



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS DE PALMAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

LORENA NASCIMENTO BARBOSA

**OTIMIZANDO O PROCESSO DE EXTRAÇÃO E HIDRÓLISE
ÁCIDA PARA BIOMASSAS DA AMAZÔNIA E DO CERRADO**

PALMAS/TO
2021

LORENA NASCIMENTO BARBOSA

**OTIMIZANDO O PROCESSO DE EXTRAÇÃO E HIDRÓLISE
ÁCIDA PARA BIOMASSAS DA AMAZÔNIA E CERRADO**

Artigo foi avaliado e apresentado à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Campus Universitário de Palmas, Curso de Engenharia Ambiental para obtenção do título de Bacharel e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Magale Karine Diel Rambo

**PALMAS/TO
2021**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

N244o Nascimento Barbosa, Lorena.
Otimizando o processo de extração e hidrólise ácida para biomassas da
Amazônia e Cerrado . / Lorena Nascimento Barbosa. – Palmas, TO, 2021.
42 f.

Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus
Universitário de Palmas - Curso de Engenharia Ambiental, 2021.

Orientadora : Magale Karine Diel Rambo

1. NREL. 2. Babaçu. 3. Castanha-do-Pará. 4. Coco verde. I. Título

CDD 628

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer
forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte.
A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184
do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

FOLHA DE APROVAÇÃO

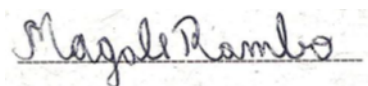
LORENA NASCIMENTO BARBOSA

OTIMIZANDO O PROCESSO DE EXTRAÇÃO E HIDRÓLISE ÁCIDA PARA BIOMASSAS DA AMAZÔNIA E CERRADO

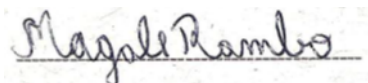
Artigo foi avaliado e apresentado à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Campus Universitário de Palmas, Curso de Engenharia Ambiental para obtenção do título de Bacharel e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 30/07/2021

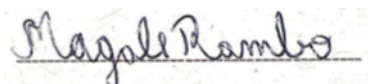
Banca Examinadora



Prof.^a Dr.^a Magale Karine Diel Rambo
Orientadora – UFT



Prof.^a Dr.^a Adriana Malvásio
Professora convidada - UFT



Prof.^a Dr.^a Gláucia Eliza Gama Vieira
Professora convidada - UFT

À minha mãe, Rejane, que jamais mediu esforços para lutar por minha educação.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, força e amor.

A minha mãe, Rejane, e minha irmã, Lorryne, que tornaram meu sonho possível. Vocês são as pessoas mais importantes da minha vida!

A Prof.^a Dr.^a. Magale Karine Diel Rambo que foi essencial na minha trajetória acadêmica; obrigada pela confiança, empenho e orientação.

As professoras, Adriana Malvásio e Gláucia Eliza Gama Vieira, pela participação na banca examinadora e valiosas sugestões.

Aos colegas adquiridos no Laboratório Multiusuário de Tecnologia de Análises Químicas e Físicas do Solo, Água e Ar, por todo auxílio e conhecimento repassado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), pela bolsa concedida.

A todos, e por tudo, obrigada!

RESUMO

O efeito da variável reacional (tempo) de reação no processo de extração e de hidrólises foi investigado. Os dados obtidos demonstraram que as metodologias do Laboratório Nacional de Energia Renovável (NREL) devem ser adequadas para cada tipo de biomassa e para cada realidade regional. Para os teores de açúcares totais nas biomassas de coco verde, babaçu e ouriço da castanha, os maiores rendimentos foram encontrados em condições diferentes das propostas pelo NREL. Já para o teor de lignina total, os maiores rendimentos obtidos foram os propostos pelo método NREL para todas as biomassas. No teor de extrativos para coco e babaçu, o uso de maior tempo de extração proporcionou uma maior remoção. Já para as frações da castanha, menores tempos levaram a maiores rendimentos. Importante notar que, com os resultados otimizados, estas biomassas podem ser empregadas na produção de bioprodutos de alto valor agregado com maiores rendimentos.

Palavras-chaves: NREL. Babaçu. Castanha-do-Pará. Coco verde.

ABSTRACT

We investigated the effect of the reaction variable (time) on the extraction and hydrolysis process. The data showed that the methodologies of the National Renewable Energy Laboratory (NREL) must be adequate for each type of biomass and each regional reality. For the contents of total sugars in the biomass of green coconut, babassu and Brazil nut shell epicarp, the highest yields were found under different conditions from those proposed by NREL. In the total lignin content, the highest yields obtained were those proposed by the NREL method for all biomasses. In the content of extracts for coconut and babassu, the use of longer extraction time provided greater removal. For the chestnut fractions, shorter times led to higher yields. It is important to note that, with the optimized results, these biomasses can be used in the production of high value-added bioproducts with higher yields.

Key-words: NREL. Babassu. Brazil nut. Green coconut.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura do Coco verde.....	17
Figura 2 - Estrutura do babaçu.....	18
Figura 3 - Estrutura da castanha do brasil.....	19
Figura 4 - Principais componentes da biomassa lignocelulósica.....	20
Figura 5 - Conteúdo de glicose, ART, celulose.....	28
Figura 6 - Conteúdo lignina solúvel, insolúvel e total.....	29
Figura 7 - Difractogramas de raio-X.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultado da literatura para rendimentos de extrativos.....	22
Tabela 2 – Resultado dos rendimentos de celulose, hemicelulose, glicose e lignina.....	23
Tabela 3 – Análise aproximada das biomassas.....	27
Tabela 4 – Rendimento em extrativos em diferentes tempos.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIA	Cinza ácida insolúvel (do inglês, Acid Insoluble Ash)
AIR	Resíduo ácido insolúvel (do inglês Acid Insoluble Residue)
ASL	Lignina ácida solúvel (do inglês, Acid soluble lignin)
ART	Açúcar Redutor Total
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
KL	Lignina de Klason
NREL	Laboratório Nacional de Energia Renovável

LISTA DE SÍMBOLOS

β	Beta
g	Gramas
nm	Nanômetro
m	Metros
mL	Militros
μm	Micrometro
mg	Microgramas
%	Porcentagem
kg	Quilograma

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	OBJETIVOS.....	15
1.1.1	Objetivo Geral.....	15
1.1.2	Objetivos Específicos.....	15
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1	Coco verde.....	16
2.2	Babaçu.....	17
2.3	Castanha-do-brasil	18
2.4	Biomassa lignocelulosica.....	19
2.4.1	Celulose.....	20
2.4.2	Hemicelulose.....	20
2.4.3	Lignina	21
2.5	Extrativos.....	21
2.6	Hidrólise ácida	22
4	METODOLOGIA.....	24
4.1	Matéria prima.....	24
4.2	Pré-tratamento das biomassas	24
4.3	Extração de Soxhlet	24
4.4	Hidrólise ácida	24
4.5	Espectroscopia UV.....	25
4.6	Teor de carboidratos	25
4.7	Análise de Celulose, Hemicelulose e Lignina	26
4.8	Difração de raios X.....	26
5	RESULTADOS E ANÁLISES.....	27
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	31
7	REFERÊNCIAS.....	32
	APÊNDICE A – Artigo	37

1 INTRODUÇÃO

A sociedade atual emergida em um século coberto de tecnologia faz com que a demanda por energia seja cada vez maior. A exaustão contundente de combustíveis fósseis e emissões de gases de efeito estufa impulsiona o emprego de fontes de energia renováveis, sustentáveis e de baixo custo (SANTIAGO; RODRIGUES, 2017).

A Amazônia possui 5 milhões de quilômetros quadrados, o bioma mais amplo do país, ocupando cerca de metade do nosso território. A riqueza da Amazônia vem sendo atacada e diminuída ao longo dos anos devido a crescente exploração para agricultura e a ocorrência de incêndios florestais. Esse abuso acaba por dissipar várias espécies animais e vegetais, gerando uma ameaça futura a um sumiço da fauna e da flora da região (EMBRAPA, 2006).

Já o cerrado, segundo maior bioma do país, é tipificado por vegetações de um estrato arbóreo e outro arbustivo, com gramíneas e árvores de porte médio e tortuosas. A exploração ambiental através da mão de obra humana e o uso da terra para a agricultura e pecuária fazem com que o cerrado venha decrescendo cada vez mais, e conseqüentemente o interesse sobre o estudo da sua biomassa e estratégias para a sua conservação vem aumentando (CALDAS, 2011). Dentre essas matérias-primas da Amazônia e do Cerrado, destacam-se as cascas de coco verde, ouriço da castanha-do-brasil, caroço de açaí, cascas de babaçu (DIAS et al., 2012).

O coco verde é uma fruta tropical e o seu mercado é ligado a estações do ano, ou seja, a sua comercialização varia de acordo com a época, se destacando principalmente no verão (MARTINS; JESUS, 2014). É possível a utilização do seu subproduto, a casca do coco verde, que é uma variante do consumo da água de coco (ROCHA et al., 2015). Apesar do largo aproveitamento desse resíduo na teoria, na prática pouco se usa pelas indústrias, devido a sua maioria ser rejeitada, sendo apenas 10% utilizado (SNA, 2014).

A castanha do Brasil é uma vegetação típica da Amazônia, portada por um fruto com polpa branca oleaginosa coberta de uma casca rígida e compacta, ela pesa em média 2,4 kg e cada ouriço reúne em média 25 castanhas, o que perfaz 1/3 do seu peso bruto (OLIVEIRA; LOBO, 2002). O uso ocorre somente com a castanha, enquanto que o seu resíduo não é aproveitado se tornando mais lixo para o meio ambiente.

O coco do babaçu é um fruto e advém da palmeira *Orbignya* spp, nativo da América do Sul. Ele cumpre uma função social e econômica bastante significativa para mais de 300.000 famílias extrativistas que possuem como praticamente única fonte de renda o trabalho de quebra manual do coco e extração de seu fruto (GOMES, 2008).

