





## USO INTEGRAL DA BIOMASSA DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO

S.C. Pereira<sup>1</sup>, L. Maehara<sup>2</sup>, C.M.M. Machado<sup>3</sup>, C.S. Farinas<sup>1</sup>

- (1) Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP, sandracerqueirapereira@gmail.com, cristiane.farinas@embrapa.br  
(2) Departamento de Engenharia Química, DEQ/UFSCar, Rodovia Washington Luís, Km 235, 13565-905, São Carlos, SP, larissa.maehara@yahoo.com  
(3) Embrapa Agroenergia, Parque Estação Biológica, s/n, 70770-901, Brasília, DF, cristina.machado@embrapa.br

**Resumo:** Cada tonelada de cana-de-açúcar processada gera aproximadamente 280 kg de resíduos lignocelulósicos. O uso integral da biomassa de cana-de-açúcar poderia melhorar significativamente a produtividade de etanol sem expandir as áreas cultivadas. Bagaço tem sido amplamente estudado para a produção de etanol ao contrário das outras partes da cana-de-açúcar (palha e ponteiros) bem como o uso combinado de todos os resíduos. O presente estudo avaliou o uso de toda esta biomassa (bagaço-palha-ponteiros, 1:1:1) em comparação aos resíduos separadamente. Os materiais foram pré-tratados com ácido sulfúrico 1,5% (m/m) e, em seguida, foram hidrolisados por enzimas comerciais (30 FPU/g<sub>celulose</sub>). Por fim, os hidrolisados foram fermentados por uma cepa industrial de *Saccharomyces cerevisiae*. As ponteiros foram as mais susceptíveis à degradação enzimática alcançando a conversão de celulose de 65% enquanto o mais alto rendimento de etanol foi exibido pelos hidrolisados provenientes da palha (75%). O bagaço alcançou resultados mais baixos do que as outras partes. O desempenho da mistura dos resíduos nas etapas de hidrólise enzimática e fermentação alcoólica foram 55 e 25%, respectivamente, superiores ao apresentado pelo bagaço individualmente. Portanto, os resultados aqui encontrados podem contribuir para o desenvolvimento de processos de produção de bioetanol usando toda a biomassa de cana-de-açúcar.

**Palavras-chave:** bagaço de cana-de-açúcar, palhão de cana-de-açúcar, etanol de segunda geração.

### **FULL USE OF THE SUGARCANE BIOMASS FOR THE PRODUCTION OF SECOND GENERATION ETHANOL**

**Abstract:** Each ton of processed sugarcane generates about 280 kg of residues. The full use of sugarcane biomass could greatly improve the ethanol productivity without expanding the cultivated areas. Bagasse has been widely studied for ethanol production unlike other sugarcane parts (straw and tops) as well as the combined use of all the residues. The present study evaluated the use of this whole biomass (bagasse-straw-tops, 1:1:1) in comparison to the residues separately. The materials were pretreated with 1.5% (w/v) sulfuric acid and then they were hydrolyzed by commercial enzymes (30 FPU/g<sub>cellulose</sub>). Finally, the hydrolysates were fermented by industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae*. Tops were the most susceptible to enzymatic degradation reaching the cellulose conversion of 65% while the highest ethanol yield was displayed by hydrolysates from straw (75%). Bagasse achieved lower results than the other parts. The performance of residues mixture in the steps of enzymatic hydrolysis and alcoholic fermentation were 55 and 25%, respectively, higher than those presented by the individually bagasse. Therefore, the present results may contribute to the development of bioethanol production processes using the whole sugarcane biomass.

**Keywords:** sugarcane bagasse, sugarcane trash, second generation ethanol.

### **1. Introdução**

Na safra 2014/15, estima-se que mais de 659 milhões de toneladas de cana-de-açúcar serão processadas pelas usinas brasileiras (Conab, 2014). Ademais, para cada tonelada de cana-de-açúcar processada são gerados 140 kg de bagaço e 140 kg de palhão (ponteiros, folhas verdes e folhas secas) (Dias *et al.*, 2012). Na indústria da cana-de-açúcar, o bagaço é queimado nas caldeiras para atender à demanda de energia da planta e o palhão é queimado na pré-colheita para melhorar o método de colheita. Entretanto, esta realidade vem se modificando uma vez que os danos causados ao meio ambiente conduziram a regulamentações mais rigorosas a fim de reduzir gradualmente a queima do palhão para os próximos anos (Leal *et al.*, 2013).

