



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS  
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL**

**CLÁUDIO ANDRÉ DA COSTA MACEDO**

**AVALIAÇÃO DO TEOR DE CELULOSE E RENDIMENTO DE HIDRÓLISE DE  
MISTURAS DE CAPINS PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA  
GERAÇÃO**

**Palmas, TO**

**2019**

**CLÁUDIO ANDRÉ DA COSTA MACEDO**

**AVALIAÇÃO DO TEOR DE CELULOSE E RENDIMENTO DE HIDRÓLISE DE MISTURAS  
DE CAPINS PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Ambiental, da Universidade Federal do Tocantins, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de bacharel em Engenharia Ambiental

**Palmas, TO**

**2019**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

M141a Macêdo, Cláudio André da Costa.

Avaliação da biomassa formada por espécies de capim quanto ao teor de celulose e rendimento de glicose para produção de etanol de segunda geração . / Cláudio André da Costa Macêdo. – Palmas, TO, 2019.

33 f.

Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Engenharia Ambiental, 2019.

Orientador: Emerson Adriano Guarda

1. Etanol de Segunda Geração. 2. Biomassa de Etano. 3. Composição de Biomassa Lignocelulósica. 4. Produção de Etano. I. Título

**CDD 628**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

# FOLHA DE APROVAÇÃO

Claudio André da Costa Macedo

**Avaliação da biomassa formada por espécies de capim quanto ao teor de celulose e rendimento de glicose para produção de etanol de segunda geração**

Monografia foi avaliada e apresentada à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Campus Universitário de Palmas, Curso de Engenharia Ambiental para obtenção do título de Bacharel e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 06 / 12 / 2019

Banca Examinadora

---

Prof. Dr. Emerson Adriano Guarda, UFT

---

Prof. Dr. Waldesse Pirage de Oliveira Júnior, UFT

---

Prof. Dra. Patrícia Martins Guarda, UFT

Palmas,  
2019

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar a Deus por sempre está a frente das minhas batalhas e vitórias, muito obrigado Senhor. Minha família, meus pais, Alfredo Oliveira de Macedo filho, o homem mais trabalhador que veio ao mundo, e Célia Maria Holanda da Costa Macedo, a mulher mais corajosa, determinada e brava que veio ao mundo, para vocês dois deixo tal agradecimento: maior legado que carrego e honrar seus respectivos nomes, meu irmão Caio Alexandre da Costa Macedo, querido e conhecido pelo seu coração e habilidades, pessoas exemplos de honestidade, respeito e amor. Família Macedo, vocês são as melhores pessoas, risadas e momentos. Ao corpo docente da minha querida Universidade, por muitas vezes com paciência e um empenho que só os melhores conseguem ter, admiro todos vocês e serei eternamente grato pelo conhecimento repassado. Ao meu primeiro chefe na área de Engenharia, Heberth Veras Nunes, o qual teve paciência, temperamento e cuidado ao ensinar tudo que sabe, vai ser meu Chefe para sempre. Aos amigos, que ajudaram, atrapalharam, riram e torceram o meu muito obrigado, Igor Nascimento, Evandro, Alef e toda sua família, Rene, Alexandre, Andre, Dener, homem Macaco, Marcel Lopes e família, Kassio Negrão, Thayanan, Erton, Marcelo Henrique, Welton, Aurélio, Roseane, Benildes, Wantie, Gustavo e os demais. Agradecimento Especial a três pessoas que foram generosas e pacientes, Larissa Gualberto, Raiana Batista e Filipy Ramos, que Deus possa sempre iluminar o caminho de vocês pelo o que fizeram. E pra finalizar minha banca de avaliação de conclusão.

“ Acreditar é ter meio caminho andado “

Alfredo disse para o filho dele antes de um jogo de Basquete.

## RESUMO

Com a constante busca por biomassas alternativas, que disponham de alta concentração de celulose e baixo custo, visando a potencial produção de etanol de segunda geração, realizou-se este estudo utilizando como biomassa uma mistura de várias espécies de capim, advinda do estado de São Paulo, há que se ponderar, contudo, que o capim é produzido em áreas pequenas para ser usado com alimento para o gado, atualmente. Plantios em grandes áreas que gerem biomassa para bioenergia precisam de sistemas de produção diferenciados. Com isto em vista, este material lignocelulósico pode ser transformado em etanol desde que sua estrutura seja hidrolisada por processos químicos (ácidos) ou biotecnológicos (enzimas) gerando açúcares fermentescíveis. Este trabalho teve como objetivo a utilização de processos físicos e químicos do capim e posterior hidrólise e quantificação de carboidratos, o experimento ocorreu com a adição de ácido acético na amostra seca, seguida de lavagem e hidrólise em solução tampão citrato de sódio e posterior incubação. Os resultados obtidos mostraram que após o pré-tratamento, houve um rendimento de 18,9% da hidrólise, bem como potencial de produção de etanol 33.8 L/t, ambos abaixo do mostrado na literatura em outras biomassas, apesar disso há de se considerar o resultado obtido para estudos futuros.

**Palavras-chave:** Capim, hidrólise, celulose, glicose.

## ABSTRACT

With the constant search for alternative biomasses, which have high concentration of cellulose and low cost, aiming at the potential production of second generation ethanol, this study was carried out using as a biomass a mixture of several grass species from the state of São Paulo. Paul, it must be considered, however, that grass is produced in small areas for use with cattle feed today. Plantations in large areas that generate biomass for bioenergy need differentiated production systems. With this in mind, this lignocellulosic material can be transformed into ethanol as long as its structure is hydrolyzed by chemical (acidic) or biotechnological (enzymatic) processes generating fermentable sugars. The objective of this work was to use physical and chemical processes of grass and subsequent hydrolysis and carbohydrate quantification. The experiment was carried out with the addition of acetic acid in the dry sample, followed by washing and hydrolysis in sodium citrate buffer solution and subsequent incubation. The results showed that after pretreatment there was an 18.9% yield of hydrolysis, as well as a potential for ethanol production of 33.8 L / t, both below what is shown in the literature in other biomasses. the result obtained for future studies.

