

Produção de etanol de segunda geração a partir do sorgo biomassa

Nathally S. Garcia², Maria Lúcia Ferreira Simeone³, Cristiane de Carvalho
Guimarães⁴, Robert Eugene Schaffert³, Rafael Augusto da Costa Parrellas

1 Trabalho financiado pelo CNPq. 2 Estudante do Curso de Engenharia de Alimentos da Univ. Fed. de São João del-Rei, Bolsista PIBIC do Convênio CNPq/Embrapa. 3 Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo. 4 Analista da Embrapa Milho e Sorgo

1 INTRODUÇÃO

O Brasil, referência mundial na utilização de bioenergia, destaca-se por sua matriz energética ser mais renovável quando comparada com a de outros países (43,5% a 14%) (Empresa de Pesquisa Energética, 2020). Visando atender as futuras demandas de energia e combustíveis, além de impulsionar ainda mais a transição para uma economia de baixo carbono, a energia renovável vem ganhando cada vez mais espaço. Dentre as diversas fontes comumente empregadas para estimular ainda mais essa mudança, pode-se citar a biomassa, utilizada tanto na cogeração de energia quanto na produção de etanol de segunda geração (Agência Nacional de Energia Elétrica, 2008).

O sorgo biomassa é um híbrido desenvolvido como uma alternativa para o abastecimento de matéria-prima para o mercado de bioenergia, na forma de etanol de segunda geração, ou para cogeração de energia (Almeida, 2019). Apresenta grande produtividade, cerca de 120 a 150 toneladas de matéria fresca por hectare, ciclo curto (6 meses), porte entre cinco e seis metros de altura, elevada adaptabilidade, como também teor de fibras e açúcares fermentescíveis. Entretanto, os genótipos de sorgo possuem uma grande variação, em relação ao conteúdo da parede celular, principalmente em relação à lignina (Embrapa, 2014). Deste modo, a produção de etanol de segunda geração a partir do sorgo biomassa exige etapas preliminares, como o pré-tratamento da biomassa seguido por hidrólise enzimática, para que os açúcares estejam disponíveis e possam ser utilizados como substrato por microrganismos fermentadores para a produção de etanol (Almeida, 2019).

Sendo assim, o presente trabalho tem por objetivo determinar o rendimento de etanol a partir de diferentes genótipos de sorgo biomassa, após pré-tratamento ácido e alcalino.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de sorgo biomassa foram obtidas de experimentos do programa de melhoramento de sorgo da Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas-MG. Os colmos de sorgo biomassa foram colhidos manualmente (10 colmos) e triturados em picador da marca IRBI - modelo DM540. Em seguida, o material foi seco em estufa de circulação de ar, marca Solab - modelo SL102/96, a 65 °C, até peso constante, para que as amostras pudessem ser trituradas em moinho de facas tipo Willey e encaminhadas ao laboratório de agroquímica para a realização das análises (pré-tratamentos, sacarificação e fermentação), conforme descrito abaixo.

2.1 Pré-tratamentos

Para hidrólise ácida da biomassa de sorgo, foram pesados 30 g de amostra em um Erlenmeyer e adicionados 120 mL de uma solução de ácido sulfúrico a 4% (p/v). O Erlenmeyer contendo a amostra foi fechado com papel alumínio e autoclavado por 30 min a 121 °C. Em seguida, a amostra foi filtrada a vácuo em cadinho de vidro sinterizado, e o resíduo foi lavado com água quente até o pH do filtrado ficar neutro. Por fim, o resíduo foi seco em estufa a 65 °C até peso constante.

Para o pré-tratamento alcalino do resíduo obtido foram adicionados 10 g do resíduo obtido após o pré-tratamento ácido e 100 mL de uma solução de hidróxido de sódio a 7,0% (p/v) em um Erlenmeyer, tampado com papel alumínio e colocado em banho-maria sob agitação a uma temperatura a 85 °C, sob um tempo de reação de 12 horas. Em seguida, a amostra foi filtrada a vácuo em cadinho de vidro sinterizado, e o resíduo foi lavado com água quente até o pH do filtrado ficar neutro. Por fim, o resíduo foi seco em estufa a 65 °C até peso constante.

2.3 Sacarificação

Para a sacarificação de 1,5 g das amostras pré-tratadas, foram utilizados 150 uL de celulase comercial (Celluclaste- Novozymes ®) por grama de biomassa vegetal, razão sólido-líquido de 10%, sob temperatura de 50 °C em tampão de bicarbonato de sódio 0,005 Mol.L⁻¹ com pH 5,0, sob agitação (150 rpm) por 72 horas (Almeida et al., 2019; Simeone et al., 2018).

