



III *Sustentare* – Seminários de Sustentabilidade da PUC-Campinas
VI WIPIS – Workshop Internacional de Pesquisa em Indicadores de Sustentabilidade
16 a 18 de novembro de 2021

QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS (BRIX^o) DE AGUAPÉ PARA PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO USANDO ÁCIDO SULFÚRICO

Gabriela de Cássia Javorski, Universidade Estadual do Centro Oeste - UNICENTRO, gabriela.javorski@gmail.com
Maria Cristina Souza, Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO, crismaria-bio@gmail.com
Marcia Mendes Costa Guareski, Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO, mmcosta@sanepar.com.br
Cynthia Beatriz Furstenberger, Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO, cbfurst@gmail.com

Resumo

O desenvolvimento e implementação de biocombustíveis como o bioetanol tem se tornado uma importante ferramenta sustentável para frear o uso de combustíveis fósseis, e a biomassa de aguapé *Eichhornia crassipes* vem se destacando por seu crescimento rápido e baixo custo, visto que é considerada praga em corpos hídricos, porém converter os polissacarídeos em açúcares fermentáveis é um desafio. O objetivo deste trabalho é quantificar o teor de sólidos solúveis totais (brix^o) na biomassa de *Eichhornia crassipes* por meio de hidrólise ácida usando ácido sulfúrico (H₂SO₄) com testes em agitador magnético e em autoclave com diferentes concentrações de ácido e em distintas temperaturas. Os testes em autoclave foram feitos a 120°C por 30 minutos, usando 9mL do ácido nas concentrações de 1% (v/v), 2% (v/v) e 4% (v/v) com 1g de biomassa. Os ensaios em agitador magnético foram conduzidos nas mesmas condições variando apenas a temperatura para 80°C. O pré-tratamento em agitador magnético foi considerado ineficiente, pois não resultou em teor de sólidos solúveis apropriado, todavia os testes em autoclave promoveram a conversão do material lignocelulósico em sólidos solúveis (12 Brix^o) na concentração de 4% (v/v) podendo ser empregado para a produção de etanol celulósico de segunda geração.

Palavras-chave: açúcares fermentáveis, bioetanol, macrófita aquática

1. Introdução

O uso de biocombustíveis vem sendo uma alternativa muito promissora frente ao consumo de combustíveis fósseis que muito prejudicam o meio ambiente e o bioetanol celulósico usando biomassa residual tem se mostrado um produto sustentável e muito vantajoso do ponto de vista econômico e ambiental, podendo ser produzido a partir de diversos resíduos vegetais, dentre estes destaca-se a macrófita aquática *Eichhornia crassipes*, nativa da região amazônica



III *Sustentare* – Seminários de Sustentabilidade da PUC-Campinas
VI WIPIS – Workshop Internacional de Pesquisa em Indicadores de Sustentabilidade
16 a 18 de novembro de 2021

e amplamente difundida pelo mundo, caracterizada pelo crescimento rápido em água doce podendo levar a eutrofização de corpos hídricos (POOMSAWAT *et al.*, 2019). O fato de não sofrer predação também dificulta o controle do vegetal, podendo gerar diversos problemas ambientais e econômicos, pois uma vez fixada em represas e reservatórios atrapalha o funcionamento de turbinas e conseqüentemente inviabilizar a produção de energia, além de obstruir rotas marítimas (POOMSAWAT *et al.*, 2019; TEIXEIRA *et al.*, 2019) fazendo-se necessário que o vegetal seja retirado dos corpos hídricos e receba um novo destino, a produção de biocombustível é uma alternativa muito nobre e relevante para esta destinação.

O teor de celulose e hemicelulose (25% e 35% respectivamente) tornam o aguapé uma matéria prima promissora para conversão de açúcares fermentescíveis em bioetanol (TEIXEIRA *et al.*, 2019). Entretanto a ruptura destes polissacarídeos é um processo complexo e requer pré-tratamento químico e/ou enzimático, sendo a hidrólise química a mais usual e pode ser feita com ácidos, bases ou a combinação destes, afim de converter os polissacarídeos complexos em açúcares fermentáveis (KARTHIKEYA *et al.*, 2020). O ácido sulfúrico (H₂SO₄) diluído tem sido muito utilizado como catalisador no processo de solubilização da biomassa por proporcionar teores de sólidos solúveis totais (Brix°) favoráveis para a fermentação alcoólica (12-18 Brix°) de acordo com a literatura especializada (TEIXEIRA *et al.*, 2019).

