

Artigo

Produção de Bioetanol a Partir dos Resíduos da Indústria de Papel

Santos, C. M.;* Brito, P. L.; Santos, A. T. O.; Pantoja, L. A.; Costa, A. S. V.; Santos, A. S.

Rev. Virtual Quim., 2020, 12 (4), 00-00. Data de publicação na Web: 7 de Julho de 2020

<http://rvq.sbj.org.br>

Ethanol Production from Waste of Paper Industry

Abstract: The need to increase the share of renewable energy sources in the composition of the world energy matrix has stimulated several researchers in the search for new economically viable and environmentally sustainable technologies. The bioethanol produced from lignocellulosic biomass, emerges as a promising technology, due to their character, renewable, abundant and low cost of processing. The production of lignocellulosic bioethanol involves processes ranging from saccharification of cellulose and hemicellulose present in the biomass and conversion to ethanol by the action of fermentative microorganisms. The aim of this work was to study the processes of enzymatic saccharification and fermentation of waste paper to obtain bioethanol. Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) ethanol production was performed for 16 hours with Cellic CTec2 β -glucosidase enzyme cocktail, with a concentration of 70 FPU/g, and at pH 4.8. The commercial yeast *Saccharomyces cerevisiae* (Fleischmann) was used. The results showed the conversion of the cellulose industry waste into reducing sugars at $39.44 \pm 2.41 \text{ g g}^{-1}$, corresponding to $65 \pm 4.12\%$ of the available cellulose yield, achieving a yield of $9.16 \pm 0.98 \text{ g L}^{-1}$ ethanol and 77% fermentative efficiency.

Keywords: Lignocellulosic biomass; bioethanol; waste paper; raw material.

Resumo

A necessidade de aumentar a participação de fontes de energia renovável na composição da matriz energética mundial tem estimulado diversos pesquisadores na busca por novas tecnologias economicamente viáveis e ambientalmente sustentáveis. O bioetanol, produzido a partir da biomassa lignocelulósica, desponta como tecnologia promissora, devido ao seu caráter renovável e abundante. A obtenção de bioetanol lignocelulósico envolve processos de sacarificação da celulose e da hemicelulose presentes na biomassa, até a sua conversão em etanol por ação de microrganismos fermentativos. O objetivo deste trabalho foi estudar os processos de sacarificação enzimática e fermentação em resíduos de papel para obtenção de bioetanol. A produção de etanol pelo procedimento de sacarificação e fermentação simultâneas (SSF – *Simultaneous saccharification and fermentation*) foi realizado por 16 horas, utilizando coquetel enzimático β -glucosidase *Cellic CTec2*, com concentração de 70 FPU/g, e em pH 4.8. Foi utilizada a levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* (Fleischmann). Os resultados apresentaram a conversão dos resíduos da indústria de celulose em açúcares redutores em $39.44 \pm 2.41 \text{ g g}^{-1}$, correspondente a $65 \pm 4.12\%$ do rendimento de celulose disponível, alcançando um rendimento de $9.16 \pm 0.98 \text{ g L}^{-1}$ de etanol e eficiência fermentativa de 77%.

Palavras chave: Bioetanol; materiais lignocelulósicos; sacarificação.

* Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis, Campus Diamantina, CEP: 38610-000, Diamantina-MG, Brasil.

 ciro.santos@ufvjm.edu.br

DOI: [10.21577/1984-6835.20200075](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200075)

Produção de Bioetanol a Partir do Resíduos da Indústria de Papel

Ciro Meneses Santos,* Philipe Luan Brito, Andreia Teixeira de Oliveira Santos, Lílian Araújo Pantoja, Alexandre Sylvio Vieira da Costa, Alexandre Soares dos Santos

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis, Campus Diamantina, CEP: 386790-000, Diamantina-MG, Brasil.

*ciro.santos@ufvjm.edu.br

Recebido em 24 de Maio de 2019. Aceito para publicação em 21 de Maio de 2020.

1. Introdução

2. Material e Métodos

- 2.1.** Aquisição da matéria-prima e caracterização
- 2.2.** Sacarificação enzimática
- 2.3.** Fermentação do etanol
- 2.4.** Hidrólise e fermentação separadas (SHF)
- 2.5.** Sacarificação e Fermentação Simultâneas (SSF)
- 2.6.** Análise estatística

3. Resultados e Discussão

- 3.1.** Caracterização fisico-química dos resíduos da indústria de papel
- 3.2.** Análise do potencial de sacarificação enzimática
- 3.3.** Liberação dos açúcares redutores durante a otimização da sacarificação enzimática
- 3.4.** Processos fermentativos
- 3.5.** Avaliação entre processos de sacarificação e fermentação

4. Conclusão

1. Introdução

Nas últimas décadas, o consumo de combustíveis fósseis tem aumentado em proporção muito maior que o seu ritmo de produção. Esse consumo já representa 86% do total de energia consumida no mundo, com destaque para os setores de transporte e indústria, responsáveis por consumir 55% da produção mundial de energia.¹

Esse crescente consumo de energia não renovável e altamente poluente, especialmente do petróleo e seus derivados, têm apontado para a necessidade de se encontrar fontes alternativas de energia, capazes de suprir os mais diversos setores urbanos ou industriais

da sociedade de consumo, que hoje são movidos pelo carvão, petróleo e gás natural.^{2,3}

