

DETOXIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DE BAGAÇO DE CANA PRÉ-TRATADO COM ÁCIDOS PARA PRODUÇÃO DE BIOETANOL

Matheus Marin Wong¹, Andreia de Araújo Morandim Giannetti²
^{1,2} Departamento de Engenharia Química, Centro Universitário FEI
 marinwong.matheus@gmail.com e preamorandim@fei.edu.br

Resumo: Inicialmente, bagaço de cana foi caracterizado e tratado com HCl, ácido acético e H₂SO₄. Todos os materiais pré-tratados foram submetidos a hidrólise utilizando-se CellicCTec2® na presença ou ausência de lacase obtida a partir do fungo *Xylaria* sp, para avaliação da eficiência da introdução de lacase na detoxificação do hidrolizado. Posterior a hidrólise, será realizada a etapa de fermentação para verificação da influência na detoxificação enzimática no aumento da produção de bioetanol.

1. Introdução

Pesquisas referentes a produção de etanol de segunda geração têm crescido significativamente, principalmente no Brasil. Neste contexto, destacam-se os estudos envolvendo pré-tratamentos, processos de hidrólise bem como otimização da etapa de fermentação. Com relação a etapa de pré-tratamento, a mesma se mostra de extrema importância para a obtenção de bons rendimentos durante as etapas posteriores. Porém, um dos problemas apresentados no pré-tratamento utilizando métodos convencionais, pré-tratamentos ácido e básico, é a produção de diversos compostos, principalmente grupos fenólicos, provenientes da quebra da estrutura da lignina bem como de quebras que ocorrem na estrutura da hemicelulose que levam à redução do rendimento nas etapas de hidrólise e fermentação [1-2].

Neste contexto, a aplicação de enzimas como a lacase favorecem a oxidação dos compostos fenólicos gerados e, dessa forma, reduzem a geração de inibidores durante a etapa de fermentação favorecendo o aumento do rendimento [3]. Dessa forma, o presente trabalho mostra a eficiência da aplicação de lacase proveniente do fungo *Xylaria* sp. na detoxificação de bagaço de cana submetido ao processo de pré-tratamento utilizando-se diferentes ácidos [4].

2. Metodologia

Inicialmente foi realizado o cultivo do fungo *Xylaria* sp. Em meio batata dextrose agar (BDA) e, posteriormente, em meio líquido específico para produção de lacase. Após essa etapa, foi realizada a determinação da atividade enzimática e concentração proteica do extrato.

Durante a determinação da atividade enzimática, 0,300 mL de siringaldazina foram adicionados em uma mistura composta de 2,2 mL de tampão fosfato pH 6,5 0,1 mol/L, 0,50 mL do extrato enzimático contendo lacase. A leitura da absorbância foi realizada em 530 nm após 10 min de reação a temperatura ambiente. Já,

durante a determinação da concentração de proteínas, foi utilizado o método de Bradford. A leitura foi realizada a 595 nm.

Paralelamente foi realizado o tratamento do bagaço de cana com diferentes ácidos (ácido clorídrico, acético e sulfúrico) para avaliação da eficiência de cada ácido na deslignificação [5-7]. Todos os materiais foram caracterizados e submetidos à etapa de hidrólise utilizando-se CellicCTec2® na presença ou ausência de lacase obtida a partir do fungo *Xylaria* sp, visando a avaliação da eficiência da introdução de lacase na detoxificação. O hidrolizado obtido foi quantificado para determinação da concentração de açúcares fermentescíveis via espectrofotometria UV/VIS utilizando-se a metodologia do DNS (Figura 1).

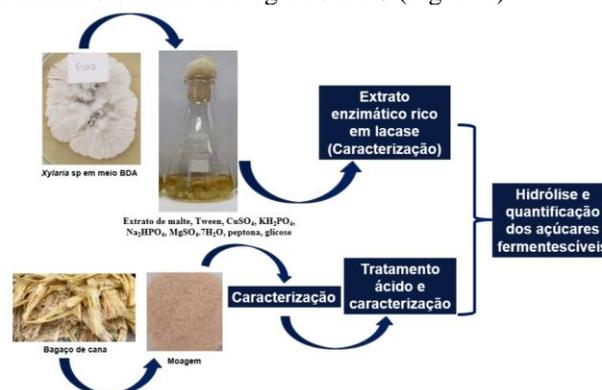


Figura 1 – Fluxograma da metodologia utilizada.

Assim, durante a determinação do teor de cinzas, 1 g do material foi pesado em um cadinho calcinado a 600 °C por 30 min. Posteriormente, o material foi submetido ao aquecimento em um forno mufla da temperatura ambiente até 600 °C utilizando uma rampa de aquecimento de 9,6 °C/min em 60 minutos. Essa temperatura foi mantida por três horas. Após essa etapa, o material foi resfriado e o teor de cinzas calculado por diferença de massa [8].

