



XXXI Congresso de
Iniciação Científica
----- Unicamp 2023



Avaliação da aplicabilidade e eficiência do reciclo de leveduras na produção de etanol de milho

Palavras chaves: Levedura; tratamento ácido; milho; reciclo

Autores/as:

Rosana Vasco das Chagas (autora) [UNICAMP]

Prof^o./Dr^o. Gonçalo Amarante Guimarães Pereira (orientador) [UNICAMP]

Doutoranda Thaís Oliveira Secches (co-autora) [UNICAMP]

INTRODUÇÃO:

As preocupações com as mudanças climáticas, pelo uso excessivo de combustíveis fósseis e o desejo de aumentar a segurança energética mitigando a emissão de gases de efeito estufa (GEE), têm intensificado os esforços em pesquisa no desenvolvimento de fontes renováveis de energia (IEA, 2012). Dentro deste contexto, destaca-se o etanol, o biocombustível mais consumido no mundo, no ano de 2020, a produção mundial de etanol foi aproximadamente 118,2 bilhões de litros, sendo que os líderes na produção são os EUA (53%) e o Brasil (31%) (RFA, 2021).

O Etanol vem sendo usado como combustível por muitos anos, e particularmente no Brasil, desde 1925 (Leite, 2008). Sua produção a partir da fermentação realizada por leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* cresceu muito ao longo das décadas e apresenta uma grande importância ambiental devido ao seu caráter sustentável. O processo de fermentação consiste na conversão de açúcar proveniente de materiais como cana de açúcar e milho em etanol, portanto, o CO₂ liberado na queima desse combustível é reabsorvido por essas plantas que servem de matéria prima para sua produção, o que torna o etanol menos poluente do que gasolina, por exemplo (Lopes, 2016).

A produção brasileira é altamente competitiva quando comparada ao milho e à beterraba sacarina da produção nos Estados Unidos e na Europa, respectivamente (Goldemberg, 2008). No entanto, apesar das vantagens da cana-de-açúcar, o Brasil não é autossuficiente em produção de

etanol e o preço do combustível no mercado apresenta grandes oscilações durante o ano, principalmente na baixa temporada (Eckert et al, 2018). Devido a isso, nos últimos anos, tem havido fortes investimentos para ampliar a utilização do milho na produção de etanol brasileiro.

O etanol de milho tem crescido principalmente na região centro-oeste do país. Em 2015, segundo dados da Agência Nacional do Petróleo (ANP) o etanol de milho correspondia a 0,4% da produção total do etanol brasileiro, na temporada 2020/21 o percentual chegou a 9%, e as projeções da Unem (União Nacional do Etanol de Milho) apontam para 20% em 2028 (Unem, 2020).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, alcançando uma produção aproximada de 100 milhões de toneladas na safra 2018/2019, sendo o centro-oeste o principal produtor (CONAB, 2019). O crescimento se dá principalmente pela prática de plantio chamada de segunda-safra. Aproveitando essa oportunidade, usinas de grande porte de etanol de milho vêm sendo instaladas. As primeiras usinas a operarem com milho para produção de etanol foram unidades “flex”, usinas tradicionais de cana-de-açúcar adaptadas para também produzir a partir de milho na entressafra. Existem também as usinas “full”, as quais são dedicadas exclusivamente à produção a partir de milho, e as “integradas”, que possuem as duas maquinarias e produzem etanol de milho e cana-de-açúcar em paralelo (Silva, 2018).

Com o intuito de contribuir com o processo de ascensão do etanol de milho na indústria brasileira, este trabalho visa estudar a possibilidade de otimizar esse tipo de fermentação através da inclusão do reciclo de leveduras. As destilarias alcoólicas brasileiras operam com o sistema de fermentação denominado “Melle-Boinot”, no qual o microrganismo é reciclado por fermentações consecutivas, durante toda a safra canavieira (Marques, 2004). O reciclo de leveduras permite o uso uma maior concentração inicial de células, promovendo uma fermentação mais rápida, já que elas são reativadas por tratamento ácido (Lopes, 2016). Além disso, há outras vantagens como menor uso de açúcar para o crescimento de células, que garante maior disponibilidade do mesmo para produção de etanol sem aumento de custo (Lopes, 2016).

