

PRODUÇÃO DE ETANOL: ANÁLISE DO POTENCIAL DA SEMENTE SGGiovano Tochetto^{1*}, Letiére C. Soares^{2,3}, André L. Gallina⁴, Fernanda O. Lima^{2,5}

1. Estudante do curso de Química – Licenciatura da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *Campus Realeza*
2. Professor(a) da UFFS, *Campus Realeza*
3. Doutor em Química (Química Orgânica)
4. Doutor em Química (Físico-Química), professor do Centro de Desenvolvimento Educacional e Tecnológico de Guarapuava (Cedeteg) da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO)
5. Doutora em Ciências (Química Analítica)/Orientadora

Resumo

Neste trabalho, analisou-se o potencial da semente de SG (SSG), uma matéria-prima sem aplicações produtivas ou alimentícias, para a produção de etanol. Além de averiguar o potencial da SSG para a produção de etanol, a pesquisa teve como objetivos específicos: realizar uma caracterização da SSG; otimizar a hidrólise ácida dos carboidratos da SSG, empregando ácido sulfúrico; quantificar os açúcares redutores (ARs) obtidos pela hidrólise. Através da caracterização físico-química, observa-se que a maior parte dos carboidratos da SSG está na forma de polímeros. Consequentemente, existe a necessidade da realização de uma hidrólise ácida para a obtenção de ARs, e através da otimização dessa hidrólise ácida foi possível obter uma eficiência máxima de 254,10 mg de ARs por grama de SSG, confirmando assim o potencial da SSG para a produção de etanol.

Palavras-chave: Biocombustíveis; Resíduo; Hidrólise ácida.

Apoio financeiro: Fundação Araucária.

Trabalho selecionado para a JNIC: UFFS.

Introdução

O etanol é um biocombustível produzido geralmente pela fermentação de ARs presentes na biomassa. Existem duas gerações principais da produção do etanol: o de primeira geração, que utiliza matérias-primas ricas em ARs, como o milho e a cana-de-açúcar, e o de segunda geração, cujas matérias-primas, como a biomassa lignocelulósica, contém carboidratos mais complexos, que são transformados em ARs através da reação de hidrólise (ŁUKAJTIS et al., 2018), em um processo conhecido como sacarificação. Esse processo pode ser catalisado por ácidos inorgânicos ou enzimas, sendo o último mais eficiente, no entanto, mais oneroso (ŁUKAJTIS et al., 2018).

Neste contexto, novas matérias-primas para a produção de etanol são necessárias para suprir a crescente demanda energética mundial, especialmente matérias-primas de segunda geração que não possuam aplicações, principalmente no ramo alimentício. Com características promissoras, a SG (o nome é suprimido por questões de propriedade intelectual) é uma planta originária da Amazônia, de importância histórica na economia brasileira. No Brasil, há uma estrutura produtiva consolidada em função da SG, assim não são necessários grandes investimentos para viabilizar a produção de etanol a partir das sementes da planta. Cabe ressaltar que a SSG não é utilizada para nenhuma aplicação produtiva ou alimentícia até o momento.

Assim sendo, o objetivo principal deste trabalho foi averiguar o potencial da SSG para a produção de etanol de segunda geração, além de realizar a caracterização da SSG, otimizar o processo de hidrólise ácida dos carboidratos da SSG e mensurar o quantitativo de ARs produzidos.

Metodologia

A SSG foi fornecida pela empresa Kaiser Agro, que possui um acordo de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação com a UFFS e a UNICENTRO. As sementes foram abertas e as cascas descartadas. Em seguida, as nozes foram trituradas em um multiprocessador de bancada e armazenadas em um refrigerador. Todos os experimentos foram realizados nos laboratórios da UFFS, *Campus Realeza*.