**Keywords:** Grass, hydrolysis, cellulose, glucose.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1: ESTRUTURA QUÍMICA DE MATERIAL LIGNOCELULÓSICO .....	17
FIGURA 2: TEOR DE CELULOSE DA BIOMASSA CAPIM APÓS BANHO MARIA.....	21
FIGURA 3: FLUXOGRAMA DA DETERMINAÇÃO DE TEOR DE CELULOSE .....	22

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1: CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS NA DETERMINAÇÃO DOS CARBOIDRATOS .....	24
TABELA 2: TEOR DE CELULOSE DA BIOMASSA OBTIDA .....	26
TABELA 3: CONCENTRAÇÃO DE GLICOSE NAS AMOSTRAS .....	27
TABELA 4: CONCENTRAÇÃO DE CELOBIOSE NAS AMOSTRAS .....	28
TABELA 5: RENDIMENTO DA HIDRÓLISE .....	28

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1. Teor de celulose.....	21
Equação 2. Rendimento da hidrólise.....	22
Equação 3. Balanço Estequiométrico etanol .....	23
Equação 4. Densidade.....	23

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
LAPEQ	Laboratório de Pesquisa em Química Ambiental e Biocombustíveis
UFT	Universidade Federal do Tocantins

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	11
2	OBJETIVOS.....	13
2.1	Objetivo geral.....	13
2.2	Objetivos específicos .....	13
3	REFERENCIAL TEORICO .....	14
3.1	Etanol de segunda geração.....	14
3.2	Gramíneas forrageiras para produção de etanol de segunda geração .....	15
3.3	Composição da biomassa lignocelulosica .....	16
3.3.1	Celulose.....	18
3.3.2	Hemicelulose.....	18
3.3.3	Lignina .....	19
4	MATERIAIS E METODOS.....	20
4.1	Obtenção da Biomassa .....	20
4.2	Teor de celulose .....	20
4.3	Hidrólise enzimática da celulose obtida .....	23
4.4	Quantificação dos Carboidratos .....	23
4.5	Potencial de produção de etanol.....	25
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
5.1	Teor de celulose.....	26
5.2	Hidrolise enzimática da celulose obtida .....	26
5.3	Quantificação dos Carboidratos .....	27
6	CONCLUSÕES .....	30
7	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

## 1 INTRODUÇÃO

No cenário mundial e no Brasil, a busca por combustíveis a partir de tecnologias sustentáveis tem se tornado cada vez maior. Devido às preocupações quanto a poluição ambiental, segurança energética e futuro dos derivados de petróleo, a comunidade global está buscando combustíveis não petrolíferos alternativos, juntamente com as tecnologias de energia mais avançadas, para aumentar a eficiência do uso de energia (SEMELSBERGER et al., 2006).

Neste contexto, diversos resíduos/materiais são investigados como matérias-primas para a produção do bioetanol ou etanol de segunda geração que é considerado um biocombustível com grande potencial para aumentar a produção de etanol. Os materiais lignocelulósicos são compostos de polímeros de carboidratos (celulose e hemicelulose), lignina, extrativos e minerais, em menor quantidade. A celulose e a hemicelulose compreendem a maioria do material lignocelulósicos e são os substratos que potencialmente serão utilizados para a produção de bioetanol de segunda geração (CARVALHO et al 2007).

Dentre as biomassas disponíveis para a produção de energia, destaque-se a lignocelulósica, por ser resíduo, ter grande disponibilidade e seu viés econômico é favorável, ou seja, possui baixo custo econômico. (PANDEY; SOCCOL; MITCHELL 2000). Portanto, a utilização dessa biomassa vem se mostrando como uma boa alternativa na produção do etanol, combustível menos poluente quando comparado à gasolina. Dentre os resíduos que estão sendo investigados tem-se: palha de arroz (YAO et al., 2007), palha de milho (WANG et al., 2009), o bagaço de palma (CARVALHO et al 2007), capim elefante (SANTOS, 2012), entre outros.

De acordo com Somma et al., (2010), estudos de gramíneas como fonte de biomassa na geração de energia expandem-se e revelam o bioetanol de segunda geração como alternativa viável e vantajosa em substituição dos derivados do petróleo, além de sua distribuição em todos os continentes do globo terrestre (SINGH; MISHRA, 1995).

As gramíneas forrageiras são considerados materiais lignocelulósicos, constituídos de fibras de celulose envolvidas em uma matriz amorfa de polioses e lignina, tendo em sua composição química: celulose, hemicelulose, cinzas e

extrativos (SANTOS *et al.*, 2012), formado por tecidos constituídos por células com parede celular, cujas formas e tamanhos são variáveis conforme a espécie vegetal e tecido histológico inserido. A integridade destes tecidos depende da parede celular que, em termos de ultraestrutura, é formada pelas diversas camadas compostas por microfibrilas celulósicas orientadas no espaço de forma definida.

Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o teor de celulose e posteriormente o rendimento de hidrólise de uma espécie de capim fornecida por uma empresa particular, e posteriormente fazer uma comparação com resultados de espécies semelhantes encontrados na literatura, a fim de ampliar as alternativas em torno do reaproveitamento de capim para produção de bioetanol.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Verificar o potencial de produção de etanol de segunda geração, avaliando o rendimento de glicose após a hidrólise da biomassa capim.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Quantificar o teor de celulose da biomassa.
- Realizar a hidrólise enzimática da biomassa, quantificando a glicose obtida.
- Avaliar e comparar os resultados com a literatura.
- Avaliar o potencial de produção de etanol obtido a partir dessa biomassa.