O reciclo de levedura ainda não é empregado industrialmente na produção de etanol de milho em razão da alta concentração final de etanol (18% v/v), o que diminui a viabilidade celular ao final do processo (Kumar, 2019). O estudo da reciclagem no processo de etanol de milho torna-se de vital importância visto seu potencial de promover fermentações mais rápidas, diminuindo o custo final do processo industrial. O projeto ainda vai avaliar o comportamento de diferentes linhagens de leveduras industriais (BG-1, SA-1 e Ethanol Red) frente ao tratamento ácido para reativação celular. Até o momento não existe nenhum trabalho na literatura que avalie a viabilidade do reciclo na produção de etanol de milho.

OBJETIVO:

Avaliar a viabilidade do reciclo de leveduras na produção de etanol de milho e seu potencial de otimizar e reduzir custos do processo.

METODOLOGIA:

Com o objetivo de avaliar a aplicabilidade do reciclo de leveduras na fermentação alcoólica de milho com alta concentração final de etanol, foi utilizado um meio sintético de amido que simula a concentração deste açúcar no milho. A hidrólise do meio para conversão do amido em glicose foi feita com 0,015% de alfa-amilase em banho de aquecimento a 85°C e pH do meio em 5,4. Após a hidrólise, cada ciclo de fermentação ocorre, com adição de células com concentração correspondente à OD 0,1 e 0,035% de glucoamilase, durante 72h na temperatura de 30°C e sob

agitação. Depois de cada ciclo, as células são separadas e tratadas com ácido para descontaminação por 1h, em seguida, são reutilizadas em um novo ciclo. Por fim, as amostras coletadas durante os ciclos de fermentação são analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência para quantificação de etanol.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O meio sintético de amido utilizado nos primeiros ensaios de reciclo de células simulou uma massa inicial de milho de 30% m/m, e a menor quantidade de sólido no fermentado final em comparação ao meio de milho propriamente dito permitiu uma separação mais fácil das células. Dessa forma, os testes foram focados em avaliar se as leveduras ainda podiam ser reutilizadas mesmo após o estresse causado por uma concentração final de etanol superior a 12% e ao tratamento ácido em pH 2.

O primeiro reciclo foi realizado utilizando leveduras da cepa industrial brasileira BG-1 de *Saccharomyces cerevisiae* e, como pode ser observado no gráfico abaixo, o segundo ciclo de fermentação atingiu resultados similares ao primeiro, indicando que as células ainda estavam viáveis, porém a concentração de etanol final em ambos os ciclos não chegou a 10%.

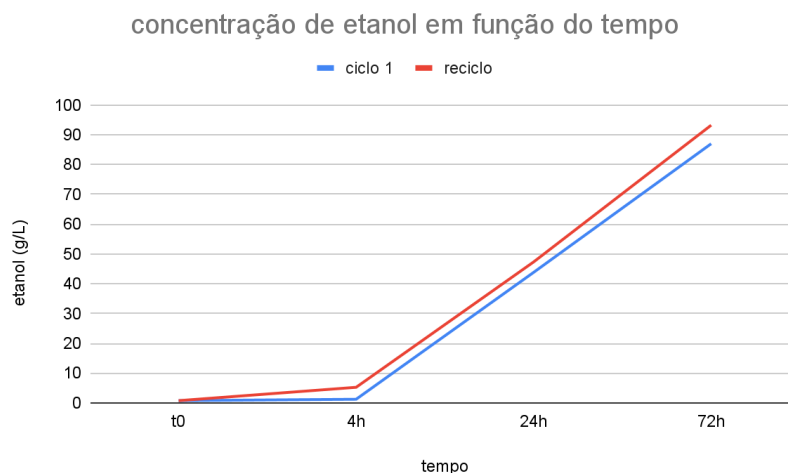


Figura 1: Gráfico da concentração de etanol em função do tempo na fermentação de amido com BG-1 (meio simulando 30% m/m de milho)

A fim de atingir uma concentração final mais alta de etanol, a concentração inicial de amido foi elevada para simular um meio de 35% m/m de milho e nos próximos ensaios foram feitos 3 ciclos subsequentes, sempre reciclando as células do ciclo anterior. Ademais, além da BG-1, foram usadas cepas SA-1 e a norte-americana ER (*ethanol red*).

