

## Pré-tratamento de palhas, folhas e caules de milho com líquido iônico volátil para a produção de etanol de segunda geração

## Pre-treatment of leaves, stems and corn stover with volatile ionic liquid for the production of second generation ethanol

**Camila Tiepo**

[camilatiepo@alunos.utfpr.edu.br](mailto:camilatiepo@alunos.utfpr.edu.br)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

**Lucimara Lopes da Silva**

[lucimarasilva@utfpr.edu.br](mailto:lucimarasilva@utfpr.edu.br)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

### RESUMO

Uma alternativa sustentável ao pré-tratamento químico de biomassas lignocelulósicas pelo uso de ácidos e bases é a utilização de líquidos iônicos. Neste trabalho utilizou-se o líquido iônico volátil que pode ser recuperado e reutilizado após o processo de desconstrução da parede celular para a obtenção da celulose destas biomassas. O pré-tratamento com este líquido iônico volátil foi comparado com outros pré-tratamentos ( $H_2SO_4$  1%;  $H_2SO_4$  1% + NaOH 1%) realizados sob pressão e alta temperatura. Observou-se que após os pré-tratamentos ácido e ácido-básico, respectivamente, houve um aumento da porcentagem de celulose na palha, no sabugo vermelho e no sabugo branco de 134%, 132% e 110 % respectivamente. Também foi realizado um teste preliminar com líquido iônico à temperatura e pressão ambiente e observou-se que nestas condições a quantidade de açúcares redutores gerada foi desprezível. Desta forma, constatou-se que os pré-tratamentos com ácido e base são eficientes para retirada da lignina e hemicelulose das biomassas enquanto que o pré-tratamento com líquido iônico deve ser melhor explorado.

**PALAVRAS-CHAVE:** Resíduos lignocelulósicos. Líquido iônico volátil. Pré-tratamentos.

### ABSTRACT

A sustainable alternative to the chemical pretreatment of lignocellulosic biomass by the use of acids and bases is the use of ionic liquids. In this work a volatile ionic liquid that can be recovered and reused after the process of deconstruction of the cell wall to obtain the cellulose of these biomasses was used. Pretreatment with this volatile ionic liquid was compared with other pre-treatments ( $H_2SO_4$  1%;  $H_2SO_4$  1% + NaOH 1%) performed under high pressure and temperature. It was observed that after the acid and basic-acid pre-treatments, there was an increase in the percentage of cellulose in corn stover, in red cob and in white cob of 134%, 132% and 110% respectively. A preliminary test with ionic liquid at both ambient temperature and pressure was also performed and it was observed that under these conditions the amount of reducing sugars generated was negligible. Thus, acid and base pre-treatments were efficient for the removal of lignin and hemicellulose from the biomasses, whereas the pretreatment with ionic liquid should be better exploited.

**KEYWORDS:** Lignocellulosic waste. Second-generation ethanol. Pre-treatment.

**Recebido:** 31 Ago. 2018.

**Aprovado:** 04 Out. 2018.

#### Direito autorial:

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



## INTRODUÇÃO

Para se produzir etanol a partir de resíduos lignocelulósicos, é necessário fazer pré-tratamentos para retirar a lignina e obter os polissacarídeos, assim facilitando os processos de hidrólise (ODEGA, T. L., PETRI, D. F. S., 2010). Isso é necessário pois existe uma alta complexidade entre as estruturas na parede celular destes vegetais, onde a lignina forma uma barreira entre a celulose e hemicelulose. Existem vários tipos de pré-tratamentos, dentre os quais se destacam os físicos, os químicos e os biológicos. Os pré-tratamentos físicos diminuem o tamanho das partículas de biomassa tendo como objetivo aumentar a área superficial possibilitando maior contato entre as enzimas e a biomassa nas etapas subsequentes (FAN, L. T.; LEE, Y. H.; BEARDMORE, D. R., 1981). Os tratamentos químicos incluem uso de ácidos e bases na degradação da parede celular dos vegetais, sendo que ao se usar os ácidos acontece a hidrólise da hemicelulose e ao usar bases acontece a remoção de uma parte da lignina (SUN, Y.; CHENG, J. Y.; 2002). Já no pré-tratamento químico com o líquido iônico, acontece o fracionamento da lignina, hemicelulose e celulose (HEINZE, T.; KOSCHELLA, A.; 2005).