Primeiramente, para a caracterização da SSG, foram realizadas a quantificação de cinzas totais, cinzas solúveis e insolúveis em água, umidade, proteínas, lipídios e de fibras (fibra bruta) conforme descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). Calculou-se também a proporção da fração glicídica, a qual é composta principalmente por féculas, amido, açúcares, resinas, ácidos orgânicos, polissacarídeos, dentre outros, subtraindo de 100% a soma de todas as outras frações. Foram quantificados os teores de açúcares redutores e não-redutores, sendo as amostras preparadas conforme descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) e a quantificação dos ARs feita conforme o método descrito por Miller (1959), com as recomendações de Vasconcelos, Pinto e Aragão (2013). Além disso, foi quantificado o teor de amido seguindo o protocolo proposto por Sivaci (2006), usando o método de Dubois et al. (1956) em substituição do método da Antrona na etapa final do protocolo.

Para a realização da hidrólise da SSG, foi escolhido o método da hidrólise ácida, tendo como

catalisador o ácido sulfúrico (H_2SO_4). Para analisar as melhores condições, foram realizados ensaios usando uma concentração fixa de SSG de 30 g/L em soluções de 1,0%; 2,5%; 5,0%; 7,5% e 10,0% de H_2SO_4 na temperatura de ebulição das soluções, com tempos de hidrólise de 15, 30 e 60 minutos, contados após ser alcançada a temperatura de ebulição. Após o aquecimento, os hidrolisados foram resfriados em banho de gelo e neutralizados com NaOH. Por fim, os ARs obtidos foram quantificados, sendo os resultados submetidos a uma análise estatística multivariada (ANOVA) utilizando o *software* Statística (2017), além de uma otimização por desejabilidade.

Resultados e Discussão

Após caracterização físico-química foi determinado que a SSG é composta, em sua massa total, de $2,96 \pm 0,04$ % de minerais (cinzas totais), fração que engloba, da massa total, $1,27 \pm 0,03$ % de cinzas insolúveis e $1,69 \pm 0,05$ % de cinzas solúveis; $3,46 \pm 0,02$ % de umidade; $15,53 \pm 0,09$ % de proteínas; $47,59 \pm 2,03$ % de lipídios; $21,47 \pm 1,06$ % de fibras totais; 8,99 % de fração glicídica, sendo que fazem parte da fração glicídica, em porcentagens da massa total, $2,13 \pm 0,08$ % de ARs; $5,19 \pm 0,16$ % de açúcares não-redutores e $0,98 \pm 0,01$ % de amido. Estes resultados são semelhantes a composição nutricional da noz Pecã, analisada por Oro et al. (2008) e escolhida para fins de comparação pela semelhança com a SSG, apesar de a SSG apresentar uma menor fração de lipídios e uma maior fração de fibras do que a noz Pecã.

Observando a composição da SSG, pode-se averiguar que a semente apresenta uma fração glicídica de porcentagem baixa em relação à massa total, de 8,99 %, com açúcares não-redutores e amido, representando a maior parte da fração. Em comparação com a fração glicídica, a porcentagem da fração de fibras da SSG foi mais alta, sendo que essa fração é composta principalmente por lignocelulose (IAL, 2008), que contém celulose e hemicelulose, os quais são polissacarídeos que podem ser hidrolisados e transformados em ARs. Por isso, a fração de fibras é uma possível fonte de carboidratos. Também, a SSG apresenta uma alta concentração de lipídios ($47,59 \pm 2,03$ %) em relação à sua massa total, sendo esta a fração majoritária.

Em relação à análise estatística da hidrólise ácida, utilizou-se a técnica de soma quadrática para análise de um modelo matemático, que no caso foi quadrático com interações. A análise de variância (ANOVA) para este modelo pode ser observada na tabela 1. O modelo matemático não apresenta falta de ajuste e explicou 99,52 % dos resultados observados, sendo que a porcentagem máxima explicada por este modelo é de 99,81 %.

