

# **AVALIAÇÃO DA PALHADA DA SOJA COMO MATÉRIA PRIMA PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL COMBUSTÍVEL AUXILIADO POR TRATAMENTOS QUÍMICOS**

## **ASSESSMENT OF SOYBEAN STRAW AS RAW MATERIAL FOR THE PRODUCTION OF ETHANOL FUEL AUXILIATED BY CHEMICAL TREATMENTS<sup>1</sup>**

Gabriella Fernandes Fílbida (gfilbidaf@gmail.com)<sup>2</sup>

Geraldo Pereira de Souza Neto (quimica.geraldo@gmail.com)<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Trabalho de conclusão do curso de Engenharia Ambiental, Universidade de Rio Verde – UniRV.

<sup>2</sup>Acadêmica do curso de Engenharia Ambiental.

<sup>3</sup>Orientador, Professor Adjunto da Faculdade de Ciências Biológicas da UniRV.

### **RESUMO**

Com o passar dos anos, a pesquisa em torno de fontes energéticas renováveis tem aumentado, pois há uma preocupação em relação ao meio ambiente, e a utilização de combustíveis fósseis é um dos principais fatores que afetam a qualidade e equilíbrio do mesmo. Nesse contexto, os biocombustíveis vieram como forma de minimizar positivamente esses impactos, que além de reduzir a emissão de gases poluentes do efeito estufa que é responsável pelo aquecimento global, são também ecologicamente favoráveis, aí que entra o etanol de 2ª geração. O material lignocelulósico para produção de etanol combustível passa por 4 etapas: pré-tratamento, hidrólise, fermentação e purificação/ separação. O pré-tratamento permite alterar a estrutura da material lignocelulósico, para que as enzimas possam transformar os carboidratos em açúcares fermentáveis. Esta etapa tem como finalidade remover a lignina e hemicelulose, aumentando o teor de açúcares fermentáveis, além de impedir a formação de compostos inibidores dos processos de hidrólise e fermentação, e ainda minimizar a degradação dos carboidratos. O aquecimento por micro-ondas permite um controle sobre a temperatura, além de requerer menor custo energético. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi de analisar e quantificar os açúcares liberados após pré-tratamento do material

lignocelulósico, utilizando a palha da soja como fonte de substrato, para posteriormente realizar a hidrólise enzimática, concluindo então que é viável a realização do pré-tratamento para a quebra das moléculas com boa liberação de celulose para obtenção de etanol de 2ª geração.

**Palavras-chave:** biocombustíveis, pré-tratamento e material lignocelulósico.

## **ABSTRACT**

Over the years, research on renewable energy sources has increased, as there is a concern about the environment, and the use of fossil fuels is one of the main factors that affect the quality and balance of the same. In this context, biofuels have come as a way to positively minimize these impacts, which in addition to reducing the emission of greenhouse gases that are responsible for global warming, are also ecologically favorable, where 2nd generation ethanol enters. The lignocellulosic material for the production of fuel ethanol passes through four stages: pre-treatment, hydrolysis, fermentation and purification / separation. The pre-treatment allows changing the structure of the lignocellulosic material, so that the enzymes can transform the carbohydrates into fermentable sugars. This stage aims to remove lignin and hemicellulose, increasing the fermentable sugars content, besides preventing the formation of compounds inhibiting hydrolysis and fermentation processes, and to minimize the degradation of carbohydrates. The microwave heating allows a control over the temperature, besides requiring a lower energy cost. Therefore, the objective of this work was to analyze and quantify the sugars released after pretreatment of the lignocellulosic material, using the soybean straw as a substrate source, to later carry out the enzymatic hydrolysis, concluding that it is feasible to perform the pre- Treatment for the breakdown of molecules with good cellulose release to obtain 2nd generation ethanol.

**Keyword:** biofuels, pretreatment, lignocellulosic material.

## **INTRODUÇÃO**

Um dos maiores problemas encontrados no mundo moderno é a possível escassez de petróleo em um futuro breve, por se tratar de uma fonte de energia não renovável.

