



simpósio estadual de AGROENERGIA

V reunião técnica de agroenergia - RS

HIDRÓLISE E FERMENTAÇÃO DE *ARUNDO DONAX* L. PRÉ-TRATADO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL 2G.

Cláudia Lemons e Silva¹, Nei Pereira Junior², Roberto Maeda³, Manoel Schirmer⁴, Sérgio Delmar dos Anjos e Silva⁵

INTRODUÇÃO

A produção de etanol de primeira geração é um processo consolidado no Brasil, porém o interesse em novas alternativas e desenvolvimento na tecnologia de produção de etanol lignocelulósico, ou de segunda geração tem sido crescente nos últimos anos. O *Arundo donax* é uma gramínea nativa, provavelmente, da Ásia, mas encontrada de forma espontânea em várias regiões em diversos países, como Brasil, Portugal e Espanha. Devido à sua fácil adaptabilidade a diferentes condições, crescimento rápido e produtividade elevada, apresenta alto potencial de uso para a produção de etanol de segunda geração (PAPAZOGLU et al., 2005; ROSSA et al., 1998; PILU et al., 2012).

A evolução da tecnologia de produção de etanol lignocelulósico passa pela prospecção de espécies com alta produtividade de biomassa, pela imprescindibilidade do pré-tratamento da mesma e da identificação de processos de produção (BARCELOS et al., 2012). Vários fatores podem afetar a eficiência do processo, com especial destaque a necessidade de melhorar o acesso das enzimas no processo de hidrólise. Neste sentido, vários tipos de pré-tratamentos podem melhorar o rendimento de açúcares e a eficiência da produção de álcool, como explosão a vapor, tratamentos químicos com ácidos ou bases entre outros. Os efeitos de diferentes tecnologias de pré-tratamentos, como aumento da superfície de acesso as enzimas, diminuição da cristalinidade, solubilização de hemicelulose, remoção da lignina, geração de produtos tóxicos e alteração da estrutura da lignina, têm sido relatados (OLOFSSON et al., 2008). Após o pré-tratamento a obtenção de açúcares fermentáveis se dá através da etapa de hidrólise e posterior fermentação. Neste estudo, o objetivo deste estudo foi avaliar o rendimento de etanol por processo de SSF (sacarificação simultânea à fermentação) para produção de etanol de segunda geração a partir da biomassa de Arundo parcialmente deslignificado.

¹ DSc. Profª Ceng/UFPEL. lemonsclau@gmail.com

² PhD.Prof. Escola de Química/LADEBIO/ UFRJ. nei@eq.ufrj.br

³ DSC. LADEBIO / UFRJ. rmaeda76@gmail.com

⁴ PhD. Prof. FAEM/UFPEL. manoelschirmer@gmail.com

⁵ DSc. Fitotecnia / Pesquisador Embrapa Clima Temperado. sergio.anjos@embrapa.br.



simpósio estadual de AGROENERGIA

V reunião técnica de agroenergia - RS

MATERIAL E MÉTODOS

A celulignina usada no presente estudo foi obtida a partir de biomassa de Arundo cominuído e pré-tratado. A celulignina foi seca, moída de modo a obter fração de partículas com tamanho de até 8 mm homogeneizada e armazenada até sua utilização. A enzima utilizada no estudo foi uma celulase comercial (Multifect®) de *Trichoderma reesei* com atividade CMcase de 4358,08 U/mL; Avicel de 178,46 U/mL; Fpase 257,66 U/mL e β -Glucosíase de 194,95 U/mL. Um quilograma de biomassa foi submetida ao pré-tratamento visando melhorar o rendimento de açúcares e na eficiência da produção de etanol. O pré-tratamento ácido foi realizado com solução de ácido sulfúrico 1,1% (v/v) a 120°C para expansão das fibras por 30 minutos (BETANCUR e PEREIRA JR; 2010) seguido de pré-tratamento básico com hidróxido de sódio a 2% (m/v). As condições de reação para o pré-tratamento alcalino foram: relação sólido líquido (1:20 g/mL); a 120°C por 30 minutos. A fração do pré-tratamentos ácido, seguido por pré-tratamento básico foi chamada de celulignina parcialmente deslignificada (CLPD). Este procedimento foi escolhido por já ter sido otimizado por Betancur e Pereira Jr. (2010) para o bagaço de cana-de-açúcar.

