



Caracterização de biomassa visando à produção de etanol de segunda geração

VITÓRIA QUINCOSES AZEVEDO¹, CLÁUDIA FERNANDA LEMONS E SILVA², JULIANA SILVA LEMÕES³,
SABRINA PERES FARIAS⁴.

¹Universidade Federal de Pelotas – vitaazevedo@hotmail.com

²Centro de Engenharias/UFPel – lemonsclau@gmail.com

³Instituto de Química/UFRGS – julianalemoes@yahoo.com.br

⁴Universidade Federal de Rio Grande – s.pfarias@yahoo.com.br

Palavras-chave: celulose, hemicelulose, lignina, pré-tratamento

Resumo

Deve-se conhecer detalhadamente a biomassa a ser utilizada em um processo, pois são essas características que irão fornecer informações para determinar o método a ser utilizado. Nesse contexto, o presente estudo objetivou a caracterização das biomassas de arundo, palha e casca de arroz quanto ao teor de celulose, hemicelulose e lignina antes e após o pré-tratamento. A caracterização foi feita de acordo com a metodologia descrita por Dunning e Dallas (1949) e os cálculos a partir das equações descritas por Sluiter et al. (2005). Os valores encontrados para as biomassas *in natura* foram, arundo 32,3% de celulose, 41,5% de hemicelulose e 20,9% de lignina, para casca de arroz 30,4, 31,2 e 21,2% e palha de arroz 36,9, 36,8 e 13,3% respectivamente. Já para as biomassas pré-tratadas, os teores encontrados de celulose, hemicelulose e lignina foram arundo 69,5, 15,5 e 10,2%, casca de arroz 62,4, 22,7 e 14,8% e palha de arroz 78,4, 16,1 e 5,3% respectivamente. Para as biomassas pré-tratadas a fração de celulose aumentou em relação às biomassas *in natura* e a de hemicelulose e lignina diminuíram. Como o objetivo é a produção de etanol de segunda geração através da fração celulósica, essa diminuição é desejável e indica uma grande solubilização da fração hemicelulósica e de lignina.

Falta o título em inglês

Keywords: cellulose, hemicellulose, lignin, pre-treatment

Abstract

It is very important to know the details of the biomass to be used in a process, because their specific characteristics will provide the necessary information to determine the method to be utilized. In this sense, this study objective is the characterization of the biomasses of arundo, straw, and rice husk as the content of cellulose, hemicelluloses, and lignin before and after treatment. The characterization was made according to the methodology described by Dunning and Dallas (1949) and the calculations according to Sluiter et al. (2005) described equations. The values found for the biomasses *in natura* were as follows: arundo 32.3% cellulose, 41.5% hemicellulose and lignin 20.9%, rice husk 30.4%, 31.2%, and 21.2%, and rice straw 36.9%, 36.8%, and 13.3%, respectively. For the pre-treated biomasses, the levels found of cellulose, hemicelluloses, and lignin were: arundo 69.5%, 15.5%, and 10.2%, rice husk 62.4%, 22.7%, and 14.8%, rice straw 78.4%, 16.1%, and 5.3%, respectively. In the pre-treated biomasses the fraction of cellulose increased relatively to the biomasses *in natura*, for the hemicellulose

and lignin they decreased. Since the goal is the second generation ethanol production through cellulosic fraction, this reduction is desirable and indicates a large solubilization of hemicellulose and lignin fraction.

INTRODUÇÃO

Novas alternativas para geração de energia que sejam renováveis e que não prejudiquem o meio ambiente têm sido buscadas. Uma alternativa são os biocombustíveis, como o etanol de segunda geração, que tem um potencial promissor devido ao fato de que a matéria-prima utilizada para sua produção é um subproduto das atividades agrícolas, e por apresentar poucos nutrientes não serve para alimentação humana e animal. Por este motivo, o aproveitamento desses resíduos para a produção de combustível é uma forma extremamente vantajosa para a destinação final da biomassa (HICKERT, 2010).

Outra vantagem de utilizar essas biomassas é que diminui consideravelmente a competição pelo uso da terra para produção de alimentos. Sem precisar ampliar os canaviais, usando apenas a palha e o bagaço, o Brasil tem potencial de aumentar em 50% a produção de etanol (STAVELA; ARAÚJO; PORTO, 2014). Apesar das grandes vantagens, ainda são encontradas algumas dificuldades, como por exemplo, tecnologias que não estão completamente desenvolvidas, com baixo rendimento na conversão da matéria-prima em bioetanol e com custo de produção elevada.