Pesquisas recentes sinalizam para o desenvolvimento de novos processos tecnológicos capazes de diminuir gradualmente as necessidades da sociedade por combustíveis fósseis, apontando para novas fontes de energias renováveis a partir de matérias-primas lignocelulósicas,^{4,5} especialmente resíduos agroindustriais ou biomassa de baixo custo, que não demandam grandes áreas de cultivo.⁶ O bioetanol lignocelulósico tem se mostrado um biocombustível eficiente, tanto do ponto de vista ambiental quanto do ponto de vista econômico, capaz de diminuir o uso de combustíveis derivados do petróleo.^{7,8}

A biomassa lignocelulósica é formada por polímeros de celulose e hemicelulose, protegidos por uma molécula de lignina, também conhecida por parede vegetal, que dificulta a ação dos microrganismos fermentadores, sendo necessária a realização de pré-tratamentos com a finalidade de aumentar os rendimentos e a eficiência dos procedimentos para produção do bioetanol.^{3,9,10}

Dentre os diversos tipos de biomassa lignocelulósica com potencial para produção de bioetanol, destacam-se os resíduos provenientes das indústrias de papéis e celulose, produzidos no mundo todo em grandes quantidades e com alto poder poluente. A busca por alternativas sustentáveis para seu reaproveitamento evita o descarte em aterros industriais, reduzindo os riscos de contaminação ambiental.

As indústrias de papel e celulose brasileiras produzem grandes quantidades de resíduos sólidos durante os processos produtivos. A unidade de Governador Valadares-MG, por exemplo, produziu cerca de 3,6 mil toneladas de resíduos de papel em 2016, resultantes do reaproveitamento de aparas de papel utilizadas no processamento industrial para a produção de papel toalha, papel higiênico, guardanapos, absorventes, entre outros. Estudos de análises físico-químicas realizadas neste tipo de material demonstraram alto teor de carboidratos e pequenas quantidades de lignina e hemicelulose, sendo essas características essenciais para a produção de etanol com menor custo de produção.¹¹

Os principais processos para produção de bioetanol lignocelulósico são realizados através da sacarificação enzimática e fermentação. A sacarificação enzimática ocorre através da reação de um agente catalisador (enzimas) e um substrato (celulose) que reagem, quebrando longas cadeias de moléculas de celulose e transformando em monossacarídeos.^{12,13} A fermentação pode ser implementada através da hidrólise e fermentação separadas (SHF – *Separate hydrolysis and fermentation*), ou utilizando, em simultâneo, a sacarificação e fermentação (SSF).^{14, 15} A sacarificação consiste em uma reação catalítica, provocando quebras das cadeias das moléculas de celulose, convertendo-

as em açúcares fermentescíveis. Já a fermentação é processada utilizando fermento biológico.¹⁶

A utilização de resíduos de papel como matéria-prima para a produção de bioetanol apresenta-se como alternativa promissora para a produção de energia limpa e renovável, tanto pelo aspecto econômico, na redução dos custos de produção, como pelo impacto considerável na preservação do meio ambiente.^{11,17}

O objetivo desta pesquisa foi avaliar o reaproveitamento dos resíduos da indústria de papel e celulose, produto altamente poluente que, através de sacarificação e fermentação, produz bioetanol, energia renovável e de baixo custo.

2. Material e Métodos

2.1. Aquisição da matéria-prima e caracterização

Os resíduos de papel ilustrado na Figura 1 foram coletados na indústria de papel Santa Terezinha – SANTHER, localizada na Rod MG-4, km 5, distrito de Capim, em Governador Valadares, MG. A indústria SANTHER utiliza aparas de celulose oriundas das indústrias de celulose da região, dentre elas: Celulose Nipo-Brasileira – CENIBRA, Suzano Papel e Celulose SA, Fibra Aracruz SA, para produzir papéis para consumo, como guardanapos, papel toalha, papel higiênico, absorventes, etc. A caracterização físico-química dos resíduos de fábrica de papel foi realizada através da determinação dos teores de umidade, cinzas, proteínas, lipídio totais, fibra bruta, fibras solúveis em detergente neutro (FSDN), fibras solúveis em detergente ácido (FSDA), celulose, hemicelulose, lignina, açúcares solúveis totais (AST).

2.2. Sacarificação enzimática

As etapas de sacarificação foram realizadas no Laboratório de Bioprocessos e Biotransformação da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri



Figura 1. Resíduos da indústria de papel coletada na Fábrica de Papel Santa Terezinha – SANTHER.
Fonte: Autor

(UFVJM). Foram utilizadas enzimas celulase *Cellic CTec2/Novozymes*, com teor de proteína de 161 mg/g e atividade de β -glucosidase 2,7 U/g, aplicando uma concentração de 7 FPU/g, conforme dados apresentados no experimento desenvolvido por Baker, Joiner e Bruna.^{16,18,19}

A sacarificação enzimática foi realizada com 20% (p/v), com 0,5g de resíduos da indústria de papel, adicionados em 10mL de solução tampão de acetato de sódio (50 μ M). O pH do meio foi ajustado para 4,8. A razão S/L de 20% foi feita em frasco *erlenmeyer* de 50mL, acondicionada em incubadora (Nova Ética), sobre agitação de 36G e temperatura de 50 °C, durante 16 horas. Os ensaios de sacarificação enzimática foram desenvolvidos utilizando diferentes condições de concentração de substratos (Concentração enzimática 7 a 102 FPU g⁻¹), temperaturas (50 °C) e pH (4,5 a 5,0). Os teores de açúcares redutores foram determinados pelo método descrito por Miller²⁰ e adaptado do protocolo disponibilizado pela Embrapa. A quantificação será realizada em *eppendorf* de 2mL, pela adição de 100 μ L da amostra (centrifugada) e 100 μ L do reagente DNS, com incubação a 100°C por 5min, e adição de 1,0mL de água destilada. Após homogeneização procedeu-se à leitura em espectrofotômetro a 540nm.