Entre os principais componentes da biomassa lignocelulósica estão a celulose, hemicelulose e lignina, sendo que um dos principais processos de conversão destes constituintes em açúcares e bioprodutos, denomina-se hidrólise (BRIDGWATER; MEIER; RADLEIN, 1999). O processo de extração também auxilia no aproveitamento, pois com altos rendimentos de extraíveis, é possível otimizar a hidrólise, removendo possíveis interferentes de acordo com o solvente utilizado.

Ambos procedimentos, hidrólise e extração fundamentam-se em metodologias determinadas pelo Laboratório Nacional de Energias Renováveis, aplicados basicamente para biomassas padrão (NREL/TP-510-42618 NREL/TP-510-42619).

O presente trabalho, visa otimizar as condições nos processos de extração e hidrólise a fim de maximizar o rendimento em biomassas brasileiras do Cerrado e da Amazônia, uma vez que as condições apontadas pelo NREL não foram satisfatórias.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Otimizar as condições para maximizar o rendimento nos processos de extração e hidrólise de biomassas brasileiras do Cerrado e da Amazônia, e assim contribuir paralelamente, com o problema de disposição final destes passivos ambientais.

1.1.2 Objetivos Específicos

1. Realizar análise aproximada das biomassas lignocelulósicas;
2. Otimizar o processo de extração variando o tempo reacional;
3. Otimizar o processo de hidrólise primária e secundária;
4. Avaliar os teores de celulose, lignina e açúcares totais após as diferentes condições de extração/hidrólise;
5. Avaliar o impacto dos diferentes tratamentos de extração/hidrólise na cristalinidade das biomassas.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Coco verde

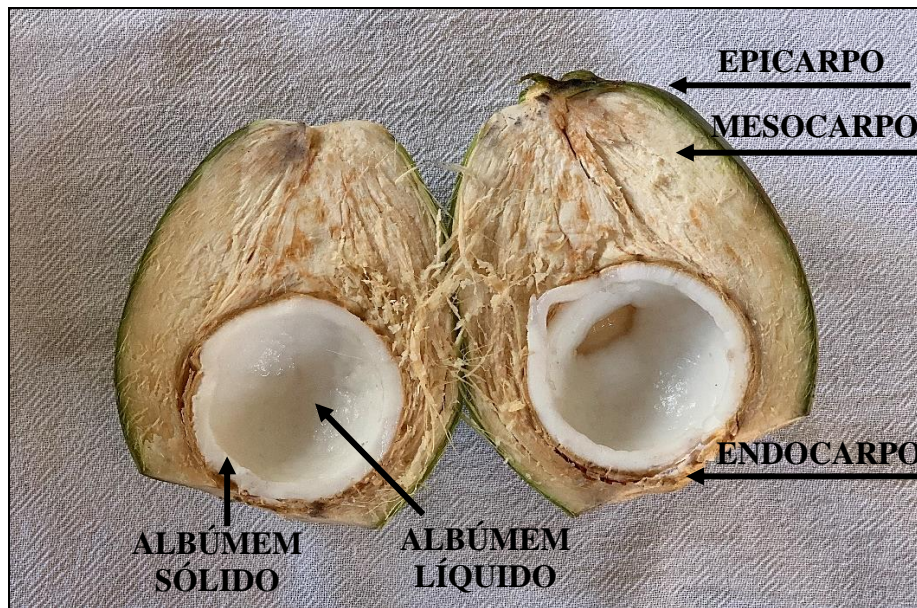
Presente em toda a região intertropical e em mais de 80 países, o coqueiro (*Cocos nucifera L*) adentrou no Brasil através dos portugueses. A cultura do coco se expandiu tornando o país uma das primeiras posições no ranking mundial de produção de coco devido a variedade de produtos a serem explorados. Esta espécie continua a ter centenas de usos como fonte de alimento, bebida, fibra, material de construção, carvão vegetal e óleo (usado na culinária, produtos farmacêuticos, aplicações industriais e biocombustíveis); mais de 12 milhões de hectares de coco são plantados atualmente em 89 países tropicais (EMBRAPA, 2004).

A larga escala de produção de coco, principalmente nas grandes cidades contribuiu para a situação de exaustão nos aterros sanitários, lixões a céu aberto, vazadouros, encostas, vez que grande parte da casca do coco verde são utilizadas pelas indústrias, e o restante é descartado (ROSA, 1998). Do seu descarte e futura decomposição a média é de 8 anos, o que acarreta um problema ao ecossistema, são vetores de doença e notável fonte de poluição (CARRIJO et al., 2002).

Conforme Cabral et al. (2015), o fruto pode ser estruturado da seguinte forma (Figura 1):

- Pericarpo: parte do fruto que envolve a semente, constituída pelo epicarpo, mesocarpo e epicarpo, conhecido popularmente de casca do coco;
- Epicarpo: camada externa do pericarpo;
- Mesocarpo fibroso (parte mais desenvolvida do coco);
- Endocarpo (casca dura em torno da semente): camada mais interna do pericarpo;
- Semente ou amêndoa: toda a estrutura que serve para reproduzir o fruto;
- Albúmen (endosperma): tecido contendo substâncias nutritivas na semente. O albúmen líquido é a água de coco, enquanto que o albúmen sólido é a polpa.

Figura 1 - Estrutura coco verde.



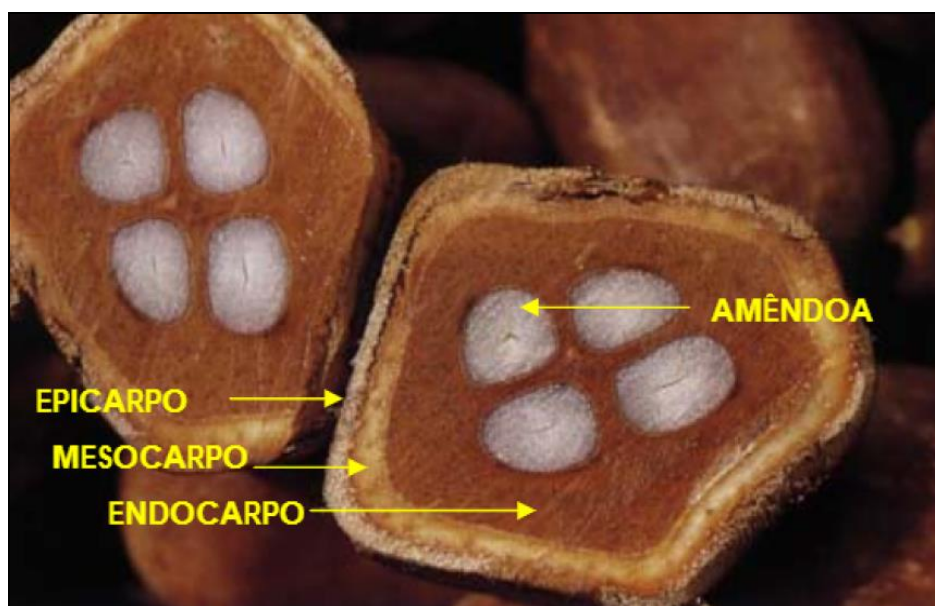
Fonte: Compilação do autor.

2.2 Babaçu

Babaçu é o nome genérico dado às palmeiras oleaginosas pertencentes à família *Arecaceae* ou *Palmae*. Fruta nativa do Brasil, principalmente das regiões Norte e Nordeste e Centro-Oeste, é considerado o maior recurso oleífero nativo do mundo e um dos principais produtos extrativos do país (LIMA et al. 2006).

Segundo, Silva (2008), os frutos do Babaçu podem aglomerar-se em mais de seis cachos sustentados por um único pedúnculo medindo entre 70 e 90 centímetros. Cada cacho possui de 240 a 720 frutos, com um formato elipsoidal (ovais alongados), lenhoso e de polpa fibroso-farinácea.

A biomassa do babaçu possui capacidade em produzir uma ampla gama de produtos como por exemplo, combustível (RANUCCI, et al. 2018) a partir dos seus componentes orgânicos lignocelulósicos, amiláceos e oleaginosos. O mesocarpo para produção de álcool e o endocarpo (casca do coco) fornece carvão de excelente qualidade bastante utilizado pela comunidade local e por várias outras regiões do país. A casca além do carvão ainda auxilia como repelente de insetos (CARVALHO, 2007).

Figura 2 - Estrutura do Babaçu

Fonte: Santos; Pastore, (2003).

2.3 Castanha-do-brasil

A castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* HBK), pertence à família *Lecythidaceae*, é uma árvore nativa da Floresta Amazônica, onde possui grande importância econômica na região. São árvores de grande porte e pode atingir mais de 60 m de altura e a base do tronco pode alcançar mais de 4 m de diâmetro (MÜLLER et al., 1995a; SANTOS et al., 2006).

O fruto da castanheira é identificado como pixídio imperfeito, conhecidos por ouriço. Tendo em si um formato esférico levemente globoso-deprimido de 0,08 a 0,16 m de diâmetro e com peso entre 0,5 kg e 1,5 kg. O mesocarpo dispõe de acentuada rigidez composto de celular pétreas, lenhoso, de cor castanha, contendo de 12 a 25 sementes, mais ou menos triangulares, com polpa branco-amarelada. (BENTES, 2007; SERRANO, 2005).

O seu principal produto são as amêndoas, no entanto, existem subprodutos que podem ser consumidos, como óleos, farelo ou torta, leite de Castanha e ouriço, como também a utilização da sua madeira para aplicação no reflorestamento e por fim suas sementes comestíveis. (COLLARES, 2006).

Figura 3 - Estrutura da castanha do brasil.

