

ISABELA SILVEIRA FERREIRA

Estudo da produção de etanol a partir das frações açucaradas da palha de arroz

Tese apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutorado em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Microbiologia Aplicada.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Inês Conceição Roberto

Versão Corrigida

Lorena - SP

2018

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado
da Escola de Engenharia de Lorena,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Ferreira, Isabela Silveira

Estudo da produção de etanol a partir das frações açucaradas da palha de arroz / Isabela Silveira Ferreira; orientadora Inês Conceição Roberto - Versão Corrigida. - Lorena, 2018.
151 p.

Tese (Doutorado em Ciências - Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Microbiologia Aplicada) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2018

1. Palha de arroz. 2. Pré-tratamento. 3. Hidrólise enzimática. 4. Etanol. I. Título. II. Roberto, Inês Conceição, orient.

RESUMO

FERREIRA, I. S. **Estudo da produção de etanol a partir das frações açucaradas da palha de arroz**. 2018. 151 p. Tese (Doutorado em Ciências). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2018.

Neste trabalho foi avaliada a produção de etanol a partir da palha de arroz por processo de sacarificação e fermentação em separado (SHF). Para isto, a biomassa foi processada em quatro etapas: 1) tratamento alcalino, para solubilização de grupos acetil (desacetilação) e parcial remoção de lignina e cinzas e; 2) tratamento ácido, para separação da hemicelulose; 3) hidrólise enzimática, para conversão da celulose em glicose 4) fermentação dos hidrolisados açucarados obtidos. O rendimento de cada etapa, assim como, a composição química das frações obtidas (sólido e líquido) foram determinadas. O tratamento ácido teve como objetivo estabelecer uma condição de tratamento para palha de arroz, previamente tratada com álcali, visando eficiente solubilização da hemicelulose, sem contudo, ocasionar grandes perdas no teor de celulose no sólido. O estudo de temperatura, concentração de ácido e tempo foi feito em reator de aço inox com capacidade de 0,5 L. O processo de hidrólise ácida nas condições otimizadas (85 mg de H₂SO₄/g biomassa, 10% de sólidos, 150 °C por 10 min em reator 80 L) revelou uma elevada solubilização da hemicelulose (RHH = 94%) e a obtenção de um hidrolisado com menor carga de compostos inibidores. Nestas condições, a composição da celulignina foi de 58,2 de celulose, 19,4 de lignina e 5,9 de hemicelulose m/m. Em seguida, foi então avaliado o processo de sacarificação enzimática da celulignina com altos teores de sólidos (16; 20 e 24% m/v) empregando um reator do tipo Moinho de Bolas Verticais (MBV). Para estes ensaios foram utilizadas as seguintes condições: carga enzimática de 29,5 FPU por grama de celulose, 30 esferas de vidro, temperatura de 46 °C e agitação de 100 rpm. O rendimento de hidrólise enzimática (RHE) em batelada simples foi reduzido de 80 para 72%, com o aumento do teor de sólidos de 16 para 24% m/v. Porém, a condução do processo em batelada alimentada foi capaz de contornar os problemas de mistura causados pelo efeito dos sólidos, o que possibilitou atingir um valor de RHE de 78%, a partir de 24% m/v de substrato. O estudo da fermentabilidade do hidrolisado celulósico (HC) por *Kluyveromyces marxianus* revelou uma melhor performance do processo na ausência dos sólidos residuais, sendo ainda necessária sua suplementação nutricional. Neste hidrolisado, em reator MBV, a produção de etanol atingiu de 32 g/L a partir de 110 g/L de glicose, o que correspondeu a uma eficiência de 67% e produtividade volumétrica de 3,1 g/L.h. Já a fermentabilidade do hidrolisado hemicelulósico por *Scheffersomyces stipitis* não foi melhorada com suplementação nutricional e a produção de etanol alcançou 12 a partir de 50 g/L de xilose, o que correspondeu a uma eficiência de 45% e produtividade volumétrica de 0,2 g/L.h, utilizando frascos Erlenmeyer. Com estes resultados e a partir dos rendimentos obtidos em cada etapa do processamento da palha de arroz, foi desenvolvido um balanço de massa para produção global de etanol, foi possível obter 9 g de etanol a partir de 100 g de palha. Em função destes resultados, conclui-se que a palha de arroz é um subproduto agrícola com grande potencial para ser explorado como matéria-prima em biorrefinarias, especialmente para a produção de etanol sendo ainda necessários estudos com vistas a melhorias no processo enzimático e fermentativo.

Palavras chave: Palha de arroz. Pré-tratamento. Hidrólise enzimática. Etanol.

ABSTRACT

FERREIRA, I. S. **Study of ethanol production using rice straw sugar fractions.** 2018. 151 p. Thesis (Doctoral of Science). Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2018.

In this work ethanol production from rice straw sugar fractions by saccharification and separate fermentation (SHF) was evaluated. The biomass was treated in four steps: 1) alkaline treatment, for acetyl solubilisation (deacetylation) and partial removal of lignin and ashes; 2) acid treatment, for hemicellulose separation; 3) enzymatic hydrolysis, to convert cellulose in glucose and 4) fermentation of the obtained sugars from rice straw hydrolyzate. In each step, the yield and chemical composition of liquid and solid fractions were determinate. Acid treatment goal was to establish a condition for rice straw previously treated with alkali, aiming at the efficient solubilization of hemicellulose, without causing high losses in the cellulose content in the solid. The study of temperature, acid concentration and time was done in a stainless steel reactor with a capacity of 0.5 L. The process of acid hydrolysis under optimized conditions (85 mg of H₂SO₄/g biomass, 10% de solids, 150 °C for 10 min in a 80 L reactor) resulted in a high hemicellulose solubilisation (RHH = 94 %) and in a hydrolysate with low charge of inhibitors compounds. Under these conditions, the cellulignin composition was 58.2 cellulose, 19.4 lignin and 5.9 hemicellulose w/w. After that, the use of high solids contents in the process of enzymatic saccharification of the pretreated biomass was evaluated using high solids (16; 20 and 24% m / v) using a Vertical Ball Mill (MBV). The following conditions were used for these assays: enzymatic loading of 29.5 FPU per gram of cellulose, 30 glass beads, temperature of 46 °C and stirring at 100 rpm. Increasing solid content from 16 to 24% w/v resulted in a reduction of enzymatic hydrolysis yield (HSR), from 80% to 72%. However, the fed batch process overcame the mixing problems caused by the solids, reaching a RHE value of 78%, using 24% w/v of the substrate. The study of the cellulose hydrolyzate (HC) fermentability by *Kluyveromyces marxianus* revealed that the best process condition was in the absence of the residual solids and nutritional supplementation was still necessary. In this hydrolyzate, the ethanol production reached 32 g/L, from 110 g/L glucose, an efficiency of 67% and volumetric productivity of 3.1 g/L.h using MBV reactor. However, the fermentability of the hemicellulosic hydrolyzate by *Scheffersomyces stipitis* was not improved by nutritional supplementation and ethanol production reached 12.0 from 50 g/L xylose, an efficiency of 45% and volumetric productivity of 0.2 g/L.h, using Erlenmeyer flasks. With these results and from the yields obtained in each step of the processing of rice straw, a mass balance was developed for the global production of ethanol, it was possible to obtain 9 g of ethanol from 100 g of straw. Due to these results, it was concluded that rice straw is an agricultural byproduct with great potential to be exploited as a raw material in biorefineries, especially for the production of ethanol. More studies are still required to optimize the enzymatic and fermentative process.

Key word: Rice straw. Pretreatment. Enzymatic hydrolysis. Ethanol.