



## CARACTERIZAÇÃO, PRÉ-TRATAMENTO E HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA DE MILHETO

ALINE P. DRESCH<sup>1,2\*</sup>, ANA C. G. VARGAS<sup>2,3</sup>, JAÍNE F. FÜHR<sup>2,3</sup>, GUILHERME M. MIBIELLI<sup>2</sup>, JOÃO P. BENDER<sup>2,4</sup>

### 1 Introdução/Justificativa

A fim de obter-se um aumento da oferta de álcool combustível, o etanol deve ser viabilizado explorando matérias-primas alternativas. À vista disso, a biomassa de milho surge como uma fonte em destaque no cenário nacional. Entretanto, é preciso desenvolver um processo que disponibilize os açúcares para posterior conversão em etanol. Neste contexto, este trabalho reporta a caracterização físico-química e o estudo das etapas de pré-tratamento e hidrólise enzimática da biomassa lignocelulósica de milho.

### 2 Objetivos

Caracterizar a biomassa lignocelulósica de milho e obter açúcares fermentescíveis por meio das etapas de pré-tratamento e hidrólise enzimática, no intuito de verificar se a biomassa apresenta potencial para aplicação na produção de bioetanol de segunda geração.

### 3 Material e Métodos/Metodologia

A biomassa empregada neste estudo é proveniente das áreas experimentais da Universidade Federal da Fronteira Sul – *Campus* Chapecó. A mesma foi seca em estufa a 50°C, triturada em moinho de facas e submetida a caracterização físico-química seguindo as metodologias descritas por RABELO, 2010.

Para avaliar o tempo de pré-tratamento com o melhor rendimento em açúcares realizou-se testes de pré-tratamento, em triplicata, partindo-se da condição ótima obtida por Bueno et al. (2018). Os períodos avaliados de pré-tratamento foram de 6, 12 e 24 horas. Seguidos da etapa de hidrólise (200 rpm; 2% de Cellic Ctec2 e 0,5% Htec2; pH 5,0-5,5;

<sup>1</sup> Discente, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó, **Bolsista**, contato: alinepdresch@gmail.com

<sup>2</sup> Grupo de Pesquisa em Processos Enzimáticos e Microbiológicos

<sup>3</sup> Discente, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó

<sup>4</sup> Docente, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó, **Orientador**.



50°C), por 24 horas.

A posteriori, visando a otimização da melhor condição de pré-tratamento, realizou-se um Plackett & Burman, com quatro variáveis, conforme apresentado na Tabela 1. Para esses ensaios as amostras passaram por um pré-tratamento de 24 horas combinado com 24 horas de hidrólise enzimática.

**Tabela 1.** Matriz do Planejamento Experimental Plackett & Burman

Ensaio	Agente Químico (AQ) (0,2 g AQ/g biomassa)	Ordem	Agitação	Temperatura (°C)
1	Hidróxido de Cálcio (+1)	Físico-Químico (-1)	Shaker (-1)	70 (+1)
2	Hidróxido de Cálcio (+1)	Químico-Físico (+1)	Shaker (-1)	40 (-1)
3	Hidróxido de Cálcio (+1)	Químico-Físico (+1)	Mecânico (+1)	40 (-1)
4	Glicerol (-1)	Químico-Físico (+1)	Mecânico (+1)	70 (+1)
5	Hidróxido de Cálcio (+1)	Físico-Químico (-1)	Mecânico (+1)	70 (+1)
6	Glicerol (-1)	Químico-Físico (+1)	Shaker (-1)	70 (+1)
7	Glicerol (-1)	Físico-Químico (-1)	Mecânico (+1)	40 (-1)
8	Glicerol (-1)	Físico-Químico (-1)	Shaker (-1)	40 (-1)

Fonte: Elaborado pelo Autor.

Para tanto, levou-se à incubação (Incubadora Shaker SL - 223) 10/20 g de biomassa (varia conforme agitação – Shaker/Mecânico) a 200 rpm, razão sólido/líquido de 100 g<sub>biomassa</sub>/L<sub>solução</sub>, na temperatura, agitação, ordem e tipo de agente químico variando de acordo com os níveis do planejamento experimental, seguido de hidrólise enzimática padrão (200 rpm; 2% de Cellic Ctec2 e 0,5% Htec2; pH 5,0-5,5; 50°C).

Para etapa de investigação da hidrólise enzimática estudou-se a variação do percentual da enzima comercial Cellic Ctec2 (1; 1,5 e 2 - % m/m em relação a biomassa seca). Utilizando-se para tal a melhor condição obtida no planejamento experimental. Em todos os ensaios, após finalizados, a determinação dos Açúcares Redutores Totais (ART) foi realizada por meio da metodologia de DNS (MILLER, 1959). Já a determinação de carboidratos e inibidores foi realizada pela utilização de CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) (RABELO, 2010).

