

12º CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM PETRÓLEO E GÁS



TÍTULO DO TRABALHO:

OBTENÇÃO DE AÇÚCARES FERMENTESCÍVEIS A PARTIR DA LIQUEFAÇÃO HIDROTÉRMICA SEMI-CONTÍNUA DO FARELO DE ARROZ VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL 2G

AUTORES:

Alex Schulz, Gabriel Gonçalves de Oliveira, João Henrique Cabral Wancura, Ederson Rossi Abaide

INSTITUIÇÃO:

Laboratório de Biomassa e Biocombustíveis, Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Santa Maria

OBTENÇÃO DE AÇÚCARES FERMENTESCÍVEIS A PARTIR DA LIQUEFAÇÃO HIDROTÉRMICA SEMI-CONTÍNUA DO FARELO DE ARROZ VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL 2G

Resumo

A utilização de biomassas lignocelulósicas para obtenção de açúcares fermentescíveis, principal insumo da produção de etanol 2G, tem embasado diferentes pesquisas recentemente, visando propor um uso mais nobre para estes materiais tipicamente classificados como subprodutos/coprodutos (ou até mesmo resíduos) agroindustriais. Contextualmente, o farelo de arroz surge como uma interessante matéria-prima a ser considerada para a obtenção de açúcares fermentescíveis. Constituinte entre 8 e 10 m.% do arroz, esta biomassa é conhecida por seu elevado teor de óleo, no qual após um processo extrativo, obtém-se um farelo desengordurado que usualmente é subutilizado como aditivo de ração animal. Assim, propondo um uso energético para o farelo de arroz desengordurado, este trabalho reporta resultados para a obtenção de açúcares fermentescíveis (celobiose, glicose, xilose e arabinose) a partir de uma liquefação hidrotérmica, avaliando-se o efeito da temperatura (260 e 300 °C) e vazão de água (15 e 25 g/min) no rendimento de di- e monossacarídeos. A liquefação dos polissacarídeos foi realizada em uma unidade operando de forma semi-contínua, permitindo avaliar o perfil cinético para rendimento total e de cada açúcar fermentescível. Avaliou-se também a formação de inibidores fermentativos (ácidos orgânicos e compostos furânicos) produzidos durante os experimentos. Tanto açúcares fermentescíveis quanto inibidores foram quantificados utilizando cromatografia líquida, enquanto a composição lignocelulósica da biomassa, teor de umidade, extrativos e cinzas foram caracterizados segundo protocolos do *National Renewable Energy Laboratory*. Através dos resultados, foi possível verificar um maior efeito da temperatura do processo em comparação à vazão de água, em que a menor temperatura investigada resultou nos maiores rendimentos de açúcares fermentescíveis. A 260 °C, um interessante aumento no rendimento de açúcares foi observado quando a vazão de água para o sistema aumentou de 15 para 25 g/min: de 10,2 para 12,0 g/100 g biomassa. Quando a temperatura do processo foi elevada para 300 °C, observou-se uma redução de 36 % no rendimento de açúcares, onde mesmo para uma maior vazão de água, discreta melhoria foi observada (7,7 e 8,1 g/100 g biomassa sob alimentação de 15 e 25 g/min, respectivamente), resultado da degradação dos polissacarídeos em condições severas de processo. Esta influência não foi verificada na formação de inibidores, onde similares rendimentos entre 10,7 e 11,4 g/100 g biomassa foram observados. Os resultados obtidos enfatizam o potencial do farelo de arroz desengordurado como uma matéria-prima alternativa para a obtenção de açúcares fermentescíveis e, consequentemente, um insumo a ser considerado na cadeia produtiva de bioetanol.

Palavras-chave: Arroz, açúcares redutores, hidrólise subcrítica, processamento hidrotérmico.

Abstract

The use of lignocellulosic biomass to obtain fermentable sugars, the main input for the production 2G ethanol, has supported different research recently, aiming to propose a more noble use for these materials typically classified as agro-industrial sub-/co-products (or even waste). Contextually, rice bran appears as an interesting feedstock to be considered for obtaining fermentable sugars. Constituting between 8 and 10 wt.% of the rice, this biomass is known for its high oil content, where after an extractive process, a defatted bran is obtained, which is usually underused as an additive to

