

Título: Destoxificação de hidrolisado hemicelulósico para produção de etanol de segunda geração

Pesquisadora responsável: Sarita Cândida Rabelo

Unidade do CNPEM: Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE)

1. Introdução e Estado da Arte

Biorrefinarias de biomassas são usinas que integram processos e equipamentos de conversão de biomassa para a produção de combustíveis, energia e produtos químicos de valor agregado. Neste contexto, uma biorrefinaria deve maximizar o potencial de uso da biomassa, gerando energia e produtos químicos de interesse, com emissões e rejeitos mínimos (Rabelo *et al.*, 2011). Várias biomassas, incluindo resíduos agroindustriais, podem ser utilizados para tal objetivo. O bagaço e a palha da cana-de-açúcar, subprodutos do setor sucroalcooleiro, têm recebido notável atenção em virtude de seu baixo preço, estar disponível em grandes quantidades e apresentar um alto conteúdo de carboidratos (Reddy e Yang, 2005).

No processo de produção de etanol de segunda geração uma etapa de pré-tratamento é necessária, principalmente para reduzir a recalcitrância do material e maximizar a hidrólise e consequente fermentação dos açúcares. Durante esta etapa, há a formação e liberação de alguns subprodutos que interferem negativamente no processo de fermentação, tais como o ácido acético, que é formado pela hidrólise do grupo acetil presente nas hemiceluloses; ácidos fórmico e levulínico, produtos da degradação dos açúcares; compostos fenólicos, formados principalmente pela degradação parcial da lignina; e aldeídos furânicos, principalmente furfural e hidroximetilfurfural (HMF), formados pela degradação de pentoses e hexoses, respectivamente.

Furfural e HMF são conhecidos por inibir a taxa de crescimento e produtividade etanol (Taherzadeh, 1999) e os ácidos carboxílicos, como o ácido acético, diminuem a força motriz de prótons ao longo da membrana celular (Palmqvist e Hahn-Hagerdal, 2000), especialmente na presença de etanol (Casal *et al.*, 1998). Além disso, a presença do ácido acético no meio fermentativo tem sido reportada como a causadora da redução da atividade enzimática da xilose redutase (Lima *et al.*, 2004). Os compostos fenólicos são apontados como grandes inibidores do processo fermentativo, afetando consideravelmente no rendimento do etanol (Palmqvist e Hahn-Hagerdal, 2000).

Para melhorar a fermentação do licor hemicelulósico uma etapa de destoxificação pode ser necessária para remover ou minimizar a concentração destes inibidores. Diferentes processos têm sido propostos na literatura, sendo os físicos (evaporação) e químicos (carvão ativado, tratamento com cal e resinas de troca iônica), os mais comuns (Chandel *et al.*, 2007; Mateo *et al.*, 2013). Outros processos de destoxificação tais como solventes orgânicos, pervaporação, extração de fluido

supercrítico e uso de métodos biológicos, como, por exemplo, o emprego de lacases, também têm sido estudados (Chandel *et al.*, 2007).

Processos de destoxificação que possibilitam a recuperação dos produtos gerados no licor podem ser de grande interesse uma vez que a recuperação/reutilização destes produtos secundários pode acabar viabilizando uma rota produtiva do etanol a partir das pentoses.

2. Objetivo

Este trabalho terá como objetivo estudar a extração líquido-líquido do ácido acético e compostos fenólicos presentes no licor hemicelulósico. Para isso, pretende-se obter, experimentalmente, dados de equilíbrios líquido-líquido para diferentes subsistemas envolvidos na extração líquido-líquido. Os dados obtidos nestes estudos serão utilizados para determinação dos coeficientes de atividades e os melhores solventes serão empregados nos estudos de extração líquido-líquido utilizando licores de pré-tratamento obtidos em processos já pré-estabelecidos no CTBE. Ao final, será avaliada a fermentabilidade dos licores antes e após a etapa de extração para assim avaliar as melhorias no processo fermentativo.