#### 4 Resultados e Discussão

Os resultados obtidos referentes à caracterização físico-química da biomassa de milho em base seca estão apresentados na Tabela 2. Onde destacam-se que aproximadamente 62% da composição da biomassa é constituída de celulose e hemicelulose,



polissacarídeos que ao serem hidrolisados, geram glicose e xilose, monômeros essenciais para a produção de etanol.

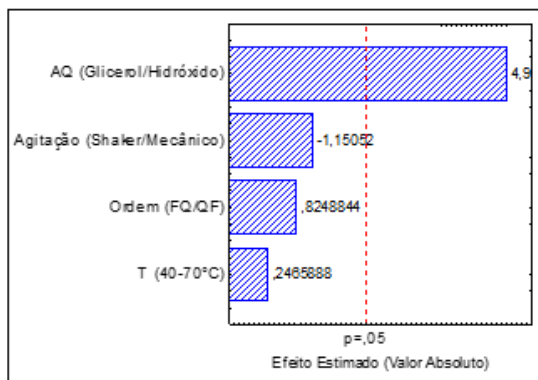
**Tabela 2.** Caracterização físico-química da biomassa de milho em base seca

Cinzas	Extrativos	Lignina Total	Celulose	Hemicelulose
6%	22%	10%	41%	21%

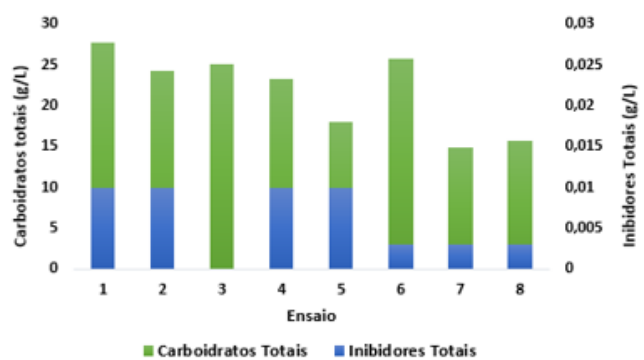
Fonte: Elaborado pelo Autor.

No que tange o tempo de pré-tratamento, considerando o melhor resultado obtido (0,31 g CT/g<sub>biomassa</sub>), optou-se por fixar o tempo em 24 horas. Se tratando da investigação da etapa de pré-tratamento, conforme apresentado pelo gráfico de Pareto na Figura 1 (a), somente a variável “agente químico” mostrou efeito significativo, indicando que a variação do agente químico pode influenciar significativamente o rendimento em açúcares. Na figura 2 (b) são apresentados os resultados obtidos no planejamento experimental em termos de rendimento e produção de inibidores. É possível constatar um maior rendimento para o ensaio 1 (0,31 g CT/g<sub>biomassa</sub>).

**Figura 2.** (a) Gráfico de Pareto. (b) Rendimento em açúcares e produção de inibidores



(a)



(b)

Fonte: Elaborado pelo Autor.

Quanto à etapa de investigação da hidrólise enzimática, não houve diferença significativa nos rendimentos obtidos entre as porcentagens utilizadas de 1,5 e 2, onde obtiveram-se 0,31 e 0,33 g CT/g<sub>biomassa</sub>, respectivamente. Logo, com uma redução de 25% da enzima conseguiu-se obter conversões equivalentes em açúcares, sendo bastante favorável, tendo em vista o alto custo dos complexos enzimáticos.

## 5 Conclusão



Os resultados apresentados demonstram o grande potencial de conversão da biomassa em açúcares fermentescíveis. Desta forma, conclui-se que a biomassa lignocelulósica de milho é promissora para a produção de etanol de segunda geração.

### Referências

- BUENO, A.; DRESCH, A. P.; BENDER, J. P.; MIBIELLI, G. M. Hidrólise Enzimática da biomassa de milho para obtenção de açúcares fermentescíveis. *Anais da VIII JIC*, Realeza, v. 8, n. 1, 2018.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem*, 31: 426-429, 1959.
- RABELO, S. C. Avaliação e otimização de pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração. Tese Doutorado em Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Faculdade de Engenharia Química, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Campinas – SP. 2010.

**Palavras-chave:** bioetanol; caracterização; *pennisetum glaucum*; pré-tratamento; hidrólise.

### Financiamento

PIBIC/CNPq, Edital nº 490/GR/UFGS/2018