

Determinação das melhores condições do pré-tratamento alcalino do bagaço de cana-de-açúcar através da utilização de um planejamento fatorial

SIQUEIRA, Eliana M. Gonçalves Rodrigues de

Resumo

Em virtude das preocupações mundiais com o avanço do aquecimento global e elevação dos preços do petróleo, a importância pelos biocombustíveis vem aumentando. Os resíduos lignocelulósicos são fontes importantes de matérias-primas. Entretanto, necessitam de pré-tratamento, os quais visam à desorganização do complexo lignocelulósico e, como consequência, aumento da acessibilidade às moléculas de celulose. Através da utilização de um pré-tratamento alcalino no bagaço de cana-de-açúcar, juntamente com uma análise estatística, foi possível determinar um modelo matemático que representasse as melhores condições experimentais do processo. Nestas condições o rendimento máximo foi de 67%, obtido com 5 minutos de reação e concentração de NaOH de 2,5%.

Palavras-chave: pré-tratamento alcalino; bagaço de cana-de-açúcar; planejamento fatorial.

Abstract

Due to concerns with the advance of global warming and rising of oil prices, the importance of biofuels is increasing. Lignocellulosic residues are important sources of raw material. However, it requires pre-treatment which aims the disruption of lignocellulosic complex and, consequently, increase accessibility to cellulose molecules. Through the use of an alkaline pre-treatment of sugar cane bagasse, along with a statistical analysis, it was possible to determine a mathematical model to represent the best experimental conditions of the process. Under these conditions the maximum yield of 67% was obtained for 5 minutes of reaction with 2.5% of NaOH concentration.

Keywords: pre-treatment with alkali; sugar cane bagasse; factorial design.

Resumen

En vista de la preocupación mundial con el avance del calentamiento global y el aumento de los precios del petróleo, la importancia de los biocombustibles está aumentando. Los residuos lignocelulósicos son fuente importante de materia prima. Sin embargo, se requiere pre-tratamiento que está dirigido a la

interrupción del complejo lignocelulósico y, en consecuencia, el aumento de la accesibilidad a las moléculas de celulosa. Mediante el uso de un pre-tratamiento en alcalina bagazo de caña de azúcar, junto con un análisis estadístico, era posible determinar un modelo matemático para representar las mejores condiciones experimentales del proceso. Bajo estas condiciones se obtuvo el rendimiento máximo de 67% a los 5 minutos de reacción y la concentración de NaOH al 2,5%.

Palabras-clave: pre-tratamiento con álcali, bagazo de caña de azúcar, el diseño factorial.

INTRODUÇÃO

O bagaço de cana-de-açúcar é um dos principais resíduos agroindustriais do país, tendo uma produção de aproximadamente 250 kg por tonelada de cana. Apesar de possuir um grande potencial na produção de combustíveis líquidos, a maior parte é queimada nas usinas de açúcar e álcool, para gerar energia, e uma pequena fração é utilizada na alimentação de animais. No entanto, ainda há excedentes (WYMAN *et al.* 2005).

Atualmente, os esforços para se conseguir produzir bioetanol de segunda geração estão sendo realizados a partir da conversão de resíduos lignocelulósicos (BALET, 2011). Essas matérias-primas provenientes dos resíduos de produtos naturais são fundamentais para a ampliação da produção, o que esbarraria em limitações para expansão da área plantada, seja por competir com a produção de alimentos, seja pelo nível de seus preços frente ao petróleo e também aos próprios alimentos. Os açúcares contidos nestes resíduos podem ser utilizados para produção de bioetanol, através de vias fermentativas (CANILHA *et al.*, 2009).

A celulose é um polímero linear que contém até 15.000 unidades D-glicose unidas por ligações glicosídicas β -1,4. As ligações intermoleculares são responsáveis pela rigidez e as intramoleculares pela formação de fibrilas, estruturas altamente ordenadas que se associam formando as fibras da celulose. As fibrilas apresentam desde regiões com elevado grau de cristalinidade até regiões com menor grau de ordenação, chamadas de regiões amorfas (ARANTES e SADDLER, 2010).

