

## **Fermentação do hidrolisado hemicelulósico da casca de café destoxificado com diferentes tipos de base**

**Wagner Luiz da Costa Freitas<sup>1</sup>, João Vitor Zanaga Sawaya<sup>1</sup>, Bruna Caroline Marques Gonçalves<sup>1</sup>, Luiz Carlos Rodrigues<sup>2</sup>, Carlos Augusto Rosa<sup>3</sup>, Silvio Silvério da Silva<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Escola de Engenharia de Lorena/Universidade de São Paulo – Departamento de Biotecnologia  
Endereço: Rodovia Itajubá-Lorena, Km 74,5, Campinho – Caixa Postal 116 CEP 12602-810 Lorena – SP  
E-mail: (freitas1086@gmail.com)

<sup>2</sup> Universidade Federal Fluminense – Pólo Universitário de Volta Redonda Rua Desemb. Ellis Hermydio Figueira, 783, Bloco A, sala 306, Aterrado, CEP: 27.213-415 Volta Redonda-RJ,

<sup>3</sup> Universidade Federal de Minas Gerais – Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas.  
Endereço: Av. Antônio Carlos, 6627. Pampulha. CEP.: 32790901 Belo Horizonte – MG.

### **RESUMO**

*As biomassas de origem vegetal, como a casca do café, são constituídas basicamente por celulose, hemicelulose e lignina. Os açúcares obtidos após a despolimerização da celulose e hemicelulose podem ser convertidos em etanol durante o processo de fermentação. Este trabalho teve como objetivo analisar o potencial fermentativo do hidrolisado hemicelulósico de casca de café para a produção de etanol de segunda geração. O hidrolisado obtido após a hidrólise ácida da casca de café foi destoxificado utilizando as bases CaO, NaOH e (NH<sub>4</sub>)OH e fermentado pela levedura *Candida shehatae* UFMG HM 52.2. As maiores produções de etanol foram observada após 24 h nos hidrolisados destoxificados com NaOH (9,61 g/L) e NH<sub>4</sub>OH (9,14 g/L) e após 48 h em hidrolisado destoxificado com CaO (9,65 g/L). Conclui-se que a levedura foi capaz de produzir etanol pela fermentação do hidrolisado hemicelulósico da casca de café independente da base utilizada para o processo de destoxificação.*

**Palavras-chave:** Casca de café; Hidrólise ácida; Bioetanol.

### **INTRODUÇÃO**

A biomassa lignocelulósica é uma das principais fontes de energia renovável da Terra, e pode ser utilizada para a obtenção de bioprodutos de importância comercial. O Brasil é um país fortemente agrícola e gera anualmente um volume considerável de biomassa vegetal, como a casca de café, proveniente da agroindústria <sup>1</sup>.

As biomassas de origem vegetal são constituídas, basicamente, por três frações que se encontram intimamente associadas, dando origem a uma estrutura de caráter recalcitrante ao vegetal, sendo estas frações constituídas por polímeros de açúcares (celulose e hemicelulose) e lignina. A celulose é o composto principal e mais abundante na fibra vegetal, correspondendo a cerca de 35-50% da estrutura da biomassa, seguido da hemicelulose com 20-35% e da lignina variando entre 10-25%, respectivamente, sendo uma pequena quantidade desta biomassa representada por cinzas e extrativos <sup>2</sup>.



Para obtenção dos açúcares existentes na biomassa, é necessário uma etapa de pré-tratamento para a desassociação dos seus componentes. Entre os principais métodos existentes, a hidrólise com ácido diluído é o mais comumente utilizado e pode ser aplicado a diversos resíduos vegetais agroindustriais, para promover a solubilização da fração hemicelulósica. Posteriormente o hidrolisado deve ser concentrado e então destoxificado, para a remoção dos compostos inibidores do metabolismo microbiano, provenientes da degradação de açúcares durante a hidrólise, assegurando altas taxas de produção de etanol<sup>3</sup>.

Este trabalho teve como objetivo avaliar os parâmetros fermentativos ( $Y_{p/s}$ ,  $Q_p$  e eficiência) do hidrolisado hemicelulósico da casca de café concentrado a vácuo e destoxificado pelo método *Liming*, utilizando as bases CaO, NaOH e  $(NH_4)OH$  e fermentado pela levedura *Candida shehatae* UFMG HM 52.2 para produção de etanol.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

A casca de café foi seca à temperatura ambiente até atingir 10% de umidade. Em seguida o material foi hidrolisado com ácido sulfúrico diluído em reator tipo tambor rotativo vertical na proporção de 100 mg de ácido/g de matéria seca a 121°C durante 20 min. O hidrolisado foi filtrado e concentrado até a concentração de 30 g/L de xilose.

Para o processo de destoxificação foram utilizados três frascos Erlenmeyer contendo 250 mL de hidrolisado hemicelulósico, onde foram adicionadas as bases NaOH, CaO e  $(NH_4)OH$ , separadamente, para elevar o valor do pH para 7,0. Em um segundo ajuste, o valor do pH foi reduzido para 5,5 com  $H_3PO_4$ , e então foi adicionado carvão ativo 2,5% m/v. Para promover uma adsorção mais efetiva dos inibidores pelo carvão ativo, o hidrolisado foi mantido sob agitação a 30°C e 200 rpm durante 1 h. Após este tempo a mistura foi centrifugada a 2600 x g durante 10 min e filtrada à vácuo para a obtenção do hidrolisado hemicelulósico destoxificado.

