

Alternativas de pré-tratamento de palha de milho para a produção de etanol de segunda geração

Pretreatment alternatives for corn straw to the production of second generation ethanol

RESUMO

No cenário atual, é importante utilizar alternativas da linha de produção de biocombustíveis que buscam produtos cada vez mais sustentáveis. Neste trabalho, utilizamos duas estratégias de pré-tratamento do resíduo agroindustrial, palha de milho, para o processo de produção do etanol de segunda geração: i) o uso de um pré-tratamento alternativo que permita reutilizar o agente químico e ii) o reciclo de enzimas. Para realizar o estudo foi feita uma divisão das etapas até o momento, com outras etapas numa perspectiva futura. A primeira etapa se baseou no pré-tratamento de palha de milho com soluções aquosas de ácido, de base e de eletrólito volátil, para que posteriormente sejam realizados ensaios hidrolíticos enzimáticos, utilizando estas biomassas pré-tratadas.

PALAVRAS-CHAVE: Pré-tratamento, Resíduos Agroindustriais, Biocombustíveis.

ABSTRACT

In the current scenario, it is possible to use alternatives in the biofuel production line that seek increasingly sustainable products. In this work, we use two strategies for corn straw, an agro-industrial waste, pretreatment to the production process of second generation ethanol: i) the use of an alternative pretreatment that allows reusing the chemical agent and ii) the recycling of enzymes. To carry out the study, a division of the stages has been made so far, with other stages in a future perspective. The first stage was based on the pretreatment of corn straw with aqueous solutions of acid, base and volatile electrolyte, so that subsequently enzymatic hydrolytic tests can be carried out, using these pretreated biomasses.

KEYWORDS: Pretreatment. Agro-industrial Residues. Biofuels.

Carolina Frasson

frasson@alunos.utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

Lucimara Lopes da Silva

lucimarasilva@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

Pamela de Almeida Laurentino

pamelalaurentino@alunos.utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

Lourenço Veiga

lveiga@alunos.utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil

Recebido:

Aprovado:

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

Gráfico 1 - Matriz Elétrica Mundial 2016

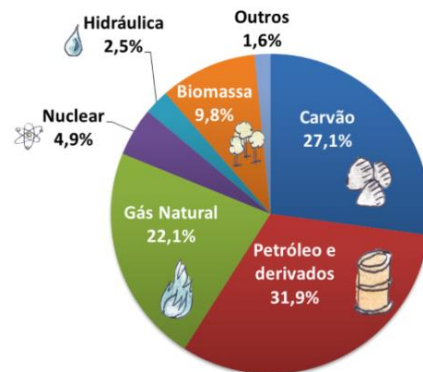
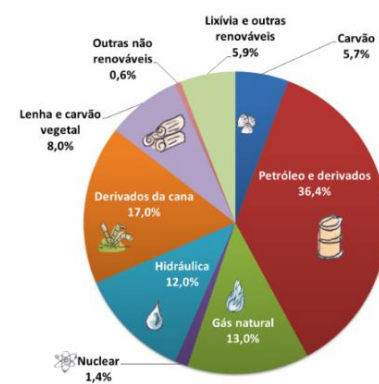


Gráfico 2 - Matriz Elétrica Brasileira 2017



Fonte: EPE (2020)

Analisando os gráficos acima se percebe que o Brasil ocupa posição de destaque ao apresentar uma matriz energética com 42,9% de fontes renováveis, enquanto a média mundial é de 14%. Grande parte do sucesso brasileiro se deve às fortes iniciativas na área de agroenergia, sendo que a cana-de-açúcar e os seus derivados constituem a segunda maior fonte de energia primária da matriz energética nacional. Apesar de a indústria sucroalcooleira do Brasil já existir a vários séculos, foi com o a implantação do ProÁlcool, em 1975, que esse setor se desenvolveu tecnologicamente, diminuindo nossa dependência por petróleo importado (EPE, 2020; NASS et al., 2007).

Entretanto, segundo a Companhia Nacional de Abastecimento, a área total colhida pelo setor sucroenergético, na safra 2019/20, foi de 8,4 milhões de hectares, evidenciando uma limitação fundamental na produção de etanol: originam-se, em geral, de plantas que exigem áreas de cultivo extensas. Assim, mesmo que no momento não haja conflito no uso da terra para biocombustíveis e alimentos, isso poderá verificar-se no longo prazo, se o volume de petróleo a substituir for significativo. (CONAB, 2020)

Com isso, os produtos lignocelulósicos, como biomassa de plantas, são recursos potenciais para a substituição dos combustíveis fósseis, através da produção do etanol de segunda geração (2G), pois além de ser uma fonte de energia renovável e favorável para o meio ambiente, não é utilizado para a alimentação humana, ou seja, não compete com a agricultura voltada para esta finalidade, e pode ser encontrado em grandes quantidades, como em resíduos agrícolas e florestais e a baixo custo (SANTIAGO & RODRIGUES, 2017; GHATAK, 2011).

