



CONGRESSO BRASILEIRO
DE ENGENHARIA QUÍMICA EM
INICIAÇÃO CIENTÍFICA

21-24 Julho de 2019
Uberlândia/MG



PRODUÇÃO DE ETANOL 2G COM CASCA DE COCO EM CONDIÇÕES DE SACARIFICAÇÃO E FERMENTAÇÃO SIMULTÂNEAS

A.C.P. PEIXOTO, L. L. M. SANTOS, D.P.S.SILVA, M. S. R. ROCHA e R. M. R. G. ALMEIDA

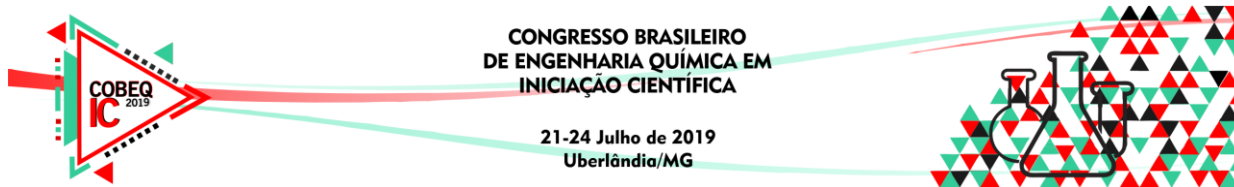
Universidade Federal de Alagoas, Departamento de Engenharia Química
E-mail para contato: andrezaperdigao1@hotmail.com

RESUMO – Com a crescente produção de etanol de primeira geração (1G) no Brasil, a área de cultivo deverá ser expandida para atender à crescente demanda nacional e internacional. Entretanto, para evitar a expansão desmedida das áreas de cultivo, têm-se desenvolvido processos biotecnológicos alternativos para produção de etanol de segunda geração (2G) que permitam a utilização da biomassa lignocelulósica, gerada nos setores agrícolas e florestais. Composto por celulose e hemicelulose, a biomassa lignocelulósica se torna de grande interesse industrial devido à facilidade de fermentação após hidrólise. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi realizar o estudo cinético da sacarificação e fermentação simultânea (SSF) para a produção de etanol 2G utilizando a casca do coco como biomassa lignocelulósica. As análises de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) demonstraram que a levedura *Kluyveromyces marxianus* foi capaz de consumir os açúcares fermentescíveis e produzir etanol, tendo a maior produção no período de 18h, obtendo 4,052 g/L de etanol. Embora o processo SSF não tenha conseguido ser realizado na mesma temperatura que a etapa de pré-hidrólise, uma vez que a levedura não consegue suportar temperaturas maiores que 37°C, ele apresenta vantagens operacionais, como um menor tempo de operação, redução de custos e a diminuição dos riscos de contaminação por outros microrganismos.

1. INTRODUÇÃO

A biomassa é uma fonte de energia, podendo ser obtida de resíduos florestais, vegetais, industriais e urbanos. Devido à alta disponibilidade deste tipo de material, vários estudos têm empregado esses resíduos como fonte energética para a produção de etanol de segunda geração (2G). Composto por celulose e hemicelulose, este substrato se torna de grande interesse industrial devido à facilidade de fermentação após hidrólise do arcabouço celulósico. Apesar disso, tem-se verificado uma dificuldade em obter vias hidrolíticas que visem à desconstrução de tais moléculas (WILLATS *et al.*, 2001).

O processo necessário para a obtenção do etanol a partir da biomassa lignocelulósica consiste basicamente em quatro fases: pré-tratamento, hidrólise, fermentação e destilação do produto. O pré-tratamento e a hidrólise são fundamentais para desestruturar a matéria-prima



lignocelulósica, que é composta por uma mistura complexa de celulose, hemicelulose e lignina que fazem parte da estrutura dos vegetais, para que assim as fibras celulósicas se tornem acessíveis e possam ser transformadas em açúcares fermentescíveis, que serão utilizados pelas leveduras na fermentação e, conseqüentemente, na produção de etanol (CASCIATORI, 2015).

Quando as etapas de hidrólise e fermentação são realizadas separadamente, a configuração é dita Hidrólise e Fermentação Separadas (SHF, sigla em inglês que significa *Separated Hydrolysis and Fermentation*). Quando são realizadas simultaneamente, é denominada Hidrólise e Fermentação Simultâneas (SSF, sigla em inglês que significa *Simultaneous Saccharification and Fermentation*) (SOUZA, 2016).