Líquidos iônicos são sais compostos por grandes cátions orgânicos e ânions inorgânicos ou orgânicos, com pontos de fusão abaixo de 100 °C, ou seja, concebidos para serem líquidos à temperatura ambiente (STARK, A., 2011), o que é considerada uma vantagem importante no que diz respeito às emissões de compostos orgânicos voláteis (COV). Por outro lado, estes LI não são destiláveis usando técnicas convencionais de destilação de solventes, resultando em dificuldade na sua separação para uso posterior ou descarte (QI, Y.; VERHEYEN, T. V.; VIJAYARAGHAVAN, R.; MACFARLANE, D. R.; CHAFFEE, A. L. 2016).

Neste trabalho, usamos o sal volátil carbamato de amônio como líquido iônico, com base no trabalho de Qi e colaboradores (QI, Y.; VERHEYEN, T. V.; VIJAYARAGHAVAN, R.; MACFARLANE, D. R.; CHAFFEE, A. L. 2016) no qual foi possível aumentar a solubilização de amostras de carvão contendo lignina comparados à solubilização tradicional por extração com solvente, a qual emprega condições mais severas e procedimentos mais complexos.

O uso do sal volátil carbamato de amônio como líquido iônico também se apresenta como vantajoso em relação a outros componentes químicos utilizados em processos de pré-tratamentos, pois o equilíbrio entre as suas espécies iônicas é alterado com o aumento da temperatura ou abaixamento da pressão do sistema formando gases que passam para a fase vapor podendo ser facilmente removidos da solução. Assim, estes gases podem ser recuperados e reutilizados, diminuindo consideravelmente a geração de efluentes no sistema e conseqüentemente, o custo global de produção (DA SILVA, L. L., PESSÔA FILHO, P. A., MIRANDA, E. A., 2010).

Diante do exposto o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do líquido iônico na etapa de pré-tratamento de resíduos de milho para a produção de bioetanol de segunda geração, utilizando-se uma estratégia que associa caracterização química dos substratos em questão, antes e após o processo de pré-tratamento.



## MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido nas dependências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos (UTFPR-DV), onde foram utilizadas três tipos de biomassas lignocelulósicas consideradas descartes da agroindústria, sendo elas, a palha e dois tipos de sabugos, branco e vermelho, obtidas na fazenda da universidade.

Em um primeiro momento, a palha e sabugo foram colocados em uma estufa a 60°C para a secagem durante 24 horas e após secos foram moídos em um moinho de facas utilizando-se peneira de abertura de 2 mm. Para o início da avaliação, foi separada uma amostra para fazer a análise da composição in natura. A análise foi feita no laboratório de bromatologia da UTFPR-DV, onde foi seguido o método de Van Soest para obter os resultados de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, matéria mineral, fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina.

Em outra parte da biomassa foram realizados diferentes pré-tratamentos, sendo eles, com ácido sulfúrico 1% (tratamento 1), ácido sulfúrico 1% mais hidróxido de sódio 1% (tratamento 2) e também com o líquido iônico Carbamato de Amônio (tratamento 3). A etapa de pré-tratamento com ácido realizou-se diluindo o ácido sulfúrico 98% em uma solução com água destilada até a obtenção do ácido 1%. A razão de biomassa e de solução de pré-tratamento foi de 20 g de amostra para 200 mL de cada uma das diferentes soluções. Com exceção das amostras pré-tratadas com líquido iônico, todas as amostras foram colocadas em Erlenmeyers e autoclavadas durante 30 minutos a 120°C e pressão de 1 atm. Posteriormente as amostras foram filtradas em filtros de algodão, onde o líquido da primeira filtragem foi armazenado em tubos Falcons para análises futuras (HPLC). As amostras retidas nos filtros foram secas em estufa durante 24 horas a 60°C, para posterior análise de composição. O pré-tratamento básico foi realizado diluindo a base (hidróxido de sódio 98%) em água destilada até ficar 1% diluída e 50 mL desta solução foi colocada em cada Erlenmeyers já com 5g de cada amostra, assim repetindo o mesmo procedimento de autoclavagem e filtração.

No caso do pré-tratamento com o líquido iônico, foi feita uma análise preliminar em diferentes forças iônicas (1 molal, 5 molal e 9 molal) em temperatura ambiente em contato com as amostras, no qual foi colocado uma quantidade de líquido iônico em 0,5g de amostra de sabugo vermelho já pré-tratadas com ácido sulfúrico e foi deixado agir por 40 minutos, para posteriormente fazer análise da quantidade de açúcar redutor. No pré-tratamento com líquido iônico sob pressão, primeiramente foi preparada a solução com 80,94 g de carbamato de amônio, 67,25 g(mL) de hidróxido de amônia e 79,58 g(mL) de água destilada, de modo a se obter uma solução salina de 10,13 molal e razão de carbono e nitrogênio de 2,0. Depois de pronta a solução, foi adicionado na proporção da quantidade de biomassa e solvente (1g de biomassa para 10 mL de solução) e, foi repetido o processo sob pressão utilizando-se uma panela de pressão, mantendo-se fixos o tempo de pré-tratamento.

