

## **Obtenção de Nanocristais de Celulose a partir de Resíduo de Hidrólise Enzimática de Bagaço de Cana-de-Açúcar**

**Orientador/Pesquisador:** Maria Teresa Borges Pimenta Barbosa

**Unidade CNPEM:** Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol – CTBE

### **1. INTRODUÇÃO E ESTADO DA ARTE**

A crescente demanda por produtos de fontes renováveis e sustentáveis como alternativa aos materiais provindos de fontes fósseis tem instigado inúmeros estudos a cerca da celulose, polímero natural mais abundante na natureza. Estes estudos visam diferentes áreas de aplicação, não apenas para a produção de commodities de alto volume, como nas indústrias papelreira e de biocombustíveis, mas também de novos materiais de alto valor agregado, como os materiais à base de nanocelulose [1, 2]. A celulose pode ser obtida como estruturas de diferentes morfologias e dimensões, encontrando-se na escala de nanômetros a milímetros, de acordo com o procedimento utilizado visando seu uso potencial.

Os processos para a obtenção de nanoestruturas de celulose estão se tornando, nas últimas décadas, uma área de extensivas pesquisas, uma vez que estes materiais possuem características únicas, como alta resistência e rigidez, baixa densidade, boa capacidade para modificação química, caráter biodegradável e grande disponibilidade a baixo custo [3, 4, 5]. Estas características possibilitam sua aplicação em diferentes campos, como em materiais compósitos, na indústria papelreira, em aditivos de revestimento, em cosméticos, nas áreas farmacêutica e medicinal, em dispositivos eletrônicos, entre outros [3, 6]. Dois tipos de nanoestruturas de celulose são geralmente considerados: os nanocristais de celulose (NCC) e as nanofibrilas de celulose (NFC). Os “whiskers”, ou nanocristais de celulose (NCC), são estruturas altamente cristalinas, rígidas e retilíneas, com dimensões laterais da ordem de 2 – 20 nm e comprimentos variando de 100 a 600 nm, dependendo da biomassa da qual são extraídos [5].

A extração das regiões cristalinas da celulose é geralmente baseada em processos de hidrólise química ou enzimática, podendo ser combinada com métodos de processamento mecânicos [2, 7, 8]. O método mais estudado e aplicado na obtenção de NCC é a hidrólise ácida concentrada utilizando-se HCl ou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Entretanto, o alto consumo de ácido e o baixo rendimento constituem grandes entraves na produção de NCC. Diferentemente, a hidrólise enzimática para a extração das regiões cristalinas da celulose possui a vantagem de ser específica, permitindo um maior rendimento de NCC e evitando sua degradação e/ou diminuição de sua massa molar, além de ser ambientalmente menos agressiva [8]. Além disso, os NCC produzidos por métodos de hidrólise

ácida possuem superfícies carregadas negativamente, enquanto os obtidos por via enzimática não possuem cargas em sua superfície, o que permite uma maior estabilidade térmica e melhores propriedades mecânicas.

Neste sentido, a produção de NCC pode ser integrada à biorrefinaria da cana-de-açúcar, sendo obtido como coproduto da rota de obtenção do etanol celulósico. Poucos estudos mostram a viabilidade da extração de nanocristais a partir do resíduo sólido da hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos [9, 10]; entretanto, a literatura especializada não apresenta informações a respeito de um estudo cinético detalhado, de forma a obter uma alta concentração de açúcares no licor e um bom rendimento de nanocristais com características adequadas.

Assim, o projeto proposto consiste em um estudo cinético da hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar, visando a melhor integração entre a obtenção de nanoestruturas de celulose e a produção de açúcares fermentescíveis.

## 2. OBJETIVOS

O objetivo principal desta proposta é a obtenção e caracterização de nanocristais de celulose a partir dos resíduos sólidos produzidos na etapa de hidrólise enzimática de amostras de bagaço de cana-de-açúcar, processadas quimicamente e físico-mecanicamente.

