

PRÉ-TRATAMENTO DE BIOMASSA DE CANA-DE-AÇÚCAR POR MOINHO DE BOLAS EM MEIOS SECO, ÚMIDO E NA PRESENÇA DE ADITIVOS

M. S. PANARO¹, R.R.O. de BARROS², R. S. S. TEIXEIRA², E. P. S. BON²

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química

² Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química

E-mail para contato: mspanaro@gmail.com

RESUMO – O pré-tratamento é uma etapa essencial no processo de obtenção de etanol de segunda geração, produzido a partir de matérias-primas lignocelulósicas. A influência do pré-tratamento de biomassa de cana-de-açúcar por moinho de bolas foi avaliada em diferentes intervalos de tempo. Os experimentos foram feitos variando o tempo de pré-tratamento (30 min; 1 h; 1,5 h; 2 h; 2,5 h e 3 h) em meios seco, úmido (água), e utilizando aditivos (glicerol, Tween 80 e etilenoglicol), visando aperfeiçoar o processo. A eficiência do processo foi avaliada através de ensaios de sacarificação por hidrólise enzimática.

1. INTRODUÇÃO

O etanol de segunda geração, derivado de materiais lignocelulósicos, tem se tornado uma alternativa cada vez mais interessante no setor energético em função do esgotamento das reservas de combustíveis fósseis e da crescente preocupação com a degradação do meio ambiente (Wyman, 1994). No Brasil, devido a sua grande abundância, a principal matéria prima provém da cana-de-açúcar, a saber, a palha e o bagaço. Essas biomassas, ricas em açúcares, necessitam de uma etapa de pré-tratamento, responsável por desconstruir sua estrutura recalcitrante e, por consequência, facilitar a ação das enzimas durante a hidrólise enzimática. Nesse contexto, diversos tipos de pré-tratamentos vêm sendo estudados, associados ou não a uma remoção de componentes, conforme ilustra a Tabela 1. O rendimento desta etapa é o grande alvo de pesquisas, pois é a que apresenta o maior custo em todo o processo, e é base para as etapas seguintes.

Tabela 1: Características dos principais tipos de pré-tratamentos

Pré-tratamento	Aumento da área superficial	Redução da cristalinidade	Remoção de hemicelulose	Remoção de lignina	Modificação de lignina	Formação de componentes tóxicos
Ácido	++	-	+++	++	+++	+++
Alcalino	-	-	+	+++	++	++
LHW	++	-	+++	+	++	++

Explosão a vapor	++	-	+++	++	+++	++
Moinho de bolas	++	+++	-	-	-	-
Moinho de discos	+++	+	-	-	-	-
Extrusão	++	+	-	-	-	-
Líquidos Iônicos	++	+++	+	++	+	nd

1.1. O moinho de bolas:

O pré-tratamento por moinho de bolas é uma das alternativas de pré-tratamento existentes, por apresentar altos rendimentos de hidrólise enzimática, atuando basicamente na diminuição da cristalinidade e no aumento da área superficial do material, sem alterar a composição inicial do material. Além disso, os parâmetros envolvidos no processo podem ser manipulados para uma eventual extrapolação à escala industrial (Lin *et al.*, 2010). Sabe-se que a moagem de diversos materiais (cerâmicos, metálicos, orgânicos) nesse tipo de equipamento é mais rápida e eficiente quando feita em meio aquoso, devido a características como densidade, tensão superficial e viscosidade (Tangsathitkulchai, 2002). Além disso, trabalhos publicados (Lee *et al.*, 2008 e Li *et al.*, 2011) nos últimos anos mostram que o uso de aditivos com afinidade por celulose facilitam a hidrólise enzimática, interagindo com os componentes lignocelulósicos, e podem reduzir a carga de enzimas a ser utilizada. Essas características tem atraído interesse em pesquisas como alternativa no processo de pré-tratamento, pela possibilidade em aumentar o rendimento desta etapa.

