

# REUTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS DE MADEIRA PARA PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO, UTILIZANDO HPLC PARA MAPEAMENTO DO TRATAMENTO COM ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO (HNO<sub>3</sub>) E SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Diogo José Horst (Mestrando em Engenharia de Produção pela UTFPR) E-mail: diogohorst@yahoo.com.br  
Jhon Jairo Ramirez Behainne (Doutor em mecânica pela UNICAMP) jhon@utfpr.edu.br

**Resumo:** Este artigo relata a produção de etanol utilizando resíduos de madeira, através de um método para identificação dos compostos dispersos no licor nítrico hidrolisado e fermentado. Como biomassas, foram usadas doze diferentes espécies coletadas na região sul do Brasil. Para monitoramento do processo, cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) empregando a técnica analítica de troca de prótons foi utilizada. A capacidade de fermentação e o rendimento em etanol usando *Saccharomyces cerevisiae* também foram investigados. Os compostos identificados na análise foram: frutose, ácido láctico, ácido acético, glicose, glicerol e etanol. A levedura demonstrou produtividades em etanol na faixa entre: 3,00 g/L/h utilizando *Cedrelinga catenaeformis* e 0,76 g/L/h, usando *Ocotea porosa*, respectivamente, após 8 h de ensaio de fermentação. Todos os resíduos demonstraram similar eficiência na produção de etanol celulósico de segunda geração, sugerindo que estes são viáveis quando utilizado como biomassa. Este trabalho contribui para a produção sustentável de biocombustíveis através da monitorização e otimização de processos, contribuindo para a área de pesquisa da geração de energias renováveis através da engenharia química.

**Palavras-chave:** Resíduos de madeira, hidrólise, ácido nítrico, etanol de segunda geração, HPLC.

## REUTILIZATION OF WOOD WASTES FOR SECOND GENERATION ETHANOL PRODUCTION USING HPLC FOR MONITORING THE DILUTED NITRIC (HNO<sub>3</sub>) ACID TREATMENT AND SACCHAROMYCES CEREVISIAE

**Abstract:** This paper reports the ethanol production using wood wastes through a method for identification of dispersed compounds in the nitric hydrolysate and fermented liquor. As biomasses, twelve different species collected in south Brazil were used. For process monitoring, a high performance liquid chromatography (HPLC) using the proton exchange technique was employed. The capacity of fermentation and the ethanol yields by using *Saccharomyces cerevisiae* also were investigated. The standard compounds in analysis were: fructose, lactic acid, acetic acid, glucose, glycerol, and ethanol. The yeast evidenced ethanol productivities inside the range: 3,00 g/L/h using *Cedrelinga catenaeformis* and 0,76 g/L/h, using *Ocotea porosa*, respectively, after 8 h fermentation essay. All wastes evidenced similarity in efficiency for second generation cellulosic ethanol, indicating that these are viable as biomass. This work contributes for sustainable biofuels production through process monitoring and optimization, with efforts for the renewable energies through chemical engineering.

**Keywords:** Wood wastes, hydrolysis, nitric acid, second generation ethanol, HPLC.

### 1. INTRODUÇÃO

Preocupações com o esgotamento dos combustíveis fósseis atribuídos a mudanças climáticas e a emissões antropogênicas de dióxido de carbono, preconizam um grande interesse mundial nas energias renováveis e em fontes de energia neutras de emissões de carbono, bem como matérias-primas químicas derivadas de fontes vegetais (DOHERTY et al., 2011, ZHU e PAN, 2010).

Uma das mais importantes fontes de energia renovável é a biomassa. Ele oferece muitas vantagens sobre os combustíveis derivados do petróleo (DEMIRBAS et al., 2009; 2011). Além disso, a produção de etanol a partir da biomassa é uma forma de reduzir o consumo de petróleo bruto e também a poluição ambiental (BALAT et al., 2011).

A hidrólise ácida diluída é um dos métodos de pré-tratamento para a conversão da celulose em etanol (XIE et al., 2011).

O Brasil, um grande produtor mundial de etanol, utiliza principalmente a cana de açúcar para produzir este combustível, enquanto que os Estados Unidos e a Europa utilizam principalmente amido de milho, trigo ou cevada (HARTEMINK, 2008; WEN et al., 2010).

No entanto, durante a produção de etanol, grandes variedades de compostos degradados derivados da hidrólise são liberados. A maioria destes compostos possui atividades inibitórias e redutoras para as conversões bioquímicas, minimizando rendimentos e eficiência (CARRASCO et al., 2010). Portanto, uma abordagem analítica eficiente se torna cada vez mais necessária para se quantificar e qualificar esses compostos na compreensão de seus papéis nos processos de bioconversão (XIE et al., 2011).

Grandes esforços têm sido empregados para a análise dos produtos de degradação em hidrolisados da biomassa, com variados graus de sucesso. A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é um método freqüentemente usado na análise destes produtos de degradação no pré-hidrolisado ou mesmo no licor lignocelulósico hidrolisado. Cromatografia gasosa (CG) acoplada à detecção por ionização de chama ou espectrometria de massa (ME) têm tido relevante sucesso na identificação de uma grande variedade de produtos orgânicos de degradação utilizando biomassas (KLINKE et al., 2002; KARAGÖZ et al., 2004). Além disso, a implementação de metodologias (CG) para o trabalho quantitativo destes compostos, sofreu complexidades inerentes à derivatização das amostras de composição desconhecida.

Métodos de cromatografia líquida (CL), empregando pós-coluna (UV) ou detecção por índice de refração têm historicamente sofrido de resolução incompleta dos dados analíticos. Como resultado, as análises (CL) dos produtos de degradação em amostras de hidrolisado têm tipicamente empregado modos cromatográficos múltiplos e diferentes estratégias de detecção.

