

## ESTUDO DA PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DE SORGO BIOMASSA (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)

Francieli Fernandes<sup>1</sup>; Charles Souza da Silva <sup>2</sup>; Monique Virões Barbosa dos Santos <sup>3</sup>;  
Cristian Jacques Bolner de Lima <sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso / Campus Cáceres - Prof. Olegário Baldo  
[Francielifernandes98@gmail.com](mailto:Francielifernandes98@gmail.com)

<sup>2</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso / Campus Cáceres - Prof. Olegário Baldo  
[charlessouza73@gmail.com](mailto:charlessouza73@gmail.com)

<sup>3</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso / Campus Cáceres - Prof. Olegário Baldo  
[monique.viraes@cas.ifmt.edu.br](mailto:monique.viraes@cas.ifmt.edu.br)

<sup>4</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso / Campus Cáceres - Prof. Olegário Baldo  
[cristian.lima@cas.ifmt.edu.br](mailto:cristian.lima@cas.ifmt.edu.br)

### RESUMO

O Brasil tem potencial para produzir o etanol de segunda geração feito através do bagaço de sorgo biomassa, pois há matéria prima em abundância com fácil acessibilidade. O grande desafio para a sua produção consiste em determinar a melhor opção de disponibilizar a glicose a partir da hidrólise de celulose em termos de custo global, rendimento glicosídico e fermentabilidade do hidrolisado. Assim, este trabalho teve como objetivo demonstrar diferentes métodos de pré- tratamentos hidrolíticos da celulose em açúcares fermentescíveis para posterior fermentação e produção do bioetanol. Após análises experimentais, o maior resultado encontrado, em frascos agitados, para a produção de etanol foi de 19,3 g/L, com um rendimento final de 45% e produtividade volumétrica de 0,77 g/Lh, a partir do sorgo biomassa (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), pré-tratado, utilizando a carga enzimática de 35 FPU/g.

Palavras-chave: Energias renováveis, Biocombustível, Hidrólise, Celulose.

### 1. INTRODUÇÃO

A energia renovável é uma fonte fundamental de energia, que contribui para a segurança energética, reduzindo a dependência dos combustíveis fósseis e as emissões de gases de efeito estufa. O aumento da população mundial gera uma forte demanda mundial de energia, o que implica em incremento no consumo dos mais variados produtos e, por conseguinte, intensificação da atividade industrial (VINUTHA et al., 2014).

Referência internacional na geração e na utilização de fontes renováveis de energia, o Brasil, reencontra-se em uma grande oportunidade de desenvolvimento econômico e social, por meio dos biocombustíveis, pois possui abundante biodiversidade e grandes extensões de terras agricultáveis e com clima propício (CERQUEIRA, 2013).

No entanto, segundo Wu (2011) ainda apresenta problemas para suprimento de sua demanda interna, cuja proposta para solução desse impasse, entre outras, é a pesquisa e o desenvolvimento de novas matérias primas, para diversificação e ampliação da matriz energética renovável.

E entre as diversas matérias-primas renováveis que estão sendo avaliadas atualmente para produção de etanol, especial destaque vem sendo dado ao sorgo biomassa, pois é abundante em matéria seca, característica responsável pelo fornecimento de energia. A planta possui muitas folhas, caule fibroso e chega a mais de cinco metros de altura, além de alto potencial produtivo, superior a 100 toneladas de matéria fresca por hectare para semeio na safra (outubro/novembro). Tem ciclo longo, de 150 a 210 dias. É uma solução para o agricultor que trabalha com uma única safra por ano (NOVACANA, 2017).

Além disso, a capacidade de adaptação a climas tropicais e temperados, sua elevada eficiência na utilização da água, sua tolerância à estiagem e sua capacidade potencial de produzir grandes quantidades de biomassa lignocelulósica são alguns dos numerosos pontos fortes dessa planta. Assim, a grande potencialidade para a obtenção do etanol lignocelulósico ou de segunda geração se faz presente (PARRELLA, 2013).

Assim, o objetivo deste trabalho consiste em investigar a produção de etanol de segunda geração a partir do sorgo biomassa, através da conversão de celulose em glicose, utilizando pré-tratamentos químicos e enzimático.