O etanol de segunda geração (2G) produzido a partir de biomassa lignocelulósica tem sido considerado como o biocombustível com o mais alto potencial para substituir os combustíveis à base de petróleo (Macrelli *et*

*al.*, 2012). Neste sentido, inúmeros estudos empregando o bagaço de cana-de-açúcar têm sido realizados. Por outro lado, existem poucos estudos sobre a avaliação do palhico e do uso combinado dos resíduos para o processo de produção de etanol 2G. O presente estudo avaliou a utilização dos resíduos (bagaço, palha e ponteiros) do processamento de uma variedade comercial de cana-de-açúcar (SP791011) em processo modelo de produção de etanol celulósico selecionado pela Embrapa. Adicionalmente, a viabilidade do uso de uma mistura dos resíduos (bagaço, palha e ponteiros) também foi investigada.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Materiais

Três resíduos (bagaço, palha e ponteiros) do processamento de uma variedade comercial (SP791011) de cana-de-açúcar (Usina Sumaúma, Marechal Deodoro/AL) foram empregados neste estudo. O extrato enzimático comercial Cellic<sup>®</sup>CTec2 (Novozymes A/S, Denmark) foi usado para a hidrólise enzimática. A cepa industrial de *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1 (Usina Jalles Machado, Goianésia/GO) foi utilizada para a fermentação alcoólica.

### 2.2. Métodos

#### 2.2.1. Preparação da matéria-prima

Os três resíduos (granulometria inferior a 2 mm) foram pré-tratados separadamente com uma solução de ácido sulfúrico 1,5% (*m/m*) a 121 °C por 30 minutos empregando uma carga de sólidos de 10%. Para a avaliação do uso combinado dos resíduos, preparou-se uma mistura bagaço-palha-ponteiros (1:1:1) em base seca e procedeu-se igualmente o pré-tratamento. A biomassa *in natura* e pré-tratada foi caracterizada segundo procedimento descrito por (Gouveia *et al.*, 2009).

#### 2.2.2. Hidrólise enzimática

Os materiais pré-tratados separadamente foram hidrolisados enzimaticamente em tampão citrato pH 5,0 empregando uma relação sólido/líquido de 1/10 e uma carga enzimática de 30 FPU/g de celulose residual. Os ensaios foram realizados a 50 °C e agitação de 200 rpm por 24 horas com a produção de glicose monitorada por um kit enzimático (Doles, Goiânia/GO). A sacarificação enzimática da mistura (bagaço-palha-ponteiros, 1:1:1) foi realizada sob as mesmas condições.

#### 2.2.3. Fermentação alcoólica

Os hidrolisados obtidos após a etapa de hidrólise enzimática dos resíduos pré-tratados separadamente e em mistura (bagaço-palha-ponteiros, 1:1:1) foram centrifugados, filtrados e as frações líquidas foram suplementadas com glicose até a concentração de 100 g/L. Em seguida, os meios foram inoculados com 25 g/L de levedura. Os experimentos foram realizados a 31 °C e agitação de 100 rpm por 8 horas. A produção de etanol foi monitorada por cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, HPLC), conforme metodologia descrita por (Gouveia *et al.*, 2009).

## 3. Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta os teores de hemicelulose, lignina e celulose para os três resíduos *in natura* e pré-tratados com ácido diluído bem como para a mistura bagaço-palha-ponteiros (1:1:1). A avaliação da composição química é vital porque a conversão da biomassa em etanol é dependente de características físico-químicas e morfológicas inerentes aos materiais lignocelulósicos. Observa-se que os menores teores de lignina foram apresentados pelas ponteiros. O pré-tratamento ácido diluído foi eficaz na solubilização da fração hemicelulósica dos materiais, resultando em aumento nos teores de celulose e lignina em comparação à biomassa *in natura*. Estudos recentes mostram este efeito do pré-tratamento ácido diluído (Benjamin *et al.*, 2014; Cortez *et al.*, 2014).

Tabela 1. Composição química dos três resíduos *in natura* e pré-tratados separadamente bem como da mistura bagaço-palha-ponteiros (1:1:1).

