

# PRODUÇÃO DE BIOETANOL POR CONVERSÃO ENZIMÁTICA



OLAM – Ciência & Tecnologia, Rio Claro, SP, Brasil – ISSN: 1982-7784 – está licenciada sob [Licença Creative Commons](#)

Diogo Moreira Gonçalves [1]  
Diego Filipe Belloni [2]  
Janaina de Melo Franco [3]  
José Hilton Bernardino de Araújo [4]

## INTRODUÇÃO

Atualmente existe uma preocupação mundial com o problema do aquecimento global causado pelo excesso de gás carbônico advindo da queima de combustíveis fósseis. Por esse motivo, a procura pelos biocombustíveis, em especial o etanol, é de suma importância para o meio ambiente, contribuindo para a diminuição de emissões atmosféricas prejudiciais ao planeta, uma vez que ele é obtido a partir de fontes renováveis, preservando os recursos naturais existentes, como exposto por McMillan (1994, p. 292).

Além disso, McCarthy e Tiemann (1998, p.1), afirmam que o álcool etílico é uma das melhores alternativas ao uso de aditivos na gasolina, os quais apresentam alta toxidez, levando a uma combustão mais limpa.

A quantidade de álcool necessária para suprir a crescente demanda torna necessária a pesquisa por novas formas de obtenção, principalmente através da conversão enzimática de resíduos agroindustriais, e de matérias lignocelulósicas, como cascas de cereais, bagaço de cana, resíduos da indústria madeireira, entre outros. De acordo com Sivers e Zacchi (1996, p.131), há mais de 20 anos vários países têm investido na produção de etanol a partir dessas biomassas.

**OLAM – Ciência & Tecnologia, ISSN 1982-7784 – n.2, n. especial, set. 2009, p. 106**  
**IV Semana do Meio Ambiente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná / Campo Mourão**  
**Rio Claro / SP – Brasil**  
[www.olam.com.br](http://www.olam.com.br)  
<http://cecemca.rc.unesp.br/ojs/index.php/olam/index>

A cana-de-açúcar é a principal matéria-prima para a fabricação de açúcar no mundo, sendo o Brasil um dos maiores produtores. Para Santos (2005, p.27), o bagaço produzido na produção de açúcar ou álcool é, sem dúvida, o resíduo agroindustrial obtido em maior quantidade no Brasil. São gerados aproximadamente 280 kg/ton de bagaço de cana moída. Sua utilização na produção de bioetanol proporciona um fim mais nobre, evitando apenas sua queima nas caldeiras para produção de vapor ou geração de energia elétrica.

O Balanço Nacional Energético publicado pelo Ministério de Minas e Energia sobre matrizes energéticas para o ano de 2006 apontou uma produção de 121 milhões de toneladas de bagaço de cana-de-açúcar (BRASIL, 2007).

Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) a forte demanda pelo álcool combustível fará com que o Brasil produza entre 607,8 a 631,5 milhões de toneladas e processe de 558,1 a 579,8 milhões de toneladas de cana-de-açúcar em 2008, um recorde, de acordo com o governo (BRASIL, 2008). Assim a produção de bagaço aumentara 23%, chegando à cerca de 156 milhões de toneladas de bagaço, o que revela uma fonte de grande potencial para a bioconversão a etanol.

Conforme Sun e Cheng (2002, p.1), a biomassa lignocelulósica pode ser convertida em etanol por via físico-química ou biológica. A via química é a mais utilizada, no entanto, é a que mais utiliza recursos financeiros, além de produzir efluentes indesejáveis.

## **HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSA VEGETAL**

Para as celulasas, enzimas envolvidas na hidrólise enzimática de biomassas de origem vegetal, ainda está reservada uma função de grande importância biotecnológica, a qual deverá utilizar anualmente muitas toneladas destas enzimas.

Trata-se da hidrólise de biomassa vegetal presente em resíduos lignocelulósicos da agricultura, com a finalidade de obter xaropes de açúcares fermentescíveis. Esta aplicação é de grande importância para os países de base agroindustriais, visto que poderiam aumentar o rendimento econômico de suas culturas, sem a expansão da área plantada.

Uma vez que o preço internacional mais alto da sacarose desestimula sua fermentação para produção de etanol, já foram observadas reduções na mistura desse combustível à gasolina de 25% para 20%. No momento, se existisse tecnologia para a hidrólise do bagaço de cana poderia haver excedente de álcool, visto que 60-70% do peso seco do bagaço de cana trata-se de celulose e hemicelulose. A Tabela 1 apresenta a composição química média do bagaço da cana-de-açúcar em base úmida, podendo-se notar o alto conteúdo em fibras, e o seu respectivo fracionamento em celulose, hemicelulose e lignina.