2.3. Fermentação do etanol

Para a realização dos experimentos de fermentação, foi construído um sistema para fermentação composto por um tubo *falcon* cônico de 50 mL, acoplado a um Air lock adaptado, dispositivo que permite o desprendimento de CO₂ e evita a entrada de O₂ no sistema. Este sistema é monitorado através de sucessivas pesagens até atingir peso constante. Através da massa desprendida, é calculado o etanol teórico.²¹ Os ensaios fermentativos foram conduzidos através da ação das leveduras comerciais *Saccharomyces Cerevisiae* (Fleischmann), como organismos indutores da fermentação.²²⁻²⁴

2.4. Hidrólise e fermentação separadas (SHF)

O material resultante da sacarificação foi utilizado para inoculação da levedura, considerando consistência de 2% (p/v) utilizados como meio de fermentação, dispostos em incubadora (Nova Ética), sobre agitação de 36G e temperatura de 28 °C. Foram recuperadas alíquotas de 2mL das amostras no início e no final do processo fermentativo, para acompanhar o quantitativo de açúcares redutores.

2.5. Sacarificação e Fermentação Simultâneas (SSF)

O processo de SSF utilizou 1,5g de massa seca das amostras. Foi utilizada a enzima *Cellic CTec2*, com concentração de 70 FPU/g e com solução tampão de

pH 4,8. O material foi acondicionado no sistema de fermentação. O peso inicial foi aferido e a amostra foi inserida na incubadora sob agitação de 36G e temperatura de 28 °C. Após duas horas do início do processo de sacarificação enzimática, a levedura *Saccharomyces cereviciae* foi inoculada.

2.6. Análise Estatística

Os experimentos forma elaboradoras em triplicada e seus resultados são apresentados com média \pm desvio padrão.

3. Resultados e Discussão

3.1. Caracterização fisico-química dos resíduos da indústria de papel

A caracterização fisico-química dos resíduos da indústria de papel apresentou baixo teor de lignina (7,6 \pm 0,6%) e hemicelulose (2,7 \pm 0,4%). Esses resultados já eram esperados, uma vez que a biomassa analisada é pré-tratada na sua produção, pois são resíduos resultantes do reaproveitamento de aparas de papéis utilizados no processamento industrial, um material parcialmente deslignificado, podendo-se atenuar a etapa de pré-tratamento, geralmente aplicada aos materiais lignocelulósicos. A pouca incidência de lignina facilita a implementação dos sistemas de hidrólise ácida ou enzimática, visando à conversão da celulose para as moléculas estruturais básicas de glicose, substrato indispensável para a produção do etanol.

O material analisado apresentou grandes características fermentescíveis (63,5 \pm 3,11%), e alto teor de celulose (60,25 \pm 1,93%), associados a uma pequena fração de hemicelulose (2,7 \pm 0,07%), amido (0,8 \pm 0,03%) e açúcares solúveis totais (AST) (0,31 \pm 0,01%). Através desses dados foi possível estimar o potencial teórico para a produção de etanol a partir dos resíduos das indústrias de papel, utilizando a equação (1). O valor observado foi de aproximadamente 390L ton⁻¹, considerando a conversão da celulose disponível em açúcares fermentescíveis e o fator de conversão de 0,511g de etanol para 1g dos monossacarídeos.²⁵

$$\text{Etanol teórico} = \frac{\text{carboidratos} \times 0,511 \times 10}{0,79} \text{ litros/t} \quad (1)$$

A Tabela 1 mostra os estudos de Howard *et al.*, Prasad *et al.*, Mosier *et al.* e Leolovich *et al.*,²⁶⁻²⁹ referentes à composição química de resíduos lignocelulósicos de diferentes tipos de papéis e hastes de madeira. Tais autores trazem resultados similares aos encontrados no presente estudo em teores de celulose, hemicelulose e lignina, sendo 38% a 87% a fração de

celulose, 5% a 20% em teores de hemicelulose e 1% a 26% em frações de lignina encontrada. No presente estudo foram encontradas frações $60,25 \pm 1,9\%$, $2,7 \pm 0,4\%$ e $7,6 \pm 0,6\%$ para celulose, hemicelulose e lignina, respectivamente.

3.2. Análise do Potencial de Sacarificação Enzimática

Após os procedimentos de sacarificação enzimática, foram observadas concentrações de conversão de $18,4 \pm 1,5\text{ g}^{-1}$ de açúcar redutor, representando 30,5 % da celulose disponível na matéria-prima analisada. Essa conversão pode ser considerada baixa, quando comparada com os dados disponíveis na literatura através dos estudos,^{30,31} onde os rendimentos apresentados foram de até 80% para conversão de celulose disponível. No entanto, esta dificuldade de conversão pode estar relacionada à composição físico-química dos resíduos analisados neste estudo, constituídos de material fibroso orgânico, derivado dos aditivos utilizados no processo produtivo. Esses aditivos são compostos principalmente de carbonato de cálcio, caulim, talco, dióxido de titânio, e metais das tintas de impressão.^{11,32,33} Tais características criam dificuldades para se atingir altos rendimentos na conversão da celulose em açúcares redutores, sendo necessário, aumentar as concentrações de enzimas na preparação do extrato enzimático. Segundo Palonen *et al.*, Chang e Holtzapple,^{34,35} as boas taxas de rendimento nos procedimentos de sacarificação das matérias-primas lignocelulósicas dependem muito de algumas características inerentes à matéria-prima, tais como: grau de cristalinidade, polimerização e a distribuição da lignina na parede celular. Esses fatores são impactados com o procedimento de deslignificação da matéria-prima, no processo de produção das fibras curtas de celulose, favorecendo a digestibilidade enzimática.