### **3 REFERENCIAL TEORICO**

A produção de energia é tida como um diferencial na trajetória evolutiva da humanidade, atuando diretamente no desenvolvimento social e econômico da sociedade, que com o passar do tempo diversificou suas fontes de obtenção da mesma (KATWAL e SONI; 2003). A energia de origem fóssil (petróleo, carvão mineral e gás natural) é a mais utilizada mundialmente, sendo que uma parcela significativa desse consumo está relacionada ao setor de transporte (LINDFELDT e WESTERMARK, 2009).

De acordo com Lindfeldt e Westermark (2009), após a crise do petróleo em meados de 1973, que diversos países e segmentos tem se empenhado em possibilitar o uso de biomassas como alternativa ao uso de combustíveis de origem fóssil, em virtude da possibilidade de esgotamento do mesmo; do viés ambiental, já que esse tipo de combustível emite grandes quantidades de poluentes, como dióxido de carbono e enxofre (gases do efeito estufa) e da segurança energética, pois uma matriz energética mais diversificada amplia o horizonte de possibilidades de saída de crises no setor energético. Nesse sentido tem crescido o uso de energias renováveis, e dentre estas, encontra-se os biocombustíveis.

#### **3.1 Etanol de segunda geração**

. O Brasil tornou-se líder mundial e pioneiro em pesquisa e produção de biocombustíveis, seja em sua forma isolada, como no caso do bioetanol ou através da mistura em combustíveis fósseis – como empregado atualmente em mistura com a gasolina e o diesel.

O etanol de segunda geração representa para o Brasil maior produção sem aumento da área plantada, aumento do percentual de bioetanol por hectare planado de biomassa, utilização de matéria prima renovável, sustentabilidade na produção, racionalidade no uso dos recursos naturais e mais etanol no mercado interno e possivelmente externo. Atualmente, vários países têm investido recursos no desenvolvimento e estabelecimento de tecnologias que permitam processar diferentes resíduos vegetais para produção desse biocombustível (PACHECO, 2011).

Desde o final da década de 1980, pesquisadores apontam vantagens na utilização de forrageiras tropicais como matéria prima como fonte energética:

adaptação e boa amplitude nas condições edafoclimáticas nacionais, podendo ser cultivadas em áreas marginais onde outras culturas energéticas não são recomendadas; ciclo perene, diminuindo o custo de produção, uma vez que, após estabelecida, torna-se necessária apenas a manutenção do potencial produtivo e, permitirem diversos cortes, como pontos positivos em sua utilização, necessitando apenas de pesquisas mais específicas e maiores incentivos para produção (USBERTI FILHO, 1988).

### **3.2 Gramíneas forrageiras para produção de etanol de segunda geração**

Os principais usos das gramíneas como insumo energético atualmente são para a produção de energia térmica como na queima em fornos de carvão vegetal na forma de peletização além do uso tradicional na nutrição animal. No entanto, estudos com diversas gramíneas usadas como culturas energéticas vêm crescendo nos Estados Unidos e na Europa (MARTELLI, 2014).

Contudo, desde o final da década de 1980, observa-se interesse no estudo de gramíneas forrageiras como matéria prima na produção de bioetanol de segunda geração. Usberti Filho *et al.*, (1980), aponta uma série de variáveis favoráveis à essa utilização, tais como: facilidade de plantio e cultivo; boa amplitude de adaptação à grande parte das condições ambientais; possibilidade do cultivo em áreas marginais; baixo investimento, frente à outras culturas bioenergéticas e possibilidade de diversas colheitas, uma vez que na maioria são plantas perenes.

No cenário nacional os capins *Brachiaria* estão entre as gramíneas mais amplamente utilizadas. Características intrínsecas desses materiais, como a facilidade de estabelecimento e boa produtividade, tolerância ao ataque de pragas e a solos de baixa a média fertilidade, e ao manejo inadequado, assim como sua versatilidade, a tornou muito popular (ALMEIDA, 2014)

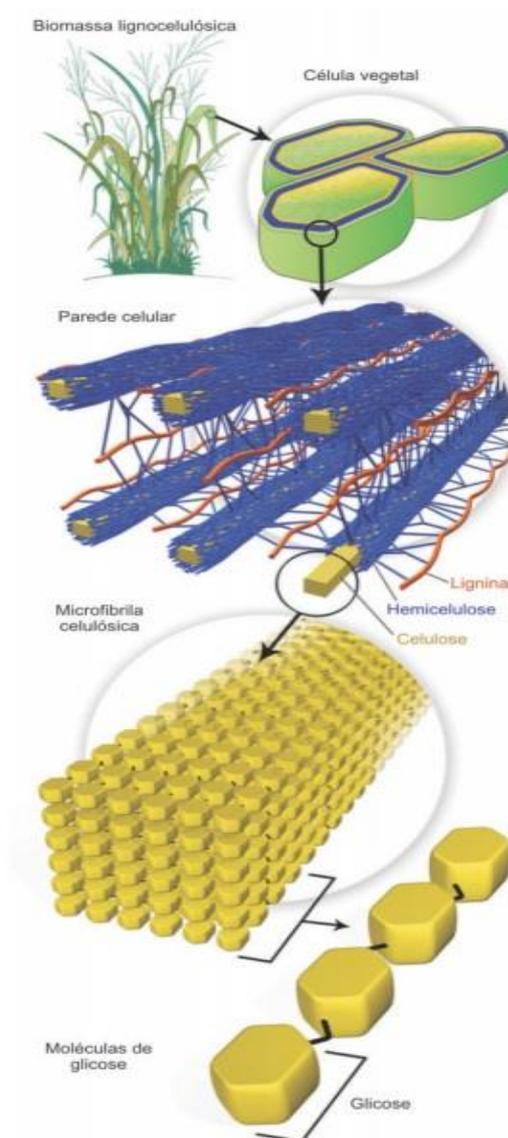
O estudo da utilização de gramíneas como fonte de biomassa, apresenta-se como uma alternativa viável e vantajosa à ser empregada junto ou como substitutivo aos empregadas e disponíveis atualmente (SOMMA *et al.*, 2010). E além de contribuir para redução da emissão de gases de efeito estufa e ciclagem de Carbono no solo, o controle de uma tecnologia para produção de bioenergia, relaciona-se

diretamente com a soberania nacional, tornando o país mais competitivo a nível internacional (MARTELLI, 2014).