**Tabela 1:** Composição média do bagaço de cana-de-açúcar.

<b>Componente</b>	<b>Teor (%)</b>
<b><u>Composição química média</u></b>	
Carbono	39,7 – 49
Oxigênio	40 – 46
Hidrogênio	5,5 – 7,4
Nitrogênio e cinzas	0 – 0,3
<b><u>Propriedades físico-químicas</u></b>	
Umidade	50
Fibra	46
Brix	2
Impurezas minerais	2
<b><u>Composição média da fibra do bagaço</u></b>	
Celulose	26,6 – 54,3
Hemicelulose	14,3 – 24,4
Lignina	22,7 – 29,7

Fonte: adaptado de Mello Junior (1989).

A conversão de compostos lignocelulósicos a etanol é, conforme Sun e Cheng (2002, p.1), dividida em dois principais processos: a hidrólise da celulose para produzir açúcares simples, e a fermentação destes por via microbiológica a etanol. A hidrólise é usualmente catalisada pelas enzimas celulases, e a fermentação realizada por leveduras e bactérias.

Os fatores que afetam a hidrólise da celulose incluem a porosidade (área de superfície acessível) do material lignocelulósico, cristalinidade da fibra de celulose, e o conteúdo de hemicelulose. O conteúdo de hemicelulose e lignina dificultam o acesso da celulase à celulose, diminuindo a eficiência da hidrólise, efeito tal que pode ser minimizado pela remoção daqueles componentes, pela redução da cristalinidade e pelo aumento da porosidade em processos de pré-tratamentos do material do qual se quer obter etanol.

Para McMillan (1994, p. 297) o pré-tratamento dos materiais lignocelulósicos para produção de álcool, podem ser realizados por métodos físicos, químicos e biológicos e devem seguir os seguintes requerimentos: 1) promover a formação de açúcares ou dar condições para sua formação por hidrólise enzimática após o pré-tratamento; 2) evitar a degradação ou perda do teor de carboidratos; 3) evitar a formação de bioprodutos inibidores do processo de hidrólise enzimática e fermentação; e 4) ser economicamente viável.

## **METODOLOGIA**

O bagaço de cana-de-açúcar triturado foi obtido da Usina Sabarácool, localizada no distrito de Ivailândia, município de Engenheiro Beltrão, no Estado do Paraná. As enzimas NS50013 (celulase, lote CCN03102), NS50010 ( $\beta$ -glucosidase, lote DCN00209), NS50030 (xilanase, lote CDN00412), NS22002 (hemicelulase, lote

cnn02193) e NS50012 (complexo multicomponentes, lote KTN02161) foram obtidas com a Novozymes.

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* comercial foi obtida no município de Campo Mourão e o NaOH (99%) adquirido da VETEC.

### **Pré-Tratamento do Bagaço de Cana-de-Açúcar**

Pesou-se 1 kg do bagaço-de-cana triturado (úmido) e realizou-se a lavagem com água na proporção 1:9, mantendo sob agitação por 5 minutos totalizando 10 lavagens, sendo coletadas 3 alíquotas da água dispensada para a determinação dos açúcares residuais presente no bagaço.

O bagaço lavado foi disposto em bandejas e seco em uma estufa de circulação de ar a 60°C por 19 horas, sendo realizadas pesagens amostrais de hora em hora para determinação da umidade.

Depois de seco o bagaço foi novamente triturado em um liquidificador industrial e o resíduo foi levado para o agitador orbital onde foram separados em diversas frações sendo utilizado as partículas com tamanhos menores que 0,075 mm.

### **Determinação de Açúcares**

Para a determinação dos açúcares foi utilizada a metodologia de Somogyi-Nelson (SOMOGYI, 1952).

## **Determinação de Lignina**

Para a determinação de lignina foi utilizado a metodologia de lignina Klason (LK) de acordo com Tien e Kirk (1988, p. 240). Pesou-se cerca de  $0,3\text{g} \pm 0,01\text{g}$  do material seco em estufa e adicionou-se 3,0ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  72%. O recipiente foi mantido sob constante agitação em temperatura controlada de  $30^\circ\text{C}$  durante 90 minutos. Em seguida, seu conteúdo foi transferido para uma ampola de vidro de 150 mL junto com 84,0 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ . A ampola fechada foi colocada no digestor de fibras a  $120 \pm 5^\circ\text{C}$  por 60 minutos e, após resfriamento sob água corrente, seu conteúdo foi filtrado em cadinho de vidro sinterizado previamente tarado.