2.4 Fermentação

No processo de fermentação da biomassa sacarificada foi utilizado o microrganismo *Saccharomyces cerevisiae*, (FLEISCHMANN®), levedura comercialmente disponível, na forma desidratada e na concentração de 2% (p/v). O processo fermentativo ocorreu em frascos com tampa de rosca com capacidade de 50 mL a 30 °C, em condição estática por 24 h. Ao final do processo a solução foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando coluna Aminex HPX-87H a 50 °C, eluída com solução de ácido sulfúrico 0,005 Mol.L⁻¹ em um fluxo de 0,5 mL.min⁻¹ para verificação do consumo dos açúcares e quantificação do etanol produzido. Os teores de açúcares e etanol foram quantificados utilizando o detector de índice de refração. Os resultados foram analisados estatisticamente para comparação de médias utilizando o software RBio (Bhering, 2017).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Existem vários métodos de pré-tratamento da biomassa, incluindo procedimentos físicos e químicos (Xu et al., 2016). Entre os pré-tratamentos químicos, o pré-tratamento com ácido diluído é amplamente utilizado e, quando combinado com um pré-tratamento básico sequencialmente, possibilita a diminuição de subprodutos, como ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural nos hidrolisados, aumentando a quantidade de glicose recuperada na hidrólise enzimática do resíduo pré-tratado (Li et al., 2016). Por esse fato o pré-tratamento ácido/base foi escolhido para realizar a avaliação dos genótipos de sorgo biomassa.

Os resultados da hidrólise enzimática e da fermentação do hidrolisado após o pré-tratamento ácido/básico do sorgo biomassa estão apresentados na Tabela 1. Podemos observar que na hidrólise enzimática da biomassa pré-tratada tivemos três grupos de genótipos de sorgo estatisticamente diferentes. O grupo 1 apresentou teor de glicose entre 25,17 e 27,39 mg. mL⁻¹, o grupo 2, entre 21,64 e 23,77 mg. mL⁻¹, e o grupo 3, entre 16,85 e 20,03 mg. mL⁻¹.

Tabela 1. Resultados da hidrólise enzimática e fermentação das amostras de sorgo biomassa após pré-tratamento ácido/básico.

Genótipo	Glicose (g.L ⁻¹)	Etanol (g.L ⁻¹)	Glicerol (g.L ⁻¹)	Y _{E/G} * (g.g ⁻¹)	Y _{E/B} ** (g.g ⁻¹)
201636B001	18.98 c	14.71 b	2.18 a	0.78 a	0.17 b
201636B002	27.35 a	19.38 a	3.55 a	0.71 a	0.22 a
201636B003	19.07 c	14.99 b	1.91 a	0.81 a	0.17 b
201636B004	26.74 a	17.86 a	3.16 a	0.67 a	0.20 a
201636B006	23.77 b	17.12 a	2.85 a	0.72 a	0.20 a

201636B007	17.50 c	14.34 b	2.60 a	0.82 a	0.16 b
201636B008	16.85 c	14.13 b	2.24 a	0.84 a	0.16 b
201636B009	21.64 b	16.21 b	2.69 a	0.75 a	0.18 a
201636B010	22.13 b	15.96 b	2.74 a	0.72 a	0.18 a
201636B011	19.68 c	15.43 b	2.50 a	0.78 a	0.17 b
201636B013	25.18 a	17.10 a	2.85 a	0.68 a	0.20 a
201636B014	23.02 b	16.91 a	2.90 a	0.73 a	0.19 a
201636B015	17.21 c	13.86 b	2.38 a	0.81 a	0.16 b
201636B017	23.63 b	17.48 a	2.91 a	0.74 a	0.20 a
201636B018	22.58 b	17.30 a	2.90 a	0.77 a	0.20 a
201636B019	26.81 a	18.80 a	3.15 a	0.70 a	0.21 a
201636B020	23.14 b	17.53 a	2.98 a	0.76 a	0.20 a
201636B021	27.39 a	18.68 a	3.30 a	0.68 a	0.21 a
BRS655	22.51 b	16.85 a	2.77 a	0.75 a	0.19 a
BRS716	20.03 c	14.99 b	2.41 a	0.75 a	0.17 b
Volumax	18.37 c	14.14 b	2.15	0.77 a	0.16 b

*Rendimentos de etanol por grama de glicose, ($Y_{E/G}$).

** Rendimentos de etanol por grama de biomassa, ($Y_{E/B}$).

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Scott-Knott.