Devido ao crescimento populacional alavancou-se várias crises no mundo, como o preço exorbitante dos barris de petróleo além do aumento da demanda populacional. Com a crise do petróleo em meados dos anos 70, criou-se o Programa Proálcool, no qual se pretendia transformar o excesso da produção de açúcar que estava em crise e com preços baixos, em álcool anidro para gasolina e posteriormente o incentivo à produção de motores que usassem o etanol como fonte de combustível. (KOHLHEPP, 2010).

A utilização de combustíveis fósseis é um dos principais fatores negativos que afetam a qualidade e equilíbrio do meio ambiente. Visando isso, o biocombustível veio como forma de minimizar esses impactos positivamente, pois estudos realizados por BNDES (2008) afirma que seu uso permite reduzir a emissão de carbono para a atmosfera, que reduz a emissão de gases do efeito estufa que é um dos grandes responsáveis pelo aquecimento global e são ecologicamente favoráveis, uma vez que liberam 50% menos material particulado e 98% menos enxofre, além de serem biodegradáveis (NASS et al., 2007; DEMIRBAS, 2009 apud POMPELLI et al., 2011).

De acordo com Vale & Gentil (2008), é bastante relevante a preocupação com a produção e o uso dos resíduos gerados utilizando a biomassa vegetal, visto que realmente não pode ser deixado de lado, pois os mesmos resíduos que são descartados em forma de matéria orgânica, também são queimados para fins de eliminação, acarretando um aumento considerável na poluição ambiental, além de representar perdas de matéria-prima.

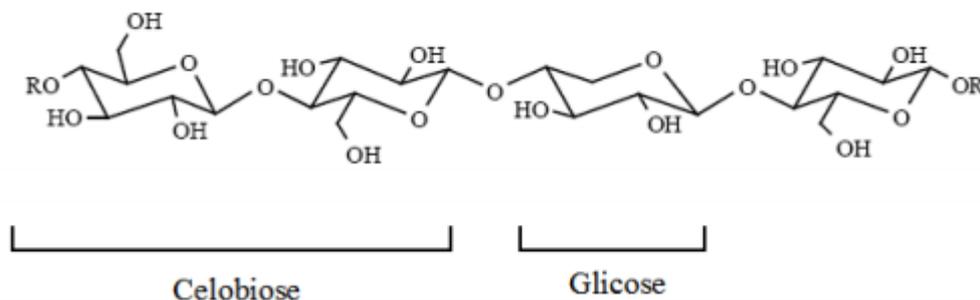
Segundo estimativas de Ferreira-Leitão et al. (2010), a produção brasileira de etanol poderia ser mais que duplicada sem o aumento da área planta, utilizando como fonte residual a cana de açúcar para produção de etanol lignocelulósico de 12% do bagaço e 50% da palha disponíveis, não comprometendo a reposição de nutrientes do solo. Porém, qualquer produto que contenha quantidades consideráveis de carboidratos, constitui-se de matéria prima para obtenção de etanol combustível.

Para Nogueira et al (2000) estima que para cada hectare de soja será produzido em torno de 3,0 a 4,0 toneladas de resíduos. Esses resíduos são os caules, hastes e folhas, mais popularmente chamados de palhada da soja, e que são resíduos com alto teor de proteína, lipídios e principalmente fibras, podendo ser bem aproveitados para fim de

produção de etanol. A palha da soja chega a possuir em sua estrutura cerca de 40% de celulose, 20% de hemicelulose e 20% de lignina (Wang et al., 2007).