Por sua vez, a fração hemicelulósica consiste em cadeias ramificadas de açúcares, cujas unidades incluem principalmente pentoses. A variedade de ligações e de ramificações, assim como a presença de diferentes unidades monoméricas, contribui para a complexidade da estrutura hemicelulósica e suas diferentes conformações (KOOTSTRA *et al.*, 2009).

Já a lignina, é um composto que é incorporado durante o crescimento da planta, sendo composta basicamente de unidades fenilpropano que formam uma macromolécula tridimensional e amorfa. É um complexo polimérico com caráter fenólico, formando uma estrutura rígida e hidrofóbica, que permite um suporte mecânico e facilita a adaptação das plantas superiores (RAVEN *et al.*, 2001).

As tecnologias empregadas na obtenção do bioetanol de segunda geração, a partir de materiais lignocelulósicos, consistem na hidrólise dos polissacarídeos da biomassa em açúcares fermentáveis e sua posterior fermentação. Para realizar esta tarefa, o processo de hidrólise necessita separar os açúcares e remover a lignina (PEREIRA JR *et al.*, 2008).

Alguns agentes alcalinos podem ser utilizados durante o pré-tratamento dos resíduos lignocelulósicos e os efeitos desse tratamento dependem da quantidade de lignina presente. Durante a utilização dos processos alcalinos, tende-se a obter uma maior dissolução da lignina e menor solubilização da hemicelulose. Estes tratamentos normalmente utilizam condições amenas de operação, em relação à temperatura e pressão, quando comparados com a hidrólise com ácidos diluídos. O principal resultado é a remoção de lignina, promovendo uma maior reatividade

da fibra. O álcali tende a causar um “estufamento” da biomassa de modo que a cristalinidade da celulose diminui, enquanto ocorre um aumento da superfície de contato e da porosidade. Em comparação com outras tecnologias de pré-tratamento este requer temperaturas e pressões mais baixas se comparadas com outros processos. São realizados em temperatura ambiente, mas exigem um tempo maior de processamento (RABELO, 2013).

MATERIAIS E MÉTODOS

Bagaço de cana-de-açúcar

O bagaço de cana-de-açúcar foi proveniente de usina próxima ao município de Piracicaba - SP. Antes de se iniciar os tratamentos, foi submetido à secagem em estufa com temperatura de 45°C durante 48 horas. Em seguida, foram submetidos à moagem e separado em peneiras da série de Taylor de 14 e 60 mesh.

Pré-tratamento alcalino

O bagaço de cana-de-açúcar foi pesado em Erlenmeyer, onde se adicionou solução de hidróxido de sódio de acordo com os valores determinados no planejamento fatorial (Tabela 1). Sendo levado à autoclave à temperatura de 121°C por tempo determinado também por planejamento fatorial. Em seguida, ficou em repouso por 24 horas, para permitir melhor atuação do NaOH. O bagaço foi lavado, neutralizado e analisado quanto aos açúcares redutores (AR).

Açúcares Redutores (AR)

Pesou-se 1g de amostra e dilui-se para 50mL de água destilada. Agitou-se e filtrou-se com gaze e algodão. Em um tubo de ensaio foi colocado 0,5mL desta amostra e 0,5mL ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Ferveu-se por 5 minutos e esfriou em banho de gelo. Acrescentou-se 4mL de água destilada e agitou-se bastante. Procedeu a leitura no espectrofotômetro em um comprimento de onda de 540nm. O valor obtido foi expresso em gramas de açúcar redutores por mililitros ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) de solução da amostra (MILLER, 1959).

Delimitação Experimental do Pré-Tratamento do Bagaço de Cana-de-açúcar em meio Alcalino

As variáveis aqui estudadas foram: tempo de hidrólise (A), razão sólido-líquido (B) e concentração de NaOH (C).

O delineamento experimental para verificação das variáveis sobre o pré-tratamento alcalino foi realizado segundo um esquema fatorial completo do tipo 2^3 com 4 ensaios no ponto

central e em duplicata. Os níveis dos fatores utilizados são mostrados na Tabela 1, onde (-1), (0) e (+1) significam o menor nível, nível médio e maior nível, respectivamente.

