

Produção de monossacarídeos por hidrólise

Referências

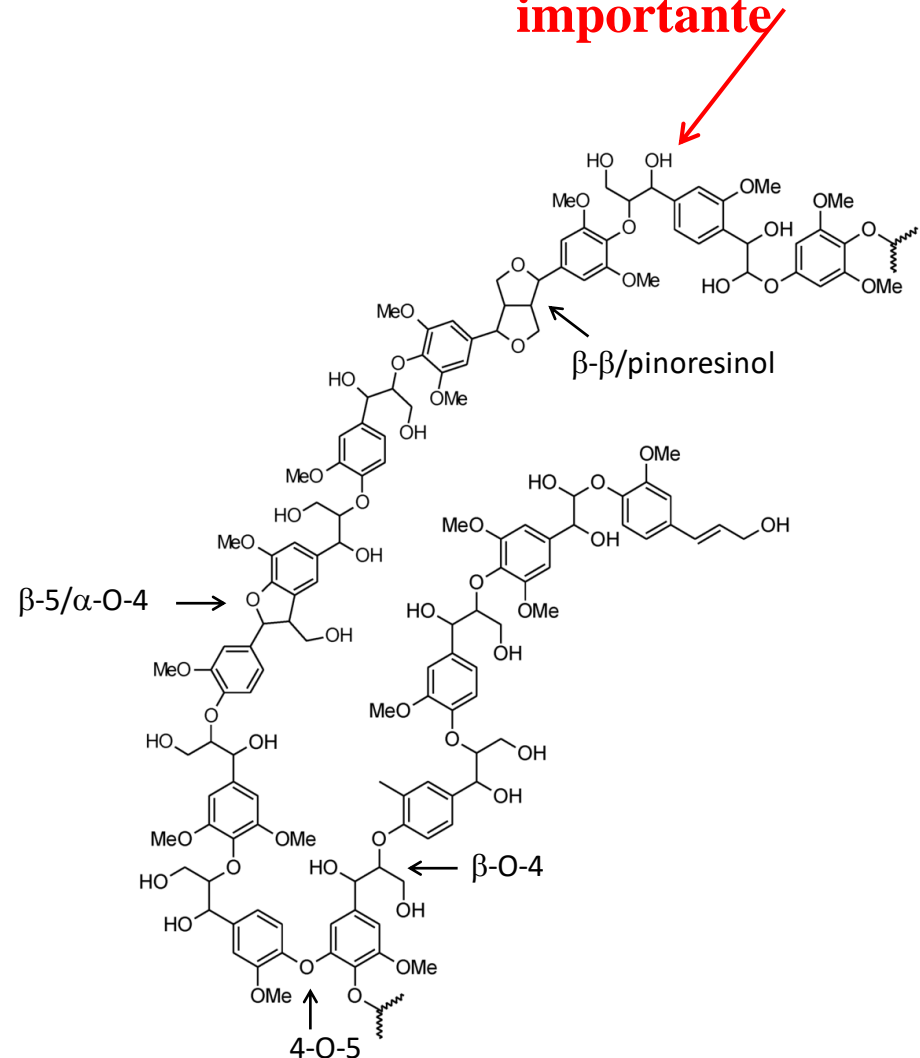
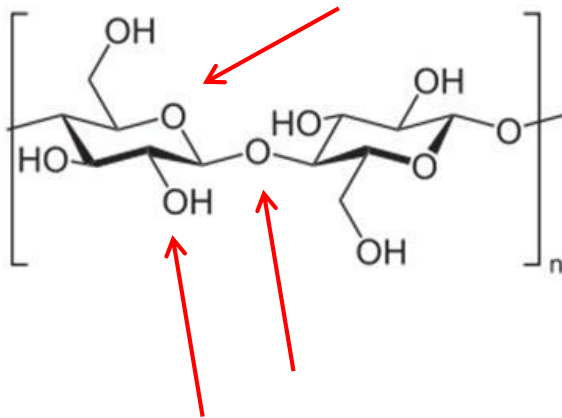
Fengel D e Wegener, G, 1989. cap. 10 **ação de ácidos**

Tuula Teeri e Gunnar Henriksson, 2009. Enzymes degrading wood components, In: Wood Chemistry and Biotechnology, cap. 11, itens 11.1-11.13 **ação de enzimas**

O que ocorre com um lignocelulósico exposto ao meio ácido?

Quais grupos funcionais podem reagir?

OH ou éter ligado ao carbono alfa é muito importante

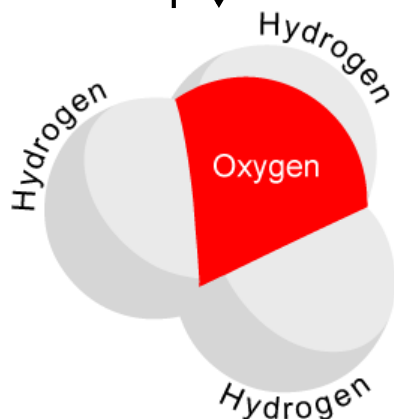
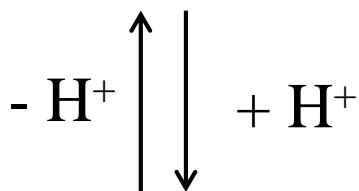
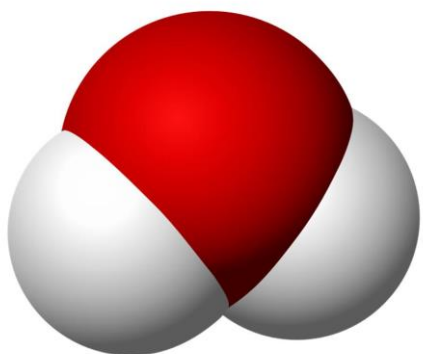


Na lignina há uma maior diversidade de grupos funcionais, mas o ponto de partida será sempre os grupos oxigenados

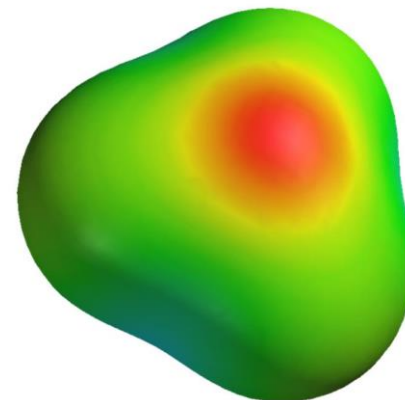
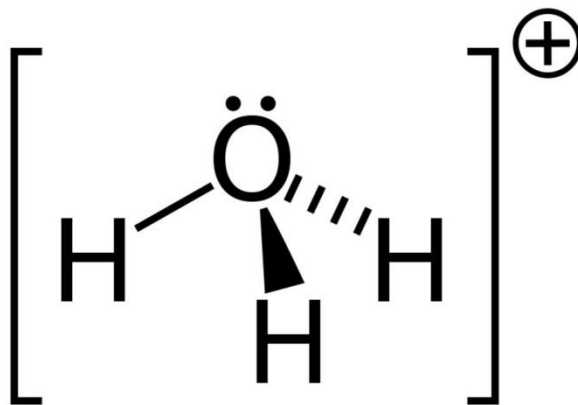
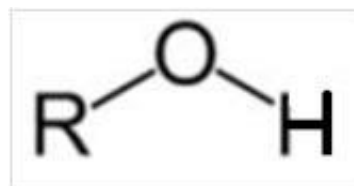
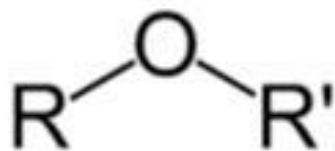
Relembre!!

O que ocorre com uma molécula que contém oxigênio exposta ao meio ácido?

Exemplo simples



Qual a situação se houver outros substituintes diferentes do hidrogênio?



Reações dos polissacarídeos em meio ácido

Fato: o tratamento de um material lignocelulósico com solução aquosa ácida, em condições relativamente brandas (veremos os efeitos das condições mais à frente), gera um resíduo insolúvel escuro e uma solução levemente amarelada

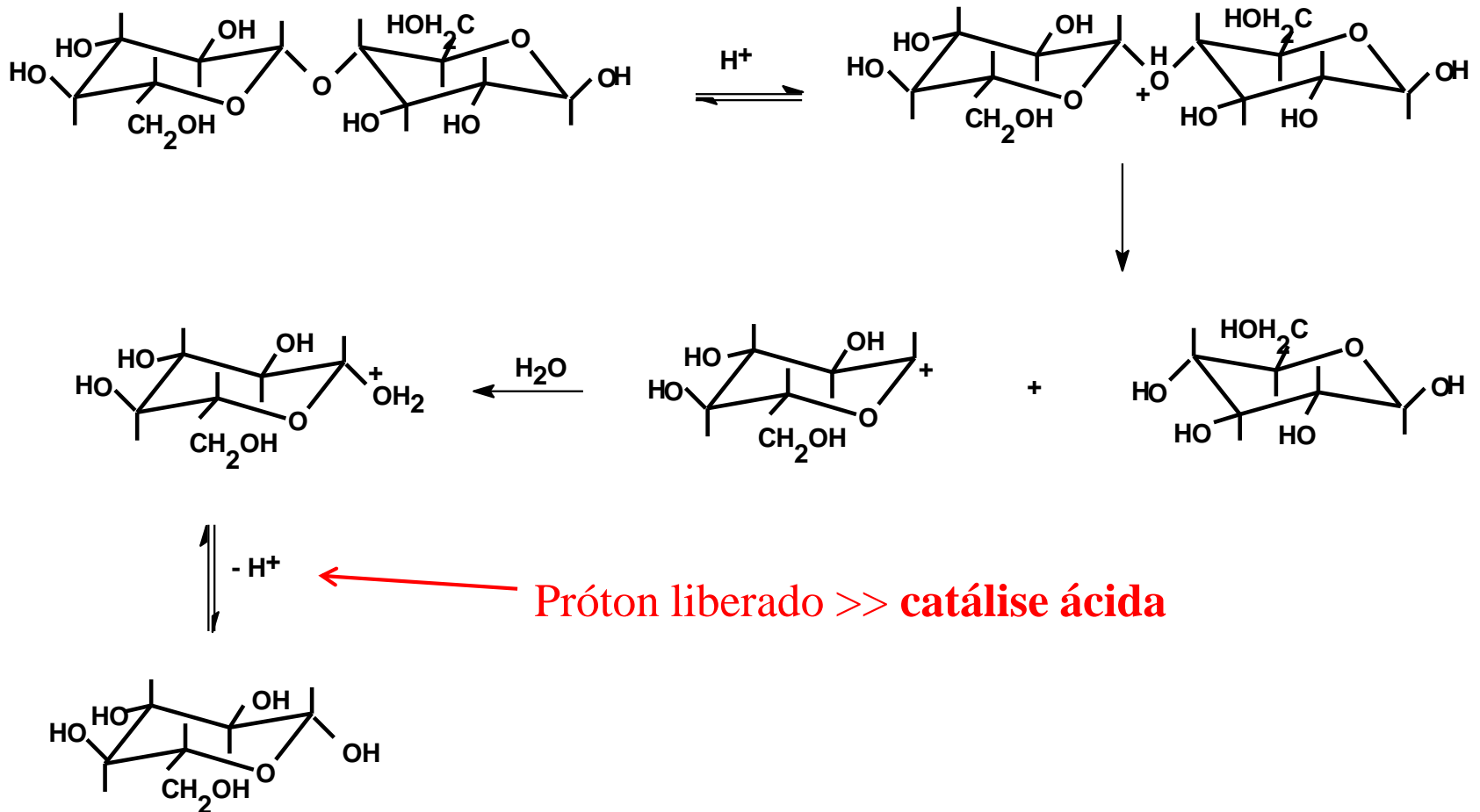
Resíduo insolúvel >> majoritariamente derivado da lignina

Solução >> majoritariamente açúcares monoméricos e oligossacarídeos, dependendo da condição de reação

Modelo: Como é possível explicar o fenômeno observado?

