

# **HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE PAPEL DE ESCRITÓRIO DESCARTADO COM E SEM PRÉ-TRATAMENTO COM ÁCIDO SULFÚRICO DILUÍDO**

J. M. T. S. ROCHA, B. R. A. ALENCAR, H. G. MOTA e E. R. GOUVEIA

Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Antibióticos  
E-mail para contato: estergouveia@gmail.com

**RESUMO** – O objetivo deste trabalho foi realizar hidrólises enzimáticas de papel de escritório descartado com e sem pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído, visando a produção de bioetanol. Foram realizadas hidrólises com 2, 4, 8 10 % m/V de sólido. A quantidade de enzima utilizada foi a mesma independente do aumento da massa de papel. As concentrações de glicose e xilose foram quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência. Houve aumento das concentrações destes carboidratos à medida que aumentou a massa de papel até 8 % m/V. Não foi possível retirar amostra nas hidrólise com 8 ou 10 % m/V e sem pré-tratamento, uma vez que não ocorreu a liquefação do papel. Maiores concentrações carboidratos foram obtidas na hidrólise com pré-tratamento e 8 % m/V, apesar de o rendimento ter sido menor do que quando foi utilizado 2 % m/V, provavelmente devido à quantidade de enzima ter sido a mesma para ambos os casos.

## **1. INTRODUÇÃO**

A tecnologia para a produção de etanol a partir de material lignocelulósico é baseada principalmente no pré-tratamento, hidrólise química ou enzimática, separação do produto de fermentação e destilação (Dubey et al., 2012). O papel é um material lignocelulósico, cuja composição química varia de acordo com a madeira da qual foi originado. Material lignocelulósico como papel de escritório contem 56 %, 14 % e 6 % de celulose, hemicelulose e lignina, respectivamente (Wang et al., 2012).

A hidrólise enzimática da celulose é realizada por um conjunto de enzimas celulolíticas, composto de uma mistura de endo- $\beta$ -1,4-glucanases, exo- $\beta$ -1,4-glucanases e  $\beta$ -glucosidase (Palmqvist & Hahn-Hagerdal 2000). Estas enzimas atuam em diferentes sítios da cadeia celulósica de forma sinérgica: as exo-glucanases, também conhecidas como celobiohidrolases, atuam clivando ligações glicosídicas nas extremidades da cadeia, obtendo-se as unidades de celobiose; as endo-glucanases clivam regiões amorfas internas da cadeia celulósica e as  $\beta$ -



glucosidases clivam a celobiose em unidades de glicose (Galbe & Zacchi, 2002).

O objetivo deste trabalho foi realizar hidrólises enzimáticas com diferentes massas de papel de escritório descartado, sem e com pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído, visando a produção de bioetanol.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Material Lignocelulósico**

Foi utilizado papel de escritório descartado do Departamento de Antibióticos da UFPE.

### **2.2. Hidrólise Enzimática do Papel de Escritório Descartado**

As hidrólises, com 2, 4, 8 e 10 % m/v de papel, foram realizadas em frascos de Erlenmeyers, com tampão citrato de sódio (pH igual a 4,8). Preparações comerciais de celulasas (Celluclast 1.5 L – 2 mL; 119 FPU/mL) e  $\beta$ -glucosidase (1 mL), ambas da Novozyme foram utilizadas. A atividade enzimática da Celluclast 1.5 L foi determinada com unidade de papel de filtro por mL segundo o método de Ghose (1987). Os frascos, em todas as hidrólises enzimáticas, foram mantidos em mesa incubadora rotativa, a 50°C e 150 rpm. Após a filtração das amostras em membrana de 0,45  $\mu$ m, os filtrados foram utilizados para a quantificação de glicose e xilose por cromatografia líquida de alta eficiência.

Nas hidrólises com pré-tratamento, o material foi inicialmente colocado em frascos de Erlenmeyer, onde foram adicionados 100 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 1 % V/V. O frasco foi acondicionado em mesa incubadora rotativa, a temperatura de 50°C e rotação de 150 rpm, durante 3 horas. Após este período, o material foi centrifugado por 10 minutos, a 10000 rpm e o decantado foi utilizado nas hidrólises enzimáticas.



## 2.3. Quantificação de Carboidratos

As amostras, retiradas ao final de cada hidrólise enzimática, foram analisadas por meio da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizando uma coluna Aminex HPX-87H<sup>+</sup> (300 mm x 7,8 mm, Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA, USA), a 60°C e detecção de índice de refração. Foram realizadas injeções de 5 µL, com vazão de 0,6 mL/min, utilizando como fase móvel H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 5 mM. As concentrações de açúcares redutores foram determinadas pelo método do ácido dinitrosalicílico (Miller, 1959).