TABELA 1: Valores dos níveis das variáveis avaliadas no planejamento fatorial completo 2³ com 4 ensaios no ponto central utilizados no pré-tratamento alcalino:

Variáveis	Níveis		
	(-1)	0	(+1)
A = Tempo de hidrólise (minuto)	10	15	20
B = Razão sólido-líquido (g/mL)	1:6	1:7	1:8
C = Concentração de NaOH (%)	3	4	5

Análise Estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada através do software STATISTICA™, versão 10.0, onde foram feitas estimativas dos efeitos das variáveis e suas interações, considerando um nível de significância de 95%. Os resultados foram expressos em tabelas de estimativa de efeitos, erros-padrão, teste t de “Student” e ainda em tabelas de análise de variância.

Metodologia de Análise de Resultados

Após cada pré-tratamento foi determinada a quantidade de açúcar redutor (AR) no bagaço de cana-de-açúcar. Valores estes que foram comparados com o valor inicial. O rendimento em açúcar redutor (η AR) foi definido como:

$$\eta\text{AR} = \frac{\text{AR}_{\text{Treat}} - \text{AR}_i}{\text{AR}_i} \times 100, \text{ onde :} \quad \text{Equação (1)}$$

$$\text{AR}_i$$

AR_{Treat} = Açúcar redutor bagaço com pré-tratamento

AR_i = açúcar redutor bagaço inicial sem pré-tratamento

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um dos reagentes mais empregados nos pré-tratamentos químicos são as bases, uma vez que são relativamente econômicos e degradam menos a celulose. O inchamento e a diminuição da cristalinidade são os principais fatores físicos que se alteram durante a reação da celulose com os hidróxidos. Comparando os pré-tratamentos ácido e alcalino, o meio alcalino resulta em menor perda dos açúcares provenientes da celulose (KUMAR *et al.*, 2009).

A utilização destes reagentes requer normalmente valores de temperatura e pressões mais baixas em relação aos outros processos. Entretanto, nestas condições, pode-se levar mais tempo na realização do pré-tratamento. Em função disso, optou-se por trabalhar a 121°C e 1 atm em todos os experimentos, variando o tempo de reação, razão sólido-líquido e concentração de NaOH de acordo com o planejamento fatorial. As condições experimentais de cada ensaio, juntamente com os resultados, estão apresentadas na Tabela 2.

TABELA 2: Esquema da matriz utilizada no planejamento fatorial completo 2³ com 4 ensaios no ponto central.

Ensaio	A	B	C	Rendimento em AR (%)
1	-1	-1	-1	64,6
2	+1	-1	-1	31,3
3	-1	+1	-1	60,4
4	+1	+1	-1	43,8
5	-1	-1	+1	41,7
6	+1	-1	+1	27,1
7	-1	+1	+1	35,4

8	+1	+1	+1	45,8
9	0	0	0	36,5
10	0	0	0	37,5
11	0	0	0	33,3
12	0	0	0	47,9

A = Tempo de hidrólise (min) (-1 = 10; 0 = 15; 1 = 20)

B = Razão entre as fases (g/mL) (-1 = 1:6; 0 = 1:7; 1 = 1:8)

C = Concentração de NaOH (%) (-1 = 3; 0 = 4; 1 = 5)

Ao comparar os ensaios 1 e 6 (Tabela 2), onde temos o menor e maior rendimento em atividade, respectivamente, pode se observar que houve uma redução do rendimento da atividade em torno de 60%. Nestas condições percebe-se uma alteração significativa nos valores das variáveis tempo de reação e concentração de NaOH, pois passam do menor (-1) para o maior nível (+1). Estes resultados indicam que estas variáveis podem ser significativas. Todavia, se mantém inalterado o valor da razão sólido/líquido, o que pode significar que esta variável não seja significativa. Estas observações podem ser comprovadas pela análise estatística (Tabela 3). Os resultados comprovam as observações anteriores, ou seja, as variáveis tempo de reação e concentração de NaOH apresentam realmente efeitos significativos. O mesmo não acontece com a razão sólido-líquido.

