UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

ÁLVARO HENRIQUE MELLO JOSÉ

**Avaliação da hidrólise enzimática do sabugo de milho após pré-tratamento em
extrusora de dupla rosca para obtenção de açúcares**

LORENA – SP

2018

ÁLVARO HENRIQUE MELLO JOSÉ

Avaliação da hidrólise enzimática do sabugo de milho após pré-tratamento em extrusora de dupla rosca para obtenção de açúcares

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na área de Microbiologia Aplicada.

Orientadora: Profa. Dra. Rita de Cássia Lacerda Brambilla Rodrigues

Versão Original

LORENA – SP
2018

NÃO AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, SERÁ DISPONIBILIZADO AUTOMATICAMENTE APÓS 2 ANOS DA PUBLICAÇÃO

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado
da Escola de Engenharia de Lorena,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

José, Álvaro Henrique Mello
Avaliação da hidrólise enzimática do sabugo de
milho após pré-tratamento em extrusora de dupla rosca
para obtenção de açúcares / Álvaro Henrique Mello
José; orientadora Rita de Cássia Lacerda Brambilla
Rodrigues - Versão Original. - Lorena, 2018.
73 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências - Programa de Pós
Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de
Conversão de Biomassa) - Escola de Engenharia de
Lorena da Universidade de São Paulo. 2018
Orientadora: Rita de Cássia Lacerda Brambilla
Rodrigues

1. Extrusão. 2. Pré-tratamento. 3. Sabugo de
milho. 4. Hidrólise enzimática. I. Título. II.
Rodrigues, Rita de Cássia Lacerda Brambilla, orient.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar e acima de tudo, a Deus e ao meu Santo Anjo da Guarda pela companhia e força cedidas a mim;

Ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial da EEL – USP;

À bolsa concedida pela Capes;

À Novozymes pela doação da enzima utilizada no desenvolvimento do projeto;

À Professora Rita Rodrigues, minha querida orientadora;

À Professora Esperidiana do IPEN pelo auxílio com o uso da extrusora na realização do pré-tratamento;

Ao Professor Durval pelo auxílio com o MEV e DRX;

Aos técnicos do DEBIQ por todo e fundamental apoio operacional, em especial ao Paulinho, Nicamor, Bárbara, Dijalma, Zé Cobrinha e Zé Moreira.

À minha família e amigos do meu coração, por todo o apoio;

A todos aqueles que me ajudaram a ser quem eu sou hoje.

Muito obrigado!

RESUMO

JOSÉ, A.H.M. **Avaliação da hidrólise enzimática do sabugo de milho após pré-tratamento em extrusora de dupla rosca para obtenção de açúcares.** 2018. 73 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, São Paulo, 2018.

Os materiais lignocelulósicos, devido ao seu importante potencial de conversão em açúcares e biocombustíveis, estão sendo extensivamente estudados, nas últimas três décadas. O uso de sabugo de milho como matéria-prima lignocelulósica oferece possibilidades promissoras para a produção de energia renovável. A lignocelulose normalmente consiste em celulose, hemicelulose e lignina. A celulose e a hemicelulose podem ser convertidas em açúcares através de processos químicos ou biológicos, e estes açúcares (principalmente glicose, xilose e arabinose) podem ser fermentados a produtos químicos valiosos como o bioetanol. Na conversão de biomassa em biocombustíveis, o pré-tratamento é o primeiro passo para desestruturar a lignocelulose, deixando-a mais acessível para enzimas que convertem os carboidratos em açúcares fermentescíveis. A tecnologia de extrusão por dupla rosca é comumente usada nas indústrias de polímeros e alimentos, podendo ser um método de pré-tratamento viável, uma vez que possui capacidade de expor a biomassa a uma variedade de condições de cisalhamento sob diferentes temperaturas em um processo de fluxo contínuo, com grande quantidade de sólidos (40-60% em massa). Neste trabalho, foi avaliada a hidrólise enzimática do sabugo de milho pré-tratado em extrusora de dupla rosca para obtenção de açúcares. O pré-tratamento por extrusão, a 115-130°C e 14 rpm (velocidade da dupla rosca), empregou uma relação sólido:líquido de 1:1, onde a fração líquida foi estudada variando-se a relação dos aditivos água e glicerol. O sabugo de milho extrudado, na melhor relação água e glicerol, foi hidrolisado pelo complexo enzimático Cellic CTec2, associado ou não ao Cellic HTec2, empregando-se carga de sólidos de 10%. Na sequência, a dosagem de enzimas e a carga de sólidos foram otimizadas pela metodologia de superfície de resposta (RSM), a fim de se obter elevados valores de conversão de celulose em glicose (y_1) e produtividade em glicose (y_2). A extrusão do sabugo de milho foi favorecida com o uso de água e glicerol na relação 25:25 (% m/m). O glicerol presente no meio não causou inibição na hidrólise enzimática dispensando a etapa de lavagem dos sólidos. O complexo enzimático comercial Cellic Ctec2 favoreceu a conversão de celulose em glicose. Através da metodologia de análise de superfície de resposta (RSM), foram estabelecidas a dosagem do complexo enzimático comercial Cellic Ctec2 (32 FPU/g_{material lignocelulósico seco}) e a carga de sólidos (17,8% m/m) para maximizar as conversões de celulose em glicose (90,4% m/m) e de hemicelulose em xilose e arabinose (44,0% m/m) e produtividade em glicose (0,69 g/L.h). O rendimento em açúcares totais (323 Kg de glicose e 148 Kg de xilose e arabinose) foi de 471 Kg para cada tonelada de sabugo de milho seco. Nesta condição, as constantes cinéticas para a conversão de celulose em glicose foram: V_{max} de 6,00 % (m/m)/h e K_m de 22,59 g_{celulose}/L_{solução}. Estes resultados são promissores para obtenção de um hidrolisado de sabugo de milho com elevado teor de monossacarídeos para uso em bioprocessos, de forma sustentável e com mínimo impacto ambiental.