O Brasil possui cerca de 280 mil hectares cultivados com coqueiro, distribuídos, praticamente, em quase todo o território nacional com produção equivalente a dois bilhões de frutos. Esta situação decorre principalmente do aumento da área cultivada com coqueiros anões e híbridos destinados à produção de coco verde (água de coco), os quais são naturalmente mais produtivos que o coqueiro Gigante destinado à produção coco seco. Apesar do cultivo do coqueiro estar sendo estimulado e introduzido em várias regiões do país, as maiores plantações e produções se concentra na faixa litorânea, especialmente no Nordeste e parte da região Norte. Favorecida pelas condições de tropicalidade climática, ambas as regiões detêm aproximadamente 75% da produção de coco brasileiro (EMBRAPA, 2011).

Em virtude do crescimento no consumo de água de coco no Brasil, são geradas milhares de toneladas diariamente de casca, acarretando sérios problemas ambientais (CABRAL, 2015). Dessa forma, este trabalho tem como objetivo pesquisar as melhores condições operacionais para o processo de sacarificação e fermentação simultânea (SSF) utilizando a casca do coco verde como biomassa lignocelulósica para a produção de etanol 2G.

2. METODOLOGIA

Inicialmente, o material foi desfibrado a mão e, posteriormente, moído em um moinho de facas até granulometria de 30 mesh. A biomassa foi seca em estufa até que a umidade estivesse abaixo de 10%. Em seguida, de acordo com o resultado do planejamento experimental realizado por Abreu (2017), foi realizado o pré-tratamento ácido em uma autoclave (1% v/v de ácido sulfúrico e 100°C) durante 1 hora.

Para a fermentação, foi utilizada a levedura *Kluyveromices marxianus*, a qual foi cultivada em placa de petri com meio Yeast Peptone Dextrose (YPED) sólido. Posteriormente, a levedura foi crescida em meio líquido, em proporção 1:1 (v/v) com o hidrolisado, em agitação constante de 75 rpm a uma temperatura de 37°C. O meio YPED foi preparado para 300 mL com 6g de peptona bacteriológica, 6g de glicose e 3g de extrato de levedura. Ao meio sólido foram acrescidos 3% de ágar (SOUZA, 2011).

A hidrólise e fermentação SSF foi realizada em incubadora rotativa, usando-se 7,5% de carga de sólidos e 1/3 de levedura. Realizou-se, inicialmente, a pré hidrólise à 50°C durante 12h e após isso, a temperatura foi diminuída para 37°C e a levedura foi inserida nas amostras sob agitação constante de 125 rpm por 12h, totalizando 24h de processo

com retiradas de alíquotas nos tempos de 1, 6, 14, 18 e 24 horas para quantificar os açúcares e o etanol produzidos através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

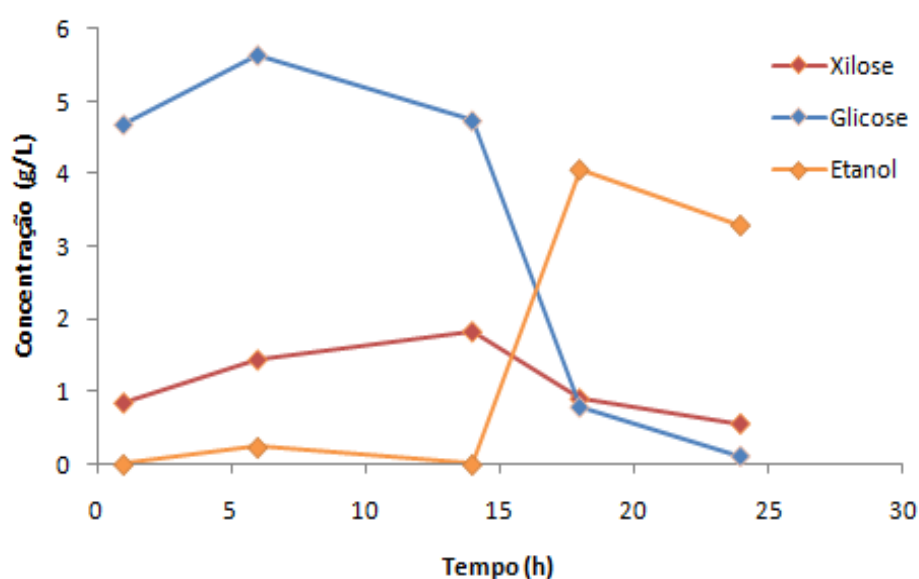
A partir das amostras coletadas nos intervalos de tempo pré-definidos, as concentrações de glicose, xilose e etanol foram determinadas através do HPLC. Os resultados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1- Concentrações de glicose, xilose e etanol.