O presente trabalho tem como objetivo encontrar alternativas do pré-tratamento da palha de milho para a produção de etanol de segunda geração, o que viabilizaria economicamente o processo, visto que as etapas de hidrólise enzimática e pré-tratamento representam juntas mais de 50% do custo global do processo. Pretendemos alcançar este objetivo através do reciclo do eletrólito volátil usado na etapa de pré-tratamento e das enzimas utilizadas na etapa de hidrólise das biomassas. Para isto, foram realizados pré-tratamentos de palha de milho com i) eletrólito volátil carbamato de amônio ii) ácido e iii) sequencial de ácido-base para fins de comparação, já que estes últimos são promissores devido sua alta eficiência e baixo custo (LEE, 2015).

Posteriormente, serão realizados a caracterização físico-química dos resíduos *in natura* e pré-tratados, a fim de quantificar as quantidades de celulose, hemicelulose e lignina destas amostras e serão realizados ensaios de adsorção e dessorção de enzimas hidrolíticas adsorvidas nestes resíduos lignocelulósicos pré-tratados, visando o reciclo destas enzimas no processo.

METODOLOGIA

A metodologia dessa pesquisa compreende dois tipos de pré-tratamento, sendo esses o pré-tratamento com solução de carbamato de amônio e o pré-tratamento dividido em duas etapas: etapa com solução de ácido sulfúrico, seguida de uma etapa com solução de hidróxido de sódio.

No pré-tratamento com solução de carbamato de amônio, este eletrólito volátil foi colocado em contato com a palha de milho seca. Para definir as condições dos experimentos estabeleceu-se um planejamento experimental 2^3 como pode ser observado na Tabela 1. Das condições analisadas estão temperatura, razão de biomassa para solução salina, e temperatura do banho térmico.

Tabela 1 – Planejamento experimental do pré-tratamento de palha de milho utilizando a solução de carbamato de amônio. Foram realizadas até o momento as etapas em negrito.

Experimento	Razão (g de Biomassa: mL de Sal)	Tempo (h)	Temperatura (°C)
1	1:5	2	30
2	1:5	2	120
3	1:5	48	30
4	1:5	48	120
5	1:10	48	30
6	1:10	2	120
7	1:10	2	30
8	1:10	48	120

Fonte: Autoria própria (2020).

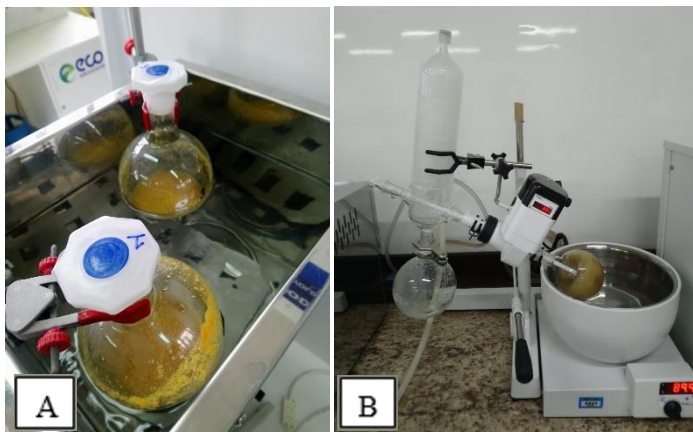
A solução do eletrólito volátil carbamato de amônio foi preparada conforme mencionado por WATANABE (2006) e DA SILVA (2010), onde foi levado em consideração o equilíbrio proveniente de soluções diluídas contendo os eletrólitos voláteis.

A quantidade de palha de milho seca utilizada foi em torno de 6,0000 g e cada um dos balões volumétricos de 250mL recebeu a quantidade de solução de carbamato de amônio prevista no planejamento.

Os balões foram colocados no banho termostático (Figura 1A) e após o tempo determinado, os balões foram pesados a fim de verificar se a solução de carbamato de amônio não teria evaporado pelas bordas da rolha, mesmo que essas tenham sido vedadas com parafilme.

Após o procedimento térmico, houve também a recuperação da solução utilizando o rotaevaporador (Figura 1B). Em sequência, as amostras já pré-tratadas foram lavadas e filtradas para então prosseguir para a estufa onde foram secas.

Figura 1 – Amostras submetidas (A) ao sistema de banho térmico e (B) à rotaevaporação.



Fonte: Autoria própria (2019).

