

## OBTENÇÃO DE AÇÚCARES FERMENTESCÍVEIS A PARTIR DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA DE MILHO PARA PRODUÇÃO DE BIOETANOL

LETÍCIA R. BOHN<sup>1,2\*</sup>, ALINE P. DRESCH<sup>2</sup>, SÉRGIO L. ALVES<sup>2</sup>, GUILHERME M. MIBIELLI<sup>2</sup>, JOÃO P. BENDER<sup>2</sup>

### 1 Introdução

A necessidade de produzir combustíveis renováveis de baixo custo para substituir combustíveis fósseis é revelado nas agendas políticas de vários países, ressaltando o consenso de promover uma mudança no cenário energético global para aumentar a parcela das fontes renováveis de energia. Nesse contexto, o etanol se destaca entre os biocombustíveis como substituto à gasolina, uma vez que se trata de uma fonte de energia renovável e sustentável. Contudo, o aumento na produção, visando suprir a crescente demanda, obrigaria a ampliação das áreas de cultivo, a qual compete diretamente com a indústria alimentícia. (RABELO, 2010). Dessa forma, faz-se necessário o desenvolvimento de rotas de produção a partir de diferentes matérias-primas. Nesse contexto, este trabalho reporta o estudo da obtenção de açúcares fermentescíveis a partir da biomassa lignocelulósica de milho, para produção de etanol de segunda geração.

### 2 Objetivos

Caracterizar a biomassa lignocelulósica, resíduo da colheita, de milho e obter açúcares fermentescíveis através das etapas de pré-tratamento e hidrólise enzimática, bem como otimizar estas etapas para maximizar os rendimentos de açúcares fermentescíveis.

### 3 Metodologia

A biomassa empregada nesse estudo é proveniente das áreas experimentais da Universidade Federal da Fronteira Sul - *Campus* Chapecó; e corresponde ao híbrido do milho DKB 177 Pro 2. A mesma foi seca em estufa a 50°C, triturada em moinho de facas e submetida à caracterização físico-química segundo as metodologias descritas por RABELO, 2010.

Para a etapa de estudo da melhor condição de pré-tratamento, investigou-se, através de um planejamento fatorial completo <sup>22</sup>, as variáveis Concentração de hidróxido de cálcio (0,2, 0,4

---

<sup>1</sup> Acadêmica de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó, Bolsista contato: leeticiaohn@gmail.com

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

e 0,6 gCa(OH)<sub>2</sub>/g biomassa seca) e temperatura (40, 55 e 70 °C). Para tanto, levou-se à incubação (Incubadora Shaker SOLAB SL-223) 08g de biomassa (200 rpm; 48h; 200 mL de solução de Ca(OH)<sub>2</sub>; nas concentração de Ca(OH)<sub>2</sub> e temperatura de acordo com os níveis do planejamento experimental) seguido de hidrólise enzimática padrão (200 rpm; 72h; 2% de Ctec2 e 0,5% de Htec, pH 5,0, 50°C).

Para a etapa de investigação da hidrólise enzimática, estudou-se, através de um planejamento fatorial completo 2<sup>2</sup> as variáveis Razão sólido/líquido (60, 80 e 100 g<sub>biomassa seca</sub>/L<sub>solução</sub>) e percentual do complexo enzimático Ctec2/Htec2 (0,5/2 0,75/2,5 e 3/1 – %, m/m em relação a biomassa seca). Iniciaram-se os ensaios por meio da incubação da biomassa (quantidade de acordo com os níveis do planejamento) nas seguintes condições de pré-tratamento definida na etapa anterior: 200 rpm, 48h, 200 mL de solução de Ca(OH)<sub>2</sub> na concentração de 0,2g/g biomassa seca a 70°C. Findada a etapa de pré-tratamento, realizou-se a hidrólise enzimática (200 rpm; 72h; pH 5,0, 50°C, nas concentrações de enzima de acordo com os níveis do planejamento). Os resultados foram tratados estatisticamente com o auxílio do software Statistica 5.0, p<0,05.

Objetivando-se reduzir o consumo de energia durante o processo, repetiu-se a melhor condição do planejamento experimental da etapa de hidrólise enzimática nos tempos de pré-tratamento e hidrólise descritos na Tabela 01.