Tabela 1: ANOVA do modelo matemático da hidrólise ácida

<i>Fator</i>	<i>SQ</i>	<i>GL</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Concentração Ácida (L)	5288,383	1	5288,383	618,1170	0,001614
Concentração Ácida (Q)	2611,442	1	2611,442	305,2307	0,003260
Tempo (L)	282,495	1	282,495	33,0186	0,028976
Tempo (Q)	2,919	1	2,919	0,3412	0,618255
Concentração (L) e Tempo (L)	1012,194	1	1012,194	118,3073	0,008347
Falta de ajuste	62,172	3	20,724	2,4223	0,305583
Erro puro	17,111	2	8,556		
<i>SQ Total</i>	9426,729	10			

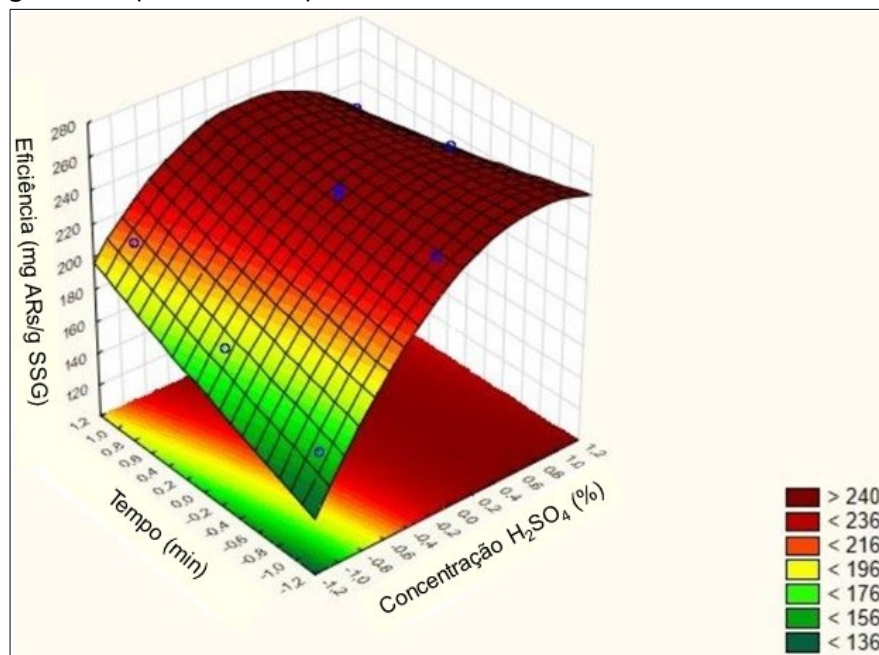
Fonte: Autoria própria, 2022.

Para o modelo, foram consideradas como variáveis significativas as que apresentaram valores de *p* menores que 0,05, com 95% de certeza (negrito na tabela). A concentração ácida (termos linear (L) e quadrático (Q)), e o Tempo (termo linear (L)) foram considerados significativos, além da correlação entre essas variáveis. Pode-se afirmar que o fator mais significativo foi a concentração ácida, sugerindo que a reação de hidrólise é influenciada, principalmente pela concentração do ácido, indicando que a eficiência aumenta com o aumento da concentração de ácido. A importância do Tempo no processo está relacionada com o tempo de contato do substrato com a solução ácida, ou seja, quanto maior o tempo, maior o progresso da hidrólise. Já a interação entre as duas variáveis indica que uma mudança em uma das variáveis necessita de uma mudança na outra para a manutenção da eficiência da reação.

Com os resultados dos ensaios de otimização foi construída uma superfície de resposta, apresentada na figura 1. Como pode-se observar, a eficiência da hidrólise, dada em mg ARs produzidos por g de SSG hidrolisada (mg ARs/g SSG), aumenta conforme o tempo (min) (com valores codificados de -1,0; 0,0 e 1,0 significando 15, 30 e 60 min, respectivamente) e a concentração de H_2SO_4 (% v/v) (com valores codificados de -1,0; 0,0 e 1,0 significando 0%, 5% e 10%, respectivamente), aumentam. Isso se mantém até serem atingidos valores de eficiência superiores a 240 mg ARs/g SSG e, a partir deste ponto, a eficiência reduz conforme a concentração e o tempo continuam a aumentar. Isso pode ser explicado pelo fato de a reação de hidrólise passar a decompor os ARs produzidos, após consumir todos os açúcares estruturais, em condições severas de

reação (KUPIAINEN, AHOLA, TANSKANEN, 2014).