### **3.3 Composição da biomassa lignocelulósica**

A parede celular possui como principais componentes químico-estruturais a celulose, a hemicelulose e a lignina. Tipicamente, a celulose (polímero de glucose) é a maior fração constituinte da parede celular, da ordem de 35-50%, seguida da hemicelulose (polímeros predominantemente constituídos de xilose, mas pode ter arabinose, galactose, glucose, manose e outros açúcares e derivados), na ordem de 20-35% e a terceira fração, da ordem de 15 a 25% é de lignina (Figura). Além de outros componentes presentes em menor quantidade, como: pectina, proteínas, extrativos e cinza (MOHAN; PITTMAN; STEELE, 2006).

Figura 1: Estrutura química de material lignocelulósico



Fonte:(SANTOS et al., 2012)

Os três maiores componentes poliméricos (celulose, hemicelulose e lignina) constituem 97-99% da massa seca dos lignocelulósicos, podendo possuir quantidades distintas em diferentes fontes lignocelulósicas (LYND *et al.*, 2002)

### 3.3.1 Celulose

A celulose ((C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub>) é o principal componente da parede celular vegetal, sendo um homopolissacarídeo linear formado de resíduos de glicose unidos por ligações do tipo β (1-4) e cuja unidade repetitiva é a celobiose ou anidroglicose sindiotática que é formada por anéis de β-D-glicopiranos e unidas por ligações do tipo β-D (1→4) glicosídicas (FENGEL; WEGENER, 1989). A ligação de várias celobioses constituem a cadeia linear de celulose, que se ligam fortemente por ligações de hidrogênio formando fibrilas elementares, contendo tanto em regiões cristalinas como amorfas (LYND *et al.*, 2002).

A região cristalina é altamente ordenada, devido às numerosas ligações de ponte de hidrogênio intra e intermolecular. Já a região amorfa é menos ordenada apresentando orientação randomizada. A degradação da celulose cristalina é muito lenta quando comparada à porção amorfa, por isto, a degradação é iniciada nas partes amorfas, mais susceptíveis de serem hidrolisadas (FENGEL; WEGENER, 1989).

A proporção entre as áreas cristalinas e amorfas variam de uma celulose para outra e são expressas em índice de cristalinidade (percentagem da área cristalina) (RAMOS, 2003). Estas características, juntamente com o envoltório de lignina, conferem à macromolécula de celulose grande resistência à hidrólise, representando desafio para a utilização desses materiais em aplicações biotecnológicas, como a produção de bioetanol de segunda geração (ARANTES; SADDLER, 2010).

### 3.3.2 Hemicelulose

A hemicelulose é um heteropolímero curto, formado por cadeias ramificadas de açúcares, que incluem principalmente aldopentoses, como xilose e arabinose, e aldohexoses, como glicose, manose e galactose, contendo ainda ácidos hexurônicos, como os ácidos β-D-glucurônico, D-4 Ometilglucurônico e β-D-galacturônico, e deoxiexoses (MENDES, 2014). Diferentemente da celulose, apresenta baixa massa molecular (100-200 unidades glicosídicas) e não contém regiões cristalinas, sendo, portanto, mais suscetível à hidrólise química sob condições mais brandas (SUN; CHENG, 2005).

Estruturalmente são mais parecidas com a celulose do que com a lignina e são depositadas na parede celular em um estágio anterior à lignificação. Sua estrutura apresenta ramificações e cadeias laterais que interagem facilmente com a celulose, dando estabilidade e flexibilidade ao agregado (RAMOS, 2003).

### 3.3.3 Lignina

De acordo com Tura (2014), é uma macromolécula tridimensional amorfa encontrada na parede celular vegetal, formada pela polimerização dos álcoois cumarílico, coniferílico e sinapílico, hidrofóbica e extremamente resistente à decomposição.

Junto a cadeia de hemicelulose e pectina, a lignina preenche os espaços entre as fibrilas de celulose, atuando como material de ligação entre componentes da parede celular, responsável pela rigidez e baixa reatividade dos materiais lignocelulósicos, sua presença representa o principal interferente para o processo de conversão da biomassa, já que é uma substância que atua como uma barreira. Dessa forma, estudos da biodegradação da lignina são de grande importância para possibilitar aplicações biotecnológicas, visto que estas macromoléculas constituem o maior obstáculo para a eficiente utilização de materiais lignocelulósicos em uma ampla faixa de processos industriais (VÁSQUEZ *et al.*, 2007).

Além de lignina, celulose e hemicelulose, outros compostos minoritários estão presentes nos materiais lignocelulósicos. Estes representados por resinas, ácidos graxos, ceras, terpenos e compostos fenólicos (Fengel; Wegener, 1989).

## **4 MATERIAIS E METODOS**

### **4.1 Obtenção da Biomassa**

A biomassa, composta por várias espécies de capim desconhecidas provenientes de São Paulo, tratava-se de uma demanda, de uma empresa localizada em São Paulo, para ser analisada e chegou até a Universidade Federal do Tocantins através de encomenda por uma transportadora.

