Determinação de açúcares fermentáveis em amostras de *Pinus sp.*, mandioca e cascas e farelo de soja como possibilidade para produção de bioetanol

VELOSO, Jhonatan Marques
DETOGNI, Maxsuillian Raimundo
BATISTA, Silvia Letícia Da Fonseca
BRANDL, Cândida
GIUSTI, Edneia Durli
AQUINO, Lucas Emanoel do Nascimento
GOMES, Sandra Inês Adams Angnes

Resumo

Com intensificação de uso do etanol, buscar formas alternativas, sustentáveis e novas tecnologias de obtenção se torna uma necessidade. Desse modo, o etanol obtido pela fermentação de açúcares comumente extraídos da cana-de-açúcar, pode ser obtido de materiais ricos em carboidratos, como grãos e leguminosas e a celulose. O processo fermentativo se diferencia da cana-de-açúcar, ou seja, primeiramente é necessário hidrolisar os carboidratos ou celulose da biomassa para a produção de açúcares. Nesse contexto, neste trabalho utilizou-se como matérias-primas Cascas de *Pinus sp.*, mandioca, cascas de mandioca e farelo de soja, abundantes na Região Sudoeste do Paraná, para investigar o teor de açúcares nessas amostras. Com este fim, adaptou-se o processo de hidrólise ácida para a quebra da celulose e de carboidratos em unidades de glicose. Os resultados apontam que as biomassas de Mandioca (24,00±0,04%), casca da mandioca (13,35±0,04%) farelo de soja (15,93±0,02%) e *Pinus sp.* (8,65±0,038%) são boas candidatas para a utilização na produção de etanol dadas as quantidades consideráveis de açúcares fermentáveis presentes nas amostras.

Palavras-chave: Etanol celulósico; Hidrólise ácida; Biomassa; Sustentabilidade.

Abstract

With the increasing use of ethanol, the search for alternative, sustainable methods and new production technologies has become essential. Thus, ethanol obtained by fermentation of sugars commonly extracted from sugarcane can also be produced from carbohydrate-rich materials such as grains, legumes, and cellulose. The fermentation process differs from that of sugarcane in that it first requires the hydrolysis of carbohydrates or biomass cellulose to release sugars. In this context, this study used *Pinus* sp. bark, cassava, cassava peels, and soybean meal—materials abundant in the Southwest region of Paraná, Brazil—as raw materials to investigate their sugar content. For this purpose, the acid hydrolysis process was adapted to break down cellulose and carbohydrates into glucose units. The results indicate that cassava (24.00±0.04%), cassava peel (13.35±0.04%), soybean meal (15.93±0.02%), and *Pinus* sp. bark (8.65±0.038%) are promising candidates for ethanol production due to the considerable amounts of fermentable sugars present in the samples.

Keywords: Cellulosic ethanol; Acid hydrolysis; Biomass; Sustainability.

Resumen

Con la intensificación del uso del etanol, se vuelve necesario buscar formas alternativas y sostenibles, así como nuevas tecnologías de producción. De este modo, el etanol obtenido por fermentación de azúcares, comúnmente extraídos de la caña de azúcar, también puede producirse a partir de materiales ricos en carbohidratos, como granos, legumbres y celulosa. El proceso fermentativo se diferencia del de la caña de azúcar en que, primeramente, es necesario hidrolizar los carbohidratos o la celulosa de la biomasa para liberar los azúcares. En este contexto, este trabajo utilizó como materias primas corteza de *Pinus* sp., mandioca, cáscara de mandioca y salvado de soya, materiales abundantes en la región Suroeste de Paraná (Brasil), para investigar el contenido de azúcares en dichas muestras. Para ello, se adaptó el proceso de hidrólisis ácida con el fin de romper la celulosa y los carbohidratos en unidades de glucosa. Los resultados indican que la mandioca (24,00±0,04%), la cáscara de mandioca (13,35±0,04%), el salvado de soya (15,93±0,02%) y la corteza de *Pinus* sp. (8,65±0,038%) son candidatas prometedoras para la producción de etanol, dadas las cantidades considerables de azúcares fermentables presentes en las muestras.

Palabras clave: Etanol celulósico; Hidrólisis ácida; Biomasa; Sostenibilidad.

INTRODUÇÃO

Uma das preocupações do mundo atual é com o suprimento de energia nas próximas décadas, uma vez que a principal fonte de energia utilizada hoje é o petróleo, combustível fóssil e não renovável. Em vista disso, outras formas de energias renováveis surgem para reduzir o uso de petróleo com o objetivo de diminuir a poluição ambiental. (Bastos, 2007; Silva; Shayani; Oliveira, 2018).

O etanol vem sendo considerado uma alternativa para diminuir problemas ambientais e energéticos a nível global, em razão da escassez e alta dos preços dos combustíveis fosseis e suas características poluentes (Araújo *et al.,* 2013; Nunes, 2017; Pacheco, 2011). O etanol possui baixa toxidade, não contém enxofre em sua composição e tem menor reatividade fotoquímica que os hidrocarbonetos do diesel e da gasolina e um teor de 34,7% de oxigênio em sua composição. Dessa forma, quando comparado com o diesel e gasolina, exige menor relação ar/combustível, gerando emissões menores de monóxido e dióxido de carbono (Schwarz, 2004).