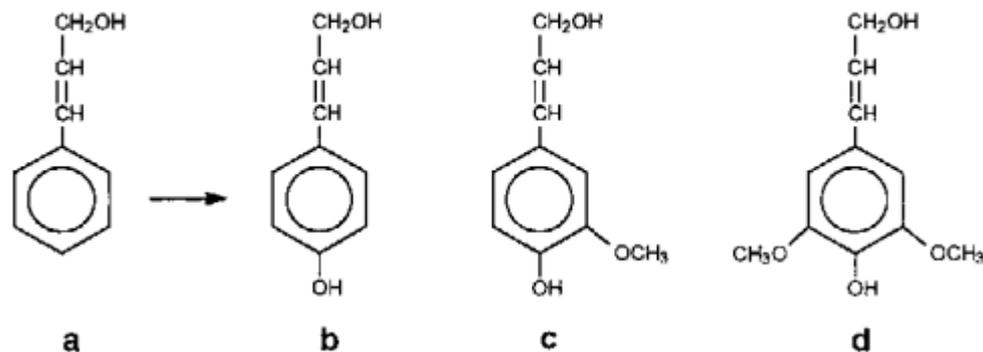
Em geral, o processo biológico de conversão de biomassa lignocelulósica em etanol envolve: (1) Pré-tratamento, que se faz necessário para remover a lignina e hemicelulose e com isso poder disponibilizar celulose, (2) A despolimerização de polímeros de carbono hidratado auxiliado por um complexo de enzimas de celulase para liberação de açúcares livres, (3) O processo fermentativo de açúcares hexoses e/ ou pentoses para produzir etanol, (4) Destilação do etanol (CANILHA et al., 2012).

Toda biomassa lignocelulósica é composta por cadeias de celulose unidas por ligações de hidrogênio, que são por sua vez recobertas por hemicelulose e ligninas. A celulose é o principal constituinte nestes materiais no qual é um polímero natural, sendo um homopolissacarídeo linear e em sua composição está presente a glicose, assim como mostrado na Figura 1. Porém apesar de toda simplicidade química, esse substrato inclui várias propriedades que são muito importantes para o processo de hidrólise (BEGUIN & AUBERT, 1994). Já as hemiceluloses são diferentes da celulose por ter em sua constituição, diferentes unidades de açúcares, formando cadeias bastante ramificadas e curtas (RABELO, 2010).



**Figura 1:** Estrutura da celulose (FENGEL E WEGENER, 1989)

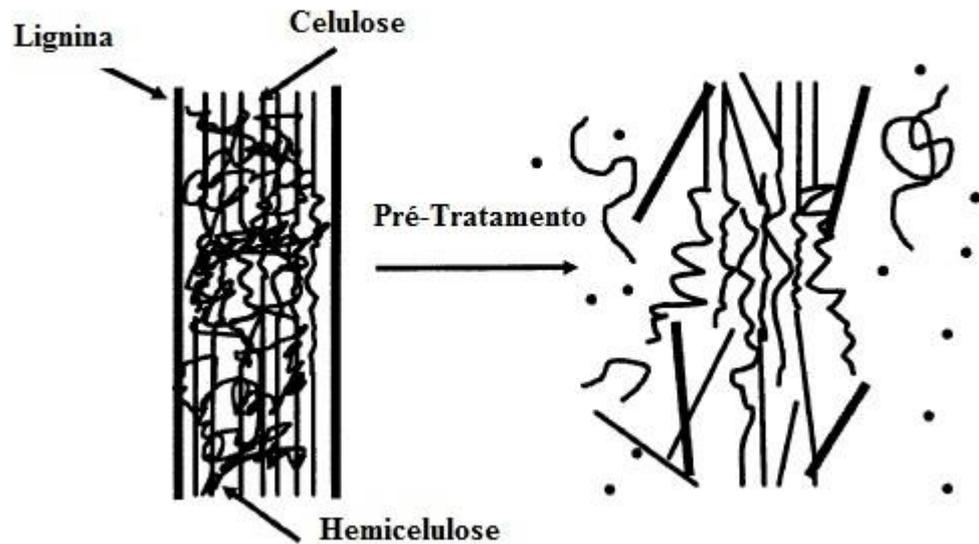
Após a celulose, a lignina é a substância polimérica em maior abundância nas plantas e cabe a ela a rigidez nas paredes das células (BRISTOW & KOLSETH, 1986). Na Figura 2 mostra os precursores primários para a formação da lignina.