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem o objetivo de aperfeiçoar as condições de pré-tratamento de biomassa de cana-de-açúcar no moinho de bolas (em meio seco, úmido (água) e com aditivos), avaliando o rendimento de hidrólise enzimática de cada material tratado.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

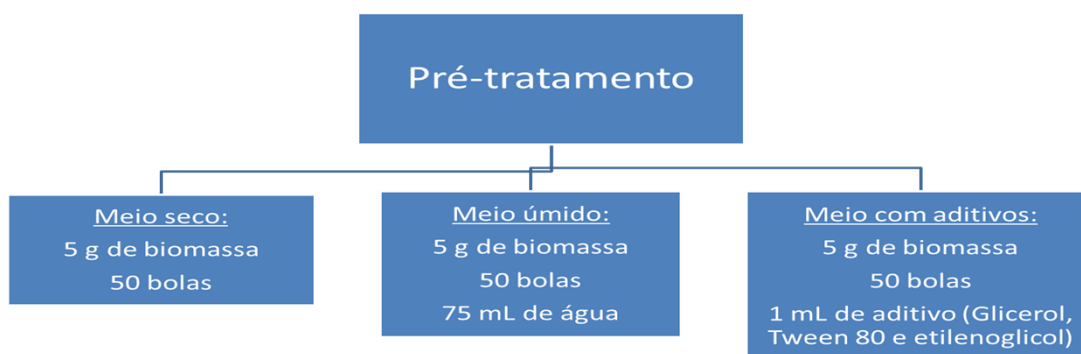
3.1. Bagaço de cana-de-açúcar:

A biomassa utilizada para o tratamento úmido e com aditivos foi cedida pela empresa Odebrecht Agroindustrial, em de agosto de 2014, enquanto a utilizada para o tratamento em meio seco foi cedida pela Usina Santa Luzia, do Mato Grosso. Os materiais passaram por um condicionamento prévio, sendo secos a temperatura ambiente por uma semana, e posteriormente moídos em moinho de facas Retsch (Alemanha) a uma granulometria com partículas de diâmetro inferior a 2 mm. A caracterização composicional dos materiais, além

da composição em monossacarídeos provenientes da celulose e hemicelulose foram feitas seguindo os procedimentos analíticos recomendados pelo NREL (Sluiter *et al.*, 2008).

3.2. Pré-tratamento:

O pré-tratamento foi feito em moinho de bolas planetário Retsch (Alemanha), modelo PM 400 (com 4 estações de moagem), bolas com 10 mm de diâmetro e copos com volume de 250 mL, ambos feitos de óxido de zircônio, sob 400 RPM, 10 min de pausa a cada 10 min de moagem e em diferentes tempos (30 min; 1 h; 1,5 h; 2 h; 2,5 h e 3 h). Os seguintes parâmetros foram adotados para cada condição estudada:



3.3. Hidrólise enzimática:

A hidrólise enzimática para avaliação do potencial do pré-tratamento foi feita em uma concentração de biomassa de 100 g/L, carga enzimática de 10 FPU/g de biomassa tratada, onde a enzima utilizada foi uma preparação comercial conhecida como Power Cell (Prozyn), tampão citrato de sódio 50 mM em pH 4,8, sendo as amostras colocadas em erlenmeyers sob volume final de 25 mL. A reação foi incubada em shaker a 50°C por 48 h.

3.4. Quantificação de açúcares:

Os açúcares liberados na hidrólise enzimática foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), conforme Sluiter *et al.*, 2008. A glicose também foi quantificada em analisador bioquímico YSI 2700.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização da biomassa:

A Figura 1 e a Tabela 2 apresentam, respectivamente, os resultados de caracterização da biomassa e a concentração de açúcares do material utilizado nos pré-tratamentos em meios seco, úmido e com aditivos.

Figura 1: Caracterização da composição do bagaço *in natura* pré-tratado em meios seco, úmido e com aditivos (Usina Santa Luzia)