Qualquer matéria que tenha em sua composição açúcar ou outro carboidrato pode ser utilizada como matéria-prima para produção de etanol. De acordo com o tipo de carboidratos presentes na matéria-prima, elas podem ser classificadas em três grupos diferentes: materiais açucarados, materiais amiláceos e lignocelulósicos, sendo este último grupo provenientes de vegetais que necessitam de pré-tratamento físico e químico vigorosos para obtenção de etanol, como casca e palha de arroz, arundo, entre outros (BARCELOS, 2012).

As fontes renováveis mais encontradas na natureza são as biomassas lignocelulósicas (CASTRO; PEREIRA JR, 2010), por isso tornam-se atrativas para produção de etanol de segunda geração. Essas biomassas são constituídas por três principais polímeros: lignina, hemicelulose e celulose (SOUSA, 2014).

São encontrados cerca de 40-60% de celulose, 20-40% de hemicelulose e 15-25% de lignina (PEREIRA JR et al., 2008), porém a proporção destes componentes pode variar dependendo da espécie da planta, idade, tempo de colheita e condição ou estágio de crescimento (BARCELOS, 2012). Por este motivo, se faz necessário conhecer a estrutura e as características dos principais componentes da biomassa lignocelulósica: celulose, hemicelulose e lignina.

O *Arundo donax* L. é uma planta que apresenta um grande potencial para produção de etanol de segunda geração, por se adaptar facilmente em qualquer condição ambiental. Apesar de exigir grandes quantidades de água para seu crescimento, apresenta pouca exigência acerca da fertilidade do solo, tem um crescimento rápido e uma produtividade elevada (SOUSA, 2014).

Outra cultura que apresenta grande potencial para aproveitamento de biomassa é a cultura do arroz irrigado. Com cerca de 11 milhões de toneladas de arroz o Brasil está entre os dez principais produtores mundiais deste grão. A região sul contribui com cerca de 77% da produção nacional, sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor brasileiro, com 65% desta produção (BRASIL, 2014). Com esse aumento da produção, aumenta-se também a quantidade de resíduos gerados, na qual se destacam a palha e a casca de arroz.

Para que se tenha uma maior eficiência na obtenção de biocombustível é necessário conhecer profundamente a biomassa que será utilizada. Isso porque é esta caracterização que irá fornecer informações importantes para que seja determinado o melhor processo ou método a ser utilizado, e assim, obter maiores rendimentos, minimizar custos e impactos ambientais (OLIVEIRA, 2013). Nesse contexto, o presente estudo objetiva a caracterização das biomassas de arundo, palha e casca de arroz quanto ao teor de celulose, hemicelulose e lignina antes e após o pré-tratamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo da amostra

Para este trabalho foram selecionadas as biomassas

de *Arundo donax* L. (planta inteira) e *Oriza sativa* L., cultivar Puitá (casca e palha de arroz).

As biomassas pré-tratadas foram adquiridas do trabalho realizado por FARIAS et al. (2014) cujo pré-tratamento ácido foi feito com H₂SO₄ 1,1% e o alcalino com NaOH 0,5 M.

Caracterização da biomassa

A análise para caracterização química das biomassas *in natura* e pré-tratadas foi feita de acordo com a metodologia descrita por Dunning e Dallas (1949), que se fundamenta na sacarificação quantitativa dos polissacarídeos de diferentes matérias-primas vegetais.

Foram pesadas separadamente em balança analítica 2,0 g de amostra previamente seca em estufa durante 24 h e peneiradas a fim de selecionar as frações granulométricas reduzidas (utilizaram-se peneiras de 32 mesh). As amostras foram transferidas para béqueres de 100 mL e adicionados 10 mL de ácido sulfúrico 72% v/v. A mistura foi levada para banho-maria a 45°C, por 7 min e agitada constantemente com bastão de vidro. Após esta etapa, as amostras foram transferidas para erlenmeyers de 500 mL e adicionados 275 mL de água destilada. Os frascos foram fechados com papel alumínio e levados para autoclavar por 30 min a uma temperatura de 121°C. Depois de retiradas da autoclave e esfriadas a temperatura ambiente, as amostras foram filtradas a vácuo com o objetivo de separar a fração sólida da líquida. A fração sólida foi colocada em cadinhos de porcelana (previamente secados e pesados) e a fração líquida foi transferida para balão volumétrico de 500 mL, o qual teve seu volume ajustado com água destilada.

Para determinação da lignina, a fração sólida foi secada em estufa a temperatura de 100°C, por 24 h e em seguida pesada em balança analítica (W1). Logo após, a amostra foi calcinada a 550°C. Depois de resfriados, os cadinhos foram pesados (W2).

Já, a fração líquida foi utilizada para determinação da concentração de glicose (C1) e de açúcares redutores totais (C2) utilizando os métodos enzimáticos de glicose oxidase (kit enzimático) e DNS (Ácido 3,5 – dinitro salicílico).