Para determinar a carga enzimática ótima para o procedimento, capaz de produzir grandes rendimentos em açúcares fermentescíveis, foi feita a otimização do sistema, analisando a quantidade de enzima e o valor

do pH da solução tampão. A otimização foi feita através de análises, utilizando-se Delieamento Composto Central Rotacional (DCCR), com três pontos centrais e três pontos axiais, representando onze ensaios. De acordo com a Tabela 3, observa-se a maior conversão da celulose em açúcares redutores nos ensaios 5 e 6, ambos com carga enzimática de 70 FPU/g. O ensaio 5 ocorreu em faixa de pH igual a 4,8, e o ensaio 6 com pH igual a 5,0. Observa-se, no ensaio 5, um rendimento de $39,44 \pm 2,41\text{ g g}^{-1}$ de biomassa, representando $65 \pm 4,12\%$ da celulose disponível para conversão. No ensaio 6, observa-se rendimentos de $32,39 \pm 1,26\text{ g g}^{-1}$ de biomassa, representando $53,7 \pm 2,75\%$ da celulose disponível para conversão, demonstrando que os melhores desempenhos ocorreram em faixa de pH=4,8 e carga enzimática de 70 FPU/g (ensaio 5).

Também foi possível observar que, de modo geral, os menores valores de carga enzimática apresentaram resultados de conversão mais baixos. O melhor rendimento foi observado com carga enzimática de 70 FPU/g, porém, a partir desse valor, não se observou aumento dos rendimentos em teor de açúcares redutores. De acordo Reguly³⁶, o aumento da carga enzimática pode provocar um acúmulo de elevadas concentrações de açúcares redutores no meio reacional, provocando a inibição da atuação das enzimas e criando um efeito repressivo.

Os resultados apresentados neste estudo sobre a conversão da sacarificação enzimática de biomassas derivadas de resíduos da indústria de papel são próximos aos resultados reportados por Zabed *et al.*, Nishimura *et al.*,^{12,37} em seus estudos, disponível na Tabela 2.

3.3. Liberação dos açúcares redutores durante a otimização da sacarificação enzimática

Em análise à Figura 2, observa-se que a carga enzimática foi a que mais contribuiu estatisticamente para a liberação dos açúcares redutores durante a otimização da sacarificação enzimática. A margem de

Tabela 1. Composição química de resíduo lignocelulósico disponível na literatura pesquisada

Material	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Referencia
Papel Jornal	38-50	15-18	21-26	Howard <i>et al.</i> , 2003
Resíduos de Fábrica de Papel	60-70	10-20	5-10	Prasad <i>et al.</i> , 2007
Papel Oficio	62-87	5-8	1-3	Mosier <i>et al.</i> , 2005
Guardanapos	58-78	6-10	4-5	Loelovich, 2014

Tabela 2. Açúcares redutores obtidos na sacarificação enzimática, g/100g de massa seca

Referências	Zabed <i>et al.</i> , (2016a) E. Coli K011	Nishimura <i>et al.</i> , (2016) PSSF – 13FPU/g	Dados do estudo <i>Cellic CTec2</i> 70FPU/g
Açúcares redutores	74%	83,8%	$65 \pm 4,12\%$

Tabela 3. Delineamento Composto Central com dois fatores (pH e Carga enzimática) e 3 pontos centrais

Ensaio	pH	Enzima FPU	Rendimento da sacarificação g/g
1	4,5	28	19,75 ± 0,72
2	4,5	81	21,58 ± 1,57
3	5	28	19,43 ± 4,33
4	5	81	26,19 ± 0,95
5	4,8	70	39,44 ± 2,41
6	5	70	32,39 ± 1,26
7	4,5	7	17,18 ± 0,63
8	4,8	102	20,05 ± 2,85
9(C)	4,8	49	24,14 ± 1,79
10(C)	4,8	49	23,98 ± 1,14
11(C)	4,8	49	24,24 ± 3,52

significância foi de 95% de certeza ($p<0,05$). A análise do nível mínimo até o nível máximo pode ser analisado através do efeito linear positivo da variável estudada, indicando um incremento da resposta. Não obstante, o efeito quadrático negativo e significativo observado pela variação da carga enzimática pode indicar o ponto máximo, representando o limite ao incremento da carga enzimática, demonstrado pela curvatura no gráfico de superfície disponível na Figura 3. Esses resultados observados indicam, provavelmente, que o aumento da carga enzimática provocou um acúmulo de elevadas concentrações de açúcares redutores no meio, provocando uma inibição da atuação das enzimas e criando um efeito repressivo. O efeito repressivo também foi reportado nos estudos de Reguly.³⁶ O valor do pH mostrou efeito linear positivo

e significativo, sendo importante para a transformação cinética, enquanto que o efeito quadrático positivo foi significativo na representação da curvatura na superfície de resposta verificado na Figura 3. Esses dados demonstram uma ampla faixa de condições possíveis para maximizar o rendimento na conversão da celulose em açúcares redutores.