**Figura 2:** Derivados do álcool cinâmico (a): álcool trans-p-cumárico (b), álcool trans-coniferílico (c) e álcool-sinapílico (d), são os precursores primários na formação da lignina no processo de polimerização desidrogenativa (FENGEL e WEGENER, 1989).

Existem ainda outras substâncias que não fazem parte da parede celular, mas que estão presentes no material lignocelulósico e que podem ser solúveis em solventes neutros, exemplo da parte seca da madeira (RABELO, 2010). Sendo assim, podemos encontrar então alguns carboidratos de baixo peso molecular, alcaloides e lignina solúvel (KLINKE et al., 2004).

O pré-tratamento é a etapa inicial e permite alterar a estrutura da biomassa celulósica para permitir que as enzimas possam transformar os carboidratos polímeros em açúcares fermentáveis (MOSIER et al., 2005). Logo, torna-se necessária essa etapa, tanto para fins de quebra da estrutura cristalina da lignocelulose quanto para remoção da lignina, expondo assim as moléculas de celulose e hemicelulose à ação enzimática (ODEGA; PETRI, 2010). A Figura 3 representa as enzimas convertendo os polímeros de carbono em açúcares fermentáveis (MONSIER et al., 2005).



**Figura 3:** Quebra do material lignocelulósico após auxílio do pré-tratamento (MOSIER *et al.*, 2005)

Esses processos de pré-tratamento de materiais lignocelulósicos podem ser térmicos, químicos, físicos, biológicos ou uma junção de todos eles, tudo dependerá do grau de separação requerido e a finalidade do composto (SANTOS; GOUVEIA, 2009).

Nesse contexto, em se tratando da palhada da soja, pode-se dizer que assim como qualquer outro resíduo agroindustrial, a mesma também apresenta determinada quantidade de celulose que é convertida em açúcares de cadeias menores, podendo ser utilizada na produção de etanol de 2ª geração. Com isso o objetivo foi de analisar e quantificar açúcares liberados após o pré-tratamento do material lignocelulósico, utilizando a palhada da soja como fonte de substrato.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade de Rio Verde - UniRV, em Rio Verde, GO, no período de julho de 2016 a maio de 2017. O material lignocelulósico

(palha da soja) utilizado no experimento também foi extraído na universidade, localizada na latitude é 17° 47' 13,1" S e longitude 50° 57' 52,1" W.

Esse material foi submetido a lavagem em água corrente para remover quaisquer sujeiras, e seco em estufa com circulação forçada de ar, a 40 °C, até massa constante. Então foram triturados em um moinho tipo Willye até a obtenção de um pó homogêneo e armazenado em sacos plásticos, sob refrigeração, até o seu uso. As determinações de gordura, celulose, hemicelulose e lignina foram feitas através da metodologia relatada por Lin et al. (2010) e Li et al. (2004).

Sendo assim, o pré-tratamento foi realizado em 14 experimentos, cada um deles com porções de 1g do material lignocelulósico para 50 ml de solução alcalina de hidróxido de sódio (NaOH) em variadas concentrações, submetidas a uma potência de 10% de radiação do micro-ondas em uma variação de tempo entre 10 e 60 minutos (sendo 1 minuto irradiando e 1 minuto em descanso), como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Experimento para otimização do pré-tratamento de palha de soja com hidróxido de sódio e radiação de micro-ondas, UniRV, 2017.