Análises

Os valores de celulose, hemicelulose e lignina foram calculados a partir das equações descritas por Sluiter et al. (2005).

Celulose

O teor de celulose foi calculado pela Eq. 1:

$$celulose \left(\% \frac{m}{m} \right) = 100 C_1 \frac{0,9v}{0,96 m} \quad (1)$$

Onde

0,90 - coeficiente que resulta da relação entre peso molecular do polímero e do monômero de glicose;

0,96 - rendimento da sacarificação;

C1 - concentração de glicose (g/L);

v - volume total da solução de açúcar (L);

m - massa da amostra seca (g).

Hemicelulose

O teor de hemicelulose foi calculada pela Eq. 2:

$$hemicelulose \left(\% \frac{m}{m} \right) = 100 (C_2 - C_1) \frac{0,88v}{0,93 m} \quad (2)$$

Onde

0,88 - coeficiente que resulta da relação entre peso molecular do polímero e do monômero;

0,93 - rendimento da sacarificação;

C1 - concentração de glicose (g/L);

C2 - concentração de açúcares redutores (g/L);

v - volume total da solução de açúcar (L);

m - massa da amostra seca (g).

Lignina

O teor de lignina foi calculado pela Eq. 3:

$$lignina \left(\% \frac{m}{m} \right) = 100 \frac{(W_1 - W_2)}{m} \quad (3)$$

Onde

W1 - Resíduo seco da filtragem (g);

W2 - Peso do resíduo após calcinação (g)

m - massa da amostra seca (g).

Método enzimático de glicose oxidase (C1)

Para determinação de glicose foram adicionados 10 µL de amostra em tubos eppendorf de 2 mL, em seguida adicionado 1 mL de reagente GOD (kit

enzimático AA Wiener Lab.) aos tubos e então estes foram homogeneizados. Os tubos foram colocados em banho-maria a 37°C durante 15 min e logo após, adicionado 1 mL de água destilada. A leitura foi realizada em espectrofotômetro em comprimento de onda de 505 nm ($\lambda = 505$ nm).

Método para determinar a concentração de açúcares redutores totais (C2)

Foram retirados 100 μ L de amostra da fração líquida que foi separada anteriormente e colocados em tubos eppendorff de 2 mL. Em seguida, foram adicionados 300 μ L de solução DNS aos tubos e então estes foram homogeneizados. Os tubos foram colocados em banho-maria fervente durante 5 min e depois de retirados, foram resfriados em banho de gelo e acrescentados aos tubos 1 mL de água destilada em cada um. A leitura foi realizada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 540 nm ($\lambda = 540$ nm).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização das biomassas

Os resultados de composição química das biomassas *in natura* analisadas são apresentados na Tabela 1. Em percentagem, as quantidades de celulose e hemicelulose são semelhantes. Para o arundo e a casca de arroz, a fração de hemicelulose foi superior a de celulose, o que mostra que pode ser interessante utilizar essa fração para produção de etanol, já que em sua composição há uma grande quantidade de açúcares. Para a maioria das espécies, a fração de celulose é maior que a de hemicelulose.

Composição química das biomassas *in natura* de arundo, palha e casca de arroz.

	CELULOSE [%]	HEMICELULOSE [%]	LIGNINA [%]
Arundo	32,3	41,52	20,89
Casca de Arroz	30,36	31,17	21,20
Palha de Arroz	36,98	36,87	13,34

No estudo realizado por Hickert (2010) foram encontrados 34% de celulose, 13% de hemicelulose e 20% de lignina para a casca de arroz. Roberto et al. (2003) encontrou para palha de arroz valor de celulose

maior que o encontrado no presente trabalho, sendo 43% de celulose, 22% de hemicelulose e 17% de lignina, enquanto que foram encontrados valores de 36,98%, 36,87% e 13,34%, respectivamente.

Já, no trabalho realizado por Lemons e Silva et al. (2015), a composição química para o arundo foi de 31,10% de celulose, 35,27% de hemicelulose e 18,5% de lignina. Apesar dos valores encontrados para as frações celulósica e de lignina serem próximos, o valor da hemicelulose no presente trabalho foi maior do que aquele encontrado por Lemons e Silva et al. (2015). Essas diferenças de valores podem ocorrer devido à variabilidade natural de composição química das matérias-primas ou época de colheita, ou seja, o fato pode estar associado à origem da biomassa ou até mesmo ao método de análise utilizado (CARMO, 2013).

Para as biomassas pré-tratadas, os valores de celulose, hemicelulose e lignina estão representados na tabela 2. Pode -se observar que a quantidade de celulose para as três biomassas pré-tratadas aumentou em relação às biomassas *in natura* e a de hemicelulose e lignina diminuíram.