Já na fermentação da biomassa hidrolisada para a obtenção de etanol, os genótipos de sorgo biomassa formaram dois grupos estatisticamente diferentes, sendo que o grupo 1 obteve um teor de etanol entre 16,85 e 19,4 mg. mL⁻¹ e o grupo 2 entre 13,86 e 16,2 mg. mL⁻¹. Fernandes et al. (2018) também obtiveram para o sorgo biomassa 19,3 g.L⁻¹ de etanol após 36 horas de fermentação (Fernandes et al., 2018). O teor de glicerol e o rendimento de etanol por grama de glicose não apresentaram diferenças significativas entre os genótipos avaliados. Já o rendimento de etanol por grama de biomassa pré-tratada apresentou diferenças significativas para dois grupos de genótipos, os que apresentaram rendimento de etanol por grama de biomassa maior que os valores encontrados na literatura (0,18 a 0,22 g.g⁻¹), para os genótipos 201636B002, 201636B019, 201636B021, 201636B004, 201636B017, 201636B018, 201636B020, 201636B006, 201636B013, 201636B014, BRS655, 201636B009, 201636B010), e 0,15 a 0,17 g.g⁻¹ para os demais genótipos (BRS716, 201636B003, 201636B001, 201636B007, 201636B008, Volumax e 201636B015).

4 CONCLUSÃO

Os genótipos de sorgo biomassa avaliados se destacaram pela produção de etanol de segunda geração após o pré-tratamento ácido/básico (rendimento de etanol por grama de biomassa pré-tratada, ($Y_{E/B}$) na faixa de 0,18 a 0,22 g.g⁻¹). Isso reforça o potencial dessa

biomassa como fonte de açúcares fermentescíveis para produção de etanol de segunda geração.

5 REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA. Biomassa: a produção de energia elétrica a partir da biomassa. In: _____. **Atlas ATLAS de energia elétrica do Brasil**. 3. ed. Brasília, DF, 2008. Biomassa: A produção de energia elétrica a partir da biomassa. Disponível em: <http://www2.aneel.gov.br/arquivos/pdf/atlas_par2_cap4.pdf>. Acesso em: 28 fev. 2020.

ALMEIDA, L. G. F. de. **Etanol de segunda geração utilizando sorgo biomassa de nervura marrom “brown midrib” BRM (*Sorghum bicolor*)**. 2019. 115 f. Tese (de Doutorado) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2019.

ALMEIDA, L. G. F. de; PARRELLA, R. A. da C.; SIMEONE, M. L. F.; RIBEIRO, P. C. de O.; BARBOSA, G. M. P.; BRITO, P. L.; COSTA, A. S. V. da; SANTOS, A. S. dos. Characterization of cell wall polysaccharides and cellulosic ethanol potential in genotypes of sorghum biomass. **International Journal of Development Research**, v. 9, n. 4, p. 26810-26820, 2019.

BHERING, L. L. Rbio: a tool for biometric and statistical analysis using the R Platform. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, p. 187-190, 2017.

EMBRAPA. **Sorgo biomassa é ótima opção para geração de energia**. Brasília, DF, 2014. Notícias. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2246665/sorgo-biomassa-e-otima-opcao-para-geracao-de-energia>>. Acesso em: 03 mar. 2020.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. **Matriz energética e elétrica**. Disponível em: <<http://www.epe.gov.br/pt/abcdenergia/matriz-energetica-e-eletrica#ENERGETICA>>. Acesso em: 27 fev. 2020

FERNANDES, F.; SILVA, C. S.; SANTOS, M. V. B.; LIMA, C. J. B. **Estudo da produção de etanol a partir de sorgo biomassa (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)**. III CONGRESSO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS, 3., 2018, Salvador. **Anais..** Campina Grande: Conepetro, 2018.

LI, P.; CAI, D.; ZHANG, C.; LI, S.; QIN, P.; CHEN, C.; WANG, Y.; WANG, Z. Comparison of two-stage acid-alkali and alkali-acid pretreatments on enzymatic saccharification ability of the sweet sorghum fiber and their physicochemical characterizations. **Bioresource Technology**, v. 221, p. 636- 644, 2016.

SIMEONE, M. L. F.; DAMASCENO, C. M. B.; FIETTO, L. G.; CAMPOS, V. J.; PARRELLA, R. A. C.; SCHAFFERT, R. E. **Genótipos de sorgo com potencial para sacarificação**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, nº 182, Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2018.

XU, H.; LI, B.; MU, X. Review of alkali-based pretreatment to enhance enzymatic saccharification for lignocellulosic biomass conversion. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 55, n. 32, p. 8691-8705, 2016.