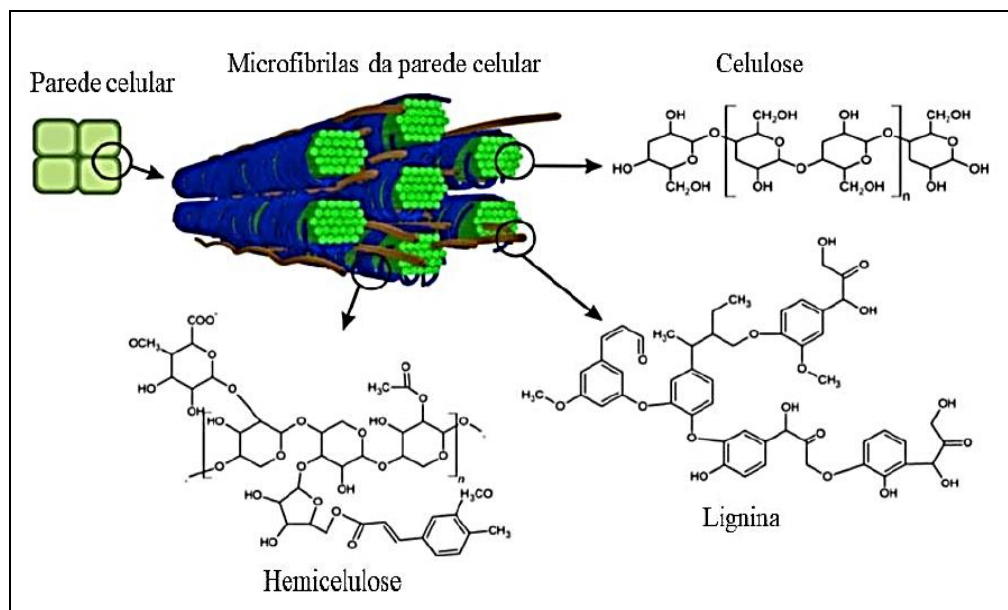


Fonte: Modificado de Folha de São Paulo (2020).

2.4 Biomassa lignocelulósica

A biomassa lignocelulósica é constituída principalmente por Celulose, Hemicelulose e Lignina (Figura 4). Destacam-se como matérias-primas para a produção de biocombustíveis, haja vista, o seu custo relativamente baixo, abundância e abastecimento sustentável. Esta biomassa inclui diversos resíduos agrícolas como palha de milho, espigas de milho, arroz e palha de trigo, bem como bagaço de cana-de-açúcar. Também podem ser usados como matérias-primas os resíduos florestais, obtidos no processo de madeira, resíduos industriais e resíduos de arborização urbana (RAUD et al., 2019; ACHINAS et.al., 2016; RAUD et al., 2017).

Figura 4. Principais componentes da biomassa lignocelulósica.



Fonte: RAUD et al, 2019.

2.4.1 Celulose

A celulose, é composto mais abundante da biomassa lignocelulósica. Trata-se de um polissacarídeo que equivale em uma cadeia linear de D-glicose monômeros, ligados entre si por ligações β-(1,4)-glicosídicas (MOSIER et al., 2005). Situa-se, este polímero, na forma de fibras formado por microfibrilas, organizadas paralelamente e relacionadas por ligação de hidrogênio, que conferem rigidez a estrutura, e são encarregadas por organizar as fibrilas, estruturas altamente ordenadas que formam as fibras de celulose (FENGEL; WEGENER, 1989).

2.4.2 Hemicelulose

A hemicelulose em oposição a celulose, não é quimicamente homogênea (AGBOR et al., 2011) e ocupa o segundo lugar de polímero mais abundante. De acordo com (MOSIER et al., 2005) as hemiceluloses conectam-se às microfibrilas de celulose através de ligações de hidrogênio por cobrindo-os, de modo que, causa uma rede que fornece a estrutura espinha dorsal para a parede celular da planta.

2.4.3 Lignina

Por sua vez, a lignina, é o principal componente da parede celular das plantas, após a celulose (DUTRA et al., 2019). Considerada um heteropolímero amorfo, altamente complexas, do qual o polímero é formado essencialmente por unidades aromáticas de fenilpropano, que é considerada uma substância incrustante (ROWELL et al., 2005). Atua trazendo rigidez e dureza aos tecidos, exemplificado através de árvores que podem possuir mais de cem metros, apesar disso mantem em pé (GÓMEZ, 2010).

2.5 Extrativos

Extrativos tratam-se de elementos químicos encontrados na madeira, em menor quantidade e podem ser retirados através de solventes como o diclorometano, etanol e acetona (SJOSTROM, 1993).

Configurando cerca de 2-25% da biomassa lignocelulósica, os extrativos constituem-se em gorduras, gomas, alcaloides, resinas, açúcares simples, composto aromáticos, óleos essenciais e outros constituintes citoplasmáticos (RAMBO, 2013).

Esses compostos são responsáveis pelas diversas características das plantas, tais como cor, cheiro, sabor, resistência ao apodrecimento e outros. Sua quantidade e composição relativa dependem de diversos fatores como espécie, idade da planta e região de ocorrência (FENGEL; WEGENER, 1989).

De acordo com D' Almeida (1998), o teor de extrativos da biomassa lignocelulósica são capazes de variar entre espécies vegetais, normalmente obtém de 3% a 10%. Tendo potencial para serem removidos dos materiais lignocelulósicos, por meio de solventes polares e apolares (MORAES, 2010). Mediante a utilização do equipamento Soxhlet, onde é possível extrair, visto que os compostos são solúveis em água e álcool (SLUITER et al., 2005).

Tabela 1 – Resultado da literatura para rendimentos de extrativos.

<i>Biomassa</i>	<i>Rendimento Extrativos (%)</i>	<i>Referência</i>
Casca de pequi	34,96	Scapin et al. (2019)
Casca de cupuaçu	5,95	
Casca de arroz	1,97	
Caroço de açaí	9,51 ± 0,04	Rambo, 2013
Endocarpo do baru	44.20 ± 7,00	Rambo et al. (2020)
Mesocarpo do baru	11,30 ± 1,97	
Endocarpo do babaçu	26,10	Rambo et al. (2017)
Mesocarpo do babaçu	22,75	

2.6 Hidrólise ácida

A hidrólise ácida surge através de ácidos concentrados ou diluídos, no primeiro, a hemicelulose e celulose existentes na biomassa são fracionadas usando soluções aquosas de ácidos minerais resistentes como o clorídrico ou ácido sulfúrico, à baixa temperatura, 100 °C (SZENGYEL, 2000).

Enquanto que no processo de hidrólise ácida com diluídos, uma fração da hemicelulose e da celulose são hidrolisadas isoladamente. Para a realização desse processo se aquece a biomassa e uma solução ácida em um reator hermético, usando-se temperaturas que variam de 130 a 240 °C, fazendo com que soluções de ácido fosfórico, nítrico, sulfúrico, acético possam ser usadas como catalisadores para a hidrólise parcial de materiais lignocelulósicos (SUN; CHENG, 2002).

Por exercerem a função catalizadora, os ácidos utilizados no processo de hidrólise liberam prótons que trabalham nas ligações glicosídicas entre os monômeros de açúcares nas cadeias poliméricas (AGUILAR, 2002). A quebra dessas ligações desprende um acervo de compostos, dentre eles os açúcares, o furfural, da degradação de pentoses, e de 5-HMF, que advém da desidratação de hexoses, o ácido acético, dos grupos acetil, de compostos não estruturais da fração extrativa, dentre outros (NAKATA; SUZUKI, 1989).

Tabela 2 – Resultado dos rendimentos de celulose, hemicelulose, glicose e lignina.

<i>Biomassas</i>	<i>Celulose</i>	<i>Hemicelulose</i>	<i>Lignina</i>	<i>Referência</i>
Mesocarpo do Pequi	6,3 ± 0,08	5,35 ± 0,06	25,71 ± 0,075	Scapin et al. (2019)
Endocarpo do Baru	9,13 ± 0,87	6,30 ± 1,23	30,11 ± 0,55	
Mesocarpo do Baru	0,87 ± 0,94	33,41 ± 1,45	31,72 ± 0,67	
Casca de café	36,02	12,98	42,01	
Coco	27,01	15,45	44,67	Rambo, 2013
Casca de arroz	26,08	10,06	36,11	
Casca de soja	28,23	17,12	29,13	
Bambu	39,08	16,29	33,46	

4 METODOLOGIA

4.1 Matéria prima

Foram coletadas três biomassas típicas do Cerrado e da Amazônia do Brasil entre 2018 e 2019. As matérias-primas avaliadas foram as seguintes: *Cocos nucifera* (coco, utilizado o epicarpo), *Orbygnia phalerata* (babaçu, cujo endocarpo foi usado) e *Berthollitia excelsa* H.B.K. (Castanha do Brasil, cujo endocarpo e mesocarpo foram utilizados).

4.2 Pré-tratamento das biomassas

Essas amostras foram mantidas congeladas em sacos plásticos aguardando as próximas etapas do processo. Depois de secas à temperatura ambiente, foram moídas em moinho de corte (MA 580, Marconi) e peneiradas em peneira agitadora automática (VP-01, Bertel), até partículas de 355 µm de diâmetro (peneira 45 mesh).

4.3 Extração de Soxhlet

Foi utilizado um extrator Soxhlet, e os cartuchos de extração receberam 3g de cada biomassa. Em seguida, foram cobertos com algodão em rama e levados ao extrator, com 190 mL de etanol (90%), por 8, 12 e 24 horas em refluxo de acordo, NREL/TP-510-42619.

Após o término do refluxo, os cartuchos foram retirados e colocados em placas de Petri sobre a bancada por 48 horas para secagem. Após 48 horas, o teor de umidade da amostra extraída foi determinado novamente, de forma que o teor de extrativos foi calculado de acordo com a perda de peso após a extração, descontada a umidade.

