

Produção enzimática de nanocelulose e nanomateriais a partir de biomassa lignocelulósica

João Pedro Salazar Martins

Filipe Habitzreuter, Igor Polikarpov

Elisabete Frollini

Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo

joaopsala@usp.br

Objetivos

O objetivo deste trabalho é a produção enzimática de nanofibras de celulose (CNF) a partir de cana-de-açúcar (CA) como matéria-prima lignocelulósica. A biomassa e os materiais produzidos foram caracterizados quanto a aspectos estruturais e físico-químicos.

Métodos e Procedimentos

Inicialmente 60 g de cana-de-açúcar *in natura*, previamente lavada e triturada em um moinho de facas, foram adicionadas à um Erlenmeyer de 2 L. No recipiente adicionou-se 1,2 L de uma mistura contendo NaOH 4% e H₂O₂ 7% em partes iguais e manteve-se a suspensão a 70 °C por 2 h sob agitação constante, visando remover a lignina (SÁ; BIANCHI, 2015). A solução foi lavada com H₂O e filtrada em tecido de algodão até a obtenção de pH próximo de 7,0 e, em seguida, seca em estufa e triturada novamente. A caracterização da biomassa foi realizada seguindo o protocolo descrito em Gouveia et. al. (2009). O complexo enzimático *Cellic Ctec3* utilizado foi adquirido da empresa Novozymes (Dinamarca). A hidrólise enzimática foi realizada em Erlenmeyer de 150 mL, onde foram adicionados 1 g de biomassa pré-tratada, 10 mL de tampão ácido cítrico 50 mM pH 5 e a dose enzimática. Foram utilizadas as doses enzimáticas de 0 mg/g (controle), 0,078 mg/g, 0,156 mg/g, 0,312 mg/g e 0,624 mg/g. A hidrólise ocorreu sob agitação orbital (*shaker*) constante de 180 rpm a 50°C por 6 h. A fração líquida da hidrólise foi coletada e a concentração de glicose foi obtida por

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e o rendimento de hidrólise foi calculado conforme a relação abaixo (ALRUMMAN, 2016):

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{m_{\text{glicose}} \cdot 100}{m_{\text{celulose}} \cdot 1,1}$$

A fração sólida da hidrólise foi lavada com H₂O Milli-Q e as nanofibras de celulose foram obtidas ao submeter a amostra diluída até 5% w/v em um ultrasonicador *Branson Ultrasonics Sonifier* a 50% de amplitude por 30 minutos e pulsos de 0,5 s. A amostra foi posteriormente filtrada à vácuo e colocada para secar em uma estufa até serem obtidos os filmes de CNF (Rossi et al., 2021). O rendimento de produção foi calculado com base na razão entre a massa de filme final e a massa de celulose inicial. Até o momento foram realizadas análises termogravimétricas e difração de raios X.

Resultados

A caracterização da biomassa antes e após o pré-tratamento (Tabela 1) demonstra que o processo de deslignificação oxidativa reduziu o teor de lignina de 20,0±0,7 % para 2,95±0,16 % e ampliou o de celulose de 42,3±0,13 % para 71,96±0,83 %. Com relação à hidrólise enzimática, a Tabela 2 contém o rendimento quantitativo de glicose, indicando que o complexo enzimático catalisou a hidrólise de celulose e hemicelulose. Na formação dos filmes foi possível observar um maior rendimento na dose de 0,312 mg/g (Tabela 3) em relação às outras, por isso as análises

foram feitas com base nessa dosagem em comparação ao controle.

Tabela 1: Composição química da CA antes e depois do pré-tratamento

	CA <i>in natura</i>	CA pré-tratada
Celulose (%)	42.3±0.13	71.96±0.83
Hemicelulose (%)	24.91±1.7	20.94±0.37
Lignina (%)	20.0±0.7	2.95±0.16
Cinzas totais (%)	0.97±0.15	1.47±0.04
Extrativos (%)	7.13±0.04	-
Total (%)	95.31±2.72	97.32±1.4

Tabela 2: Rendimento de glicose da hidrólise

Dose enzimática (mg/g)	Rendimento (%)
0	0
0,078	1,82 ± 0,03
0,156	2,46 ± 0,09
0,312	3,16±0,01
0,624	5,41 ±0,03

Tabela 3: Rendimento de produção dos filmes de CNF

Dose enzimática (mg/g)	Rendimento (%)
0	21,53
0,078	32,6
0,156	27,33
0,312	33,57
0,624	25,4

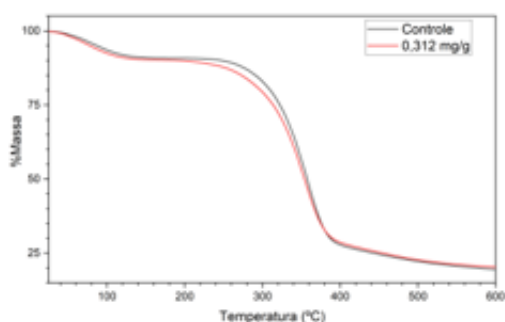


Figura 1: Análise Termogravimétrica das CNF's

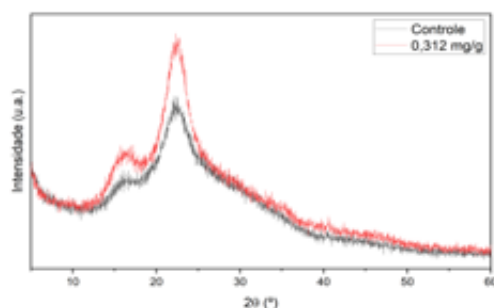


Figura 2: Espectro de DRX das CNF's

Na análise termogravimétrica (Fig. 1) a CNF tratada enzimaticamente apresentou estabilidade térmica levemente inferior ao controle de 6 °C na primeira degradação (296,00 °C) e 4 °C na degradação máxima (354,85 °C). Por fim a difração de raios X (Fig. 2) demonstrou que o índice de cristalinidade (IC) da CNF hidrolisada enzimaticamente foi de 32,2 %, enquanto o controle apresentou 26,6 %.

Conclusões

A partir dos resultados apresentados, pode-se concluir que o processo de pré-tratamento da cana-de-açúcar é essencial para o aumento do teor de celulose em consequência da diminuição da lignina presente na biomassa lignocelulósica. A importância do pré-tratamento influencia também na hidrólise enzimática, visto que a ação do complexo enzimático foi concretizada e viabilizada a partir da diminuição da lignina, liberando a superfície da celulose e hemicelulose para a reação. Com relação à análise termogravimétrica, a CNF enzimática apresentou uma leve queda na estabilidade térmica, no entanto estudos feitos por Rossi et al. (2021) indicam que CNF produzida enzimaticamente apresenta maior termo estabilidade que a partir de tratamentos químicos tradicionais, como a oxidação por TEMPO. Por fim, a difração de raios X mostrou que a hidrólise enzimática também preserva mais a cristalinidade das nanofibras em relação a abordagem apenas mecânica.

Referências Bibliográficas

- GOUVEIA, E. R. et al. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. *Química Nova*, SciELO Brasil, v. 32, n. 6, p. 1500–1503, 2009.
- ROSSI, B. R. et al. Cellulose nanofibers production using a set of recombinant enzymes. *Carbohydrate Polymers*, Elsevier, v. 256, p. 117510, 2021.
- ALRUMMAN, S. A. Enzymatic saccharification and fermentation of cellulosic date palm wastes to glucose and lactic acid. *brazilian journal of microbiology*, SciELO Brasil, v. 47, p. 110–119, 2016.