

Desenvolvimento de um processo verde de separação por estireno-divinilbenzeno para eliminar inibidores de fermentação do licor de pré-tratamento ácido

*Layanne Souza Guirra¹, Raquel Bombarda Campanha², Sílvio Vaz Júnior³,
Clenilson Martins Rodrigues⁴*

Resumo

A biomassa de plantas, como o bagaço de cana-de-açúcar, são constituídas, principalmente, de celulose, hemicelulose e lignina. Os açúcares presentes nas frações C6 (glicose) e C5 (xilose e arabinose) representam os substratos de maior interesse econômico. Para a disponibilização dos açúcares fermentescíveis, o bagaço de cana-de-açúcar requer etapas de pré-tratamento. Todavia, o pré-tratamento gera compostos inibidores de fermentação que se agrupam em três principais categorias: furano-aldeídos, ácidos alifáticos e compostos fenólicos. Este trabalho teve como objetivo a avaliação do potencial de uso da resina de estireno-divinilbenzeno na separação de furano-aldeídos e compostos fenólicos da fração dos açúcares em amostras de licores de pré-tratamento ácido do bagaço de cana-de-açúcar. Os resultados obtidos evidenciaram a separação da classe dos furano-aldeídos e compostos fenólicos da fração dos açúcares e não foram observadas perdas significativas dos analitos de interesse.

Introdução

Materiais lignocelulósicos, na forma de biomassa de plantas, como o bagaço de cana-de-açúcar, são constituídos, principalmente, de três componentes: celulose, hemicelulose e lignina. Os açúcares presentes nas frações celulósicas (glicose) e hemicelulósicas (xilose e arabinose) representam os substratos que possibilitam a conversão em produtos químicos de maior valor econômico (CANILHA et al., 2010). O aproveitamento do bagaço de cana-de-açúcar requer

¹ Graduanda em Ciências Ambientais, Universidade de Brasília, layanne.guirra@colaborador.embrapa.br

² Química, mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, analista da Embrapa Agroenergia, raquel.campanha@embrapa.br

³ Químico, doutor em Química Analítica, pesquisador da Embrapa Agroenergia, silvio.vaz@embrapa.br

⁴ Químico, doutor em Química, pesquisador da Embrapa Agroenergia, clenilson.rodrigues@embrapa.br

uma etapa de pré-tratamento para a disponibilização dos açúcares fermentescíveis. Entretanto, em decorrência das condições empregadas nos pré-tratamentos, uma série de compostos são gerados, dentre os quais, alguns podem atuar como inibidores potenciais do processo fermentativo. Os produtos de degradação dos açúcares e da lignina, que são inibidores da fermentação bem descritos, se agrupam em três categorias: derivados furânicos (furfural e 5-hidroximetilfurfural -HMF), ácidos orgânicos fracos (ácido fórmico e ácido acético) e compostos fenólicos (ácido cumárico e ácido ferúlico) (BETANCUR; PEREIRA, 2010).

Resinas de estireno-divinilbenzeno do tipo Amberlite[®] são esferas poliméricas utilizadas em procedimentos de separação cromatográfica, em virtude da sua porosidade, hidrofobicidade, alta área superficial e pureza. Essas resinas são também empregadas na obtenção de amostras em grande escala. A resina Amberlite[®] possui granulometria específica. Assim, aspectos como tamanho da partícula, superfície de contato, volume e diâmetro dos poros caracterizam cada tipo de resina XAD[®] comercial que pode ser empregada. Nesse sentido, há resinas XAD na forma de polímero orgânico não iônico, apolar e hidrofóbico, estável em ampla faixa de pH (SIGMA ALDRICH, 2016), o que se mostra bastante adequada para aplicação em amostras de licores de pré-tratamento de biomassa lignocelulósica.

Face à composição química do licor do bagaço de cana-de-açúcar, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de uso da resina XAD na separação de furano-aldeídos e compostos fenólicos da fração dos açúcares.

Materiais e métodos

Utilizou-se neste estudo uma amostra-modelo de licor de bagaço de cana-de-açúcar, obtida por hidrólise ácida e identificada como Licor 1. Como controle, usou-se uma alíquota de 1 mL do Licor 1 diluída para o volume final de 5 mL e a amostra foi injetada no HPLC-RID-PDA. Pesou-se 50 g da resina Amberlite XAD[®] (Supelco) úmida em etanol e empacotou-a em uma coluna de vidro (100 cm × 2,5 cm). Para o procedimento de ativação e condicionamento da resina, utilizou-se etanol e H₂O, respectivamente. Posteriormente, inseriu-se 100 mL do Licor 1 na coluna de vidro empacotada com resina, seguido por 70 mL de H₂O, o efluente coletado foi denominado 1° eluato. Em seguida, aplicou-se 100 mL de etanol e obteve-se o 2° eluato.

Em seguida, o 1° eluato foi transferido para um balão volumétrico de 250 mL e o volume foi ajustado com H₂O Milli-Q. Transferiu-se o 2° eluato para o balão volumétrico de 100 mL e o volume foi ajustado com etanol. Após o ajuste do volume, uma alíquota de cada amostra foi filtrada em filtros do tipo Millex® com membrana de PVDF com 0,22 µm de poro e transferida para *vials* de 1,5 mL, sendo estes identificados segundo a sua respectiva quantidade de carga, tipo de eluato e metodologia correspondente. Posteriormente, alíquotas de 10 µL, de cada eluato, foram injetadas no HPLC-RID-PDA.