4.4 Hidrólise ácida

A etapa de hidrólise ácida foi realizada de acordo com a metodologia do Laboratório Nacional de Energia Renovável, conforme NREL/TP-510-42618, para determinação de carboidratos estruturais e lignina na biomassa. Foram utilizados tubos de pressão, nos quais foram colocados 300 mg da biomassa extraída e 3,0 mL (4,91 g) de H₂SO₄ a 72% (m / m); em seguida, os tubos foram levados a banho-maria (TE 056,

Tecnal) por 120 minutos a 30 °C e agitados a cada 10 minutos. Esta é a etapa primária de hidrólise. Posteriormente, foram adicionados 84 mL de água desionizada para que a concentração de ácido sulfúrico fosse reduzida para 4% (m / m); os tubos foram então levados para uma autoclave (AV 18, Phoenix) por 1 hora a 120 °C (etapa de hidrólise secundária).

Nas nossas condições testamos duas metodologias diferentes: Hidrólise primária com 60 minutos e hidrólise secundária com 1h, e ainda a hidrólise primária com 180 minutos e hidrólise secundária com 1.5h.

Após esta etapa, a solução hidrolisada foi filtrada em cadinhos de porosidade média (10 a 15 µm) por meio de bomba de vácuo (NOF-650). Os sólidos retidos nos cadinhos filtrantes foram levados a uma estufa a 105 °C para a determinação do teor de resíduo insolúvel em ácido (AIR), e posteriormente mantidos em mufla por 4 horas a 575 °C, para obtenção do ácido - cinza insolúvel (AIA). A partir da diferença entre AIR e AIA, foi determinado o conteúdo de lignina insolúvel - também conhecida como Klason Lignina (KL). O filtrado (hidrolisado) contém a lignina solúvel em ácido (ASL) e quaisquer outros componentes ácidos solúveis da biomassa, como os açúcares hidrolisados.

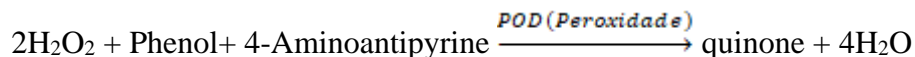
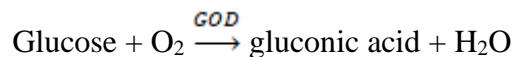
4.5 Espectroscopia UV

O ASL é determinado usando espectrofotômetro UV-Vis (DR 5000, HACH). O hidrolisado foi colocado em uma cubeta de quartzo e diluído quando necessário, e os espectros de UV foram coletados usando comprimento de onda de 205 nm e absorvidade molar de 113 M-1cm-1 (SLUITER et al. 2010). O branco era uma solução de H₂SO₄ a 4% (m / m).

4.6 Teor de carboidratos

A absorbância dos açúcares redutores em 540 nm foi medida em um espectrofotômetro UV-Vis (Varian, Cary 4000) para quantificar o conteúdo de açúcar. As concentrações de açúcar redutor total (ART) foram calculadas com base na curva padrão de D-glicose. Os hidrolisados foram fervidos em solução de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) por 5 minutos e resfriados em banho de água gelada.

Um kit de teste (LABTEST) foi utilizado para medir a atividade enzimática pela quantidade de glicose formada, a enzima glicose oxidase (GOD / POD), uma flavoproteína utilizada nesses kits, foi utilizada para determinação de glicose. A reação que ocorre é:



O procedimento analítico consistiu em adicionar 1,0 mL da amostra hidrolisada e 1,0 mL da solução do reagente de glicose enzimática. As alíquotas formadas foram levadas a banho-maria (37 °C) por 15 minutos (VISVANATHAN et al. 2016). Em seguida, a absorbância das amostras a 500 nm foi medida em espectrofotômetro (Varian, Cary 4000).

4.7 Análise de celulose, hemicelulose e lignina

A fibra em detergente ácido (FDA) e o detergente neutro a frio (FDN) (TRUJILLO et al. 2010), estavam usando para determinar o conteúdo de hemicelulose, enquanto a lignina foi determinada por metodologias NREL e celulose por diferença.

4.8 Difração de raios X

Por meio da difração de raios-X, determinou-se os valores de referência de cristalinidade. Os difratogramas foram registrados em um difratômetro Shimadzu modelo XRD-7000, com radiação Cu K α , voltagem de 30 kV e corrente de 10 mA. A varredura foi realizada na faixa de ângulo 5° <2 θ > 99, 98°.

5 RESULTADOS E ANÁLISES

A tabela 3 apresenta os valores da análise aproximada. A biomassa de babaçu e coco apresentaram percentuais considerados baixos de umidade (<10%), já as de castanha com percentuais elevados e que podem interferir em futuros processos de manuseio e transporte da matéria prima (CHARLTON et al. 2009), além de afetar processos de combustão (MACEDO, 2017).

Os percentuais de cinzas todos foram baixos, o que é essencial em processos envolvendo biorrefinarias. Tanto matéria volátil como carbono fixo estão de acordo com o esperado para biomassas lignocelulósicas (RAMBO et al. 2015).

Tabela 3. Análise aproximada das biomassas.

<i>Biomassas</i>	<i>Umidade</i>	<i>Cinzas</i>	<i>Material Volátil</i>	<i>Carbono Fixo</i>
Mesocarpo do Babaçu	7,25 ± 0,07	1,70 ± 0,14	86,7 ± 0,14	4,35 ± 0,01
Mesocarpo do Coco Verde	5,22 ± 0,02	2,82 ± 0,04	90,78 ± 0,28	1,18 ± 0,01
Epicarpo da Castanha	13,9 ± 0,00	6,75 ± 0,49	75,02 ± 0,71	4,33 ± 0,01
Endocarpo da Castanha	11,35 ± 0,70	0,9 ± 0,28	77,45 ± 0,35	10,3 ± 0,01

Quanto ao processo de extração (tabela 4), maiores tempos de extração (24h) favoreceram a remoção de constituintes do coco e do babaçu, enquanto que nas frações de castanha-do-Pará, tempos menores foram mais eficientes na remoção de possíveis interferentes. Altos teores foram encontrados para o coco verde (valor médio de 15,3%), enquanto que para as demais biomassas valores baixos foram determinados (valor médio < 3%). Esses valores estão de acordo com os dados encontrados por outros autores (RAMBO et al. 2016, RAMBO et al. 2020b).

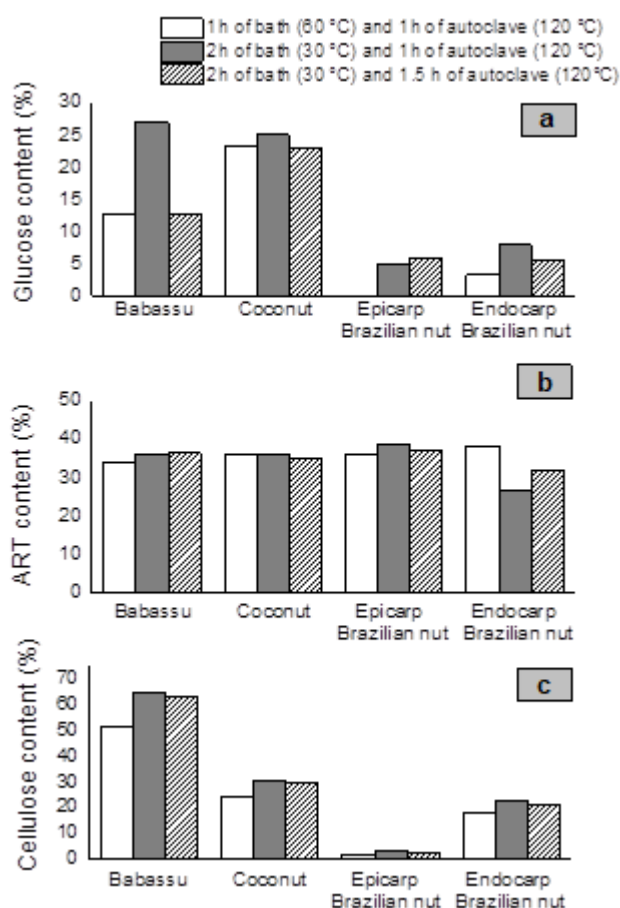
Tabela 4. Rendimento em extrativos em diferentes tempos.

<i>Biomassas</i>	<i>Extrativos (8h)</i>	<i>Extrativos (12h)</i>	<i>Extrativos (24h)</i>
Mesocarpo do Babaçu	2,12	1,32	2,37
Mesocarpo do Coco Verde	12,16	14,13	19,83
Epicarpo da Castanha	3,43	4,13	2,59
Endocarpo da Castanha	3,33	1,53	2,64

As três diferentes metodologias de hidrólise primária e secundária para os teores de polissacarídeos e seus respectivos monossacarídeos foram testadas e seus resultados são apresentados na figura 5.

Tempos intermediários nas duas etapas apresentaram os máximos rendimentos de celulose, exceto para o ouriço da castanha. Da mesma forma para os ART, exceto para a casca da castanha com o maior percentual de ART nos tempos de 1h tanto para hidrólise primária, quanto secundária. A glicose também apresentou rendimentos superiores em tempos intermediários, sendo novamente a exceção o ouriço da castanha, com teores maiores (5,81%) em condições mais drásticas (2h e 1.5h).

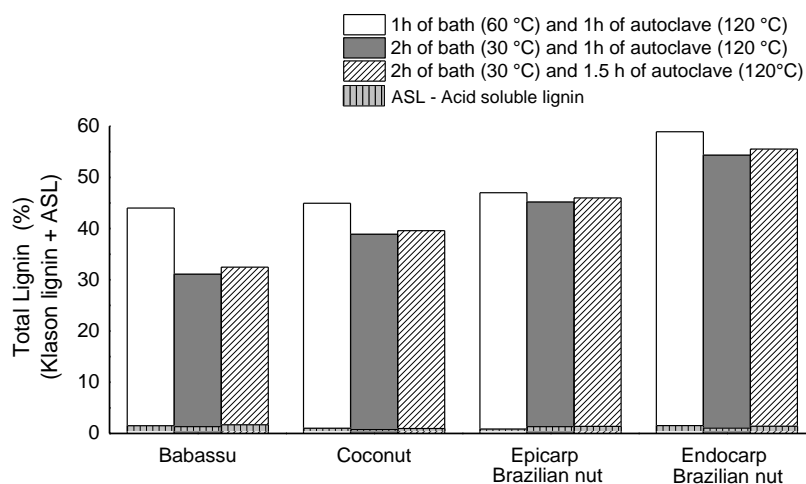
Figura 5. Conteúdo de glicose, ART, celulose.