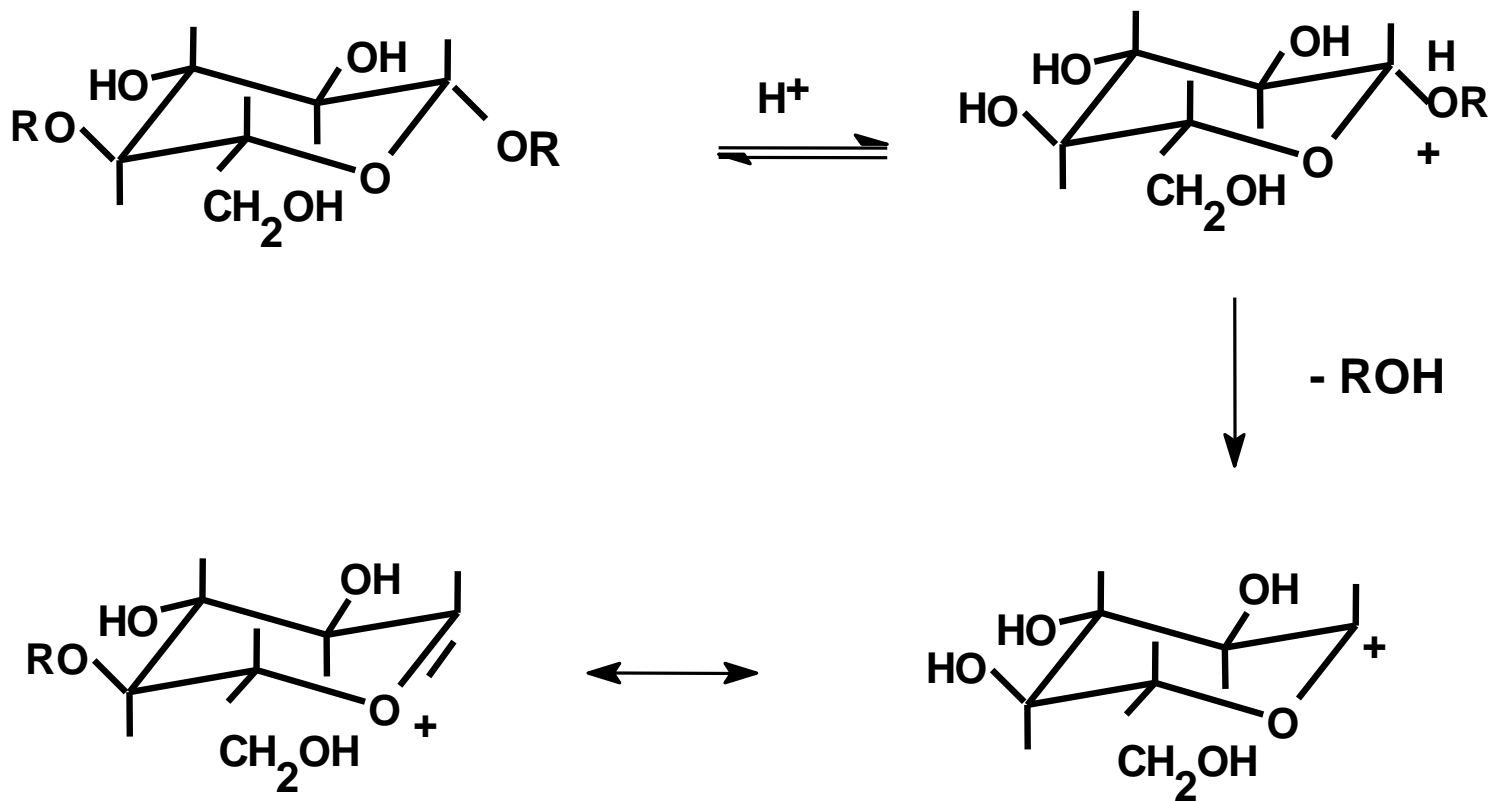
2. Reações dos polissacarídeos

- olhando para a ligação glicosídica



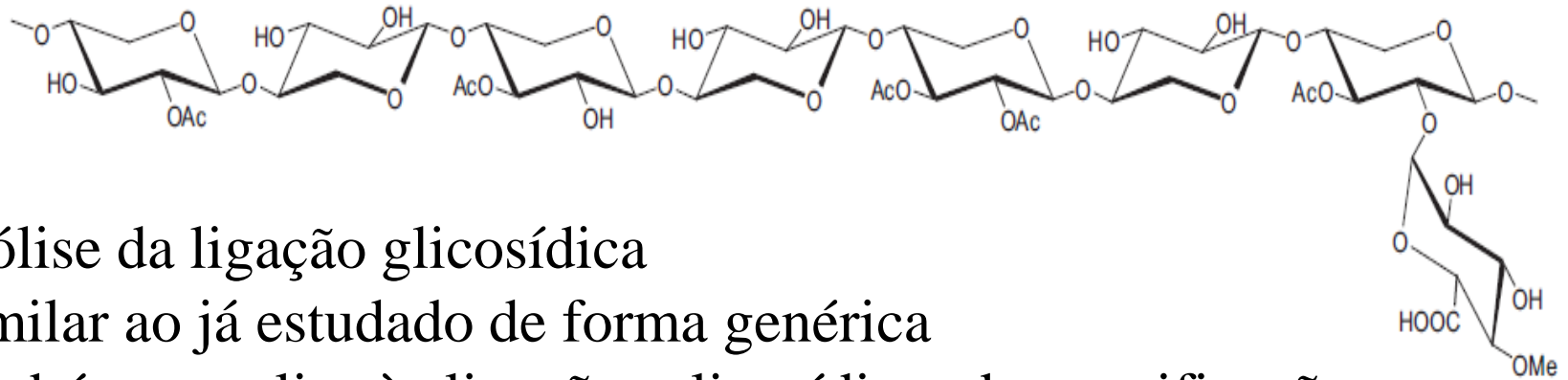
A reação seria via íon carbônio ou por substituição direta?

Estabilização do íon carbônio intermediário devido à presença do oxigênio vizinho ao C1



Note que a ruptura gerando um carbocátion no C4 não permitiria a estabilização

Hidrólise das hemiceluloses



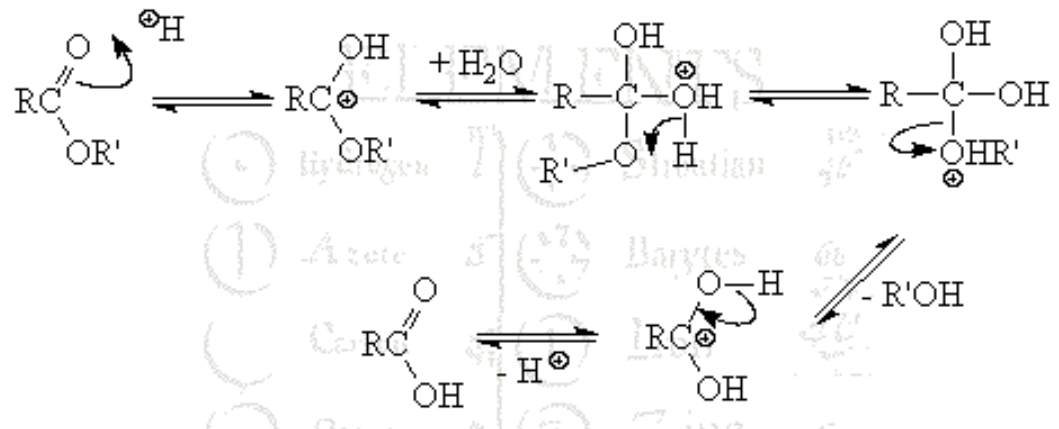
Hidrólise da ligação glicosídica

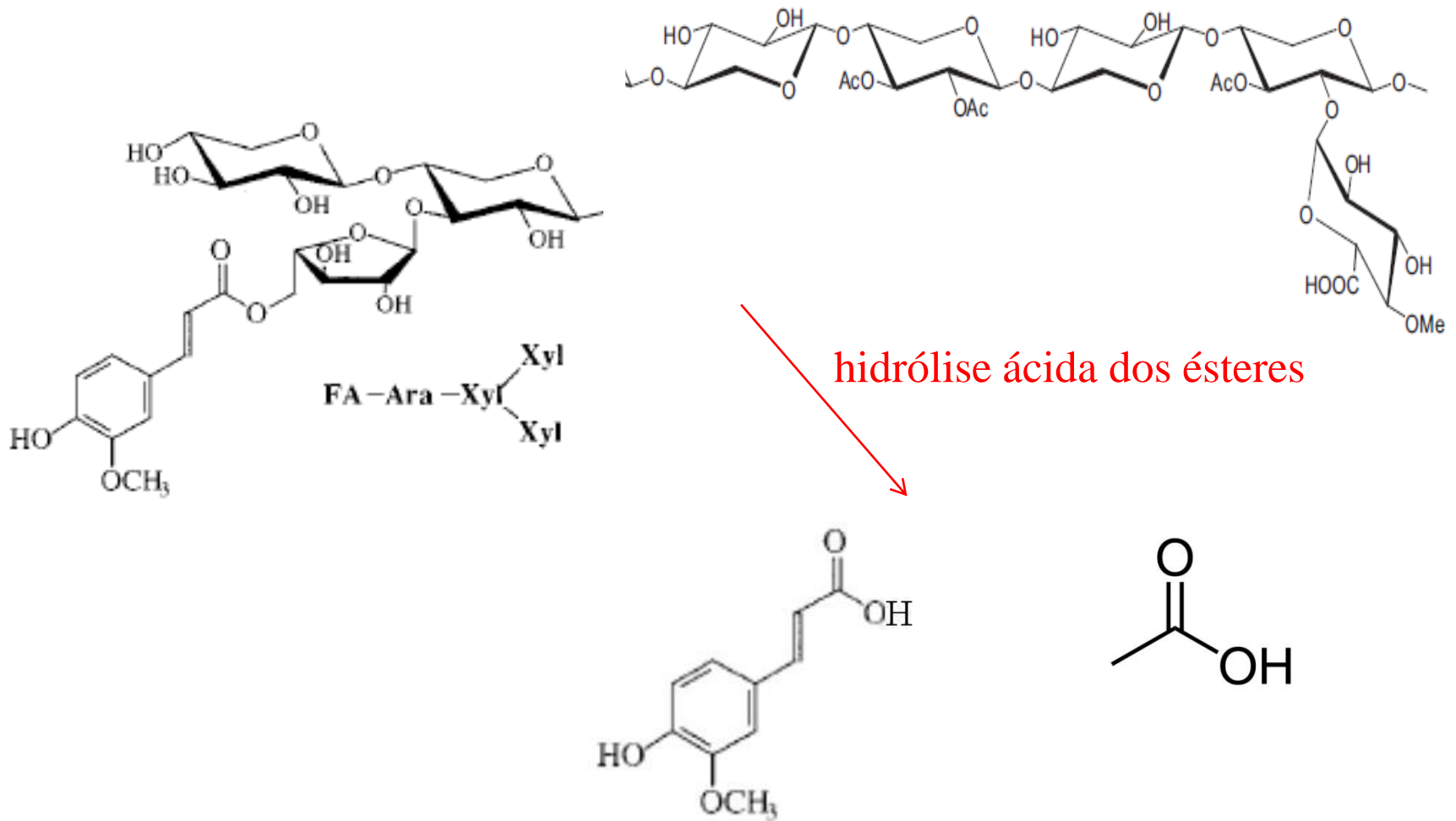
- > similar ao já estudado de forma genérica
- > Também se aplica às ligações glicosídicas das ramificações,

O que há de diferente em termos de funções químicas??

