

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA BIOMASSA DE MILHO PARA OBTENÇÃO DE AÇÚCARES FERMENTESCÍVEIS

AURIANE BUENO^{1,2}, ALINE P. DRESCH^{2,3}, GUILHERME M. MIBIELLI², JOÃO P. BENDER^{2,4}

1 Introdução

A busca por alternativas renováveis de energia vem crescendo, sendo motivada principalmente pelo consumo excessivo de combustíveis fósseis e pela preocupação mundial em reduzir as emissões geradas na queima desses combustíveis, que resultam em severos danos ambientais. Uma alternativa limpa, capaz de substituir as fontes derivadas do petróleo, são os biocombustíveis obtidos a partir de biomassas lignocelulósicas (CARVALHO, 2016).

O desenvolvimento de um processo que disponibilize os açúcares presentes no resíduo lignocelulósico, para uma posterior conversão em etanol, passa pelo estudo da etapa de hidrólise enzimática da biomassa (RABELO, 2010). Dessa forma, o sucesso da produção de etanol de segunda geração a partir de resíduos, como o proveniente da colheita do milho, depende da quantidade de açúcares fermentescíveis disponibilizados após a etapa de hidrólise, os quais serão posteriormente fermentados, originando o etanol de segunda geração.

2 Objetivos

O objetivo desta pesquisa foi estudar a reação de hidrólise da biomassa de milho, visando maximizar a obtenção de açúcares fermentescíveis, para posterior produção de etanol.

3 Metodologia

A biomassa empregada nesse estudo é proveniente das áreas experimentais da Universidade Federal da Fronteira Sul – *Campus* Chapecó, e corresponde ao híbrido do milho DKB 177 Pro 2. A mesma foi secada em estufa a 50°C, triturada em moinho de facas e submetida a testes de hidrólise enzimática.

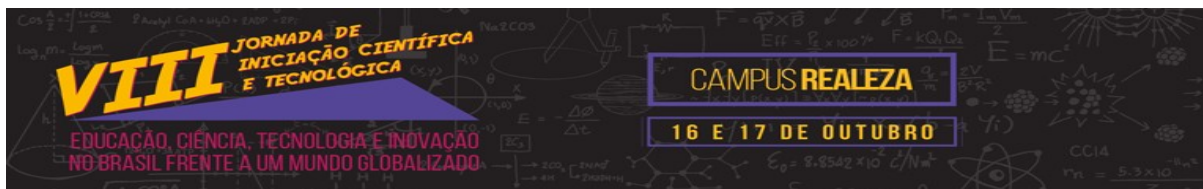
Inicialmente realizou-se uma cinética de hidrólise, partindo-se de condições ótimas de

¹Discente, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó, **Bolsista** contato: auriaane.bueno@gmail.com

²Grupo de Pesquisa em Processos Enzimáticos e Microbiológicos (GPPEM)

³Discente, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó

⁴Docente, Universidade Federal da Fronteira Sul, **Orientador**.



pré-tratamento obtidas em trabalhos anteriores do grupo de pesquisa. As concentrações, em percentual, dos complexos enzimáticos utilizados Ctec2/Htec2 foram de 2,0/0,5 % (m/m em relação à biomassa seca). Os períodos avaliados de hidrólise foram de 4, 8, 12, 16, 20, 24, 36, 48 e 72 horas, com 24 horas de pré-tratamento.

Posteriormente, visando à redução do tempo de pré-tratamento, e diminuição dos custos energéticos, realizou-se uma nova cinética de hidrólise, alterando o tempo de pré-tratamento para 12 horas, seguindo as mesmas condições operacionais supracitadas.

Para avaliar a influência da concentração dos dois complexos enzimáticos utilizados, realizou-se um planejamento fatorial completo, com dois níveis e duas variáveis (2^2), conforme Tabela 1. Para esse teste as amostras passaram por um pré-tratamento de 12 horas e hidrólise enzimática de 24 horas.