O filtrado foi coletado para determinação do teor de lignina solúvel no ácido e a fração insolúvel foi lavada exaustivamente com água a  $60^\circ\text{C}$ . Após secagem em estufa a  $105 \pm 5^\circ\text{C}$  até o peso constante, calculou-se a porcentagem de lignina insolúvel em ácido.

## **Deslignificação do Bagaço**

Adicionou-se 2 litros de solução de hidróxido de sódio (10% p/p base seca) em uma panela de pressão contendo 40g de bagaço seco, sendo colocada sobre uma chapa aquecedora a uma temperatura de  $110^\circ\text{C}$  durante 80 minutos sob 1,2 atm de pressão em equipamento feito em aço inoxidável para deslignificação. Posteriormente filtrou-se removendo o excesso de solução e adicionou-se 1 litro da solução de ácido sulfúrico (0,02 mol/L), deixando cozinhar por 10 minutos a mesma temperatura. Após esse período, o bagaço deslignificado foi filtrado e lavado com água destilada até o pH final próximo a 6,5, e seco em estufa de circulação induzida a temperatura de  $60^\circ\text{C}$ .

## Hidrólise do Bagaço por Via Enzimática

A determinação do rendimento de deslignificação do bagaço foi realizada pela secagem da massa deslignificada em estufa de circulação induzida a 60°C. Essa determinação foi necessária para quantificar a proporção de enzimas necessárias para realização da hidrólise enzimática que obedeceu às especificações da empresa fornecedora. A descrição de cada complexo enzimático utilizado nesse trabalho está especificada na Tabela 2.

**Tabela 2** – Descrição das enzimas da Novozymes utilizadas no processo.

<b>Complexo Enzimático</b>	<b>Descrição</b>
NS50013 (Complexo de Celulases)	Esta preparação de celulase catalisa a quebra de celulósico em glicose, celobiose, e polímeros de glicose de elevado peso molecular. Este complexo pode ser usado para redução da viscosidade ou elevar o rendimento de extração de vários produtos de origem vegetal.
NS50010 ( $\beta$ -glucosidase)	A $\beta$ -glucosidase também conhecida como celobiase, hidrolisa e celubiose em glicose. A celobiose é um carboidrato que consiste de duas moléculas de D-glicose, ambas unidas por uma ligação $\beta$ -1,4 glicosídica. A NS50010 pode ser usada para suplementar a NS50013 afim de elevar o rendimento dos açúcares fermentescíveis.
NS50012 (Complexo enzimático)	A NS50012 é um complexo multi-enzimático contendo uma ampla faixa de carbohidrase, incluindo arabinase, $\beta$ -glucanase, celulase, m-celulase, pectinase e xilanase. A NS50012 pode quebrar as paredes celulares para extração de componentes úteis a partir de tecidos vegetais e podem ser utilizadas no processamento de materiais vegetais e cereais. Esta enzima tem a capacidade de liberar os materiais ligados e pode degradar uma variedade de polissacarídeos não amiláceos.
NS50030 (Xilanase)	A NS50030 é uma endo-xilanase purificada com uma alta especificidade para pentosanas solúveis. Podem ser usadas para liberar açúcares pentoses a partir de frações de biomassa de hemicelulose.
NS22002 ( $\beta$ -glucanase/xilanase)	A NS22002 contém uma mistura de enzimas beta-glucanase e xilanase. A $\beta$ -glucanase e a xilanase são as duas principais enzimas ativas presentes nessa preparação enzimática, mais o produto também contém outras enzimas, incluindo celulase, hemicelulase e pentosanase.

Organizado pelos autores (2008).

Na Tabela 3 são listados as características das enzimas e os parâmetros indicados para sua aplicação de acordo com o fornecedor. A dose sugerida das enzimas é baseada em peso percentual em relação à quantidade de biomassa (sólidos totais) em base seca.

