

DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS DE PRÉ-TRATAMENTO DA BIOMASSA PARA A SEPARAÇÃO EFICIENTE DAS CORRENTES DE LENHINA E DE AÇÚCARES**Carvalho F., Lukasiak R.M., Duarte L.C., Roseiro L.B., Ribeiro B., Marques S., Bernardo J.R., Van-Dúnem V., Pires F., Costa D., Sanfins L., Gírio F.**Unidade de Bioenergia e Biorrefinarias, Laboratório Nacional de Energia e Geologia, I.P., Estrada do Paço do Lumiar 22, 1649-038 Lisboa, Portugal, florbela.carvalho@lneg.pt<https://doi.org/10.34637/cies2020.1.4082>

RESUMO

O fracionamento da biomassa é um dos principais pontos críticos no desenvolvimento das biorrefinarias. Neste trabalho, são apresentadas três estratégias inovadoras com vista à separação seletiva das frações de celulose, hemicelulose e lenhina, utilizando compostos orgânicos, geralmente em solução aquosa: i) utilização de líquidos iónicos (ILs) em particular [emim][OAc] e [emim][HSO₄]; ii) processos organosolv baseados na utilização de misturas etanol:água (50:50); e iii) um processo não aquoso baseado em imidazole. Os processos com ILs permitiram um fracionamento diferencial e, em geral, uma redução da cristalinidade da celulose. Os processos organosolv permitiram modular a distribuição de produtos derivados da hemicelulose e da lenhina entre as fases sólida e líquida. A utilização de imidazole, permitiu a separação das duas frações de polissacáridos e contribuiu para despolimerização da lenhina.

PALAVRAS-CHAVE: processos organosolv, líquidos iónicos, imidazole, biomassa residual, biorrefinarias

ABSTRACT

The biomass fractionation is one of the main critical points in the technological development of biorefineries. In this work, three innovative fractionation strategies aiming the selective separation of the cellulose, hemicellulose and lignin fractions, using organic compounds, generally in aqueous solution, are presented and discussed: i) use of ionic liquids (ILs), in particular [emim][OAc] and [emim][HSO₄]; ii) organosolv process based on ethanol:water mixture (50:50); and iii) a non-aqueous process based on imidazole. The processes with ILs allowed a differential fractionation and, in general a decrease of cellulose crystallinity. The organosolv process enabled the modulation of the distribution of hemicellulose and lignin-derived products between the solid phase and the liquid phase. The use of imidazole, allowed the separation of the two polysaccharide fractions and contributed to lignin depolymerization, producing phenolic compounds whose molecular weight is a function of severity.

KEYWORDS: organosolv processes, ionic liquids, imidazole, residual biomass, biorefinery

INTRODUÇÃO

A biomassa lenhocelulósica constitui uma fonte de matéria-prima renovável e alternativa aos recursos fósseis para produção de uma vasta gama de combustíveis, produtos químicos e materiais. No entanto, a sua recalcitrância natural dificulta o seu processamento (Sun et al., 2016), o que implica a utilização de processos de fracionamento/desconstrução. Este processamento de forma económica e eficiente, tem sido um dos principais objetivos de investigação nesta área na última década (Gírio et al., 2010), mas as abordagens já disponíveis impõem, em geral, a utilização de catalisadores pouco atrativos e/ou elevados custos energéticos. Assim, a procura de processos energeticamente eficientes utilizando catalisadores não perigosos e/ou solventes verdes para a separação seletiva de componentes poliméricos continua a ser um dos objetivos principais (Carvalho et al., 2016). Entre as várias abordagens possíveis e inovadoras, deve dar-se prioridade a processos passíveis de ocorrer a baixa temperatura (~140°C). De entre estas destaca-se a utilização de líquidos iónicos (ILs) devido à sua capacidade de dissolver biomassa lenhocelulósica pela disrupção das interações não covalentes entre hidratos de carbono e a lenhina. O principal efeito do IL no pré-tratamento da biomassa é a modificação da estrutura fibrilar das paredes celulares a fim de (i) diminuir a cristalinidade da celulose, (ii) aumentar a acessibilidade da superfície da celulose pela remoção de lenhina e/ou hemicelulose e (iii) promover um efeito de intumescimento da biomassa. Outra alternativa potencialmente viável consiste na utilização de misturas de água e solventes (processos *organosolv*), que permitem remover e despolimerizar seletivamente a lenhina e a hemicelulose a temperaturas relativamente baixas (120-160 °C) produzindo simultaneamente sólidos ricos em celulose, com elevada digestibilidade. Especificamente, o uso de misturas água/álcoois (e.g. etanol) constitui uma alternativa particularmente interessante. Finalmente, a utilização de solventes orgânicos sem qualquer adição de água é também uma alternativa vantajosa, nomeadamente pela poupança de água de processo potencialmente atingível.