A variável concentração de NaOH apresenta um sinal negativo o que indica que para haver aumento do rendimento em atividade será preciso diminuir os valores desta variável. O mesmo acontece com o tempo de hidrólise. Os resultados indicam também que a curvatura não é significativa, o que demonstra que o modelo é mais bem representado por um modelo linear.

TABELA 3: Efeitos estimados, valores do teste t de “Student” e erros-padrão obtidos no planejamento fatorial completo 2³ com 4 ensaios no ponto central.

Efeitos e interações	Estimativas	Erros-Padrão	T
Média	43,7625	+/- 2,005	-
A	-13,5250	+/- 4,010	-3,3727*
B	5,1750	+/- 4,010	1,2905
C	-12,5250	+/- 4,010	-3,1233*
AB	10,4250	+/- 4,010	2,5997
AC	11,4250	+/- 4,010	2,8490*
BC	1,0250	+/- 4,010	0,2556

A = Tempo de hidrólise (min); B = Razão entre as fases (g/mL); C = Concentração de NaOH (%)

*Significativos ($t_{4,0,95} = 2,77$)

Como os resultados das análises demonstraram que o modelo se ajusta a um linear, então podemos representar o processo de pré-tratamento alcalino do bagaço de cana-de-açúcar considerando os termos que realmente influenciam no rendimento em atividade, pela Equação 2:

$$Y = 43,76 - 6,76A - 6,26C + 5,71 AC \quad (2)$$

Sendo que Y representa o rendimento em atividade, A o tempo de reação e C a concentração de NaOH.

A partir deste modelo, obtiveram-se melhores resultados de recuperação em atividade quando se utilizou o valor de 10 minutos para tempo de reação ($A = -1$) e 3% de concentração de NaOH ($C = -1$). Nessas condições o rendimento máximo estimado pelo modelo foi de 62,5% de acordo com a Equação 2.

A superfície de resposta do modelo e as linhas de contorno estão apresentadas na Figura 1.

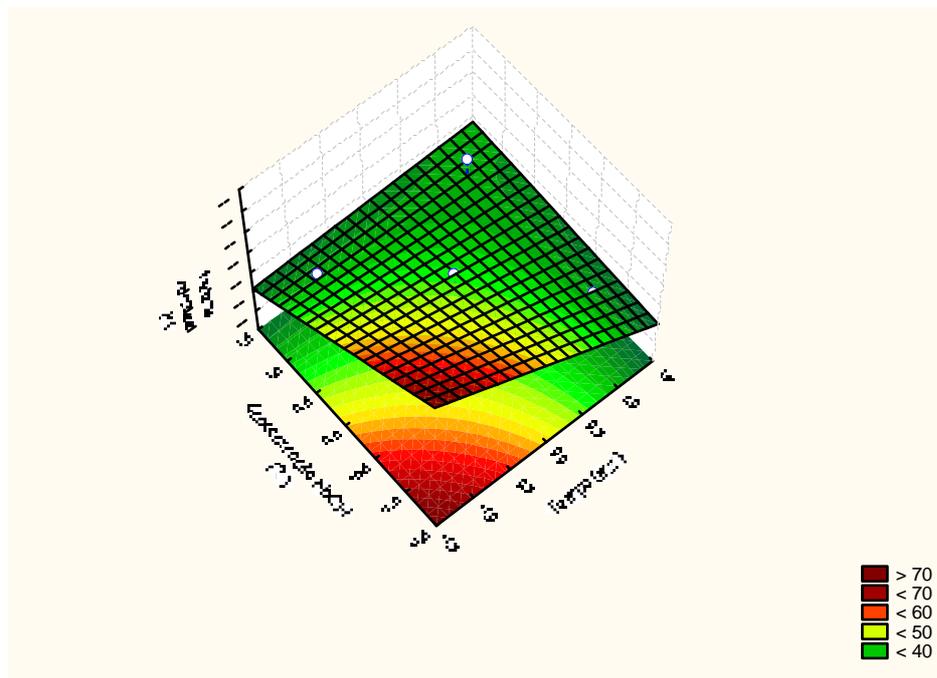


FIGURA 1: Superfície de resposta e curvas de nível descritas pelo modelo da equação 7.1, que representa o pré-tratamento alcalino do bagaço de cana-de-açúcar.