A levedura *Candida shehatae* UFMG HM 52.2 foi crescida em meio Ágar Sabouraud 2% (Labsynth) pelo método Ágar Plate e incubada em estufa incubadora a 30°C durante 24 h. O inóculo foi crescido em meio previamente autoclavado, contendo (g/L): xilose, 30; peptona, 20; e extrato de levedura, 10; sob agitação de 200 rpm, a 30°C. O cultivo foi interrompido e submetido à centrifugação a 2600 x g durante 10 min em tubos Falcon autoclavados. O sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas com água destilada estéril. A concentração celular foi determinada por leituras de absorvância a 600 nm em espectrofotômetro (Bioespectro SP-220) e os valores obtidos foram relacionados com a respectiva curva padrão, previamente estabelecida.

Para a fermentação o hidrolisado destoxificado foi suplementado com (g/L): peptona, 5; extrato de levedura, 3; sulfato de amônio, 2; e cloreto de cálcio, 0,1; distribuído em frascos Erlenmeyers de 125 mL, com volume de trabalho de 50 mL, nas condições de 30°C a 200 rpm durante 48 h, com retirada periódica de amostras.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos neste trabalho indicaram a produção de etanol pela levedura *Candida shehatae* UFMG HM 52.2 em hidrolisado hemicelulósico da casca de café nas diferentes concentrações testadas.

De acordo com a Tabela 1 é possível observar que houve produção de etanol durante as primeiras 18 h de fermentação, e embora a maior produção tenha sido observada após 24 h nos



hidrolisados destoxificados com NaOH (9,61 g/L) e NH<sub>4</sub>OH (9,14 g/L), a maior produção de etanol quando utilizada a base CaO ocorreu após 48 h de fermentação (9,65 g/L). Não houve diferença significativa no consumo de xilose pela levedura *Candida shehatae* nos três ensaios. Embora o valor de Y<sub>p/s</sub> e a eficiência da fermentação determinados para a melhor produção de etanol nos três ensaios tenham sido semelhantes: 0,34 g/g e 67% respectivamente, foi observada diferença para o Q<sub>p</sub> no hidrolisado destoxificado com NaOH (0,40 g/L.h), CaO (0,20 g/L.h) e NH<sub>4</sub>OH (0,38 g/L.h).

**Tabela 1** - Consumo de Xilose e produtividade de etanol pela levedura *Candida shehatae* UFMG HM 52.2.

Tempo (h)	Concentração de Xilose			Etanol								
				NaOH			CaO			NH <sub>4</sub> OH		
	NaOH	CaO	NH <sub>4</sub> OH	E	Q <sub>p</sub>	Y <sub>p/s</sub>	E	Q <sub>p</sub>	Y <sub>p/s</sub>	E	Q <sub>p</sub>	Y <sub>p/s</sub>
0	29,72	29,62	28,43	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	14,62	11,72	12,06	63	0,46	0,32	61	0,49	0,31	63	0,47	0,32
24	12,18	11,62	11,64	67	0,40	0,34	63	0,38	0,32	67	0,38	0,34
48	11,52	11,61	10,83	59	0,19	0,30	67	0,20	0,34	55	0,16	0,28

\* Concentração de xilose: g/L; Eficiência (E): %; Produtividade (Q<sub>p</sub>): g/L.h; Fator de conversão (Y<sub>p/s</sub>): g/g.

Valores semelhantes foram relatados por Chandel (2007)<sup>4</sup>, no qual se obteve um Y<sub>p/s</sub> de 0,48 g/g, também com uso da *Candida shehatae* em processos fermentativos para produção de etanol utilizando hidrolisado hemicelulósico do bagaço de cana-de-açúcar com concentração inicial de 30 g/L de xilose.

## CONCLUSÕES

Foi possível concluir que a levedura foi capaz de produzir etanol pela fermentação do hidrolisado hemicelulósico da casca de café independente da base utilizada para o processo de destoxificação.

## REFERÊNCIAS

- (1) ABRIL, D.; ABRIL, A. Ethanol from lignocellulosic biomass. **Ciencia e Investigación Agraria**, V.36, N.2, P.177-190, 2009.
- (2) ALVIRA, P.; TOMÁS-PEJÓ, E.; BALLESTEROS, M.; NEGRO, M.J. Pretreatment technologies for an eficiente bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Technology**, v.101, p.4851-4861, 2010.
- (3) AGBOR, V.B.; CICEK, N.; SPARLLING, R.; BERLIN, A.; LEVIN, D. B. Biomass pretreatment: Fundamental toward application. **Biotechnology Advances**, v.29, p.675-685, 2011.
- (4) CHANDEL, A. K.; KAPOOR, R. K.; SINGH, A.; RAMESH, C. K.; Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production by *Candida shehatae* NCIM 3501. **Bioresource Technology**, v.98, n.10, p.1947-1950, 2007.