Figura 1: Superfície de resposta dos resultados dos ensaios de hidrólise ácida



Fonte: Autoria própria, 2022, usando o *software* Statistica (2017).

Após este estudo estatístico foram calculadas, através de função desejabilidade no *software* Statistica (2017), as condições necessárias para obter a maior eficiência possível. As condições teóricas ótimas foram: concentração ácida de 7% de H_2SO_4 , por 60 minutos em temperatura de ebulição. Segundo os cálculos, nessas condições seria obtido uma eficiência de 254,10 mg ARs/g SSG. Então realizou-se um ensaio experimental, em triplicata, e a média obtida foi de $252,52 \pm 5,38$ mg ARs/g SSG, confirmando as previsões e mostrando a robustez do modelo desenvolvido.

Esses resultados demonstram o potencial da SSG para a extração de ARs e para a produção de etanol. Diversos outros trabalhos, sobre outras matérias-primas, obtiveram resultados menores. Por exemplo, Santos et al. (2014) otimizaram a hidrólise catalisada por H_2SO_4 de bolo de sementes, após extração de óleo, de *Jatropha curcas*. Nas condições otimizadas (H_2SO_4 3 %, 20 min, 119 °C), obtiveram uma eficiência de 71,7 mg ARs/g hidrolisada. Também, Moutta et al. (2012) otimizaram a hidrólise catalisada por H_2SO_4 de folhas de cana-de-açúcar e, nas condições otimizadas (H_2SO_4 2,9 % p/v, 30 min, 130 °C, razão sólido:líquido de 1:4) conseguiram uma eficiência de 304 mg ARs/g de folha, enquanto Mutripah et al. (2013) otimizaram a hidrólise com ácido sulfúrico da alga marinha *Palmaria palmata* e, nas condições otimizadas (H_2SO_4 0,4 M, 25 min, 125 °C), alcançaram uma eficiência de 218,4 mg ARs/g de alga, resultados similares aos do presente trabalho, apesar de existirem certas diferenças em relação aos métodos desses trabalhos, especialmente o fato das hidrólises terem ocorrido em pressões elevadas, permitindo temperaturas maiores e, potencialmente, tempos menores.

Em relação a quantidade de etanol que pode ser produzida pelo processo descrito, a massa de etanol resultante da fermentação equivale, teoricamente, a 51,1% da massa de glicose consumida (coeficiente de Gay-Lussac) (ILHA et al., 2008, apud JACKMAN, 1988). Considerando a obtenção de 254,10 mg de ARs por g de SSG, será possível produzir 129,59 g de etanol por kg de SSG. Na prática, por questões de eficiência de fermentação, pode ser que a produção seja menor do que a esperada. Outros autores obtiveram menos etanol do que teoricamente possível: Santos et al. (2014) obtiveram um rendimento de 24,0 até 30,4 g de etanol por kg de *Jatropha curcas* (71,7 g de ARs/kg); Mutripah et al. (2013) conseguiram 15,7 g de etanol por kg de *Palmaria palmata* (218 g de ARs/kg); Mahmoodi, Karimi e Taherzadeh (2018) obtiveram 21 g de etanol por kg de fração orgânica de lixo sólido municipal após hidrólise ácida (H_2SO_4 1 %, 60 min, 130 °C).

Conclusões

Neste trabalho foi realizada a caracterização da SSG e a otimização de um processo de hidrólise ácida utilizando da mesma, buscando a obtenção da maior quantidade possível de ARs, com o objetivo de averiguar o potencial da SSG para a produção de etanol.

Em relação a caracterização físico-química da SSG, as mais notáveis conclusões foram a alta concentração de lipídios, a alta concentração de fibras totais e a pequena fração glicídica em relação à massa total da SSG, sendo que a fração de ARs também compõe menos da metade da fração glicídica. Assim sendo, como a maior parte dos carboidratos na SSG está na forma de polímeros, é justificada e necessária a realização da hidrólise ácida para a obtenção de ARs em quantidades aceitáveis para a produção de etanol a partir da mesma.

