

APROVEITAMENTO INTEGRAL DE PENTOSSES E HEXOSSES PARA PRODUÇÃO DE ETANOL 2G

Leriane Reis Kemita¹, Bruna Pratto¹

¹ Departamento de Engenharia Química, Centro Universitário FEI
lerianer@hotmail.com; brunapratto@fei.edu.br

Resumo: Frações líquidas oriundas do pré-tratamento de biomassas lignocelulósicas, geralmente descartadas, apresentam considerável concentração de açúcares fermentescíveis. Assim, o presente trabalho visa aproveitar as frações de pentoses e hexoses de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado para a produção de etanol 2G. Averigua-se uma concentração de aproximadamente 12 g/L de etanol após as etapas de hidrólise, isomerização e fermentação. A eficiência de fermentação foi relativamente baixa, devido à inibição da levedura por compostos inibitórios presentes na biomassa pré-tratada.

1. Introdução

A produção de biocombustíveis fornece uma rota sustentável e renovável para minimizar o uso de combustíveis fósseis que representam grande parcela de energia consumida no mundo. Entretanto, com alta demanda global e pelo fato de ser oriundo de materiais lignocelulósicos presentes em larga escala no setor alimentício, o etanol 2G se faz promissor, cujo intuito é o aproveitamento máximo dos açúcares fermentescíveis presentes em biomassas lignocelulósicas sem a necessidade de maior área de plantação [1]. A etapa de pré-tratamento gera frações líquidas que muitas vezes são descartadas, mas que apresentam considerável concentração de pentoses, as quais poderiam ser utilizadas para a obtenção de biocombustíveis. Desta forma, o pré-tratamento, a hidrólise e a fermentação em condições otimizadas serão necessárias. Além disso, sabe-se que, o açúcar presente no hidrolisado, xilose, não é metabolizado pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* como a glicose proveniente da fração sólida por exemplo, desta forma, a estratégia do presente trabalho consiste em obter o seu isômero xilulose, este por sua vez, é metabolizado pela levedura, maximizando de fato a conversão em etanol 2G. Essa etapa é feita junto a hidrólise enzimática. Por fim, a fermentação quantifica de fato quanto de açúcar foi convertido em biocombustível.

2. Metodologia

O bagaço de cana-de-açúcar foi pré-tratado, em autoclave (121°C/1,2 atm) empregando ácido sulfúrico diluído (1,4% w/w) na proporção 1:10 ($m_{\text{biomassa seca}}/V_{\text{solução ácida}}$) durante 56 minutos de reação. Esta condição foi estabelecida previamente por otimização de um planejamento experimental.

Em seguida, com a obtenção das frações sólidas e líquidas, faz-se necessário a caracterização química de ambas, seguindo o procedimento analítico descrito em [2] para a fração sólida e em [3] para a fração líquida.

O meio a ser hidrolisado foi constituído pela suspensão da biomassa pré-tratada com hidrolisado

hemicelulósico (fração líquida oriunda do pré-tratamento) para a conversão de celulose em monômeros de glicose, xilo-oligômeros em xilose.

Os ensaios foram realizados em frascos de Erlenmeyers de 500 mL agitados a 250 rpm e 50 °C por 48 h, com volume reacional de 100 mL, contendo 15% (m/v) de biomassa pré-tratada e 20 FPU/g_{celulose} de extrato enzimático comercial *Cellic@CTec2*, mantidos em pH 5,0 (tampão citrato ou hidrolisado hemicelulósico). Nesta etapa foi avaliado o efeito de diferentes porcentagens (0 a 100 %) do hidrolisado hemicelulósico em substituição ao tampão citrato sobre a concentração de açúcares redutores e etanol.

Após o tempo de reação de hidrólise enzimática, a temperatura e o pH foram ajustados para 60 °C e 6,5, respectivamente, e a xilose isomerase GENSWEET SGI (120 UI/gxilose) foi adicionada para a isomerização da xilose em xilulose, haja vista que, a xilose não é metabolizada por *Saccharomyces cerevisiae*, já a xilulose é fermentada pela levedura. Assim, esta configuração foi mantida por 24 h. O meio reacional foi suplementado com a adição de CoCl₂.6H₂O (0,1 g/L), composto importante para a estabilidade da XI baseado em [4].

Para dar-se início à fermentação fez-se necessário a preparação da levedura *S. cerevisiae*, no qual foi ativada a 34 °C, 250 rpm por 4,5 h em meio YPD. Na sequência, o pH e temperatura do meio hidrolisado foi ajustado para 5,0 e 34 °C e nutrientes contendo (em g/L): 5,6 de KH₂PO₄; 1,4 de MgSO₄.7.H₂O; 6,8 de extrato de levedura; 5,32 de ureia foram adicionados antes da inoculação da levedura. *S. cerevisiae* ativada (10 g/L) foi adicionada ao meio hidrolisado e a fermentação ocorreu por 24 h.

Ao longo da reação, foram retiradas alíquotas em intervalos de tempo pré-definidos para análise de açúcares redutores e etanol. Açúcares redutores foram quantificados pelo método DNS e etanol por cromatografia gasosa.

3. Resultados e Discussões

Inicialmente, realizou-se a caracterização da fração sólida e fração líquida de bagaço pré-tratado. As composições das frações estão apresentadas na tabela 1, no qual, a fração sólida é quantificada em porcentagem do inteiro, resultando em 100%.