Com intensificação do uso de etanol combustível, buscar formas alternativas de obtenção se tornou uma necessidade eminente (Ortega, 2006). O etanol é obtido pela fermentação de açúcares que comumente são extraídos da cana-de-açúcar. Entretanto, há outras matérias ricas em carboidratos, como grãos, leguminosas e a celulose, que podem ser utilizados como fonte de açúcares fermentáveis para produção de álcool etílico (Aquino *et al.,* 2014; Martins, 2015). O processo fermentativo difere da fermentação da cana-de-açúcar, é realizado por meio de hidrólise dos carboidratos e da celulose. O processo de hidrólise pode ser enzimático ou hidrólise através de ácidos ou bases (Martins, 2015).

Nesse contexto, o crescimento do consumo de energia tem despertado interesse na conversão de biomassa em energia, em especial que seja também economicamente viável (Ortega, 2006). Embora no Brasil o uso da cana-de-açúcar na produção do etanol seja bem-sucedida, a utilização de resíduos agrícolas e outras fontes alternativas de substratos pode ser interessante no processo de obtenção de combustíveis renováveis, como o bioetanol, que tem ganhado grande interesse, principalmente se associado à indústria já existente (Ferronato, 2017; Gomes, 2014).

De acordo com Pacheco (2011), diante da perspectiva de um aumento significativo na demanda por etanol e da necessidade de evitar a competição pelo uso da terra para a geração de energia e produção de alimentos, especialmente em regiões que não dispõem de clima favorável ou

extensão territorial para o cultivo, torna-se cada vez mais necessário investir no desenvolvimento de tecnologias de segunda geração de produção de etanol.

Nesse cenário, tecnologias capazes de melhorar o desempenho da produção de bioetanol ganham importância fundamental no país (Pacheco, 2011). Tendo isso em vista, este trabalho teve como objetivo investigar diferentes fontes de carboidratos para produção de etanol lignocelulósico a partir da conversão da celulose e hemicelulose em etanol, uma tecnologia de segunda geração. Nesse sentido, o trabalho aborda possibilidades e metodologias para aproveitamento de resíduos de *Pinus sp.*, mandioca e farelo de soja para a produção de bioetanol, uma vez que esta nova geração de combustível apresenta vantagens ambientais e econômicas.

A produção de Etanol com Biomassa Alternativa

A produção brasileira de etanol de cana-de-açúcar é um dos mais bem sucedidos programas de combustíveis alternativos já desenvolvidos no planeta. Em 2009, o Brasil era considerado o segundo maior produtor de etanol do mundo, e ainda é o único país do mundo que dispõe uma ampla frota de veículos bicombustíveis.

A importância econômica da indústria alcooleira no Brasil está diretamente ligada à indústria da cana-de-açúcar. Tanto a indústria alcooleira quanto a indústria açucareira se desenvolveram lado a lado, pois foram os primeiros tipos de indústrias manufatureiras implantadas no Brasil, sendo possível encontrá-las praticamente em todo o país (Lima, 1975).

Apesar da cana-de-açúcar ser a matéria-prima majoritária no processo de produção de etanol, qualquer produto que se constitua de açúcar ou outro carboidrato é uma fonte em potencial para obtenção do etanol, como matérias açucaradas agrupando cana, beterraba, frutas e outros. Também temos matérias amiláceas e feculentas como amido de grãos, a fécula de raízes e tubérculos. E, por fim, materiais celulósicos que incluem palhas, madeiras, resíduas agrícolas e outros (Lima, 1975).

Uma das principais matérias-primas usada para produção do etanol celulósico é a biomassa composta pelos rejeitos e resíduos das colheitas e do processamento de vegetais, que geralmente não é reaproveitada para alimentação humana e animal ou para outras finalidades (Shreve, 2008).

Dentre as possibilidades de biomassa para produção de bioetanol, nesse trabalho dá-se destaque a mandioca, farelo de soja e ao resíduo de madeiras, o *Pinus sp.* A mandioca é um dos recursos naturais renováveis que são cultivados em muitos países, sendo o sexto produto alimentar

da humanidade, em volume de produção. As cascas geralmente são descartadas na natureza como resíduo ou destinadas ao consumo animal. Entretanto, este resíduo dispõe de uma boa carga de amido que poderia ser utilizada no processo de obtenção de açúcares redutores, gerando uma economia pela autossuficiência de produção de álcool (Chielle, 2005; Reis, 1987).

Outra fonte rica em carboidratos, de acordo com Silva *et al.* (2006) e Runho (2001) é o farelo de soja, resíduo gerado da prensagem da soja na produção de óleo e geralmente empregado em rações animais. Segundo os autores a composição química e valor proteico do resíduo de soja apresenta 33,10 % de carboidratos, 46,7 % de proteínas, 1,67 % de lipídeos.

