

AVALIAÇÃO DO BAGAÇO E BIOMASSA DE GENÓTIPOS DE SORGO SACARINO PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL CELULÓSICO

T. F. PACHECO¹, S. B. GONÇALVES¹, C. M. M. MACHADO¹, R. A. C. PARRELLA²

¹ Embrapa Agroenergia

² Embrapa Milho e Sorgo

E-mail para contato: thalyta.pacheco@embrapa.br

RESUMO – A viabilização do etanol celulósico depende da disponibilidade de biomassas com alta produtividade e estrutura química susceptível à desconstrução para produção de açúcares e posterior fermentação. Neste trabalho avaliou-se 4 genótipos de sorgo sacarino, BRS 506; 508; 509 e 511 para produção de etanol. Com esta finalidade, o bagaço e a biomassa dos materiais foram pré-tratados com H₂SO₄ (1,5 % v/v) a 121 °C/30 minutos, hidrolisados (Cellic CTec2, 15 FPU/g MS) a 50 °C/200 rpm/24 horas e fermentados (*S. cerevisiae* CAT-1). A glicose e o etanol produzidos foram quantificados por HPLC/RID. Após análise estatística dos resultados, observou-se que embora haja diferença significativa no teor de celulose do bagaço e da biomassa entre os genótipos avaliados, não há na conversão da hidrólise enzimática. Ao se considerar o bagaço e a biomassa como blocos separados, observou-se diferença entre os blocos, tendo os bagaços maior teor de celulose e hemicelulose, porém menor conversão de hidrólise enzimática. Assim, confirma-se a necessidade do uso de um processo integrado para seleção de matérias-primas na produção de etanol celulósico, já que a produção de açúcares fermentescíveis não está relacionada apenas à quantidade de celulose na biomassa inicial.

1. INTRODUÇÃO

A produção de etanol no mundo é basicamente proveniente de fontes amiláceas e sacarinas, sendo o milho e a cana-de-açúcar, respectivamente, seus principais representantes. O primeiro respondeu por mais de 58 milhões de m³ nos Estados Unidos enquanto o segundo por mais de 27 milhões de m³ no Brasil, totalizando 83,5% de toda produção mundial de etanol em 2013 (Renewable Fuels Association, 2014). Porém, toda essa produção corresponde a apenas 10% do consumo dos Estados Unidos de gasolina em 2010 (U.S. Energy Information Administration, 2014). Para um aumento significativo da participação do etanol no mercado de combustíveis será necessário um aumento da ofertadeste bioproduto, o que demandará uma produção ainda mais extensiva dessas culturas, o que implicaria num uso maior de terras férteis (cada vez mais escassas) para a produção desse biocombustível. Ou, alternativamente, o desenvolvimento de novas tecnologias.

Uma das possíveis soluções para esse dilema poderá ser a produção de etanol a partir de fontes lignocelulósicas (ex. florestas energéticas, resíduos agrícola-florestais e/ou culturas dedicadas). Porém, para se utilizar materiais lignocelulósicos como substratos para a fermentação alcoólica, deve-se superar a estrutura nativa da parede celular da biomassa, que dificulta o acesso das enzimas que hidrolisam a celulose a monômeros como glicose e xilose, substratos da fermentação alcoólica. Dessa forma, o processo de produção de etanol de celulose passa por diversas etapas, necessita de distintos insumos e, para que este seja viabilizado, diferentes áreas interdependentes e multidisciplinares deverão ser estudadas. Um dos gargalos desse processo é a identificação e desenvolvimento de espécies que possuam, além de composição da parede celular desejável, alta produtividade em sistemas de produção sustentáveis (U.S. Department Of Energy, 2006).

A cultura do sorgo sacarino tem se mostrado uma opção na produção de bioenergia, recomendado para cultivo em áreas de reforma de canaviais, visando fornecer matéria-prima para produção de etanol na entressafra da cana-de-açúcar. Apresenta as vantagens de ser uma cultura de ciclo rápido (quatro meses) e totalmente mecanizável (plantio por sementes, colheita mecânica), com alta eficiência no uso de água e nutrientes e adaptabilidade a diferentes ambientes. Assim como a cana, o sorgo sacarino apresenta colmos dos quais se extrai o caldo contendo açúcares diretamente fermentescíveis o que traz, como resíduo, seu bagaço, além das folhas (May et al., 2012; Rutto et al., 2013).