O objetivo deste trabalho é quantificar o teor de sólidos solúveis totais (Brix°) na biomassa de *Eichhornia crassipes* por meio de pré-tratamento ácido, usando ácido sulfúrico (H₂SO₄) com testes em agitador magnético e em autoclave com diferentes concentrações do ácido em distintas temperaturas afim de produzir etanol de segunda geração utilizando matéria prima residual de baixo custo de forma sustentável e renovável.

2. Fundamentação teórica

Etanol de Segunda Geração e Sustentabilidade

Com o aumento da demanda humana por energia os países desenvolveram grande dependência por combustíveis fósseis como petróleo e carvão, o que leva à liberação de gases do efeito estufa na atmosfera, causando mudanças irreversíveis na ecologia ambiental do planeta e esse problema fez com que diversas nações se esforçassem para inserir combustíveis de fontes renováveis em suas matrizes energéticas (LIN *et al.*, 2018).

O Brasil é o segundo maior produtor global de etanol, perdendo apenas para os Estados Unidos (VIDAL, 2020). O etanol brasileiro usa a cana de açúcar como matéria prima, todavia os biocombustíveis produzidos a partir de materiais lignocelulósicos, o chamado bioetanol de segunda geração, vem recebendo destaque nos últimos anos por apresentar vantagens energéticas, econômicas e ambientais em relação ao etanol sacarino (ALVIRA *et al.*, 2010). Diante dos sucessivos reajustes no preço do combustível de primeira geração, faz-se necessários mais investimentos e pesquisas para o desenvolvimento de etanol de segunda geração, com diversificação de matérias primas afim de baratear e ampliar a produção. Os materiais lignocelulósicos derivados de plantas aquáticas de flutuação livre, como o aguapé (*E. crassipes*) fornecem uma solução a longo prazo em termos de matéria-prima de baixo valor e elucidam o manejo disruptivo, uma vez que está facilmente disponível com menor custo de cultivo e preparação



III *Sustentare* – Seminários de Sustentabilidade da PUC-Campinas
VI WIPIS – Workshop Internacional de Pesquisa em Indicadores de Sustentabilidade
16 a 18 de novembro de 2021

(SASMAL; GOUD; MOHANTY, 2012). Sabe-se que as estruturas monossacarídicas e polisacarídicas do aguapé contêm diferentes tipos de açúcares com alto teor de celulose. Portanto, pode ser considerado como uma possível matéria-prima para produção de bioetanol de segunda geração, através da aplicação de diferentes técnicas e procedimentos no tratamento de biomassa (LIN *et al.*, 2018).

Muito se discute sobre a importância da sustentabilidade nos últimos anos, e como forma de consolidar e materializar as propostas de desenvolvimento sustentável, a Organização das Nações Unidas (ONU) estabeleceu 17 objetivos que apresentam os principais desafios de desenvolvimento enfrentados por pessoas no Brasil e no mundo, o presente estudo está vinculado a 3 destes objetivos. A produção de um biocombustível renovável enquadrasse no objetivo 7 (Energia limpa e acessível), por meio do desenvolvimento de técnicas e matérias primas inovadoras, com possível aplicação industrial (objetivo 9- Indústria, inovação e infraestrutura), que pode promover desenvolvimento econômico, social e preservação ambiental (objetivo 11- cidades e comunidades sustentáveis) (NAÇÕES UNIDAS BRASIL, 2021).

Biomassa

A macrófita aquática *E. crasipes* é nativa da América do Sul e ao longo do tempo foi se espalhando por todo o globo (PLANTS OF THE WORLD ONLINE, 2020). A espécie é adaptada ao clima tropical e de fácil acesso em todo o Brasil (DE SOUSA *et al.*, 2018) e presente em todas as regiões do país (FLORA DO BRASIL 2020, 2020).

O fato da grande expansão do jacinto d'água está atrelado a reprodução, visto que se reproduz vegetativamente com a formação de estolões e também é propagado sexualmente por meio de sementes, as quais são capazes de sobreviver na água por seis anos (WEIPING *et al.*, 2018) podendo atingir o tamanho médio de 40 cm e máximo de 1 m, de acordo com o trabalho de Gaurav e colaboradores (2020).