A sacarificação e fermentação simulânea (SSF) foi conduzida em bioreator Bioflo & Celligen 310, New Brunswick Scientific, Edison, NJ, EUA com uma carga de sólidos final de 250g/L e volume reacional de 1L. A celulignina e o tampão contendo os nutrientes para a suplementação foram esterilizados a 0,5 atm durante 15 minutos. A pré hidrólise foi realizada com 100g de CLPD em meio tamponado com tampão citrato de sódio e suplementos: uréia: 1,25g/L; KH_2PO_4 : 1,1 g/L; Extrato de levedura: 2g/L e soluções de sais: 40ml/L e a carga enzimática foi de 25 FPU/g. A temperatura e a velocidade de agitação foram mantidas a 50°C e 200 rpm por 12h. Duas amostras foram coletadas na pré-hidrólise com 6h e 12h para determinação dos açúcares formados. Após este período, foi ajustada a temperatura para 37°C e feita a adição do inóculo (carga de células: 6g/L em matéria seca) de *Sacharomyces cerevisiae* comercial para o início da sacarificação e fermentação simultâneas. A medida que o meio se tornava liquefeito, foram feitas alimentações de 25g cada até atingir a carga final de 250g/L.

O perfil cinético do consumo de substrato e produção de etanol foi construído durante 78h. A eficiência de conversão de celulose a etanol foi calculada pela equação:



simpósio estadual de AGROENERGIA

V reunião técnica de agroenergia - RS

$$\text{ECC (\%)} = \frac{P}{(\text{CC} * 1,1) * 0,511} \times 100$$

Onde:

ECC= eficiência de conversão de celulose a etanol (%)

P= concentração final de etanol (g/L)

CC= concentração de celulose na CLPD

0,511= fator de conversão máximo teórico de substrato em etanol

1,1= fator de conversão relacionado à conversão de celulose a açúcares

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do SSF estão representados na Figura 1. Foi utilizado a celullignina parcialmente deslignificada, com uma carga final de sólidos de 250g/L e uma carga de células de 6g/L de *Sacharomyces cerevisiae* comercial. Com uma pré-hidrólise de 12 horas, antes da adição da levedura para fermentação no SSF, obteve-se um aumento do rendimento da produção de etanol. Este procedimento tem melhorado os rendimentos do SSF também com cana e sorgo (BARCELOS et al., 2012; MAEDA, 2013). Observa-se que no início da fermentação a velocidade da conversão de açúcares a etanol é maior em função da maior disponibilidade inicial de glicose. Em um segundo momento, quando a concentração de glicose diminui, pois toda a glicose está sendo consumida, a produção de etanol passa a ser governada pela atuação das enzimas e a taxa de produção de etanol começa a reduzir devido a menor eficiência da enzima. Na fermentação, a concentração dos açúcares se manteve em baixas concentrações indicando que, provavelmente, as enzimas adicionadas na hidrólise enzimática continuaram ativas durante a fermentação do hidrolisado e que os açúcares formados estavam sendo convertidos a etanol.

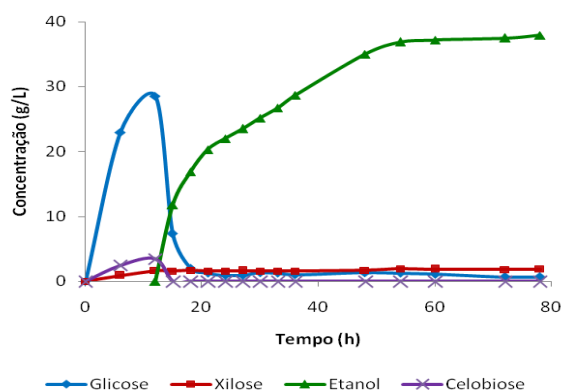


Figura 1. Perfil cinético da fermentação alcoólica pelo processo SSF.