<b>Experimento</b>	<b>Material lignocelulósico (g)</b>	<b>Concentrações de NaOH (%)</b>	<b>Tempo (min)</b>	<b>Repetições</b>
Ponto 1	1	1,0	20	1
Ponto 2	1	5,0	20	1
Ponto 3	1	1,0	60	1
Ponto 4	1	5,0	60	1
Ponto Central	1	3,0	40	6
Ponto Axial 1	1	0,2	40	1
Ponto Axial 2	1	5,8	40	1
Ponto Axial 3	1	3,0	12	1
Ponto Axial 4	1	3,0	68	1

Fonte: HERNÁNDEZ, 2006.

Segundo Silva et al. (2006) com um planejamento fatorial, onde abrange muitas variáveis (concentração da base e o tempo de irradiação do micro-ondas), tornamos possível um planejamento organizado, de forma que reduza a quantidade de experimentos, economizando tempo e recursos financeiros.

A curva de calibração da glicose partiu-se da solução onde utilizou-se 100 ml de solução padrão de D-glicose com concentração de 5 g/l, dissolvendo então 0,5g de D-

glicose em 100 ml de água destilada. Após o preparo desta solução, realizou-se várias diluições para obter diferentes concentrações, como mostrado na Tabela 2.

<b>Volume de Solução Padrão (ml)</b>	<b>Volume de Água (ml)</b>	<b>Concentração Final (g/L)</b>
0	10	0
1	9	0,5
2	8	1
3	7	1,5
4	6	2
5	5	2,5
6	4	3
7	3	3,5
8	2	4
9	1	4,5
10	0	5

Tabela 2: Diluições de Glicose.

Para a construção da curva, foi realizada a leitura da absorbância das amostras utilizando 1 ml da solução estoque + 1,5 ml do reagente DNS + 20,5 ml de água destilada em triplicata com leitura no espectrofotômetro a 540 nm.

Para análise dos açúcares redutores, foi adicionado em tubos de ensaio 1ml da amostra líquida com 1,5 ml do DNS (1g de DNS p/ 100ml de água, 30g de tartarato e 1,6g de NaOH) para 10 ml de água destilada, que foram submetidas a uma temperatura de 95°C em banho maria por 10 minutos. Após um breve resfriamento, foram feitas as leituras em comprimento de onda de 540 nm das 14 amostras no espectrofotômetro, para saber a quantidade de açúcares totais liberada e qual mostrou maior rendimento em todo processo.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Assim como mostrado no Gráfico 1, obtivemos por uma média das 10 amostras, cinco pontos para análise de absorbância na curva de calibração da glicose, numa equação  $y = 0,1159 x - 0,0301$  e  $R^2 = 0,9977$ .

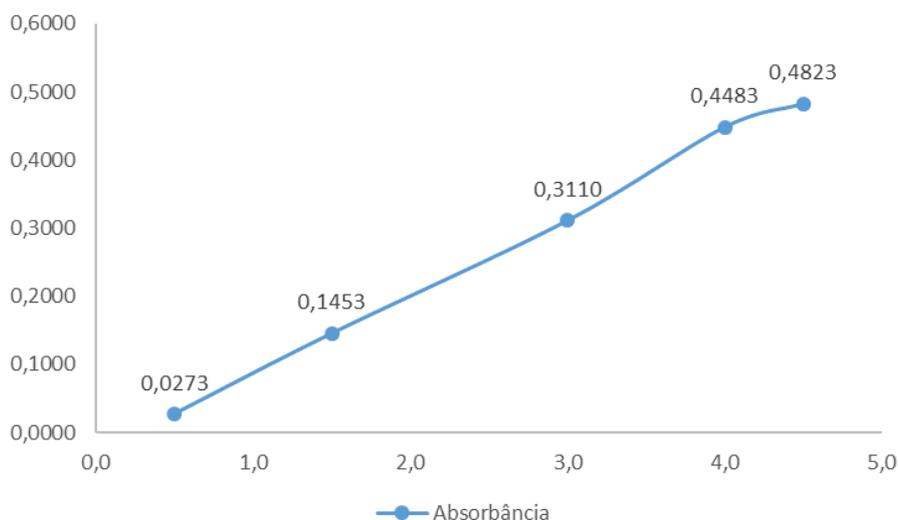


Figura 1: Curva de Calibração Padrão de Glicose.