animal feed. Thus, proposing an energetic use for defatted rice bran, this work reports results for obtaining fermentable sugars (cellobiose, glucose, xylose, and arabinose) from a hydrothermal liquefaction, evaluating the effect of temperature (260 and 300 °C) and water flow (15 and 25 g/min) on the yield of di- and monosaccharides. The polysaccharides' liquefaction was performed in a unit operating semi-continuously, allowing the evaluation of the kinetic profile for total yield and for each fermentable sugar. The formation of fermentative inhibitors (organic acids and furanic compounds) produced during the experiments was also evaluated. Both fermentable sugars and inhibitors were quantified using liquid chromatography, while the biomass lignocellulosic composition, moisture content, extractives, and ashes were characterized following National Renewable Energy Laboratory protocols. Through the results, it was possible to verify a greater effect of the process temperature in comparison to the water flow, where the lowest temperature investigated returned the highest yields of fermentable sugars. At 260 °C, an interesting increase in sugar yield was observed when the water flow rate into the system increased from 15 to 25 g/min: from 10.2 to 12.0 g/100 g biomass. When the process temperature was raised to 300 °C, a 36 % reduction in sugar yield was observed, where even for a higher water flow rate, a slight improvement was observed (7.7 and 8.1 g/100 g biomass under feed rates of 15 and 25 g/min, respectively), resulting from the polysaccharides degradation under severe process conditions. This influence was not observed in the inhibitors' formation, where similar yields between 10.7 and 11.4 g/100 g biomass were observed. The results obtained emphasize the potential of defatted rice bran as an alternative feedstock for obtaining fermentable sugars and, consequently, an input to be considered in the bio-ethanol production chain.

Keywords: Rice, reducing sugars, subcritical hydrolysis, hydrothermal processing.

Introdução

O farelo de arroz (FA) é um pó marrom gerado como coproduto durante o beneficiamento e polimento do grão, constituindo entre 5 e 10 m.% do grão de arroz (Abaide, Tres, *et al.*, 2019). Por ser uma biomassa conhecida por seu elevado teor de lipídeos (entre 15 e 25 m.%), tipicamente o FA é destinado para aproveitamento do seu óleo em processos extrativos, gerando uma biomassa desengordurada usualmente subutilizada em misturas para ração animal (Wancura *et al.*, 2023). A menção a essa subutilização se deve ao fato do farelo de arroz desengordurado (FAD) ser uma biomassa com interessante composição lignocelulósica onde, através de um processo adequado, é possível obter açúcares fermentescíveis (AFs) por meio da desintegração dos polissacarídeos que constituem esse material (Jha *et al.*, 2020). Notadamente, AFs são o principal insumo para a produção de etanol de segunda geração (etanol 2G), um biocombustível que desempenha um papel crucial na matriz energética de diferentes nações. Considerando que o arroz é um dos principais alimentos consumidos no mundo, sendo o Brasil um dos líderes de cultivo em nível mundial, é esperado que grandes quantidades de FA sejam geradas anualmente, destacando o potencial dessa biomassa em ser uma fonte para obtenção de AFs.

Considerando este panorama, processos hidrotérmicos, como a liquefação hidrotérmica (LQH), são alternativas interessantes para o processamento de biomassas lignocelulósicas visando a obtenção de AFs devido a diferentes vantagens. A LQH utiliza água em condições subcríticas para quebrar a complexa tríade lignocelulósica da biomassa – celulose, hemicelulose e lignina –, facilitando a liberação

de AFs. Um dos fatores positivos do processo de LQH se deve à utilização de água como solvente, um composto ambientalmente amigável e de relativa abundância, o que torna esses sistemas economicamente atrativos. Somado a isso, sob condições subcríticas, a água adquire propriedades capazes de melhorar a solubilização e a hidrólise da holocelulose da biomassa (Puhl *et al.*, 2024). Também deve-se destacar a possibilidade da LQH em processar uma ampla variedade de biomassas com elevados teores de umidade, incluindo resíduos agrícolas e florestais, não requerendo processos prévios de secagem que acabam elevando custos operacionais (Abaide, Tres, *et al.*, 2019).

Por outro lado, considerando as condições da LQH, reporta-se a usual geração de inibidores fermentativos (IFs – ácidos orgânicos e compostos furânicos), formados devido à degradação térmica (desidratação e clivagem de ligações) dos componentes da biomassa (Draszewski *et al.*, 2021). A presença destes compostos em processos fermentativos pode afetar substancialmente a atividade de leveduras e bactérias, impactando o rendimento da produção de etanol. Assim, é importante avaliar os parâmetros do processo visando mitigar a formação destes compostos. Portanto, este trabalho reporta resultados para a LQH do FAD em regime semi-contínuo, pretendendo a obtenção de AFs. Variando as condições operacionais chave do processo (temperatura e vazão de água), dados sobre o perfil de produção de AFs e IFs que são apresentados, possibilitando a avaliação a influência destes parâmetros sobre o processo hidrotérmico em questão.