Foram realizados também pré-tratamentos da palha de milho utilizando o método ácido-alcálico em duas etapas visando a melhoria da hidrólise enzimática da celulose, de acordo com a metodologia de REZENDE, 2011. Nestes ensaios, as biomassa foram pesadas e embebedadas nas soluções químicas numa razão sólido:líquido de 1:10 e autoclavadas em uma autoclave vertical AV-75 Phoenix, por uma hora a 120°C e 1,05 bar.

Após o tratamento das biomassa, estas foram filtradas, lavadas e guardadas em potes para serem utilizadas nos ensaios de adsorção enzimática. Os hidrolisados recuperados de ambos os pré-tratamentos foram separados em diferentes recipientes e congelados para etapas futuras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como mencionado na Tabela 1, os pré-tratamentos realizados foram limitados e os resultados apresentados a seguir fazem referência a esses experimentos. Houve perda de massa das palhas de milho pré-tratadas com a solução de carbamato de amônio (Tabela 2).

Tabela 2 – Massa perdida no pré-tratamento da palha de milho com solução de carbamato de amônio.

Experimento	Biomassa antes do pré-tratamento (g)	Biomassa após o pré-tratamento (g)	Percentual de massa perdida (%)
1	6,0009	4,04	32,7
3	6,0015	3,95	34,2
5	6,0008	3,79	36,8
7	6,0007	4,36	27,3

Esta perda de massa está relacionada à ruptura da estrutura lignocelulósica da biomassa. As águas de lavagem recuperadas nesse processo podem ser observadas na Figura 2 e a palha de milho seca resultante desse processo pode ser observada na Figura 3.

Figura 2 – Água de lavagem obtida após a filtragem das amostras de palha de milho pré-tratadas com a solução de carbamato de amônio, seguindo a sequência estabelecida na Tabela 2.



Fonte: Autoria própria (2020).

Figura 3 – Amostras de palha de milho secas: experimento 1 (A), experimento 3 (B), experimento 5 (C), e experimento 7 (D).



Fonte: (Autoria própria, 2020).

O aspecto visual das biomassas foi avaliado e constataram-se mudanças na coloração dos resíduos após os pré-tratamentos bem como das suas respectivas águas de lavagem, o que pode sustentar a especulação de ruptura da estrutura lignocelulósica e disponibilização dos carboidratos. Porém é importante ressaltar que o uso de altas temperaturas no rotaevaporador pode ter ocasionado a queima da palha, o que também resulta em mudança de coloração. Esta mudança de cor deverá ser melhor investigada posteriormente.

Em relação ao pré-tratamento da palha de milho utilizando ácido sulfúrico e hidróxido de sódio, também foram obtidas as perdas de biomassa ao final do experimento, como pode ser observado nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4 – Resultados obtidos do pré-tratamento da palha de milho utilizando soluções de ácido sulfúrico e hidróxido de sódio.

Experimento	Solução	Perda de massa (%)
1	Ácido sulfúrico 1%	28,8128 ± 0,8922
2	Ácido sulfúrico 1% + Soda cáustica 1%	47,9512 ± 3,1665

Fonte: Autoria própria (2019).

Provavelmente esta perda de massa está relacionada à dissociação da lignina, celulose e hemicelulose, que estão presentes na estrutura das biomassas. Pode-se observar também uma diferença média na perda de massa de aproximadamente 5,16% em relação aos pré-tratamentos de palha de milho utilizando a solução de carbamato de amônio e as soluções de ácido e hidróxido de sódio. O que pode indicar eficiência similar principalmente em relação ao uso do ácido comparado ao uso da solução de carbamato.

Em contrapartida a utilização da solução de ácido com soda cáustica apresentou perdas de massa maiores, indicando possivelmente maior eficiência em comparação aos outros métodos.

Na sequência os hidrolisados recuperados podem ser observados nas Figuras 4 e 5.

Figura 4 – Hidrolisados após a filtragem das amostras pré-tratadas com ácido sulfúrico 1%.

Hidrolisado de palha de milho.
Experimento feito em triplicata.



Fonte: Autoria própria (2020).

Figura 5 – Hidrolisados proveniente das amostras pré-tratadas com ácido sulfúrico 1% e hidróxido de sódio 1%.

Hidrolisado de palha de milho.
Experimento feito em duplicata.



Fonte: Autoria própria (2020).

Segundo ASSUMPÇÃO (2015), a coloração das biomassas pré-tratadas com ácido quando comparadas as amostras *in natura* escurecem, justamente pela ação do ácido nas paredes celulares dos resíduos onde ele provoca a quebra da ligação da lignina com a celulose e hemicelulose, assim gera produtos de degradação de polissacarídeos como furfural e lignina solúvel que possuem coloração marrom escura. Já após ser feito o pré-tratamento ácido-básico, a coloração dos resíduos clareia, pois acontece a remoção da lignina. Esta remoção de lignina pode ser notada ao visualizarmos as soluções hidrolisadas, que foram obtidas nas filtrações após os devidos pré-tratamentos serem realizados, onde a solução mais escura representa a filtragem das amostras utilizando o pré-tratamento combinado ácido-básico.