Como pode ser observado nos gráficos abaixo, os dois primeiros ciclos com as duas leveduras brasileiras BG-1 e SA-1 atingiram altas concentrações de etanol, ambas acima de 13% e com pouca ou nenhuma redução do primeiro ciclo para o segundo. Já no terceiro ciclo, observou-se uma alta redução de eficiência na fermentação. Estes resultados indicam que estas leveduras possuem boa resistência a altas concentrações de etanol e ao tratamento ácido, porém com redução de eficiência após o segundo reciclo.

Já a fermentação com a cepa industrial norte-americana ER atingiu uma concentração de etanol final próxima a 14% no primeiro ciclo, mas não chegou nem a 10% nos outros dois, demonstrando uma redução de atividade muito maior que as cepas brasileiras.

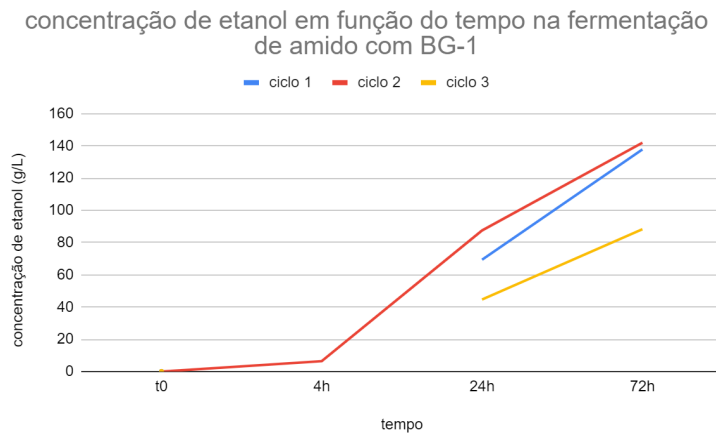


Figura 2: Gráfico da concentração de etanol em função do tempo na fermentação de amido com BG-1 (meio simulando 35% m/m de milho)

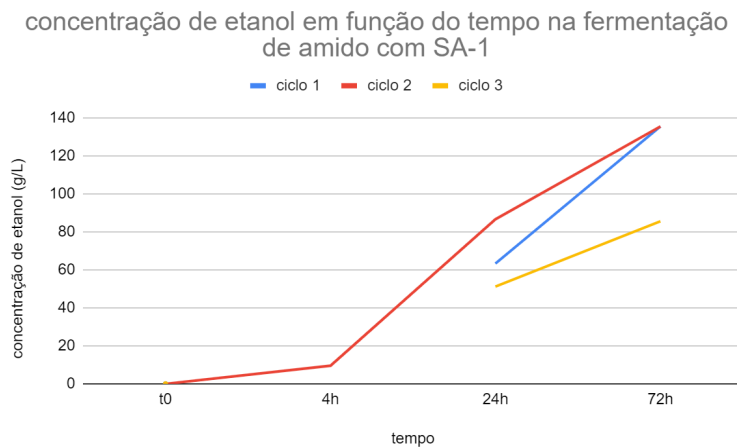


Figura 3: Gráfico da concentração de etanol em função do tempo na fermentação de amido com SA-1 (meio simulando 35% m/m de milho)