## **2.METODOLOGIA**

### **2.1 Microrganismo**

A levedura, *Sacharomyces cerevisiae*, utilizada nas fermentações foram adquiridas comercialmente (marca Fleischmann).

### **2.2 ativação e propagação celular**

O cultivo do pré-inoculo foi realizado em frascos cônicos de 500 mL, com 200 mL de meio líquido a pH 5,0, a 30°C e agitação de 200 rpm, nas seguintes concentrações em g/L: 4 de levedura desidratada, 20 de glicose; 2,5 de extrato de levedura, 1 de sulfato de amônia, 0,5 de fosfato de potássio e 0,5 de sulfato de magnésio heptahidratado. Os meios de cultura para o pré-inoculo foram autoclavados por 15 minutos, a temperatura de 121°C.

### **2.3 Material experimental**

O sorgo biomassa (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), utilizado no experimento foi, inicialmente, seco a 60°C em estufa, por 12 horas. Em seguida, o mesmo foi triturado e acondicionado em sistemas herméticos para posterior uso.

### **2.4 Pré-tratamento do sorgo biomassa**

O pré-tratamento ácido foi realizado para desorganizar a matriz lignocelulósica e remover a fração hemicelulósica (BETANCUR et al., 2010). O pré-tratamento alcalino se fez necessário

para aumentar a acessibilidade das enzimas às fibras celulósicas (BARCELOS et al., 2012). Após os pré-tratamentos químicos, realizou-se a etapa de hidrólise enzimática, na qual a celulose foi convertida a açúcares fermentáveis. Todas as condições para a realização do pré-tratamento da biomassa para a hidrólise, encontra-se na Tabela 01.

Tabela 01. Processos para pré-tratamento da biomassa para hidrólise

<b>Processo</b>	<b>Descrição</b>	<b>Tempo de Reação</b>
Pré-Hidrólise Ácida	Adição de ácidos sulfúrico diluído a 1,0% (v/v), relação sólido:líquido 1:2,8 (g/ml) em temperatura de 121 °C, com tempo de exposição de 30 minutos em autoclave	30 min
Pré-Hidrólise Alcalina	NaOH a 4% (m/v), na relação sólido:líquido de 1:20.	30 min
Enzimática	Hidrólise enzimática com uso de um preparado celulásico comercial (Sigma Aldrich, USA), O experimento foi desenvolvido, utilizando-se diferentes concentrações de cargas enzimáticas (FPU/g): 15, 20, 25, 30, 35 e 40. A temperatura mantida em 50°C, durante 12 horas.	12 Horas

## 2.5 Fermentação

A cinética do processo de fermentação foi realizada em shaker utilizando erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de meio de fermentação (item 2.2), sem adição de glicose, a qual foi substituída pelo pré-hidrolisado de celulose. O pH inicial do meio foi de 5,0, temperatura de 30°C e agitação de 100 rpm, durante 24 horas.

## 2.6 Métodos analíticos

### 2.6.1 Quantificação de Microrganismos

A alíquota de 10 mL da biomassa centrifugada foi transferida para um placa previamente tarada e seca em estufa a 80°C até peso constante. O valor da massa seca foi obtido pela diferença de peso da placa.

### 2.6.2 Determinação da Atividade Enzimática

Para a enzima celulase, a atividade foi determinada como atividade de papel de filtro e expressa em unidades de papel de filtro (FPU) por volume de enzima original, como recomendado pela IUPAC (GHOSE, 1987).

### 2.6.3 Determinação de Etanol e Açúcares

A análise da concentração de etanol e da determinação de glicose foram realizadas através do método Steckelberg (2001) e do método de DNS de Miller (1959), respectivamente.