Já, durante a determinação do teor de celulose, hemicelulose e lignina, 0,3 g do material foram submetidos anteriormente a extração com etanol por 6 h para eliminação dos extrativos e secos por 24 h em estufa a 80°C. Após essa etapa foi determinada a porcentagem de extrativo por diferença de massa e o resíduo final foi aplicado na quantificação de lignina, celulose e hemicelulose foi realizada utilizando-se a metodologia descrita por Silva (2022) [9].

3. Resultados e Discussões

Inicialmente foi realizada a caracterização do bagaço de cana bruto. Após esta etapa o bagaço foi pré-tratado

com os ácidos e avaliada a eficiência de cada um dos pré-tratamentos ácidos na deslignificação. Foi realizada a avaliação do teor de extrativos, lignina, celulose, hemicelulose e cinzas (Tabela I). Salienta-se que a holocelulose descreve o teor de celulose e hemicelulose e, a lignina total descreve a lignina solúvel e insolúvel.

Tabela I – Composição do bagaço de cana bruto e pré-tratado com diferentes ácidos.

	Bruto	H ₂ SO ₄	HAC	HCl
Extrato (%)	9,92	11,00	8,00	15,00
Lignina solúvel (%)	0,27	0,21	0,27	0,18
Lignina Insolúvel (%)	19,81	19,92	21,88	16,47
Celulose (%)	42,13	56,8	46,39	57,58
Hemicelulose (%)	29,32	12,65	33,00	9,83
Holocelulose (%)	71,45	69,56	79,49	67,40
Lignina total (%)	20,08	20,13	22,15	16,65
Cinzas	0,18	0,18	0,28	0,07

Caracterizadas as amostras, foi observado que os tratamentos com ácido sulfúrico e clorídrico tiveram mais sucesso na quebra da lignina e na hemicelulose sendo verificado um aumento na concentração de celulose. Em seguida, foi realizada a etapa de hidrólise do bagaço pré-tratado com diferentes ácidos utilizando celulase na presença e ausência de lacase sendo verificada que a lacase favoreceu o aumento da concentração de açúcares fermentescíveis e que o ácido que mostrou a maior eficiência foi o sulfúrico (Figura 2). Esse aumento da concentração de açúcares na presença de lacase se deve a oxidação de compostos fenólicos que inibem a celulase na etapa de hidrólise.

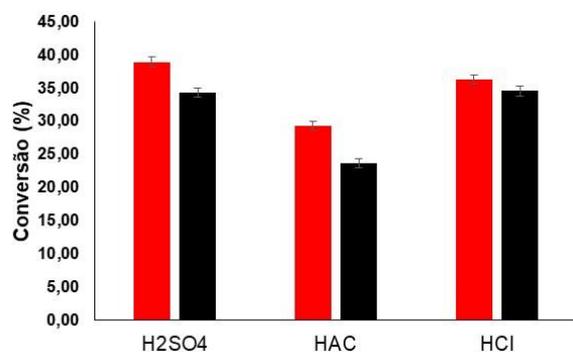


Figura 2 – Porcentagem de açúcares após hidrólise do material pré-tratado com ácidos: ■ Presença de lacase e celulase e ■ Presença de celulase

4. Conclusões

Analisando-se os dados verifica-se uma influência positiva da lacase na etapa de hidrólise do bagaço de cana pré-tratado com ácidos. Esta influência pode ser potencializada alterando-se a temperatura e tempo de hidrólise, o que vai ser explorado no decorrer do projeto. Também é possível verificar que o melhor ácido para o pré-tratamento do bagaço foi o H₂SO₄. Vão ser exploradas, também, as melhores condições de temperatura e tempo para a etapa de fermentação, no decorrer do projeto.

5. Referências

- [1] P. K. Gandam et al., *Industrial Crops and Products*, **186** (2022) 115245.
- [2] S. Singh et al., *Fuel*, **327** (2022) 125109.
- [3] M. Nazar et al. *Journal of Cleaner Production*, **360** (2022) 132171.
- [4] S. Saini et al., *Fuel*, **328** (2022) 125341.
- [5] S. Ariaeenejad et al., *International Journal of Biological Macromolecules*, **211** (2022) 328-341.
- [6] M. Nazar et al., *Journal of Cleaner Production*, **360** (2022) 132171.
- [7] J. P. S. Morais et al., Documento 236: Procedimento para Análise Lignocelulósicas, Embrapa, 2010.
- [8] JPS Morais et al. Documento 236: *Procedimento para Análise Lignocelulósicas. Campina Grande, PB*: Embrapa, 2010.
- [9] GR Silva. *Otimização da deslignificação de bagaço de cana utilizando extrato enzimático enriquecido em laccase obtida a partir de xylaria sp.* 2022.

Agradecimentos

Ao Centro Universitário FEI pela concessão da bolsa.

¹ Aluno de IC do Centro Universitário FEI. Projeto com vigência de 06/2023 a 05/2024.