Em todos os ensaios, preparam-se amostras com 20 g de biomassa, juntamente com uma solução de 200 mL contendo 0,2 g de hidróxido de cálcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$)/g de biomassa. Os frascos foram colocados em incubadora SHAKER SL – 223, a 70°C e 200 rpm, para pré-tratamento, pelo período estabelecido em cada um dos testes.

Posteriormente, as amostras foram neutralizadas com uma solução de ácido cítrico (1 M) até atingir a faixa de pH ótimo das enzimas, entre 5 e 5,5. As enzimas, diluídas 1:10 em tampão acetato (0,05 mol/L e pH: 4,8), foram adicionadas de acordo com a porcentagem estabelecida para cada ensaio. Os frascos foram novamente colocados em shaker, a 50°C e 200 rpm. Após retiradas, a determinação da concentração de Açúcares Redutores Totais (ART) nas amostras seguiu o método DNS, enquanto que a determinação de carboidratos e inibidores foi realizada pela utilização de CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência).

4 Resultados e Discussão

Os resultados obtidos nos testes cinéticos, com período de pré-tratamento de 12 e 24 horas, são apresentados na Figura 1(a) e Figura 1 (b), respectivamente.

Para ambos os testes, é possível perceber certa linearidade no rendimento de açúcares após as 24 horas de hidrólise. Ainda, levando em consideração os erros experimentais dos ensaios, é possível considerar, a partir do teste de Tukey, com 95% de confiança, que as médias obtidas nos pré-tratamentos de 24 e 12 horas, são iguais. Assim, em se tratando do processo de pré-tratamento, considerando a equivalência entre os resultados e, combinando notável conversão em açúcares com menor gasto energético, estabeleceu-se o pré-tratamento

como sendo de 12 horas, seguido de 24 horas de hidrólise enzimática.

Na Figura 2 (a) são apresentados os resultados obtidos no planejamento experimental para a concentração dos complexos enzimáticos. É possível perceber que os pontos de maior rendimentos são referentes aos ensaios 4, 5 e 3, respectivamente.

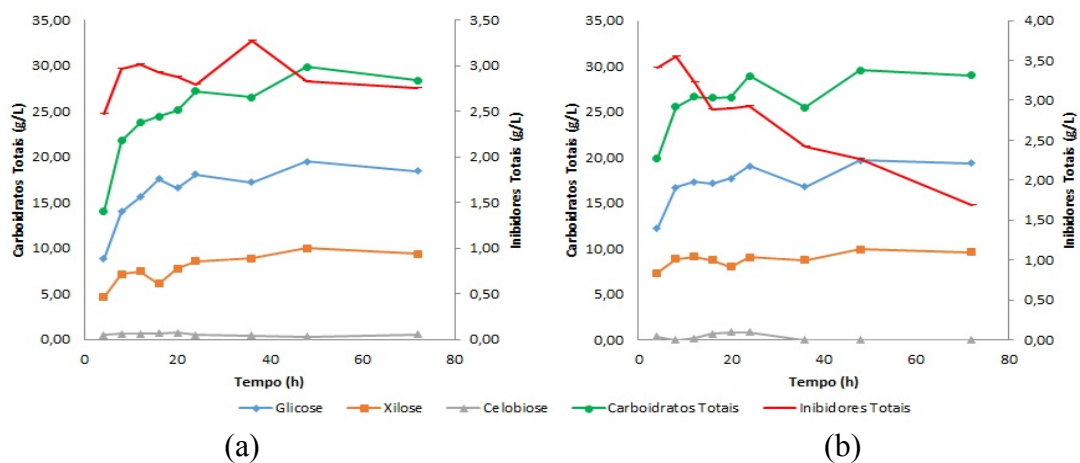
Na Figura 2 (b) é apresentada a superfície de resposta para a variação dos percentuais enzimáticos. Pode-se verificar que o efeito da variável concentração da enzima Ctec2 é muito maior que o efeito variável concentração da enzima Htec2, demonstrando que a região de máximo rendimento está situada na condição 3,3% de Ctec2 e 0,8% de Htec2.