## 2.6.4 Rendimento

Os parâmetros cinéticos calculados nas fermentações foram o rendimento em grama de etanol por grama de açúcares redutores (AR) ( $Y_{P/AR}$ ) ao final de 48 horas de fermentação, determinados pela Equação 1 e a produtividade em grama de etanol por grama de açúcares redutores pelas 48 horas de fermentação dada pela Equação 2.

$$Y_{P/AR} = \frac{EC_F}{(TS_1 - TS_F) \cdot 0,511} \cdot 100 \quad 1$$

$$P_E = \frac{EC_F}{T} \cdot 100 \quad 2$$

Em que:

$Y_{P/AR}$  = Rendimento de etanol formado em relação ao consumo do açúcar redutor (%);

$EC_F$  = Concentração de etanol ao final da fermentação (g/L);

$T_{SF}$  = Concentração de açúcar final (g/L);

$T_{S1}$  = Concentração de açúcar inicial (g/L).

$P_E$  = Produtividade de etanol;

t = tempo de fermentação (h).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Análise da hidrólise em relação a variação da carga enzimática durante o pré-tratamento com celulase comercial.

Visando definir a melhor condição que resultasse em elevadas concentrações de glicose, a partir da celulose hidrolisada, variou-se a carga enzimática em 15, 20, 25, 30, 35 e 40 FPU/g. Os ensaios foram conduzidos com um tempo de pré- hidrólise enzimática de 12 h.

Após as análises experimentais, observou-se que a maior produção de glicose encontrada, a partir do sorgo biomassa foi com 35 FPU/mL, atingindo cerca de 43,2 g/L de glicose. De acordo com Vásquez (2007), esse comportamento se justifica pelo fato do material (biomassa), provavelmente, apresentar uma composição química menos favorável ao processo hidrolítico, ou seja, maiores teores de lignina e hemicelulose, acarretou na utilização de maiores cargas enzimáticas no meio.

### 3.2. Resultados dos processos fermentativo

A melhor carga enzimática encontrada nos experimentos realizados foi de 35 FPU/g biomassa seca pré-tratada, acarretando em 43 g/L de glicose. Tais experimentos foram realizados com um tempo de pré-hidrólise enzimática de 12 h e concentração de sólido fixo a 6% (m/v). Nas duas fermentações realizadas (duplicata), utilizou-se em ambas, a levedura *Sacharomyces cerevisiae*, como pré-inóculo, na concentração de 10% do volume de trabalho.

Na Figura 1, observa-se o perfil cinético do processo de hidrólise enzimática do sorgo biomassa pré-tratado em frascos agitados, utilizando a levedura *Sacharomyces cerevisiae*.