CONCLUSÃO

Em vista dos resultados obtidos, acredita-se que os experimentos realizados obtiveram êxito, mas para que haja confirmação é necessário prosseguir com análises de caracterização avaliando os percentuais das estruturas extraídas da palha de milho pré-tratada, seguindo o Protocolo do NREL, que valida as biomassas pré-tratadas para a produção de biocombustíveis.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à UTFPR/LD pelo suporte estrutural para que essa pesquisa ocorresse. Agradecimentos também à CNPq pelo recurso concedido, intermediado pela bolsa a um dos participantes do projeto. E, por fim, gratidão à orientadora professora doutora Lucimara Lopes da Silva por todo apoio e por proporcionar essa oportunidade de pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ASSUMPÇÃO, S. M. N. **Pré-tratamento químico combinado do bagaço da cana visando a produção de etanol de segunda geração**. 2015. 99. Dissertação de pós graduação- Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.
- BRASIL. GOVERNO FEDERAL - MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis**. 2019. Disponível em: <https://www.epe.gov.br>. Acesso em: 25 ago. 2020.
- CAMARGOS, C. M.; SILVA, R. P.; CSORDAS, Y.; SILVA, L. L.; REZENDE, C. A.. **Experimentally designed corn biomass fractionation to obtain lignin nanoparticles and fermentable sugars**. INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS, v. 140, p. 111649, 2019.
- CONAB. 2020. **Levantamentos de Safra: cana-de-açúcar. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**. Companhia Nacional de Abastecimento, Brasília. Acesso em 25 de Agosto de 2020, disponível em www.conab.gov.br
- DA SILVA, L. L., Pessoa Filho, P. de A., Miranda, E. A. (2010). **Evaluation of the effect of ammonium carbamate on the stability of proteins**. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 85(7), 962–967. doi:10.1002/jctb.2386
- EPE, Empresa de Pesquisa Energética. **Matriz Energética e Elétrica**. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/pt/abcdenergia/matriz-energetica-e-eletrica>. Acesso em: 25 ago. 2020.
- FERREIRA, Mariana Teresa Barduco. **Recuperação enzimática na produção de etanol 2g: um estudo sobre capacidade de adsorção entre lignocresol e celulasas**. 2019. 104 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2019. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/183225>. Acesso em: 25 ago. 2020.
- GHATAK, H.R. **Biorefineries from the perspective of sustainability: Feedstocks, products, and processes**. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 15, p.4042-4052, 2011.
- LEE, J.W., KIM, J.Y., JANG, H.M., LEE, M.W., PARK, J.M., 2015. **Sequential dilute acid and alkali pretreatment of corn stover: sugar recovery efficiency and structural characterization**. Bioresour. Technol. 182, 296–301. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2015.01.116>
- NASS, L. L.; PEREIRA, P. A. A.; ELLIS, D. Biofuels in Brazil: an overview. **Crop Science**, Madison, v. 47, p. 2228-2237, 2007.
- PACHECO, Thályta Fraga. **Produção de Etanol: Primeira ou Segunda Geração?** Brasília: Embrapa Agroenergia, 2011. 6 p. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/886571>. Acesso em: 25 ago. 2020.

REZENDE, C. A., DE LIMA, M. A., MAZIERO, P., DE AZEVEDO, E. R., GARCIA, W., Polikarpov. I., **Chemical and morphological characterization of sugarcane bagasse submitted to a delignification process for enhanced enzymatic digestibility.** *Biotechnology for Biofuels*, 4, 54, 2011.

ROSA, Sergio Eduardo Silveira da. O etanol de segunda geração: limites e oportunidades. **Revista do Bndes**, Rio de Janeiro, n. 32, p. 117-156, dez. 2009. Disponível em: <https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/7046>. Acesso em: 25 ago. 2020.

SANTIAGO, B.L.S.; RODRIGUES, A.F. **Processing lignocellulosic biomass for ethanol production: A review.** *The Journal of Engineering and Exact Science*, v3, p.1011-1022, 2017.

WATANABE, E. O.; PESSÔA FILHO, P. A.; MIRANDA, E. A.; MOHAMED, R. S. **Evaluation of the use of volatile electrolyte system produced by ammonia and carbon dioxide in water for the salting-out of proteins:** Precipitation of porcine trypsin. *Biochemical Engineering Journal*, v. 30, n. 2, p. 124–129, 2006.