**Tabela 3** - Características das enzimas e doses recomendadas.

Enzimas (nome)	Atividade <sup>1</sup>	Densidade (g/mL)	pH -	Temperatura °C	Dosagem <sup>2</sup> % p/p (ST)
NS50013 <i>Complexo Celulase</i>	700 EGU/g (~70 FPU/g)	1,2	4,5 - 6,5	45 – 50	2 - 6%
NS50010 <i>β-Glucosidade</i>	250 CBU/g	1,2	2,5 - 6,5	45 – 70	0,2 - 0,6%
NS50012 <i>Complexo Enzimático</i>	100 FBG/g (~13,700 PGU/g)	1,2	4,5 - 6,0	25 – 55	0,05 - 0,4%
NS50030 <i>Xilanase</i>	500 FXU/g	1,1	4,5 - 6,0	35 – 55	0,1 - 0,5%
NS22002 <i>Hemicelulase</i>	45 FBG/g (~470 FXU/g)	1,2	5,0 - 6,5	40 – 60	0,4 – 2%

1) CBU = Unidade Celobiase, EGU = Unidade Endo-Glucanase, FBG = Unidades Fungicas β-Glucanase, FPU = Unidade de Filtro de Papel, FXU = Unidade de Xilana Farvet, e PGU = Unidade Poligalacturonase.

2) A posologia necessária é fortemente dependente do tipo de alimentação, tecnologia do tratamento prévio, processamento e condições. Portanto os requisitos das enzimas quanto a dosagem podem variar significativamente.

Organizado pelos autores (2008).

Os preparados enzimáticos usados na hidrólise do material lignocelulósico foram NS50013 (celulase) suplementada com NS50010 (β-glucosidase). A NS50013 irá quebrar a celulose do material pré-tratado (deslignificado) em celo-oligômeros e celobiose, enquanto a NS50010 irá converter a celobiose em glicose. De acordo com a fornecedora a adição de NS50010 deve ser de aproximadamente de 5-10% (v/v) da quantidade de NS50013 para a completa hidrólise da celulose disponível. Dependendo das propriedades do método de alimentação e do tratamento prévio (no nosso caso deslignificação com solução alcalina), uma combinação de NS50013

(celulase), NS50010 ( $\beta$ -glucosidase), NS50030 (xilanase), NS22002 (hemicelulase) e NS50012 (complexo multicomponentes) podem ser utilizados.

Após a seqüência de deslignificação, 20 g de bagaço deslignificado era colocado em recipiente de vidro, contendo 60 mL de água destilada. O pH da solução era corrigido até 5,0 pela adição de solução tampão de McIlvaine (fosfato e ácido cítrico) e em seguida a solução era aquecida em banho-maria até 40°C (0,1 mL do preparado enzimático NS50030, equivalente a 0,11 g, ou 55 FXU de atividade enzimática). A reação processava-se por 20 min nessa temperatura. Após esse período, o pH da solução era corrigido para 5,0 – 6,5 com solução tampão McIlvaine. Em seguida, adicionava-se 0,4 mL do preparado NS22002, equivalente a 0,48g ou 225,6 FXU de atividade enzimática.

A solução permanecia em aquecimento a 40-45 °C por 20 min. Após esse período, o pH da solução era corrigido para 4,5-6,0 com tampão. A terceira etapa do tratamento consistia na adição de 0,08 mL do preparado NS50012, equivalente a 0,096 g ou 1315,2 PGU de atividade enzimática. Essa solução sofria reação por 20 min sob aquecimento a 55 °C. Após esse período, o pH era corrigido para a faixa 4,5-6,5 com tampão McIlvaine, e depois se adicionava 1,2 mL (1,44 g com 100,8 FPU de atividade enzimática) de preparado enzimático NS50013. A reação se processava em banho-maria por 30 min em uma faixa de temperatura de 45-50°C, após isso, o pH era corrigido para a faixa de 2,5-6,5. O último tratamento enzimático consistia da adição de 0,12 mL (0,144 g com 36 CBU de atividade enzimática) do preparado enzimático NS50010. Essa reação se processava por 30 min sob aquecimento a 40-60°C. Na Figura 1 é mostrada uma foto com as amostras de enzimas comerciais utilizadas.



**Figura 1** – Amostras de enzimas comerciais:  
**Fotografia:** José Hilton Bernardino de Araújo, 2008.

Na Tabela 4 é mostrado o resumo do procedimento adotado. Após o processo enzimático, o pH do hidrolisado era corrigido para 5,0 com solução de NaOH (0,02 mol/L), e depois adicionava-se 7,5 g de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) diluída em água para proporcionar a fermentação alcoólica. Após um período de 72h, o mosto fermentado era destilado para obtenção de etanol e o teor de álcool era determinado por alcoômetro.