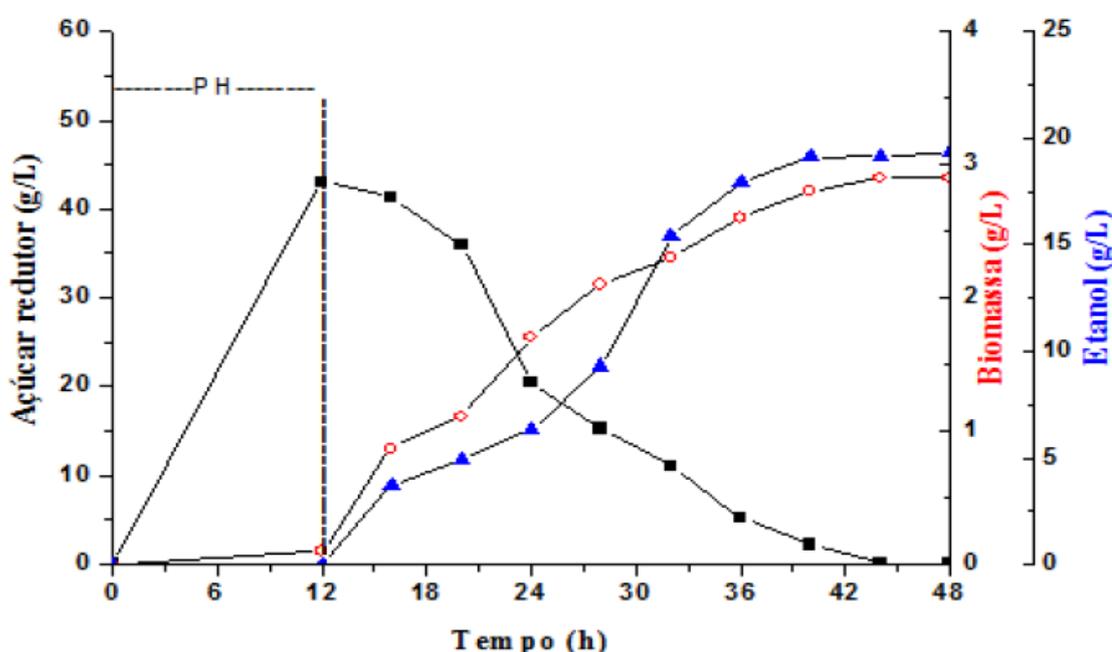


Figura 1. Perfil cinético do processo de pré-hidrólise enzimática (PH) de celulose e das concentrações de substrato, produto e biomassa em função do tempo de fermentação a partir de sorgo biomassa pré-tratado, utilizando a levedura *Sacharomyces cerevisiae*. g/L: (■) açúcar redutor; (▲) Etanol; (○) Biomassa.

Percebe-se, na Figura 1, que a concentração inicial de glicose, 43,2 g/L, foi convertida em uma concentração final de 19,3 g/L de etanol no período de 36 horas de fermentação, com pH inicial de 5,0 (sem controle), a uma temperatura de 30°C, sob agitação orbital de 100 rpm.

Vale ressaltar que a maior produtividade volumétrica obtida neste processo foi de 0,77 g/Lh, em um tempo de fermentação de aproximadamente, 20 horas. Contudo, todo o substrato foi consumido após 32 horas de processo fermentativo, obtendo-se um rendimento de 45%.

Rabelo (2010), atingiu rendimentos 87,4% para o hidrolisado do bagaço de cana de açúcar pré-tratado com hidróxido de cálcio e de 88,4% para o hidrolisado do bagaço pré-tratado com peróxido de hidrogênio alcalino. Vásquez (2007), atingiu 70 g/L de etanol a partir de processos de sacarificação e fermentação simultânea (SSF) a partir do bagaço de cana sob condições semelhantes, utilizando a levedura *Sacharomyces cerevisiae*. As maiores diferenças entre os resultados obtidos no presente estudo, quando comparados com Vásquez (2007), provavelmente, está associado ao tempo de hidrólise enzimática da biomassa pré-tratada, pois os ensaios conduzidos por Vasquez foram com um tempo de pré-hidrólise enzimática de 50 h. Isso, provavelmente, possibilitou uma hidrólise mais eficiente no experimento. Já Souza (2014) verificou-se que o rendimento em etanol foi maior quando o bagaço foi submetido inicialmente a uma pré-hidrólise a 50°C por 72 horas.

Manoj (2016), em seus estudos, sacarificando 2kg de sorgo biomassa com ácido sulfúrico a 3% (v/v), durante 60 minutos a 180°C, obteve uma porcentagem de 36,3% de açúcar. Durante o rastreamento das culturas de leveduras, verificou-se que os isolados C, MK-I e N eram potentes produtores de etanol a partir do hidrolisado de sorgo. A cultura MK-I foi a melhor utilizada para aumentar a produção de etanol até 25 L de capacidade, o que proporcionou um rendimento de 0,49 g de etanol/g de açúcar a partir do hidrolisado obtido.

De acordo com Eulogio (2017), o sorgo biomassa deslignificado, resultante do bagaço pré-tratado, por explosão a vapor de ácido fosfórico diluído, submetida ao processo de liquefação mais sacarificação simultânea, utilizando uma concentração enzimática de 11,5 FPU/ biomassa seca pré-tratada (enzima Novozymes Cellic CTec3) foi de 27,5 g/L de etanol.

Com relação à eficiência do processo, neste trabalho, obteve-se o valor de 87%, ou seja, um grande resultado, visto que no processo industrial, a eficiência fermentativa atinge de 90 a 92% do rendimento estequiométrico, havendo o consumo de açúcar para formação de biomassa celular e subprodutos (LIMA et al., 2001). Ratnavathi et al. (2010), obtiveram valores de eficiência fermentativa na faixa de 86,5 a 94,7% para sorgo sacarino utilizando leveduras *Saccharomyces cerevisiae* CFTR 01.