Os objetivos específicos são:

- Processamento físico-químico do bagaço de cana-de-açúcar por pré-tratamento hidrotérmico e deslignificação organossolve;
- Processamento físico-mecânico das amostras de bagaço, tanto pré-tratadas quanto deslignificadas;
- Caracterização química e ultraestrutural das diferentes amostras em estudo e suas correntes de processo;
- Estudo cinético da reação de hidrólise enzimática dos materiais processados;
- Branqueamento e isolamento dos nanocristais de celulose.

## 3. DESENVOLVIMENTO

### 3.1. Preparo e caracterização das amostras de bagaço de cana-de-açúcar

No projeto proposto será utilizada apenas a fração fibra do bagaço. As fibras de bagaço serão caracterizadas quanto ao teor de cinzas [11]; teor de extrativos [12]; teor de lignina e carboidratos [13]; distribuição de tamanho de partículas; estabilidade térmica; cristalinidade [14]; e volume de poros nas fibras [15].

As fibras de bagaço serão então submetidas a dois processos de fracionamento químicos, o pré-tratamento hidrotérmico e a deslignificação organossolve, e um processo de fibrilação mecânico em refinador de discos, ambos em condições otimizadas de processamento estabelecidas em estudos cinéticos prévios realizados no CTBE (projeto Jovem Pesquisador FAPESP, **2010/08691-4**).

### **3.2. Processamentos físico-químicos**

Os processamentos físico-químicos das fibras de bagaço serão realizados segundo a metodologia publicada por SANTUCCI e colaboradores [16].

O pré-tratamento hidrotérmico, cujo intuito principal é a remoção das hemiceluloses das fibras de bagaço, utiliza água como solvente, e será realizado a 190°C por 10 minutos, a uma razão biomassa/solvente de 1:10 (m/v).

A deslignificação organossolve tem como objetivo a remoção da fração lignina das fibras de bagaço, utilizando como solvente uma mistura etanol/água (1:1 / v:v). A reação será realizada a 200°C e 90 minutos, a uma razão biomassa/solvente de 1:10 (m/v).

Ao fim das reações, os materiais sólidos pré-tratados (celulignina e polpa celulósica) serão separados dos licores de pré-tratamento, lavados e armazenados para as posteriores análises de caracterização e para a etapa de processamento físico-mecânico.

### **3.3. Processamento físico-mecânico**

A etapa de processamento físico-mecânico, tanto das amostras pré-tratadas hidrotérmicamente quanto deslignificadas, será realizada em refinador de discos Bauer adaptado com sistema para recirculação de material, utilizando-se 400g de biomassa (base seca) a uma consistência de 2% de sólidos. O processamento será realizado a uma velocidade de rotação dos discos fixa em 1750 rpm por 60 minutos, ajustando-se os discos até uma distância mínima de 25 µm.

### **3.4. Hidrólise enzimática**

As amostras de bagaço de cana-de-açúcar processadas serão submetidas à hidrólise enzimática, com o intuito de verificar a performance destes materiais frente à obtenção de açúcares fermentescíveis e produzir um resíduo sólido composto de partículas nanométricas e cristalinas. As reações de hidrólise serão realizadas segundo o protocolo padrão utilizado no CTBE, que emprega a enzima celulase comercial (*Celluclast 1.5 L*) suplementada com β-glicosidase (*Novozym 188*), coletando-se amostras a cada 4 horas de reação até o tempo total de 48 horas. As amostras serão

então filtradas, sendo os licores congelados e reservados para as posteriores análises de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e microscopia eletrônica de transmissão. Os resíduos sólidos serão reservados para o preparo de nanocristais de celulose.

### 3.5. Preparo e caracterização das amostras de nanocristais de celulose

Para a extração dos nanocristais de celulose, os resíduos de hidrólise enzimática serão primeiramente submetidos a uma etapa de branqueamento utilizando-se clorito de sódio e ácido acético glacial, com o intuito da remoção total da lignina presente nos resíduos. Posteriormente, os sólidos branqueados serão tratados mecanicamente por ultrasonicação a uma consistência de 1% de sólidos, aplicando-se 3 ciclos de 10 minutos.

As amostras de nanocristais de celulose obtidas serão caracterizadas aplicando-se as técnicas de espectroscopia no infravermelho, termogravimetria, difração de raios-X e microscopia eletrônica de transmissão.