Éster de grupos acetila e ácidos hidróxi-cinâmicos no caso de hemicelulose de gramíneas

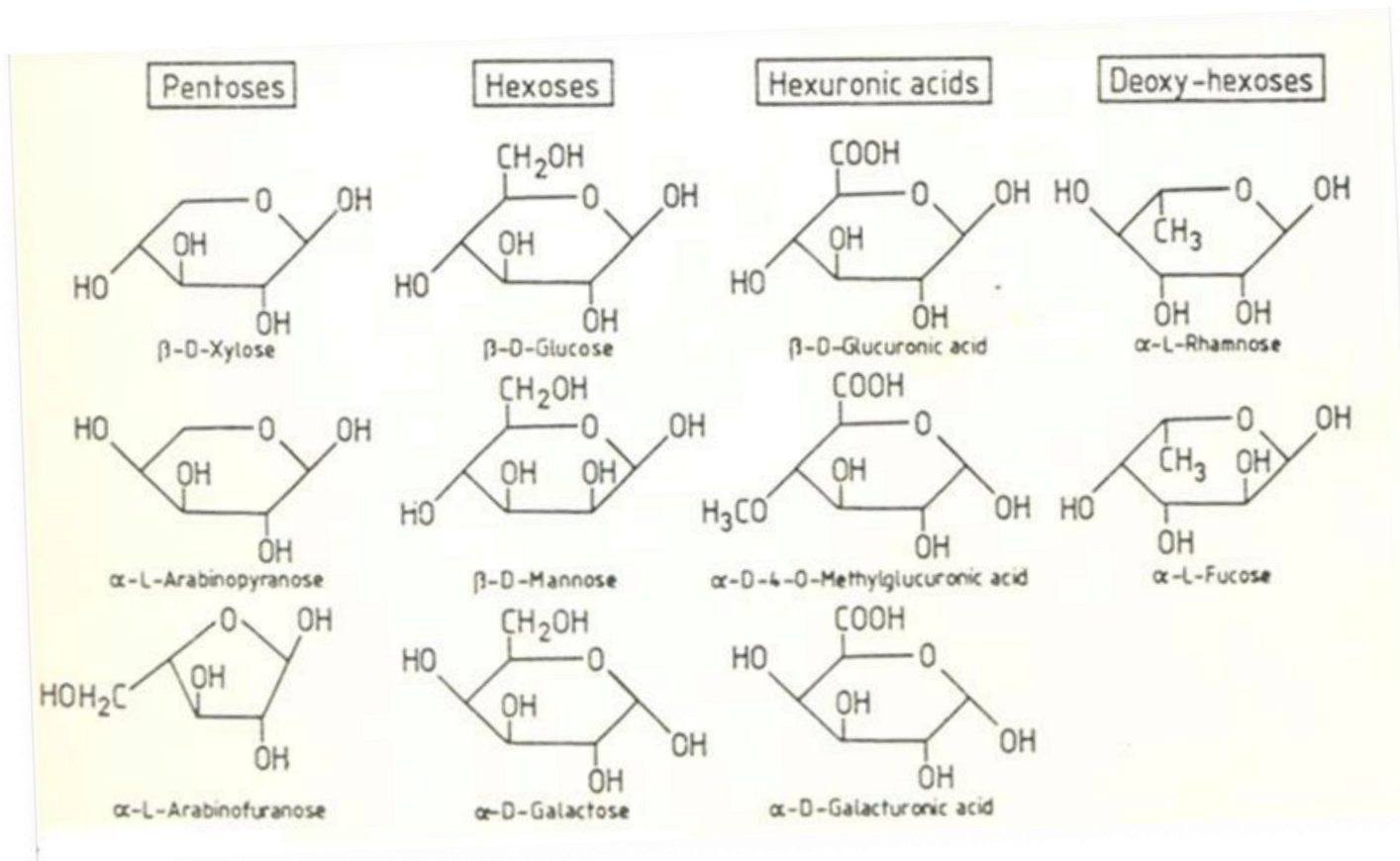
hidrólise de ésteres





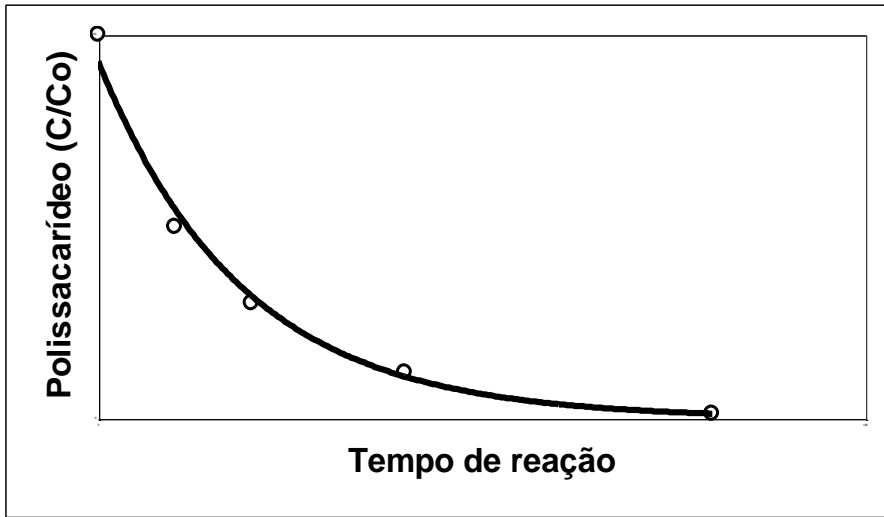
- Ácido acético liberado pode ser o precursor nos processos de autohidrólise.
- Ambos são inibidores em processos fermentativos

Principais monosacarídeos derivados da hidrólise de hemiceluloses



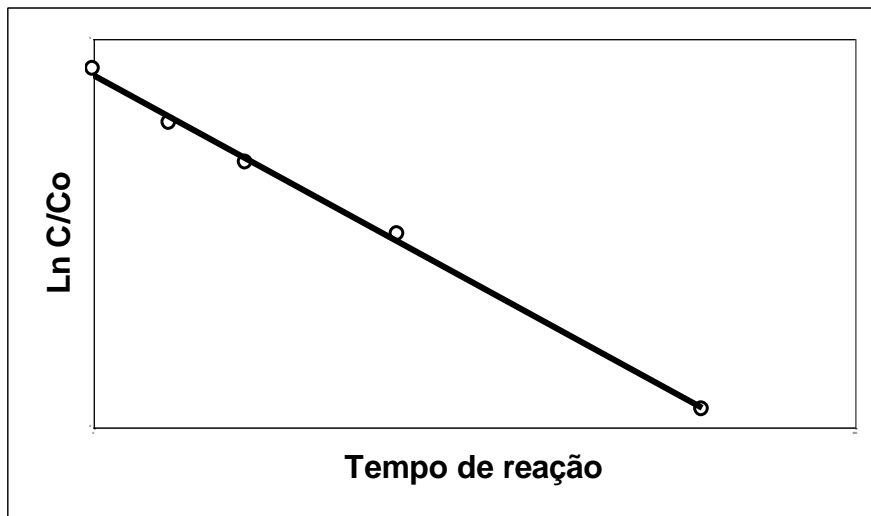
Monosacarídeo derivado da hidrólise da celulose >> glicose

Cinética da hidrólise de polissacarídeos



A hidrólise de oligossacarídeos ou polissacarídeos solúveis no meio reacional seguem uma cinética de primeira ordem

A hidrólise de **polissacarídeos insolúveis** também segue um modelo de primeira ordem.



É comum haver mais de uma fase de reação > A etapa limitante pode ser a acessibilidade do ácido e da água às ligações glicosídicas

A velocidade de reação é uma a duas ordens de magnitude menor

- A cinética de hidrólise de polissacarídeos insolúveis também segue um modelo de primeira ordem. No entanto, mais de uma fase de reação (mais de uma velocidade de reação) pode ser distinguida de acordo com a dificuldade de acessibilidade do ácido às ligações glicosídicas.

Pense:

- É mais difícil hidrolisar em ácido diluído: xilana, celulose amorfa ou celulose cristalina.
- O que hidrolisaria mais rápido em ácido diluído: celulose amorfa ou carboxi-metil celulose

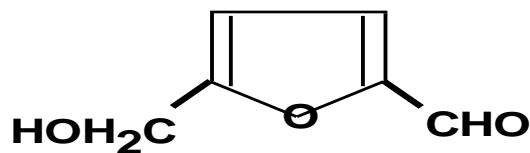
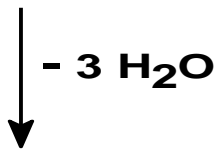
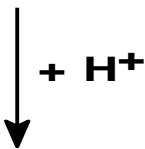
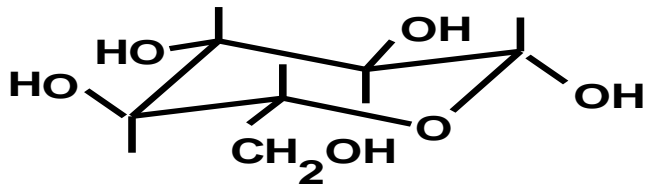
Tipos de hidrólise ácida segundo a fase dos reagentes

Fase da amostra	Fase do ácido	Tipo	Exemplo
dissolvido	líquido	Homogêneo	sacarose/ác. diluído celulose/ác. concentrado
sólido	líquido	Heterogêneo	celulose/ác. diluído
dissolvido	sólido	Heterogêneo	sacarose/resina de troca iônica

Fatores importantes no meio de hidrólise

- Tipo do ácido (orgânico ou inorgânico; forte ou fraco).
- Concentração do ácido (afeta a acessibilidade à matriz lignocelulósica; reações laterais indesejáveis).
- Temperatura de reação (afeta a velocidade da reação; reações laterais indesejáveis).
- Pressão (afeta a acessibilidade à matriz lignocelulósica em reações em duas fases).

Reações secundárias em meio ácido > Desidratação



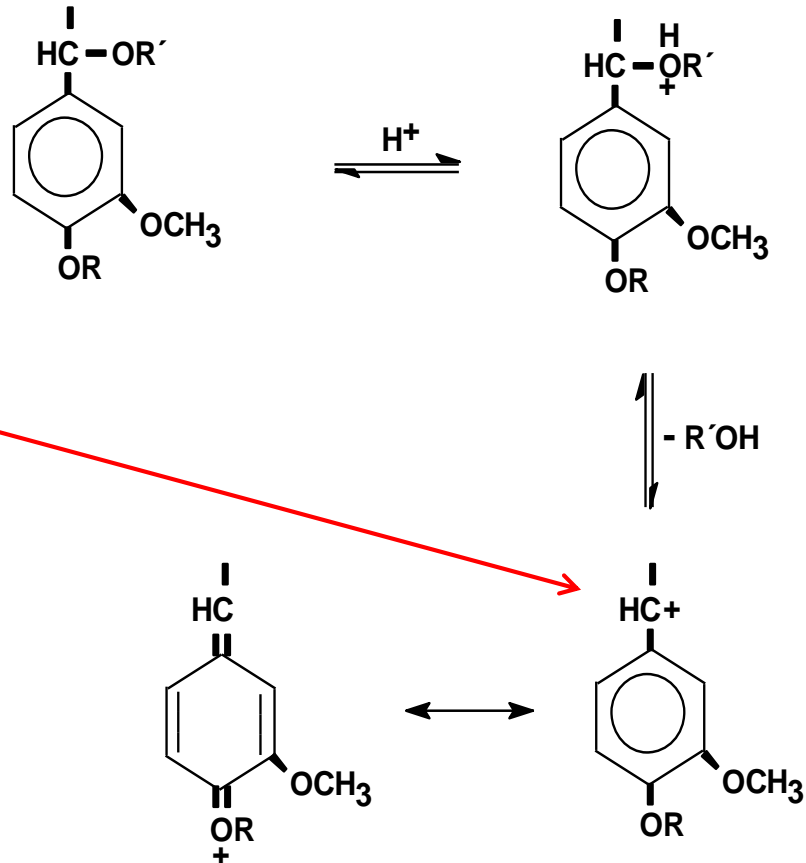
Em condições otimizadas para máxima hidrólise e mínima decomposição, as reações de desidratação ocorrem em pequena extensão.