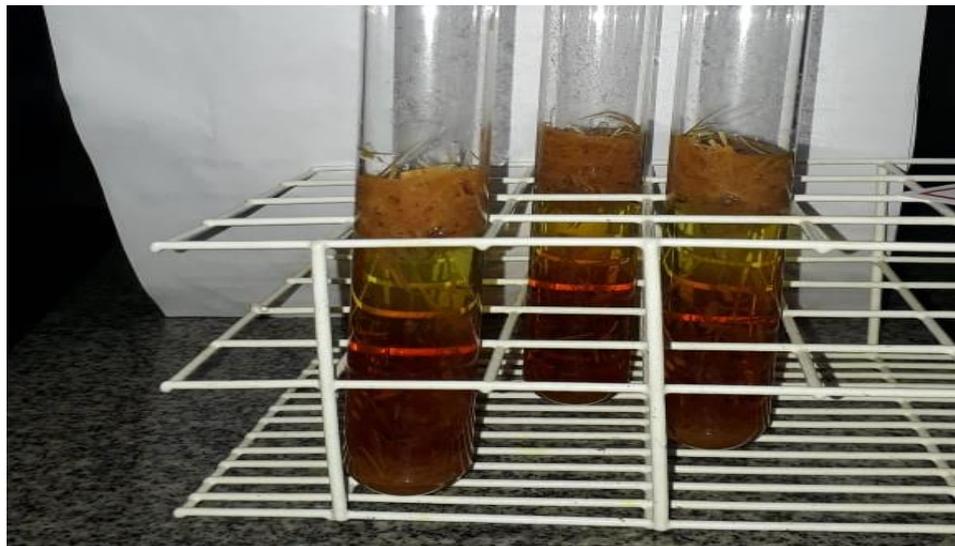
Ao receber as amostras, essas foram levadas à estufa em  $50^{\circ}\text{C} \pm 2$  para secagem, em seguida as biomassas foram trituradas e amassadas em almofariz e pistilo, sendo posteriormente armazenadas em dessecador, para mantê-las secas. Todas as análises foram feitas em triplicata.

### **4.2 Teor de celulose**

Para a quantificação de celulose, utilizou-se 0,5 gramas de biomassa seca que foi colocada em tubo de ensaio, sobre a qual foram adicionadas 3 ml de uma mistura ácida (composto por 72,73% de ácido acético glacial  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ; 18,18% de água destilada  $\text{H}_2\text{O}$  e 9,09% de ácido nítrico  $\text{HNO}_3$ ). Logo após a adição da mistura ácida, os tubos foram levados ao banho-maria por 30 minutos na temperatura de  $70^{\circ}\text{C}$ . No transcorrer do período em que esteve no banho maria, foi adicionada uma determinada quantidade de álcool etílico e deixado para resfriar à temperatura ambiente.

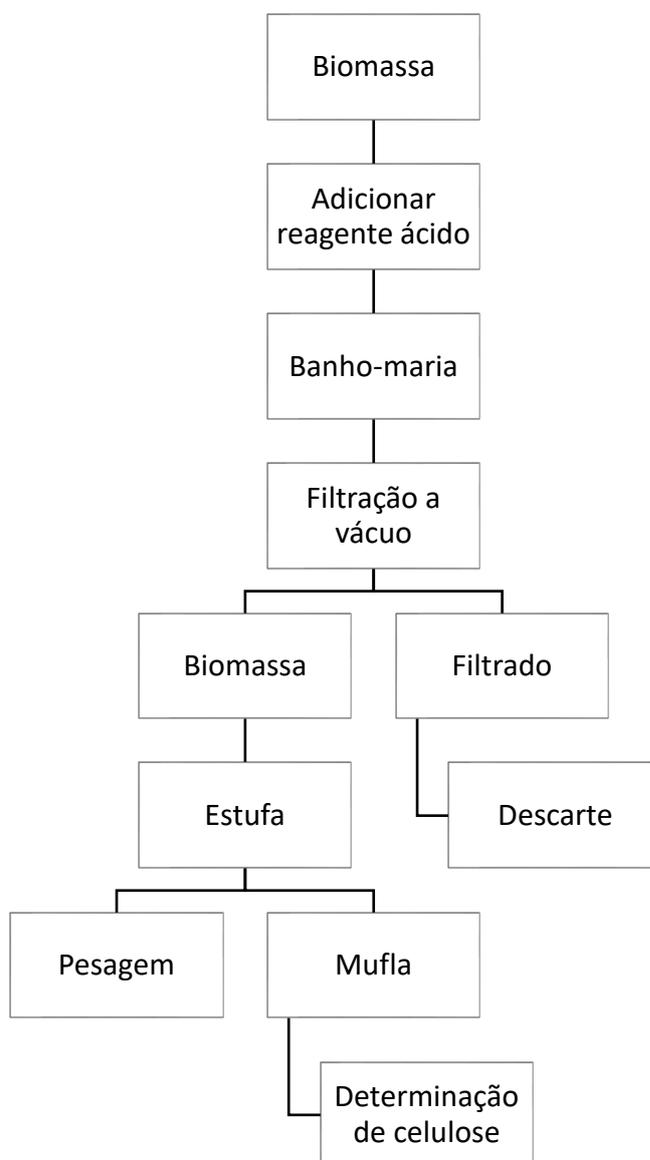
Após o resfriamento foi feita a filtração a vácuo, na qual a amostra foi lavada por etanol, tolueno quentes e finalmente com éter sulfúrico. Seguida da filtração, o papel de filtro com a amostra foi colocado em um cadinho (previamente calcinado) e levado a estufa a  $105^{\circ}\text{C}$  para secagem. Passado o tempo, o sistema (cadinho; papel de filtro e amostra) foi pesado e em seguida foi colocado em mufla a  $550^{\circ}\text{C}$  por 15 minutos (Adaptado de PINTO et al 2013).

Figura 2: Teor de celulose da biomassa capim após banho maria



Fonte: Autoria própria

Figura 3: Fluxograma da Determinação de teor de celulose



Fonte: Autoria própria

Após todo o procedimento descrito, foi utilizada a equação 1 a fim de determinar os teores de celulose presente na biomassa que foi utilizada.

$$Celulose (\%) = \frac{[(Mi - P - Mf)] \times 100}{mA} \quad (1)$$

Onde:

Mi = massa do cadinho + papel + amostra;

P = massa do papel de filtro (papel quantitativo);

Mf = massa do cadinho+ cinzas;

mA = massa da amostra.