Após todas as amostras terem sido pré-tratadas, as mesmas foram submetidas às análises das composições pelo mesmo método de Van Soest e todos estes processos foram avaliados e comparados.

A concentração de açúcares redutores foi determinada utilizando uma adaptação do método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS) previamente descrito por Miller (1959) [12]. No procedimento foram adicionados 500 µL das amostras das soluções hidrolisadas após os pré-tratamentos em tubos de ensaio imersos em banho maria a 50°C durante 60 minutos. Após decorrido este tempo foram adicionados 1000 µL de reagente DNS e as amostras foram postas em outro banho maria a 100°C durante 10 minutos. Para finalizar houve o resfriamento das amostras em banho de gelo até a temperatura ambiente (cerca de 5 minutos), as quais foram diluídas na proporção de 0,2 µL das amostras em 2500 µL de água destilada para realização da leitura da absorbância de cada amostra em um comprimento de onda de 540nm.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados deste trabalho estão diretamente ligados a influência dos diferentes pré-tratamentos utilizados nas biomassas lignocelulósicas.

Nestas biomassas, pode ser comprovado que os pré-tratamentos ácido e básico foram efetivos na desconstrução da parede celular dos resíduos da palha e sabugo de milho. Também podemos afirmar que o pré-tratamento em série do ácido seguido pela base proporcionou melhor rendimento de celulose nas biomassas, como mostra a Tabela 1.

Quando os três tipos de biomassas lignocelulósicas são submetidas aos pré-tratamentos ácido e ácido-básico a concentração de celulose aumenta gradativamente. O pré-tratamento seriado ácido-base proporcionou uma maior concentração de celulose as quais foram 81,63%, 88,10% e 88,86% nas biomassas palha, sabugo branco e sabugo vermelho respectivamente, o que é considerado um valor interessante.

Tabela 1 – Resultado da análise de composição das biomassas in natura e pré-tratadas com ácido e ácido-base.

Amostra	Pré-tratamento	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)
Palha	<i>In natura</i>	34,95 ± 0,028	40,69 ± 0,003	3,99 ± 0,025
	H2O4 1%	67,73 ± 0,010	0,90 ± 0,019	14,33 ± 0,001
	NaOH 1%	81,63 ± 0,002	1,97 ± 0,010	6,36 ± 0,0003
Sabugo branco	<i>In natura</i>	37,58 ± 0,035	37,61 ± 0,012	4,36 ± 0,029
	H2SO4 1%	61,88 ± 0,039	4,74 ± 0,028	16,22 ± 0,003
	NaOH 1%	88,10 ± 0,005	1,68 ± 0,010	2,18 ± 0,003
Sabugo vermelho	<i>In natura</i>	41,88 ± 0,058	35,28 ± 0,249	6,11 ± 0,046
	H2SO4 1%	74,50 ± 0,123	2,76 ± 0,006	16,89 ± 0,128
	NaOH 1%	88,86 ± 0,005	-0,56 ± 0,019	1,93 ± 0,001

Fonte: Autoria própria (2018).

O aspecto visual das biomassas foi avaliado e constataram-se mudanças na coloração dos resíduos após os pré-tratamentos bem como dos seus respectivos hidrolisados. 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.

Os valores da concentração de açúcares redutores das biomassas variam na palha de milho de 0,043 a 0,835 mg/mL, no sabugo branco de 0,667 a 1,128 mg/mL e no sabugo vermelho de 0,309 a 1,101 mg/mL, líquido iônico (sabugo vermelho) de -0,0038 a 0,0038 mg/mL. Com isso podemos ver que o resíduo que gerou maior concentração de glicose com os pré-tratamentos foi o sabugo branco, e somado a isto se constatou que as três biomassas pré-tratadas com ácido-base geraram maior quantidade de açúcares em relação ao pré-tratamento ácido em uma única etapa.

## CONCLUSÃO

Ao final do estudo, pode ser comprovado que os pré-tratamentos ácido e ácido-básico foram efetivos na desconstrução da parede celular dos resíduos da palha e sabugo de milho. Também podemos afirmar que o pré-tratamento seriado ácido-base proporcionou melhor rendimento de celulose em todas as biomassas.