3.4. Processos fermentativos

Os processos fermentativos podem acontecer através de diversos procedimentos, nos quais os mais utilizados são a “Hidrólise e fermentação separadas” (SHF) e a “Sacarificação e fermentação simultâneas” (SSF). De acordo com,³⁸ quando se faz necessária a otimização dos processos de sacarificação e

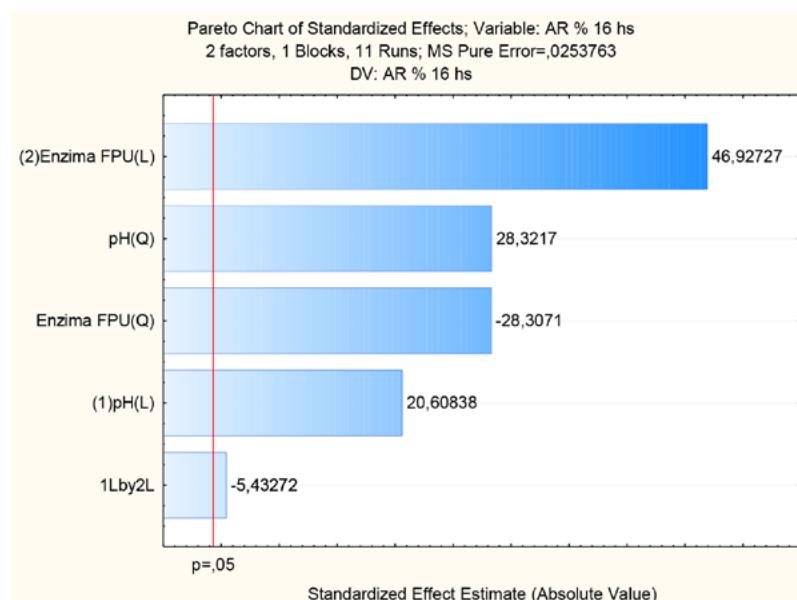


Figura 2. Gráfico de Pareto apresentando os efeitos dos fatores, em percentual de AR sobre a sacarificação enzimática

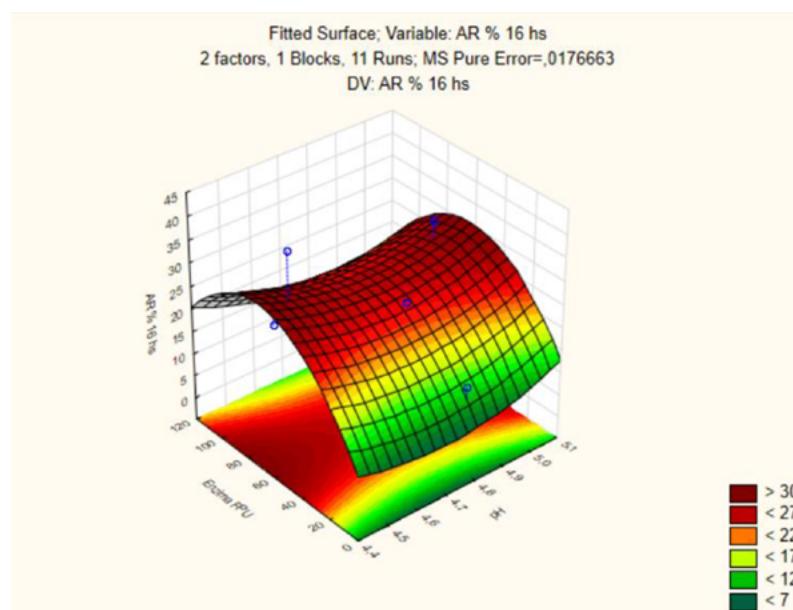


Figura 3. Gráfico de superfície de resposta para o percentual de açúcares redutores convertidos através do procedimento de sacarificação enzimática

fermentação em condições ótimas de pH, temperatura e configuração dos equipamentos, neste caso utilize-se o método SHF. Quando o procedimento privilegia a utilização dos mesmos equipamentos com o objetivo de redução do tempo e custo de produção, diminuição dos riscos de contaminação por microrganismos, aumento da produtividade do processo de produção do etanol, o método mais apropriado é o SSF.

3.5. Avaliação entre processos de sacarificação e fermentação

A fermentação do material sacarificado dos resíduos da indústria de papel contendo concentração de $24,45 \pm 0,79 \text{ g L}^{-1}$ de açúcares redutores foi realizado através do processo SHF no período de 16 horas, onde a concentração inicial foi reduzida para $0,94 \pm 0,04 \text{ g L}^{-1}$. As células de levedura *S. Cerevisiae* consumiram quase todo o açúcar disponível. Neste processo obteve-se uma concentração de etanol de $4,81 \pm 1,12 \text{ g L}^{-1}$, correspondendo a uma taxa de produtividade volumétrica de etanol ($Q_p = 0,30 \text{ g L}^{-1}$), com rendimento de produção de etanol ($(Y'_{p/s} = 0,21 \text{ g g}^{-1})$, e eficiência fermentativa de ($E_f = 41\%$).