Após encontrada a equação da curva de glicose, utilizou-se a mesma para encontrar o ponto onde a liberação de açúcares totais teria sido maior. Podemos ver no Gráfico 2 todos os pontos, sendo que o maior ponto onde ocorreu a liberação de açúcares foi o ponto 2, seguido do ponto 4. A menor liberação ocorreu no ponto 1, onde a concentração de NaOH foi de 1,0% e um tempo de irradiação de 20 minutos, sendo que no ponto 3 utilizou-se da mesma concentração, porém com uma radiação de 60 minutos, obteve-se então uma quantidade maior de liberação de açúcares.

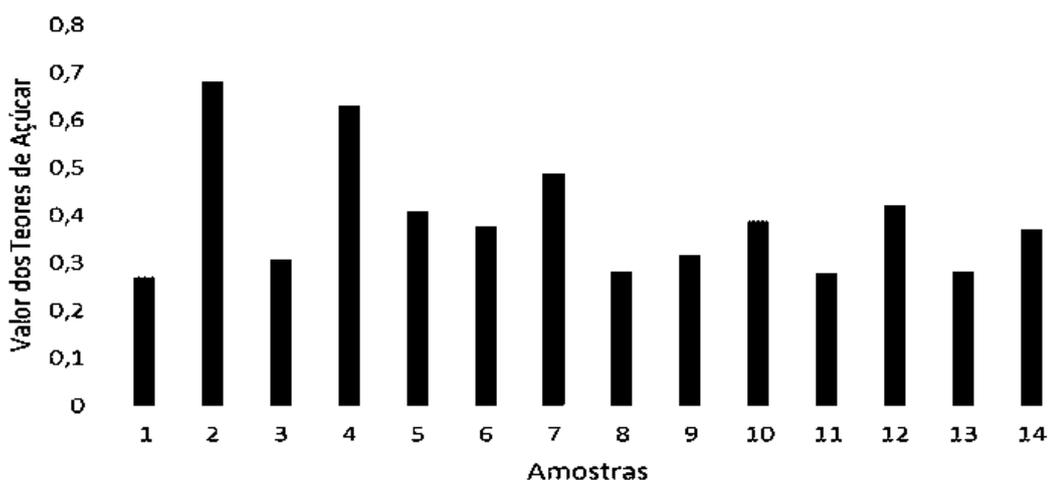


Figura 2: Material pré-tratado após curva de calibração.

Como podemos observar no gráfico abaixo, tivemos uma pequena variação entre os pontos 2 e 4, ambos com concentração de solução alcalina de 5,0 de NaOH, porém o

ponto 2 sofreu irradiação por 20 minutos e o ponto 4 por 60 minutos. Sendo assim, observamos que apesar da mesma concentração alcalina, o ponto 2 obteve melhor resposta ao pré-tratamento, sendo ele então a amostra utilizada para obtenção dos teores de celulose, hemicelulose, lignina e extraíveis.

Posteriormente a caracterização do material foi feita em duplicata, determinou-se os teores de gorduras extraíveis, celulose, hemicelulose e lignina no material após o pré-tratamento químico no micro-ondas e o material bruto sem qualquer tipo de tratamento. Na Tabela 3, podem ser observados os valores encontrados no material do ponto 2.

Experimento	Extraíveis	Hemicelulose	Lignina	Celulose
Bruto	6,8	36,3	42,0	15,9
Ponto 2	2,8	24,3	26,9	44,92

Tabela 3: Valores obtidos após caracterização do material.