Neste trabalho foram estudados dois tipos de ILs: um com o anião com propriedades alcalinas ([emim][OAc]) e outro com o anião constituído por uma base conjugada de um ácido Brønsted ([emim][HSO₄]). O primeiro apresenta capacidade para promover a dissolução da biomassa, permitindo a recuperação de três frações sólidas (celulose, hemicelulose e lenhina) e o segundo, em meio aquoso, com o objetivo de obter a conversão direta dos polissacáridos hemicelulósicos em açúcares e produzir um sólido rico em celulose e lenhina valorizável. Foi também estudada uma abordagem baseada num processo *organosolv*, usando como solvente uma mistura de etanol:água e ainda um processo baseado na utilização de imidazole como único solvente. Nos pré-tratamentos *organosolv* com misturas etanol:água foram utilizadas condições não catalisadas ou com a adição de catalisadores como o ácido acético ou sulfúrico em baixas concentrações. Estes processos foram estudados usando duas matérias-primas modelo, uma de origem agrícola (palha de trigo, WS) e outra de origem florestal (resíduos de eucalipto, ER), representativas na Europa, bem dispersas e disponíveis em quantidades significativas em regiões geográficas de curto raio de recolha.

MÉTODOS

Matérias-Primas

As amostras de biomassa modelo testadas foram gentilmente cedidas pela The Navigator Company (Cacia, Portugal), e pelo ECN>TNO (Países Baixos), respetivamente para os resíduos de Eucalipto (ER) e palha de trigo (WS).

Métodos de fracionamento

Processos com líquidos iónicos: Os ILs testados foram um IL ácido: hidrogenossulfato de 1-etil-3-metilimidazólio, [emim][HSO₄], e um IL básico: acetato de 1-etil-3-metilimidazólio, [emim][OAc]. Nos ensaios realizados com [emim][HSO₄], foram testadas soluções aquosas de ILs com diferentes razões [emim][HSO₄]/H₂O a 131 ou 140°C durante 90 min. Nos ensaios com [emim][OAc] as reações foram realizadas às temperaturas de 120 ou 140 °C, durante 2 h. A percentagem de biomassa na mistura reacional foi também diferente, sendo de 10 % (m/m) para os tratamentos com [emim][HSO₄] e de 5% (m/m) para o tratamento com [emim][OAc]. As reações foram realizadas em tubos de vidro de 15 mL (Supelco/Sigma-Aldrich, EUA), com agitação contínua num banho de óleo pré-aquecido à temperatura pretendida. No caso dos ensaios com [emim][HSO₄]), após a reação a mistura é arrefecida seguida da adição de água para precipitação das frações não-hidrolisadas. A mistura resultante é filtrada (filtros de nylon de 0,45 µm) e a fase líquida é utilizada para as análises de HPLC, enquanto que a biomassa sólida (pré-tratada) é lavada exaustivamente com água (100 mL). Os ensaios com [emim][OAc], foram realizados com base num procedimento previamente descrito (Magalhães da Silva et al., 2013). Os sólidos obtidos foram secos a 60 °C durante 24 h e posteriormente caracterizados quimicamente e para teste da digestibilidade enzimática.

Pré-tratamento organosolv: Estes tratamentos foram realizados em reatores de 600 mL, agitados, (Parr®, EUA) usando misturas etanol:água (50%, m/m) e uma razão líquido/sólido de 10 (m/m). Um primeiro conjunto de experiências foi realizado a 190°C, sem adição de catalisador, para um tempo de reação máximo de 2 h. Foram também realizadas experiências utilizando baixas concentrações de catalisador, ácido sulfúrico (50 mM) ou acético

ácido (50 mM-1 M), tendo-se também estudado o efeito da diminuição da temperatura de reação (140°C). Após arrefecimento, as frações líquida e sólida foram separadas por prensagem (até 200 bar). A polpa resultante, após lavagem (mistura etanol: água e água, sequencialmente) é seca a 45°C e guardada para análise química posterior e avaliação da digestibilidade enzimática. O hidrolisado e o primeiro solvente de lavagem são guardados para análise por HPLC. A lenhina dissolvida foi recuperada por precipitação com água (4:1, m/m), seguida de incubação (30°C, 2 h, 150 rpm) e recolhida por centrifugação a 6000 g durante 15 min. O *pellet* foi seco a 45°C (48 h).