Material	<i>In natura</i> (% <i>m/m</i> , base seca)			Pré-tratado (% <i>m/m</i> , base seca)		
	Hemicelulose	Lignina	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Celulose
Palha	35,07	11,13	41,09	6,37	31,82	48,06
Ponteiros	35,92	8,00	34,68	7,54	29,62	51,34
Bagaço	28,45	13,81	36,60	7,69	30,37	49,37
Mistura	35,50	9,57	37,89	7,20	30,60	49,59

# dados são médias de três repetições

A Figura 1A mostra os perfis temporais de produção de glicose durante a etapa de hidrólise enzimática dos três resíduos separadamente e da mistura bagaço-palha-ponteiras (1:1:1). Em adição, a Figura 1B apresenta a análise estatística (Teste de Tukey,  $p < 0,05$ ) dos dados de conversão de celulose após 24 horas de sacarificação. De acordo com a Figura 1, é possível estabelecer uma ordem de susceptibilidade à degradação como se segue: ponteiras > palha > bagaço, sendo que a mistura apresentou um padrão intermediário de sacarificação entre os resíduos da cana-de-açúcar hidrolisados separadamente. A mistura exibiu uma conversão de celulose 55% maior em relação ao bagaço individualmente.

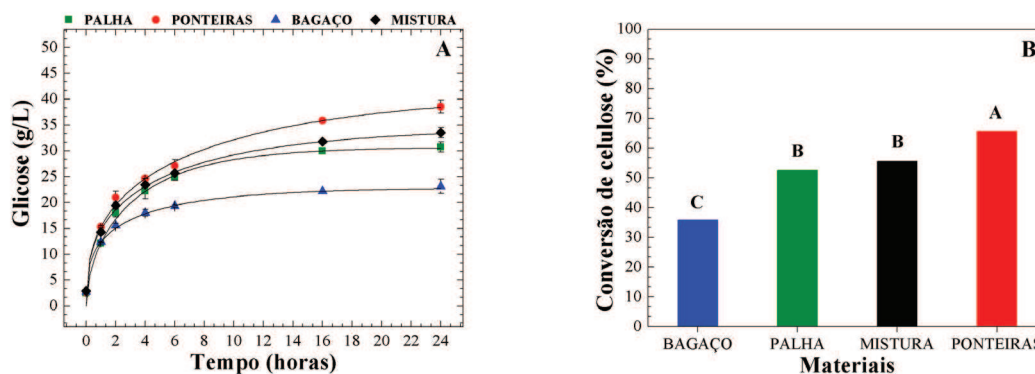


Figura 1. Perfis temporais de produção de glicose durante a hidrólise enzimática dos resíduos e da mistura (A) e análise estatística da conversão enzimática de celulose após 24 horas (B). As médias com letras diferentes são estatisticamente diferentes.

A Figura 2A apresenta os perfis temporais de produção de etanol durante a etapa de fermentação alcoólica dos hidrolisados provenientes da hidrólise enzimática dos três resíduos separadamente e da mistura bagaço-palha-ponteiras (1:1:1). Adicionalmente, a Figura 2B mostra a análise estatística (Teste de Tukey,  $p < 0,05$ ) dos dados de rendimento de etanol após 8 horas. É possível definir uma ordem de fermentabilidade como se segue: palha > ponteiras > bagaço, sendo que a mistura exibiu um padrão intermediário de fermentação (Figura 2). O rendimento de etanol apresentado pelo hidrolisado da mistura foi 25% maior em relação ao do bagaço. Além disso, a observação dos perfis de produção de etanol (Figura 2A) mostra claramente que a presença de inibidores pode estar interferindo diferencialmente no metabolismo da levedura.