Já em relação a otimização da hidrólise ácida, foi concluído a partir da ANOVA que os parâmetros mais importantes para a eficiência são a concentração ácida, o tempo e a correlação entre os dois. Também, por

meio do uso da função desejabilidade foi possível determinar que a hidrólise com H₂SO₄ da SSG tem sua maior eficiência, teoricamente de 254,10 mg ARs/g SSG, utilizando uma solução de H₂SO₄ 7% v/v, aquecida por 60 minutos em temperatura de ebulição. Essas previsões foram confirmadas pela realização de um ensaio em triplicata nas condições ótimas, cujo resultado foi de 252,52 ± 5,38 mg ARs/g SSG. Considerando rendimento máximo numa fermentação e que todos os ARs sejam glicose, o rendimento teórico de etanol é de 129,59 g de etanol por kg de SSG.

Levando em consideração o exposto, conclui-se que a SSG possui potencial para a produção de etanol. Os próximos passos da pesquisa serão a otimização das condições de fermentação dos ARs obtidos da SSG, buscando a maior produção de etanol possível. Se for obtido êxito na otimização da fermentação e consequentemente na produção de etanol, o processo de hidrólise e fermentação poderá ser adaptado para uma escala industrial, gerando empregos, contribuindo para a solução da questão energética mundial e aumentando a competitividade da cultura da SG, que já gera outros importantes produtos para a economia brasileira e mundial.

Referências bibliográficas

DUBOIS, Michel et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: IAL, 2008. 1018p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf> Acesso em 18 de fevereiro de 2022.

ILHA, Eunice Cassanego et al. Rendimento e eficiência da fermentação alcoólica na produção de hidromel. **Embrapa Pantanal-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2008.

KUPIAINEN, Laura; AHOLA, Juha; TANSKANEN, Juha. Kinetics of formic acid-catalyzed cellulose hydrolysis. **BioResources**, v. 9, n. 2, p. 2645-2658, 2014.

ŁUKAJTIS, Rafał et al. Comparison and optimization of saccharification conditions of alkaline pretreated triticale straw for acid and enzymatic hydrolysis followed by ethanol fermentation. **Energies**, v. 11, n. 3, p. 639, 2018.

MAHMOODI, Peyman; KARIMI, Keikhosro; TAHERZADEH, Mohammad J. Efficient conversion of municipal solid waste to biofuel by simultaneous dilute-acid hydrolysis of starch and pretreatment of lignocelluloses. **Energy conversion and management**, v. 166, p. 569-578, 2018.

MILLER, Gail Lorenz. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MOUTTA, R. O. et al. Statistical optimization of sugarcane leaves hydrolysis into simple sugars by dilute sulfuric acid catalyzed process. **Sugar Tech**, v. 14, n. 1, p. 53-60, 2012.

MUTRIPAH, Siti et al. Bioethanol production from the hydrolysate of *Palmaria palmata* using sulfuric acid and fermentation with brewer's yeast. **Journal of applied phycology**, v. 26, n. 1, p. 687-693, 2013.

ORO, Tatiana et al. Evaluación de la calidad durante el almacenamiento de nueces Pecán [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] acondicionadas en diferentes envases. **Grasas y Aceites**, v. 59, n. 02, p. 132-138, 2008.

SANTOS, Ricardo Salviano dos et al. Bioethanol from *Jatropha* seed cakes produced by acid hydrolysis followed by fermentation with baker's yeast. **International Journal of Applied Science and Technology**, v. 4, n. 4, p. 113, 2014.

SIVACI, Aysel. Seasonal changes of total carbohydrate contents in three varieties of apple (*Malus sylvestris* Miller) stem cuttings. **Scientia Horticulturae**, v. 109, n. 3, p. 234-237, 2006.

TIBCO. **Statistica**. Versão 13.3. [Palo Alto]: TIBCO, 2017.

VASCONCELOS, N. M.; PINTO, G. A. S.; ARAGÃO, F. A. de S. Determinação de açúcares redutores pelo ácido 3, 5-dinitrosalicílico: histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos. **Embrapa Agroindústria Tropical-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2013.