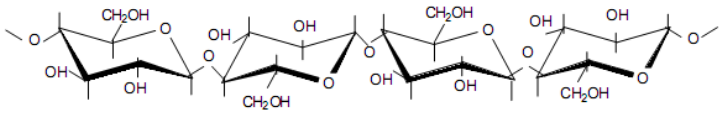
Segundo a Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas (ABRAF, 2012), 0,88% do solo brasileiro está ocupado com plantações de cana-de-açúcar, a principal matéria prima para a produção de etanol, vindo logo atrás ocupando 0,74% do solo brasileiro as florestas plantadas com inúmeras variedades de *Pinus* e eucalipto. O Paraná vem em terceiro lugar em florestas plantadas com *Pinus* e eucalipto no Brasil, sendo a sua maioria *Pinus*.

Segundo Klock, Muniz, Andrade (2005), as indústrias madeireiras, geram grandes quantidades de resíduos. Estes resíduos possuem entre 40 a 50% de celulose, sendo uma possível fonte alternativa para geração de açúcares fermentáveis para a fabricação de etanol.

A celulose é o principal constituinte da parede das células vegetais e é, quantitativamente, o composto orgânico mais abundante no planeta: estima-se que mais de 50% do carbono da biosfera esteja presente nas moléculas de celulose (Lehninger, 2002). Assim, o etanol celulósico (Ceetol) ou etanol de lignocelulose é obtido a partir da quebra das cadeias da celulose, hemicelulose e pectina, polímeros que constituem a estrutura fibrosa dos vegetais, através de reações químicas ou bioquímicas (Pacheco, 2011; Shreve, 2008).

De acordo com Lehninger (2002), é um polissacarídeo que se apresenta como um polímero de cadeia linear e não ramificado, de 10 a 15 mil unidades de D-glicose apresentando configuração β, assim formando ligações glicosídicas do tipo β1>4, Figura 1.

Figura 1: Fórmula estereoquímica da celulose



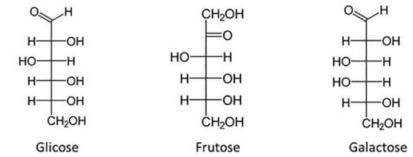
Fonte: Lehninger (2002).

A hidrólise da celulose fornece açúcares que são comercialmente recuperáveis para fins diversos como para produção de leveduras, ou ainda para fermentação e obtenção de etanol. Nesses processos os custos dos ácidos são fatores importantes, e são geralmente utilizados ácidos diluídos a baixas concentrações (Andrade, 2005; Barcza, 2009; Lehninger, 2002).

Já os hidratos de carbono, ou carboidratos se caracterizam por conterem uma função cetona ou aldeído e dois ou mais grupos hidroxila unidos a uma cadeia de átomos de carbono, podem ser classificados em monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos (Lehninger, 2002).

Os monossacarídeos ou açúcares simples são, geralmente, de sabor adocicado e podem ser constituídos de três, quatro, cinco ou seis átomos de carbono, denominadas trioses, tetroses, pentoses e hexoses (Figura 2), respectivamente (Lehninger, 2002).

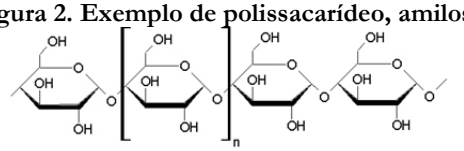
Figura 1. Exemplo de monossacarídeos



Fonte: Lehninger (2002).

Os polissacarídeos são formados por mais de 20 unidades de monossacarídeos ligadas entre si, podemos citar os mais comumente estudados sendo o amido e a celulose (Figura 3).

Figura 2. Exemplo de polissacarídeo, amilose



Fonte: Fonte: Lehninger (2002).

O amido pertence à classe dos carboidratos, é um polissacarídeo, formado por meio da união de várias unidades de D-glicose. Sendo a principal fonte de armazenamento de energia nas plantas, está presente em frutos, tubérculos, sementes e raízes. Sendo constituído por duas moléculas de polissacarídeos ligeiramente diferentes, amilose e amilopectina, que somente podem ser evidenciados após solubilização e separação dos grânulos. Vale mencionar que o amido é o maior constituinte de batatas, ervilhas, feijões, arroz, milho, mandioca e farinha (Bruice, 2006).

Considerando que o etanol pode ser produzido a partir de celulose e carboidratos presentes em diferentes matérias-primas, por exemplo em resíduos vegetais, este trabalho apresenta uma metodologia para a caracterização e quantificação dos açúcares presentes nas amostras de

Pinus sp., mandioca, cascas de mandioca e farelo de soja, como possibilidade para produção de etanol celulósico.

DESENVOLVIMENTO

Todos os experimentos foram realizados em triplicata independente (n = 3). Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão (DP). A média foi obtida a partir dos valores individuais de cada repetição, enquanto o desvio padrão foi calculado para representar a dispersão dos dados em relação à média. Este procedimento visa garantir a reprodutibilidade e a confiabilidade dos resultados obtidos.