No entanto, a formação destes compostos pode ser problemática para a indústria de alimentos e de conversão biológica

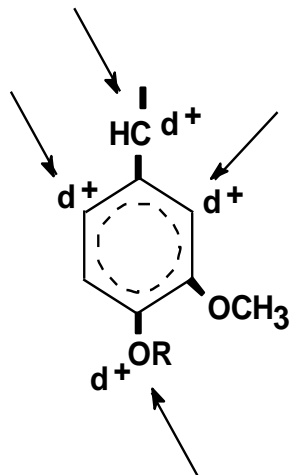
A desidratação depende de variáveis de processo, principalmente concentração de ácido e temperatura de reação.

3. Reações da lignina em meio ácido

Formação de um íon carbônio por eliminação de um álcool (no caso de éteres na posição C-alfa, ou água (no caso de uma função hidroxila no C-alfa



trata-se de um carbônio atipicamente estável, pois está conjugado com um anel aromático

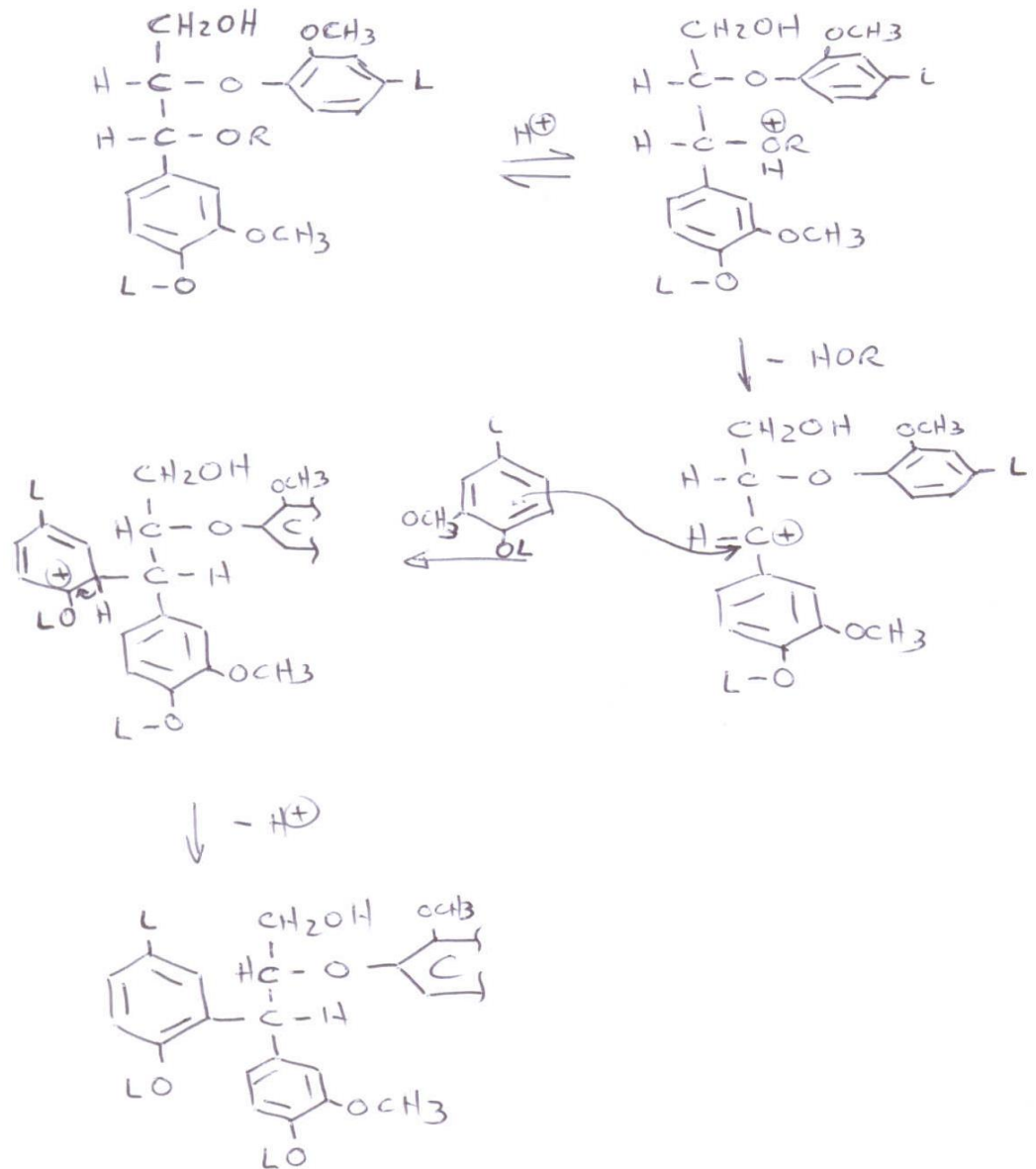


Sítios deficientes em elétrons após eliminação de R'OH em meio ácido

Reações da lignina em meio ácido aquoso > Condensação

Predomina a condensação

O resultado é o acúmulo de um material insolúvel em ácido



Exemplo de solubilização de polissacarídeos em meio ácido (condições que afetam a reação)



Journal of Food Engineering 55 (2002) 309–318

JOURNAL OF
FOOD
ENGINEERING

www.elsevier.com/locate/jfoodeng

Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse

R. Aguilar ^a, J.A. Ramírez ^b, G. Garrote ^c, M. Vázquez ^{c,*}

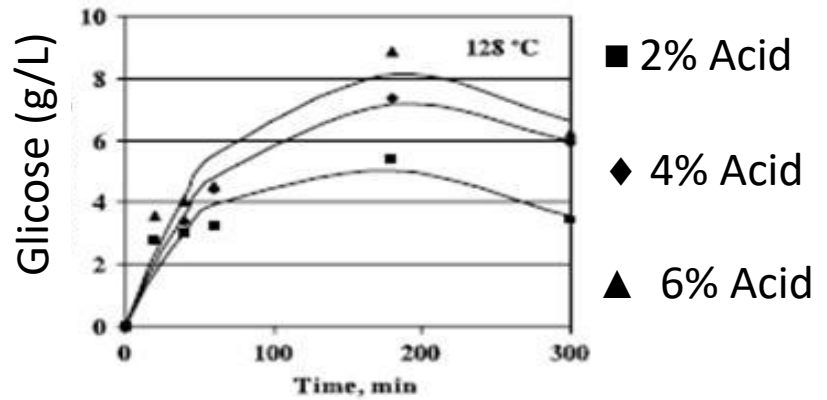
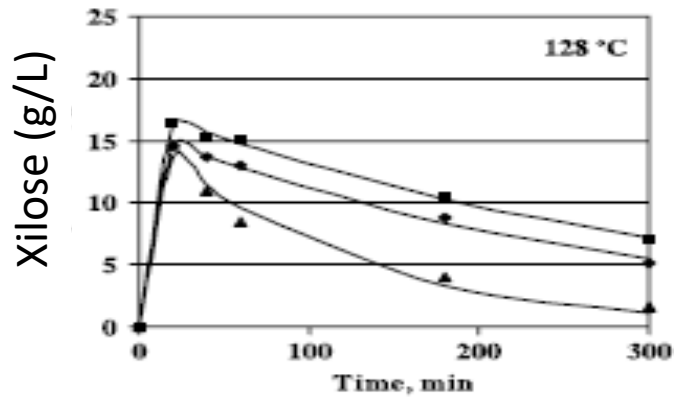
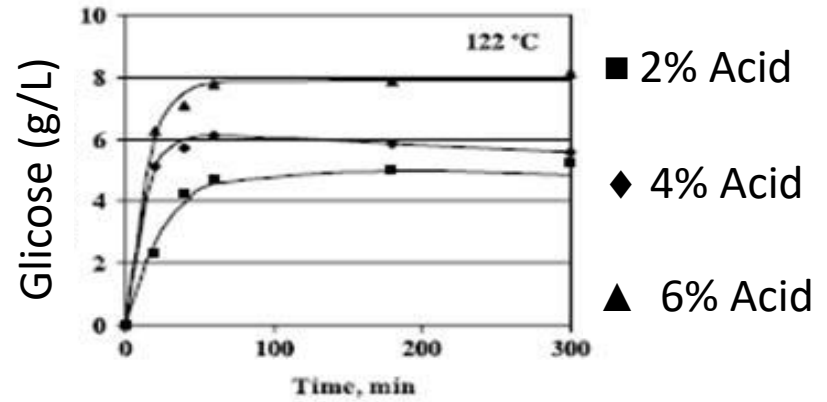
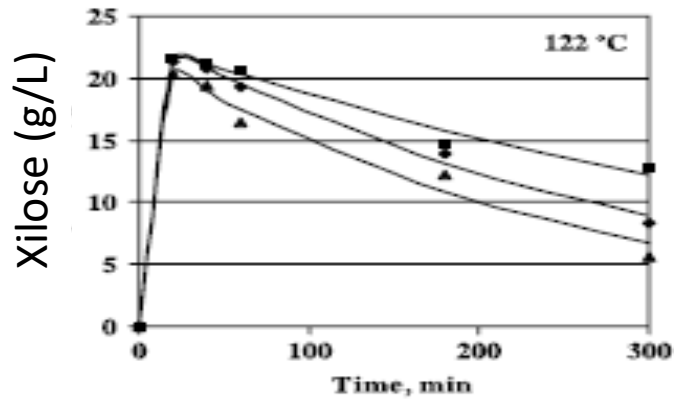
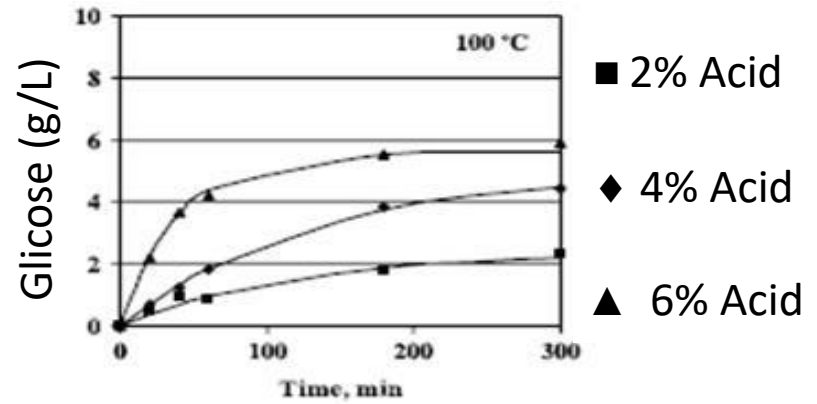
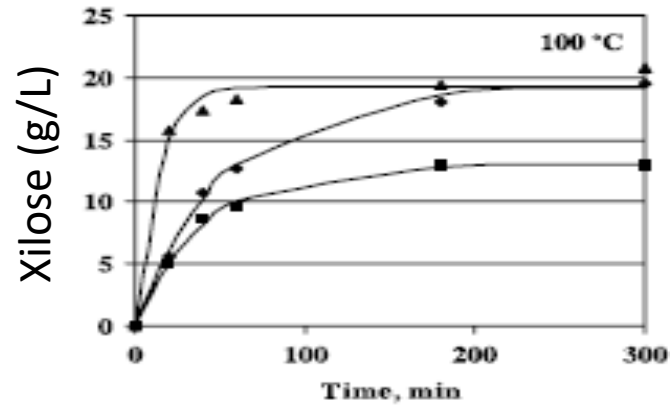
Relação sólido: líquido 1:10