Metodologia

O FA *in natura* foi adquirido de uma agroindústria localizada no município de Santa Maria, RS. A biomassa foi desengordurada por extração sólido-líquido utilizando hexano em um sistema Soxhlet. A composição do FAD foi analisada em relação ao teor de umidade, extrativos, cinzas e composição lignocelulósica conforme indicado pelo *National Renewable Energy Laboratory* (NREL). Os ensaios de LQH foram realizados em uma unidade experimental que opera de forma semi-contínua, contendo uma bomba de alta-pressão, reator equipado com manta elétrica, tubulações em aço inox 316L e sistema de controle. A forma de operação do sistema e a descrição detalhada dos itens que o compõem podem ser verificados no trabalho de Puhl *et al.* (2024). A obtenção de AFs (e a concomitante produção de IFs) a partir do FAD foi avaliada considerando a variação da temperatura (260 e 300 °C) e vazão de água alimentada (15 e 25 g/min) ao sistema. Em todos os ensaios, realizados em duplicata, o reator foi alimentado com 20 g de FAD e encerrados após 40 min, onde amostras periódicas de hidrolisado foram coletadas. A quantificação dos AFs (celobiose, glicose, xilose e arabinose) e IFs (ácido fórmico, acético, levulínico, furfural e hidroximetilfurfural – HMF) foi feita por cromatografia líquida de alta performance, utilizando o equipamento e metodologia descritos por Draszewski *et al.* (2021) após recuperação dos compostos de interesse da solução hidrolisada por extração líquido-líquido com diclorometano, conforme indicado por Martins-Vieira *et al.* (2023). Com a quantificação dos compostos, foi possível determinar os valores de rendimento mássico, expressos em “g AFs (ou IFs) por 100 g FAD”. A significância estatística dos resultados foi avaliada via teste de Tukey considerando um nível de confiança de 95% ($p \leq 0,05$).

Resultados e Discussão

Após o processo de extração, verificou-se que o FA continha aproximadamente 17 m.% de lipídeos. Normalmente, este óleo é utilizado para alimentação após passar por um processo de refino para redução de sua elevada acidez. Em relação à composição do FAD, foi possível verificar que a biomassa apresenta uma interessante composição lignocelulósica, principalmente em relação aos teores de celulose (26.1 ± 1.8 m.%) e hemicelulose (5.7 ± 0.7 m.%), carboidratos que dão origem a AFs de interesse, para uma discreta concentração de lignina (12.8 ± 0.2 m.%), que é associada a recalcitrância de biomassas agroindustriais, dificultando seu processamento em sistemas termoquímicos conforme o considerado nesta pesquisa. As análises do FAD também indicaram a presença de 10.0 ± 0.2 m.% de umidade, 29.1 ± 2.2 m.% de extrativos e 12.5 ± 0.3 m.% de cinzas.

A **Figura 1** apresenta o perfil de obtenção de AFs a partir da LQH do FAD. Através destes resultados, é possível verificar uma elevada taxa de hidrólise dos carboidratos da biomassa nos primeiros 10 min de processo. A partir deste momento, fica nítida a influência dos parâmetros “temperatura” e “vazão de água” sobre o rendimento de AFs. Em relação à temperatura da LQH, é perceptível que ao aumentar este parâmetro de 260 para 300 °C, houve uma redução no rendimento de AFs obtidos (10.2 – 12.0 g/100 g biomassa para 7.7 – 8.1 g/100 g biomassa, respectivamente). Este resultado pode ser associado à uma maior degradação dos açúcares em IFs ou compostos voláteis quando elevadas temperaturas são utilizadas no processo hidrotérmico (Abaide, Ugalde, *et al.*, 2019). Em relação à influência da vazão de água ao sistema, para ambas temperaturas avaliadas foi possível verificar que um aumento da vazão conduziu a um aumento do rendimento de AFs (por exemplo, a 260 °C, o rendimento de AFs elevou-se de 10.2 para 12.0 g/100 g biomassa quando a vazão de água aumentou de 15 para 25 g/min. Este resultado está associado com a maior disponibilidade de solvente para realizar a hidrólise dos polissacarídeos da biomassa quando maiores vazões são aplicadas (Costa *et al.*, 2023).