#### 4 Resultados e Discussão

A distribuição granulométrica da biomassa empregada neste estudo apresentou uma distribuição média de aproximadamente 0,6 mm, com tamanho máximo de 1 mm. Os resultados dos teores de umidade para cada fração da biomassa estão apresentados na Tabela 02. Na Tabela 03 são reportados os valores da caracterização físico-química. Destaca-se que aproximadamente 60% da composição da biomassa é constituída por hemicelulose e celulose, estruturas que, ao serem hidrolisadas, geram açúcares, os quais podem ser fermentados em etanol.

Quanto à investigação da etapa de pré-tratamento, conforme apresentado pelo gráfico de Pareto na Figura 01 (a), somente a variável Concentração de Hidróxido de Cálcio mostrou efeito significativo (negativo), indicando que a diminuição na sua quantidade aumenta o rendimento em açúcares. A variável Temperatura não apresentou efeito significativo, contudo, analisando a superfície de resposta (Figura 01 (b)) observa-se que maiores temperaturas resultam em maiores resultados de Carboidratos Totais (CT). Obteve-se como melhor condição de pré-tratamento a concentração de 0,2 gCa(OH)<sub>2</sub>/g<sub>biomassa</sub> e 70°C, totalizando 0,36

$\text{g}_{\text{CT}}/\text{g}_{\text{biomassa seca}}$ . Contudo este ensaio também gerou o maior valor de Inibidores Totais (IT)  $0,11 \text{ g}_{\text{IT}}/\text{g}_{\text{biomassa seca}}$ . Já a condição de  $0,2 \text{ g}_{\text{Ca(OH)}_2}/\text{g}_{\text{biomassa}}$  e  $40^\circ\text{C}$ , gerou o segundo maior valor para CT ( $0,31 \text{ g}_{\text{CT}}/\text{g}_{\text{biomassa}}$ ) e apenas  $0,06 \text{ g}_{\text{IT}}/\text{g}_{\text{biomassa}}$ .

No que tange o planejamento da etapa de hidrólise enzimática observa-se pelo gráfico de Pareto na Figura 02 (a) que somente a variável Razão sólido/líquido mostrou efeito significativo, indicando que o aumento na sua quantidade aumenta o rendimento em açúcares. Dessa forma, o melhor resultado ( $0,31 \text{ g}_{\text{CT}}/\text{g}_{\text{biomassa}}$ ) foi obtido na condição de  $100\text{g/L}$ . Referente a formação de inibidores os valores foram muito similares em todos os níveis estudados, houve a formação em média de  $0,03 \text{ g}_{\text{IT}}/\text{g}_{\text{biomassa}}$ , o que demonstra que a variação das condições iniciais não influenciou na formação de inibidores durante o processo.

A redução dos tempos de pré-tratamento e hidrólise enzimática, conforme Tabela 01, não influenciaram, para as análises em que o pré-tratamento ocorreu a  $70^\circ\text{C}$ , nos resultados em termos de rendimento glicosídico. A partir do teste de Tukey, com 95% de confiança, as médias obtidas através dos pré-tratamentos empregados a 24 e 12 horas, seguidos pelo período de hidrólise enzimática (24h), mostraram-se iguais às dos planejamentos supracitados. Dessa forma, pode-se reduzir o tempo de pré-tratamento de 48h para 12h e o tempo de hidrólise enzimática de 72h para 24h.

**Tabela 01.** Tempos (h) avaliados para as etapas de pré-tratamento (PT) e hidrólise enzimática (HE)

Ensaio 01	Ensaio 02	Ensaio 03	Ensaio 04
PT	PT	PT	PT
24	24	12	06
HE	HE	HE	HE
24	72	12	24
48		24	
72		34	
		48	

Fonte: Elaborado pelo autor

**Tabela 02.** Teor de Umidade dos constituintes do milho.

	Umidade*	
	Estufa**	Infravermelho**
<b>Caule (%)</b>	$7,46 \pm 0,16^a$	$7,43 \pm 0,21^a$
<b>Folha (%)</b>	$5,91 \pm 0,52^a$	$6,30 \pm 0,10^a$
<b>Palha (%)</b>	$5,24 \pm 0,19^a$	$5,93 \pm 0,06^a$

\*Média de três amostras e desvio padrão. \*\*Médias com letras minúsculas iguais, na mesma linha não diferem ao nível de  $p > 0,05$ , pelo Teste de Tukey a 95% de confiança.