Pré-tratamento com imidazole: Este tratamento teve por base a metodologia referida acima para o IL básico, utilizando frascos Schott de 50 mL, com agitação contínua, contendo uma razão biomassa:imidazole de 1:9 (m/m). As temperaturas de pré-tratamento variariam entre os 130-160°C, e o tempo de reação entre 2 a 4 h. Após arrefecimento (até 110°C), foram adicionados 90 mL de água destilada, e a mistura é transferida para frascos de 500 mL onde é aplicada uma agitação vigorosa durante 1 h. O licor resultante é filtrado, sob vácuo, e a fração celulósica resultante lavada com 135 mL de etanol (96%). Para a regeneração da hemicelulose, fez-se evaporação da água (sob vácuo) até um volume final de 45 mL. Em seguida, o pH da solução foi ajustado para 6,8 (HCl 25%, m/m) e foram adicionados 135 mL de etanol 96% para favorecer a precipitação da hemicelulose. Analogamente à regeneração da celulose, a solução contendo hemicelulose precipitada foi filtrada e a hemicelulose sólida foi lavada com 135 mL de etanol (96%). A celulose e hemicelulose foram secas numa estufa a 45°C durante 24 h. O etanol presente foi evaporado sob vácuo e o pH da solução foi ajustado para 2 com HCl, de modo a regenerar a fração da lenhina. A solução foi mantida a 70 °C durante 30 min com agitação contínua, e a filtração da solução quente foi feita para recuperar a lenhina presente.

Hidrólise enzimática:

A digestibilidade enzimática dos sólidos pré-tratados foi avaliada através da hidrólise enzimática usando a enzima Cellic CTec2 (199,9 FPU·mL⁻¹) gentilmente fornecida pela Novozyme (Dinamarca). As condições base dos ensaios foram fixadas para uma carga de enzima de 10% (m/m celulose) e incubação a 180 rpm e 50 °C durante 72 h. A mistura reacional contém tampão citrato 0,05 M, pH 5,0 e 0,02% m/v de azida de sódio. Imediatamente após o ensaio as enzimas são inativadas, e após filtração (filtros de nylon de 0,22 µm), os hidrolisados são analisados por HPLC, sendo as concentrações finais de açúcares corrigidas com brancos de substrato e de enzima.

Caraterização química

As matérias-primas e os sólidos tratados foram caracterizados por métodos baseados nos protocolos NREL (Sluiter et al., 2011; Sluiter et al. 2008a). A composição química das amostras líquidas (hidrolisados obtidos a partir dos pré-tratamentos, hidrólise enzimática e de análise quantitativa das matéria-prima e biomassa pré-tratada) foram analisados por HPLC (Agilent 1110 series, Alemanha) utilizando uma coluna Bio-Rad Aminex HPX-87H (Hercules, CA, EUA). A detecção foi realizada usando um detetor de índice de refração para quantificar monossacáridos (glucose, xilose e arabinose) e ácido acético e um detetor de fotódiodos (280 nm) para quantificar furanos (furfural e 5-hidroximetilfurfural). A caraterização qualitativa do perfil de compostos fenólicos de baixa massa molecular presentes nos hidrolisados foi feita por eletroforese capilar (CZE), conforme descrito em (Roseiro et al., 2013). A avaliação da cristalinidade da celulose presente nas biomassas não tratadas e materiais pré-tratados foi realizada por difração de raios-X (XRD) como descrito anteriormente (Bernardo et al., 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Fig. 1 apresenta a composição química das duas matérias-primas utilizadas neste trabalho, tendo ambas um teor elevado de polissacáridos (cerca de 60%). Os ER destacam-se no entanto por apresentarem um teor de glucano (i.e. celulose) mais elevado, bem como de lenhina. No entanto, esta biomassa é praticamente desprovida de cinza, contrariamente à palha de trigo que apresenta um valor relativamente elevado (11,4%).