A escolha de qual utilizar depende da classe analítica. Por exemplo, os ácidos alifáticos foram mais bem determinados utilizando cromatografia por alto desempenho de troca de ânions (UV) ou detecção por condutividade, cromatografia por exclusão de íons (UV), ou métodos electroforéticos (XIE et al., 2011). Em contraste, (CL) análises de ácidos aromáticos, furanos, fenólicos e aldeídos têm sido tipicamente realizados usando cromatografia de fase reversa com índice de refração (LUO et al., 2002), ou ainda detecção por espectrometria de massa (PERSSON et al., 2002; CHEN et al., 2006; 2009).

O objetivo deste estudo é utilizar a cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) empregando a técnica de troca de prótons para o mapeamento da cadeia curta de ácidos orgânicos, monossacarídeos, glicerol, como também as frações de etanol presentes no licor hidrolisado. Para isso foi investigada a produção de etanol de segunda geração utilizando resíduos de madeira. Doze espécies diferentes na forma de lascas, aparas e serragem foram testadas, como também foi o tratamento de hidrólise utilizando ácido nítrico diluído. Além disso, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi testada em um ensaio de fermentação.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Lascas e aparas de madeira foram coletadas em indústrias de transformação durante processos de usinagem. As amostras utilizadas foram originárias de centros da madeira e mobiliário, nos

estados de Santa Catarina e do Paraná. Dentre as amostras analisadas estão: *Hymenolobium petraeum*, *Tabebuia cassinoides*, *Myroxylon peruiferum*, *Nectandra lanceolata*, *Ocotea catharinensis*, *catenaeformis Cedrelinga*, *Cedrela fissilis Vell.*, *Ocotea porosa*, *Laurus nobilis*, *Balfourodendron riedelianum*, *Pinus elliottii* e *Brosimum spp.* uma mistura de madeiras duras (Hardwoods) e madeiras moles (Softwoods). Neste trabalho, para a verificação singular de rendimento, todos os espécimes foram testados separadamente.

Depois de coletadas, as amostras foram catalogadas e acondicionados em recipientes com capacidade para 5 kg, então armazenados. As aparas e lascas de madeira foram então moídas em laboratório, sendo reduzidos a serragem, para isto, utilizou-se de um moinho centrífugo (Zenith ZTM-86). As amostras testadas passaram através de peneira de malha 0,6 mm (Tyler).

As frações (químicas) lignina, celulose, e hemiceluloses, como também a densidade básica (física) das espécies estão demonstradas na Tabela 1. A densidade das amostras foi determinada de acordo com o método Tappi (T258). A lignina (Klason) foi determinada de acordo com o método Tappi (T222). O conteúdo de holloceluloses (celuloses + hemiceluloses) foi determinado utilizando o método Tappi (T202).

Tabela 1. Análises físico-químicas das espécies analisadas

Hard/ Softwood	Espécie analisada	Química (%)			Física (g/cm <sup>3</sup> )
		Celuloses	Hemiceluloses	Lignina	Densidade
Hardwood	<i>Hymenolobium petraeum</i>	42.2	27.2	28.4	0.67
Hardwood	<i>Myroxylon peruiferum</i>	41.1	25.4	27.3	0.61
Hardwood	<i>Tabebuia cassinoides</i>	44.2	29.4	25.6	0.99
Softwood	<i>Nectandra lanceolata</i>	45.4	30.1	23.6	0.50
Hardwood	<i>Ocotea catharinensis</i>	44.7	27.5	27.7	0.62
Hardwood	<i>Cedrelinga catenaeformis</i>	40.6	29.5	27.2	0.50
Hardwood	<i>Cedrela fissilis Vell.</i>	40.4	28.1	29.7	0.47
Hardwood	<i>Ocotea porosa</i>	43.8	26.9	30.2	0.66
SoftWood	<i>Laurus nobilis</i>	46.7	32.4	20.1	0.44
Softwood	<i>Balfourodendron riedelianum</i>	45.1	26.6	22.2	0.69
Softwood	<i>Pinus elliotti</i>	45.3	30.5	22.9	0.48
Hardwood	<i>Brosimum spp.</i>	44.1	26.5	26.2	0.54

Fonte: Autores.

Para o ensaio de hidrólise, aproximadamente 500 g amostras foram tratadas com ácido nítrico (70% HNO<sub>3</sub>) diluído em 100 mL's de solução de água destilada a 120 ° C durante 2 h. Para hidrolisar a celulose e remover parte da lignina, permitindo à levedura maior acesso as frações celulósicas (ZHANG et al., 2010). Depois disto, a fase celulósica sólida foi separada por filtragem utilizando-se de uma prensa hidráulica, aplicando às amostras 2 toneladas de pressão sobre uma área de 200 cm<sup>2</sup> (MAEDA et al., 2011).

As frações sólidas foram então submetidas a um passo adicional de deslignificação parcial usando tratamento alcalino com NaOH (1,0% m/v) 1:20 (p/v) a 121 °C durante 30 min (VASQUEZ et al., 2007). O pH foi corrigido para 4,0 utilizando NaOH com a intenção de criar um ambiente não prejudicial (não demasiadamente ácido) para que a levedura pudesse sobreviver. Para o ensaio de fermentação, a levedura usada, *Saccharomyces cerevisiae* foi originalmente adquirida no Laboratório de Química (UDESC - CEPLAN).

As atividades de pré-tratamento, deslignificação, hidrólise e fermentação também foram testadas neste laboratório. As cepas foram mantidas em meio ágar - malte. Esta suspensão consistiu de extrato de malte (5 g/L), extrato de levedura (5 g/L), peptona (5 g/L), ágar (20 g / L) e água destilada (1 L), suplementada com (1 g/L de glicose), todos adicionados a um balão

de fundo chato. Antes da utilização como inóculo para fermentação, a cultura foi aerobicamente propagada utilizando um Erlenmeyer com capacidade para 200 mL.