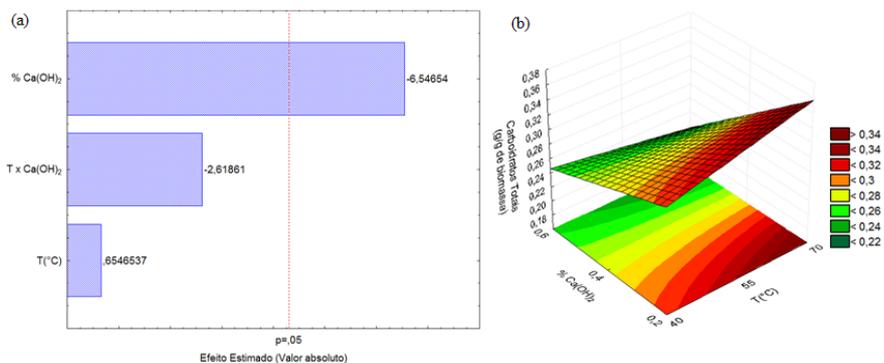
Fonte: Elaborado pelo autor

**Tabela 03.** Caracterização físico-química das frações caule, folha e palha do milho.

	Cinzas	Extrativos	Lignina Total	Celulose	Hemicelulose
<b>Caule (%)</b>	$2,86 \pm 1,34$	$25,36 \pm 1,64$	$17,46 \pm 2,60$	$37,01 \pm 1,63$	$28,44 \pm 0,88$
<b>Folha (%)</b>	$5,79 \pm 0,12$	$25,46 \pm 1,53$	$13,24 \pm 2,04$	$33,32 \pm 1,16$	$28,29 \pm 0,96$
<b>Palha (%)</b>	$3,15 \pm 0,13$	$22,61 \pm 2,54$	$11,54 \pm 1,17$	$30,93 \pm 1,11$	$31,01 \pm 1,70$

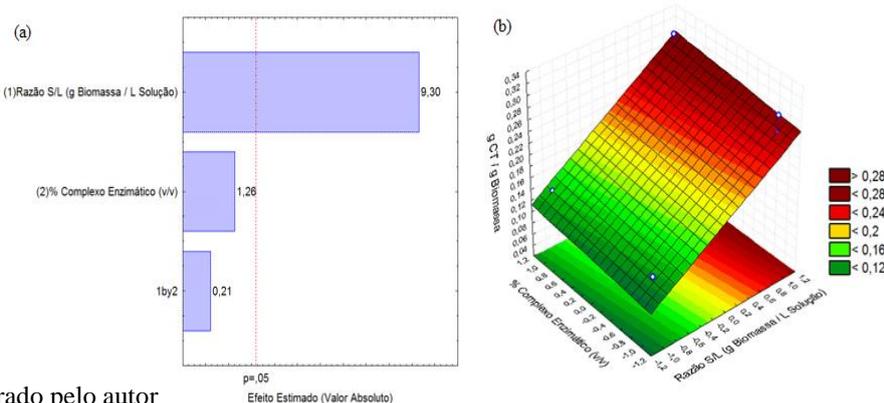
Fonte: Elaborado pelo autor

**Figura 01.** Resultados da análise estatística para a resposta CT do Planejamento experimental do pré-tratamento. (a) Gráfico de Pareto. (b) Superfície de Resposta.



Fonte: Elaborado pelo autor

**Figura 02.** Análise estatística para a resposta CT do Planejamento experimental da hidrólise enzimática. (a) Gráfico de Pareto. (b) Superfície de Resposta.



Fonte: Elaborado pelo autor

## 5 Conclusão

A partir dos ensaios realizados, obteve-se uma quantidade relativamente elevada de açúcares, já que se trata de um resíduo agrícola. Desta forma, conclui-se que a biomassa lignocelulósica do caule de milho é viável para a produção de etanol de segunda geração.

## Referências

RABELO, S. C. Avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração. 2010. 447 f. Tese – Unicamp, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Campinas, 2010.

**Palavras-chave:** bioetanol; biomassa; caracterização; pré-tratamento; hidrólise enzimática.

**Financiamento:** FAPESC/UFGS- Edital N° 07/2015- Projeto: Pré-tratamento, hidrólise, e fermentação de biomassa lignocelulósica de milho.