Considerando o balanço material, a partir de 1 Kg de biomassa de Arundo (biomassa com 3 % de umidade), realizando os pré-tratamentos ácidos e depois o tratamento alcalino, considerando que a celullignina tinha 72% de celulose, chegou-se a produção de 95 mL de etanol. Estes valores,



simpósio estadual de AGROENERGIA

V reunião técnica de agroenergia - RS

permitem estimar um rendimento de 95 L de etanol por tonelada. Considerando que foi utilizada somente a fração celulósica do Arundo, estes resultados são satisfatórios, já que para cana, em situação otimizada, Maeda et al. (2013), alcançou 110 L/t com cana-de-açúcar usando a fração celulósica. Com uso de hemicelulose de Arundo pré-tratado com ácido oxálico, Scordia et al. (2012), obtiveram 26.0 g/L de xylose, 5.0 g/L de glicose e 2.4 g /L de arabinose, e 8.20 g/L de etanol depois de 48 h. Ask et al. (2012), encontraram baixas concentrações de etanol de (0,24g/g). Rendimentos abaixo de 40 g/L são considerados como limite inferior para fins comerciais, segundo Gabe et al. (2007).(2007), o que foi alcançado neste trabalho. Além disso, a conversão da fração de hemicelulose pode ser uma estratégia importante para melhorar o rendimento global de etanol a partir de biomassas lignocelulósicas. No presente estudo, testamos uma situação não otimizada e apenas uma fração, logo inferimos que rendimentos maiores podem ser alcançados com biomassa de *Arundo donax*, indicando o potencial desta cultura para a produção de etanol de segunda geração.

CONCLUSÕES

A deslignificação parcial é fundamental para aumentar a eficiência da hidrólise visando à produção de etanol celulósico de Arundo. A pré-hidrólise permite uma rápida liquefação e homogeneização do meio, favorecendo a atuação da levedura na conversão de açúcar em etanol. A partir do balanço material do processo de produção de etanol foi possível obter 95 litros de etanol por tonelada a partir da fração celulósica com uma eficiência de conversão em torno de 50%. Entretanto o processo sinaliza a possibilidade de obter valores mais elevados incluindo a fração hemicelulósica, o que pode ser uma estratégia para estudos futuros.

REFERÊNCIAS

- ASK, M.; OLOFSSON, K.; DI FELICE, T.; RUOHONEN, L.; PENTTILÄ M.; LIDÉN, G.; OLSSON, L. Challenges in enzymatic hydrolysis and fermentation of pretreated Arundo donax revealed by a comparison between SHF and SSF. **Process Biochemistry**, v.47, p.1452-1459, 2012.
- BARCELOS, C.A., MAEDA, R.N., BETANCUR, G.J., PEREIRA Jr., N. The Essentialness of Delignification on Enzymatic Hydrolysis of Sugar Cane Bagasse Cellulignin for Second Generation Ethanol Production. **Waste Biomass Valor**, 2012.
- BETANCUR, G., PEREIRA Jr, N. Sugar cane bagasse as feedstock for second generation ethanol production. Part I: diluted acid pretreatment optimization. **Electron. J. Biotechnology**, v. 13, p.1-9, 2010.
- MAEDA, R.N.; BARCELOS, C.A.; SANTA ANNA, L.M.M.; PEREIRA Jr, N. Cellulase production by *Penicillium funiculosum* and its application in the hydrolysis of sugar cane bagasse for second generation



simpósio estadual de AGROENERGIA

V reunião técnica de agroenergia - RS

ethanol production by fed batch operation. **Journal of Biotechnology**, v.163, p.38-44, 2013.

PILU, R.; BUCCI, A.; BADONE, F.C.; LANDONI, M. Giant reed (*Arundo donax* L.): A weed plant or a promising energy crop? **African Journal of Biotechnology**, v.11, p.9163-9174, 2012.

SCORDIA, D., COSENTINO S., LEE J., JEFFRIES, T.W. Bioconversion of giant reed (*Arundo donax* L.) hemicellulose hydrolysate to ethanol by *Scheffersomyces stipitis* CBS6054. **Biomass and bioenergy** v.39, p.296-305, 2012.