As cepas de *S. cerevisiae* cresceram durante a noite a 30 °C em clima regulado durante 48 h com agitação constante de 200 RPM até que a concentração atingisse aproximadamente 3% (v/v), após isso o inóculo foi separado por centrifugação, utilizando-se de monitoramento através de medições por densidade óptica (Agilent OD-600nm), com sistema de espectroscopia (UV) visível.

Cerca de 250 g de amostras foram então inoculadas e fermentadas separadamente, usando 12 Erlenmeyers com capacidade para 500 mL. A colônia de leveduras formada foi inoculada com 3% (v/v) em 50 mL de água pura deionizada (H<sub>2</sub>O). Em seguida, as amostras foram mantidas armazenadas em condições anaeróbicas em ambiente com clima regulado (30 °C) durante o período de 8 h, após isto, as análises utilizando HPLC foram realizadas.

As análises foram realizadas em um HPLC (Merck-Hitachi D-7000), com índice de refração (IR) e coluna de detecção (Transgenomic ICE ION-300). Estas análises foram realizadas no Laboratório de Química (UNIVILLE). Água ultra-pura foi utilizada para diluir a concentração dos ácidos do licor hidrolisado e o eluente utilizado (fase móvel) foi 8,5 mM de ácido sulfúrico (eluente isocrático).

Dados técnicos utilizados neste trabalho foram: método de aquisição (ácido láctico íon-300); tipo de coluna (RP18); Bomba A (Tipo: L-7100); Solvente A: (HAc 1%); Solvente B: (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 8,5 mm) , Solvente C: (metanol); D Solvente: (CAN); Método Descrição: (determinação ácido láctico usando coluna Transgenomic de ice-ion 300); Tipo de Cromatografia: (HPLC Canal: 2); Quantificação Peak: (AREA), Método de cálculo : (EXT-STD). Parâmetros adicionais utilizados na análise de HPLC foram às seguintes: as amostras foram injetadas utilizando um amostrador automático e o volume de injeção foi de 0,5 uL/min. A temperatura da coluna foi mantida a 30 °C.

A técnica de troca de prótons foi utilizada para o mapeamento dos compostos: etanol, glicerol, ácido láctico, ácido acético, glucose e frutose. Então, 100 mL's do licor hidrolisado das doze amostras foram armazenadas a 4 °C durante 30 min, até que se precedeu a análise por HPLC. Antes de proceder estas análises, as amostras foram diluídas (1:1) utilizando água ultra-pura e, em seguida, filtradas utilizando um filtro de membrana Millipore 0,45 uM (VWR Scientific, Suwanee, GA, EUA) e transferidas para um frasco amostrador automático específico para cromatografia.

As curvas de calibração utilizadas foram: séries: 4663 para glicerol, e 4731 para os outros compostos. A Figura 1. demonstra a calibração para o composto etanol, recordando que as equações das retas de calibração do equipamento seguem a Equação 1.

$$\text{(Equação 1.)} \quad y = (1 / a). x$$

Legenda: y = a área de superfície; x = a concentração padrão, e a = coeficiente angular.

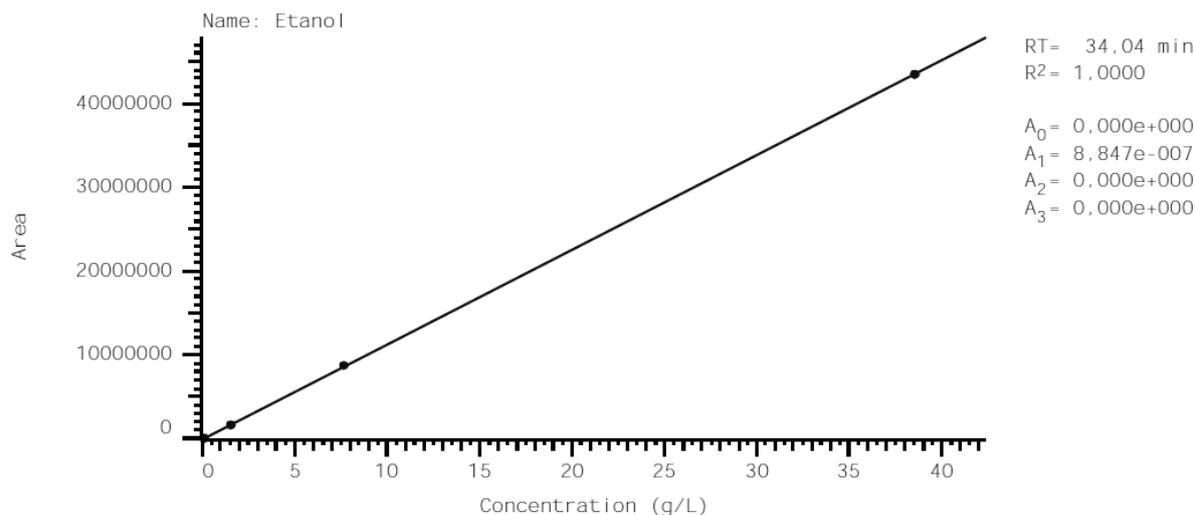


Figura 1. Calibração do HPLC para o composto etanol.

Recordando que onde a linha passa através da origem, o coeficiente linear (b) na equação da reta é igual a zero. A Tabela 2. demonstra os tempos de retenção (RT) para os compostos mapeados e o eluente isocrático utilizado.

Tabela 2. Tempos de retenção (RT) e identificação dos compostos

Identificação dos compostos	Eluente (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) isocrático	
	Tempo de Retenção (RT) (min)	Fase móvel (mM)
Glucose	14.93	8.0
Frutose	16.12	8.0
Ácido Lático	20.74	8.0
Glicerol	21.70	8.0
Acido acético	24.00	8.0
Etanol	34.04	8.0

Fonte: Autores.

