

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

Matheus Marin Wong¹, Andreia de Araújo Morandim-Giannetti¹

¹Departamento de Engenharia Química, Centro Universitário FEI
marinwong.matheus@gmail.com e preamorandim@fei.edu.br

Resumo: Bagaço de cana foi tratado com diferentes ácidos, sendo verificada a maior eficiência da utilização de H₂SO₄. Todos os materiais pré-tratados foram hidrolisados enzimaticamente na presença e ausência de lacase para avaliação da eficiência da enzima na detoxificação. Também foi determinada a condição ideal de hidrólise (50,94°C e 93,3h). Posteriormente, foi realizada a fermentação, sendo que os dados confirmam a eficiência da técnica de detoxificação aplicada, sendo a condição ideal de fermentação: 26°C e 46,6h.

1. Introdução

Pesquisas sobre a produção de etanol de segunda geração têm aumentado, especialmente no Brasil, com foco em pré-tratamentos, hidrólise e otimização da etapa de fermentação. Destas etapas, o pré-tratamento é fundamental para se obter bons rendimentos, mas os métodos convencionais geram compostos fenólicos que reduzem a eficiência nas etapas seguintes [1-2]. Visando contornar esse problema, a aplicação de enzimas como a lacase, que oxida esses compostos, pode aumentar o rendimento da fermentação devido a detoxificação do hidrolisado [3-4]. Neste contexto, este trabalho demonstra a eficiência da lacase do fungo *Xylaria* sp. na detoxificação do bagaço de cana pré-tratado com diferentes ácidos, seguido de hidrólise enzimática e fermentação na presença de *Saccharomyces cerevisiae*.

2. Metodologia

Inicialmente, o fungo *Xylaria* sp. foi cultivado inicialmente em meio batata dextrose ágar (BDA) e, posteriormente, em meio líquido específico para produção de lacase [extrato de malte (1,25% p/v), Tween 80 (0,10% p/v), CuSO₄ (0,0005% p/v), KH₂PO₄ (1 g/L), Na₂HPO₄ (0,26 g/L), MgSO₄·7H₂O (0,50 g/L), peptona (1% m/v) e glicose (10 g/L)]. A atividade enzimática foi determinada usando a metodologia da siringaldazina e a concentração proteica pelo método de Bradford. Paralelamente, bagaço de cana foi tratado com diferentes ácidos (HCl, CH₃COOH e H₂SO₄) para avaliar a eficiência na deslignificação. Os materiais tratados foram caracterizados e submetidos à hidrólise enzimática com CellicCTec2® e lacase proveniente de *Xylaria* sp. para avaliar a detoxificação. A concentração de açúcares fermentescíveis obtida foi avaliada via HPLC e, posteriormente, fermentado na presença de *Saccharomyces cerevisiae*. A concentração de etanol foi avaliada via HPLC. As condições de hidrólise e fermentação foram otimizadas utilizando-se um planejamento estatístico. O fluxograma do processo está na Figura 1.

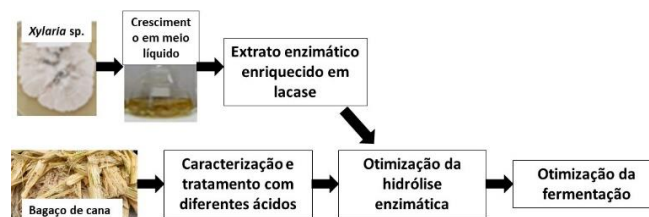


Figura 1 – Fluxograma do processo

3. Resultados e discussões

Inicialmente, foi realizada a caracterização do bagaço de cana bruto e, após essa etapa, o bagaço foi pré-tratado com ácidos para avaliar a eficiência de cada pré-tratamento ácido na deslignificação. Foi realizada a avaliação do teor de extrativos, lignina, holocelulose, celulose, hemicelulose e cinzas (Tabela I). Após essa etapa, o material foi pré-tratado na presença de diferentes ácidos e, na sequência, hidrolisado enzimaticamente utilizando-se a lacase no processo de detoxificação. Caracterizadas as amostras, foi observado que os tratamentos com H₂SO₄ e HCl foram mais efetivos na quebra da lignina e da hemicelulose, sendo verificado um aumento na concentração de celulose. Desses, o H₂SO₄ foi selecionado por mostrar maior eficiência durante a etapa de hidrólise (Figura 2). Esse aumento na concentração de açúcares na presença de lacase se deve à oxidação de compostos fenólicos que inibem a celulase na etapa de hidrólise.

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

	Bruto	H ₂ SO ₄	HAC	HCl
Extrativo (%)	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

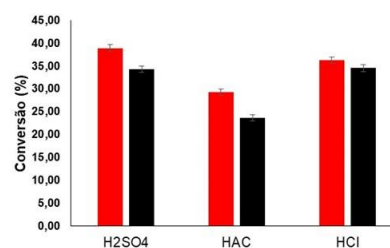


Figura 2 – Porcentagem de açúcares após hidrólise do material pré-tratado com ácidos: ■ Presença de lacase e ■ Presença de celulase

Após este ensaio, foram realizadas hidrólises com material pré-tratado com ácido sulfúrico, na presença de lacase, em diferentes temperaturas e durações de reação, para avaliar estatisticamente o ponto ótimo para essa reação de forma a otimizá-la. Através da análise dos resultados, verifica-se que a maior conversão de hidrólise ocorre a 50,94°C e no maior tempo estudado, 93,3 horas. A avaliação da cinética de reação confirmou o tempo ideal de reação (Figura 3). Em seguida, com as condições otimizadas, foram realizados dois testes de hidrólise do bagaço pré-tratado com H₂SO₄, com lacase e sem lacase, para confirmar a efetividade da aplicação da enzima na detoxificação e aumento da concentração de açúcares fermentescíveis (Figura 4). A análise dos resultados confirma a eficiência do processo aplicado.