Coleta e Preparo das Amostras de *Pinus sp.*, Mandioca e Farelo de Soja

Os cavacos (restos de madeira de troncos e galhos, casca da árvore devidamente moídos), foram fornecidos pela empresa madeireira Odilon Scopel ME Indústria de Compensados, localizada na região de Palmas, sul do estado do Paraná. As amostras de mandioca foram adquiridas na empresa, Aipim Congelado, Oracílio de Souza, na cidade de Palmas, Paraná. O farelo de soja foi fornecido pela empresa Santa Rosa, do município de Clevelândia, Paraná. Todas as amostras foram previamente secas a 105ºC.

Descristalização da Celulose

Para o preparo das amostras seguiu-se a metodologia proposta pela Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Fichas para Prática de Análises Químicas da Madeira (2008):

- 1ª etapa: Coletou-se um volume considerável do material a ser analisado;

- 2ª etapa: A umidade foi determinada considerando a massa da amostra úmida e a amostra seca por vinte e quatro horas em estufa a temperatura de 105ºC**,** por meio do cálculo: $RS = {}^{Mf}/_{Mi} * 100$.

- 3ª etapa: Com as amostras secas preparou-se em erlenmeyers as proporções em m/v de 1/3; 1/6 e 1/9 de amostra/ácido sulfúrico.

Após o preparo das amostras para o processo de descristalização com ácido sulfúrico 30%; 15%, 7%, 5% e 2%, submeteu-se as amostras com as proporções em m/v de 1/3; 1/6 e 1/9

de amostra/ácido sulfúrico a autoclave sob pressão de 1,5 Kgf por uma hora, 30 minutos, 15 minutos e 10 minutos a 127^0C. Em seguida, filtrou-se a amostra, separando o resíduo do líquido obtido, registrando a quantidade do líquido. Neutralizou-se a mostra com auxílio de hidróxido de amônia, deixando o pH entre 5 a 7, para não interferir nos testes qualitativos e quantitativos.

Caracterização dos Açúcares Obtidos da Celulose

A caracterização dos açúcares obtidos da celulose segue a metodologia proposta por Oliveira (2009).

Teste de Fehling

O teste de Fehling (Quadro 1) consiste na identificação do grupo aldeído, através de sua oxidação a ácido. O reagente de Fehling contém $Cu(OH)_2$ (hidróxido de cobre II) que, em presença de um açúcar redutor, passa a Cu_2O (óxido de cobre I), precipitado avermelhado ou amarelado.

Quadro 1. Teste Fehling

- ✓ Reagente de Fehling A: 34,65 g de $CuSO_4.5H_2O$ (sulfato de cobre II) em 500 mL de água.
- ✓ Reagente de Fehling B: 173 g de sal de Rochelle e 50 g de NaOH (Hidróxido de sódio) em 500 mL de água.
- ✓ Adicionou-se num tubo de ensaio 1 mL da solução de sulfato de cobre II (solução A) e 1 mL de solução alcalina de tartarato duplo de sódio e potássio (solução B). Adicionou-se1 mL da solução a ser testada.
- ✓ Aqueceu-se por 5 min. em água fervente. Observou-se a formação ou não de precipitado avermelhado.

Teste de Seliwanoff

A reação positiva para o teste Seliwanoff (Quadro 2) é caracterizada pelo aparecimento de coloração avermelhada, que indica a formação do complexo entre furfural (HMF) com o resorcinol e, consequentemente, indica presença de aldoses e cetoses.

Quadro 2. Teste Seliwanoff

- ✓ Preparo do reagente de Seliwanoff: dissolve-se 0,025 g de resorcinol em 50 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado. Completou-se o volume para 100 mL.
- ✓ Adicionou-se 3 mL do reagente de Seliwanoff e 1 mL da amostra;
- ✓ Aqueceu-se todos os tubos em banho-maria fervente por um minuto e observou-se a coloração desenvolvida;
- ✓ Ferveu-se por mais 5 minutos e anotou-se a coloração desenvolvida;
- ✓ Comparou-se os resultados.

Quantificação de Açúcares Redutores por Método Eynon-lane

a) Determinação do Título do Licor de Soxhlet

O licor de Soxhlet foi preparado no momento da análise de acordo com Sant'ana *et al.* (2005), juntando-se volumes iguais de uma solução de sulfato de cobre (solução A) e de uma solução de tartarato duplo de sódio e potássio alcalino (solução B), conforme indica o preparo no Quadro 3.

Quadro 3. Preparo das soluções

Solução A: pesou-se 34,639 g de sulfato de cobre, puro e cristalizado; dissolvendo-o e completando o volume a 500 mL, com água destilada. Solução B: Pesou-se 50 g de NaOH/ dissolveu-se em 200 mL de água destilada. Pesou-se 173 g de tartarato duplo de sódio e potássio e dissolveu-se na solução de NaOH, completando o volume para 500mL, deixando em repouso por 24 horas, para posterior filtrar. Solução de glicose: pesou-se 5 g de glicose anidra para análise, dissolveu-se e completou-se o volume para 1000 mL com água destilada. Solução de azul de metileno: dissolve-se 1 g de azul de metileno puríssimo em água destilada e completou-se o volume para 100 mL.