Para análise dos resultados de fermentação utilizando o procedimento SSF, foram utilizados os mesmos valores de conversão da celulose em açúcares redutores, obtidos no processo SHF, correspondente à concentração de $24,45 \pm 0,79 \text{ g L}^{-1}$. Entretanto, para o procedimento SSF, a levedura foi inserida após duas horas do início do processo de sacarificação enzimática. A melhor concentração de etanol para o processo de SSF foi $9,16 \pm 0,98 \text{ g L}^{-1}$ após 16 horas de incubação, correspondendo a uma produtividade volumétrica de etanol de ($Q_p = 0,57 \text{ g L}^{-1}$). Esse rendimento na conversão de

açúcares fermentescíveis em etanol está relacionado ao consumo substancial dos açúcares redutores, observado ao analisar a amostra residual de $0,94 \pm 0,04 \text{ g L}^{-1}$ correspondente à concentração de açúcares redutores.

O processo de SSF não apresentou acúmulo de açúcares redutores, e os valores disponíveis na amostra foram menores, se comparados com os valores observados utilizando o processo de SHF para os mesmos tempos de processos. Esse comportamento indica que as células de levedura *S. Cerevisiae* estavam metabolicamente ativas durante o período de fermentação.

Com o objetivo de fazer uma comparação entre os processos de fermentação SHF e SSF, foi utilizado o valor obtido através do processo SHF, sendo este de $24,45 \pm 0,79 \text{ g L}^{-1}$, para a produção de açúcares redutores para o inóculo preparado para 20mL.

A eficiência fermentativa apresentada pelo processo de fermentação SSF foi de 77% ($E_f = 77\%$) para conversão dos carboidratos disponíveis nos resíduos da indústria de papel, com rendimento de produção de etanol ($Y'_{p/s} = 0,39 \text{ g g}^{-1}$). A concentração de etanol verificada para o processo de SSF foi de $9,16 \pm 0,98 \text{ g L}^{-1}$, sendo ligeiramente maior do que os valores de etanol demonstrados nas pesquisas desenvolvidas por Za Kádár, onde são apresentados concentrações de etanol de $8,8 \text{ g L}^{-1}$, utilizando *K. marxianus* e $9,0 \text{ g L}^{-1}$, utilizando *S. Cerevisiae*.³⁹

A conversão de carboidratos em açúcares redutores foi menor do que os verificados na sacarificação enzimática utilizando o processo SHF. Esse fato se justifica devido à diferença de temperatura dos processos, dificultando a formação de inibidores. Já o processo de SSF resulta na fermentação dos açúcares fermentescíveis disponíveis, assim que os mesmos são liberados, permitindo maiores concentrações de etanol.

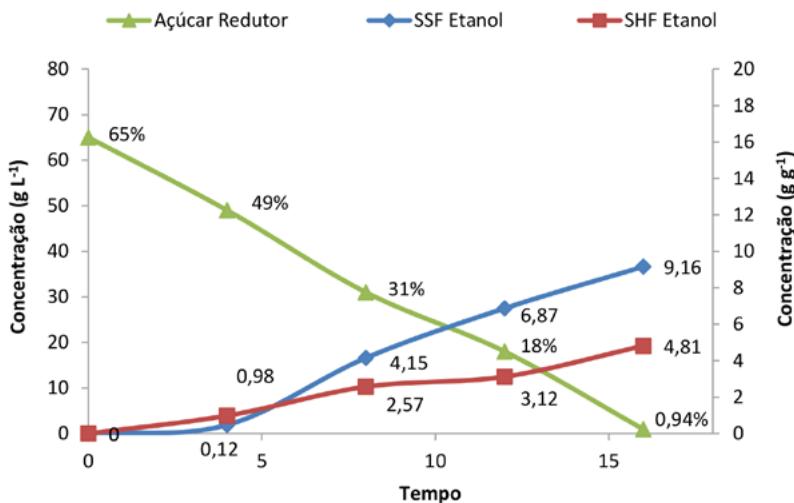


Figura 4. Produção de etanol com base no desprendimento de gás carbônico (CO_2) durante o processo fermentativo utilizando SHF e SSF

Tabela 4. Variáveis do processo fermentativo SHF e SSF utilizando a levedura *S. cerevisiae* como agente fermentativo

Método	ARI	ARf	Tempo	EtOHf	YP/S	Qp	Ef
	g L ⁻¹	g L ⁻¹	(h)	g L ⁻¹	(gp gs ⁻¹)	(g/L/h)	(%)
SHF	24,45 ± 0,79	0,94 ± 0,04	16	4,81 ± 1,12	0,21	0,3	41
SSF	24,45 ± 0,79 *	1,43 ± 0,06	16	9,16 ± 0,98	0,39	0,57	77

Yp/s = rendimento de produção em etanol; Qp= produtividade volumétrica e Ef= eficiência fermentativa. ARI=Açúcares redutores inicial ARf= açúcares redutores final. * concentração de açúcar redutor estimado para SSF

4. Conclusão

A caracterização físico-química dos resíduos da indústria de papel estudados disponibilizou dados relevantes para o desenvolvimento deste trabalho, incidindo parâmetros importantes, como altos teores de celulose ($60,25 \pm 1,93\%$) e baixos teores de hemicelulose ($2,7 \pm 0,04\%$).

Por ter sido submetida ao processo de fabricação de papel, o resíduo da indústria de papel estudado apresentou baixos teores de lignina ($7,6 \pm 0,6\%$), dispensando pré-tratamentos, uma das etapas mais dispendiosas da produção de etanol a partir de biomassas lignocelulósicas.

