



## PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO UTILIZANDO HIDROLISADO CELULÓSICO NA PRESENÇA DE INIBIDORES EM BIORREATOR

TAÍS SOUZA<sup>1\*</sup>, CHARLINE BONATTO<sup>2</sup>, SUZANA F. BAZOTI<sup>3</sup>, SÉRGIO L. ALVES  
JR.<sup>4</sup>, HELEN TREICHEL<sup>5</sup>

### 1 Introdução

Muitas pesquisas têm direcionado seu foco na busca de uma produção de combustíveis a partir de fontes de energia alternativas, como a biomassa, a fim de aumentar a contribuição na matriz energética e diminuir a dependência por combustíveis fósseis (BALAT, 2011). O etanol de segunda geração, pode ser produzido através da biomassa lignocelulósica, oriunda de diversos resíduos agroindustriais, porém, esses materiais apresentam estrutura recalcitrante, o que dificulta o acesso dos microrganismos aos carboidratos disponíveis na planta (ANTUNES *et al.*, 2017).

Assim, para que ocorra a disponibilização desses carboidratos, é necessário realizar primeiro o pré-tratamento da biomassa. No entanto, nessa etapa são formados produtos inibitórios como o ácido acético, furfural e o hidroximetilfurfural (HMF), que podem inibir completamente o metabolismo do microrganismo, dependendo da espécie utilizada e da concentração presente no hidrolisado.

Diante disso, alguns estudos têm voltado sua atenção para a seleção de microrganismos selvagens que fermentam mesmo na presença de compostos inibitórios, como é o caso do trabalho desenvolvido por Bazoti *et al.* (2017), que utilizou uma nova cepa de *Wickerhamomyces* para fermentar um hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar industrial na presença de inibidores (furfural, HMF e ácido acético). No entanto, ainda são necessárias atividades de investigação e desenvolvimento para melhorar os processos operacionais, a fim

<sup>1</sup> Graduanda em Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim/RS, Bolsista UFFS, \*contato: tays.souza20@gmail.com;

<sup>2</sup> Mestranda em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, *campus* Florianópolis/ SC.

<sup>3</sup> Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim/RS.

<sup>4</sup> Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó/SC.

<sup>5</sup> Laboratório de Microbiologia e Bioprocessos, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim/RS, Orientadora



de viabilizar o processo proposto pelos autores em escala industrial.

## 2 Objetivos

Produzir etanol de segunda geração a partir de hidrolisado industrial de bagaço de cana-de-açúcar na presença de inibidores de fermentação (ácido acético, HMF e furfural) em biorreator.

## 3 Material e Métodos

O hidrolisado de cana de açúcar foi disponibilizado pelo Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), localizado em São Paulo, Brasil e foi obtido a partir do pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar por meio de explosão a vapor, seguido de hidrólise enzimática pela enzima Cellic CTec3 (Novozymes).

A levedura utilizada no processo fermentativo foi isolada no Parque Nacional de Chapecó e identificada por Bazoti *et al.* (2017) como uma nova cepa de *Wickerhamomyces* sp. O crescimento da levedura ocorreu meio extrato de levedura dextrose (YPD) sólido, por 72 horas em estufa bacteriológica a 30°C. Após, a levedura foi transferida para um tubo de ensaio contendo 10 mL de YPD líquido e mantida em estufa bacteriológica por 24 horas a 30°C. Na sequência, foi transferida para um frasco Erlenmeyer contendo 90 mL de YPD, permanecendo por 24 horas em agitador orbital a 30°C e 20 RPM, sendo posteriormente vertido no biorreator previamente preparado e esterilizado (120 °C e 1 atm, por 40 min).

Ao biorreator foram adicionados 3 L de hidrolisado diluído 1:3 (v/v) com água ultrapura, condição otimizada por Bazoti *et al.* (2017) e adição de 10% (v/v) de inóculo da levedura. Foram realizadas fermentações em duas condições: sem ajuste de pH e com pH controlado em 7 durante toda a fermentação. As fermentações foram mantidas em condições anaeróbias e agitação de 80 RPM e temperatura de 30 °C, e amostras foram coletadas a cada 24 horas para análise dos compostos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).

## 4 Resultados e Discussão

Na fermentação conduzida sem ajuste de pH, apresentando valores de pH entre 4,84 e 4,98, a glicose foi consumida completamente pelo microrganismo após 72 horas de



fermentação. Os demais compostos como a xilose, arabinose e celobiose permaneceram inutilizados no meio fermentativo. A inutilização desses compostos pode ser atribuída à presença de ácido acético no meio, que inibiu a ação da levedura (CASEY *et al.*, 2010). Mesmo assim, após 120 horas de fermentação uma concentração de 7,95 g/L de etanol foi obtida.

Na fermentação em que o pH do meio foi mantido em 7,00, a glicose foi o primeiro composto a ser esgotado novamente, e em seguida, a xilose passou a ser utilizada pela levedura como fonte de carbono, resultando em uma concentração de etanol de 9,25 g/L, decorridas 120 horas de fermentação. O consumo da xilose pela levedura na fermentação com ajuste de pH pode ser atribuído ao fato de que com o aumento do pH, ocorre a dissociação dos ácidos fracos, o que promove a diminuição da concentração da forma indissociada do ácido e eleva a concentração da base conjugada. Teoricamente, a toxicidade provocada pelo ácido acético é maior em pH mais baixo, quando o número de moléculas indissociadas é maior, do que em pH alto (HENTGES, 1967). Sendo assim, isso pode explicar o consumo de xilose na fermentação com ajuste de pH, levando em consideração a presença de ácido acético no meio de fermentativo.

## Conclusão

A fermentação pela levedura *Wickerhamomyces* sp. UFFS-CE-3.1.2 conduzida com pH controlado em 7,00, produziu uma maior quantidade de etanol se comparando com a fermentação sem ajuste de pH. Esse aumento é explicado pelo consumo da pentose xilose, que foi favorecido pela elevação do pH do meio. Este estudo mostra que há possibilidade do aumento de escala da produção de etanol a partir de hidrolisado de cana de açúcar, podendo resultar em futuros ganhos com etanol de segunda geração a nível comercial.

## Referências

- ANTUNES, F. A. F. *et al.* A novel process intensification strategy for second-generation ethanol production from sugarcane bagasse in fluidized bed reactor. **Renewable Energy**, p. 6–13, 2017.
- BALAT, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway : A review. **Energy Conversion and Management**, v. 52, p. 858–875, 2011.



BAZOTI, S. F. *et al.* Second-generation ethanol from non-detoxified sugarcane hydrolysate by a rotting wood isolated yeast strain. **Bioresource Technology**, v. 244, p. 582–587, 2017.

CASEY, E. *et al.* Effect of acetic acid and pH on the cofermentation of glucose and xylose to ethanol by a genetically engineered strain of *Saccharomyces cerevisiae*. **FEMS Yeast Research**, v. 10, p. 385–393, 2010.

HENTGES, D. J. Influence of pH on the Inhibitory Activity of Formic and Acetic Acids for *Shigella*. **Journal of bacteriology**, v. 93, n. 6, p. 2029–2030, 1967.

**Palavras-chave:** Biocombustíveis, Valoração de resíduos; Ampliação de escala.

#### **Financiamento**

UFFS