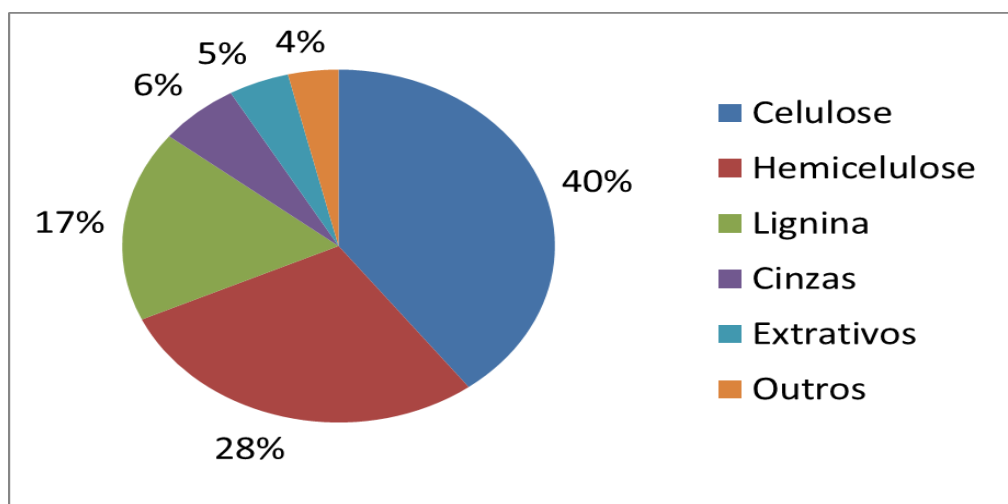


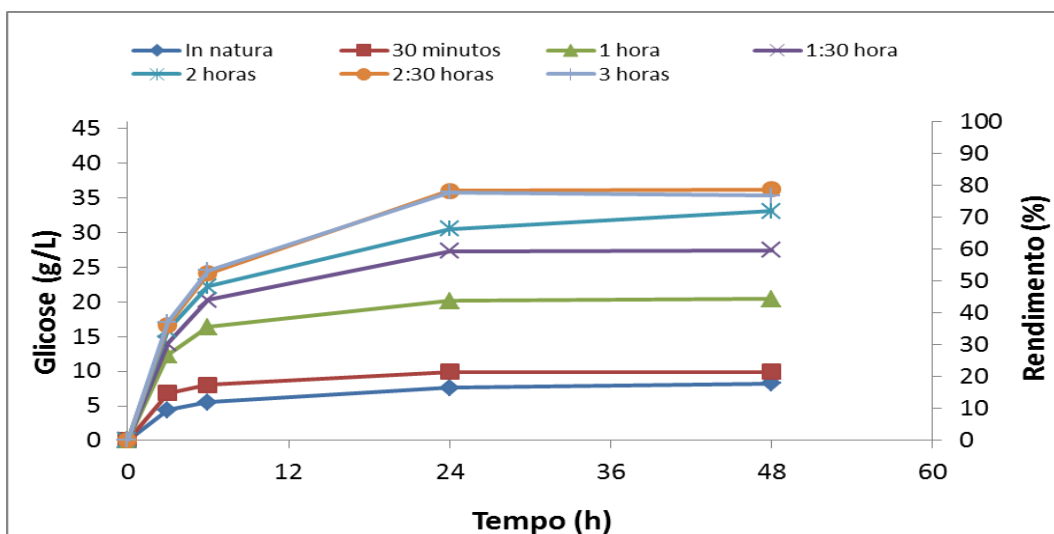
Tabela 2: Composição em monossacarídeos proveniente de celulose e hemicelulose do bagaço de cana-de-açúcar proveniente da Usina Santa Luzia

Composição de carboidratos em % de monossacarídeos	
Glicose	46,28 ± 0,13
Xilose	28,72 ± 0,20
Galactose	1,37 ± 0,05
Arabinose	3,48 ± 0,25

4.2. Hidrólise Enzimática:

A Figura 2 representa o resultado de hidrólise enzimática por 48 h da glicose presente na biomassa para o pré-tratamento em meio seco.

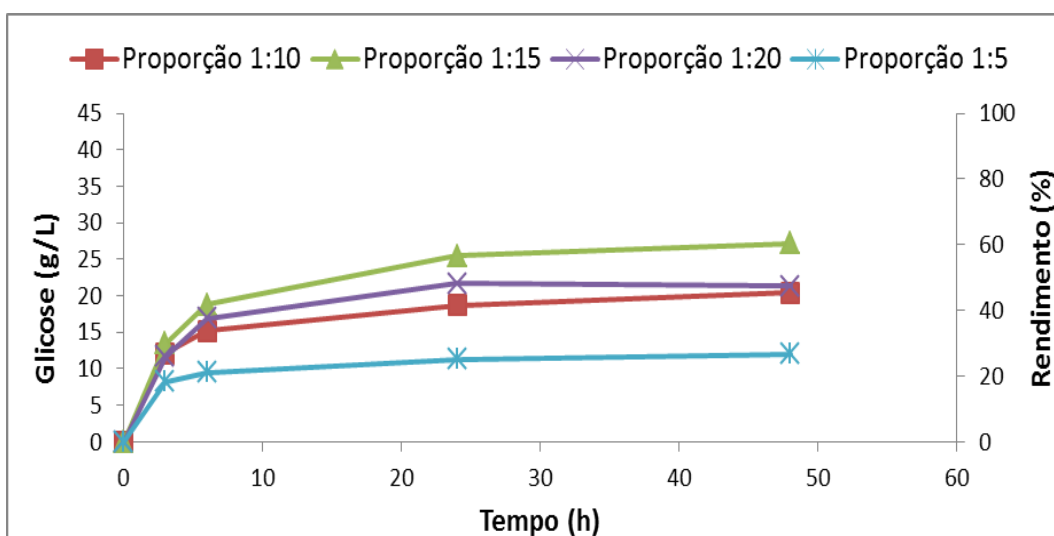
Figura 2: Rendimento (%) e concentração de glicose (g/L) após a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar tratado em meio seco.