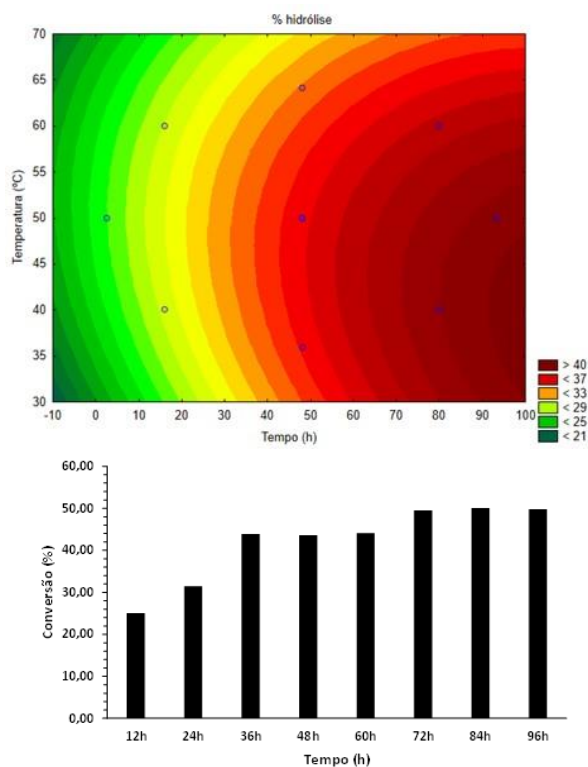


Figura 3 – Determinação da condição ideal de hidrólise e avaliação da cinética de reação.

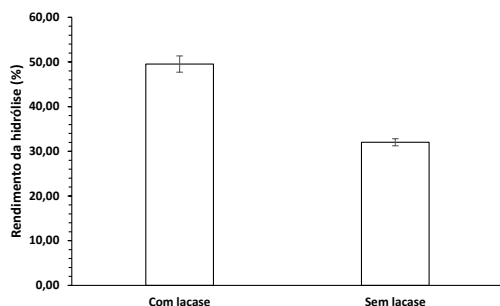


Figura 4 – Comparação da hidrólise nas condições otimizadas com e sem lacase

Após a hidrólise, foi realizada a etapa final de fermentação, sendo determinados o tempo e a temperatura ideais do processo. A análise dos resultados mostra que a utilização de uma temperatura de 26°C

durante mais de 30 horas de reação levou aos melhores resultados, sendo que a cinética de reação mostrou que, após 32 horas de reação, não se verificam aumentos significativos na produção de etanol (Figura 5).

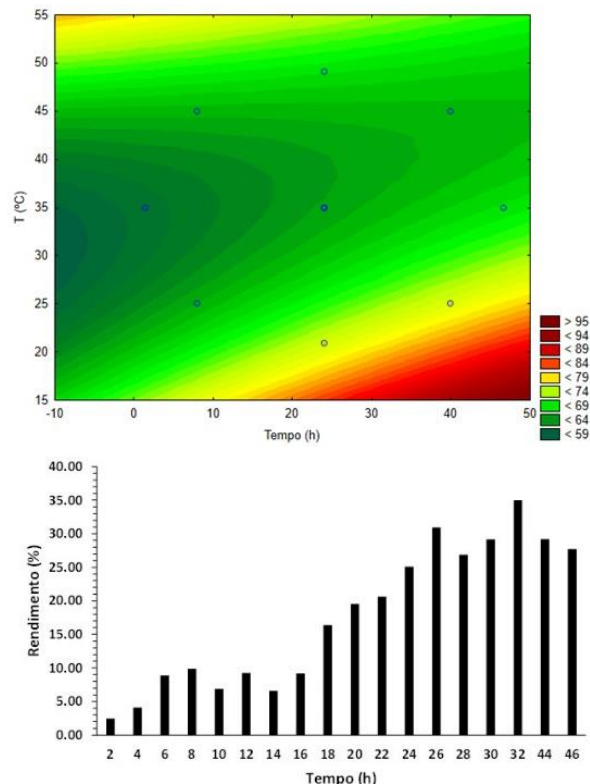


Figura 5 – Condições ideais de fermentação e avaliação da cinética de reação

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, chegando-se na condição otimizada de 50°C e 96h, maior tempo de teste. Também é possível verificar que o melhor ácido para o pré-tratamento do bagaço foi o H₂SO₄. Para a fermentação foi concluído que as melhores temperaturas e tempo de reação são 26°C e 32h.

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.

Agradecimentos

Ao Centro Universitário FEI pela concessão da bolsa.

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