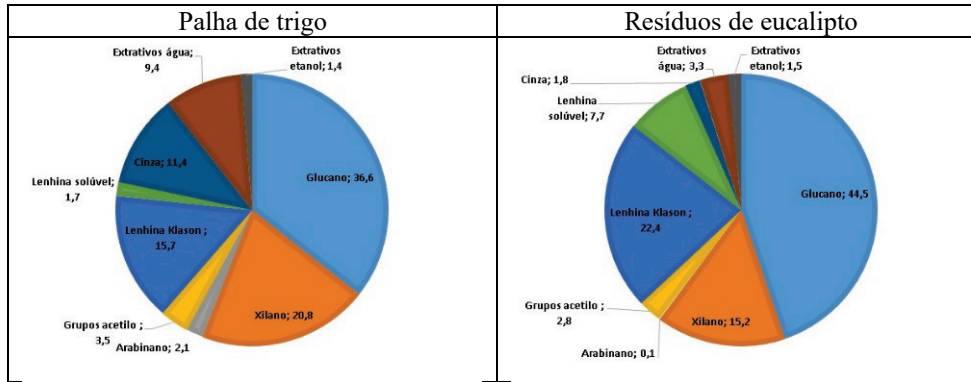


Fig 1 – Composição química das matérias-primas

Embora com algumas diferenças, ambas as matérias-primas apresentam composições químicas muito interessantes para utilização em processos conducentes à recuperação da lenhina e de açúcares.

Processos com líquidos iónicos

O tratamento da biomassa com [emim][HSO₄] permitiu a integração do pré-tratamento com a hidrólise e conversão num único passo. O carácter ácido do anião [HSO₄] do IL, promove a hidrólise seletiva da hemicelulose com formação de pentoses com um rendimento acima de 80% do teórico (a 131°C, 58,7% de água e 88 min de reação). A abordagem com IL básico [emim][OAc] realizada à temperatura de 120°C e 2 h, permitiu a dissolução da biomassa em frações ricas em celulose, hemicelulose e lenhina.

Para as condições otimizadas, os sólidos ricos em celulose foram sujeitos a hidrólise enzimática. Os resultados comparativos, obtidos com as biomassas nativas e os sólidos pré-tratados, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Digestibilidade enzimática (%) das biomassas tratadas com os processos baseados em líquidos iónicos sob condições otimizadas

Material	Após tratamento em condições otimizadas	
	[emim][HSO ₄]	[emim][OAc]
WS	61,6 ± 0,2	93,1 ± 4,1
ER	7,9 ± 0,3	82,9 ± 1,2

Pode observar-se claramente que o pré-tratamento com [emim][HSO₄] quando comparado o de [emim][OAc] foi menos eficiente tanto para a WS como para os ER. No entanto, a redução da digestibilidade enzimática foi menos afetada para WS do que para ER. Este facto, levou ao estudo das propriedades da biomassa, nomeadamente da cristalinidade da celulose, dado que esta tem sido referida como um dos fatores mais importantes na eficiência da hidrólise enzimática, pois uma maior cristalinidade da celulose dificulta o ataque enzimático. Os resultados obtidos por difração de raios-X, mostram que os ILs, em particular o [emim][OAc], como reagente alcalino tem capacidade de alterar a estrutura da celulose I para celulose II, o que não se observa no caso de processos com ácidos, como é o caso de [emim][HSO₄].

Processo organosolv com misturas etanol:água

A Tabela 2 apresenta os a cinética do processo organosolv utilizando etanol:água como solvente quando operado a 190° C, sem adição de catalisador. Pode observar-se que a percentagem de deslenhificação aumentou com a severidade do processo para ambas as matérias-primas, atingindo 59,0% e 70,9%, respetivamente para WS e ER ao fim de 120 min. Além da deslenhificação, estes tratamentos organosolv também dão origem a uma hidrólise parcial da hemicelulose, medida aqui pela solubilização do xilano (Xn), que aumenta até atingir valores próximo de 50% para ambas as matérias-primas, mas ligeiramente mais elevados para os ER. Pelo contrário, a celulose (glucano, Gn) foi retida principalmente na fase sólida, obtendo-se uma solubilização, no máximo de 14,2%.

Tabela 2. Fracionamento das biomassas palha de trigo (WS) e resíduos de eucalipto (ER) utilizando o processo organosolv etanol:água (190° C, sem catalisador)

Material	Tempo de reação (min)	pH	Rend. em sólido (%)	Gn solub. (%)	Xn solub. (%)	Deslenhificação (%)
WS	0	5,6	86,4	6,6	9,1	19,8
	15	5,2	78,8	9,8	28,0	34,3
	30	5,1	74,9	6,7	48,8	40,7
	60	4,9	66,7	18,9	46,0	46,8
	120	4,5	62,8	14,2	44,6	59,0
ER	0	5,0	87,6	11,3	14,1	26,1
	15	4,5	68,9	25,4	39,8	45,8
	30	4,0	68,6	22,3	59,3	58,8
	60	4,1	63,7	17,8	47,3	64,4
	120	4,0	58,4	12,5	51,5	70,9