Durante o procedimento seguiu-se os passos abaixo:

- ✓ Tomou-se volumes iguais da solução "A" e "B" (25 mL de cada – colocar a sol. B primeiro) em um erlenmeyer.
- ✓ Tomou-se 10 mL da solução obtida (solução "A" e "B") em um Erlenmeyer, adicionou-se ± 100 mL de água destilada e levou-se ao fogo até ebulição.
- ✓ Adicionou-se a solução de glicose pura à bureta, e começou-se a gotejar sem paralisar a ebulição, até obter uma coloração pardo-avermelhada.
- ✓ Esperou-se 2 minutos em ebulição.
- ✓ Adicionou-se 3 gotas de azul de metileno a 1%.
- ✓ A cor volta a ficar azul e continuou-se a titulação até cor pardo-avermelhada.
- ✓ Anotou-se o volume gasto de glicose.
- ✓ Reiniciou-se o método no item por pelo menos 5 vezes.

Cálculo do título:

Desprezou-se a primeira leitura, bem como todas aquelas que derem resultados disparatados, e estabeleceu-se a média aritmética das outras.

O Quadro 4 apresenta a fórmula para determinação da massa de glicose necessária para redução do cobre de 10 mL do licor.

Quadro 4. Fórmula para determinação do título

$$M: \frac{N2 + N3 + N4 + Nn}{n}$$

5 g de glicose --------- 1000ml
X g de glicose --------- M

Então: X: 5. M: g de glicose (1)
1000
X g de glicose reduzem o cobre de 10 ml do licor, 1 ml do licor será reduzido
Por T (título).

Fonte: Sant'ana; Gomes; Evangelista (2005).

b) Determinação de Açúcar Redutor na Amostra

Repetiu-se o mesmo procedimento anterior (a) para a padronização, só que com a amostra a ser analisada, que foi diluída na proporção de 1/5.

DISCUSSÃO DE RESULTADOS

Abertura da amostra – análise preliminar

Com o objetivo de identificar e quantificar os açúcares nas amostras *Pinus sp.*, do farelo de soja e da mandioca adaptou-se o método proposto por Schneider & Hörner (1979) a partir de testes preliminares variando as proporções de amostra para ácido sulfúrico de p/v 1/9; 1/6 e 1/3 para as seguintes concentrações, 30%, 15%, 7%, 5% e 2%, com a variação de tempo de 1 hora, 30 minutos, 15 minutos e 10 minutos em autoclave a 1,5 Kgf/cm² à 127ºC.

Para a amostra de *Pinus sp.*, as amostras foram auto-clavadas por 1h a pressão, com concentração de ácido de 2 %.

Para o farelo de soja, os melhores resultados com menores gastos energéticos foram obtidos a partir da utilização da solução de ácido sulfúrico com a concentração de 7%, com 30 minutos de autoclave.

Para as amostras de mandioca, os melhores resultados com menores gastos energéticos foram obtidos a partir da utilização da solução de ácido sulfúrico com a concentração de 7% com 15 minutos de autoclave.

Resultados Qualitativos Obtidos na Caracterização dos Açúcares Extraídos da Celulose

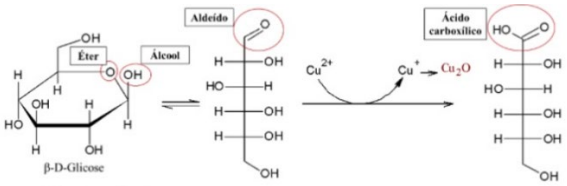
Após a abertura das amostras, o líquor com coloração amarelo-esverdeada foi diluído com água destilada na ordem de 1/5 p/v, de acordo com as recomendações de Sant'ana; Gomes; Evangelista (2005).

Na sequência realizaram-se os testes qualitativos de Benedict, Fehling e Seliwanoff, para indicação de carboidratos.

Teste de Fehling

O teste de Fehling consiste na identificação do grupo aldeído, através de sua oxidação a ácido carboxílico (Figura 4). O reagente de Fehling contém, hidróxido de cobre II [$Cu(OH)_2$], que em presença de um açúcar redutor, passa a reduzir a óxido de cobre I, Cu_2O, dando teste positivo quando ocorre a formação de um precipitado avermelhado ou amarelado.

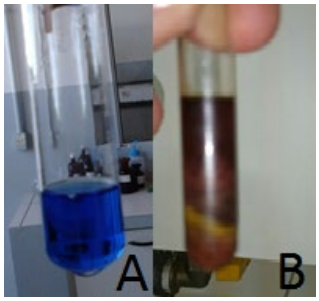
Figura 4. Reação do teste de Fehling



Fonte: Fonte: Lehninger (2002).