**Tabela 4** – Tratamento enzimático realizado.

Seqüência Enzimas	Atividade <sup>1</sup>	Tempo (min)	pH -	Temperatura °C	Dosagem % p/p (ST)
NS50030 <i>Xilanase</i>	55 FXU	20	5,0	40	0,5% (0,1 mL)
NS22002 <i>Hemicelulase</i>	225,6 FXU	20	5,0 - 6,5	40 – 45	2,0% (0,4 mL)
NS50012 <i>Complexo Enzimático</i>	1315,2 PGU	20	4,5 - 6,0	55	0,4% (0,08 mL)
NS50013 <i>Complexo Celulase</i>	100,8 FPU	30	4,5 - 6,5	45 – 50	6,0% (1,2 mL)
NS50010 <i>β-Glucosidade</i>	36 CBU	30	2,5 - 6,5	40 – 60	0,6% (0,12 mL)

1) CBU = Unidade Celobiase, EGU = Unidade Endo-Glucanase, FBG = Unidades Fungicas β-Glucanase, FPU = Unidade de Filtro de Papel, FXU = Unidade de Xilana Farvet, e PGU = Unidade Poligalacturonase.

Organizado pelos autores (2008).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

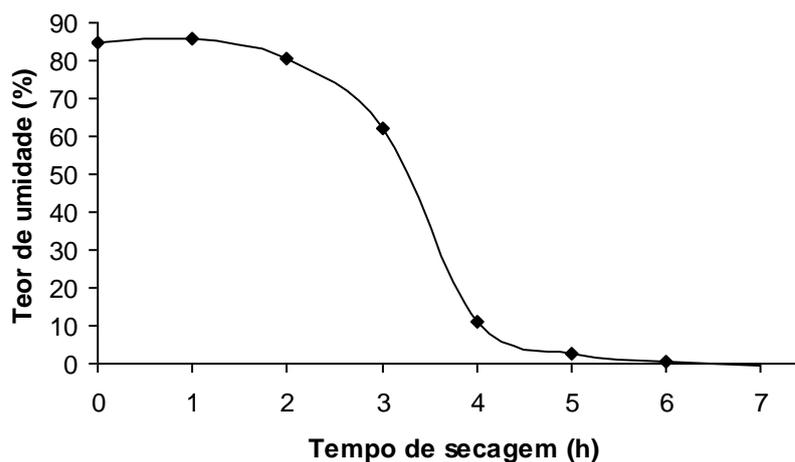
A concentração de açúcares presentes no bagaço coletado na indústria foi determinada através de lavagens sucessivas. A água da primeira lavagem do bagaço apresentou uma concentração de 427,84 mg/L de açúcares, e após 11 lavagens a concentração final de açúcares presentes na água foi de 0,01 mg/L, como se pode observar na Tabela 4. Na 12ª lavagem não foi observada remoção maior de açúcares do bagaço. A quantidade total de água necessária para retirar todos os açúcares presentes foi de 108,0 L. Essa determinação foi necessária para que tivéssemos certeza da ausência de açúcar no bagaço, que poderia influenciar em um aumento do rendimento de fermentação e produção de etanol.

**Tabela 4** – Concentração de açúcares na água de lavagem do bagaço de cana.

Número de lavagens	Concentração de açúcares (mg/L)
1	427,84
2	170,12
3	89,36
4	55,44
5	32,87
6	26,20
7	24,68
8	20,65
9	18,54
10	14,60
11	0,01
12	0,01

Elaborado pelos autores (2008).

A curva de secagem do bagaço lavado é apresentada na Figura 2. A determinação de umidade do bagaço após as sucessivas lavagens durante o período de secagem mostrou que o mesmo ficou completamente seco após 7 horas.



**Figura 2** – Curva de secagem do bagaço de cana-de-açúcar. Elaborado pelos autores (2008).

A constituição do bagaço de cana-de-açúcar encontra-se especificada na Tabela 5.

**Tabela 5** - Características do bagaço

Composição do bagaço de cana-de açúcar	Teor (%)
Umidade	0,5%
Cinzas	1,2%
Lignina solúvel em H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 72% (Klason)	37,84%
Lignina insolúvel em H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 72% (Klason)	1,16%
Celulose	61%

Elaborado pelos autores (2008).

O elevado teor de lignina pode estar relacionado à presença de hemicelulose, que não foi determinado nesse trabalho.

A percentagem de etanol foi determinada pelo volume de destilado obtido por medição em alcoômetro e convertido em peso, sendo de 16,42% (p/p). No trabalho realizado por Martín et al. (2002, p. 276), o rendimento obtido foi de 8,2 g/L de etanol para uma concentração de 26,2 g/L de açúcares presentes no meio hidrolisado. Não

foram realizadas análises cromatográficas do destilado do hidrolisado de bagaço de cana para conhecerem todos os compostos presentes após a conversão enzimática do resíduo lignocelulósico.