Em pré-tratamentos testes realizados com líquido iônico volátil em sabugo de milho, aparentemente não houve efetividade do sal em desestruturar o substrato lignocelulósico, pois não gerou quantidades de açúcares otimistas. No momento foram realizados ensaios de pré-tratamento com este sal sob pressão. Para finalização deste trabalho, estamos aguardando resultados de análises de microscopia eletrônica de varredura, HPLC e análise composicional das biomassas pré-tratadas com sal volátil.

## REFERÊNCIAS

ASSUMPÇÃO, S. M. N. **Pré-tratamento químico combinado do bagaço da cana visando a produção de etanol de segunda geração**. 2015. Dissertação de pós graduação- Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015. Disponível em: <<https://repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/19146>>. Acesso em: 31 agol. 2018.

DA SILVA, L. L., PESSÔA FILHO, P. A., MIRANDA, E. A. Evaluation of the effect of ammonium carbamate on the stability of proteins. **J Chem Technol Biotechnol** v. 85, p. 962–967, 2010. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jctb.2386>>. Acesso em: 31 agol. 2018.

FAN, L. T.; LEE, Y. H.; BEARDMORE, D. R.; **Biotechnol. Bioeng.** 1981, 23, 419. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bit.260230215>>. Acesso em: 31 agol. 2018.

GOLDEMBERG, J. Atualidade e Perspectivas no Uso de Biomassa para Geração de Energia. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 1, p. 15-28, 2017. Disponível em: <<http://rvq.sbg.org.br/imagebank/pdf/v9n1a04.pdf>>. Acesso em: 31 agol. 2018.

HEINZE, T.; KOSCHELLA, A. Solvents applied in the field of cellulose chemistry: a mini review. **Polimeros**, v. 15, p. 84-90, 2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-14282005000200005](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282005000200005)>. Acesso em: 31 agol. 2018.

LEITE, R. C. (coordenador). **Bioetanol combustível: uma oportunidade para o Brasil**. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, Brasília-DF, 2009. Disponível em: <[https://www.cgee.org.br/documents/10182/734063/5Bioetanol+de+Cana+de+A%C3%A7ucar+2009\\_6407.pdf](https://www.cgee.org.br/documents/10182/734063/5Bioetanol+de+Cana+de+A%C3%A7ucar+2009_6407.pdf)>. Acesso em: 31 agol. 2018.

MEYER, P.A., et al. Techno-economic analysis of corn stover fungal fermentation to ethanol. **Applied Energy**, v.111, p. 657-668, 2013. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306261913003899>>. Acesso em: 31 agol. 2018.

MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Anal. Chem.**, v. 31, p. 426-428, 1959. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac60147a030>>. Acesso em: 31 agol. 2018.

OGEDA, T. L., PETRI, D. F. S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química Nova**, SP, Vol. 33, No. 7, 1549-1558, 2010. Disponível em:





<[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422010000700023&script=sci\\_abstract&tlng=ES](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422010000700023&script=sci_abstract&tlng=ES)>. Acesso em: 31 agol. 2018.

PITARELO, A. et al. Effect of moisture content in the steam treatment and enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse. **Química Nova**, v. 35, n. 8, p. 1502–1509, 2012. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422012000800003](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422012000800003)>. Acesso em: 31 agol. 2018.

QI, Y., VERHEYEN, T. V., VIJAYARAGHAVAN, R., MACFARLANE, D. R., CHAFFEE, A. L. Ambient temperature solubilisation of brown coal in ammonium carbamate ionic liquids, **Fuel**, v. 166 (15), p. 106-115, 2016. Disponível em:

<<https://www.cheric.org/research/tech/periodicals/view.php?seq=1371243>>. Acesso em: 31 agol. 2018.

STARK, A. Ionic liquids in the biorefinery: a critical assessment of their potential. **Energy Environ. Sci.**, v. 4, p. 19-32, 2011. Disponível em:

<<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2011/ee/c0ee00246a#ldivAbstract>>. Acesso em: 31 agol. 2018.

SUN, Y.; CHENG, J. Y. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresour. Technol.**, v. 83, 1, 2002. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12058826>>. Acesso em: 31 agol. 2018.

#### AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação Araucária PIBIC-AF 24 pelo fomento da bolsa, à UTFPR-DVE também à professora Lucimara Lopes da Silva pelos ensinamentos e ajuda.