Amostras analisadas por HPLC-RID foram analisadas segundo as seguintes condições: açúcares, ácidos alifáticos e furano-aldeídos foram seletivamente separados em uma coluna Aminex HPX-87H; a temperatura da coluna foi configurada em 45 °C; o detector por índice de refração foi mantido a 45 °C; a fase móvel usada foi H₂SO₄ preparado com H₂O Milli-Q a 5 mM; a vazão empregada foi de 0,6 mL/min; o tempo total de cada análise foi de 60 minutos e o volume de injeção das amostras foi de 10 µL.

Amostras analisadas por UPLC-PDA foram analisadas segundo as seguintes condições: a composição fenólica e de furano-aldeídos foi analisada por meio de uma coluna Acquity UPLC® HSS T3 (150 x 2,1; 1,8 µm), sob um volume de injeção de 1 µL; fase móvel composta por ACN e TFA 0,05%; taxa de fluxo a 0,5 mL/min; temperatura do forno configurada em 40 °C; temperatura do detector em 40 °C e o tempo de execução foi de 11,36 minutos. Os cromatogramas foram analisados em 280 nm e 325 nm. Os picos foram caracterizados pela comparação do tempo de retenção e espectro UV com o respectivo padrão e pela coinjeção de amostra padrão e amostras legítimas.

Resultados e discussão

Os resultados obtidos a partir das análises qualitativas (perfil cromatográfico das amostras) e quantitativas (teor dos compostos químicos recuperados) por HPLC-RID-PDA apresentam a eluição majoritária dos açúcares e ácido acético no primeiro eluato, e os demais inibidores eluíram majoritariamente nas frações do segundo eluato.

Na Tabela 1, apresenta-se a quantificação e recuperação dos constituintes químicos presentes no licor. Evidencia-se que os açúcares permaneceram majoritariamente no 1° eluato. O 2° eluato reteve os furano-aldeídos e compostos fenólicos. Não foram observadas perdas significativas dos analitos de interesse,

uma vez que todos os açúcares apresentaram uma taxa de recuperação acima de 93%.

Tabela 1. Taxas de recuperação de açúcares, furano-aldeídos, ácidos alifáticos e compostos fenólicos após o processo de separação por Resina XAD-2.

Substâncias	Recuperação 1º eluato (%) ¹	Recuperação 2º eluato (%) ¹
Xilose	93.09	4.77
Glicose	93.73	4.61
Celobiose	95.46	5.38
Arabinose	95.88	5.09
Ácido acético	88.87	7.74
HMF	12,74	73,44
Furfural	21,63	60,29
Cumárico	3,04	81,69
Ferúlico	1,19	86,68

¹ Recuperação com base na amostra controle.

Conclusões

A utilização da técnica de extração em fase sólida com a resina Amberlite XAD pode ser uma boa estratégia empregada na eliminação de furano-aldeídos e compostos fenólicos do licor do bagaço de cana-de-açúcar, uma vez que os açúcares eluíram majoritariamente no primeiro eluato e não foram evidenciadas eluições significativas de compostos fenólicos e furano-aldeídos na fração dos açúcares. Infere-se que a utilização da resina na separação dos açúcares dos inibidores é viável, pois é uma técnica que possui menor custo econômico e propicia viabilidade de aumento de escala, o que pode permitir a avaliação de processos fermentativos durante a etapa de *downstream*.

Quanto à utilização de etanol e H₂O como solvente de eluição, representa um aspecto positivo ao ambiente, uma vez que são solventes de grande disponibilidade, atóxico, de baixo custo econômico e seu processo de produção é caracterizado como menos agressivo ao meio ambiente. A utilização do etanol garantirá que as frações do licor de bagaço de cana-de-açúcar não contenham traços de outros solventes apolares (como, por exemplo, a acetonitrila, que é um solvente amplamente empregado em processos de separação cromatográfica) que podem ser tóxicos aos microrganismos durante o processo de fermentação.

Portanto, o uso de etanol e H₂O como solvente de eluição torna-se promissor nesse tipo de aplicação.

Apoio financeiro

Ao CNPq, pela bolsa PIBIC concedida. À Embrapa, pelo estágio realizado e pelo suporte à pesquisa.

Referências

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-hidrolise ácida seguida por hidrólise enzimática: uma estratégia de “desconstrução” da fibra vegetal. **Revista Analytica**, São Paulo, v. 44, p. 48-54, 2010.

BETANCUR, G. J. V.; PEREIRA, J. Sugar cane bagasse as feedstock for second generation ethanol production. Part I: Diluted acid pretreatment optimization. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaíso, v. 13, n. 3, 2010.

SIGMA ALDRICH. Amberlite XAD Polymerics Adsorbent. **Supelco**. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Supelco/Product_Information_Sheet/4802.pdf>. Acesso em: 01 ago. 2016.