Para os resultados referente aos extraíveis presentes no material, pode-se notar que o ponto 2 (2,8%) teve uma redução nos níveis de gordura em relação ao material bruto (6,8%), e que de acordo com os resultados descritos por Klinke et al., (2004) ele relata que para madeiras, a quantidade de substâncias menores é equivalente a 4-8%. Isso deve-se ao fato de que nesta grande fração de substâncias está presente alguns polímeros de isopreno, que são resinas que se encaixam a vários compostos não voláteis e fenóis, que por sua maioria são representados por taninos. Ressalta-se então que o material que recebeu o pré-tratamento obteve redução aos níveis de gorduras quando comparado ao material bruto.

Para a hemicelulose, pode-se observar que os valores variaram de 36,3% no material bruto, para 24,3% no material com pré-tratamento, porém não obteve uma distância tão significativa entre os valores. Em referência a lignina, nota-se que obteve uma baixa no valor do ponto 2 para o material bruto, sendo assim um ponto positivo no experimento visto que o mesmo conseguiu a deslignificação, que pode facilitar a atuação das enzimas sobre a celulose presente no material, aumentando a produção de etanol.

Analisando então os resultados referente a celulose após toda a caracterização do material, pode-se destacar que o valor do material pré-tratado, o ponto 2 (44,92%), teve

liberação de celulose três vezes maior quando comparado ao material bruto (15,9%), o que teoricamente influenciaria no rendimento do mesmo para a transformação de celulose em açúcares fermentáveis, e possivelmente produção de etanol. Para PEREGO & BIANCHI (2010) a digestão das enzimas da celulose na biomassa sem o pré-tratamento é baixa, devido a sua estrutura, sendo assim o pré-tratamento é utilizado para facilitar a quebra dessa estrutura, removendo a lignina e expondo celulose e hemicelulose tornando a hidrólise enzimática mais eficaz.

Sendo assim, após análise de todos os resultados encontrados, nota-se que a deslignificação da biomassa (26,9%) favoreceu a quebra do material lignocelulósico, evidenciando a celulose e preservando a hemicelulose (24,3%) que possivelmente irá gerar teores menores de inibidores, facilitando a hidrólise enzimática, observando também um valor significativo no teor de celulose (44,92%), sendo esse o foco do trabalho.

Kashaninejad & Tabil (2011) avaliaram o pré-tratamento químico consorciado com micro-ondas, em palhas de trigo e cevada, porém as amostras foram imersas em água, solução de hidróxido de sódio e de cálcio com concentrações diferentes (1 e 2% w/v), em seguida expostas a radiação a três níveis diferentes (295, 603 e 713 W) e assim concluíram que amostras de palha de trigo e cevada pré-tratadas por essa técnica, tiveram menor hemicelulose, lignina e celulose do que as amostras não tratadas, pois nas mesmas o tratamento desintegrou a estrutura do material dissolvendo seus componentes, contradizendo então os resultados presente neste trabalho, pois os mesmos aconteceram em maiores quantidades aumentando assim os teores de celulose, vendo que o material tratado (44,92%) foi três vezes maior que o material sem tratamento (15,9%) evidenciando a importância do pré-tratamento no material da palha de soja.

## **CONCLUSÃO**

Conclui-se que o pré-tratamento alcalino do material lignocelulósico, nesse caso a palha da soja, obteve bons resultados, diminuindo a lignina 42% para 26,9% na palha pré-tratada, o que facilita a ação das enzimas na conversão de celulose em açúcares, aumento significativo nos teores de celulose disponíveis para hidrólise enzimática, passando de 15,9% para 44,92%, e a preservação da hemicelulose.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL (BNDES). **Bioetanol de cana de açúcar**: energia para o desenvolvimento sustentável. Rio de Janeiro: BNDES, 2008.

BEGUIN, P.; AUBERT, J. P. The biological degradation of cellulose. **FEMS Microbiol. Rev.**, v.13, p 25-58, 1994.

BRISTOW, J.A.; KOLSETH, P. Paper, structure and properties. **M.Dekker**, New York, 1986.