O gráfico mostra que o tratamento em meio seco por 2,5 horas é o que apresenta melhor rendimento em hidrólise, juntamente com o tratamento por 3 horas. Dessa forma, o tratamento em meio seco por 2,5 horas é suficiente para atingir o máximo possível de sacarificação na etapa de hidrólise enzimática.

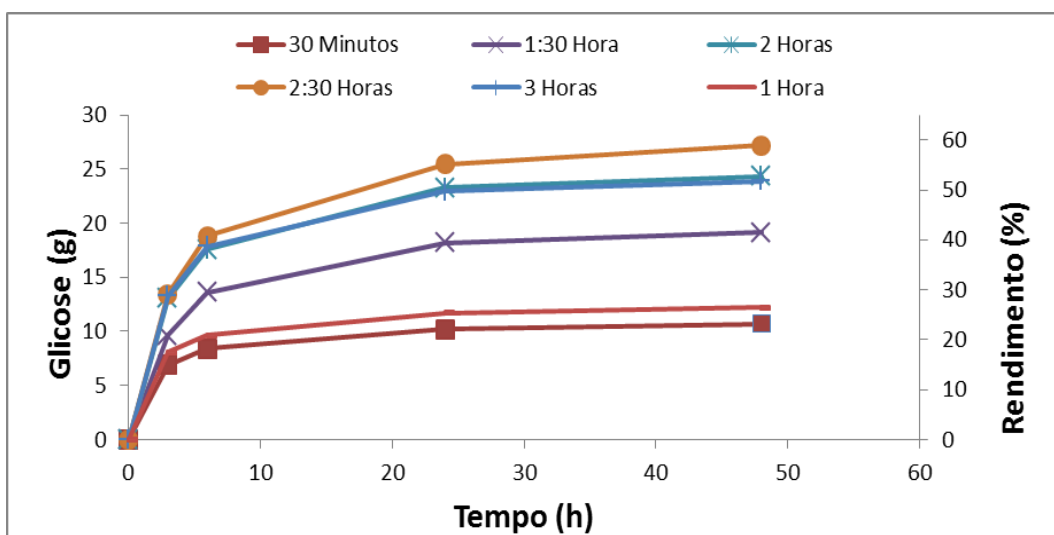
Para a escolha das condições de trabalho para a moagem em meio úmido, foram feitos testes de proporção biomassa/água em peso por volume, utilizando como tempo de moagem a melhor condição em meio seco (2,5 horas, no caso). A Figura 3 apresenta os resultados de hidrólise enzimática de cada material pré-tratado nas proporções 1:5, 1:10, 1:15 e 1:20.

Figura 3: Rendimento (%) e concentração de glicose (g/L) após a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar tratado em meio úmido sob diferentes proporções biomassa/água em p/v.



O gráfico mostra que o melhor rendimento de hidrólise é atingido na proporção 1:15. Sendo assim, o perfil do pré-tratamento em meio úmido em diferentes tempos de moagem foi levado sob essas condições. A Figura 4 ilustra os resultados obtidos para essa etapa.