Conseqüentemente, os gluco-oligossacáridos (GlcOs) e a glucose (Glc) são apenas produzidos em pequenas quantidades, bem como o HMF. A Figura 2 apresenta-se como exemplo os resultados da distribuição de produtos obtidos para o ER neste fracionamento. Como não foi adicionado qualquer ácido, o comportamento observado pode estar relacionado a uma maior capacidade tampão do WS em relação ao ER, o que pode estar relacionado com o maior teor de cinzas encontrado na WS. Devido à hidrólise da hemicelulose, ocorre uma produção relevante de (arabino)xilo-oligossacáridos (A)XOS, que pode representar cerca de 50% dos açúcares hemicelulósicos recuperados (30 min). A produção de furfural é praticamente desprezável para a maioria das condições testadas (Fig. 2).

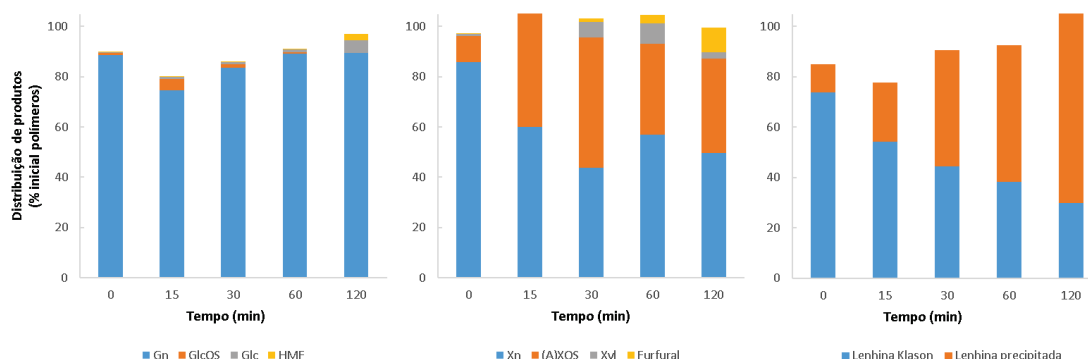


Fig. 2. Distribuição de produtos obtidos a partir do fracionamento organosolv etanol:água (sem catalisador) dos resíduos de eucalipto (ER)

É também importante destacar que o processo produziu uma fração de lenhina solúvel que foi facilmente recuperada por precipitação com água (Fig. 2). A lenhina precipitada pode atingir até 54,8 e 81,8% da lenhina insolúvel, para WS e ER, respectivamente. Além dessa lenhina precipitada, também foram encontrados, por eletroforese capilar, compostos fenólicos de baixo peso molecular com potencial valor acrescentado. Na Figura 3 apresenta-se como exemplo o eletroferograma obtido para a WS. Entre os vários compostos identificados encontram-se a vanilina, tricina, e ácido cumárico. No caso dos hidrolisados de eucalipto foi ainda possível encontrar siringaldeído.

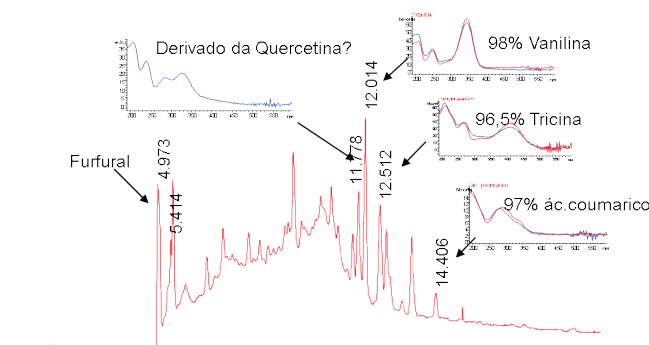


Fig. 3. Eletroferograma dos compostos fenólicos de baixa massa molecular obtido para os hidrolisados organosolv de palha de trigo (sem catalisador)

De modo a avaliar o efeito de baixas concentrações de catalisador nos rendimentos de deslenhificação e na produção de açúcares foi estudada a adição de ácido acético para os dois materiais. Os resultados obtidos demonstram que a utilização de ácido acético (entre 50-1000 mM) teve efeito no aumento da deslenhificação, com aumentos de 59% para 65% (WS) e de 71% para 79% (ER, dados não apresentados), em simultâneo com uma recuperação de lenhina solúvel elevada. Nas melhores condições, esses valores podem chegar a 67,6% e 79,2% da lenhina inicial, respetivamente para WS e ER. Além disso, este ácido orgânico apresentou um efeito importante na solubilização do xilano, embora a recuperação de oligo- e monossacáridos diminua, quando comparados com os processos não catalisados, o que sugere que nestes casos a presença de diversas reações de degradação é mais elevada. Isto é corroborado pelo aumento das concentrações de furfural encontradas, para além de se postular a ocorrência de outras reações de degradação, originando outros produtos não identificados. Os dados obtidos mostram também que, ao contrário dos processos não catalisados, podem ser obtidas frações de celulose de maior pureza (particularmente no caso do ER, Fig. 4).

