

Caracterização e hidrólise quimioenzimática da torta de macaúba com o propósito de produção de bioetanol

Clara Justus Pimenta^{a*}, Bruna Moreira Costa^b, Fellipe Rocha Pereira^a, Luís Gustavo Batista de Almeida^a, Lílian de Araújo Pantoja^c, Alexandre Soares dos Santos^d

^aEstudante do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis da UFMG, nível mestrado.

^bEstudante de Engenharia Química da UFMG.

^cProfessora do Instituto de Ciência e Tecnologia da UFMG.

^dProfessor do Departamento de Ciências Básicas da UFMG.

*E-mail: clara.justus@ufvjm.edu.br

1

Resumo: A tecnologia para a produção de etanol de segunda geração, embora já implementada industrialmente em alguns países, segue em desenvolvimento buscando diversificação de biomassas, otimização de processos de pré-tratamento, sacarificação e fermentação que se adequem a realidades locais. Neste estudo foi avaliado o uso de processo de hidrólise quimioenzimática como tecnologia para a sacarificação das frações de amido, celulose e hemicelulose presentes em torta de macaúba (*Acrocomia aculeata*). A torta de macaúba foi submetida a caracterização química, e passou por pré-tratamento químico com H₂SO₄ diluído e por hidrólise com celulases e amiloglicosidase comercial. A combinação do pré-tratamento ácido com a hidrólise enzimática foi capaz de solubilizar 97% do amido, 99% da hemicelulose e 76% da celulose.

Palavras-chave: Etanol 2G; Sacarificação; Biomassa lignocelulósica.

1 - Introdução

A produção de etanol no mundo ainda é amplamente baseada na tecnologia de 1ª geração, que utiliza biomassa rica em açúcares, como cana-de-açúcar e beterraba, e biomassa amilácea, como milho e mandioca. No entanto, a tecnologia de 2ª geração (2G), que utiliza biomassas lignocelulósicas, provenientes principalmente de resíduos agrícolas e agroindustriais, como o bagaço de cana e a palha de milho, tem ganhado espaço (Ribeiro *et al.*, 2023). O bioetanol 2G é visto como uma alternativa sustentável, pois não requer expansão da área agrícola ou gasto adicional de recursos como água ou agroquímicos. Porém, apesar dessas vantagens, essa tecnologia enfrenta desafios, como o do

aproveitamento das pentoses da hemicelulose, o alto consumo de energia, a baixa produtividade volumétrica, o baixo rendimento fermentativo pela presença inibidores nos hidrolisados, e consequente custo de produção elevado (Nargotra *et al.*, 2023).

O pré-tratamento da biomassa lignocelulósica pode ocorrer por meio de diversos métodos, como tratamentos físicos, químicos e biológicos. A combinação adequada desses processos, como o uso de hidrólise quimioenzimática, pode apresentar resultados satisfatórios na liberação de pentoses e hexoses (Saad, Gonçalves, 2024). O tratamento físico-químico pode garantir a hidrólise de grande parte da hemicelulose e o enfraquecimento das ligações de hidrogênio, desorganizando parcialmente a estrutura da celulose, e facilitando, assim, a ação das enzimas

para garantir a conversão máxima dos componentes da biomassa em açúcares fermentáveis (Ribeiro *et al.*, 2023).

Outra questão fundamental está associada à natureza da biomassa que será adotada para a produção de etanol 2G. Biomassas diferentes podem requerer abordagens tecnológicas diferentes.

No estado de Minas Gerais há diversas iniciativas de cultivo comercial da macaúba (*Acrocomia aculeata*) para a produção de óleo. A cultura da macaúba pode propiciar até 5 toneladas de óleo por hectare ao ano, contrapondo com as 0,4 a 0,8 t ha⁻¹ ano⁻¹ de óleo possíveis com a cultura da soja (Costa *et al.*, 2023). Da extração do óleo dos frutos da macaúba gera-se um resíduo, a torta ou farelo. Estima-se que poderão ser produzidas cerca de 3,5 toneladas de torta por hectare por ano (Silva *et al.*, 2023). A torta de macaúba é rica em carboidratos e proteínas e pode ser usada para a alimentação animal.

Neste trabalho, trabalhamos com a hipótese do uso potencial da torta de macaúba para a produção de etanol 1G e 2G e foi avaliado a combinação dos processos de hidrólise química e enzimática para a liberação eficiente dos açúcares presentes nas frações polissacarídicas desta biomassa.

2 - Material e Métodos

Obtenção e preparo da torta de macaúba

A torta de macaúba foi adquirida na Cooperativa de Agricultores do Vale do Riachão, em Montes Claros - MG. Após a aquisição, a torta de macaúba foi triturada em liquidificador semi-industrial e em seguida desengordurada por extração sólido-líquido, utilizando hexano como solvente, com razão de 1:2 (biomassa: solvente). Após secagem em estufa, a torta foi triturada em moinho de facas com malha de 2 mm e em seguida embalada em sacos de 3 kg e reservada protegida da luz à temperatura ambiente.