Já a figura 6 mostra os resultados das ligninas solúveis, insolúveis e total após as diferentes condições de hidrólise. Ao contrário dos carboidratos, para a lignina solúvel os menores tempos reacionais, favorecem os melhores resultados, exceto para o ouriço da castanha. Da mesma forma, a tendência seguiu para a lignina insolúvel (Klason), na qual os maiores rendimentos foram em condições menos severas. E como

lignina total, é o somatório das ligninas solúveis e insolúveis obteve-se o mesmo resultado.

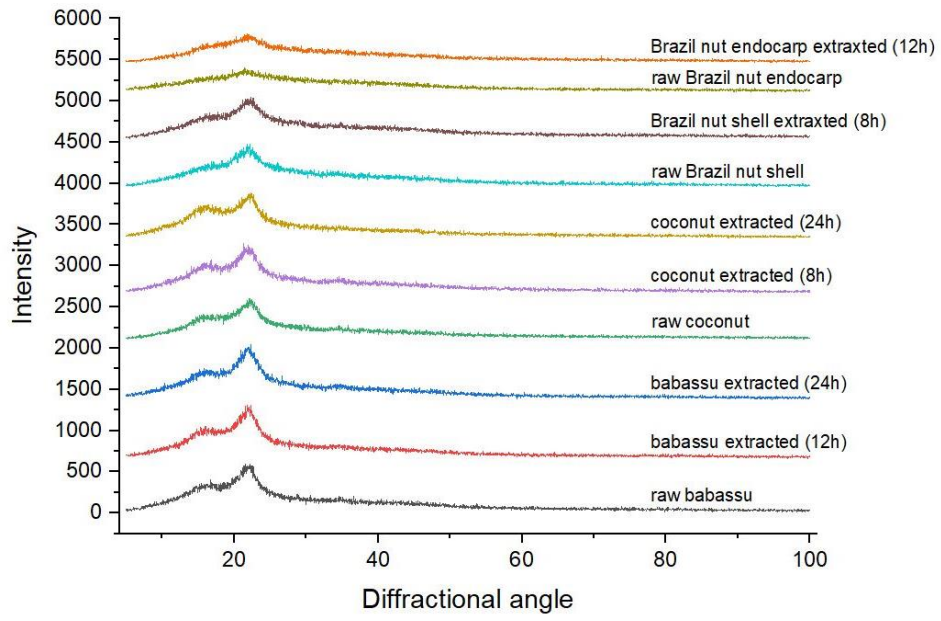
Figura 6. Conteúdo lignina solúvel, insolúvel e total.



Esses resultados demonstram o alto potencial dessas biomassas, pois teores acima de 28% de ART foram encontrados e acima de 30% para as ligninas, o que sugere fortemente que podem ser usadas em indústrias de biorrefinarias.

Na figura 7 estão os difratogramas de raio-X das amostras brutas e das amostras extraídas em diferentes tempos de extração. Não foram observadas grandes alterações entre as amostras. Se observou que, de forma geral, após a extração alguns picos ficaram mais proeminentes, aumentando o teor de cristalinidade das amostras.

Os dados obtidos mostram que as biomassas apresentaram percentuais de celulose cristalina que variaram entre 25 e 40,0%; associada, respectivamente, ao endocarpo da castanha-do-pará e ao babaçu extraído. Tem sido relatada uma relação entre um maior nível de cristalinidade e rendimentos de hidrólise, que é dado pelo teor de carboidratos (ART); isso indica que a faixa de variação da cristalinidade afeta o rendimento das hidrólises. Por exemplo, endocarpo de castanha do Pará, com menor cristalinidade, apresentados também menores teores de ART e glicose, por outro lado, babaçu, com maiores teores de cristalinidade, apresentando também os maiores valores de glicose e ART.

Figura 7. Difratoqramas de raio-X.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados obtidos demonstraram que as metodologias do Laboratório Nacional de Energia Renovável (NREL) devem ser adequadas para cada tipo de biomassa e para cada realidade regional, pois uma diferença considerável foi encontrada otimizando as hidrólises primárias e secundárias.

No processo de extração, as biomassas, coco-verde e babaçu, obtiveram melhores resultados quando utilizados tempos maiores de extração (24h), enquanto a biomassa da castanha-do-brasil, tempos menores foram mais eficientes na remoção de possíveis interferentes. Para os teores de açúcares totais nas biomassas de coco verde, babaçu e ouriço da castanha, os maiores rendimentos foram encontrados em condições diferentes das propostas pelo NREL.

A biomassas residuais caracterizada neste estudo, são promissoras no contexto de biorrefinarias. Devido a sua composição química, com a produção de bioprodutos de alto valor agregado, como também a utilização para destinação final adequada minimizando problemas ambientais e energéticos.

7 REFERÊNCIAS

ACHINAS S, EUVERINK G. J. W. Consolidated briefing of biochemical ethanol production from lignocellulosic biomass. **Electron J Biotechnol**, p. 44–53, 2016.

AGBOR V. B; CICEK N; SPARLING R; BERLIN A; LEVIN D. B. Pré-tratamento de biomassa: Fundamentos para a aplicação. **Biotechnol Adv**, v. 29. p. 675–85, 2011.

AGUILAR, R. et al. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. **Journal of Food Engineering**, v.5, 2002, p.309-318.

BATUGAL P; RAO, V; OLIVER J. **Coconut Genetic Resources**. IPGRI - Escritório Regional para a Ásia, Pacífico e Oceania, Serdang, Malásia, 2005.

BENTES, E. **Extrativismo da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Hubl.) na reserva de desenvolvimento sustentável PIAGAÇU-PURUS**. 116f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Sustentabilidade na Amazônia) – Universidade Federal do Amazonas, Amazonas, 2007.

BRIDGWATER, A. V.; MEIER, D.; RADLEIN, D. An overview of fast pyrolysis of biomass. **Organic Geochemistry**, [S. l.], v. 30, n. 12, p. 1479–1493, 1999. DOI: 10.1016/S0146-6380(99)00120-5.

CABRAL, M. M. S. **Aproveitamento da casca de coco verde para a produção de etanol de segunda geração**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Alagoas, Centro de Tecnologia, Alagoas, p. 74, 2015.

CALDAS, Juliana. **Diversidade biológica do bioma Cerrado é a segunda maior do Brasil**. EMBRAPA. Brasília, 2011. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/18152197/diversidade-biologica-do-bioma-cerrado-e-a-segunda-maior-do-brasil>. Acesso em: 30 de mar. de 2021.

CARVALHO. JOANA D’Arc. DOSSIÊ TÉCNICO: **Cultivo de babaçu e extração de óleo**. Brasília, 2007.

CHARLTON A.; ELIAS R.; FISH S.; FOWLER P.; GALLAGHER J. The biorefining opportunities in Wales: Understanding the scope for building a sustainable, biorenewable economy using plant biomass. **Chemical Engineering Research and Design**, 87(9), pp. 1147–1161, 2009. DOI: 10.1016/j.cherd.2009.06.013.

COLLARES, D.G. **Castanha-do-Brasil: uma alternativa de reflorestamento**. Embrapa Florestas, 2006. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/17988458/castanha-do-brasil-uma-alternativade-reflorestamento>. Acesso em: 20 de fev. de 2021.

D’ALMEIDA, M. L.O. **Composição química de materiais lignocelulósicos**. Celulose e papel – Tecnologia de fabricação da pasta celulósica. São Paulo: Escola SENAI. v.2, 1998, p.26

DIAS, J. M. C. S. et al. **Produção de briquetes e paletes a partir de resíduos agrícolas, agroindustriais e florestais**. Brasília: Embrapa Agroenergia, p. 130, 2012.

EL-ZAWAWY W. K. et al. Acid and enzyme hydrolysis to convert pretreated lignocellulosic materials into glucose for ethanol production. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 84, n. 3, p. 865–871, 2011. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.12.022.

EMBRAPA. **Babaçu: Programa Nacional de Pesquisa**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Brasília, p. 23-24, 1984.

EMBRAPA. **Beneficiamento da casca de coco verde para a produção de fibra e pó**. Soluções tecnológicas. 2004. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/33/beneficiamento-da-casca-de-coco-verde-para-a-producao-de-fibra-e-po>. Acesso em 22 de fev. de 2021.

FENGEL, D.; WEGENER, G. Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. Berlin: **Walter de Gruyter**, 613 p., 1989.

FOLHA DE SÃO PAULO, **Forte como um ouriço**. 13 de fevereiro de 2020. Il. color. Disponível em: <https://sinteses.blogfolha.uol.com.br/2020/02/13/forte-como-um-ourico/>. Acesso em: 30 de junho de 2021.

GOMES, M. S. S. O. **Potencial tecnológico da farinha da amêndoa do coco babaçu (*Orbignya* sp.) e sua secagem convectiva em leito fixo**. João Pessoa: UFPB, 2008. Disponível em: <https://encurtador.com.br/fvwn7>. Acesso em: 10 de maio de 2021.

LIMA, A. et al. **Utilização de fibras (epicarpo) de babaçu como matéria-prima alternativa na produção de chapas de madeira aglomerada**. Revista *Árvore*, Viçosa, v. 30, n. 4, 2006. DOI: 10.1590/S0100-67622006000400018.

MACEDO L. P. R.; Rambo M. K. D. **Biorrefinarias: caracterização de biomassas residuais do Tocantins por espectroscopia NIR aliada a Quimiometria visando a obtenção de insumos químicos e condicionadores de solo**. *Desafios*, 3(especial), pp. 49-54. DOI: <http://dx.doi.org/10.20873/uft.2359-3652.2016v3nespp49>.