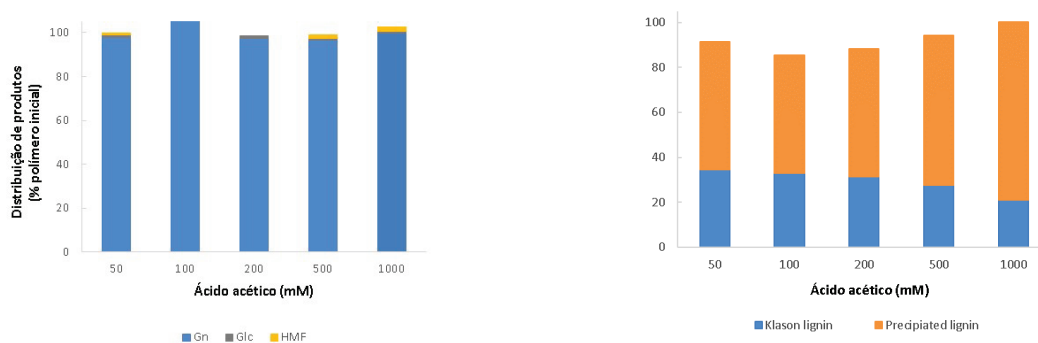


Fig. 4. Distribuição de produtos obtidos a partir do fracionamento organosolv etanol:água dos resíduos de eucalipto (ER) utilizando ácido acético como catalisador

A diminuição da temperatura de reação de 190°C para 140°C (Tabela 3), levou a uma diminuição significativa da hidrólise do xilano e deslenhificação, em particular quando não é utilizado catalisador ou na presença de baixas concentrações de ácido acético. Nestes casos, a deslignificação alcançada é baixa. Contrariamente ao ácido acético, o ácido sulfúrico tem um efeito relevante a esta temperatura, levando à hidrólise do xilano de 71% (WS) ou 100% (ER) e rendimentos de deslenhificação de 72% (WS) e 74% (ER). É de destacar que neste caso o rendimento em açúcares é superior ao obtido a temperaturas mais elevadas, provavelmente pela diminuição das reações de degradação. Também a lenhina recuperada por precipitação aumenta quando é utilizado ácido sulfúrico na concentração de 50 mM, atingindo 95%, no caso dos ER.

Tabela 3. Fracionamento das biomassas palha de trigo (WS) e resíduos de eucalipto (ER) utilizando processos organosolv etanol:água (sem catalisador e com ácido acético ou ácido sulfúrico como catalisador, 140°C, 2 h)

Condições de operação				Rendimento em sólido (%)	Gn solub. (%)	Xn solub. (%)	Deslenhificação (%)
Materia l	T (°C)	Catalisador	pH				
WS	140	-	5,3	84,6	n.a	n.a.	n.a.
	140	CH ₃ COOH, 50 mM	5,1	89,5	19,6	13,6	12,0
	140	H ₂ SO ₄ , 50 mM	2,0	54,4	0	71,1	72,4
ER	140	-	4,6	92,5	6,6	0	14,1
	140	CH ₃ COOH, 50 mM	4,2	91,6	7,2	0	20,3
	140	H ₂ SO ₄ , 50 mM	1,7	49,8	5,5	100	74,4

Para avaliação da eficiência dos pré-tratamentos organosolv foi também foi determinada a sacarificação enzimática. Os rendimentos de sacarificação dos sólidos pré-tratados estão apresentados na Tabela 4. Por uma questão de simplificação são apenas apresentados os resultados mais relevantes e para o tempo de reação de 2 h. A 190°C (sem adição de catalisador), a conversão enzimática da celulose em glucose atinge respetivamente valores de 68,5% e 71,7% para WS e ER. Estes valores representam um aumento próximo de 5 e 7 vezes em comparação com as matérias-primas originais. A adição de ácido acético como catalisador produz aumento dos rendimentos de sacarificação enzimática da WS, mesmo quando o pré-tratamento é realizado com apenas 50 mM de ácido acético (3 g/l), obtendo-se neste caso um aumento de 27%. Esta tendência mantém-se com o aumento da concentração de ácido acético, obtendo-se o rendimento de sacarificação de 99,5%, para 0,5 M de ácido acético (dados não apresentados).