CANILHA, L.; CHANDEL, A. K.; MILESSI, T.S.S; ANTUNES, F.A.F; FREITAS, W.L.C; FELIPE, M.G.A; SILVA, S.S. Bioconversion of Sugarcane Biomass into Ethanol: An Overview about Composition, Pretreatment Methods, Detoxification of Hydrolysates, Enzymatic Saccharification, and Ethanol Fermentation. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v.2012, p.1-15, 2012.

DEMIRBAS, A. 2009. Biofuels: green energy and technology. Springer, Londres.

FENGEL, D., WEGENER, G. Wood chemistry, ultrastructure, reactions. Berlin: **Walter de Gruyter & CO**. 613p. 1989.

FERREIRA-LEITAO, V. *et al.* Biomass Residues in Brazil: availability and potential uses. **Waste Biomass Valor**, v. 1, p. 65-76, 2010.

HERNÁNDEZ, M. S. *et al.* Amylase production by *Aspergillus niger* in submerged cultivation on two wastes from food industries. **Journal of Food Engineering**, v. 73, n. 1, p. 93–100, 2006.

KASHANINEJAD, M.; TABIL L.G. Effect of microwave-chemical pre-treatment on compression characteristics of biomass grinds. **Science Direct**. V.108, p.36-45, 2011.

KLYNKE, H. B.; THOMSEN, A. B.; AHRING, B. K. Inhibition of ethanol-producing yeast and bacteria by degradation products produced during pre-treatment of biomass. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 66, p. 10-26, 2004.

KOHLHEPP, G. Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil. **Estudos avançados**, vol.24, n.68, p. 223-253, ISSN 0103-4014, 2010.

LI, S; XU, S; LIU, S; YANG, C; LU, Q. Fast pyrolysis of biomass in free-fall reactor for hydrogen-rich gas. **Fuel Processing Technology**, v.85, p.1201-1211, 2004.

LIN, L.; YAN, R.; LIU, Y.; JIANG, W. In-depth investigation of enzymatic hydrolysis of biomass waste based on three major components: Cellulose, hemicellulose and lignin. **Bioresource Technology**, v.101, p.8271-8223, 2010.

MOSIER, N.; WYMAN, C.; DALE, B.; ELANDER, R.; LEE, Y. Y.; HOLTZAPPLE, M. LADISH, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Techonology**, v.96, p.673-686, 2005.

NASS, L.L., P.A.A. PEREIRA E D. ELLIS. 2007. Biofuels in Brazil: an overview. *Crop Sci.* 47, 2228-2237.

OGEDA, T. L. E. PETRI, D. F. S. Hidrólise enzimática da biomassa. **Química Nova**, v.33, n.7, p.1549-1558, 2010.

PEREGO, C. & BIANCHI, D. Biomass upgrading through acid–base catalysis. **Chemical Engineering Journal**, v.161, p.314-322, 2010.

POMPELLI, M. F. *et al.* Crise energética mundial e o papel do Brasil Na problemática de biocombustíveis. **Agronomía Colombiana**, v. 29, n. 2, p. 231-240, 2011.

RABELO, SARITA CÂNDIDA. Avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática em bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração. Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2010.

SANTOS, J. R. A.; GOUVEIA, E. R. Produção de bioetanol de bagaço de cana de açúcar. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 11, n. 1, p. 27-33, 2009. 149.

SILVA, J. A.; SILVA, F. L. H.; ALVES, R. R. N.; SANTANA, D. P.; Influência das variáveis nitrogênio, fósforo e °brix na produção dos metabólitos secundários contaminantes totais da fermentação alcoólica. **Química Nova**, v.29, n.4, p. 695-698, 2006.

VALE, A.R.; GENTIL, L.V. Produção e uso energético de biomassa e resíduos agroflorestais. In: **Tecnologias aplicadas ao setor madeireiro III**. Rio Branco: Suprema, 2008. P. 195 – 241.

WANG, Y., MOM, X., SUN, X.S., WANG, D.H. Soy protein adhesion enhanced by glutaraldehyde crosslink. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 104, n. 1, p. 130-136, 2007.