MARTINS, C. R; JESUS J. **Produção e Comercialização de Coco no Brasil Frente ao Comércio Internacional: Panorama 2014**. 1ed. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 53 p, 2014. ISSN 1678-1953.

MORAES, J. P. S.; ROSA, M. F.; MARCONCINI, J. M. **Procedimentos para análise lignocelulósica**. Documentos 236, Campina Grande, 54 p. 2010

MOSIER N; WYMAN C; DALE B; ELANDER R; LEE Y; HOLTZAPPLE M et al. Características de tecnologias promissoras para o pré-tratamento de biomassa lignocelulósica. **Bioresour Technol**. p. 673-86, 2005.

NAKATA, Y.; SUZUKI, M. Preparation and Properties of SiO₂ From Rice Hulls. **Journal Ceramic Society of Japan International**, v.97, 1989, p.830-836.

OLIVEIRA, J. M. C; LOBO, P. C. **Avaliação do potencial energético de resíduos de biomassa amazônica**. In: **Encontro de Energia no Meio Rural**, 4, 2002, Campinas. Anais. Campinas, 2002.

RAMBO M. K. D.; ALEXANDRE G. P.; RAMBO M. C. D.; ALVES A. R.; GARCIA W. T.; BARUQUE E. **Characterization of biomasses from the north and northeast regions of**

Brazil for processes in biorefineries. *Ciência e Tecnologia de Alimentos (Online)*, 35(4), pp. 605-611, 2015. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.6704>.

RAMBO, M. K. D. **Caracterização de resíduos lignocelulósicos por espectroscopia nmr aliada à quimiometria para a obtenção de insumos químicas.** 182 f. 2013. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

RAMBO, M. K. D., K. J. C. R. ALMEIDA, M. C. D. RAMBO, e E. A. Baruque Filho. “Metodologia De Superfície De Resposta Como Ferramenta Para Otimizar Os Processos De extração E hidrólise ácida De resíduos De babaçu”. **Revista Brasileira De Pós-Graduação**, Vol. 13, nº 32, março de 2017, doi:10.21713/2358-2332. 2016.v13.953.

RAMBO, M. K. D.; ALMEIDA K. J. C. R.; RAMBO M. C. D.; BARUQUE E A. **The Response Surface Methodology as a tool to optimize the extraction and acid hydrolysis processes applied to babassu residues.** RBPG. *Revista Brasileira de Pós-Graduação*, 2016, 13(32), pp. 807-825.

RAMBO, M. K. D; RAMBO M. C. D, MELO, P. M; OLIVEIRA, N. M. L; NEMET, Y. K. S, SCAPIN, E. et al. Sustentabilidade de Processos de Biorrefinaria com Base em Resíduos de Biomassa de Baru. **J. Braz. Chem. Soc.** 2020; 31 (2): 273-279.

RANUCCI, C.R. et al. Potential alternative aviation fuel from jatropha (*Jatropha curcas* L.), babassu (*Orbignya phalerata*) and palm kernel (*Elaeis guineensis*) as blends with Jet-A1 kerosene. **Journal of Cleaner Production**, p. 185, 860–869, 2018. DOI: 10.1016/j.jclepro.2018.03.084.

RAUD M, MITT M, OJA T, OLT J, ORUPÕLD K, KIKAS T. The utilization potential of urban greening waste: Tartu case study. **Urban For Urban Green.** v. 21 p.96–101, 2017.

RAUD, M; KIKAS, T; SIPPULA, O; SHURPALI, N.J. Potentials and challenges in lignocellulosic biofuel production technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 111, p. 44–56, 2019. DOI: 10.1016/j.rser.2019.05.020.

ROCHA, A. M, et al. **Aproveitamento de Fibra de Coco para Fins Energéticos: Revisão e Perspectivas.** Congresso sobre geração distribuída e energia no meio rural. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, 2015. Disponível em: <http://www.iee.usp.br/agrener2015/sites/default/files/tematica8/744.pdf>. Acesso em 09 de maio de 2021.

ROSA, M. F; ABREU, F. A. P; FURTADO, A. A. L; BRÍGIDO, A. K. L; NORÕES, E. R. V. Processo agroindustrial: obtenção de pó de casca de coco verde. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical** (Comunicado Técnico, 61), 2001.

SANTIAGO, B. L. S.; RODRIGUES, F. de Ávila. PROCESSAMENTO DE BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA PARA PRODUÇÃO DE ETANOL: UMA REVISÃO. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, [S. l.], v. 3, n. 7, p. 1011-1022, 2017. DOI: 10.18540/jcecv13iss7pp1011-1022.

SANTOS, J. U. M. et al. *Bertholletia excelsa* Humboldt & Bonpland (*Lecythidaceae*): aspectos morfológicos do fruto, da semente e da plântula. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi Ciências Naturais**, 1(2), p. 103-112, 2006.

SANTOS, V. E. dos; PASTORE JÚNIOR, F. Projeto ITTO PD 31/ 99 Revi. 3 (1). **Produção não madeireira e desenvolvimento Sustentável na Amazônia**. Objetivo Específico N°. 1, Resultado 1.5 Análise e crítica tecnológica: Babaçu. ITTO - Organização Internacional de Madeiras Tropicais, UnB, LATEQ, FEPAD. Brasília. jul. 2003.

SCAPIN, E; SANTANA JUNIOR, C. C.; RAMBO, MAGALE KARINE DIEL; NUNES, R.; BORGES, M. **Caracterização de biomassas lignocelulósicas brutas para a obtenção de produtos de biorrefinarias**. In: 59 ° Congresso Brasileiro de Química, 2019, João Pessoa. 59° Congresso Brasileiro de Química, 2019.

SERRANO, R. **Regeneração e estrutura populacional de *Bertholletia excelsa* H. B. K. em diferentes históricos de ocupação, no vale do rio Acre (Brasil)**. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e manejo de recursos naturais) – Universidade Federal do Acre, Acre, 2005.

SILVA, M. R. **Distribuição do babaçu e sua relação com os fatores geoambientais na bacia do Cocal, estado do Tocantins**. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, p.76, 2008.

SJÖSTRÖM, E. **Wood chemistry: fundamentals and application**. London: Academic Press, 293 p., 1993.

SLUITER A. et al. **NREL/TP-510-42618**: Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. National Renewable Energy Laboratory (NREL): Golden, USA, 2008.

SLUITER B. et al. Templeton D. **NREL/TP-510-42619**: Determination of extractives in Biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP). National Renewable Energy Laboratory (NREL): Golden, USA, 2008.

SLUITER J. B. et al. Compositional Analysis of Lignocellulosic Feedstocks. 1. Review and Description of Methods. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 58, p. 9043–9053, 2010. DOI: 10.1021/jf1008023.

SLUITER, A. et al. Determination of extractives in biomass. Laboratory **Analytical Procedure (LAP)**, 2005. Disponível em: < <https://www.nrel.gov/docs/gen/fy08/42619.pdf>>. Acesso em: 10 abril de 2021.

SNA, Sociedade Nacional de Agricultura. **Indústria do coco cresce, mas alto desperdício gera desafio tecnológico**. Rio de Janeiro: Sociedade Nacional de Agricultura. 2014. Disponível em: <http://www.sna.agr.br/industria-do-coco-cresce-mas-alto-desperdicio-geradesafio-tecnologico/>. Acesso em 09 de maio de 2021.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**, v.83, 2002, p.1-11.

SZENGYEL, Z. **Ethanol form wood cellulose enzyme production**. Thesis (PhD Chemical Engineering) - Lund University, Lund, 2000.

TRUJILLO A. I. et al. Comparison of Dry Matter and Neutral Detergent Fiber Degradation of Fibrous Feedstuffs as Determined with in Situ and in Vitro Gravimetric Procedures. **Animal Feed Science and Technology**, v.161, p. 49-57, 2010. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2010.08.001.

VISVANATHAN, R; JAYATHILAKE, C; LIYANAGE, R. A simple microplate-based method for the determination of α - amylase activity using the glucose assay kit (GOD method). **Food Chemistry**, v. 211, n. 15, p. 853-589, 2016. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.05.090.

APÊNDICE A – Artigo

Optimizing the process of extraction and acid hydrolysis for Amazon and Cerrado biomass

Debora Cristina de Freitas Romão^{1*}, Cláudio Carneiro Santana Junior¹,
 Mateus Rodrigues Brito¹, Amanda Oliveira Queiroz², Gabriel de Sousa Silva²,
 Magale Karine Diel Rambo¹, Michele Cristiane Diel Rambo², Lorena
 Nascimento Barbosa

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente, Universidade Federal do Tocantins (UFT), Tocantins, Brazil.

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins (IFTO), Tocantins, Brazil.

³Graduation in Environmental Engineering, Federal University of Tocantins (UFT), Tocantins, Brazil

*Corresponding author

Abstract — We investigated the effect of the reaction variable (time) on the extraction and hydrolysis process. The data showed that the methodologies of the National Renewable Energy Laboratory (NREL) must be adequate for each type of biomass and each regional reality. For the contents of total sugars in the biomass of green coconut, babassu and Brazil nut shell epicarp, the highest yields were found under different conditions from those proposed by NREL. In the total lignin content, the highest yields obtained were those proposed by the NREL method for all biomasses. In the content of extracts for coconut and babassu, the use of longer extraction time provided greater removal. For the chestnut fractions, shorter times led to higher yields. It is important to note that, with the optimized results, these biomasses can be used in the production of high value-added bioproducts with higher yields.

Keywords — NREL, babassu, Brazil nut, green coconut.

I. INTRODUCTION

Lignocellulosic biomass is one of the most abundant renewable resources in the world and it is an economical and environmentally friendly alternative for the production of bio-derived chemical products [1,2]. Due to its high composition of carbohydrates, this type of biomass has great potential for the production of biofuels and is considered one of the potential substitutes for fossil fuels in the chemical industry [3,4].