O processo de SSF apresentou melhores resultados para produção de etanol utilizando o coquetel enzimático *Cellic CTec2*, com carga enzimática de 70 FPU/g e levedura comercial *S. Cerevisiae*, resultando em concentrações de etanol de $9,16 \pm 0,98\text{ g L}^{-1}$, com rendimentos de produção de etanol de ($\text{Y' P/S} = 0,39\text{ g g}^{-1}$), produtividade volumétrica de $\text{QP} = 0,57\text{ g L}^{-1}$ e eficiência fermentativa de 77% ($\text{Ef} = 77\%$).

O presente estudo mostrou-se tecnicamente viável para a produção de etanol a partir de resíduos da indústria

de papel, apresentando grande potencial para produção de energia renovável e de baixo custo, reutilizando insumos e minimizando os impactos econômicos e ambientais associados à geração de resíduos, servindo como alternativa para minimizar as crises energéticas.

Referências Bibliográficas

- 1 Schiffer, H. W.; Westhuizen, Z. V.; Radu, C.; Ibeau, N.; Onyekpe, D. K.; Notarianni, E.; Menze, C. *World Energy Resources WER*, *World Energy Council*, 2016. [\[Link\]](#)
- 2 Zabed, H.; Faruq, G.; Sahu, J. N.; Azirun M.S.; Hashim R.; Nasrulhaq B.A. Bioethanol production from fermentable sugar juice. *Scientific World Journal* **2014**. [\[CrossRef\]](#)
- 3 Balat, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: a review. *Energy Conversion and Management* **2011**, *52*, 858. [\[CrossRef\]](#)
- 4 Khatiwada, D.; Leduc, S.; Silveira, S.; McCallum, I. Optimizing ethanol and bioelectricity production in sugarcane biorefineries in Brazil. *Renewable Energy* **2017**, *85*, 371 [\[CrossRef\]](#)

- ⁵ Lin, Y.; Wang, D.; Wang, T.; Ethanol production from pulp & paper sludge and monosodium glutamate waste liquor by simultaneous saccharification and fermentation in batch condition. *Chemical engineering Journal* **2012**, 191, 31. [\[CrossRef\]](#)
- ⁶ Nunes, R. M.; Guarda, E. A.; Serra, J. C. V.; Martins, A. A.; Resíduos agroindustriais: potencial de produção do etanol de segunda geração no Brasil. *Revista Liberato* **2013**, 14, 113 [\[CrossRef\]](#)
- ⁷ Lopes, M. L.; Paulillo, S. C. L.; Godoy, A.; Cherubin, R. A.; Lorenzi, M. S.; Giometti, F. H. C.; Bernardino, C. D.; Amorim Neto, H. B.; Amorim, H. V.; Ethanol production in Brazil: a bridge between science and industry. *Brazilian journal of microbiology* **2016**, 47, 64. [\[CrossRef\]](#)
- ⁸ Companhia Nacional de Abastecimento; *Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar*, vol 4, Quarto Levantamento: Brasília, 2018. [\[Link\]](#)
- ⁹ Singh, Y. D.; Mahanta, P.; Bora, U.; Comprehensive characterization of lignocellulosic biomass through proximate, ultimate and compositional analysis for bioenergy production. *Renewable Energy* **2017**, 103, 490. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁰ Fernandes, M. C.; Ferro, M. D.; Paulino, A. F. C.; Mendes, J. A. S.; Gravitis, J.; Evtuguin, D. V.; Xavier, A. M. R. B. Enzymatic saccharification and bioethanol production from *Cynara cardunculus* pretreated by steam explosion. *Bioresource Technology* **2015**, 186, 309. [\[CrossRef\]](#)
- ¹¹ Heinz, K. G. H.; Zanoni, P. R. S.; Oliveira, R. R.; Medina, R. S.; Simão, T. L. L.; Trindade, F. J.; Pereira, L. M.; Tavares, L. B. B.; Giongo, A. Recycled Paper Sludge Microbial Community as a Potential Source of Cellulase and Xylanase Enzymes. *Waste and Biomass Valorization* **2016**, 8, 1907. [\[CrossRef\]](#)
- ¹² Zabed, H.; Sahu, J. N.; Boyce, A. N.; Faruq, G. Fuel ethanol production from lignocellulosic biomass: An overview on feedstocks and technological approaches. *Journal Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2016**, 66, 751. [\[CrossRef\]](#)
- ¹³ Bastos, V. D.; *Etanol, Alcoolquímica e Biorrefinarias*, BNDES Setorial: Rio de Janeiro, 2007. [\[Link\]](#)
- ¹⁴ Yang, P.; Guo, L.; Cheng, S.; Lou, N.; Lin, J. Recombinant multi-functional cellulose activity in submerged fermentation of lignocellulosic wastes. *Renewable Energy* **2011**, 36, 3268. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁵ Vasquez, M. P.; Silva, J. N. C.; Souza, M. B. J. R.; Pereira Jr., N. Enzymatic hydrolysis optimization to ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **2007**, 137, 141. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁶ Schroeder, B. G.; Zanoni, P. R. S.; Magalhães, W. L. E.; Hansel, F. A.; Tavares, L. B.; Evaluation of biotechnological processes to obtain ethanol from recycled paper sludge. *Journal of Material Cycles and Waste Management* **2017**, 19, 463 [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁷ Foelkel, C. Em *Eucalyptus Online Book & Newsletter*, Associação Brasileira Técnica de Celulose e Papel: São Paulo, 2010, cap 3. [\[Link\]](#)
- ¹⁸ Baker, J. O.; King, M. R.; Adney, W. S.; Decker, S. R.; Vinzant, T. B.; Lantz, S. E.; Niever, R. E.; Thomas, S. R.; Li, L. C.; Cosgrove, D. J.; Himmel, M. E. Investigation of the Cell-Wall Loosening Protein Expansin as a Possible Additive in the Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **2000**, 217. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁹ Joiner, D. B.; *Tese de Doutorado*, Auburn University, EUA, 2005. [\[Link\]](#)
- ²⁰ Miller, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* **1959**, 31, 426. [\[CrossRef\]](#)
- ²¹ Pantoja L.; Maeda, R. N.; Carvalho, S. M. S.; Aguiar, J. P. L.; Monteiro, F. M.; Lima, Q. A.; Mendonça, F. G.; Yuyama, L. K. O.; Pereira, N. J. Aprovechamiento biotecnológico de la guanábana en la elaboración de bebidas alcohólicas fermentadas utilizando levadura inmovilizada em alginato. *Brazilian Journal of Food Technology* **2005**, 96. [\[Link\]](#)
- ²² Dutta A.; Dowe N.; Ibsen K. N.; Schell D. J.; Aden A. An economic comparison of different fermentation configurations to convert corn stover to ethanol using *Z. mobilis* and *Saccharomyces*. *Biotechnology Progress* **2009**, 26, 1. [\[CrossRef\]](#)
- ²³ Jain, S.; Chouhan, S.; Chavan, K. J.; Singh, P.; Tiwari, A. Bioethanol production from waste paper sludge as a fermentation substrate by using xylose fermenting yeast. *Edizioni Minerva Medica* **2016**, 28, 201. [\[Link\]](#)
- ²⁴ Mendes, C. V. T.; Cruz, C. H. G.; Reis, D. F. N.; Carvalho, M.; Graça, V. S.; Rocha, J. M. S. Integrated bioconversion of pulp and paper primary sludge to second generation bioethanol using *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 26602. *Journal Bioresource Technology* **2016**, 220, 161. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁵ Wayman, M.; Chen, S.; Doan, K. Bioconversion of Waste Paper to Ethanol, *Process Biochemistry* **1992**, 27, 239. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁶ Leolovich, M. Waste Paper as Promising Feedstock for Production of Biofuel, *Journal of Scientific Research & Reports* **2014**, 3, 905. [\[CrossRef\]](#)
- ²⁷ Mosier, N.; Wyman, C.; Dale, B.; Elander, R.; Lee, Y.; Holtzapple, M.; Ladisch, M. Features of promising Technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* **2005**, 96, 673. [\[CrossRef\]](#)