Os resultados demonstram os compostos liberados no licor hidrolisado após o período de fermentação de 8 horas, e são dados em g/L/h. As curvas de análise estão demonstradas na Figura 2., e Figura 3. E quantificados na Tabela 3. e na Tabela 4. A Figura 4. mostra a dispersão dos compostos no licor hidrolisado.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tempos de retenção dos compostos foram automaticamente gerados pelo HPLC com precisão e sensibilidade dentro de uma escala de intensidade entre 0-150 gama de mV. Todos (RT) estão em minutos (min). Um tempo total de 40 min. foi necessário para avaliar os compostos utilizando injeção de fluxo de 0,5 mL/min, o qual foi mantido igual até o fim das análises. Além disso, todos os compostos permaneceram dentro dos intervalos iniciais de calibração.

Separações de espectros nas curvas dentre os compostos foram satisfatórios, e estes apareceram em picos específicos e com boa resolução. A literatura especializada publicada recentemente indica alguns esforços que resultaram em boas contribuições às técnicas de cromatografia (CHEN et al., 2009; 2010;. MATÍAS et al., 2011).

A separação entre os compostos no hidrolisado utilizando a coluna (ICE-ION) testada, a técnica de troca de prótons, ácido sulfúrico (8 mM) como eluente isocrático (fase móvel) e água ultra-pura (1:1) foram eficientes e tornou possível identificar todos os compostos padrão desejados simultaneamente.

Boa conversão de celulose em etanol foi obtida através da hidrólise nítrica, com consumo de glucose positivo pela levedura durante o ensaio de fermentação. Além disso, a levedura demonstrou boa capacidade de produção de combustível em ambiente com pH 4,0.

Neste trabalho, os níveis de frutose aparecem em faixas dentre os intervalos de: 0,034 g/L utilizando *Cedrela fissilis Vell.* e 0,198 g/L utilizando *Nectandra lanceolata*.

A produção de ácido lático foi mapeada na faixa de: 0,053 g/L utilizando *Cedrelinga catenaeformis* e 1,898 g/L utilizando *Pinus elliotti*. O ácido acético foi identificado em: *Laurus nobilis* 1,522 g/L e em *Myroxylon peruiferum* com 1,623 g/L. A presença deste composto pode afetar a produção de etanol, porque contribui para criar um ambiente tóxico para a levedura (Costa et al., 2008).

Produções microbianas de ácido acético e lático foram encontradas em diversas usinas brasileiras de produção de etanol utilizando da cana de açúcar, nas faixas entre: 6,84 mol/L e 3,48 mol/L, o que pode representar grandes diminuições se grandes quantidades de etanol celulósico forem produzidas devido à contaminação (Moreira et al, 2008;. Costa et al, 2008). Neste trabalho, utilizando os parâmetros controlados, não se verificou este problema.

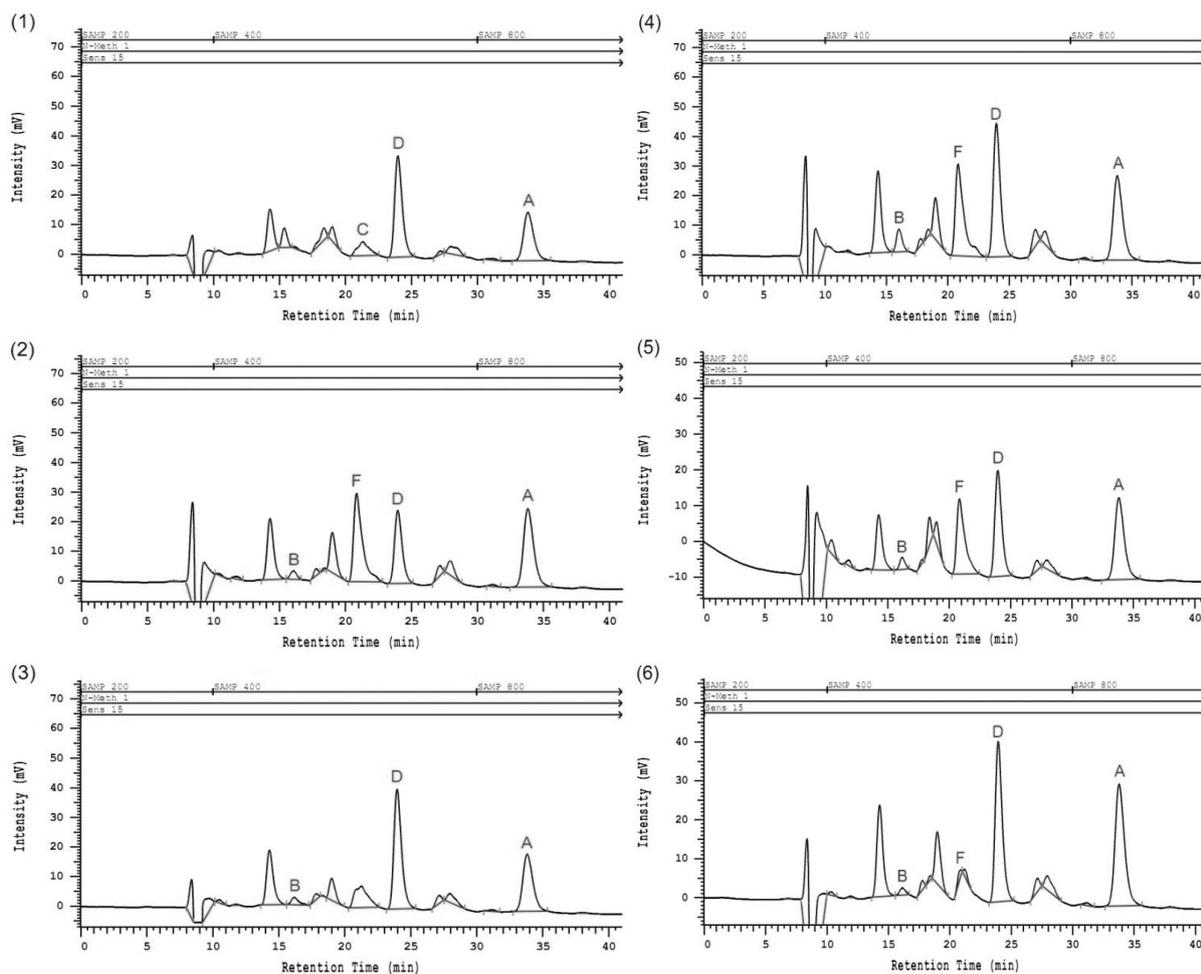


Figura 2. Curvas HPLC dos compostos analisados.