Several pretreatment methods have been studied such as physical, chemical, physical-chemical, biological, and combined pre-treatments to obtain a greater recovery of fermentable carbohydrates from sugar degradation [5,6]. The procedures for implementing these methods are mostly based on methodologies established by the National Renewable Energy Laboratory.

According to the National Renewable Energy Laboratory [7], the acid hydrolysis occurs in two-step to fractionate biomass components. The samples were kept at 30 °C for 1 h in the first step and autoclaved for 1 h at 120 °C in the second step. For the extractives analysis, [8] the

reflux for 8-24 hours in 95% ethanol using the Soxhlet apparatus is recommended.

The extraction procedure is important by removes possible interferences, that can affect the hydrolysis performances [8]. The acid hydrolysis is used to convert the polymers into polymeric carbohydrates and lignin (acid-insoluble lignin and acid-soluble lignin), that can be used for biorefining industries. Thus, both concentrated and diluted acid hydrolysis has been used to obtain sugars free from highly complex pre-treated lignocellulosic biomass [9].

However, these methodologies are used for standard biomasses from Europe (miscanthus), the United States (corn straw) or sugarcane bagasse from Brazil [10,11,12].

New biomasses from the Amazon region and the Cerrado have shown potential in the context of biorefineries, both for their chemical composition and for the amount of waste generated and discarded in the environment [13,14]. Many of these biomasses, such as coconut husk, Brazil nut husk, and outer shell, babassu endocarp and mesocarp have high levels of carbohydrates

and lignin, which can be converted into high value-added products [15,16,17,18]

Therefore, this study aims to optimize the best conditions to maximize yield in extraction and hydrolysis processes concerning Brazilian biomasses from Cerrado and Amazon regions, mainly of their major constituents (cellulose, hemicellulose, and lignin), which have been increasingly employed in biorefining processes.

II. MATERIALS AND METHODS

2.1 Samples

Three typical biomasses from the Cerrado and Amazon regions of Brazil were properly collected between 2018 and 2019. The evaluated feedstocks were the following: *Cocos nucifera* (green coconut, whose mesocarp was used), *Orbygnia phalerata* (babassu, whose mesocarp was used) and *Bertholletia excelsa* H.B.K. (Brazilian nut, whose epicarp and endocarp was used). These samples were kept frozen in plastic bags awaiting the next steps of the process. After dried at room temperature, they were ground in a cutting mill (MA 580, Marconi) and sieved in an automatic sieve shaker (VP-01, Bertel), until particles of 355 µm in diameter (45-mesh sieve).

2.2 Soxhlet extraction

A Soxhlet extractor was used, and extraction cartridges received 3g of each biomass. After that, they were covered with cotton wool and then taken to the extractor, with 190 mL of ethanol (90%), for 8, 12, and 24 hours in reflux [8].

After the end of the reflux, the cartridges were taken and placed on Petri dishes on the counter for 48 hours to be dried. After 48 hours, the moisture content of the extracted sample was determined again, so that the extractives content was calculated according to the weight loss after the extraction, deducting the moisture.

2.3 Acid hydrolysis

The acid hydrolysis step was performed according to the methodology of the National Renewable Energy Laboratory [7] for the determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Pressure tubes were used, in which 300 mg of the extracted biomass were placed, and 3.0 mL (4.91 g) of H₂SO₄ at 72% (m/m); then, the tubes were taken to a water bath (TE 056, Technal) for 120 min at 30 °C and shaken every 10 min. This is the primary hydrolysis step. Subsequently, 84 mL of deionized water was added so that the concentration of sulfuric acid was reduced to 4% (m/m); the tubes were then taken to an autoclave (AV 18, Phoenix) for 1 hour at 120 °C (secondary hydrolysis step).

In our conditions, we tested two different methodologies: primary hydrolysis with 60 min and secondary hydrolysis with 1h, and also primary hydrolysis with 180 min and secondary hydrolysis with 1.5h.

After this step, the hydrolyzed solution was filtered in crucibles of medium porosity (10 to 15 µm) using a vacuum pump (NOF-650). The solids retained in the filter crucibles were taken to an oven at 105 °C so that the content of acid-insoluble residue (AIR) was determined, and then kept in a muffle furnace for 4 hours at 575 °C to obtain the acid-insoluble ash (AIA). From the difference between AIR and AIA, the content of insoluble lignin – also known as Klason Lignin (KL) – was determined. The filtrate (hydrolysate) contains the acid-soluble lignin (ASL) and any other soluble acid components of the biomass, such as the hydrolyzed sugars.

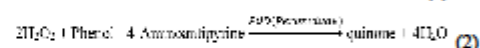
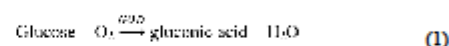
2.4 UV spectroscopy

The ASL is determined using a UV-Vis spectrophotometer (DR 5000, HACH). The hydrolysate was placed in a quartz cuvette and diluted when necessary, and the UV spectra were collected using a wavelength of 205 nm at molar absorptivity of 113 M⁻¹cm⁻¹ [19]. The blank was a solution of H₂SO₄ at 4% (m/m).

2.5 Carbohydrate content

The absorbance of reducing sugars at 540 nm was measured in a UV-Vis spectrophotometer (Varian, Cary 4000) to quantify the sugar content. Total reducing sugar (ART) concentrations were calculated based on the standard curve of D-glucose. The hydrolysate was boiled in the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) solution for 5 min and cooled in an ice-water bath.

A test kit (LAB TEST) was used to measure the enzymatic activity by the amount of glucose formed glucose oxidase enzyme (GOD/POD) is a flavoprotein used in these kits, was used for glucose determination. The reaction is:



The analytical procedure was to add to 1.0 mL of the hydrolyzed sample and 1.0 ml of the enzyme glucose reagent solution. The aliquots formed were taken to a water bath (37 °C) for 15 min [20]. Afterward, the absorbance of the samples at 500 nm was measured in a spectrophotometer (Varian, Cary 4000).

2.6 Cellulose, hemicellulose and lignin analysis

The acid detergent fiber (ADF) and cold neutral detergent (FDN) according to Trujillo, Marichal, and

Carriquiry [21], were used to determine hemicellulose content, while the lignin was determined by NREL methodologies and cellulose by difference.

2.7 X-ray diffraction

Through x-ray diffraction, the crystallinity reference values were determined. The diffractograms were recorded on the XRD-7000 Shimadzu diffractometer, with Cu K α radiation, a voltage of 30 kV, and a current of 10 mA. The scan was carried out in the angle range of 5° <2 θ > 99.98°.

III. RESULTS AND DISCUSSIONS

Table 1 shows the values of the approximate analysis. The biomass of babassu and coconut showed percentages considered low in moisture (<10%). The fractions of Brazil nuts had higher percentages and may interfere in future raw material handling and transport processes [22], also, to affect combustion processes [23].

The ash percentages were all low, which is essential in processes involving biorefineries. Both volatile matter and fixed carbon are in line with what is expected for lignocellulosic biomass [16].

Table 1: Approximate analysis of lignocellulosic biomass.

Analysis (%)	Raw sample			
	Babassu mesocarp	Green Coconut mesocarp	Brazil nut shell epicarp	Brazil nut shell endocarp
Moisture	7,25 ± 0,07	5,22 ± 0,02	13,9 ± 0,00	11,35 ± 0,70
Ashes	1,70 ± 0,14	2,82 ± 0,04	6,75 ± 0,49	0,9 ± 0,28
Volatile Matter	86,7 ± 0,14	90,78 ± 0,28	75,02 ± 0,71	77,45 ± 0,35
Fixed Carbon	4,35 ± 0,01	1,18 ± 0,01	4,33 ± 0,01	10,3 ± 0,01

As for the extraction process (table 2), longer extraction times (24h) favored the removal of coconut and babassu constituents, while in the Brazil nut fractions, shorter times were more efficient in removing possible interferents. High levels of extractives were found for the green coconut

(average value of 15.3%), while for the other biomasses, low values were determined (average value <3.5%). These values are the following data found by other authors [24,25].

Table 2: Extractive yield at different times.

Analysis (%)	Babassu mesocarp	Green Coconut mesocarp	Brazil nut shell epicarp	Brazil nut shell endocarp
Extractives (8h)	2,12	12,16	3,43	3,33
Extractives (12h)	1,32	14,13	4,13	1,53
Extractives (24h)	2,37	19,83	2,59	2,64

The three different primary and secondary hydrolysis methodologies for the content of polysaccharides and their respective monosaccharides were tested and figure 1 shows their results.

Intermediate times in both stages showed the maximum cellulose yields, except for the Brazil nut shell epicarp. In the same way for ART, except for the nut shell with the highest percentage of ART in 1h for both primary and secondary hydrolysis. Glucose also showed higher yields in intermediate times, except for the Brazil nut shell

epicarp, with higher levels (5.81%) in more drastic conditions (2h and 1.5h).

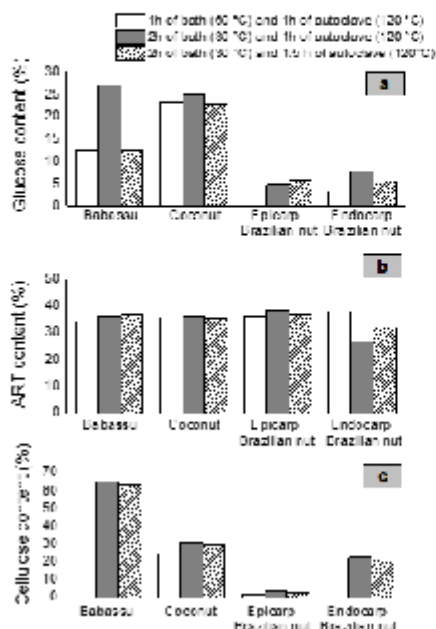


Fig. 1: Content of glucose, ART e cellulose.

Figure 2 shows the results of soluble, insoluble, and total lignin after different hydrolysis conditions. Unlike carbohydrates, for soluble lignin, the shortest reaction times favor the best results, except for the Brazil nut shell epicarp. Also, the trend followed for insoluble lignin (Klason), in which the highest yields were in less severe conditions. The total lignin that is the sum of the soluble and insoluble lignin obtained the same result.