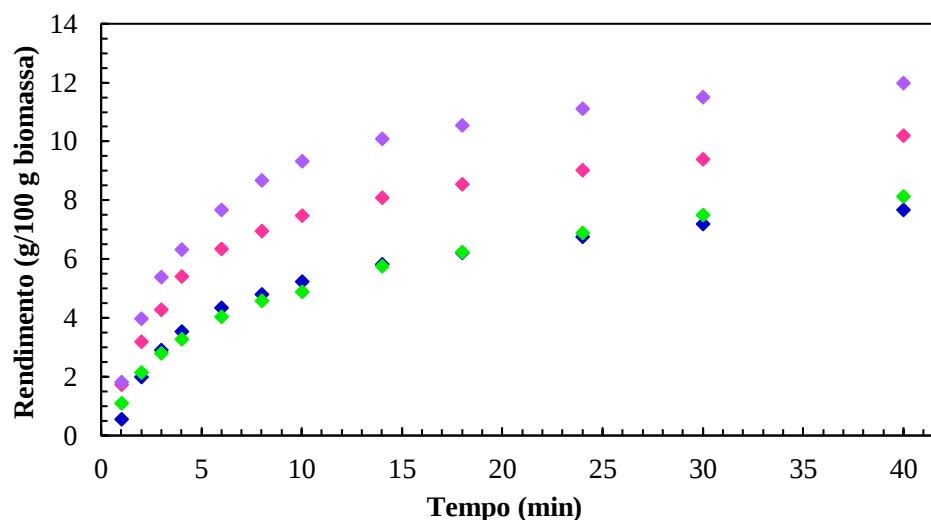


Figura 1. Perfil de obtenção de açúcares fermentescíveis para o processo de liquefação hidrotérmica. Legenda: ◆ 260 °C e 15 g/min, ◆ 260 °C e 25 g/min, ◆ 300 °C e 15 g/min, ◆ 300 °C e 25 g/min.

A **Tabela 1** apresenta resultados discriminados considerando cada AF quantificado após a LQH do FAD. Através desses dados é possível verificar que glicose e xilose foram os principais AFs obtidos. É importante descrever que a celobiose (um dissacarídeo composto por duas moléculas de glicose unidas

por uma ligação glicosídica $\beta_{1\rightarrow4}$, resultante da hidrólise parcial da celulose) e a glicose são obtidas principalmente da fração de celulose da biomassa, embora a hemicelulose também possa contribuir com a formação de glicose. Já a xilose e a arabinose são originados principalmente da fração de hemicelulose da biomassa. A maior fração de xilose detectada na solução hidrolisada pode estar associada à típica estrutura mais amorfa da hemicelulose que seria mais simples de hidrolisar em relação a organizada estrutura cristalina da celulose. Uma conformação cristalina teoricamente envolve maiores barreiras para a reação de hidrólise, necessitando de mais solvente para ser despolimerizada (Collard, Carrier e Görgens, 2016). Tal constatação pode ser corroborada pelo aumento dos teores de glicose obtidos conforme a vazão de água do sistema foi aumentada de 15 para 25 g/min.

Tabela 1. Rendimento de mono- e dissacarídeos (g/100 g de FAD) ao término do processo de LQH.

	260 °C / 15 g/min	260 °C / 25 g/min	300 °C / 15 g/min	300 °C / 25 g/min
Celobiose	0,9 ± 0,3 ^{aA}	0,6 ± 0,2 ^{aA}	0,4 ± 0,1 ^{aA}	0,5 ± 0,2 ^{aA}
Glicose	2,5 ± 0,4 ^{aA}	4,1 ± 0,3 ^{aA}	2,2 ± 0,5 ^{aA}	3,3 ± 0,4 ^{aA}
Xilose	5,7 ± 1,9 ^{aA}	5,9 ± 1,1 ^{aA}	3,8 ± 0,7 ^{aA}	3,7 ± 0,1 ^{aA}
Arabinose	1,1 ± 0,3 ^{aA}	1,4 ± 0,1 ^{aA}	1,3 ± 0,0 ^{aA}	0,8 ± 0,2 ^{aA}
Total	10,2 ± 2,7^{aA}	12,0 ± 1,1^{aA}	7,7 ± 0,1^{aA}	8,1 ± 0,4^{aA}

* Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem significativamente considerando um teste de Tukey ($p \leq 0.05$), onde letras minúsculas representam “temperatura” e letras maiúsculas “vazão de água”.