Figura. 2. Legenda: (1) *petraeum Hymenolobium*. (2) *Myroxyton peruiferum* (3) *Tabebuia cassinoides*, (4) *Nectandra lanceolata* (5) *catharinensis Ocotea* (6) *catenaeformis Cedrelinga*. Os compostos de identificação: (A) etanol (B) Frutose Glicerol (C) (D) de ácido acético (E) Glicose (F) do ácido láctico. Transgenomic coluna, (ICE-ION 300); taxa de injeção de fluxo, 0,5 uL/min; fase móvel, 8,0 mM (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) eluente.

Utilizando a técnica de produção robusta de etanol celulósico (SPORL), pinheiro (lodgepole) como biomassa, e uma cepa adaptada de *S. cerevisiae*, pesquisadores relataram que foi possível produzir etanol nas faixas entre: 0,81 g/L/h, e 2,0 g/L/h, ao longo de 4 e 24 horas de fermentação, em uma execução sem detoxificação para a levedura (TIAN et al., 2010). Neste trabalho, *S. cerevisiae* produziu etanol nas faixas entre: 3,00 g/L/h, e 0,76 g/L/h após a fermentação durante 8 h.

Tabela 3. Resultados quantitativos dos compostos mapeados no licor nítrico hidrolisado

Espécies	A - Etanol		B - Frutose		C - Glicerol		D - Ácido acético		E - Glucose		F - Ácido láctico	
	(min) <sup>a</sup>	g/L/h <sup>b</sup>	(min) <sup>a</sup>	(g/L/h) <sup>b</sup>								
1 <i>Hymenolobium petraeum</i>	33.81	1.56	*n.d	*n.d	21.29	0.26	22.97	*n.d	*n.d	*n.d	*n.d	*n.d
2 <i>Myroxyton peruiferum</i>	33.81	2.55	16.04	0.07	*n.d	*n.d	23.96	1.62	*n.d	*n.d	20.84	*n.d
3 <i>Tabebuia cassinoides</i>	33.81	1.81	16.16	0.07	*n.d	*n.d	23.96	*n.d	*n.d	*n.d	*n.d	*n.d
4 <i>Nectandra lanceolata</i>	33.79	2.71	16.01	0.19	*n.d	*n.d	23.95	*n.d	*n.d	*n.d	20.83	1.77
5 <i>Ochotea catharinensis</i>	33.80	2.18	16.16	0.07	*n.d	*n.d	23.95	*n.d	*n.d	*n.d	20.83	1.13
6 <i>Cedrelinga catenaeformis</i>	33.77	2.99	16.12	0.04	*n.d	*n.d	23.93	*n.d	*n.d	*n.d	20.85	0.05

<sup>a</sup>(min): Tempo de Retenção (TR)

<sup>b</sup>(g/L/h): concentração

\*n.d: não detectado

Usando aparas de madeira de abeto; cepas mais viáveis foram capazes de consumir quase 2,0 g de glucose por grama inicial de biomassa durante o período de 8 h (BRANDBERG et al, 2004.). Neste trabalho, um resultado semelhante foi obtido, cerca de 1,8 g de 2,5 g de glucose.