Máx. de monossacarídeos esperados em solução:

Xilose = 26 g/L

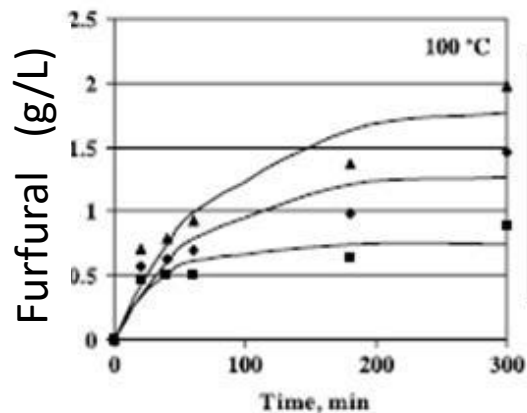
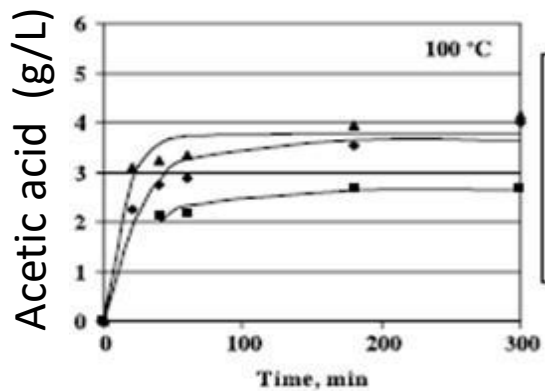
Glicose = 42 g/L

HOAc = 4,5 g/L

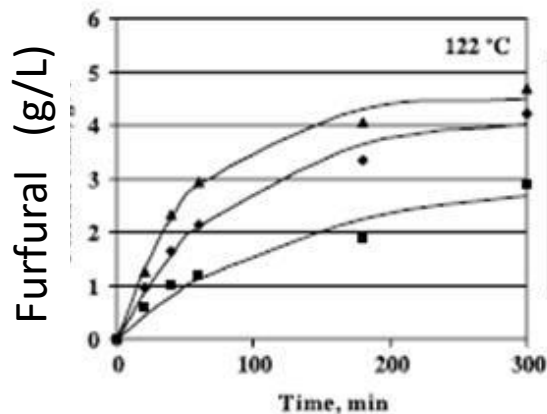
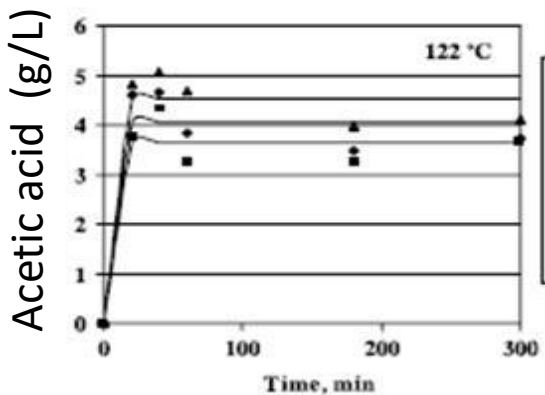


Máx. esperados: Xilose = 26 g/L

Glicose = 42 g/L

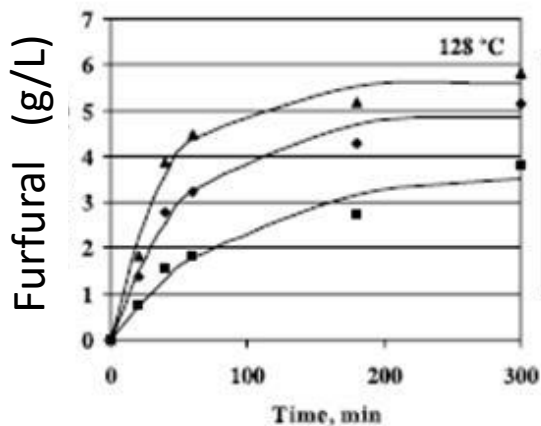
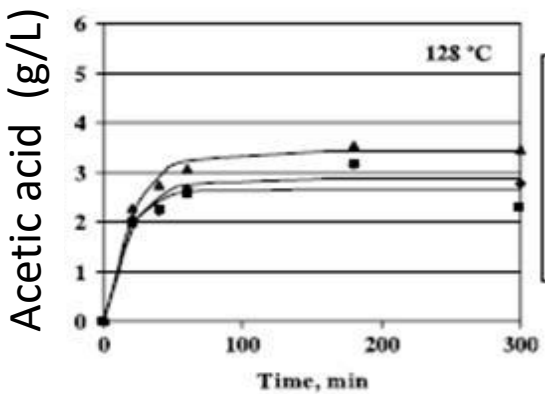


- 2% Acid
- ◆ 4% Acid
- ▲ 6% Acid



- 2% Acid
- ◆ 4% Acid
- ▲ 6% Acid

Desidratação
de pentoses



- 2% Acid
- ◆ 4% Acid
- ▲ 6% Acid

Máx. esperado: HOAc=4,5 g/L

Exemplo de solubilização de polissacarídeos em meio ácido (condições que afetam a reação)
hidrólise da celulose com ácidos - um problema de difícil solução

Soluble Sugar Yields^a from Mixed Softwood Forest Thinnings
 After a Two-Stage Dilute Acid Hydrolysis

	Glucose	Xylose	Galactose	Arabinose	Mannose
After first stage ^b					
% Theoretical value in original feedstock	19.8	63.5	81.3	47.6	62.0
% Monomeric sugar	92	98	93	100	92
After second stage ^c					
% Theoretical value in original feedstock	30.1	0	0	2.2	1.5
% Monomeric sugar	87	N/A	N/A	100	88
Combined two-stage					
% Theoretical value in original feedstock	49.9	63.5	78.1	49.8	63.5
% Monomeric sugar	89	98	93	100	91
% Converted to furfural	N/A	27%	N/A	N/A	N/A
% Converted to HMF	3	N/A	N/A	N/A	24
Unaccounted	12%	18%	-5%	-5%	-5%

^aMonomers + oligomer; N/A: not applicable.

^bFirst stage at 200°C, 0.4% sulfuric acid for 5 min.

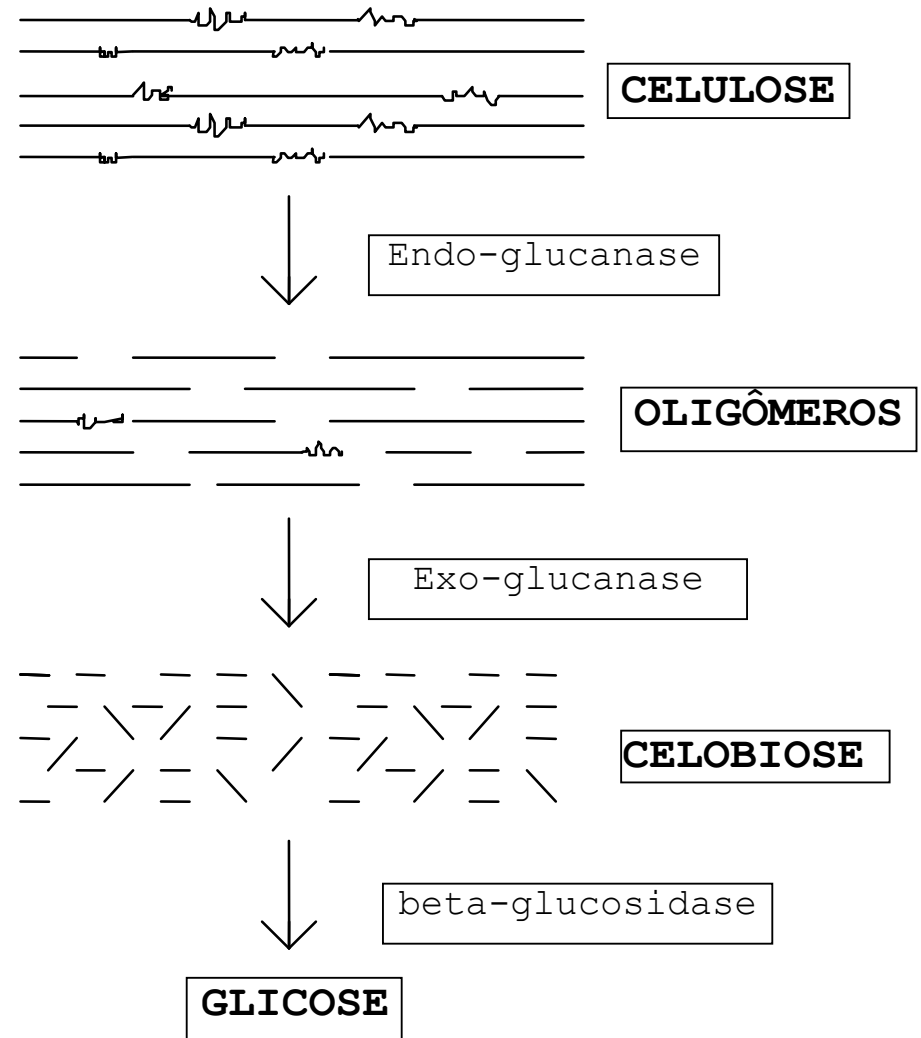
^cSecond stage at 215°C, 0.4% sulfuric acid for 3 min.