- ²⁸. Howard, R.; Abotsi, E.; Van Rensburg, E. J.; Howard, S. Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. *African Journal of Biotechnology* **2003**, 2, 602. [\[Link\]](#)
- ²⁹ Prasad, S.; Singh, A.; Joshi, H. Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues. *Resources Conservation Recycling* **2007**, 50, 1. [\[CrossRef\]](#)
- ³⁰ Buzała, K. P.; Kalinowska, H.; Przybysz, P.; Małachowska, E. Conversion of various types of lignocellulosic biomass to fermentable sugars using kraft pulping and enzymatic hydrolysis, *Wood Science Technology* **2017**, 51, 873. [\[CrossRef\]](#)
- ³¹. Teymour, F.; Laureano-Perez, L.; Alizadeh, H.; Dale, B.E. Optimization of the ammonia fiber explosion (AFEX) treatment parameters for enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresource Technology* **2005**, 96 2014. [\[CrossRef\]](#)
- ³². Marques, S., Alves, L, Roseiro, J. C., Gírio, F. M. Conversion of recycled paper sludge to ethanol by SHF and SSF using *Pichia stipites*, *Biomass and Bioenergy* **2008**, 32, 400. [\[CrossRef\]](#)
- ³³. Chen, Y.; Cheng, J. J.; Creamer, K. Inhibition of anaerobic digestion process: A review, *Bioresource Technology* **2014**, 99, 4044. [\[CrossRef\]](#)
- ³⁴. Palonen, H.; Tjerneld, F.; Zacchi, G.; Tenkanen, M. Adsorption of *Trichoderma reesei* CBH I and EG II and their catalytic domains on steam pretreated softwood and isolated lignin, *Journal of Biotechnology* **2004**, 107, 65. [\[CrossRef\]](#)
- ³⁵. Chang, V. S.; Holtzapple M. T. Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity. *Applied Biochemistry Biotechnology* **2000**, 84, 5. [\[CrossRef\]](#)
- ³⁶. Reguly, J. C.; *Biotecnologia dos processos fermentativos: Produção de enzimas e engenharia das fermentações*. Universitária/UFPE: Pelotas, 1996.
- ³⁷. Nishimura, H.; Tan, L.; Sun, Z.Y.; Tang, Y.Q.; Kida, K.; Morimura, S. Efficient production of ethanol from waste paper and the biochemical methane potential of stillage eluted from ethanol fermentation. *Journal Waste Management* **2016**, 48, 644. [\[CrossRef\]](#)
- ³⁸. Guilherme, A. A.; Dantas, P.V. F.; Padilha, C. E. A.; Santos, E.S.; Gorete, R.M.; Ethanol production from sugarcane bagasse: Use of different fermentation strategies to enhance an environmental-friendly process. *Journal of Environmental Management* **2019**, 234, 44. [\[CrossRef\]](#)
- ³⁹. Kádár, Z.; Szengyel, Z.; Réczy, K. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of industrial wastes for the production of ethanol. *Industrial Crops and Products* **2004**, 20, 103. [\[CrossRef\]](#)