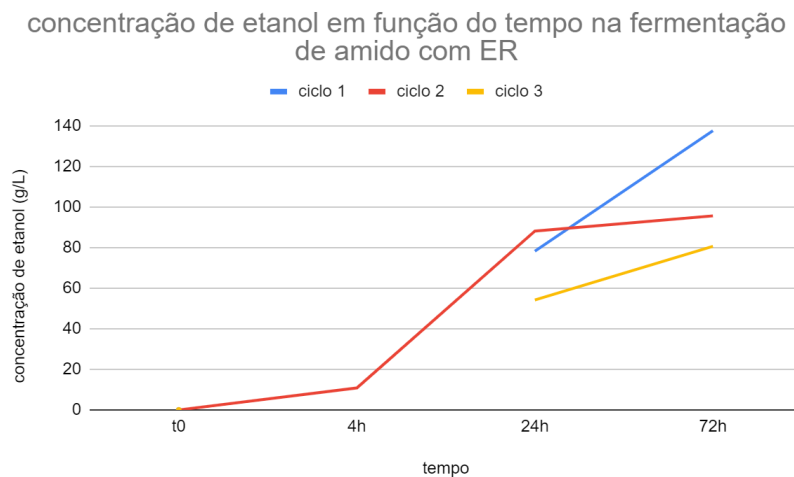


Figura 4: Gráfico da concentração de etanol em função do tempo na fermentação de amido com ER (meio simulando 35% m/m de milho)

CONCLUSÃO:

Por meio desta pesquisa, pudemos perceber que a alta concentração final de etanol atingida na fermentação de milho pode não ser um empecilho tão grande quanto se acredita para o reciclo de células, já que foi possível o reciclo de leveduras que chegaram a produzir etanol numa concentração maior que 13%. Ademais, foi interessante notar o melhor desempenho das leveduras brasileiras frente à levedura norte-americana, mesmo que esta última seja mais usada na fermentação de milho. Por fim, é importante ressaltar a necessidade da realização de mais testes deste tipo que avaliem e possivelmente reforcem a possibilidade da aplicação do reciclo de leveduras para a fermentação de milho em escala industrial.

BIBLIOGRAFIA:

- IEA (2012) World energy outlook 2012. International Energy Agency, Paris.
- RFA. Essencial Energy - 2021 pocket guide to Ethanol. Renewable Fuels Association, 2021
- Alisson, Elson; Proálcool: uma das maiores realizações do Brasil baseadas em ciência e tecnologia - Agência FAPESP, 2016.
- Goldemberg, J. (2008). The Brazilian biofuels industry. Biotechnology for Biofuels. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-1-65>
- Leite, Rogério Cerqueira; Cortez, Luís Augusto Barbosa; O Etanol Combustível no Brasil - Biocombustíveis no Brasil: Realidades e perspectivas, págs. 61-75, 2008
- Lopes, Mário Lúcio; Ethanol production in Brazil: a bridge between science and industry, Fermentec, Piracicaba, São Paulo, SP, Brazil, 2016
- UNEM. Mercado fica mais estável com etanol de milho. União Nacional de Etanol de milho, 2020. Available at: <<http://www.etanoldemilho.com.br/2020/02/05/mercado-fica-mais-estavel-com-etanol-de-milho/>>.
- CONAB. Percepções para agropecuária - safra 2019/2020. Companhia Nacional de Abastecimento, v. 7, 2019.
- Silva, Franciele; Nascimento, Carla Oliveira. Análise de viabilidade da produção de etanol derivado do milho: um estudo comparativo. Unirv, 2018.
- Eckert C.T., Frigo E.P., Albrecht L.P., Albrecht A.J.P., Christ D., Santos, E. Berkembrock, V.A. Egewarth, Maize ethanol production in Brazil: Characteristics and perspectives, Renewable and Sustainable Energy Reviews, Volume 82, Part 3, 2018.
- EMBRAPA. Milho - Caracterização e Desafios Tecnológico. Série desafios do agronegócio brasileiro (NT2), 2019.
- IBGE. Rebanho bovino predomina no centro oeste e Mato Grosso lidera entre os estados. Agência de notícias Inge, 2017. Available at: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/22648-ppm-2017-rebanho-bovino-predomina-no-centro-oeste-e-mato-grosso-lidera-entre-os-estados>>.
- Marques, Tadeu Alcides; Serra, Gil Eduardo (2004). *Estudo da reciclagem de células na produção biológica de etanol. Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 24(4), 532– 535. doi:10.1590/S0101-20612004000400009
- Kumar, Deepak (2019). Bioethanol Production From Corn. 615–631. Doi:10.1016/B978- 0-12-811971-6.00022-X