## 2.4. Rendimento

O rendimento das hidrólises com relação à formação de glicose e xilose foi determinado pela equação (1).

$$Y(\%) = \frac{ART \cdot V}{m} \cdot 100 \quad (1)$$

ART: concentração de açúcares redutores (em g/L);

V: volume da mistura reacional (em L);

m: massa de papel (em g).

## 3. RESULTADOS

As concentrações de glicose e de xilose aumentaram com o acréscimo da massa de papel (Figura 1), nas hidrólises sem pré-tratamento, quando foram utilizados 2 ou 4 g de papel. O maior aumento foi obtido na concentração de glicose. Nas hidrólises com 8 ou 10 % m/V e sem pré-tratamento, não ocorreu a liquefação do papel, o que impossibilitou a retirada de amostra em todo o período avaliado.



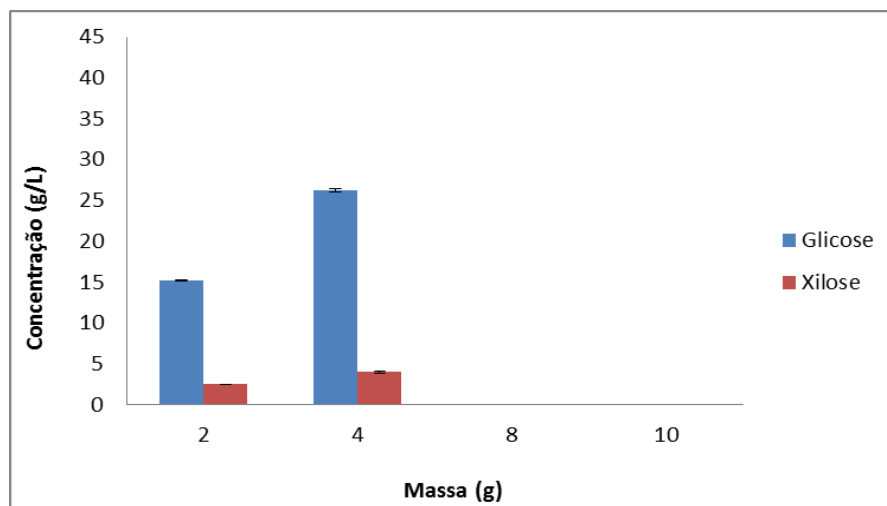


Figura 1. Concentração de glicose e de xilose após 96 horas de hidrólise e sem pré-tratamento.

As maiores concentrações de glicose e xilose foram obtidas na hidrólise com pré-tratamento e utilizando 8 % m/V. Tanto em 2 % m/V, quanto em 4 % m/V houve uma redução nas concentrações dos carboidratos, nas hidrólises com pré-tratamento (Figura 2) em relação aos resultados sem pré-tratamento (Figura 1).

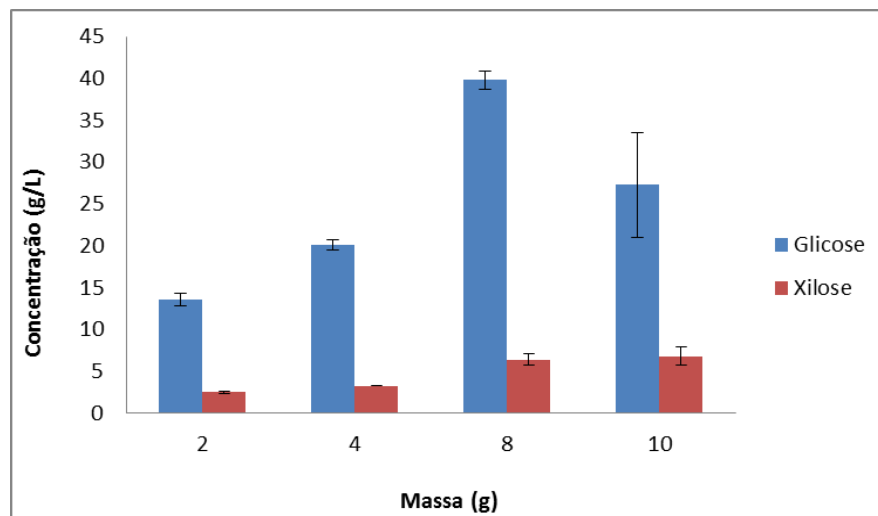


Figura 2. Concentração de glicose e de xilose após 96 horas de hidrólise e com pré-tratamento.



Apesar do aumento da carga de sólidos de 8 para 10 % m/V, houve menor formação de glicose quando foi utilizado 10 % m/V. Isso ocorreu provavelmente devido à carga enzimática ter sido a mesma em todas as hidrólises, independente do aumento do substrato (Figura 2).

Os rendimentos são apresentados na Figura 3. Observa-se que houve maior rendimento com 2 % m/V, quando não foi utilizado pré-tratamento. O rendimento com 4 % m/V também sem pré-tratamento foi menor do que com 2 % m/V, o que possivelmente ocorreu por ter sido utilizada a mesma quantidade de enzimas para uma maior massa de papel. Por outro lado, o rendimento com o pré-tratamento e utilizando 8 g de papel foi semelhante ao rendimento obtido por 4 g com pré-tratamento. O menor rendimento foi obtido com 10 % m/V.