### 4.3 Hidrólise enzimática da celulose obtida

Realizou-se a hidrólise do capim *in natura* em solução tampão citrato de sódio na incubadora, sob as condições de 150 rpm, a 50° C e pH 5,0. Após a hidrólise as amostras foram colocadas em banho-maria a 100 °C por 10 minutos para inativar as enzimas, em seguida foram conservadas em freezer na temperatura de 10° C. Os rendimentos de hidrólise foram calculados em relação à quantidade de celulose presentes nas biomassas, para isso considerou-se o total de celulose na amostra e sua massa inicial, os valores máximos obtidos da concentração de glicose e o fator de conversão de glicose em celulose, tal como Silva (2013). Os cálculos de rendimento de hidrólise de cada amostra foram feitos através da seguinte equação:

$$RH(\%) = \frac{[Gli]}{[Cel]} 0,9 \times 100 \quad (2)$$

Sendo:

RH (%): rendimento da hidrólise;

[Gli.]: concentração de glicose da biomassa (g/L);

[Cel.]: concentração de celulose da biomassa (g/L);

0,9: fator de conversão da celulose.

### 4.4 Quantificação dos Carboidratos

A identificação dos carboidratos se deu pela técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE, no Laboratório de Pesquisa em Química Ambiental e de Biocombustíveis – LAPEQ, situado na Universidade Federal do Tocantins. As análises foram realizadas no Cromatógrafo Líquido, Agilent 1260 Infinity II, injetor automático e integrador Openlab. A separação foi desenvolvida por método de eluição isocrática, utilizando-se uma coluna Phenomenex Rezex ROA-OrganicAcid

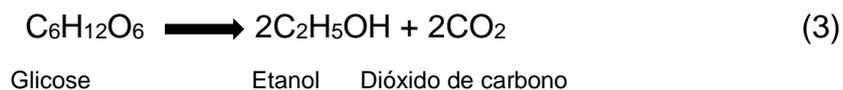
H+ (300x 7,8mm) e pré coluna preenchida com material semelhante a coluna principal. A fase móvel composta de 5mmol de ácido sulfúrico em água ultrapura. As especificações do método cromatográfico estão indicadas na Tabela 1. O método cromatográfico utilizado foi embasado na metodologia do padrão de otimização de aplicações da Phenomenex.

Tabela 1: Condições cromatográficas na determinação dos carboidratos

<b>Composição da fase móvel</b>	5mM de Ácido Sulfúrico
<b>Vazão da fase móvel</b>	0,6 mL/min
<b>Tempo de corrida</b>	15min
<b>Temperatura de forno</b>	60 ° C
<b>Volume de injeção</b>	20 µl
<b>Coluna Cromatográfica</b>	Phenomenex Rezex ROA- Ácidos Organicos H+ (300x 7,8mm)
<b>Cromatógrafo</b>	Modelo: Agilent 1260 infinity II
<b>Detector</b>	RID 40 °C
<b>Tipo de Curva</b>	Linear

#### 4.5 Potencial de produção de etanol

Para o cálculo da produção de etanol foi utilizada uma equação estequiométrica entre as massas moleculares de cada composto, glicose (180.16 g/mol) e etanol (46.07 g.mol<sup>-1</sup>) bem como a média da concentração média de glicose (0.05227 g.L<sup>-1</sup>) para a conversão em etanol de acordo com a equação 3.



Com o resultado pôde-se calcular o potencial de produção de etanol utilizando a densidade do etanol (789 g.cm<sup>-3</sup>) e assim obter o potencial conforme a equação 4.

$$\rho = \frac{M}{V} \quad (4)$$

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Teor de celulose

O teor de celulose presente nas biomassas é um dos fatores determinantes para a utilização das mesmas na produção de biocombustível. A fim de se verificar a viabilidade da biomassa capim obtida foi avaliado o teor de celulose da biomassa *in natura* (tabela 2).

Tabela 2: Teor de celulose da biomassa obtida

<b>Biomassa In Natura</b>	<b>Peso</b>	<b>Teor de Celulose</b>
Amostra 1	1,0053	24,00%
Amostra 2	1,0005	23,92%
Amostra 3	1,0064	26,73%
Média		24,88 ± 1,59

O teor de celulose obtida se mostra inferior aos obtidos na literatura para espécies de biomassa capim. Tura (2014) encontrou o percentual de 35,97%, Vanelli (2014) encontrou 48,5 %, Siqueira (2016) encontrou cerca de 59,3% e Luz (2018) encontrou 61,77% para a espécie de capim-elefante. Portanto, Isto mostra a real necessidade da padronização de uma espécie para produção de bioetanol, uma vez que a amostra de capim obtida tratava-se de uma mistura de espécies indefinidas e também, pelo seu transporte ter sido realizado com a biomassa úmida, favorecendo um processo de fermentação que ocorreu antes da amostra chegar a Universidade Federal do Tocantins, fazendo com que alguns compostos fossem degradados e que os carboidratos fossem consumidos.

### 5.2 Hidrolise enzimática da celulose obtida

Os valores da concentração de glicose obtidos após a hidrólise enzimática da celulose são apresentados na tabela 3.

Os três principais componentes da parede celular representam substratos que podem ser convertidos em produtos com potencial biotecnológico e energético e, fornecer benefícios ambientais, econômicos e estratégicos em grande escala.

Entretanto, a estreita associação entre a celulose, hemicelulose e lignina, torna-se necessário submeter este material a um pré-tratamento para alterar a estrutura da biomassa celulósica, permitindo que a lignocelulose fique mais acessível às enzimas que convertem os polissacarídeos a açúcares fermentescíveis (RAMOS, 2003; TURA, 2014). Desta forma, outro fator determinante, além da falta de padronização da espécie da biomassa, é a falta da etapa de pré-tratamento da biomassa, (a biomassa em questão não teve pré-tratamento) que justifica um baixo rendimento de hidrolise.