3. Metodologia

3.1. Equilíbrio Líquido-Líquido

Serão determinados, para três solventes, dados de equilíbrio líquido-líquido dos sistemas ternários, água + ácido acético + solventes orgânicos; e sistemas quaternários, água + ácido acético + compostos fenólicos + solvente. Os experimentos serão realizados em células de equilíbrio líquido-líquido isotérmica à pressão atmosférica.

As amostras serão preparadas diretamente nas células, agitadas para promover contato entre as fases e finalmente deixadas em repouso para permitir que o sistema atinja o equilíbrio termodinâmico. As amostras serão coletadas e as fases (orgânicas e aquosas) analisadas por densitometria, refratometria e velocidade do som, caracterizando assim as concentrações das fases. O procedimento será repetido, com diferentes composições da mistura, para determinação das linhas de amarração (*tie lines*).

3.2. Extração Líquido-Líquido

Após a seleção dos melhores solventes, uma etapa de extração líquido-líquido será realizada para avaliar a recuperação do ácido acético e compostos fenólicos no licor de pré-tratamento, através de uma etapa de extração descontínua.

Para a extração será utilizado um funil de separação em suporte, onde será adicionado o licor de pré-tratamento e o solvente selecionado. As duas fases serão separadas e analisadas quanto à

composição química aplicando técnicas analíticas como cromatografia líquida (HPLC), cromatografia gasosa (GC), titulação Karl Fischer, dentre outras. O balanço de massa do processo será realizado e o material será avaliado quanto à fermentabilidade.

3.3. Fermentação da fração hemicelulósica

Para avaliar a fermentabilidade do hidrolisado hemicelulósico obtido antes e após a etapa de extração dos inibidores, será utilizado o microrganismo *Scheffersomyces stipitis* NRRL Y-7124 (anteriormente denominado *Pichia stipitis*).

As fermentações serão conduzidas em biorreator Bioflo 115 (New Brunswick) nas condições definidas por Silva *et al.*, (2012). Será utilizado o licor hemicelulósico antes e após a etapa de extração para avaliar a fermentabilidade dos mesmos. A análise cinética dos resultados obtidos será realizada por meio do ajuste das curvas da biomassa (X), xilose (S_{xil}) e etanol (E) versus o tempo, utilizando o programa *Excel* do pacote Office da Microsoft. A produtividade volumétrica em etanol (g/L.h), o fator de conversão de xilose a etanol (g/g), e o rendimento em etanol (%) também serão calculados.

4. Referências

- Casal, M., Cardoso, H., Leão, C. Effects of ethanol and other alkanols on transport of acetic acid in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 665–668, 1998.
- Chandel, A.K., Kapoor, R.K., Singh A., Kuhad, R.C. Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production by *Candida shehatae* NCIM 3501. *Biores. Technol.* 98:1947–1950, 2007.
- Lima, L.H., Graças de Almeida Felipe, M., Vitolo, M., Torres, F.A. Effect of acetic acid present in bagasse hydrolysate on the activities of xylose reductase and xylitol dehydrogenase in *Candida guilliermondii*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 65:734–8, 2004.
- Mateo, S., Roberto, I.C., Sanchéz, S., Moya, A.J. Detoxification of hemicellulosic hydrolyzate from olive tree pruning residue. *Indust. Crops Prod.* 49:196–203, 2013.
- Palmqvist, E., Hahn–Hagerdal, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. Inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technol.*, 74:25–33, 2000.
- Rabelo, S.C., Carrere, H., Maciel Filho, R., Costa, A.C. Production of bioethanol, methane and heat from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. *Biores. Technol.* 102:7887–7895, 2011.
- Reddy, N., Yang, .Y. Biofibers from agricultural byproducts for industrial applications, *Trends Biotechnol.* 23:22–27, 2005.
- Silva, J.P.A., Mussato, S.I., Roberto, I.C., Teixeira, J.A. Fermentation medium and oxygen transfer conditions that maximize the xylose conversion to ethanol by *Pichia stipitis*. *Renewable Energy*, 37:259 – 265, 2012.
- Taherzadeh, M.J. Ethanol from Lignocellulose: Physiological Effects of Inhibitors and Fermentation Strategies. Dissertation. Sweden: Chalmers University of Technology. 1999.