Caracterização centesimal da torta de macaúba

A torta de macaúba e os resíduos sólidos derivados dos processos hidrolíticos foram submetidos à caracterização química, em foram determinados os teores de lipídios totais, umidade, cinzas totais (AOAC, 1996), fibras em detergente ácido (FDA), fibras em detergente neutro (FDN), celulose, hemicelulose, lignina (Van Soest *et al.*, 1998), açúcares solúveis totais e amido (McCready *et al.*, 1950).

Preparação do hidrolisado quimioenzimático

O hidrolisado quimioenzimático da torta de macaúba foi produzido com base nas condições otimizadas por Santos (2011), utilizando uma razão sólido-líquido de 20% e H₂SO₄ a 3,5%, autoclavação a 120°C e 1 atm por 40 minutos. O hidrolisado (mistura heterogênea) teve seu pH ajustado para 5,2 e foi realizada uma etapa de hidrólise enzimática com adição de celulase (10 FPU g⁻¹) e amiloglucosidase (12,7 AGU g⁻¹), que foi conduzida a 50°C e 100 rpm por 24 horas. Em seguida, a mistura foi filtrada, separando-se uma fração sólida e outra líquida. A fração sólida foi caracterizada conforme já descrito para a torta de macaúba.

Caracterização química do hidrolisado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A fração solúvel dos hidrolisados ácido e quimioenzimático foi caracterizada quanto à concentração de D-xilose, D-glicose, ácido acético, furfural e 5-hidroximetilfurfural (HMF) através de cromatografia líquida de alta eficiência, com uso do sistema Shimadzu Prominence UPLC 20A, equipado com detectores de índice de refração (Modelo RID-20A, Shimadzu®) e UV-Vis (Modelo SPD-10AV, Shimadzu®), e com coluna Rezex ROA-H+ Phenomenex® (300 x 7,5 mm) mantida a 60°C, usando H₂SO₄ 0,0025 mol L⁻¹ como eluente e um vazão da fase móvel de 0,6 mL min⁻¹.

3 - Resultados e Discussão

Caracterização centesimal da torta de macaúba

Na Tabela 1 encontram-se os resultados da extração de lipídeos da torta de macaúba. Essa providência foi tomada em razão da grande quantidade de óleo residual encontrado na torta. Ainda assim, a eficiência da remoção de lipídeos foi de apenas 33,5%.

Tabela 1. Caracterização da torta de macaúba antes e após a extração de lipídios utilizando n-hexano

Parâmetros	Antes da extração (g 100g ⁻¹)	Após a extração (g 100g ⁻¹)
Umidade	5,5±0,5	9,6±0,2
Lipídeos	15,8±0,5	10,5±1,0

Os resultados apresentados na Tabela 2, mostram as quantidades de açúcares solúveis totais, polissacarídeos e lignina nas diferentes fases do processo hidrolítico. Nota-se que a torta de macaúba apresenta valor de carboidrato próximo de 69% em massa seca. Por essa razão, tal biomassa releva-se uma fonte importante de açúcares para a produção de etanol.

Tabela 2. Dinâmica quantitativa das frações de polissacarídeos da torta de macaúba antes e após os eventos hidrolíticos

Parâmetros	Torta de macaúba (g)#	Resíduo pós hidrólise ácida (g)	Resíduo pós hidrólise enzimática (g)
AST*	17,94±0,7	4,30±0,5	0,81±0,1
Amido	20,05±1,6	6,52±1,2	0,61±0,1
Hemicelulose	6,69±1,5	0,15±0,0	0,02±0,0
Celulose	29,16±0,8	24,26±0,8	6,97±0,1
Lignina	14,69±1,0	13,98±0,2	13,51±0,2

*AST: Açúcar solúvel total # para fins de cálculo foram considerados 100 g de torta de macaúba.

Os resultados obtidos para a hidrólise ácida revelaram que as quantidades de AST, amido e hemicelulose presentes originalmente em 100g de torta de macaúba foram reduzidas em 76,1%; 67,5% e 97,8%, respectivamente. Após a hidrólise quimioenzimática, foi observado que além de reduzir as quantidades de AST, amido e hemicelulose da torta de macaúba em 95,4%; 96,9% e 100%, respectivamente, também foi eficaz na remoção ou despolimerização da celulose em 76,1%. Estes resultados sugerem que a hidrólise quimioenzimática foi completamente eficiente para a despolimerização do amido e hemicelulose e, significativamente eficiente na desconstrução da celulose.