#### 4. CONCLUSÕES

- O sorgo biomassa, da espécie *Sorghum bicolor* (L.) Moench, demonstrou ter um bom potencial para a produção de etanol de segunda geração;
- A concentração de etanol máxima produzido foi de 19,3 g/L em 32 horas de fermentação, consumindo 100% do substrato;

- A máxima produtividade volumétrica alcançada foi de 0,77 g/Lh, durante 20 horas de processo, com um rendimento final de 45%;
- A melhor carga enzimática para a hidrólise da celulose, a partir do sorgo biomassa [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], pré-tratado com celulase comercial, foi de 35 FPU/g, obtendo uma concentração máxima de 43,2 g/L de glicose;
- Verificou-se, que o aumento da carga enzimática, nos testes fermentativos, aumentou a produção de etanol. Contudo, acima de 35 FPU/g a de produção etanol diminuiu.

## 5.REFERÊNCIAS

AQUARONE, E., et al. **Biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 523p., 2001.

BARCELOS, C. A., et al. The Essentialness of Delignification on Enzymatic Hydrolysis of Sugar Cane Bagasse Cellulignin for Second Generation Ethanol Production. **Waste and Biomass Valorization**, v. 3, p. 255-260, 2012.

BETANCUR, G. J. V & Pereira, Jr. N. Sugarcane bagasse as feedstock for second generation ethanol production. Part I: diluted acid pre-treatment optimization. **Electronic Journal of Biotechnology**, 2010.

CERQUEIRA, D. P. **Fermentação alcoólica de mosto com alta concentração de açúcar**. [Dissertação]. Mestrado de ciência e tecnologia em alimentos. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2013.

EULOGIO, C., et al., Potential for ethanol production from different sorghum cultivars. **Industrial Crops and Products**. Volume 109, Pages 367-373, 2017.

GHOSE, T. K. Measurement of cellulase activities. **Pure & Applied Chemistry**, Oxford, v. 59, n. 2, p. 257-268, 1987.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. In: LIMA, U. A. (Coord.). **Biotecnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blücher. **Biotecnologia industrial**, P1-43, v.3, 2001.

MANOJ, K., et al. Pretreatment optimization of Sorghum pioneer biomass for bioethanol production and its scale-up. **Bioresource Technology**. Vol. 199, p. 142-147, 2016.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, v.31, p.426-428, 1959.

NOVACANA. **NexSteppe fecha parceria para comercializar sorgo biomassa da Embrapa**. Disponível em <https://www.novacana.com/n/etanol/alternativas/nexsteppe-parceria-comercializar-sorgo-biomassa-embrapa-030417/> Acesso em 03/03/2018.

PARRELLA, R. A. C. Cultivares. In: MAY, A.; SILVA, D. D.; SANTOS, F.C. **Cultivo do sorgo biomassa para cogeração de energia elétrica**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 65 p., 2013.

RATNAVATHI, C.V., et al. Study on genotypic variation for ethanol production from sweet sorghum juice, **Biomass and Bioenergy**, v. 34, p. 947-952, 2010.

SOUZA, R. D. **Produção de etanol a partir de hidrolisado enzimático do bagaço da cana-de-açúcar por leveduras isoladas do bioma amazônico**. Dissertação (Mestre em Biotecnologia Industrial) UFP, Recife, 2014.

STECKELBERG, C. **Caraterização de leveduras de processo de fermentação alcoólica utilizando atributos de com posição celular e características cinéticas**. 156f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade estadual de campinas, São Paulo, 2001

VÁSQUEZ, M. P. **Desenvolvimento de processo de hidrolise enzimática e fermentação simultâneas para a produção de etanol a partir de bagaço de cana-de-açúcar**. 63 f.[Tese]. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

VINUTHA, K. S. et al. Sweet Sorghum Research and Development in India: Status and Prospects. **Sugar Tech.**, v. 16, n. 2, p. 133-143, 2014.

WU, L., et al. Efficient conversion of sugacane stalks into etanol employing low temperature alkali pretreatment method. **Bioresource Tecnology**, v. 102, p. 11183-11188, 2011.