Tabela 4. Sacarificação enzimática das polpas de palha de trigo (WS) e resíduos de eucalipto (ER) obtidas partir do fracionamento organosolv etanol:água (190°C, sem catalisador, 190°C, ácido acético como catalisador e 140°C, ácido acético ou ácido sulfúrico a como catalisadores)

Material	Condições de operação		Sacarificação enzimática (%)
	T (°C)	Catalisador	
WS	190	-	68,5
	190	CH ₃ COOH, 50mM	86,9
	140	CH ₃ COOH, 50mM	37,2
	140	H ₂ SO ₄ , 50 mM	82,6
ER	190	-	71,7
	190	CH ₃ COOH, 50mM	68,5
	140	CH ₃ COOH, 50mM	15,3
	140	H ₂ SO ₄ , 50 mM	54,4

Os aumentos nos rendimentos de sacarificação podem estar relacionados com um ligeiro aumento do rendimento de deslenhificação mas também com o aumento da despolimerização e hidrólise do xilano a esta temperatura, provavelmente permitindo um acesso facilitado à celulose. No entanto, para os ER não foi observada a mesma tendência embora tenha ocorrido uma hidrólise completa do xilano para aqueles materiais. Os rendimentos de sacarificação obtidos para as polpas do tratamento organosolv com etanol a 140°C foram significativamente mais baixos. Na verdade, no caso em que foi utilizado catalisador, os rendimentos de sacarificação são apenas ligeiramente superiores aos obtidos para a matéria-prima, 20,4% vs 14,2% e 15,3% vs 10,6%, para WS e ER, respectivamente. Nessa temperatura, somente com a adição de ácido sulfúrico como catalisador é possível obter valores significativos de sacarificação enzimática (82,6% para WS e 54,4% para ER). Para além deste ensaios, foi realizado um conjunto adicional de experiências em que ocorreu uma diminuição da dose de enzima para 5%. Tal como descrito para outros pré-tratamentos, isso induziu uma diminuição ligeira a moderada (máximo de 20%) dos rendimentos de sacarificação (dados não apresentados), que, numa aplicação industrial, será facilmente compensada pela redução dos custos com a aquisição dos enzimas.

Processo de fracionamento com Imidazole

Todos os ensaios com imidazole resultaram na obtenção de duas frações sólidas constituídas principalmente por polissacáridos (celulose e hemicelulose). Os resultados obtidos, mostram que a temperatura é a variável mais influente no processo. No caso da WS e da fração rica em celulose um aumento na temperatura de 130°C para 160°C levou a um aumento no teor de celulose até $55,1 \pm 0,1\%$ (m/m). No caso da fração hemicelulósica o seu teor em hemicelulose aumenta de $52,1\% \pm 0,7$ para $61,4\% \pm 1,0\%$ (m/m), também com o mesmo aumento da temperatura. No caso da lenhina os rendimentos de deslenhificação chegaram até $85,9 \pm 0,8\%$ (m/m). A comparação do rendimento de deslenhificação e rendimentos de sacarificação de ER e WS está apresentada na Tabela 5. O rendimento de sacarificação mais elevado foi obtido para a polpa WS obtida a 160°C.

Tabela 5. Fracionamento das biomassas de WS e ER utilizando processos de fracionamento com imidazole

Material	Condições de operação		Rendimento		
	T (°C)	Tempo (h)	Deslenhificação (%)	Hidrólise de Gn (%)	Hidrólise de Xn (%)
WS	130	4	61,0±0,5	75,2±0,5	54,9±1,0
	145	3	69,4±0,4	86,7±0,8	62,1±1,1
	160	4	85,9±0,8	93,3±1,5	77,3±0,8
ER	130	4	14,7±0,2	40,5±0,8	41,1±0,9
	145	3	13,0±0,1	40,7±0,5	41,5±1,0
	160	4	22,3±0,3	40,6±0,9	39,9±1,1

Contrariamente à WS, para os ER as condições de pré-tratamento não têm influência nos rendimentos de sacarificação e um rendimento semelhante de glucano e glucose, i.e., ca. 40% foi obtido para todas as condições de processamento. Os dados indicam claramente que os ER são mais resistentes ao processamento com o imidazole o que está de acordo com o que se observou no caso do processamento com ILs.