Tabela 1 – Condição otimizada do pré-tratamento

Fração sólida (%)		Fração líquida (g/L)	
Celulose	60,45	Xilose	18,5
Hemicelulose	11,61	Glicose	2,07
Lignina solúvel	4,31	Ácido acético	3,82
Lignina Insolúvel	22,67	Ácido fórmico	0,24
Cinzas	0,96	Furfural	0,85

Como foi quantificado grande quantidade de açúcares fermentescíveis em ambas as frações, deu-se início a hidrólise enzimática, no qual o bagaço foi submetido a três meios distintos, o primeiro com 100% tampão citrato, o segundo com 50% tampão e 50% hidrolisado hemicelulósico e o terceiro 100% hidrolisado hemicelulósico para averiguar maior eficiência de fermentação.

A figura 1 mostra a produção de açúcares redutores durante a etapa de hidrólise enzimática e isomerização da xilose, haja vista que, quantifica-se a quantidade de glicose e xilose como açúcares redutores.

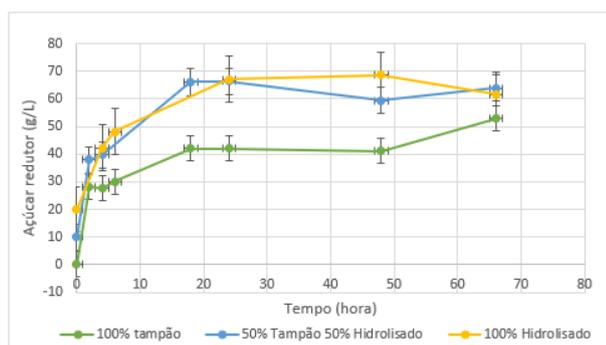


Figura 1 – Produção de açúcar redutores na hidrólise enzimática

Observa-se em todos os ensaios um aumento no teor de açúcar, entretanto, nota-se que, há maior concentração de açúcares redutores nos ensaios em que o hidrolisado hemicelulósico foi misturado à biomassa. Esse fato é explicado pela presença de xilose no início da reação.

Os hidrolisados foram submetidos à fermentação. A Tabela 2 apresenta os resultados da concentração de etanol obtida em diferentes tempos de reação, obtendo maiores concentrações de etanol no instante de 48 horas reacionais, mas, nos demais tempos não há grande discrepância nesses valores.

Tabela 2 – Concentração de etanol (em g/L) na fermentação

Ensaio	3 horas	6 horas	48 horas
100% tampão	9,91	9,56	10,57
50% hidrolisado 50% tampão	10,81	11,03	13,11
100% hidrolisado	10,32	8,87	11,61

Os diferentes meios continham distintas concentrações de açúcares no início do processo, desta forma, a Tabela 3 apresenta a eficiência de etanol, baseando-se na concentração teórica de etanol de acordo com a quantidade de açúcares presentes em cada ensaio, conforme apresentado na Figura 1.

Tabela 3 – Eficiência de fermentação

Ensaio	Eficiência de fermentação
100% tampão	40,2%
50% hidrolisado 50% tampão	42,1%
100% hidrolisado	48,7%

Observa-se que a eficiência de fermentação foi baixa, possivelmente pelo fato de produtos fenólicos e inibidores prejudicarem a atividade metabólica de microrganismos. Tais produtos são verificados (Tabela 1) tanto na biomassa quanto no hidrolisado hemicelulósico utilizado como substrato para a fermentação.

Os compostos inibidores alteram a permeabilidade celular, levando à ruptura da membrana que causa a liberação extracelular de proteínas, RNAs, ATP, ADP e íons, diminuindo assim a produção do etanol [5].

4. Conclusões

Averigua-se que de fato há inúmeras variantes no qual podem beneficiar ou não a quantidade obtida de etanol. Além disso, as enzimas em condições ótimas obtiveram influência direta nos valores finais de hidrólise, que variaram de aproximadamente 40 g/L a 65 g/L de açúcares redutores, acarretando a conversão destes em etanol. Por sua vez, a concentração de etanol foi abaixo do esperado provavelmente devido à presença de produtos de inibição no hidrolisado. Como futuras etapas sugere-se a destoxificação do hidrolisado, para remoção dos produtos de degradação que porventura inibem a bioconversão dos açúcares em etanol.

5. Referências

- [1] MILESSI, T. S. et al. Continuous 2G ethanol production from xylose in a fixed-bed reactor by native *Saccharomyces cerevisiae* strain through simultaneous isomerization and fermentation. *Cellulose*, v. 7, 27 mar. 2020.
- [2] Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., Crocker, D., 2008. **Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass**. Technical Report NREL/TP-510-42618.
- [3] Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D. 2006. **Determination of sugars, byproducts, and degradation products in liquid fraction process samples**. Technical Report NREL/TP-510-42623.
- [4] SILVA, C. R. et al. **An innovative biocatalyst for production of ethanol from xylose in a continuous bioreactor**. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 50, n. 1, p. 35–42, 2012.
- [5] PRATTO, B. et al. Biobutanol production from sugarcane straw: Defining optimal biomass loading for improved ABE fermentation, v. 148, p. 112265, 2020.

Agradecimentos

À instituição Centro Universitário FEI pela colaboração, incentivo e suporte a todos os procedimentos desse trabalho.

¹ Aluno de IC do Centro Universitário FEI. Projeto com vigência de 09/2021 a 08/2022.