Diante da possibilidade de elevação da produção de etanol pela utilização do sorgo sacarino, torna-se necessário o estabelecimento de parâmetros operacionais que permitam o aproveitamento de todo o potencial desta matéria-prima, incluindo os subprodutos de processo. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial do bagaço e biomassa de 4 genótipos de sorgo sacarino desenvolvidos pela Embrapa, BRS 506; 508; 509 e 511, na produção de etanol celulósico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Foram empregados, neste trabalho, bagaço e biomassa de sorgo sacarino das variedades BRS 506, BRS 508, BRS 509 e BRS 511, desenvolvidas e produzidas em Sete Lagoas (MG) pela Embrapa Milho e Sorgo.

Para hidrólise enzimática foi utilizado um complexo enzimático comercial Cellic® CTec2, da Novozymes, e para a fermentação alcoólica, foi utilizada a linhagem industrial CAT-1 de *Saccharomyces cerevisiae*, amplamente empregada nas usinas brasileiras por apresentar boa capacidade de implantação e alta taxa de dominância.

2.2. Métodos

Preparo da biomassa: Os materiais lignocelulósicos foram secos a 70 °C por 48 horas e

processados em moinho de facas com granulometria máxima de 2 mm.

Pré-tratamento: Os materiais secos e moídos foram pré-tratados adicionando-se ácido sulfúrico 1,5% (v/v) à biomassa e ao bagaço, numa razão sólido/líquido de 1/10. Esta suspensão foi mantida por 30 minutos em autoclave a 121 °C. Este material foi filtrado e o sólido foi então lavado com água, utilizando-se o dobro do volume de ácido empregado no pré-tratamento. Parte da fração sólida de ambas as etapas foi reservada para a determinação da umidade do material em estufa de secagem a 92 °C e caracterização quanto ao teor de celulose.

Hidrólise enzimática: Os materiais pré-tratados foram submetidos à hidrólise enzimática em tampão citrato de sódio/ácido cítrico 0,1 M e pH 5,0 numa razão sólido/líquido de 1/10. Utilizou-se 15 FPU do extrato enzimático comercial Cellic® CTec2 (Novozymes) por grama de substrato seco. As hidrólises foram conduzidas em agitador rotatório de bancada, a 50 °C e 200 rpm por 24 horas.

Caracterização dos materiais: Os materiais brutos e frações dos sólidos obtidos no pré-tratamento ácido foram caracterizados segundo metodologia de hidrólise ácida adaptada de Gouveia *et al.* (2009), para determinação da concentração de açúcares e do teor de celulose exposta à hidrólise enzimática para cada um dos materiais.

Fermentação: Os materiais hidrolisados foram centrifugados e as frações líquidas fermentadas. De posse da análise da concentração de glicose presente no hidrolisado, adicionou-se glicose até que a concentração final do meio atingisse 100 g/L. Não foi feita suplementação de sais no meio. O meio foi inoculado com 25 g/L em base seca da levedura comercial CAT-1. As fermentações foram conduzidas, em agitador rotatório de bancada a 31 °C e 100 rpm, até completo consumo da glicose presente no meio, o que ocorreu em menos de 4 h para todas as amostras. O rendimento das fermentações foi calculado com base no rendimento teórico de uma fermentação alcoólica (0,511 g de etanol por g de glicose consumida), de acordo com a Equação 1.

$$\text{Rendimento}[\%] = \frac{\text{Etanol produzido [g / L]}}{(\text{Glicose Inicial} - \text{Glicose Final [g / L]})} \cdot 100 \quad (1)$$

Análise dos açúcares e etanol produzido: As amostras de caracterização da biomassa bruta e pré-tratada, além daquelas provenientes da hidrólise enzimática e da fermentação foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector RID, empregando coluna Aminex HPX-87H, solução de ácido sulfúrico 0,005 M como fase móvel na vazão de 0,6 L/min e coluna a 45 °C.

Análise Estatística: Todos os experimentos foram conduzidos em triplicata e os resultados foram avaliados estatisticamente por Análise de Variância e teste de Tuckey de comparação de médias ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 1 e 2 são apresentadas as comparações de médias da composição inicial, conversão da hidrólise enzimática e rendimento em etanol a partir do bagaço e da biomassa dos quatro genótipos de sorgo sacarino avaliados, respectivamente.