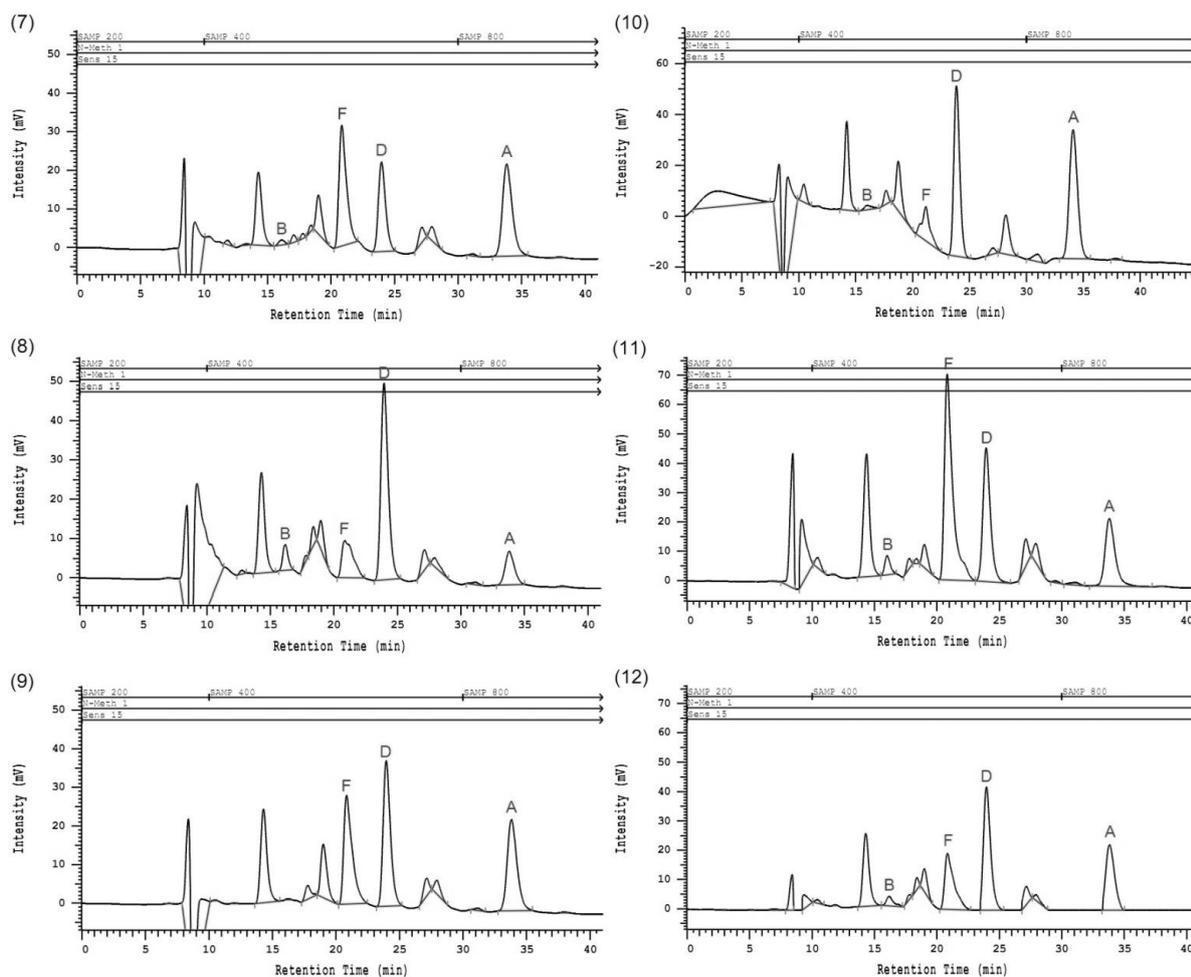


Figura 3. Curvas HPLC dos compostos analisados.

Figura. 3. Legenda: (7) *Cedrela fissilis* Vell. cromatograma. (8) *Ocotea porosa* cromatograma (9) *Laurus nobilis*, (10) *Balfourodendron riedelianum* (11) *Pinus elliotti* (12) *Brosimum* spp. Os compostos de identificação: (A) etanol, (B) frutose, (C) de glicerol, (D) Ácido acético, (E) Glicose e (F) do ácido láctico. Transgenomic coluna, (ICE-ION 300); taxa de injeção de fluxo, 0,5 uL / min; fase móvel, 8,0 mM (H2SO4) eluente.

Tabela 4. Os resultados quantitativos dos compostos mapeados no licor nítrico hidrolisado

Espécies	A - Etanol		B - Frutose		C - Glicerol		D – Ácido acético		E - Glucose		F – Ácido láctico	
	(min) <sup>a</sup>	g/L/h <sup>b</sup>										
7 <i>Cedrela fissilis</i> Vell	33.81	2.25	16.11	0.03	*n.d	*n.d	23.97	*n.d	*n.d	*n.d	20.84	1.50
8 <i>Ocotea porosa</i>	33.80	0.76	16.16	0.15	*n.d	*n.d	23.94	*n.d	*n.d	*n.d	20.84	0.69
9 <i>Laurus nobilis</i>	33.80	2.22	*n.d	*n.d	*n.d	*n.d	20.83	1.52	*n.d	*n.d	23.95	*n.d
10 <i>Balfourodendron riedelianum</i>	34.09	2.27	16.00	0.06	*n.d	*n.d	23.84	*n.d	*n.d	*n.d	21.15	0.77
11 <i>Pinus Elliotti</i>	33.80	2.30	16.01	0.15	*n.d	*n.d	23.94	*n.d	*n.d	*n.d	20.82	3.79
12 <i>Brosimum</i>	33.81	1.91	16.16	0.09	*n.d	*n.d	23.97	*n.d	*n.d	*n.d	20.85	1.16

<sup>a</sup>(min): Retention Times (RT)

<sup>b</sup>(g/L/h): concentration

\*n.d: not detect

Além do etanol, o glicerol pode ser considerado como o componente mais importante no ponto de vista quantitativo. No entanto, o glicerol reduz o efeito positivo de nutrientes no hidrolisado, o que resulta em menores rendimentos (TENGBORG et al., 2001). Num processo de biomassa para etanol de segunda geração, uma redução na conversão de celulose, bem como uma acumulação de glicerol foi observada com aumento deste na recirculação decorrente do processo. Neste trabalho, as concentrações de glicerol foram identificadas apenas utilizando o espécime *Hymenolobium petraeum* com 0,264 g/L/h.