A Figura 5 (A) apresenta o resultado para teste de Fehling em amostra branca; A Figura 5 (B) teste de Fehling positivo. Para todas as amostras, o resultado foi positivo, comprovando a identificação do grupo aldeído

Figura 5. (A) Teste de Fehling em amostra branca (negativo); (B) Teste de Fehling positivo

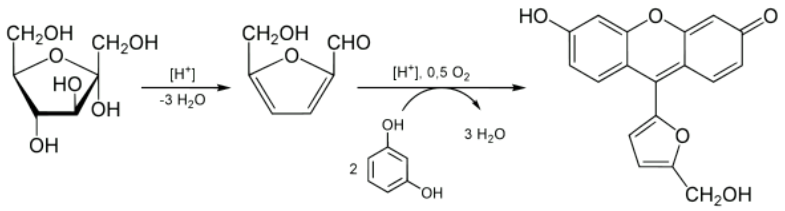


Fonte: dados da pesquisa.

Teste de Seliwanoff

No teste de Seliwanoff, a reação positiva é caracterizada pelo aparecimento de coloração avermelhada, que indica a formação do complexo furfural com o resorcinol, (Figura 6), consequentemente, indicando a presença de aldoses e cetoses.

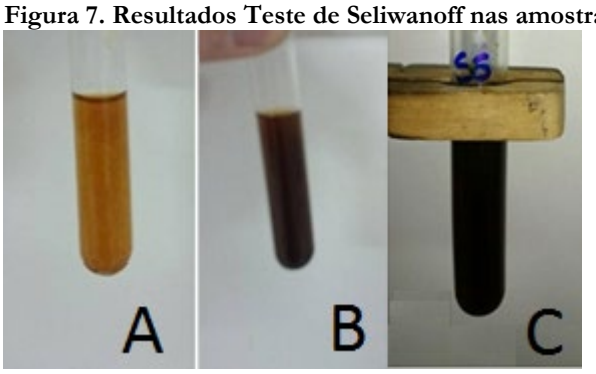
Figura 6. Reação de formação do complexo de furfural no teste de Seliwanoff



Fonte: Lehninger (2002).

As Figuras, 7(A) teste de Seliwanoff em amostra branca (negativo); 7 (B,C) teste de Seliwanoff positivo para todas as amostras investigadas.

Figura 7. Resultados Teste de Seliwanoff nas amostras



Fonte: dados da pesquisa.

A Tabela 1, mostra os melhores resultados qualitativos obtidos na digestão das amostras analisadas no processo de investigação de açúcares.

Tabela 1. Testes preliminares para identificação de açúcares em amostras de mandioca, farelo de soja e *Pinus, sp.*

Proporção Amostra / H_2SO_4	Mandioca seca	Casca de mandioca seca	Farelo de soja *in natura*	Farelo de soja seco	Cavaco *Pinus sp. in natura*	Cavaco *Pinus sp.* Seco	Cavaco Moído *Pinus sp. in natura*	Cavaco Moído *Pinus sp.* Seco
1/3	Fehling (+) Seliwanoff (+)	Fehling (+) Seliwanoff (+)	Fehling (-) Seliwanoff (+)	Fehling (-) Seliwanoff (+)	Fehling (-) Seliwanoff (+)	Fehling (-) Seliwanoff (-)	Fehling (-) Seliwanoff (-)	Fehling (-) Seliwanoff (-)
1/6	Fehling (+) Seliwanoff (+)	Fehling (+) Seliwanoff (+)	Fehling (+) Seliwanoff (+)	Fehling (+) Seliwanoff (+)	Fehling (+) Seliwanoff (+)	Fehling (+) Seliwanoff (+)	Fehling (+) Seliwanoff (+)	Fehling (+) Seliwanoff (+)
1/9	Carb.	Carb.	Carb.	Carb.	Carb.	Carb.	Carb.	Carb.

*Carb: carbonização.
Fonte: dados da pesquisa.

Após a realização de todos os testes prévios, manteve-se constante as condições da hidrólise e a melhor proporção 1/6 (amostra/ácido sulfúrico) para: *Pinus sp.*, auto-clavado por 1h em auto-clave com ácido sulfúrico 2 %; Farelo de soja com ácido sulfúrico 7%, e 30 minutos em autoclave; Amostras de mandioca, com ácido sulfúrico 7% e 15 minutos de autoclave. Na sequência quantificou-se o teor de açúcares das amostras obtidas nas condições de trabalho, utilizando o método de Eynond-Lane.

Resultados Obtidos na Quantificação de Açúcares Redutores por Método Eynond-Lane

As concentrações investigadas para o H_2SO_4 variaram entre 2% a 30%. Pode-se observar, que o rendimento de glicose foi praticamente o mesmo para as amostras: na Tabela 2 o farelo de soja, na Tabela 3 o *Pinus sp.* e na Tabela 4 para as amostras de mandioca.

As amostras de *Pinus sp.*, farelo de soja e mandioca submetidas a digestão com H_2SO_4 30% não apresentaram resultados positivos, pois houve carbonização total das biomassas. Isso provavelmente ocorreu devido ao excesso de ácido envolvido na reação aliado a alta temperatura, promovendo a degradação da mesma.