Esse rendimento pode ser elevado, modificando-se as condições experimentais de futuros ensaios de conversão enzimática. Também pode ser realizado um pré-tratamento com vapor. Combinações com outras enzimas, como xilanasas ou lacases podem ser utilizadas para elevar a produção de açúcares, e a inibição da conversão enzimática, ou realizar a fermentação ao mesmo tempo em que ocorre a sacarificação enzimática (KRISHNA et al., 2001; LASER, 2002; KÁDÁR et al., 2004).

De acordo com Dillon (2004, p. 245), o desinteresse na hidrólise enzimática de lignocelulósicos é devido à inviabilidade econômica. As linhagens disponíveis de fungos celulolíticos necessitariam ter sua produtividade aumentada em pelo menos 10 vezes, para o processo tornar-se viável. Para tanto, os estudos em plantas-piloto vem buscando aumentar a economicidade e eficiência do processo de hidrólise por meio de várias alternativas. De acordo com o autor, o Departamento de Energia dos Estados Unidos da América contratou as empresas Novozyme e Genecor Internacional para desenvolverem microrganismos e celulases, visando tornar econômica a produção de etanol.

Para viabilizar processos econômicos de produção de etanol a partir de celulose alguns procedimentos têm sido estudados: 1) uso de pré-tratamentos eficientes para remover hemicelulose e lignina; 2) melhoramento genético de linhagens de microrganismos produtores das enzimas de interesse; 3) adição de  $\beta$ -glicosidades provenientes de *Aspergillus spp*; 4) desenvolvimento de processos mais eficientes de fermentação, como o uso de substratos mais baratos; 5) recuperação das celulases; 6) diminuição do efeito inibitório da glicose sobre as celulases, por meio de um processo, o qual em um único estágio envolva hidrólise e

fermentação conjunta, podendo ainda o etanol ser retirado por vácuo ou por arraste pela introdução do próprio CO<sub>2</sub> proveniente da fermentação.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os resultados experimentais obtidos com a realização deste trabalho apresentaram-se satisfatórios, quando comparados com os da literatura especializada. Novos ensaios devem ser realizados buscando elevar o rendimento de conversão de bagaço em açúcares fermentescíveis, capazes de serem convertidos em etanol.

Novas metodologias devem ser estudadas para alcançar-se esse objetivo, tais como o emprego de outras enzimas ou microrganismos com maior eficiência na conversão de materiais lignocelulósicos a açúcares simples, facilmente metabolizados por microrganismos produtores de etanol.

É importante salientar que existem outros tipos de resíduos com potencial para conversão a etanol ou outras substâncias de interesse comercial e industrial, tais como cascas de cereais, serragem, dentre outros.

A utilização de resíduos lignocelulósicos, principalmente os agroindustriais, deve ser a nova rota para obtenção de uma maior quantidade de etanol necessário para suprir a demanda internacional por esse biocombustível. Visto que muitos países devem adotar o etanol como uma opção de substituição aos combustíveis fósseis, principalmente pelos problemas ambientais, incluindo o aquecimento global, causado pela queima dos derivados do petróleo, carvão, entre outros.

A biomassa derivada de materiais lignocelulósicos que são descartados na natureza pode ser utilizada como fonte de obtenção de etanol, evitando a utilização

de áreas agriculturáveis para produção do álcool em larga escala.

## REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. **Balanco Nacional Energético**: ano base 2006. Disponível em: <[http://www.mme.gov.br/site/menu/select\\_main\\_menu\\_item.do?channelId=1432&pageld=14131](http://www.mme.gov.br/site/menu/select_main_menu_item.do?channelId=1432&pageld=14131)>. Acesso em: 13 ago. 2007.

BRASIL. Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB. **Conab prevê safra de cana-de-açúcar recorde**. Disponível em: <[http://www.qprocura.com.br/clip-noticias/2008/38373/Conab-preve-safra-de-cana\\_de\\_acucar-recorde.html](http://www.qprocura.com.br/clip-noticias/2008/38373/Conab-preve-safra-de-cana_de_acucar-recorde.html)>. Acesso em: 06 set. 2008.

DILLON, A. J. P. Celulases. In: Suraia Said; Rosemeire C. L. R. Pietro. (Orgs.). **Enzimas como agentes biotecnológicos**. 1. ed. Ribeirão Preto: Legis Summa Ltda., 2004, v. 1, p. 241-269.