Com o objetivo de se avaliar o modelo, foi realizado um novo experimento nas condições otimizadas, ou seja, valores menores para as variáveis significativas. Para isto, utilizou-se 5 minutos de reação e 2,5% de concentração de NaOH o que equivalem ao valor codificado de (-1,5). Uma vez que o valor da razão entre as fases não foi significativo, optou-se em trabalhar no valor inicial, ou seja, 1:6, o que equivale ao valor codificado de (-1). Nestas condições foi obtido um valor de rendimento em atividade de 66,7%. O rendimento previsto variou em função do experimental em 12,4%, estando o mesmo dentro dos valores esperados.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados experimentais obtidos, dentro da faixa dos valores utilizados, pode-se concluir que, através da utilização do planejamento fatorial, foi possível determinar o modelo matemático que representa as melhores condições do pré-tratamento alcalino do bagaço de cana-de-açúcar. O rendimento máximo foi de 67%, obtido nas condições 5 minutos de reação e concentração de NaOH de 2,5%.

REFERÊNCIAS

ARANTES, V.; SADDLER, J.N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. *Biotechnology for Biofuels*, v. 3, n. 4, 2010.

BALET, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials the biochemical pathway: A review. *Energy Conversion and Management*, n. 52, p. 858-875, 2011.

CANILHA, L.; MILAGRES, A.M.F.; SILVA, S.S.; ALMEIDA E SILVA, J.B.; FELIPE, M.G.A.; ROCHA, G.J.M.; FERRAZ, A.; CARVALHO, W. Sacarificação da biomassa lignocelulósica através de pré-hidrólise ácida seguida por hidrólise enzimática uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal. *Revista Analytica*, n. 44, p. 48-54, 2009.

KOOTSTRA, A.M.J.; BEEFTINK, H.H.; SCOTT, E.L.; SANDERS, J.P.M. Optimization of the dilute maleic acid pretreatment of wheat straw. *Biotechnology for Biofuels*, v. 2, n. 31, 2009.

KUMAR, P. et al. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. *Ind. Eng. Chem. Res.*, v. 48, p. 3713–3729, 2009.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

PEREIRA, JR., N.; COUTO, M.A.P.G.; SANTA ANNA, L.M.M. Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and context of biorefinery. In: *Series on Biotechnology*, v.2, p. 45, 2008.

RABELO, S.C.; FILHO, R.M.; COSTA, A.C. Lime pretreatment and fermentation of enzymatically hydrolyzed sugarcane bagasse. *Applied Biochemistry Biotechnology*, v. 169 (5), p. 1696-1712, 2013.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. *Biology of plants*. New York – N. Y., 2001. 791 p.

bioenergia em revista: diálogos, ano 3, n. 2, p. 38-49, jul./dez. 2013.

SIQUEIRA, Eliana Maria Gonçalves Rodrigues de

Determinação das melhores condições do pré-tratamento alcalino do bagaço de cana-de-açúcar através da utilização de um planejamento fatorial

WYMAN, C.E.; DALE, B.E.; ELANDER, R.T.; HOLTZAPPLE, M.; LADISCH, M.R.; LEE, Y.Y. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. *Bioresource Technology*. V. 96, p. 1959–1966, 2005.

1 Eliana Maria Gonçalves Rodrigues de SIQUEIRA possui graduação em Engenharia Industrial Química pela Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Mestrado em Biotecnologia Industrial pela Faculdade de Engenharia Química de Lorena na área de Microbiologia Aplicada e Genética de Microrganismos, Doutorado em Engenharia Química na área de Processos Biotecnológicos pela Universidade Estadual de Campinas e Pós-Doutorado pela USP. Atualmente é Professora Associada da Faculdade de Tecnologia de Piracicaba-FATEC. Tem experiência na área de Engenharia Química, com ênfase em Purificação de Enzimas, atuando principalmente nos seguintes temas: microrganismos, enzimas, fermentação e extração líquido-líquido.