Tabela 2. Média de rendimento da digestão do farelo de soja *in natura* e seco em açúcares redutores (%) em relação a concentração do ácido sulfúrico em 30 min. de autoclave a 1,5 Kgf/cm² à 127 ºC

	% de glicose					
Concentração do Ácido	**Farelo 1/3**	**Farelo 1/6**	**Farelo 1/9**	**Farelo seco 1/3**	**Farelo seco 1/6**	**Farelo seco 1/9**
H_2SO_4 2%	9,11% ± 0,03	9,86% ± 0,03	9,39% ± 0,03	10,59% ± 0,03	10,53% ± 0,03	10,39% ± 0,03
H_2SO_4 5%	9,80% ± 0,03	9,25% ± 0,03	9,22% ± 0,03	10,63% ± 0,02	10,01% ± 0,03	10,81% ± 0,02
H_2SO_4 7%	8,70% ± 0,03	13,30% ± 0,12	Carb.	15,65% ± 0,03	15,93% ± 0,02	Carb.
H_2SO_4 15%	9,60% ± 0,12	10,32% ± 0,08	Carb.	11,07% ± 0,09	11,55% ± 0,01	Carb.
H_2SO_4 30%	Carbonização da amostra					

Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 3. Média de rendimento da digestão do *Pinus sp.* em açúcares redutores (%) em relação a concentração do ácido (1/6) em 1 h de autoclave a 1,5 Kgf/cm² à 127 ºC

	% de glicose			
Concentração do Ácido	**Cavaco In natura**	**Cavaco Seco**	**Cavaco Moído In natura**	**Cavaco Moído Seco**
H_2SO_4 2%	7,81% ± 0,031	8,40% ± 0,034	7,86% ± 0,033	8,65% ± 0,038
H_2SO_4 5%	7,80% ± 0,035	8,25% ± 0,039	7,82% ± 0,036	8,53% ± 0,025
H_2SO_4 7%	7,00% ± 0,038	7,30% ± 0,122	6,77% ± 0,013	7,35% ± 0,037
H_2SO_4 15%	5,87% ± 0,105	6,81% ± 0,088	5,90% ± 0,058	7,10% ± 0,097
H_2SO_4 30%	Carbonização da amostra			

Fonte: dados da pesquisa

Tabela 4. Média de rendimento da digestão da mandioca e da casca de mandioca em açúcares redutores (%) em relação a concentração do ácido utilizado em 15 min. de autoclave a 1,5 Kgf/cm² à 127ºC.

	% de glicose					
Concentração do Ácido	**Mandioca 1/3**	**Mandioca 1/6**	**Mandioca 1/9**	**Casca de Mandioca 1/3**	**Casca de Mandioca 1/6**	**Casca de Mandioca 1/9**
H_2SO_4 2%	22,84% ± 0,03	22,83% ± 0,03	21,99% ± 0,03	12,59% ± 0,04	12,53% ± 0,04	12,39% ± 0,03
H_2SO_4 5%	22,85% ± 0,03	22,85% ± 0,04	22,00% ± 0,04	12,53% ± 0,02	13,01% ± 0,03	12,39% ± 0,03
H_2SO_4 7%	24,00% ± 0,04	23,33% ± 0,12	Carb.	13,35% ± 0,04	12,93% ± 0,02	Carb.
H_2SO_4 15%	21,40% ± 0,11	21,33% ± 0,08	Carb.	12,00% ± 0,10	12,00% ± 0,01	Carb.
H_2SO_4 30%	Carbonização da amostra					

Fonte: dados da pesquisa.

A amostra que apresentou melhor rendimento foi na mandioca, na proporção de 1/3 e 1/6 de amostra/ácido sulfúrico 7%, com respectivamente 23,33±0,12% a 24,00±0,04% de açúcares. Já

a casca da mandioca apresentou rendimentos de 12,93±0,02% a 13,35±0,04% nas mesmas condições; em seguida, o farelo de soja previamente seco a 105ºC, apresentou o rendimento máximo de 15,93±0,02% de glicose. Levando em consideração que essas amostras são ricas em açúcares, como, por exemplo, a sacarose que é um dissacarídeo não redutor facilmente hidrolisado em glicose e frutose, a rafinose ou galactosilsacarose que é um oligossacarídeo não redutor e sua hidrólise resulta em frutose, glicose e galactose e a estaquiose, que é um tetrassacarídeo da mesma família da rafinose (Qureshi *et al.,* 2001).

Quanto as amostras de *Pinus ps.,* o melhor rendimento foi obtido com o cavaco moído e previamente seco, com 8,65±0,038% de glicose na proporção de 1/6 de amostra para ácido sulfúrico 2%, provavelmente relacionado a maior superfície de contato.

De forma geral, observou-se maior rendimento de glicose na mandioca e na casca da mandioca, na proporção 1/6 ácido sulfúrico 7%. Portanto, se levado em consideração os menores gastos energéticos, pode-se dizer que as amostras na proporção 1/3 ácido sulfúrico 2% apresentaram os melhores resultados, com determinação de uma quantidade relevante de glicose.