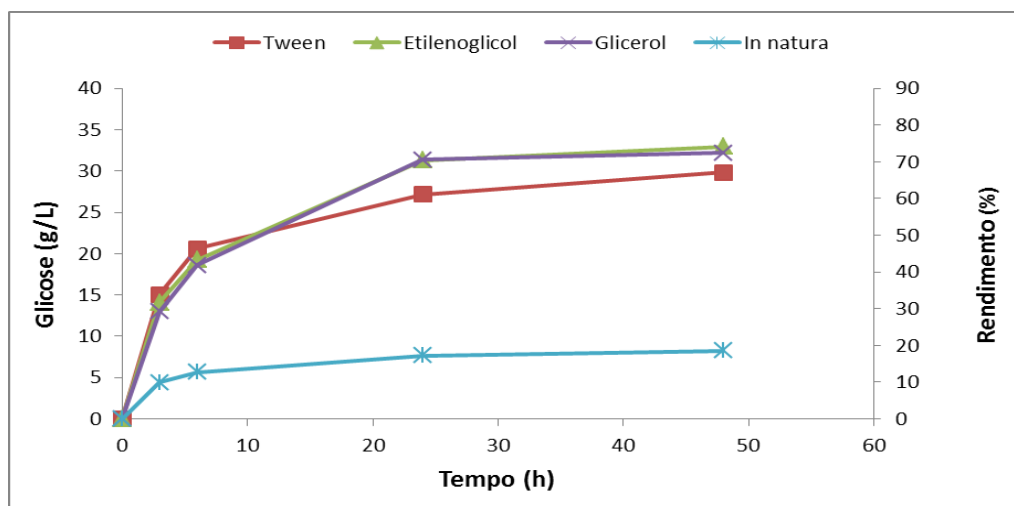
Figura 4: Rendimento (%) e concentração de glicose (g/L) após a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar tratado em meio úmido.



Com um rendimento de 61% em glicose, o pré-tratamento por 2,5 horas foi o que obteve melhor resultado dentro todos em meio úmido. Ainda assim, o rendimento se mostra inferior quando comparado ao resultado de hidrólise do bagaço pré-tratado em meio seco.

A figura 5 mostra os resultados de hidrólise para o bagaço pré-tratado em meio com os aditivos utilizados (Tween 80, glicerol e etilenoglicol). Os resultados se referem a um tratamento por 2,5 horas, visto que foi o tempo ótimo de pré-tratamento nas duas condições anteriores (seco e úmido em água).

Figura 5: Rendimento (%) e concentração de glicose (g/L) após a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar tratado por 2,5 horas em meio com aditivos.



O gráfico mostra que o pré-tratamento com os aditivos etilenoglicol e glicerol apresentaram rendimentos em hidrólise 74,5% e 73% respectivamente, enquanto o Tween apresentou 67%.

5. CONCLUSÕES

De acordo com o observado nos resultados de hidrólise enzimática, o pré-tratamento de bagaço de cana-de-açúcar em moinho de bolas por 2,5 h mostrou-se suficiente para atingir o máximo de sacarificação, atingindo uma concentração de 35 g/L, relativo a um rendimento de 82% em glicose. Embora a literatura discorra sobre a influência benéfica de água e aditivos no resultado de moagem em diversos tipos de materiais, ela não se aplica ao pré-tratamento de biomassa lignocelulósica, visto que os resultados de hidrólise nas diferentes condições testadas não superaram ou mesmo atingiram o rendimento encontrado em meio seco.

6. REFERÊNCIAS

- WYMAN, C., Ethanol from lignocellulosic biomass: Technology, economics, and opportunities, *Bioresour. Technol.*, 1994.
- LIN, Z., HUANG, H., ZHANG, H., ZHANG, L., YAN, L., CHEN, J., Ball Milling Pretreatment of Corn Stover for Enhancing the Efficiency of Enzymatic Hydrolysis, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2010.
- TANGSATHITKULCHAI, C. , The effect of slurry rheology on fine grinding in a laboratory ball mill, *Int. J. Miner. Process*, 2002.
- LEE, S., TERAMOTO, Y., ENDO, T., Enzymatic saccharification of woody biomass micro/nanofibrillated by continuous extrusion process I – Effect of additives with cellulose affinity, *Bioresour. Technol.*, 2008.
- LI, J., LI, S., FAN, C., YAN, Z., The mechanism of poly(ethylene glycol) 4000 effect on enzymatic hydrolysis of lignocellulose, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 2011.
- SLUITER, A., HAMES, B., RUIZ, R., SCARLATA, C., SLUITER, J., TEMPLENTON, D., CROCKER, D., Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass, *Lab. Anal. Proc.*, 2008.