Esse crescimento descontrolado faz com que as macrófitas cubram a lâmina d'água dos corpos hídricos causando redução do oxigênio e consequentemente afetando o ecossistema, causando perda da biodiversidade local (TEIXEIRA *et al.*, 2019). Além disso a presença da macrófita promove o bloqueio do tráfego de água, entupindo turbinas e prejudicando a hidroeletricidade e os sistemas de abastecimento de água (WEIPING *et al.*, 2018) fazendo-se necessário sua retirada.

Pré-tratamento

As plantas possuem parede celular composta por celulose, hemiceluloses e lignina, as quais estão ligadas formando uma estrutura forte e rígida, o que dificulta o processamento de materiais lignocelulósicos para a produção de etanol, a lignina em especial é a mais rígida e menos interessante para a produção (HARUN *et al.*, 2011; REZANIA *et al.*, 2017).

Uma forma de separar a celulose e a hemicelulose da lignina é por meio de pré-tratamentos, estes podem ser: mecânicos (trituração, moagem), físico-químicos (auto-hidrólise, água quente líquida, vapor, fluidos supercríticos), químico (ácidos, alcalinos, solventes orgânicos, agentes oxidantes) e processos biológicos (fungos) e / ou combinações desses métodos, os quais podem aumentar a eficiência e reduzir os custos de produção (SHIRKAVAND *et*



III *Sustentare* – Seminários de Sustentabilidade da PUC-Campinas
 VI WIPIS – Workshop Internacional de Pesquisa em Indicadores de Sustentabilidade
 16 a 18 de novembro de 2021

al. 2016; BILAL *et al.*, 2017; REZANIA *et al.*, 2017). O trabalho de Maurya; Singla; Negi (2015) mostrou que o rendimento de açúcares fermentáveis pode chegar a 90% com algum pré-tratamento, e resultado inferior a 20% sem qualquer pré-tratamento. Os trabalhos de Romam e Winter (2004) e Wolfaardt e coautores (2021) indicaram que o uso de ácido sulfúrico como uma boa opção, pois este promove a quebra das fibras de celulose reduzindo a cristalinidade e o grau de polimerização, resultando em moléculas menores possíveis de fermentação.

3. Metodologia

O trabalho foi realizado no Laboratório de Análises de Combustíveis na Universidade Estadual do Centro Oeste (UNICENTRO). Utilizando como biomassa a macrófita aquática *Eichhornia crassipes*. Folhas e caules foram secos em estufa durante 12 horas a 105°C e processados em moinho de facas. Para o pré-tratamento fez-se uso de ácido sulfúrico (H₂SO₄), com testes em autoclave e agitador magnético, variando a concentrações de ácido diluído em água deionizada e a temperatura de hidrólise.

Os ensaios em autoclave vertical AV Plus-Phoenix foram realizados a 120°C por 30 minutos, pressão de 1 kgf cm⁻², utilizado 9 mL de ácido sulfúrico nas concentrações de 1% (v/v), 2% (v/v), 4% (v/v) e 1g de aguapé (1:10), em erlenmeyers de 100 mL. Os testes em agitador magnético da marca IKA Works modelo IKA C-MAG HS7, foram conduzidos em capela de exaustão, usando 9 mL de ácido sulfúrico nas mesmas concentrações (1%v/v, 2%v/v, 4%v/v) e 1g de aguapé (1:10), com temperatura constante de 80°C por 30 minutos, ressalta-se que todos os ensaios foram feitos em triplicatas.

Para caracterização das amostras utilizou-se refratômetro digital portátil de grau Brix, modelo ITREF90, marca Instrutemp. Os resultados foram expressos por meio de cálculo estatístico da média de grau Brix de cada experimento.

4. Resultados

Os resultados mostram grande discrepância nos valores de grau Brix no tratamento de *Eichhornia crassipes* com ácido sulfúrico em agitador magnético apresentados na Tabela 1 quando comparado com os testes em autoclave indicados na Tabela 2.

Tabela 1 - Valores de Brix°, temperatura, tempo e concentração de ácido sulfúrico (H₂SO₄) por grama de *Eichhornia crassipes* em agitador magnético

Teor de Aguapé (g/L)	Ácido H ₂ SO ₄ (% v/v)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Brix°
1	1	80	30	1
1	2	80	30	1
1	4	80	30	2

Fonte: O autor (2021).