KÁDÁR, Z. S.; SZENGYEL, Z. S.; RÉCZEY, K. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of industrial wastes for the production of ethanol. **Industrial Crops and Products**, Tucson, v. 20, n. 1, p. 103-110, jul. 2004. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6T77-4BRPBY8-4&\\_user=10&\\_rdoc=1&\\_fmt=&\\_orig=search&\\_sort=d&\\_docanchor=&view=c&\\_searchStrId=975432556&\\_rerunOrigin=google&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=eaf829e7103979009160d7200cce6617](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T77-4BRPBY8-4&_user=10&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&view=c&_searchStrId=975432556&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=eaf829e7103979009160d7200cce6617)>. Acesso em: 17 set. 2007.

KRISHNA, S. H.; REDDY, T. J.; CHOWDARY, G. V. Simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulosic wastes to ethanol using a thermotolerant yeast. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 77, n. 2, p. 193-196, apr. 2001. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6V24-4227GWM-F&\\_user=10&\\_rdoc=1&\\_fmt=&\\_orig=search&\\_sort=d&\\_docanchor=&view=c&\\_searchStrId=975304227&\\_rerunOrigin=google&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=a30a3c5948d569a7431fa3e1dbcd46ee](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6V24-4227GWM-F&_user=10&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&view=c&_searchStrId=975304227&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=a30a3c5948d569a7431fa3e1dbcd46ee)>. Acesso em: 18 set. 2007.

LASER, M.; SCHULMAN, D.; ALLEN, S. G.; LICHWA, J.; ANTAL, M. J.; LYND, L. R. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 81, n. 1, p. 33-44, jan.

2002. Disponível em:

<[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6V24-444NGPR-5&\\_user=10&\\_rdoc=1&\\_fmt=&\\_orig=search&\\_sort=d&\\_docanchor=&view=c&\\_searchStrId=975309733&\\_rerunOrigin=google&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=a9a49b7a07f51dc2c175a8f6140d6b97](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6V24-444NGPR-5&_user=10&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&view=c&_searchStrId=975309733&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=a9a49b7a07f51dc2c175a8f6140d6b97)>. Acesso em: 08 ago. 2007.

MARTÍN, C.; GALBE, M.; WAHLBOM, C. F.; HAHN-HÄGERDAL, B.; JÖNSSON, L. J. Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose-utilising *Saccharomyces cerevisiae*. **Enzyme and Microbial Technology**, Amsterdam, v. 31, n. 3, p.274-282, 2 Ago. 2002. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6TG1-45S9MHB-3&\\_user=10&\\_rdoc=1&\\_fmt=&\\_orig=search&\\_sort=d&\\_docanchor=&view=c&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=81fd9548674beba5d87d70c45bebf40](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TG1-45S9MHB-3&_user=10&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=81fd9548674beba5d87d70c45bebf40)>. Acesso em: 13 set. 2007.

MCCARTHY, J. E.; TIEMANN, M. **MTBE in gasoline: clean air and drinking water issues: report for congress**. Washington: Congressional Research Service. 28 p. Disponível em: <<http://ncseonline.org/nle/crsreports/06may/RL32787.pdf>>. Acesso em: 11 ago. 2007.

MCMILLAN, J. D. Pretreatment of lignocellulosic biomass. In: Michael E. Himmel; John O. Baker; Ralph. P Overend. (Org.). **Enzymatic conversion of biomass for fuels production**. 6. ed. Washington: American Chemical Society, p. 292-324, 1994.

MELLO JUNIOR, C. A. Efeito do tratamento a pressão de vapor no bagaço de cana de açúcar sobre a sua degradação *in vitro* e digestibilidade *in vivo*. **Livestock Research for Rural Development**, Piracicaba, v. 1, n. 1, p. 1-1, nov. 1989.

SANTOS, E. G. **Estudo da adsorção de contaminantes orgânicos provenientes da água de extração do petróleo, em coluna de leito fixo, utilizando biomassas como adsorventes**. 2005. 229 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2005.

SOMOGYI, M. Determination of blood sugar. **The Journal Of Biological Chemistry**, Cambridge, Massachusetts, Usa, v. 160, n. 1, p. 61-68, may. 1952. Disponível em: <http://www.jbc.org/cgi/reprint/160/1/69>. Acesso em: 15 mar. 2009.

SIVERS, M. V.; ZACCHI, G. Ethanol from lignocellulosics: a review of the economy. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 56, n. 2, p.131-140, may 1996.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 83, n. 1, p.1-11, May 2002. Disponível em: [http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6V24-44NM064-2&\\_user=10&\\_rdoc=1&\\_fmt=&\\_orig=search&\\_sort=d&\\_docanchor=&view=c&\\_searchStrId=975416173&\\_rerunOrigin=google&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=bd4bd62943e203174ab642ac83670c14](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6V24-44NM064-2&_user=10&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&view=c&_searchStrId=975416173&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=bd4bd62943e203174ab642ac83670c14). Acesso em: 13 ago. 2007.