Assim, combinando um bom rendimento em açúcar com um menor custo, a melhor condição para a porcentagem enzimática é o ponto central do planejamento experimental, com adição de 2% da enzima Ctec e 0,5% da enzima Htec.

5 Conclusão

Os resultados demonstram o grande potencial de conversão do resíduo proveniente do plantio do milho, em açúcares que podem posteriormente ser fermentados para a produção de etanol. Para essa conversão, através dos ensaios realizados, foi possível reduzir o tempo de pré-tratamento de 48 para 12 horas, assim como o tempo da hidrólise enzimática, que passou de 72 para 24 horas, diminuindo o custo energético e conseqüentemente o valor do produto final.

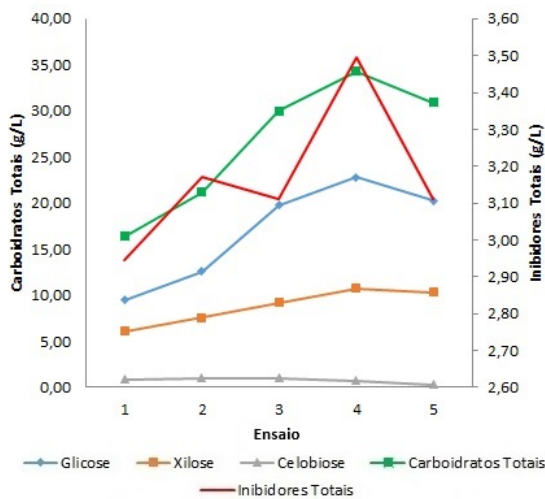
Figura 1. Rendimento em açúcares e produção de inibidores após hidrólise enzimática, com pré-tratamento de 12 (a) e 24 horas (b)



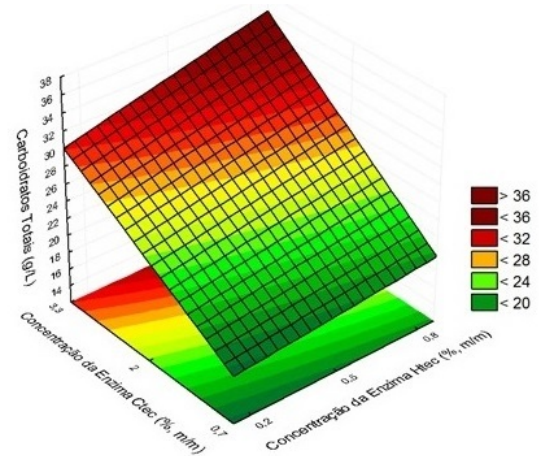
Fonte: Próprios autores

Figura 2. (a) Rendimento em açúcares e produção de inibidores e (b) superfície de resposta

para variação na concentração das enzimas Ctec e Htec



(a)



(b)

Fonte: Próprios autores

Tabela 1. Matriz do planejamento experimental completo (2²)

Ensaio	% enzima Htec (% massa de enzima/massa de biomassa)	% enzima Ctec (% massa de enzima/massa de biomassa)
1	0,2 (-1)	0,7 (-1)
2	0,8 (+1)	0,7 (-1)
3	0,2 (-1)	3,3 (+1)
4	0,8 (+1)	3,3 (+1)
5	0,5 (0)	2,0 (0)

Fonte: Próprios autores

Referências

RABELO, Sarita Cândida. **Avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração.** 2010. 447 f. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2010.

CARVALHO, Lívia Luísa Melo de. **Estudo da hidrólise e fermentação de resíduos de milho (*zea mays*) para produção de etanol de segunda geração.** 2016. 67 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Maceió – AL, 2016.

Palavras-chave: biomassa lignocelulósica; hidrólise enzimática; resíduo; bioetanol

Financiamento: PIBITI/CNPq, Edital 398/UFFS/2017