A **Figura 2** apresenta o perfil de IFs quantificados nas amostras coletadas de hidrolisado ao longo da LQH do FAD. A partir destes resultados, é possível averiguar que tanto a temperatura do processo hidrotérmico quanto a vazão de água alimentada ao sistema tiveram discreto efeito sobre o rendimento/concentração dos compostos. Analisando estes resultados por outra perspectiva, pode-se concluir que mesmo para condições mais “amenas” de liquefação (temperatura e vazão de água), já é possível observar a degradação de açúcares que gera a produção de IFs. O rendimento mássico total para estes compostos variou entre 10,6 e 11,4 g/100 FAD alimentado. Usualmente, estes compostos inibidores do processo enzimático de fermentação de açúcares para produção de etanol 2G são majoritariamente gerados pela deterioração térmica da camada de hemicelulose da biomassa, embora ainda possa ocorrer a degradação de açúcares como a glicose e celobiose oriundos da camada de celulose (Abaide, Ugalde, *et al.*, 2019). Contextualmente, compostos fenólicos originados da degradação da camada de lignina da biomassa também contribuem para a produção de IFs. Neste panorama, uma alternativa para reduzir a produção de IFs seria realizar um pré-tratamento da biomassa (por exemplo: explosão à vapor, tratamento com ácidos diluídos, etc.), o qual auxiliaria na remoção de parte da camada de hemicelulose e lignina do material, facilitando a hidrólise da celulose bem como a redução na geração de inibidores (Wancura *et al.*, 2023). Por fim, a **Tabela 2** apresenta a discriminação de cada IF detectado nas amostras de solução hidrolisada coletada ao término do processo de LQH. Os dois compostos majoritariamente detectados foram os ácidos orgânicos fórmico e acético, gerados principalmente da degradação térmica de moléculas de glicose e celobiose (Puhl *et al.*, 2024).

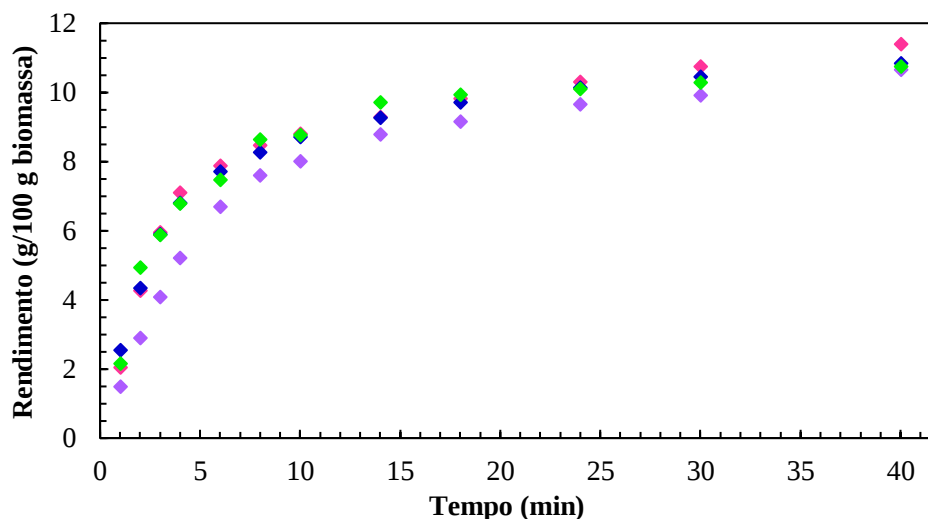


Figura 2. Produção de inibidores fermentativos ao longo do processo de liquefação hidrotérmica. Legenda: ◆ 260 °C e 15 g/min, ◆ 260 °C e 25 g/min, ◆ 300 °C e 15 g/min, ◆ 300 °C e 25 g/min.

Tabela 2. Discriminação dos IFs (g/100 g de biomassa) verificados nas amostras de hidrolisado ao término da LQH do FAD.