TIEN, M; KIRK, T. K. Lignin Peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. **Methods in enzymology**: biomass part b - lignin, pectin and, chitin, San Diego, v. 161, p. 238-249, 1988.

---

## RESUMO

Os materiais lignocelulósicos, como resíduos agroindustriais (bagaço de cana-de-açúcar, cascas de arroz, dentre outros) contêm açúcares polimerizados, como celulose e hemiceluloses, que podem ser hidrolisados por via ácida ou enzimática, liberando glicose. Este trabalho teve por objetivo obter bioetanol a partir de bagaço de cana-de-açúcar hidrolisado por via enzimática e fermentado utilizando *Saccharomyces cerevisiae*. Após a lavagem, secagem e trituração, o bagaço foi deslignificado com hidróxido de sódio (10% p/p base seca) sob aquecimento e pressão de 1,2 atm. A hidrólise enzimática da solução deslignificada foi realizada com enzimas comerciais NS50013 (celulase), NS50010 ( $\beta$ -glucosidase), NS50030 (xilanase), NS22002 (hemicelulase) e NS50012 (complexo multicomponentes) obtidas da Novozymes Latin America Ltda. Após esse processo, o hidrolisado foi fermentado com *Saccharomyces cerevisiae*, e destilado. Os resultados obtidos mostraram que o rendimento de obtenção etanol foi de 16,42% (p/p).

**Palavras-chave:** Etanol. Resíduos lignocelulósicos. Bicomcombustíveis. Bioconversão. Enzimas Lignolíticas. Resíduos Agroindustriais.

## ABSTRACT

The lignocellulosic materials as agricultural waste (sugar cane bagasse, rice husks, and others) contain polymerized sugars, as cellulose and hemicellulose, which can be hydrolyzed by acid or enzyme, releasing glucose. This study aimed to obtain bioethanol from hydrolyzed sugar cane bagasse by enzyme and fermented using *Saccharomyces cerevisiae*. After washing, drying and grinding, the cake was

delignified with sodium hydroxide (10% w/w dry base) under heat and pressure of 1.2 atm. The enzymatic hydrolysis of the delignified solution was carried out with commercial enzymes NS50013 (cellulase), NS50010 ( $\beta$ -glucosidase), NS50030 (xylanase), NS22002 (hemicellulase) and NS50012 (multicomponenti complex) obtained from Novozymes Latin América Ltd. After this process, the hydrolyzate was fermented with *Saccharomyces cerevisiae*, and distillate. The results showed that the yield of ethanol was of 16.42% (w/w).

**Key words:** Ethanol. Lignocellulosic residue. Biofuels. Bioconversion. Lignolitic enzymes. Agroindustry residue.

---

### Informações sobre os autores:

[1] Diogo Moreira Gonçalves – <http://lattes.cnpq.br/4049908324895517>

Graduando em Tecnologia em Gestão Ambiental, PIBIC/Fundação Araucária 2008-2009 na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campo Mourão, Paraná.

Contato: [diogo2306@hotmail.com](mailto:diogo2306@hotmail.com)

[2] Diego Filipe Belloni - <http://lattes.cnpq.br/0795476629367939>

Tecnólogo em Gestão Ambiental pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campo Mourão, Paraná. Mestrando no Programa de Mestrado em Engenharia Urbana na Universidade Estadual de Maringá, UEM.

Contato: [filipi\\_belloni@hotmail.com](mailto:filipi_belloni@hotmail.com)

[3] Janaina de Melo Franco – <http://lattes.cnpq.br/6036077107416505>

Tecnóloga em Gestão Ambiental pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campo Mourão, Paraná. Mestranda no Programa de Mestrado em Engenharia Urbana na Universidade Estadual de Maringá, UEM.

Contato: [janydemelo@gmail.com](mailto:janydemelo@gmail.com)

[4] José Hilton Bernardino de Araújo – <http://lattes.cnpq.br/4560874870987991>

Docente nos cursos de Tecnologia em Gestão Ambiental e Engenharia Ambiental na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campo Mourão, Paraná; Coordenador dos cursos de Tecnologia em Gestão Ambiental e Engenharia Ambiental da Ambiental na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campo Mourão, Paraná; Membro do Conselho de Ensino, Pesquisa e Pós-graduação da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campo Mourão, Paraná.

Contato: [jaraujo@utfpr.edu.br](mailto:jaraujo@utfpr.edu.br)