos, desordem das fibras na estrutura e uma maior abertura dos tecidos, o que torna esta fibra mais suscetível a uma posterior etapa de hidrólise enzimática, devido ao maior acesso à celulose residual.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos através das técnicas de Gravimetria e Espectroscopia (DRIFITS) evidenciaram uma eficiência nas etapas de pré-tratamento propostas para a remoção da hemicelulose e lignina. Tais resultados foram ratificados por meio das micrografias, as quais apresentaram modificações morfológicas das fibras o que proporciona maior acessibilidade das enzimas à celulose.

LITERATURA CITADA

- CANDIDO, R. G, GODOY, G. G, GONÇALVES, A. R. **Study of Sugarcane Bagasse Pretreatment with Sulfuric Acid as a Step of Cellulose Obtaining.** World Academy of Science, Engineering and Technology. v. 6, 2012.
- CARDOSO, W. S.; SANTOS, F. A.; MOTA, C. M.; TARDIN, F. D.; RESENDE, S. T.; QUEIROZ, J. H. **Pré-tratamentos de biomassa para produção de etanol de segunda geração.** Revista Analytica, v. 56, p. 64-76, 2011.
- COELHO, S. T.; MONTEIRO, M. B.; KARNIOL, M. R.; GHILARDI, A.. **Atlas de Bioenergia do Brasil.** Projeto Fortalecimento Institucional do Cenbio, Convênio 007/2005 – Mme, 57 p. São Paulo, 2008.
- HIGA, Rossi Guerreiro Fernanda, e at. Aplicação do peróxido de hidrogênio como reforço para deslignificação do bagaço da cana-de-açúcar. **Exacta.** São Paulo, v.10, n.2 p.281-288.2012.
- MOUTTA, R. O. **Hidrólise ácida de palha de cana-de-açúcar para obtenção de hidrolisado hemicelulósico visando à utilização em processos de produção de bioetanol,** Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) – Escola de engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2009.
- RABELO, S. C. **Avaliação e Otimização de pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a Produção de Etanol de Segunda Geração.** – Campinas,SP: [s.n.], 2010.
- RABELO, S. C. **Avaliação de desempenho do pré-tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática do bagaço da cana de açúcar.** Campinas. Faculdade de Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas, 2007. Dissertação (mestrado).
- ZHANG, J.; SMITH, K. **Household Air Pollution from Coal and Biomass Fuels in China: Measurements, Health Impacts, and Interventions.** Environ Health Perspect, 115, 6, 2007.