Caracterização química da fração solúvel dos hidrolisados

As concentrações de açúcares na fração solúvel, recuperada por filtração após a hidrólise ácida, foram de 24 g L⁻¹ de xilose e 20,2 g L⁻¹ de glicose. Já na fração solúvel produzida por hidrólise quimioenzimática, a concentração de xilose foi de 32,3 g L⁻¹ e a de glicose foi de 57,9 g L⁻¹. Os resultados obtidos revelam que a hidrólise quimioenzimática promoveu um aumento de 25,7% na concentração de xilose e de 65,2% na concentração de glicose em relação ao processo de hidrólise ácida. Juntos, esses dois monossacarídeos apresentaram concentração um pouco maior que 90 g L⁻¹.

Também foram encontrados no hidrolisado ácido a presença de 2,72 g L⁻¹ de ácido acético, 0,04 g L⁻¹ de furfural e 0,61 g L⁻¹ de 5-hidroximetilfurfural. Essas são substâncias reconhecidas como inibidoras do processo de sacarificação enzimática e ou da fermentação. Entretanto, para saber se as concentrações encontradas possuem esse efeito indesejado, precisaremos realizar ensaios de fermentabilidade dos hidrolisados obtidos.

Analisando os dados da Tabela 3, que mostra as quantidades de açúcares recuperados após cada processo hidrolítico, fica evidente que a hidrólise quimioenzimática foi muito mais eficiente. Entretanto, e especialmente considerando os valores de glicose, foi possível perceber que houve perda significativa da glicose durante os processos de filtração, provavelmente por adsorção aos resíduos sólidos, pois de acordo com a caracterização dos resíduos sólidos recuperados as quantidades de amido e celulose remanescentes foram de cerca de 3% e 24%, respectivamente. Isso significa que foi liberada uma quantidade equivalente a 41 gramas de glicose.

Tabela 3. Dinâmica quantitativa da fração solúvel nos hidrolisados da torta de macaúba

Parâmetros	Hidrolisado o ácido (g)#	Hidrolisado quimioenzimático (g)
Glicose	7,25±0,1	26,04±0,3
Xilose	9,05±0,1	13,35±1,2
Glicerol	1,80±0,0	2,23±0,0
Ácido acético	1,36±0,3	2,44±0,2
Furfural	0,05±0,0	0,03±0,0
HMF*	0,37±0,0	0,25±0,0

*HMF: Hidroximetilfurfural; # para fins de cálculo foram considerados 100 g de torta de macaúba.

4 - Conclusões

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que a torta de macaúba utilizada neste estudo é composta de cerca de 30% de celulose, 7% de hemicelulose e 20% de amido, o que é promissor para a produção de etanol 2G. Além disso, o hidrolisado quimioenzimático aumentou em 50% a conversão da biomassa em açúcares quando comparado com a hidrólise ácida, o que demonstra que a hidrólise quimioenzimática da

torta de macaúba apresenta potencial para a obtenção de açúcares fermentescíveis.

5 - Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), Instituto de Ciência e Tecnologia (ICT-UFVJM) e Programa de Pós – Graduação em Biocombustíveis – UFMG/UFU.

6 - Referências

- Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (method 900.02). Arlington A.O.A.C., chap. 44, p.3, 1996.
- Costa, L. G.; et al. Macaúba as a sustainable alternative for oil production and ecosystem recovery. *Journal of Cleaner Production*, v. 380, p. 137829, 2023. DOI: 10.1016/j.jclepro.2023.137829.
- Ghose, T. K. Measurement of cellulase activities. *Pure and Applied Chemistry*, International Union of Pure and Applied Chemistry, Great Britain, v. 59, n. 2, p. 257–268, 1987.
- McCready, R. M.; Guggolz, J.; Silveira, V.; Owens, H. S. Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical Chemistry*, v. 22, p. 156–158, 1950.
- Miller, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, [s.l.], v.31, p.426–428, 1959.
- Nargotra, P. et al. Microbial lignocellulolytic enzymes for the effective valorization of lignocellulosic biomass: a review. *Catalysts, Basel*, v. 13, n. 1, p. 83, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/catal13010083>.
- Ribeiro, C. A. L. B.; et al. The Brazilian ethanol industry: Current status and future perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 170, p. 113444, 2023.
- Saad, M. B. W.; Gonçalves, A. Lignocellulosics: a review of early and recent efforts to expand pretreatment systems and current challenges. *Biomass and Bioenergy*, 2024.

**4º WORKSHOP DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCOMBUSTÍVEIS
UFVJM-UFU**

Santos, H. T. L. Evaluation of macaúba cake as a substrate for bioethanol production. Dissertation (Master's) — Graduate Program in Chemistry, UFMG, 2011.

Santos, R.; et al. Macaúba: an overview of its potential and cultivation in Brazil. *Industrial Crops and Products*, v. 204, p. 125673, 2023. DOI: 10.1016/j.indcrop.2023.125673.

Silva, J. R.; et al. Potential of macaúba (*Acrocomia aculeata*) for biofuels and animal nutrition. *Renewable Energy*, v. 202, p. 210-220, 2023. DOI: 10.1016/j.renene.2023.04.045.

Van Soest, P. J. Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, v. 51, p. 780-785, 1968