III *Sustentare* – Seminários de Sustentabilidade da PUC-Campinas
 VI WIPIS – Workshop Internacional de Pesquisa em Indicadores de Sustentabilidade
 16 a 18 de novembro de 2021

Tabela 2 - Valores de Brix°, temperatura, tempo e concentração de ácido sulfúrico (H₂SO₄) por grama de *Eichhornia crassipes* em autoclave

Teor de aguapé (g/L)	Ácido H ₂ SO ₄ (% v/v)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Brix°
1	1	120	30	10
1	2	120	30	10
1	4	120	30	12

Fonte: O autor (2021).

Os testes em agitador magnético (Tabela 1) indicam valores baixos (1; 1; 2) de grau Brix, em relações ao necessário para a fermentação alcoólica (12 a 18 Brix°) quando submetidos a temperatura de 80°C por 30 minutos, nas concentrações de 1, 2 e 4 % (v/v). Este resultado corrobora com os achados de Karthikeya *et al.* (2020) que também obtiveram valores incipientes de grau Brix em temperatura inferior a 120°C no período de 30 minutos de modo que a temperatura e o tempo foram considerados insuficientes para a conversão de sólidos solúveis.

Os experimentos realizados em autoclave (Tabela 2) apresentaram valores de grau Brix (10; 10; 12) superiores aos obtidos nos ensaios em agitador magnético nas mesmas concentrações (1, 2 e 4 % (v/v)) e no mesmo período de tempo (30min), porém na temperatura de 120°C. Nota-se que o aumento da concentração de 1% para 2% (v/v) não teve efeito significativo no teor de açúcares solúveis, apenas a concentração de 4% (v/v) atingiu (12 Brix°) valor necessário de conversão em açúcares fermentáveis, esta variação também foi observada por Karthikeya *et al.* (2020) considerando que não houve diferença significativa no valor de grau Brix com o aumento da concentração de 1 para 2% (v/v) nas condições estudadas.

Os resultados alcançados condizem com o estudo de Wolfaardt e colaboradores (2021) os quais demonstraram que a concentração de 4% de ácido sulfúrico foi considerada eficaz para biomassas lignocelulósicas, resultando em rendimentos de açúcar próximos aos necessários para a fermentação. O trabalho de Fileto-Pérez *et al.* (2013) também conseguiu melhores rendimentos usando ácido sulfúrico com temperatura superior a 100°C por 90 min, ou seja, condições de temperatura semelhante a empregada neste estudo. O trabalho de Satyanagalakshmi *et al.* (2011) também relata a temperatura de 120°C como a ideal para o pré-tratamento químico usando 2% (v/v) de ácido sulfúrico, entretanto no período de 60 minutos com aguapé, ressaltando que o maior tempo pode culminar em um melhor resultado usando menores concentrações de ácido. Considera-se, portanto que a concentração do ácido, a temperatura e o tempo influenciam diretamente na conversão de açúcares da biomassa de *E. crassipes*.



III *Sustentare* – Seminários de Sustentabilidade da PUC-Campinas
VI WIPIS – Workshop Internacional de Pesquisa em Indicadores de Sustentabilidade
16 a 18 de novembro de 2021

5. Conclusões

O pré-tratamento com H₂SO₄ diluído a 1, 2 e 4 % (v/v) e 1g de extrato em agitador magnético na temperatura de 80°C por 30 minutos é ineficiente na conversão de açúcares fermentáveis da macrófita aquática *Eichhornia crassipes*,

O pré-tratamento usando H₂SO₄ em autoclave na temperatura de 120°C por 30 minutos com 1g de extrato promove a conversão do material lignocelulósico em sólidos solúveis (12 Brix^o) na concentração de 4% (v/v) e pode ser utilizada para a produção de etanol de segunda geração.

Ressalta-se que mais estudos utilizando planejamento experimental detalhado com um número maior de variáveis se faz necessário.

6. Agradecimentos

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

7. Referências bibliográficas

ALVIRA, P. *et al.* Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Technology**. v.101, p.4851–4861, 2010.

BILAL, M. *et al.* Biotransformation of lignocellulosic materials into value-added products—A review. **International Journal of Biological Macromolecules**. v.98, p.447–458, 2017.

DE SOUZA, T. D. *et al.* Kinetics of arsenic absorption by the species *Eichhornia crassipes* and *Lemna valdiviana* under optimized conditions. **Chemosphere**. v. 209, p. 866-874, 2018.