Por isso, Socool et al., (2010), salienta a importância da etapa o pré-tratamento, pois este promoverá a desagregação da lignina e hemicelulose, redução do caráter cristalino da celulose e um incremento a porosidade do material, configurando maior susceptibilidade à hidrolise enzimática/ácida e consequentemente possível maior conversão em açúcares fermentescíveis.

### 5.3 Quantificação dos Carboidratos

A identificação e quantificação foram feitas em triplicata por meio da comparação entre o tempo de retenção dos padrões e utilização curva de calibração da Celobiose e Glicose.

Tabela 3: Concentração de Glicose nas amostras

Amostra de Glicose	Concentração (g.L <sup>-1</sup> )
Amostra 1	0.0502
Amostra 2	0.0555
Amostra 3	0.0511
Média	0.0523

Tabela 4: Concentração de Celobiose nas amostras

<b>Amostra de Celobiose</b>	<b>Concentração (g/L)</b>
Amostra 1	0.0620
Amostra 2	0.0669
Amostra 3	0.0619
Média	0,0636

Após a obtenção do teor de celulose nas amostras pôde-se calcular o rendimento da hidrólise, como mostrado na tabela 5.

Tabela 5: Rendimento da Hidrólise

<b>Amostra</b>	<b>Rendimento da Hidrólise</b>
Amostra 1	18,75%
Amostra 2	20,87%
Amostra 3	17,09%
Média	18,90% ± 1,89

O rendimento médio da hidrólise foi de 18,90%, este valor está abaixo do padrão obtido na literatura para outras biomassas lignocelulósicas que buscam à produção de etanol, no qual se encontram percentuais de rendimento de hidrólise para a palha de arroz de 52,0% (BAK et al., 2008). Para o bagaço de cana-de-açúcar, em torno de 62,0% (KRIHSMAN et al. 2010). Para capim elefante, Toscan (2014) encontrou de 26,53% a 51,69% de rendimento de hidrólise, variando linearmente conforme a severidade do tratamento, tempo de residência e temperatura empregada.

Este baixo rendimento de hidrólise está relacionado com a situação das amostras, a qual foi transportada do destino inicial até o laboratório com certo grau de umidade, favorecendo a degradação e, portanto, afetando seu rendimento. Outro fator relacionado com baixo nível de rendimento da hidrólise foi a falta do pré-tratamento, etapa que pode aumentar a disponibilidade de celulose para o passo posterior de hidrólise.

#### **5.4 Potencial de produção de etanol**

Apesar do baixo rendimento de hidrólise, fez-se um cálculo estequiométrico afim de se obter o potencial de produção de etanol da biomassa em estudo com base na média da concentração média de glicose, sua massa molecular e massa molecular do etanol ( $46,07 \text{ g.mol}^{-1}$ ).

Com o resultado foi calculado o potencial de produção de etanol utilizando a densidade do etanol, encontrando-se o volume de etanol produzido por tonelada de biomassa.

O Potencial de produção de etanol encontrado foi de  $33.8 \text{ L/ ton}$ . De acordo com Manochio (2014) a palha de cana de açúcar rende  $90\text{L/ton}$ , o milho rende  $460\text{L/ton}$  e a beterraba rende  $100\text{L/ton}$ . Portanto considera-se esse potencial baixo devido ao melhor rendimento de outras biomassas, todavia ressalta-se que por se tratar de uma amostra composta por diferentes e desconhecidas espécies de capim, o potencial pode ser melhorado se as espécies forem identificadas, separadas e analisadas individualmente, pois cada espécie tem características como teor de lignina, celulose e hemicelulose diferentes, o que influencia diretamente na hidrólise enzimática e conseqüentemente no potencial de produção de etanol.

## 6 CONCLUSÕES

Os objetivos do trabalho foram alcançados, a biomassa formada por diferentes espécies de capim obteve o teor de celulose quantificado em 24,88% e a sua concentração de glicose foi 0,0523 g.L<sup>-1</sup>.

Apesar da biomassa analisada apresentou bons teores de celuloses, mostrou-se como uma alternativa de menor rendimento de glicose levando-se em conta o potencial de produção de etanol de outras biomassas.

Apesar dos resultados negativos de rendimento, levando-se em conta que se a amostra tratava-se de uma demanda para análise, recomendações podem ser feitas, como estudos futuros podem a serem tomadas para melhorar o rendimento do processo, análises utilizando o capim como biomassa podem ser realizadas e o potencial de produção de etanol pode ser melhorado com as espécies sendo identificadas, separadas e analisadas individualmente com finalidade de verificar qual espécie tem maior potencial. Outra medida a ser tomada em estudos futuros é a realização do pré tratamento da amostra, com finalidade de maximizar o rendimento da hidrólise e produção de etanol, tendo em vista que o transporte da biomassa utilizada neste trabalho chegou em condições inadequadas e inviabilizou o a realização do pré tratamento.

## 7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA J. R. Desempenho e características de cordeiros criados em creep feeding com silagem de grãos úmidos de milho. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.33, n.4, p.1048-1059, 2014.

ARANTES, V.; SADDLER, J.N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. *Biotechnology for Biofuels*, v. 3, n. 4, p. 1-11, 2010.