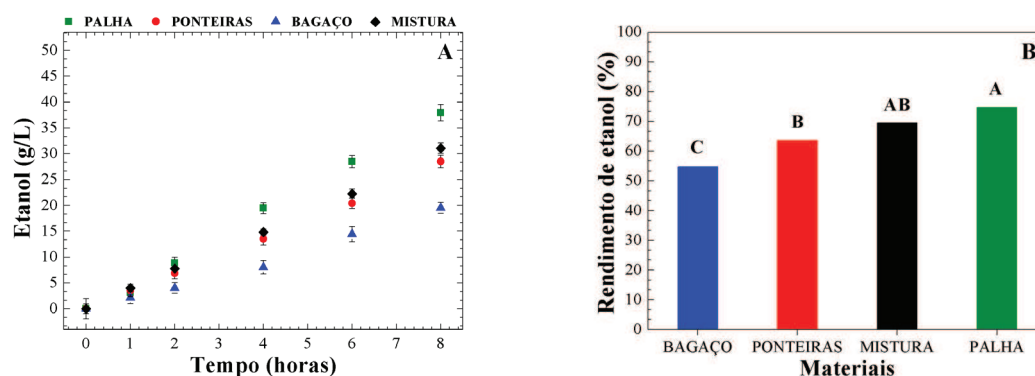


Figura 2. Perfis temporais de produção de etanol durante a fermentação alcoólica dos hidrolisados (A) e análise estatística do rendimento de etanol após 8 horas (B). As médias com letras diferentes são estatisticamente diferentes.

Entre os poucos estudos reportados na literatura a respeito do uso combinado dos resíduos do processamento da cana-de-açúcar, (Moutta *et al.*, 2014) restringiu-se apenas à etapa de hidrólise enzimática dos materiais pré-tratados com ácido diluído. No referido trabalho, os autores não avaliaram as respostas individuais da palha (folhas secas) e ponteiras (parte acima do último nó do caule com as folhas verdes). Contudo, os resultados aqui encontrados para a maior susceptibilidade à degradação enzimática do palhico em relação ao bagaço são corroborados bem como o padrão intermediário apresentado pela mistura sem qualquer efeito deletério notável.

#### 4. Conclusões

Os resultados mostram que a susceptibilidade diminuída à degradação enzimática do bagaço bem como a fermentabilidade inferior dos hidrolisados derivados do bagaço podem ser equilibradas com o uso combinado

de palha e ponteiros. Portanto, a potencial aplicação do bagaço, que já vem sendo amplamente estudado para a produção de etanol 2G, pode ser aperfeiçoada com o uso combinado do palhico de cana-de-açúcar.

### Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer às agências de financiamento de pesquisa brasileiras (CAPES, CNPq e FAPESP) e à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa).

### Referências

- BENJAMIN, Y.; CHENG, H.; GOERGENS, J. F. Optimization of Dilute Sulfuric Acid Pretreatment to Maximize Combined Sugar Yield from Sugarcane Bagasse for Ethanol Production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 172, n. 2, p. 610-630, Jan 2014. ISSN 0273-2289; 1559-0291. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000332491700005 >.
- CONAB. <http://www.conab.gov.br/>. 2014.
- CORTEZ, D. V. et al. Evaluation of cellulosic and hemicellulosic hydrolysate fermentability from sugarcane bagasse hybrids with different compositions. *Biomass Conversion and Biorefinery*, p. 1-6, 2014/03/11 2014. ISSN 2190-6815. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1007/s13399-014-0119-5> >.
- DIAS, M. O. S. et al. Integrated versus stand-alone second generation ethanol production from sugarcane bagasse and trash. *Bioresource Technology*, v. 103, n. 1, p. 152-161, Jan 2012. ISSN 0960-8524. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000298273600022 >.
- GOUVEIA, E. R. et al. VALIDATION OF METHODOLOGY FOR THE CHEMICAL CHARACTERIZATION OF SUGAR CANE BAGASSE. *Quimica Nova*, v. 32, n. 6, p. 1500-1503, 2009 2009. ISSN 0100-4042. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000270128800026 >.
- LEAL, M. R. L. V. et al. Sugarcane straw availability, quality, recovery and energy use: A literature review. *Biomass & Bioenergy*, v. 53, p. 11-19, Jun 2013. ISSN 0961-9534. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000320905500003 >.
- MACRELLI, S.; MOGENSEN, J.; ZACCHI, G. Techno-economic evaluation of 2nd generation bioethanol production from sugar cane bagasse and leaves integrated with the sugar-based ethanol process. *Biotechnology for Biofuels*, v. 5, Apr 13 2012. ISSN 1754-6834. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000303978400001 >.
- MOUTTA, R. D. O.; FERREIRA-LEITAO, V. S.; DA SILVA BON, E. P. Enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse and straw mixtures pretreated with diluted acid. *Biocatalysis and Biotransformation*, v. 32, n. 1, p. 93-100, Jan-Feb 2014. ISSN 1024-2422; 1029-2446. Available at: <<Go to ISI>://WOS:000333520100012 >.