

Estudo de pré-tratamentos do bagaço de cana com micro-ondas e ultrassom para produção de etanol celulósico por hidrólise enzimática.

Alessandra A. Miguel (PG); Monyse M. N. Silva (IC); Lílian R. Do-Amaral (IC); Roberto da Silva (PQ); Eleni Gomes (PQ), Mauricio Boscolo (PQ)*.

Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE). Universidade Estadual Paulista (UNESP) - S. J. Rio Preto. boscolo@ibilce.unesp.br

Palavras Chave: Etanol celulósico, bioetanol, hidrólise enzimática, biomassa, cana-de-açúcar, biorefinaria.

Introdução

Um dos grandes desafios na área de biotecnologia é o estabelecimento de metodologias efetivas para obtenção do etanol celulósico a partir do bagaço e da palha da cana-de-açúcar, o que poderá aumentar o volume de produção deste combustível sem a necessidade de novas áreas de cultivo. A despolimerização ou sacarificação da celulose e da hemicelulose para liberação de açúcares fermentescíveis (glicose e xilose) está entre os principais obstáculos a serem vencidos. Este processo pode ser realizado por hidrólise enzimática ou química, mas esta última tem se demonstrado inviável devido ao balanço energético desfavorável e à formação de compostos fenólicos derivados da lignina, com potencial inibição do processo de sacarificação e da posterior fermentação alcoólica. Muitos esforços estão sendo direcionados para a hidrólise enzimática, mas além da prospecção de enzimas degradadoras de fibras lignocelulósicas eficientes e estáveis, o pré-tratamento das fibras é outro ponto a ser estudado, pois as fibras vegetais oferecem forte resistência à ação das enzimas lignocelulíticas. Neste trabalho, foram avaliados diferentes pré-tratamentos do bagaço de cana visando desestruturar as fibras do bagaço e aumentar a ação enzimática hidrolítica de um complexo enzimático bruto (NS50012) obtido da Novozymes com o seguinte perfil de atividade em U/mL: Carboximetilcelulase (14200), xilanase (18800), Avicelase (6300), Pectinase (703), β -glicosidase (122) e Lacase (ausente). Para o processo de hidrólise enzimática foi empregado bagaço de cana com e sem pré-tratamento previamente lavado com água destilada. Os pré-tratamentos foram realizados com irradiação por 10 minutos de micro-ondas (MI) (2,4 GHz) a pressão atmosférica com sistema de refluxo¹ ou ultrassom² (US) (40 kHz) e foram usadas cinco soluções contendo 1% (v/v ou m/v) das seguintes substâncias: HCL, CaO₃, KI, I₂ (etanol ou metanol), seguido de três lavagens consecutivas em água destilada com posterior secagem a 60°C por 48 horas. O bagaço foi então imerso em solução do extrato bruto enzimático diluído 20 vezes em tampão acetato (80 mM) pH 5,0 e mantido a 45°C por 24h

sob agitação. Para cada pré-tratamento foi processado um controle nas mesmas condições. Os açúcares redutores totais solúveis do hidrolisado foram determinados em duplicata pelo método de Somogy-Nelson com leitura em $\lambda=540$ nm e expressos em mg/g de bagaço.

Resultados e Discussão

A ação do complexo enzimático empregado sobre o bagaço de cana *in natura* rendeu 156 mg de açúcares redutores por g de bagaço enquanto que o bagaço tratado com água destilada em US produziu 121 mg e sob ação de MI 16 mg. Estes resultados indicam que a sonicação das fibras apenas com água não influencia significativamente a ação enzimática, ao contrário da ação de MI. Tal resultado pode ser explicado pela alta temperatura a que o bagaço foi submetido no reator de MI acarretando assim a produção de compostos inibidores da ação hidrolítica. Já em presença de agentes modificadores do meio foram obtidos resultados diferentes, mostrando que a busca por condições de pré-tratamentos que favoreçam a hidrólise enzimática pode resultar em ganhos de rendimento expressivos. Com a utilização de CaO obteve-se 246 mg em US e 267 em MI, um aumento médio de 63% em relação ao bagaço *in natura*. Em solução de KI foi possível obter 168 mg em US e 252 mg em MI demonstrando que ambos modificadores possuem ação equivalentes sob ação de MI. A ação oxidante do iodo sofre severa influência do solvente empregado. Quando em metanol, foi obtido 138 mg em US e 87 mg em MI, já com o emprego de etanol, foi obtido 273 mg em US e 321 mg em MI, um aumento de 105% de açúcares redutores totais solúveis em relação ao resultado obtido com a fibra *in natura*, mostrando que este agente oxidante possibilita uma considerável desestruturação nas fibras e que principalmente o resíduo deste modificador que resta impregnado nas fibras não inibe a ação hidrolítica enzimática. Atualmente nosso grupo de pesquisa está testando variações nas metodologias empregadas, procedendo a bioprospecção de enzimas mais eficientes e investigando efeitos inibitórios destes pré-tratamentos sobre o processo de fermentação alcoólica dos hidrolisados.

¹ Zhu et al. *Process Biochemistry*. 2006, 41, 869–873.

² Li et al. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2005, 12, 373–384.