## 4. CRONOGRAMA

Etapa	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
Revisão Bibliográfica	X	X	X	X								
Pré-tratamento hidrotérmico		X										
Deslignificação organossolve		X										
Processamento físico-mecânico			X	X								
Hidrólise enzimática				X	X	X	X	X	X	X	X	
Análise dos licores de hidrólise					X	X	X	X	X	X	X	
Obtenção e caracterização dos NCC					X	X	X	X	X	X	X	
Confecção do Relatório											X	X

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] BELGACEM, M. N.; GANDINI, A. **Monomers, polymers and composites from renewable resources**. Amsterdam: Elsevier, 2008.

[2] SONG, Q.; WINTER, W. T.; BUJANOVIC, B. M.; AMIDON, T. E. Nanofibrillated cellulose (NFC): A high-value co-product that improves the economics of cellulosic ethanol production. **Energies**, v. 7, p. 607-618, 2014.

[3] KHALIL, H. P. S. A.; DAVOUDPOUR, Y.; ISLAM, M. N.; MUSTAPHA, A.; SUDESH, K.; DUNGANI, R.; JAWAID, M. Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 649-665, 2014.

- [4] DUFRESNE, A. Nanocellulose: a new ageless bionanomaterial. **Materials Today**, v. 16, p. 220-227, 2013.
- [5] SIRÓ, I.; PLACKETT, D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. **Cellulose**, v. 17, p. 459-494, 2010.
- [6] KLEMM, D.; KRAMER, F.; MORITZ, S.; LINDSTRÖM, T.; ANKERFORS, M.; GRAY, D.; DORRIS, A. Nanocelluloses: a new family of nature-based materials. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, p. 5438-5466, 2011.
- [7] HABIBI, Y.; LUCIA, L. A.; ROJAS, O. J. Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 6, p. 3479-3500, 2010.
- [8] HENRIKSSON, M.; HENRIKSSON, G.; BERGLUND, L. A.; LINDSTRÖM, T. An environmentally friendly method for enzyme-assisted preparation of microfibrillated cellulose (MFC) nanofibers. **European Polymer Journal**, v. 43, p. 3434-3441, 2007.
- [9] OKSMAN, K.; ETANG, J. A.; MATHEW, A. P.; JONOBI, M. Cellulose nanowhiskers separated from a bio-residue from wood bioethanol production. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 146-152, 2011.
- [10] TEIXEIRA, R. S. S.; SILVA, A. S.; JANG, J. H.; KIM, H. W.; ISHIKAWA, K.; ENDO, T.; LEE, S. H.; BON, E. P. S. Combining biomass wet disk milling and endoglucanase /  $\beta$ -glucosidase hydrolysis for the production of cellulose nanocrystals. **Carbohydrate Polymers**, v. 128, p. 75-81, 2015.
- [11] SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J. and TEMPLETON, D. Determination of Ash in Biomass. **Technical Report, NREL/TP-510-42622, National Renewable Energy Laboratory**, 2005.
- [12] TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY. Solvent extractives of wood and pulp – **T204 cm-97**. Atlanta, 2007. v. 2, p. 1-12.
- [13] SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. and Crocker, D. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. **Technical Report, NREL/TP-510-42618, National Renewable Energy Laboratory**, 2008.
- [14] DRIEMEIER, C.; MENDES, F. M.; SANTUCCI, B. S.; PIMENTA, M. T. B. Cellulose co-crystallization and related phenomena occurring in hydrothermal treatment of sugarcane bagasse. **Cellulose**, 2015. Doi: 10.1007/s10570-015-0638-7.
- [15] DRIEMEIER, C.; MENDES, F. M.; OLIVEIRA, M. M. Dynamic vapor sorption and thermoporometry to probe water in celluloses. **Cellulose**, v. 19, p. 1051-1063, 2012.
- [16] SANTUCCI, B. S., MAZIERO, P., RABELO, S. C., CURVELO, A. A. S., PIMENTA, M. T. B. Autohydrolysis of hemicelluloses from sugarcane bagasse during hydrothermal pretreatment: a kinetic assessment. **Bioenergy Research**, 2015. DOI: 10.1007/s12155-015-9632-z.