Palavras-chave: Extrusão. Pré-tratamento. Sabugo de milho. Hidrólise enzimática

ABSTRACT

JOSÉ, A.H.M. **Evaluation of enzymatic hydrolysis of corn cob after pretreatment in a twin-screw extruder to obtain sugars**. 2018. 73 p. Dissertation (Master of Science) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, São Paulo, 2018.

Lignocellulosic materials due to their significant conversion potential in sugars and biofuels have been extensively studied in the last three decades. The use of corn cob as a lignocellulosic feedstock offers promising possibilities for the production of renewable energy. Lignocellulose usually consists of cellulose, hemicellulose and lignin. Cellulose and hemicellulose can be converted into sugars by chemical or biological processes, and these sugars (especially glucose, xylose and arabinose) can be fermented to valuable chemicals such as bioethanol. In the conversion of biomass to biofuels, pretreatment is the first step in de-structuring lignocellulose, making it more accessible to enzymes that convert carbohydrates to fermentable sugars. Twin screw extrusion technology is commonly used in the polymer and food industries, and it may be a viable pretreatment method due to its ability to simultaneously expose biomass to a variety of shear conditions at different temperature in a flow continuous process using large amount of material (40-60% of biomass). In this work, the enzymatic hydrolysis of corn cob was evaluated after its pretreatment in a twin-screw extruder to obtain sugars. Extrusion pretreatment, at 115-130°C and 14 rpm (double screw velocity), employed a solid: liquid ratio of 1: 1, where the liquid fraction was studied by varying the ratio of water and glycerol additives. Extruded corn cob, in the best water and glycerol ratio, was hydrolyzed by the Cellic CTec2 enzymatic complex, associated or not to Cellic HTec2, using 10% solids loading. In the sequence, the dosage of enzymes and the solids loading were optimized by response surface methodology (RSM) to obtain high values of cellulose conversion to glucose (y_1), and glucose productivity (y_2). The extrusion of corn cob was favored by using water and glycerol in the ratio of 25:25 (% m/m). The glycerol present in the medium did not cause inhibition in the enzymatic hydrolysis dispensing the washing step of the solids. The commercial enzymatic complex Cellic CTec2 favored the conversion of cellulose to glucose. By the response surface methodology (RSM) were established the dosage of the commercial enzymatic complex Cellic CTec2 (32 FPU/g dry lignocellulosic material) and solids loading (17.8% m/m) to maximize the conversions of cellulose to glucose (90.4% w/w) and of hemicellulose to xylose and arabinose (44.0% w/w) and glucose productivity (0.69 g/Lh). The yield of total sugars (323 kg of glucose and 148 kg of xylose and arabinose) was 471 kg for each ton of dried corn cob. In this condition, the kinetic constants for the conversion of cellulose to glucose were: V_{max} of 6.00% (m/m)/h and K_m of 22.59 g_{cellulose}/L_{solution}. These results are promising for obtaining a corn cob hydrolysate with high content of monosaccharides to be used in bioprocesses, in a sustainable manner and with minimal environmental impact.

Keywords: Extrusion. Pretreatment. Corn cob. Enzymatic hydrolysis