	260 °C / 15 g/min	260 °C / 25 g/min	300 °C / 15 g/min	300 °C / 25 g/min
Ácido fórmico	4,2 ± 1,1 ^{aA}	4,0 ± 2,4 ^{aA}	2,0 ± 0,9 ^{aA}	2,9 ± 1,6 ^{aA}
Ácido acético	5,0 ± 0,1 ^{aA}	4,4 ± 1,5 ^{aA}	6,9 ± 1,2 ^{aA}	7,0 ± 0,2 ^{aA}
Ácido levulínico	0,9 ± 0,7 ^{aA}	0,6 ± 0,3 ^{aA}	0,7 ± 0,1 ^{aA}	0,4 ± 0,1 ^{aA}
Furfural	0,3 ± 0,0 ^{aA}	1,3 ± 0,3 ^{aA}	1,0 ± 0,0 ^{aA}	0,2 ± 0,0 ^{aA}
HMF	1,0 ± 0,2 ^{aA}	0,4 ± 0,0 ^{aA}	0,2 ± 0,0 ^{bA}	0,1 ± 0,0 ^{bA}
Total	11,4 ± 0,3^{aA}	10,7 ± 3,8^{aA}	10,8 ± 2,0^{aA}	10,6 ± 1,8^{aA}

* Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem significativamente considerando um teste de Tukey ($p \leq 0.05$), onde letras minúsculas representam “temperatura” e letras maiúsculas “vazão de água”.

Conclusões

A presente pesquisa analisou a influência da temperatura e da vazão de água na LQH do FAD com o objetivo de obter AFs, insumo principal da produção de etanol 2G. Os resultados indicaram que a temperatura do sistema apresenta uma maior influência sobre o rendimento de açúcares, em que o aumento do parâmetro de 260 para 300 °C quantitativamente impactou de forma mais contundente os resultados em comparação à vazão de água. Contextualmente, o aumento da vazão de água mostrou ação interessante, principalmente atuando sobre a despolimerização da estrutura cristalina da celulose, aumentando o rendimento de glicose na solução hidrolisada. Similares concentrações de IFs foram verificadas para as diferentes condições operacionais avaliadas, indicando que a formação destes compostos pode ocorrer mesmo para menores temperaturas da LQH. Uma possível solução para

amenizar essa situação é realizar um pré-tratamento da biomassa antes do seu processamento hidrotérmico, o que facilitaria o acesso do solvente às camadas de celulose do FAD, reduzindo os teores de hemicelulose e lignina que são susceptíveis a degradação térmica e a consequente geração de ácidos orgânicos e compostos furânicos.

Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis através do Programa de Formação de Recursos Humanos em Processamento de Petróleo e Biocombustíveis (PRH 52.1) da Universidade Federal de Santa Maria.

Referências Bibliográficas

- ABAIDE, E. R.; TRES, M. V.; *et al.* Reasons for processing of rice coproducts: Reality and expectations. **Biomass and Bioenergy**, v. 120, p. 240–256, jan. 2019.
- ABAIDE, E. R.; UGALDE, G.; *et al.* Obtaining fermentable sugars and bioproducts from rice husks by subcritical water hydrolysis in a semi-continuous mode. **Bioresource Technology**, v. 272, p. 510–520, jan. 2019.
- COLLARD, F.-X.; CARRIER, M.; GÖRGENS, J. F. Fractionation of Lignocellulosic Material With Pyrolysis Processing. In: **Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery**. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 81–101.
- COSTA, B. S. Y. *et al.* Sequential Process of Subcritical Water Hydrolysis and Hydrothermal Liquefaction of *Butia Capitata* Endocarp to Obtain Fermentable Sugars, Platform Chemicals, Bio-oil, and Biochar. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 10 nov. 2023.
- DRASZEWSKI, C. P. *et al.* Subcritical water hydrolysis of rice husks pretreated with deep eutectic solvent for enhance fermentable sugars production. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 178, p. 105355, dez. 2021.
- JHA, B. *et al.* Utilization of de-oiled rice bran as a feedstock for renewable biomethane production. **Biomass and Bioenergy**, v. 140, p. 105674, set. 2020.
- MARTINS-VIEIRA, J. C. *et al.* Sugar, hydrochar and bio-oil production by sequential hydrothermal processing of corn cob. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 194, p. 105838, mar. 2023.
- PUHL, B. A. *et al.* Semi-continuous hydrothermal processing of pine sawdust for integrated production of fuels precursors and platform chemicals. **Science of The Total Environment**, v. 912, p. 169168, fev. 2024.
- WANCURA, J. H. C. *et al.* Motivations to produce biofuels from rice bran: An overview involving a recent panorama. **Industrial Crops and Products**, v. 203, p. 117170, nov. 2023.