BAK, J. S.; KO, J. K.; HAN, Y. H.; LEE, B. C.; CHOI, I. G.; KIM, K. H. Improved enzymatic hydrolysis yield of rice straw using electron beam irradiation pretreatment. *Bioresource Technology*, v.100, n.3, p.1285-1290, 2009. DOI: 10.1016/j.biortech.2008.09.10

CARVALHO, A. d'A.; LOVATTO, P. A.; HAUSCHILD, L.; Andretta, I.; LEHNEN, C. R.; ZANELLA, I., 2007. Processing of full-fat soybean and the use in diets for pigs: digestibility and metabolism. *Rev. Bras. Zootecnia*, 36 (6 Supplement): 2023-2028

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

Katwal, R.P.S. e P.L. Soni. 2003. Biofuels: an opportunity for socioeconomic development and cleaner environment. *Indian For.* 129, 939-949

KRISHNAN, C.; DA COSTA SOUSA, L.; JIN, M.; CHANG, L.; DALE, B. E.; BALAN, V. Alkali-based AFEX pretreatment for the conversion of sugarcane bagasse and cane leaf residues to ethanol. *Biotechnology and Bioengineering*, v.107, p.441- 450, 2010.DOI: 10.1002/bit.22824

LINDFELDT, E.G. e WESTERMARK, M.O, 2009. "Biofuel production with CCS as a strategy for creating a CO2-neutral road transport sector". *Energy Procedia*, volume 1, pp. 4111–4118.

LYND, L. R.; WEIMER, P. J.; ZYL, W. H. V.; PRETORIUS, I. S. Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, v. 66, n. 3, p. 506-577, 2002.

MANOCHIO, Carolina. *Produção de bioetanol de cana-de-açúcar, milho e beterraba: Uma comparação de indicadores tecnológicos, ambientais e econômicos*, 2014. 2017. 33f. Tese (Tese de Graduação em Engenharia Química) Universidade Federal de Alfenas. Disponível em: Acesso em: 17 nov. 2019.

MARTELLI, Giovanni. (2014). *Virus Diseases of Grapevine*. eLS. 10.1002/9780470015902.a0000766.pub2.

MOHAN, D.; PITTMAN, Charles U.; STEELE, P. H. Pyrolysis of Wood/Biomass for Bio-oil: A Critical Review. *Energy & Fuels*, v. 20, n. 3, p. 848–889, 2006. <https://doi.org/10.1021/ef0502397>.

PACHECO, E. Os Institutos Federais: uma revolução na educação profissional e tecnológica. (Org.) Os Institutos Federais: uma revolução na educação profissional e tecnológica. São Paulo: Moderna, 2011. p. 13-32.

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; MITCHELL, D. New developments in solid state fermentation: lbioprocesses and products. *Process Biochemistry*, v. 35, p. 1153-1169, 2000.

PHENOMENEX. Carbohydrate, Oligosaccharide, and Organic Acid Separations. 1º ed. Califonia, USA. 2013. 13 p.

PINTO, F.O.; LUZ, L.N.; PEREIRA, M.G.; CARDOSO, D.L.; RAMOS, H.C.C. Metodologia dos modelos mistos para seleção combinada em progênies segregantes de mamoeiro. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.8, p.211-217, 2013.

SANTOS, Fernando A. et al. Potencial da palha de açúcar para produção de etanol. *Quim. Nova*, São Paulo, c. 35, n. 5, p. 1004-1010, 2012. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010040422012000500025&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010040422012000500025&lng=en&nrm=iso)>. acesso em 18 de novembro de 2019.

SANTOS, T.E.M.; SILVA, D.D. & MONTENEGRO, A.A.A. Temporal variability of soil water content under different surface conditions in the semiarid region of the Pernambuco State. *R. Bras. Ci. Solo*, 34:1733-1741, 2012.

SEMELSBERGER, Troy; BORUP, Rodney; GREENE, Howard. (2006). Dimethyl Ether (DME) as an Alternative Fuel. *Journal of Power Sources*. 156. 497-511. 10.1016/j.jpowsour.2005.05.082.

Silva, Gabriela. Aprendizado do etanol celulósico no Brasil : o caso do projeto Dedini Hidrólise Rápida (DHR) / Gabriela da Silva. – Campinas, SP : [s.n.], 2013.

SINGH, A.; MISHRA, P. Microbial Pentose Utilization: Current Applications in Biotechnology. Amsterdam: Elsevier Science B.V. v. 33. p. 396, 1995. ISBN: 978-0-444- 82039-6. Disponível em: Acesso em: 10 ago. 2019.

SOCCOL, C. R.; VANDENBERGHE, L. P. D. S.; MEDEIROS, A. B. P. et al. Bioethanol from lignocelluloses: Status and perspectives in Brazil. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 13, p. 4820-4825, 2010.

Somma F, Cammarota G, Plotino G, Grande NM, Pameijer CH. The effectiveness of manual and mechanical instrumentation for the retreatment of three different root canal filling materials. *J Endod* 2008;34(4):466-9.

SUN, Y. CHENG, J.J. Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production. *Bioresource Technology*, v. 96, p. 1599-1606, 2005.

TOSCAN, Andreia. Efeito do pré-tratamento hidrotérmico no rendimento da hidrólise enzimática do capim-elefante. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia (Mestrado). Caxias do Sul. 2013

USBERTI FILHO, J. A. Capim Colônão IAC – Centenário. Casa da Agricultura, Campinas, 10(3): 11-3, 1988.

VASQUEZ, Guilherme Fernandes et al. **Experimental determination of the effective pressure coefficients for Brazilian limestones and sandstones.** *Rev. Bras. Geof.* [online]. 2009, vol.27, n.1 [cited 2019-11-20], pp.43-53. Available from: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-261X2009000100004&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-261X2009000100004&lng=en&nrm=iso)>. ISSN 0102-261X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-261X2009000100004>.

Wang, Hao & Nagy, John & Gilg, Olivier & Kuang, Yang. (2012). Wang et al 2009 Lemmings.

Yao, Y., Wu, Y., Yin, C., Ozawa, R., Aigaki, T., Wouda, R.R., Noordermeer, J.N., Fradkin, L.G., Hing, H. (2007). Antagonistic roles of Wnt5 and the Drl receptor in patterning the Drosophila antennal lobe. **Nat. Neurosci.** **10(11): 1423--1432.**