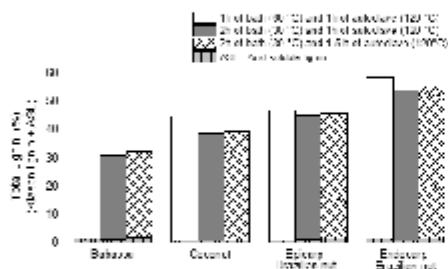


Fig. 2: Content of total lignin after different conditions.

These results show the high potential of these biomasses, as levels above 28% of ART were found and

above 30% for lignin, which strongly suggests that they can be used in biorefineries industries.

Figure 3 shows the X-ray diffractograms of the raw samples and the samples extracted at different extraction times. No major changes were observed between samples. We observed that, in general, after extraction some peaks became more prominent, increasing the crystallinity content of the samples.

The data obtained show that the biomasses presented crystalline cellulose percentages that varied between 25 and 40.0%; associated respectively with Brazil nut endocarp and with babassu extracted (24 and 12h). Has been reported a relation between a higher level of crystallinity and hydrolysis yields, which is given by the content of carbohydrates (ART); this indicates that the variation range of crystallinity affects the yield of hydrolyses. For example, Brazil nut endocarp, with less crystallinity, also had lower levels of ART and glucose. On the other hand, babassu, with higher levels of crystallinity, also had the highest values of glucose and ART.

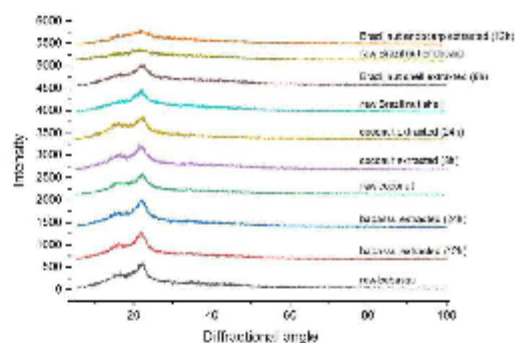


Fig. 3: Raios-x diffractograms.

IV. CONCLUSION

Given these results, we conclude that the NREL methodology needs to be adapted for each lignocellulosic biomass, as a considerable difference was found in optimizing primary and secondary hydrolysis. Extractive content also needs to be corrected for each specific biomass. High levels of polysaccharides were found in all fractions (except for the Brazil nut shell epicarp), showing that the residual biomasses of the Amazon region and the Brazilian Cerrado can provide a range of valuable products.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Federal University of Tocantins (UFT) and the PAP/Inova program of the Federal Institute of Education, Science and Technology of Tocantins (IFTO) for the technical support.

REFERENCES

- Ji Q., Yu X., Yagoub A. E. A., Chen L., Zhou C. (2020). Efficient removal of lignin from vegetable wastes by ultrasonic and microwave-assisted treatment with ternary deep eutectic solvent. *Industrial Crops & Products*, 149, 112357. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112357>.
- Shen F., Xiong X., Fu J., Yang J., Qiu M., Qi X., Tsang D. C. W. (2020). Recent advances in mechanochemical production of chemicals and carbon materials from sustainable biomass resources. *Renewable and sustainable energy reviews*, 130, 109944. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109944>.
- Sindhu R., Gnansounou E., Binod P., Pandey A. (2016). Bioconversion of sugarcane crop residue for value added products: An overview. *Renewable Energy*, 98, pp. 203–215. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2016.02.057>.
- Han X., Guo Y., Liu X., Xia Q., Wang Y. (2019). Catalytic conversion of lignocellulosic biomass into hydrocarbons: A mini Review. *Catalysis Today*, 319, pp. 2–13. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2018.05.013>.
- Kumari D., Singh R. Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: A critical Review. (2018). *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90, pp. 877-891. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.111>.
- Rezania S., Oryani B., Cho J., Talaiekhazani A., Sabbagh, F., Hashemi B., Rupani P. F., Mohammadi A. A. (2020). Different pretreatment technologies of lignocellulosic biomass for bioethanol production: an overview. *Energy*, 117457. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.energy.2020.117457>.
- Sluiter A., Hames, B., Ruiz R., Scarlata C., Sluiter J., Templeton D., Crocker D. NREL/TP-510-42618: Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. National Renewable Energy Laboratory (NREL): Golden, USA, 2008.
- Sluiter B., Ruiz C., Scarlata J., Sluiter D., Templeton D. NREL/TP-510-42619: Determination of extractives in Biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP). National Renewable Energy Laboratory (NREL): Golden, USA, 2008.
- El-Zawawy W. K., Ibrahim M. M., Abdel-Fattah Y. R., Soliman N. A., Mahmoud M. M. (2011). Acid and enzyme hydrolysis to convert pretreated lignocellulosic materials into glucose for ethanol production. *Carbohydrate Polymers*, 84, pp. 865–871. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.022>
- Kim J-Y., Hwang H., Oh S., Choi J. W. (2015). Structural features of lignin-rich solid residues obtained from two-step acid-hydrolysis of *Miscanthus* biomass (*Miscanthus sacchariflorus* Benth.). *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 30, pp. 302–308. Doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2015.05.037>.
- Kim S. M., Dien B. S., Tumbleson M. E., Rausch K. D., Singh V. (2016) Improvement of sugar yields from corn stover using sequential hot water pretreatment and disk milling *Bioresource Technology*, 216, pp. 706–713. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.003>.
- Gomes G. R., Rampon D. S., Ramos L. P. (2018). Production of Furan Compounds from Sugarcane Bagasse Using a Catalytic System Containing ZnCl₂/HCl or AlCl₃/HCl in a Biphasic System. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29 (5), pp. 1115–1122. Doi: <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20180014>.
- Rambo M. K. D., Rambo M. C. D., Melo P. M., Oliveira N. M. L., Nemet Y. K. S., Scapin E., Viana G. C. C., Bertuol, D. A. (2020). Sustainability of Biorefinery Processes Based on Baru Biomass Waste. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 31 (2), pp. 273-279. Doi: <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20190169>.
- Scapin E., Rambo M. K. D., Viana G. C. C., Borges M. S., Rambo M. C. D., Carneiro C. (2020) Production of Furanic Compounds and Organic Acids from Brazilian Pequi (*Caryocar brasiliensis* Camb.) Residues Using Green Chemistry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 31 (7), pp. 1383-1391. Doi: <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20200023>.
- Leandro R. I. M., Abreu J. J. C., Martins C. S., Santos I. S., Bianchi M. L., Nobre J. R. C. (2019). Elementary, Chemical and Energy Characteristics of Brazil Nuts Waste (*Bertholletia excelsa*) in the State of Pará. *Floresta e Ambiente*, ISSN 2179-8087 (online), 26(Spec n° 2): e20180436. Doi: <https://doi.org/10.1590/2179-8087.043618>.
- Rambo M. K. D., Alexandre G. P., Rambo M. C. D., Alves A. R., Garcia W. T., Baruaque E. (2015). Characterization of biomasses from the north and northeast regions of Brazil for processes in biorefineries. *Ciência e Tecnologia de Alimentos (Online)*, 35(4), pp. 605-611. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.6704>.
- Cabral M. M. S., Abud A. K. S., Silva C. E. F., Almeida R. M. R. G. (2016). Bioethanol production from coconut husk fiber. *Ciência Rural*, 46 (10), pp. 1872-1877. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20151331>.
- Cardoso Z. S. (2017). Avaliação das características químicas e eletroquímicas do etanol obtido do mesocarpo de coco babaçu para uso em células a combustível. *Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís*.
- Sluiter J. B., Ruiz R. O., Scarlata C. J., Sluiter A. D., Templeton D. W. (2010). Compositional Analysis of Lignocellulosic Feedstocks. I. Review and Description of Methods. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 58, pp. 9043–9053. Doi: [10.1021/jf1008023](https://doi.org/10.1021/jf1008023).
- Visvanathan R., Jayathilake C., Liyanage R. (2016). A simple microplate-based method for the determination of α -amylase activity using the glucose assay kit (GOD method). *Food Chemistry*, 211, pp. 853-589. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.090>.
- Trujillo A. I., Marichal M. J., Carriquiry M. (2010). Comparison of Dry Matter and Neutral Detergent Fiber

- Degradation of Fibrous Feedstuffs as Determined with in Situ and in Vitro Gravimetric Procedures. *Animal Feed Science and Technology*, 161, pp. 49-57.
- [22] Charlton A., Elias R., Fish S., Fowler P., Gallagher J. (2009) The biorefining opportunities in Wales: Understanding the scope for building a sustainable, biorenewable economy using plant biomass. *Chemical Engineering Research and Design*, 87(9), pp. 1147-1161, 2009. Doi: 10.1016/j.cherd.2009.06.013.
- [23] Macedo L. P. R., Rambo M. K. D. (2017). Biorrefinarias: caracterização de biomassas residuais do Tocantins por espectroscopia NIR aliada a Quimiometria visando a obtenção de insumos químicos e condicionadores de solo. *Desafios*, 3(especial), pp. 49-54. Doi: <http://dx.doi.org/10.20873/uft.2359-3652.2016v3nespp49>.
- [24] Rambo M. K. D., Almeida K. J. C. R., Rambo M. C. D., Baruque E. A. (2016). The Response Surface Methodology as a tool to optimize the extraction and acid hydrolysis processes applied to babassu residues. *RBPB. Revista Brasileira de Pós-Graduação*, 13(32), pp. 807-825.
- [25] Rambo M. K. D., Melo P. M., Ferreira M. M. C., Rambo M. C. D., Bertuole D. A., Mota V. L. (2020). Optimization of Alkaline, Acidic, Ionic Liquid and Oxidative Pretreatments for Coconut Waste Conversion into Fermentable Sugars. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 31(5), pp. 904-915. Doi: <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190254>.