Hidrólise enzimática de celulose - uma solução possível

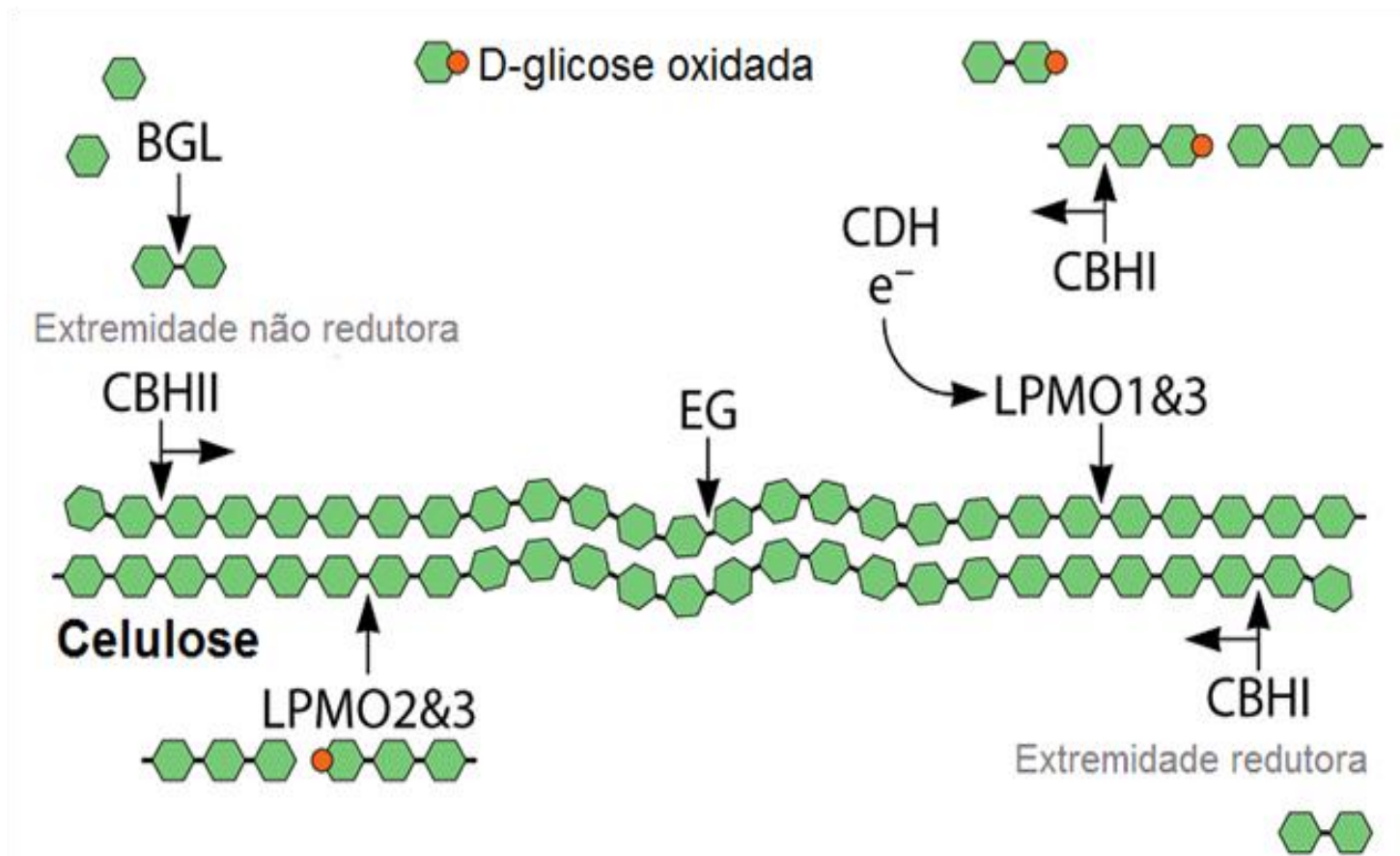
Celulose

Sinergismo na ação das celulases

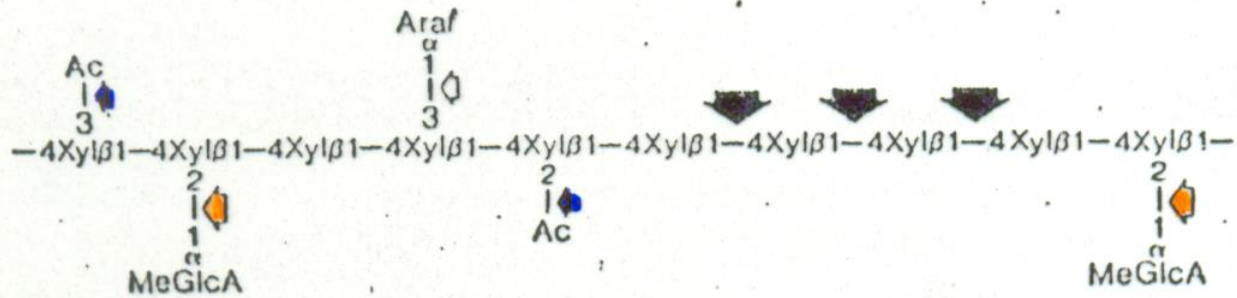
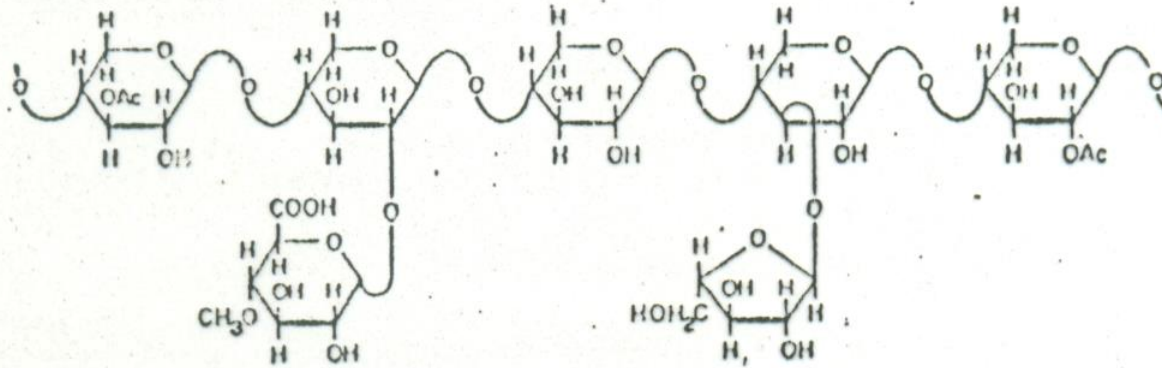
Enzima	Atividade relativa das celulases
Endo-glucanase	< 1%
Exo-glucanase	< 1%
β -glucosidase	Nenhuma
Endo-glucanase + β -glucosidase	5%
Exo-glucanase + β -glucosidase	4%
Endo-glucanase + Exo-glucanase + β -glucosidase	103%
Caldo de cultura original	100%



Novas enzimas empregadas comercialmente (LPMOs)



Hemicellulose



endo-1,4- β -xylanase (EC 3.2.1.8)

β -xylosidase (EC 3.2.1.37)

α -glucuronidase (EC 3.2.1.)

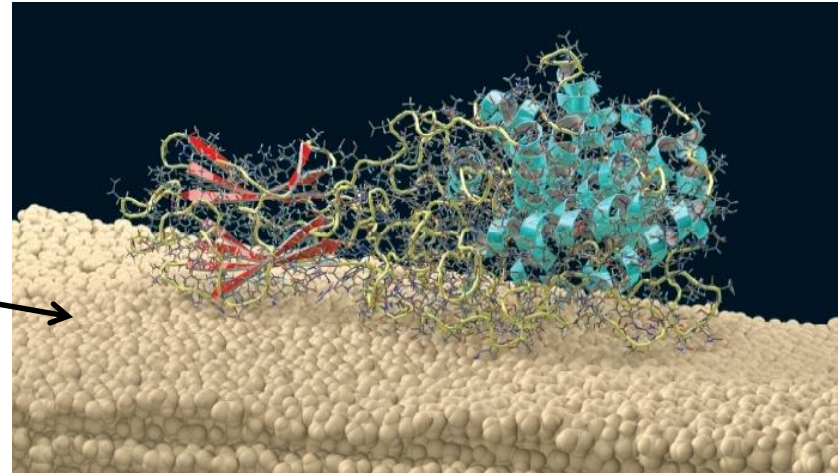
α -L-arabinofuranosidase (EC 3.2.1.55)

acetyl esterase (EC 3.1.1.6) or acetyl xylan esterase ?

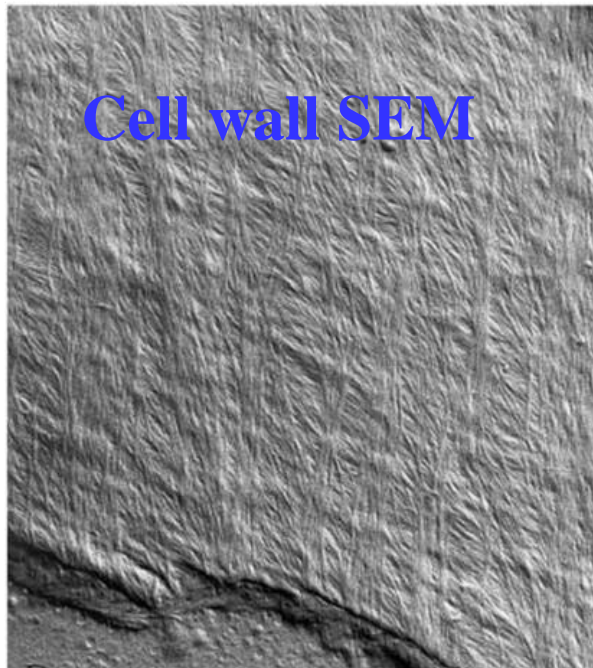


A biomassa lignocelulósica é recalcitrante à ação das enzimas

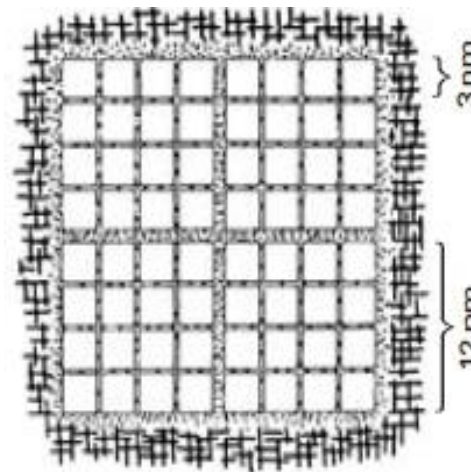
A celulose não é uma molécula disponível quando contida na parede celular



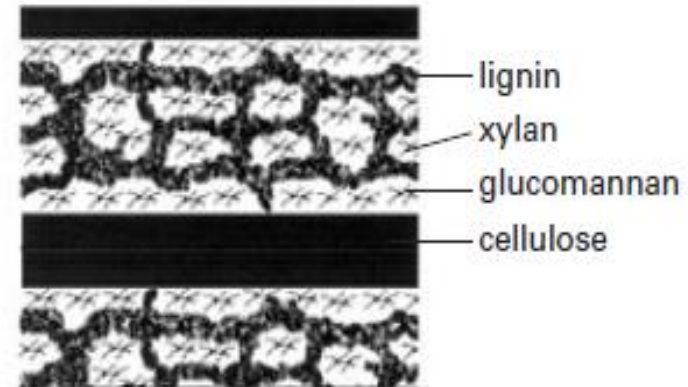
A lignina e a hemicelulose limitam a permeabilidade e o acesso à celulose contida na parede celular