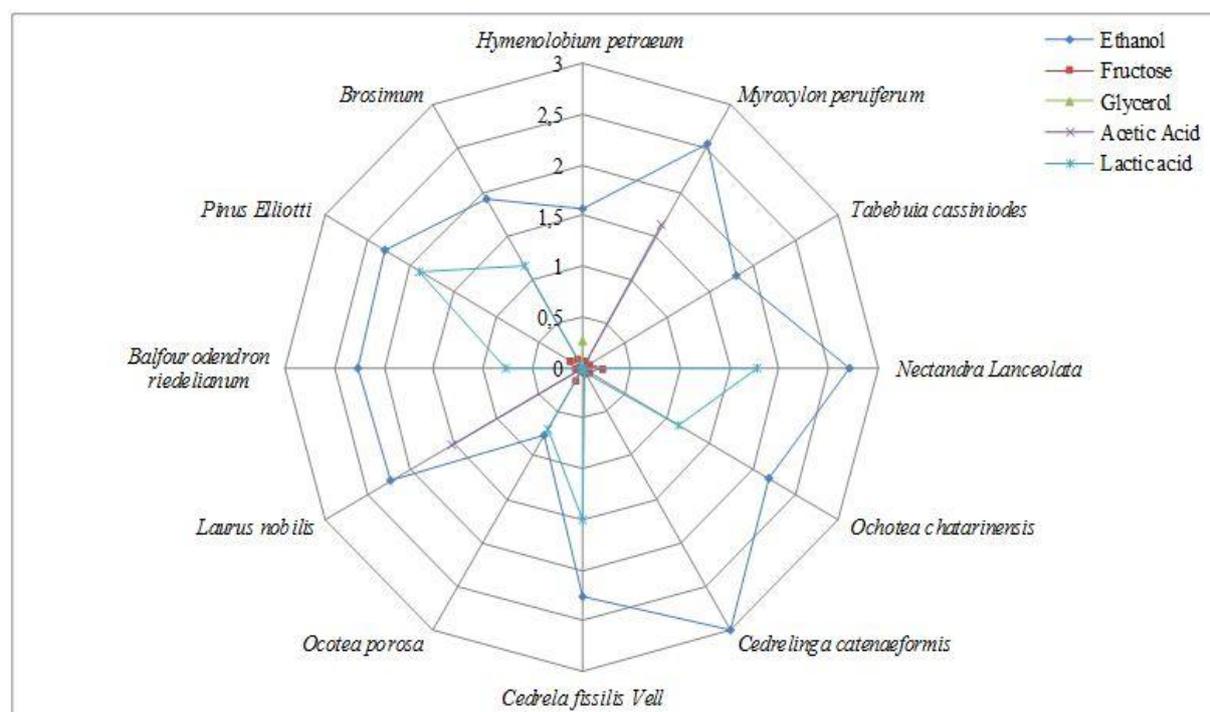


Figura 4. Mapeamento da dispersão dos compostos padrão no licor hidrolisado por amostra.

Neste trabalho, o etanol produzido permaneceu dentro das seguintes faixas: *Cedrelinga catenaeformis* 3,00 g/L/h, seguido por *Nectandra lanceolata* 2,71 g/L/h; *Myroxylyon peruíferum* 2,55 g/L/h; *Balfourodendron riedelianum* 2,27 g/L/h; *Pinus elliotti* 2,30 g/L/h; *Cedrelinga fissilis Vell.* 2,25 g/L/h; *Laurus nobilis* 2,22 g/L/h; *Ocotea catharinensis* 2,18 g/L/h; *Brosimum* spp. 1,91 g/L/h; *Tabebuia cassiniodes* 1,81 g/L/h; *Hymenolobium petraeum* 1,56 g/L/h, e *Ocotea porosa* com 0,76 g/L/h.

Atualmente, esses resíduos de madeira são comumente utilizados para a geração de calor, sendo queimados em caldeiras para produzir vapor. No entanto, este trabalho contribui na tentativa de reduzir o gasto/desperdício destas matérias-primas. Focando no aperfeiçoamento do processo de produção de etanol de segunda geração através de hidrólise e monitoramento por HPLC utilizando a técnica de troca de prótons. Contudo, as Softwoods mostraram produção de etanol semelhante às que Hardwoods.

Estudos realizados nas regiões pesquisadas de coleta das amostras indicam que pelo menos 30% de cada m<sup>3</sup> de madeira serrada produzem cavacos, lascas e serragem, nestas regiões de Santa Catarina e do Paraná. Além disso, existem possivelmente mais de 4.153 fábricas de processos/transformação de madeira nesta região, sendo principalmente instaladas indústrias para produção de móveis. Um enorme volume de cavacos, lascas, e serragem de madeira produzido em quantidades quase incalculáveis destas promissoras biomassas, se utilizadas

para fins energéticos.

#### 4. CONCLUSÕES

O método analítico utilizado neste trabalho demonstrou ser útil para monitorar a conversão de etanol utilizando biomassas lignocelulósicas, através do mapeamento de seus compostos presentes no licor fermentado. HPLC empregando a técnica de troca de prótons evidenciou ser uma ferramenta rápida e precisa para análise. As calibrações para todos os compostos alvo foram satisfatórias, apesar de o conteúdo da matriz presente no licor hidrolisado nítrico ser complexa. Além disso, boas separações de espectro com boas resoluções entre as curvas de cromatografia foram obtidas. Todas as espécies analisadas demonstraram semelhante possibilidade de utilização para produção de etanol de segunda geração. Glicose, frutose, ácido acético, ácido láctico, e glicerol foram mapeados como compostos padrão. *Saccharomyces cerevisiae* produziu etanol na gama de 3,00 g/L/h, utilizando *Cedrelinga catenaeformis*, e 0,76 g/L/h utilizando *Ocotea porosa*, respectivamente, após o ensaio de fermentação de 8 h. Todos os resíduos de madeira demonstraram semelhança em rendimentos, demonstrando viabilidade quando usados como biomassa, ao invés de seu habitual uso, sendo queimados em caldeiras para geração de vapor ou simples descarte. Como sugestão para futuros trabalhos, pretende-se investigar a possibilidade de utilizar as frações de lignina resultantes do processo para produção energética, agregando ainda mais eficiência ao processo.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à "Coordenação de Melhorias de Pessoal de Nível Superior" (CAPES, Brasil) e também para o "Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico" (CNPq, Brasil) pelo apoio financeiro.

#### REFERÊNCIAS

- BALAT, M.** *Produção de etanol a partir de materiais lenhocelulósicos, através da via bioquímica: A review.* Conversão de Energia e Gestão 52, 858-87, 2011.
- BRANDBERG, T.; FRANZÉN, C. J; GUSTAFSSON, L.** *O desempenho da fermentação de nove linhagens de Saccharomyces cerevisiae em lote e fed-batch culturas em diluído-hidrolisado ácido madeira.* Jornal de Biociências e Bioengenharia, 122-125, 2004.
- CARRASCO, C.; BAUDEL, H. M; SENDELIUS, J.; MODIG, T.; ROSLANDER, C.; GALBE, M.; HAHN-HAGERDAL, B.; ZACCHI, G., E; LIDEN, G.** *SO<sub>2</sub>-catalisada de pré-tratamento a vapor e fermentação de hidrólise enzimática do bagaço de cana.* Enzyme Microb. Technol. 46, 64-73, 2010.
- CHEN, S. F.; MOWERY, R. A.; CASTLEBERRY, V. A.; VAN WALSUM, G. P.; CHAMBLISS, C. K.** *Alto desempenho do método de cromatografia líquida para a determinação simultânea de ácido alifático, ácido aromático e produtos de degradação neutras em hidrolisados de pré-tratamento da biomassa.* J. Chromatogr. A, 1104:54-61, 2006.
- CHEN, Z.; JIN, X.; WANG, Q., LIN, Y.; GAN, L.** *Confirmação e determinação de açúcares em refrigerantes por IEC com ESI-MS.* Chromatographia 69, 761e4, 2009.
- CHENG, C.; CHEN, C-S.; HSIEH, P-H.** *Em linha de dessalinização e análise hidrato de carbono para a hidrólise enzima imobilizada de resíduos de biomassa celulósica por coluna de comutação cromatografia líquida de alta performance.* Journal of Chromatography A 1217, 2104-2110, 2010.