Composição química das biomassas pré-tratadas de arundo, palha e casca de arroz.

	CELULOSE [%]	HEMICELULOSE [%]	LIGNINA [%]
Arundo	69,48	15,55	10,17
Casca de Arroz	62,43	22,70	14,79
Palha de Arroz	78,42	16,08	5,32

Como as frações de hemicelulose e lignina diminuíram isso pode refletir em uma melhora na conversão enzimática da celulose dessas biomassas, já que essas frações formam uma camada protetora ao redor da celulose, reduzindo assim a eficiência do ataque enzimático.

CONCLUSÃO

1 - A caracterização da biomassa é de fundamental importância para avaliação do potencial de utilização dessas matérias-primas para a produção de etanol de segunda geração, principalmente para definição da fração (celulose e/ou hemicelulose) que será utilizada

no processo.

2 - Houve grande solubilização das frações hemicelulósica e de lignina, o que é desejável, já que neste estudo o objetivo é a produção de etanol de segunda geração através da fração celulósica.

REFERÊNCIAS

- BARCELOS, C. **Aproveitamento das Frações Sacarínea, Amilácea e Lignocelulósica do Sorgo Sacarino [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] para a Produção de Bioetanol.** 2012. 334f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- BRASIL, Ministério de Minas e Energia. **Inventário Energético de Resíduos Rurais.** Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <<http://www.epe.gov.br/mercado/Documents/S%C3%A9rie%20Estudos%20de%20Energia/DEA%2015%20-%2014%20-%20%20Invent%C3%A1rio%20Energ%C3%A9tico%20de%20Res%C3%ADduos%20Rurais.pdf>> Acesso em: 09 jul. 2015.
- CARMO, J. R. **Produção de etanol e pectinase por *Kluyveromyces marxianus* CCT 4086 utilizando resíduos do processamento de café (*Coffea arábica* L.).** 2013. 253f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras/UFLA, Lavras.
- CASTRO, A. M.; PEREIRA JR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulasas na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v.33, p.1-12, 2010.
- DUNNING, J.W., DALLAS, D. E. Analytical procedures for control of saccharification process. **Analytical Chemistry**, Washington, v.21, n.6, p. 727- 729, 1949.
- FARIAS, S. P.; LEMÓES, J. S.; LEMONS E SILVA, C. F.; MESSIAS, R. S.; RUIZ, W. A. Perda de massa de casca de arroz, palha de arroz e *Arundo donax* L. submetidos à pré-tratamento químico. In: SIMPÓSIO ESTADUAL DE AGROENERGIA, 5, 2014, Pelotas. Anais., Embrapa Clima Temperado, 2014.
- HICKERT, L. R. **Otimização da hidrólise da casca de arroz (*Oryza sativa*) e a avaliação da capacidade de bioconversão deste hidrolisado a etanol e xilitol por leveduras.** 2010. 117f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Meio Ambiente) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- LEMONS E SILVA, C. F.; SCHIRMER, M. A.; MAEDA, R. N.; BARCELOS, C. A.; PEREIRA JR, N. Potential of giant reed (*Arundo donax* L.) for second generation ethanol production. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.18, p.10-15, 2015.
- OLIVEIRA, P.A. **Caracterizar a Biomassa é fundamental para valorizá-la.** 2013. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2013_1/biomassa/index.htm>. Acesso em: 6 mai. 2015.
- ROBERTO, I. C.; MUSSATO, S. I.; RODRIGUES, R. C. L. B. Dilute-acid hydrolysis for optimization of xylose recovery from rice straw in a semi-pilot reactor. **Industrial Crops and Products**.v.17, p.171-176, 2003.
- SANTOS, J. M. C. F. **Avaliação da biomassa de plantas bioenergéticas.** 2009. 79f. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologias Ambientais) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
- SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D. **Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass.** Golden, NREL, 2005, 14p.
- SOUSA, T. M. **Estudo da hidrólise enzimática no tratamento de biomassa lignocelulósica usada como matéria-prima para a produção de biocombustível.** 2014. 48f. Monografia (Bacharelado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- SOUZA, G. Q. **Caracterização química do *Arundo donax* para a obtenção de etanol 2G.** 2014. 43f. Monografia (Bacharelado em Engenharia de Energia) - Universidade de Brasília, Brasília.
- STAVELA, T.; ARAÚJO, T.; PORTO, E. GranBio inicia produção de etanol de segunda. Disponível em:<http://www.granbio.com.br/wp-content/uploads/2014/09/partida_portugues.pdf>. Acesso em: 19 mar 2015.