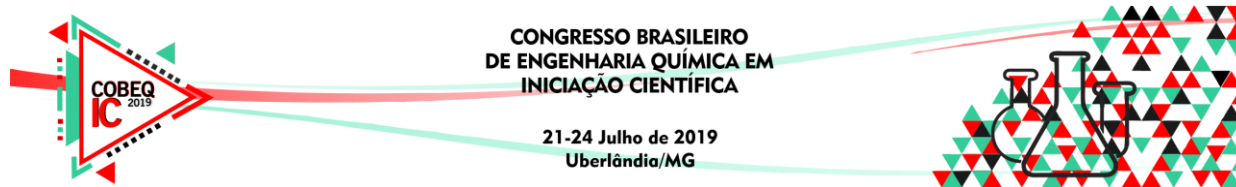
Tempo (h)	Glicose (g/L)	Xilose (g/L)	Etanol (g/L)
1	4,678	0,833	0
6	5,634	1,428	0,234
14	4,728	1,818	0
18	0,778	0,892	4,052
24	0,1	0,545	3,29

De acordo com os dados da Tabela 1, plotou-se o gráfico Concentração x Tempo que está representado na Figura 1.

Figura 1- Concentrações de açúcares e etanol em função do tempo.



A Figura 1 mostra que com 6h ocorre um decaimento na concentração de glicose e com 14h na concentração de xilose, demonstrando que a produção de etanol está associada ao consumo dos açúcares pela levedura (SILVA *et al.*, 2018). A fermentação é o processo



anterior à destilação e é a partir desta etapa que ocorre a degradação da glicose e outros nutrientes orgânicos em vários produtos, para geração de energia sob a forma de adenosina trifosfato, ou ATP (LEHNINGER *et al.*, 2006).

Dessa forma, o processo obteve maior concentração de etanol no tempo de 18h e, em seguida, houve um decaimento na produção, que pode estar associado ao esgotamento do substrato. Portanto, embora os açúcares continuassem sendo consumidos no processo de fermentação, não é justificável prolongar o processo por mais de 18h uma vez que a produção máxima de etanol é o objetivo do estudo.

O resultado obtido pode ser justificado pelo fato de que o processo SSF não permite que se opere na condição otimizada, visto que a temperatura ideal para a hidrólise enzimática da biomassa é 50°C, porém foi necessário reduzir a temperatura para 37°C por conta da levedura, uma vez que temperaturas maiores que esta houve a morte do microrganismo (COSTA, 2011). Entretanto, o processo SSF ainda apresenta vantagens operacionais, como um menor tempo de operação, redução de custos e a diminuição dos riscos de contaminação por outros microrganismos, podendo ser utilizado industrialmente (OHGREN *et al.*, 2007).

4. CONCLUSÃO

A levedura *Kluyveromyces marxianus* mostrou-se capaz de consumir os açúcares fermentescíveis e produzir etanol, tendo a maior produção no período de 18h, obtendo 4,052 g/L de etanol. Logo, em termos de otimização do processo, a reação poderia ter sido encerrada em 18h.

Embora o processo SSF não consiga ser realizado na condição otimizada, isto é, na mesma temperatura que a etapa de pré-hidrólise, ele pode ser utilizado industrialmente, pois apresenta um menor tempo de operação, redução de custos e diminuição dos riscos de contaminação por outros microrganismos.

6. REFERÊNCIAS

- ABREU, I. Estudo da cinética das etapas de produção de etanol 2G. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal de Alagoas, Maceió- AL, 2018.
- CABRAL, M. Aproveitamento da casca do coco verde para produção de etanol de segunda geração. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Alagoas. Maceió, Alagoas, 2015.
- CASCIATORI, F. Hygroscopic properties of solid agro-industrial by-products used in solid-state fermentation. *Ind. Crops and Prod.*, v. 64, p. 114-123, FEB 2015.
- COSTA, D. A. Caracterização de leveduras termotolerantes para produção de etanol celulósico. 2011. 61f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2011.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Beneficiamento da casca de coco verde.



- LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L., COX, M. M. Lehniger princípios de bioquímica. 4. ed. São Paulo: Sarv., 2006. XXVIII, p. 1202.
- OGHREN, K. et al. (2006). Simultaneous saccharification and co-fermentation of glucose and xylose in steam-pretreated corn stover at high fiber content with *Saccharomyces cerevisiae*. TMB3400. *J. Biotech.*126(4): 488-98
- SILVA, J. S., MALTA, V. R. S., SANTOS, M. S. R., ALMEIDA, R. M. R. G., GOMES, M. A., VICENTE, C. D., BARBOSA, K. L. Hidrólise enzimática, fermentação e produção de biocombustíveis através da coroa de *Ananas comosus*. *Quim. Nova*, vol. 41, n. 10, p. 1127-1131, 2018.
- SILVA, N. L. C. Produção de bioetanol de segunda geração a partir de biomassa residual da indústria de celulose. Dissertação de mestrado – Escola de química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.
- SOUZA, C. J. A. Produção de Etanol por sacarificação e Fermentação Simultâneas do Bagaço de Cana-de-Açúcar utilizando Leveduras Termotolerantes. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2011.
- WILLATS, W.G.T., MCCARTNEY, L., MACKIE, W. & KNOX. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. *Plant Molecular Biology* 47:9-27. 2001.