Tabela 1 – Comparação de médias dos resultados obtidos em etapas do processo para o bagaço dos quatro genótipos de sorgo sacarino avaliados

Bagaço	Celulose inicial (%)		Hemicelulose inicial (%)		Glicose após hidrólise enzimática (g/L)		Conversão hidrólise enzimática (%)	
BRS 506	32,81	b ¹	16,5	a	30,68	ab	56,31	a
BRS 508	33,84	b	16,4	a	28,85	b	50,47	a
BRS 509	36,50	a	16,8	a	32,44	a	53,83	a
BRS 511	33,76	b	16,4	a	31,45	a	54,09	a

¹ Médias seguidas da mesma letra, por coluna, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5%

Tabela 2 – Comparação de médias dos resultados obtidos em etapas do processo para a biomassa dos quatro genótipos de sorgo sacarino avaliados

Biomassa	Celulose inicial (%)		Hemicelulose inicial (%)		Glicose após hidrólise enzimática (g/L)		Conversão hidrólise enzimática (%)	
BRS 506	29,8	b ¹	11,3	a	32,75	a	59,9	a
BRS 508	29,7	b	10,4	a	31,13	a	57,4	a
BRS 509	33,9	a	10,0	a	34,86	a	60,4	a
BRS 511	30,4	b	10,0	a	31,00	a	56,4	a

¹ Médias seguidas da mesma letra, por coluna, não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5%

Ao se analisar, separadamente, o bagaço e a biomassa dos genótipos avaliados, percebe-se que, embora o genótipo BRS 509 tenha um teor mais alto de celulose na biomassa inicial, essa diferença não foi observada após a hidrólise enzimática da biomassa. Para o bagaço houve diferença significativa apenas com o genótipo BRS 508, que obteve menor quantidade de glicose comparado aos outros genótipos.

No entanto, ao se avaliar o bagaço e a biomassa dos genótipos como blocos (dados não apresentados), em uma análise estatística conjunta, houve diferença entre os blocos, tendo os bagaços maiores teores de celulose e hemicelulose, porém menor conversão na hidrólise enzimática, o que leva a maiores teores de açúcar após a hidrólise e, conseqüentemente maior potencial para produção de etanol.

4. CONCLUSÃO

Com esse trabalho confirma-se a necessidade do uso de um processo integrado para

seleção de matérias-primas na produção de etanol celulósico, uma vez que a produção de açúcares fermentescíveis não está relacionada apenas à quantidade de celulose na biomassa inicial. Também se observou que diferentes frações de uma mesma planta (bagaço e biomassa) comportam-se de maneira diferente ao longo do processo. Embora o bagaço tenha, em geral, maior teor de celulose, a biomassa tem uma conversão da hidrólise enzimática significativamente maior, o que leva a um potencial de produção de etanol maior.

5. REFERÊNCIAS

GOUVEIA, R.; NASCIMENTO, R. T.; SOUTO-MAIOR, A. M; ROCHA, G. J. M. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. *Química Nova*, v. 32, n. 6, 2009.

MAY, A.; DURÃES, F. O. M.; PEREIRA FILHO, I. A.; SCHAFFERT, R. E.; PARRELLA, R. A. C. (Ed.). *Sistema Embrapa de produção agroindustrial de sorgo sacarino para bioetanol: Sistema BRSIG-Tecnologia Qualidade Embrapa*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2012. 118 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 139).

RENEWABLE FUELS ASSOCIATION. *World fuel ethanol production*. Site: <http://ethanolrfa.org/pages/World-Fuel-Ethanol-Production>. Acesso em 15/04/2014

RUTTO, L. K.; XU, Y; BRANDT, M.; REN, S; KERING, M. K. Juice, Ethanol, and Grain Yield Potential of Five Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) Cultivars. *Journal of Sustainable Bioenergy Systems*, v. 3, p. 113 – 118, 2013.

U.S. DEPARTMENT OF ENERGY. *Breaking the biological barriers to cellulosic ethanol: a joint research agenda*. Report from the December 2005 Workshop, DOE/SC-0095. U.S. Department of Energy Office of Science, 2006.

U.S. ENERGY INFORMATION ADMINISTRATION. *How much ethanol is in gasoline and how does it affect fuel economy?* Site: <http://www.eia.gov/tools/faqs/faq.cfm?id=27&t=10>. Acesso em 15/04/2014