- COSTA, V. M.; BASSO, T. O.; ANGELONI, L. H. P.; OETTERER, M.; BASSO, L. C.** *Produção de ácido acético, etanol e isômeros ópticos de ácido láctico por estirpes de Lactobacillus isoladas de fermentações álcool industrial.* Ciênc. Agrotec. 32, 503-509, 2008.
- DEMIRBAS, M. F.; BALAT, M.; BALAT, H.** *Contribuição potencial da biomassa para o desenvolvimento de energia sustentável.* Conversão de Energia e Gestão 50, 1746-176, 2009.
- DEMIRBAS, M. F.; BALAT, M.; BALAT, H.** *Biorresíduos-a-biocombustíveis.* Conversão de Energia e Gestão 52, 1815-182, 2011.
- DOHERTY, W. O. S.; MOUSAVIOUN, P.; FELLOWS, C. M.** *Comentário: agregação de valor para o etanol celulósico: polímeros de lignina.* Culturas industriais e produtos 33, 259-276, 2011.
- HARTEMINK, A. E.** *Cana para o etanol: o solo e as questões ambientais.* Adv. Agron. 99, 125-82, 2008.
- KARAGÖZ, S.; BHASKAR, T.; MUTO, A.; SAKATA, Y.** *Efeito do Rb e Cs carbonatos para a produção de fenóis de liquefação de biomassa de madeira.* Combustível 83, 2293, 2004.
- KLINKE H. B.; AHRING B. K.; SCHMIDT A. S.; THOMSEN A. B.** *Caracterização dos produtos de degradação de oxidação húmida alcalina de palha de trigo.* Bioresource Technology 82, 15, 2002.
- LUO, C.; BRINK, D. L.; BLANCH, H. W.** *Identificação de inibidores potenciais em conversão de choupo hidrolisado para o etanol.* Biomassa e Bioenergia 22, 125, 2002.
- MAEDA, R. N.; et al.** *A hidrólise enzimática do bagaço de cana de açúcar pré-tratado usando Penicillium funiculosum e celulases Trichoderma harzianum.* Process Biochem. doi: 10.1016/j.procbio.2011.01.022, 2011.
- MATÍAS, J. et al.,** *Análise de açúcares por espectrometria de cromatografia de massa de líquido no topinambos para otimização de produção de etanol, biomassa e bioenergia.* doi: 10.1016/j.biombioe.2011.01.056, 2011.
- MOREIRA, A. L.; ALMEIDA, W. S.; SCABBIA, R. J. A.; TEIXEIRA, R. R. P.** *Dosagem de Ácido láctico nd Produção de etanol da cana uma Partir-de-Açúcar.* Biológico 70, 35-42, 2008.
- PERSSON, P.; ANDERSSON, J.; GORTON, L.; LARSSON, S.; NILVEBRANT, N., JÖNSSON, L. J.** *Efeito de diferentes formas de tratamento alcalino com inibidores de fermentação específicos e sobre a fermentabilidade de lignocelulose hidrolisados para a produção de etanol de combustível.* J. Agric. Food Chemistry 50, 5318, 2002.
- TENGBORG, C.; GALBE, M.; ZACCHI, G.** *Inibição reduzida de hidrólise enzimática de vapor pré-tratados de madeira macia.* Enzymatic Microbian and Tecnology 28, 835-844, 2001.
- TIAN, S.; LUO, X. L.; YANG, X. S.; ZHU, J. Y.** *Produção de etanol celulósico a partir de Robust SPORL pré-tratamento de pinho lodgepole usando um adaptado cepa Saccharomyces cerevisiae sem desintoxicação.* Bioresource Tecnology 101, 8678-8685, 2010.
- VASQUEZ, M. P.; SILVA, J. N. C.; SOUZA, JR., M. B.; PEREIRA, JR., N.** *Otimização hidrólise enzimática para a produção de etanol por sacarificação simultânea e de fermentação.* Appl. Biochem. Biotechnol. 137-140, 141-54, 2007.
- WEN, F.; SUN, J.; ZHAO, H.** *Visor de levedura superfície de minicellulosomes trifuncionais para a sacarificação simultânea e fermentação de celulose em etanol.* Appl. Environ. Microbiology 76, 1251-1260, 2010.
- XIE, R.; TU, M.; WU, Y.; ADHIKARI, S.** *Melhoria na HPLC separação do ácido acético e ácido levulínico no perfil de hidrolisado de biomassa.* Bioresource Tecnology 102, 4938-4942, 2011.

**ZHANG, J.; DENG, H.; LIN, L.; SUN, Y.; LIU, C. P. S.** *Isolamento e caracterização de trigo lignina palha com um processo de ácido fórmico.* Bioresource Technology 101, 2311-2316, 2010.

**ZHU, J. Y.; PAN, X. J.** *Pré-tratamento da biomassa lenhosa para produção de etanol celulósico: tecnologia e avaliação do consumo de energia.* Bioresource Technology 101, 4992-5002, 2010.