CONCLUSÕES

Os pré-tratamentos com ILs permitiram a redução da recalcitrância da biomassa e da cristalinidade da celulose, típica da biomassa nativa, o que permitiu um aumento significativo dos rendimentos de hidrólise enzimática. Os resultados obtidos com o IL ácido mostraram a possibilidade de uma integração do pré-tratamento, hidrólise e conversão da

biomassa num passo único. O carácter ácido do grupo $[\text{HSO}_4^-]$ promoveu uma despolimerização seletiva da hemicelulose, obtendo-se sólidos contendo principalmente celulose e lenhina. O IL básico ($[\text{emim}][\text{OAc}]$) permitiu a dissolução total da biomassa e o fracionamento da celulose, hemicelulose e lenhina.

O processo organosolv permite obter rendimentos elevados em produtos, tanto para WS como para ER, demonstrando não ser significativamente dependente do tipo de biomassa, ao contrário do processo baseado em IL, sendo eficiente, mesmo na ausência de catalisadores, onde ocorre uma hidrólise significativa de hemicelulose com a produção de oligossacáridos como produtos principais, o que tem impacto positivo na economia do processo. A catálise ácida, mesmo a baixas concentrações e temperaturas (140°C), tem um impacto positivo na deslenhificação e na sacarificação da celulose, mas faz diminuir a recuperação de hemicelulose em produtos de valor acrescentado.

O processo baseado em imidazole, à semelhança do processo com ILs é mais dependente do tipo de matéria-prima, sendo especialmente interessante para a WS e muito pouco eficaz para o ER.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pelo projeto AMBITION (“Advanced biofuel production with energy system integration Work”), Contrato no. 731263 do Programa H2020, tendo sido efetuado na Infraestrutura de Investigação para a Biomassa e a Bioenergia (BBRI - Biomass and Bioenergy Research Infrastructure)- LISBOA-01-0145-FEDER-022059, financiada pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) através do Programa Operacional para a Competitividade e Internacionalização (PORTUGAL2020), do Programa Operacional Regional Lisboa Portugal (Lisboa 2020) e do Programa Operacional Regional Norte Portugal (Norte 2020) sob o acordo de parceria Portugal 2020. Este trabalho foi também financiado pelo projeto Investigador FCT - IF/00471/2015 (RML). Os autores agradecem a ajuda prestada pela técnica Céu Penedo.

REFERÊNCIAS

Bernardo JR, Gírio FM, Łukasik RM (2019). The effect of the chemical character of ionic liquids on biomass pre-treatment and posterior enzymatic hydrolysis. *Molecules*, 24: 808

Carvalho, F.; Duarte, L.C.; Gírio, F.M.; Moniz, P. (2016). Hydrothermal/liquid hot water pretreatment (autohydrolysis): a multi-purpose process for biomass upgrading. In S.I. Mussatto (Ed.), *Biomass fractionation technologies for a lignocellulosic feedstock based biorefinery*. Elsevier, First Edition, 315-347

Gírio, F.M., Fonseca, C., Carvalho, F., Duarte, L.C., Marques, S., Bogel-Łukasik, R. (2010). Hemicelluloses for fuel ethanol: a review. *Bioresour. Technol.* 101, 4775–4800.

Magalhães da Silva, S. P.; da Costa Lopes, A. M.; Roseiro, L. B.; Bogel-Lukasik, R. (2013) Novel pre-treatment and fractionation method for lignocellulosic biomass using ionic liquids. *RSC Adv.* 3, 16040-16050.

Roseiro LB, Tavares CS, Roseiro JC, Rauter AP. (2013). Antioxidants from aqueous decoction of carob pods biomass (*Cerentonia siliqua* L.): Optimisation using response surface methodology and phenolic profile by capillary electrophoresis. *Ind Crops Prod* 44,119-126.

Sluiter, A.; Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D.; Crocker, D. (2011) Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass - Laboratory Analytical Procedure (LAP); NREL/TP-510-42618; National Renewable Energy Laboratory: Golden, Colorado, USA.

Sluiter, A.; Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D. (2008a) Determination of ash in biomass; NREL/TP-510-42622; National Renewable Energy Laboratory: Golden, Colorado, USA

Sluiter, A.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D. (2008b) *Determination of extractives in biomass*; NREL/TP-510-42619; National Renewable Energy Laboratory: Golden, Colorado, USA.

Sun, S.; Sun, S.; Cao, X.; Sun, R. (2016) The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. *Bioresour. Technol.*, 199, 49–58.