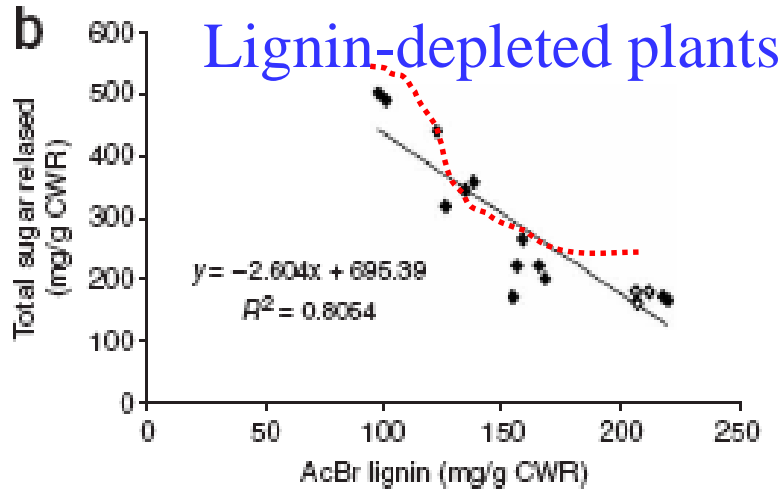
Cell wall models



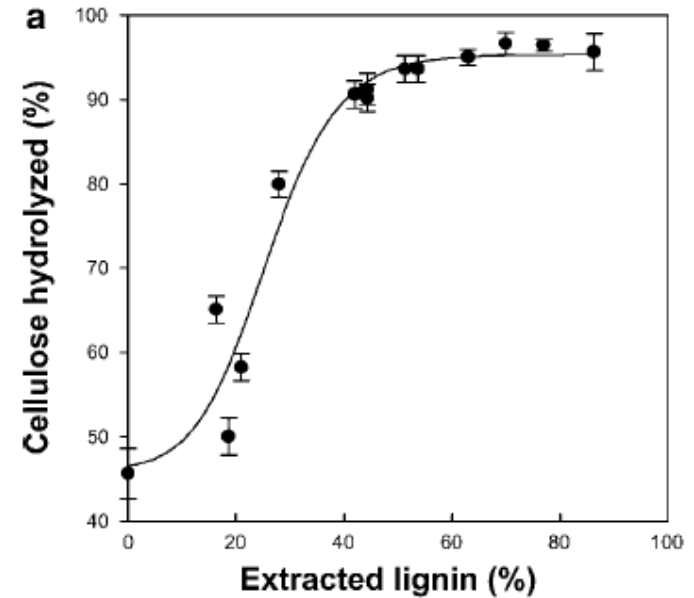
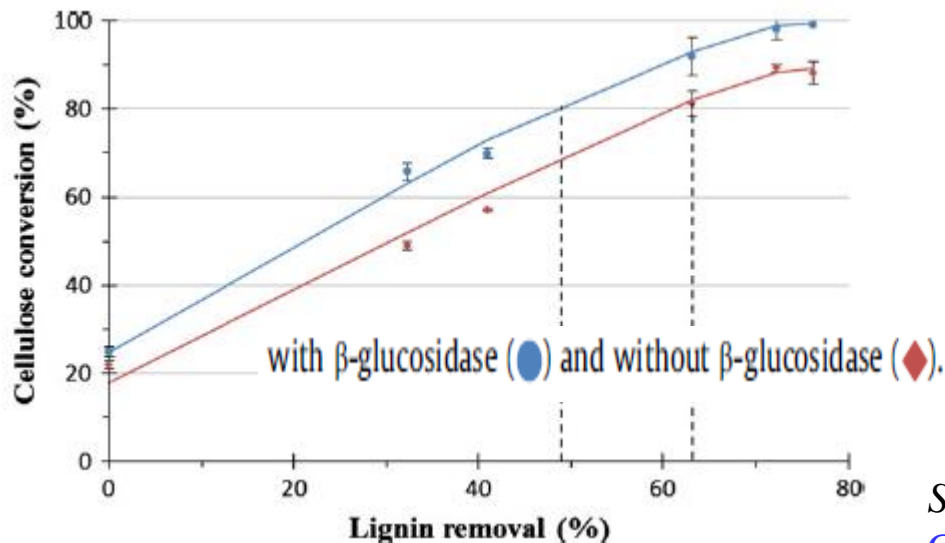
□ cellulose fibril ● polyoses ✕ lignin



É necessário remover ao menos um dos componentes antes da hidrólise enzimática - processos de pré-tratamento são necessários



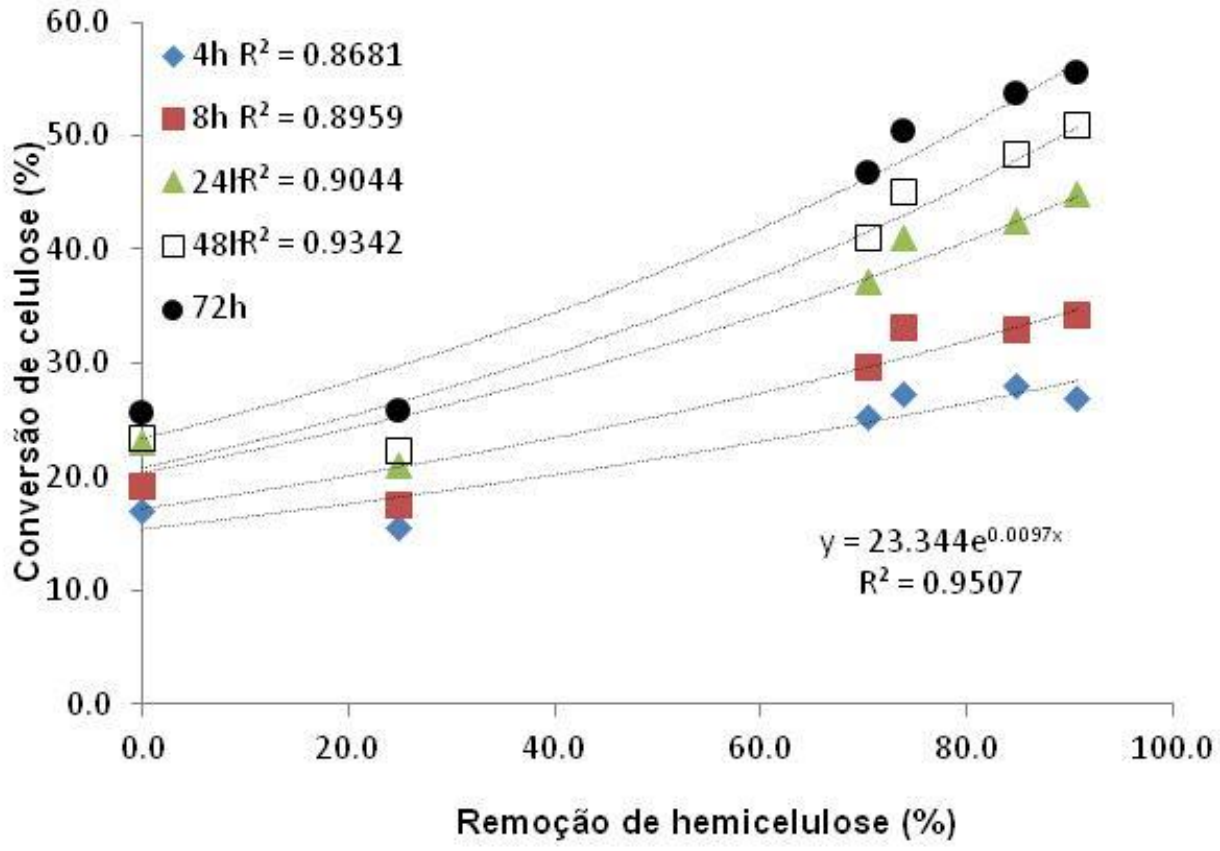
Chen and Dixon, Nature Biotechnology, 2007
Transgenic alfalfa



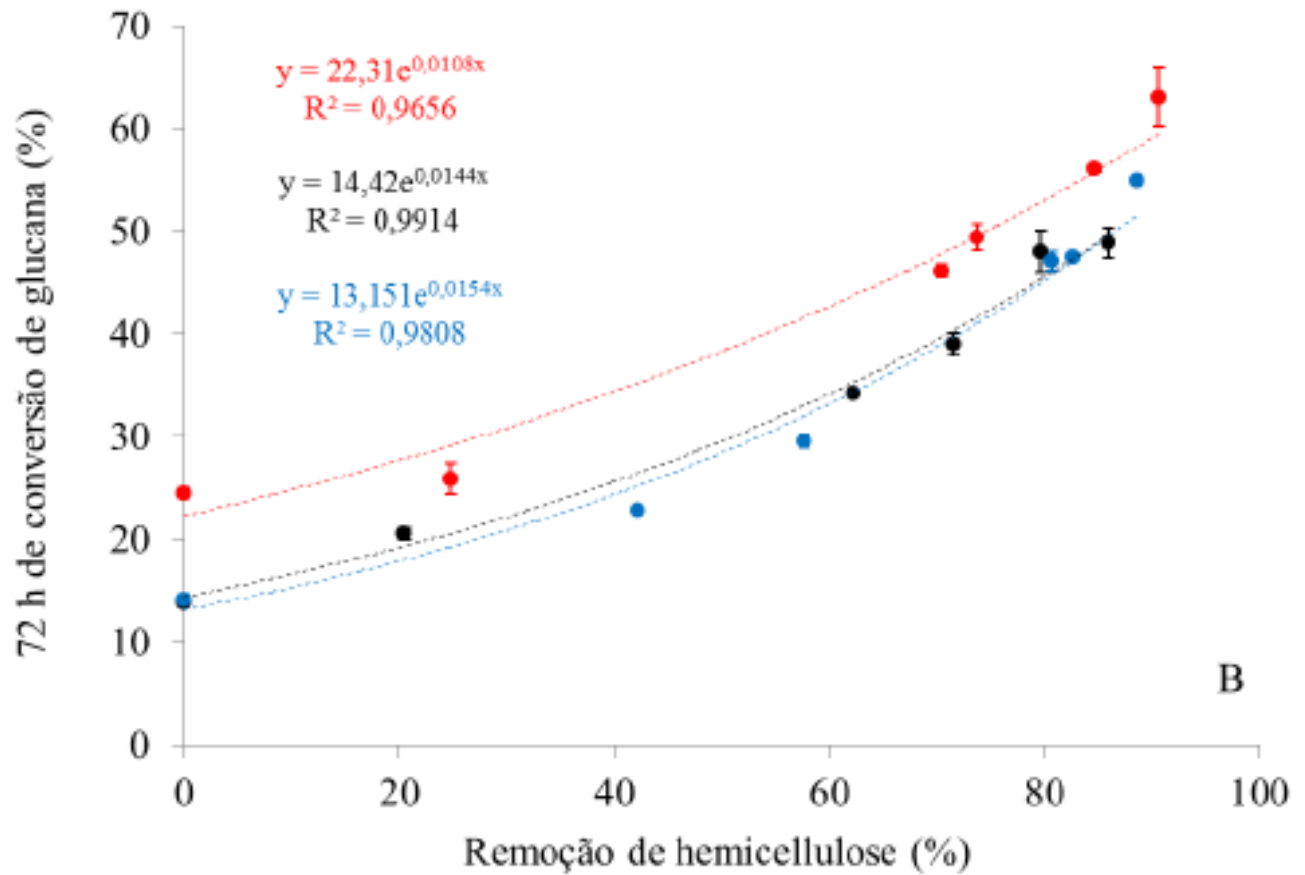
Lee et al., Biotechnol Bioeng, 2009
Selectively delignified Maple using ionic liquids

Siqueira et al., Applied Energy, 2013
Chlorite delignified sugarcane bagasse

É necessário remover ao menos um dos componentes antes da hidrólise enzimática - processos de pré-tratamento para remoção de hemiceluloses - pré-hidrólise ácida