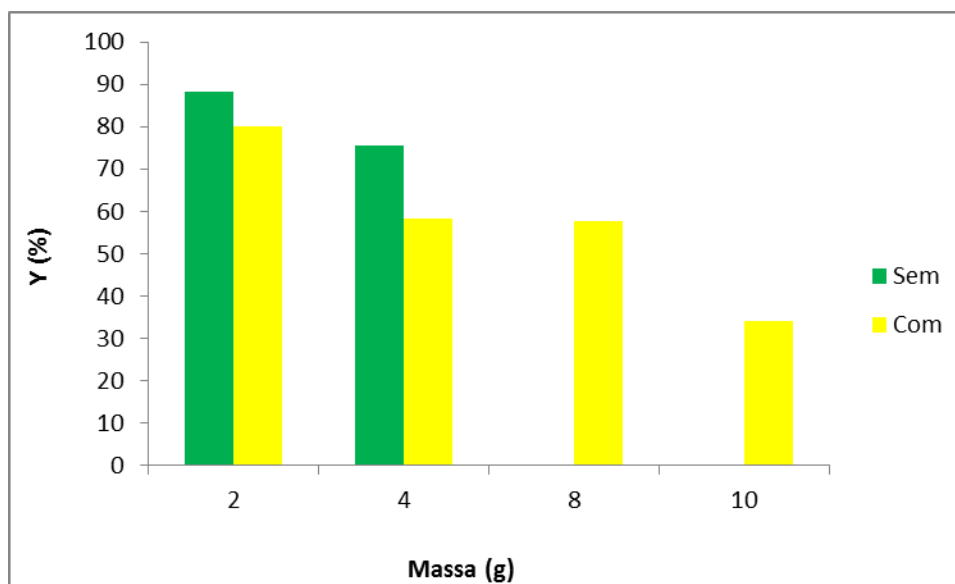


Figura 3 – Rendimento das hidrólises enzimáticas, com 96 horas, sem e com pré-tratamento.

No estudo da hidrólise enzimática de papel de escritório descartado, quatro fatores foram avaliados: o tempo de hidrólise, a carga enzimática, a adição de surfactante e o pré-tratamento com ácido fosfórico (Chu e Feng, 2013). O rendimento máximo de açúcar foi 82 % para 50 mg de papel, com 20 horas de hidrólise, com pré-tratamento com ácido fosfórico, mas sem adicionar surfactante. Por outro lado, a hidrólise enzimática de um papel offset, semelhante ao papel utilizado neste trabalho, foi estudada por Brummer *et al.* (2013), os quais obtiveram rendimento de apenas 18,8 %. Isso pode ter ocorrido devido ao pré-tratamento ter sido realizado apenas por moagem mecânica e lavagem com água destilada.



O pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído foi fundamental para as hidrólises enzimáticas com alta carga de sólidos (8 ou 10 % m/V). Na produção de bioetanol, a concentração inicial de açúcares fermentescíveis é um fator preponderante para a obtenção de maior concentração do produto. Daí a seleção de 8 % m/V para a carga de enzimas utilizada neste trabalho, uma vez que com esta condição foi obtida a maior concentração de glicose e xilose.

## 6. REFERÊNCIAS

- BRUMMER, V.; JURENA, T.; HLAVACEK, V.; Omelkova, J.; Bebar, L.; Gabriel, P.; Stehlik, P.; Enzymatic hydrolysis of pretreated waste paper – Source of raw material for production of liquid biofuels. *Bioresource Technology*, v. 152, p. 543-54, 2014.
- CHU, K. H.; FENG, X. Enzymatic conversion of newspaper and office paper to fermentable sugars. *Process Safety and Environmental Protection*, v. 9, p. 123–130, 2013.
- DUBEY, A. K.; GUPTAB, P. K.; GARGA, N.; NAITHANIB, S. Bioethanol production from waste paper acid pretreated hydrolyzate with xylose fermenting *Pichia stipitis*. *Carbohydrate Polymers*, v. 88, p. 825– 829, 2012.
- GALBE, M. & ZACCHI, G. A review of the production of ethanol from softwood. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 59, p. 618-628, 2002.
- GHOSE, T. K. Measurement of cellulase activities. *Pure Appl Chem*, v. 68, p. 59:257–68, 1987.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, v. 31, p. 420–428, 1959.
- PALMQVIST, E. & HAHN-HAGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology*, v. 74, p. 25-33, 2000.
- WANG, L.; SHARIFZADEH, M.; TEMPLER, R.; MURPHY, J. Bioethanol production from various waste papers: Economic feasibility and sensitivity analysis. *Applied Energy*, v. 111, p. 1172-1182, 2012.