FILETO-PÉREZ, H. A. *et al.* Avaliação de *Eichhornia crassipes* como matéria-prima alternativa para redução da produção de açúcares. **BioResources**. v.8, n.4, p.5340-5348, 2013.

FLORA DO BRASIL 2020. *Eichhornia crassipes*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB22511>. Acesso em: 21 de out de 2020.

GAURAV, G. K. *et al.* Water hyacinth as a biomass: A review. **Journal of Cleaner Production**. v. 277, p. 122214, 2020.



III *Sustentare* – Seminários de Sustentabilidade da PUC-Campinas
VI WIPIS – Workshop Internacional de Pesquisa em Indicadores de Sustentabilidade
16 a 18 de novembro de 2021

HARUN, M.Y. *et al.* Effect of physical pretreatment and dilute acid hydrolysis of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **Bioresource Technology**. v. 102, n. 8, p. 5193-5199, 2011.

KARTHIKEYA, K. *et al.* Exploring optimal strategies for aquatic macrophyte pre-treatment: Sustainable feedstock for biohydrogen production. **Biomass and Bioenergy**. v.140, 2020.

LIN, Y. C. *et al.* Microwave irradiation with dilute acid hydrolysis applied to enhance the saccharification rate of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **Renewable Energy**. v.125, p. 511-517, 2018.

MAURYA, D. P.; SINGLA, A.; NEGI, S. An overview of key pretreatment processes for biological conversion of lignocellulosic biomass to bioethanol. **Biotech**. v. 5, p. 597–609, 2015.

NAÇÕES UNIDAS BRASIL. **Objetivos de desenvolvimento sustentável**. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em 10 de Out. 2021.

PLANTS OF THE WORLD ONLINE. **Kew Science**. *Terminalia catappa* distribution. Disponível em: <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:310928-2>. Acesso em: 13 de out de 2020.

POOMSAWAT, W. *et al.* Experimental studies of furfural production from water hyacinth (*Eichhornia Crassipes*). **Energy Science Engineering**.v.7, p. 2155–2164, 2019.

REZANIA, S. *et al.* Review on Pretreatment Methods and Ethanol Production from Cellulosic Water Hyacinth. **BioResources**. v.12, n. 1, p. 2108-2124, 2017.

ROMAM, M.; WINTER, W. Effect of Sulfate Groups from Sulfuric Acid Hydrolysis on the Thermal Degradation Behavior of Bacterial Cellulose. **Biomacromolecules**. v.5, p. 1671-1677, 2004.

SASMAL, S.; GOUD, V. V.; MOHANTY, K. Characterization of biomasses available in the region of North-East India for production of biofuels, **Biomass Bioenergy**. v.45, p.212-220, 2012.

SATYANAGALAKSHMI, K. *et al.* Bioethanol production from acid pretreated water hyacinth by separate hydrolysis and fermentation. **Journal of Scientific and Industrial Research**. v.70, n.2, p.156-161, 2011.



III *Sustentare* – Seminários de Sustentabilidade da PUC-Campinas
VI WIPIS – Workshop Internacional de Pesquisa em Indicadores de Sustentabilidade
16 a 18 de novembro de 2021

SHIRKAVAND, E. *et al.* Combination of fungal physicochemical processes for lignocellulosic biomass pretreatment – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 54, p. 217-234, 2016.

TEIXEIRA, D. A. *et al.* Produção de Etanol de Segunda Geração a Partir de Aguapé: Uma Revisão. **Revista Virtual de Química**. v.11, n.1, p.127-143, 2019.

VIDAL, F. **Produção e mercado de etanol**. Caderno Setorial Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste – ETENE. n. 121. p.1- 10. 2020. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/documents/80223/6888601/2020_CDS_121.pdf/9ab6ae84-a1f1-2fa5-0c0f-837553f9879f. Acesso em: 22 de jan. 2021.

WEIPING, S. *et al.* The Resource Utilization of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes* [Mart.] Solms) and Its Challenges. **Resources**. v.7, n.46, 2018.

WOLFAARDT, F. J. *et al.* Recovery approaches for sulfuric acid from the concentrated acid hydrolysis of lignocellulosic feedstocks: A mini-review. **Energy Conversion and Management**: X. p.100074, 2021.