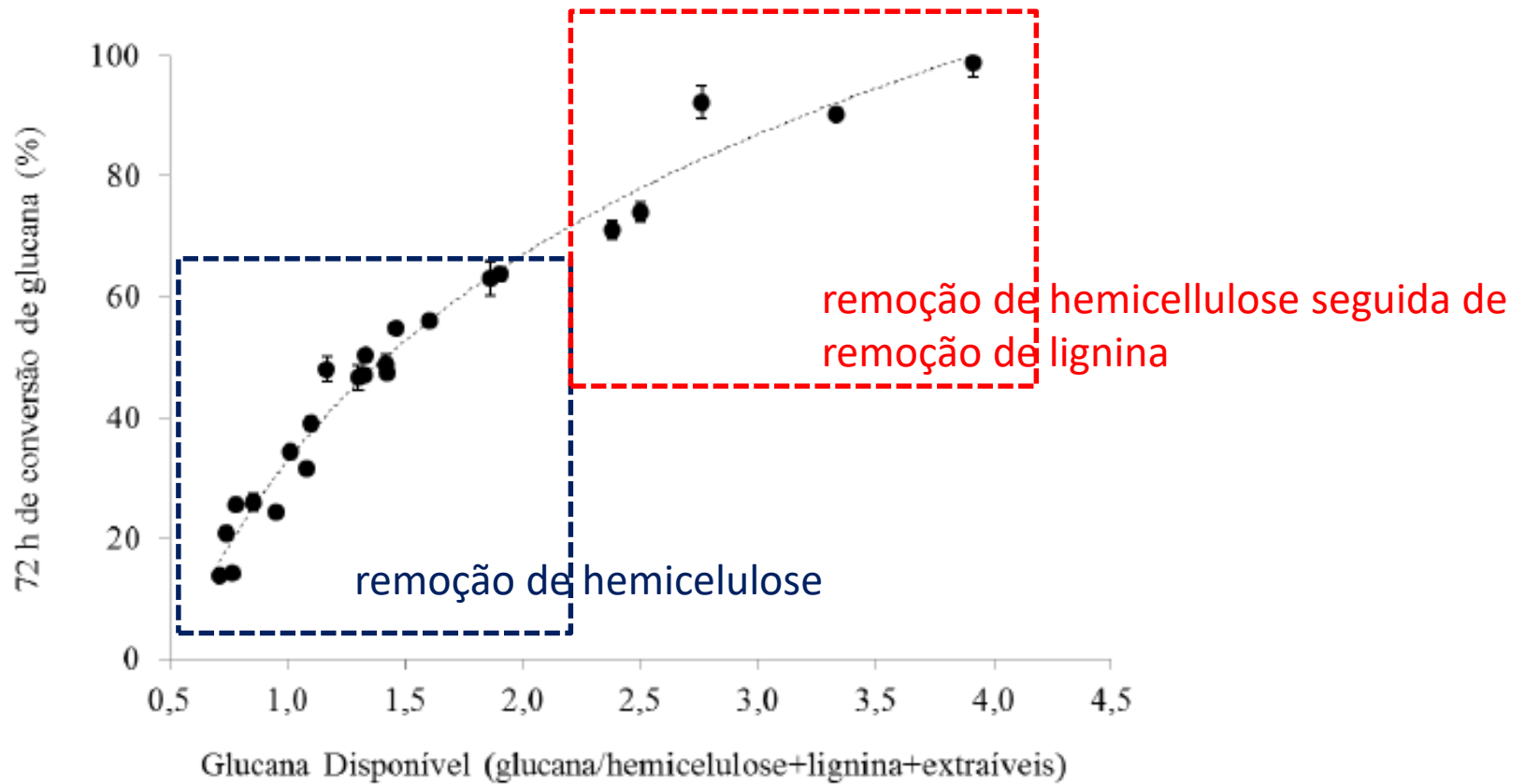


Efeito da remoção de componentes na digestibilidade do material pré-tratado

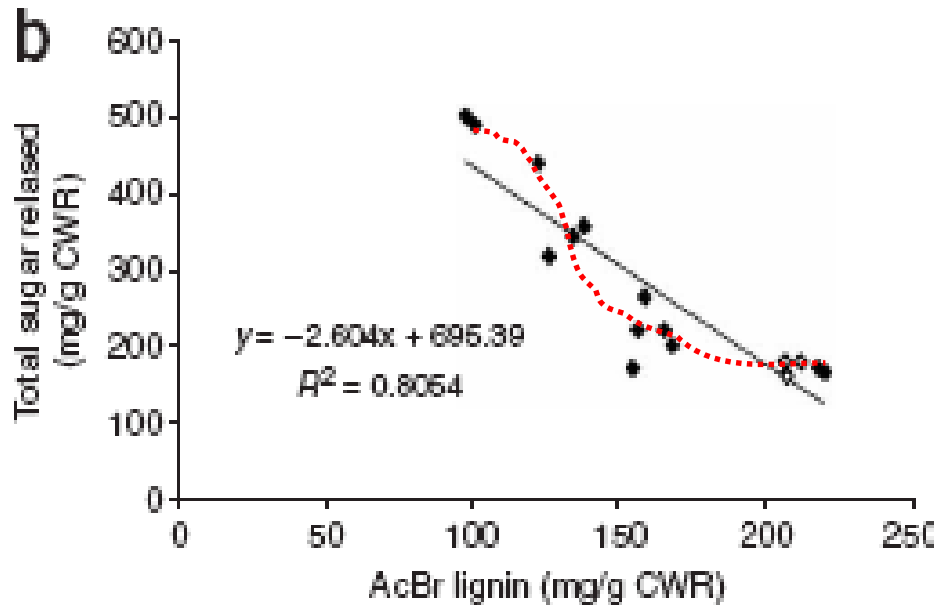


Remoção de hemicelulose em meio ácido

Efeito combinado da remoção de componentes

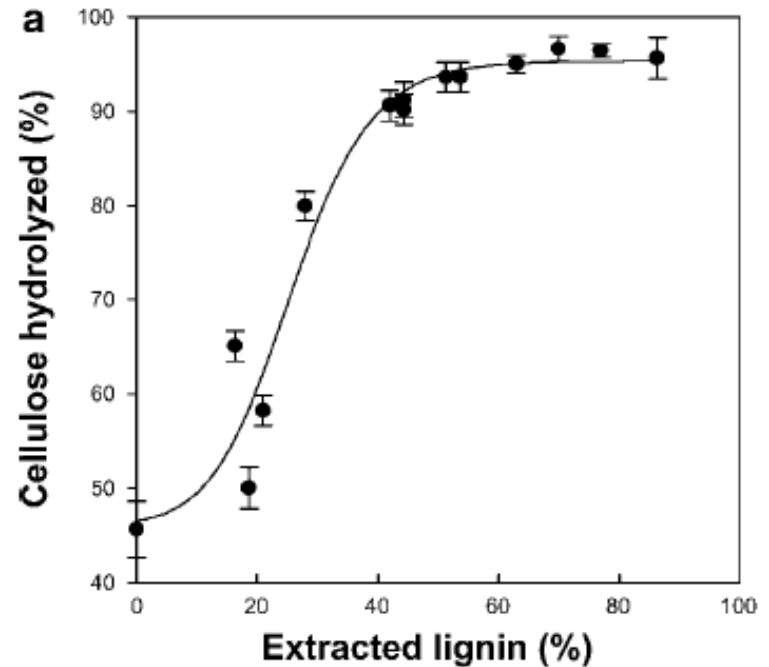


Lignin-depleted plants



Chen and Dixon, Nature Biotechnology, 2007

Transgenic alfalfa

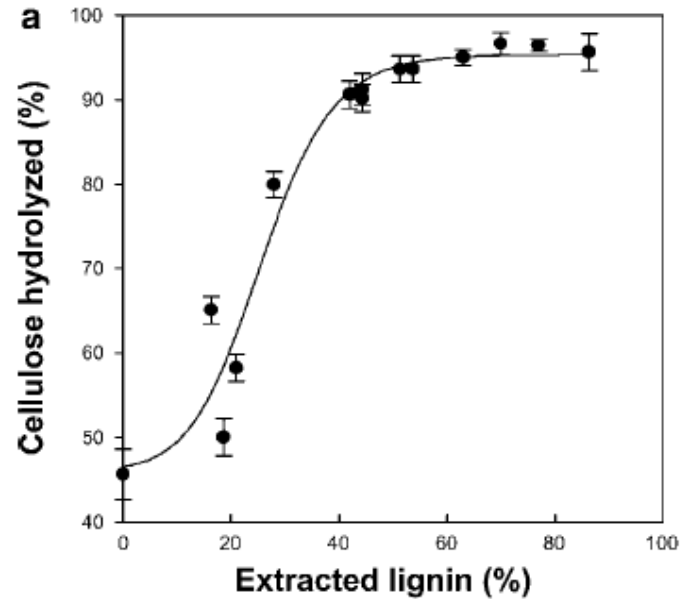
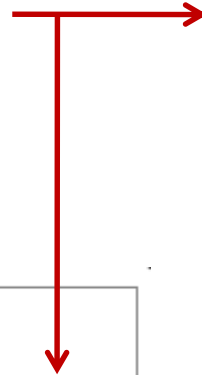


Lee et al., Biotechnol Bioeng, 2009

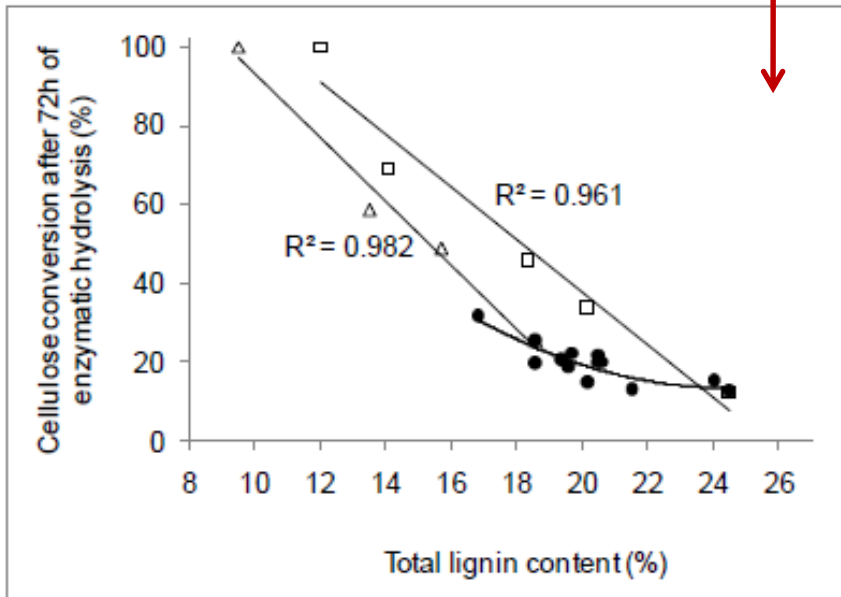
Selectively delignified Maple using ionic liquids

Partial delignification is enough, but wood chips are not disrupted at this delignification level

>> However, for wood chips, a mechanical fibrillation is necessary



Lee et al., *Biotechnol Bioeng*, 2009
Selectively delignified Maple using ionic liquids



Masarin et al., *Biotechnol Biofuels*, 2011
Sugarcane hybrids with varied lignin contents

Figure 3 Cellulose conversion as a function of lignin.

Tratamento mecânico associado ao pré-tratamento químico

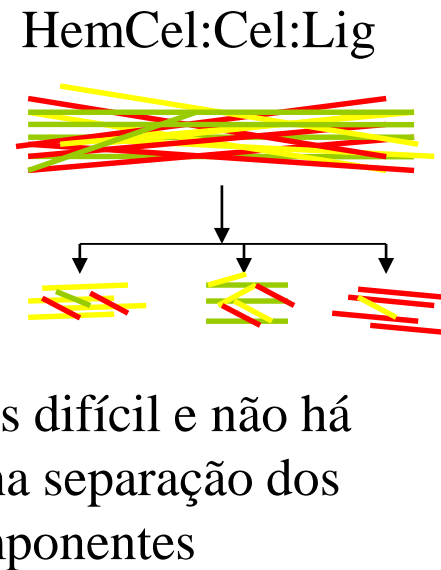
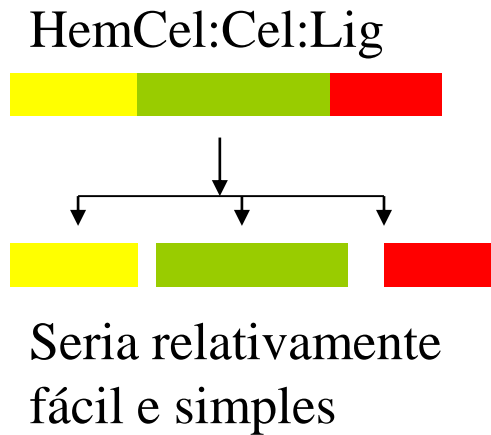


Fig. 6 Size reduction of dilute acid-pretreated corn stover by disk milling. **a** Dilute acid-pretreated sample; **b** dilute acid-pretreated and disk-milled sample

Biorefinarias (*aula 14*)

(conceitos de uso integrado da biomassa vegetal)

O problema



A solução:????

Há uma infinidade de processos (planejados, algumas vezes testados e **poucas vezes demonstrados em escala ampliada**) que propõem vias de fracionamento