De forma geral, o rendimento de açúcares nas amostras de *Pinus sp.*, mandioca e farelo de soja é considerado baixo quando comparado com o rendimento de outros materiais celulósicos por processos similares, como por exemplo a casca de arroz que tem seu rendimento médio em torno de 20% (Schneider; Hörner, 1979). Contudo, se levarmos em consideração o que descreve Klok et *al.*, (2005), a fração hidrolisável por ácidos de uma amostra de celulose representa cerca de l0 a l2% de seu peso em açúcares. Desse modo, obteve-se o rendimento superior de açúcares nas amostras avaliadas pela adaptação do método de Schneider & Hörner (1979).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho mostra a importância de investimentos em novas tecnologias de segunda geração que explorem o potencial de matérias-primas vegetais além da cana-de açúcar, principalmente biomassas residuais ricas em carboidratos hidrolisáveis e resíduos celulósicos com valor agregado e que podem ser reaproveitados em processos fermentativos para produção de etanol.

Nesse sentido, este estudo apresenta a hidrólise da celulose e outros carboidratos, presentes em biomassas de *Pinus sp.* mandioca e farelo de soja a partir de um pré-tratamento, o preparo do substrato (o líquor obtido do processo) e ajustes de pH. Assim, estudos futuros, merecem atenção

para o desenvolvimento de um processo simples, com ajustes de pH e temperatura para fermentação dos açúcares presentes no caldo hidrolisado obtido a partir desses resíduos, e a recuperação e purificação do etanol produzido, por destilação.

A primeira etapa da hidrólise proposta nesse estudo é, tecnicamente, a mais difícil, uma vez que a digestibilidade da celulose é dificultada por fatores físicos, químicos, estruturais e composicionais. Diante disso, percebe-se que é indispensável o pré-tratamento da biomassa para facilitar a obtenção de açúcares potencialmente fermentescíveis na etapa de hidrólise.

REFERÊNCIAS

AQUINO, Annelyse Farias et al. O etanol da cana de açúcar: possibilidades energéticas da região de Ceará-Mirim-RN. *Holos*, v. 1, p. 105-125, 2014.

ARAUJO, Geraldo Jose Ferraresi de et al. O etanol de segunda geração e sua importância estratégica ante o cenário energético internacional contemporâneo. *Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista*, v. 9, n. 5, 2013.

BASTOS, Valéria Delgado. Etanol, alcoolquímica e biorrefinarias. *Banco Nacional de Desenvolvimento Economico e Social Setorial,* Rio de Janeiro, n 25, p. 5-38, 2007.

BARCZA, Marcos Villela. Escola de Engenharia de Lorena EEL-USP. *Hidrólise***,** 2009.

BRUICE, Paula Yurcanis. *Química orgânica*. v. 2. 4. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006. P.75-76. Cap. 9.

CHIELLE, Z. G. Potencialidades e Agronegócio da Cultura da Mandioca. *In*: REUNIÃO TÉCNICA DE MANDIOCA, 5, 2005, Cruzeiro do Sul/RS. *Ata... s. n.* Cruzeiro do Sul, 2005.

FERRONATO, Jéferson. *Potencial do Panicum maximum para produção de bioetanol*. 67 p. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Energias Renováveis) – Universidade Federal do Pampa, Campus Bagé, Bagé, 2017.

FRANCISCO JUNIOR, Wilmo E**.** Carboidratos: Estrutura, Propriedades e Funções, 29 ed. *QUÍMICA NOVA NA ESCOLA*, 2008.

GOMES, W. C. *Produção de bioetanol a partir da amêndoa da semente da manga* (Mangifera indica L.). 2014. 109 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2014.

KLOCK, Umberto; MUNIZ, Gib de. H. J. A.; ANDRADE, A. S. de. *QUÍMICA DA MADEIRA*. 3ª. Edição revisada. Universidade Federal do Paraná Setor de Ciências Agrárias Departamento de engenharia e Tecnologia Florestal Curitiba, 2005.

LEHNINGER, Albert L. *Princípios de Bioquímica.* 3. Ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LIMA, Urgel de A. *Tecnologia das fermentações*, São Paulo-SP, Vol.1, Edgard Blücher, 1975.

MARTINS, Rhodiney Vaz. Etanol de beterraba. *Intr@ ciência–Revista Científica***.** 10 Edição, 2015.

NUNES, Elis Fernando. *Cana-de-Açúcar*: a produção de etanol e seus benefícios. Monografia (Técnico em Agronegócios). Instituto Federal de Ciências e Tecnologia de São Paulo. Barretos, 2017.

OLIVEIRA, M A. *Análise química de Açúcares.* Cachoeira de Itapemirim: Noryam, 2009.

PACHECO, Thályta Fraga. Produção de etanol: primeira ou segunda geração? *Circular Técnica 04*. Brasília, abril, 2011.

REIS, A. J. Aspectos Econômicos da Mandioca. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.13, n.145, p. 3-8, 1987

SANT'ANA, L.; GOMES, M. I. F.V.; EVANGELISTA, R, M.. *Apostila de Práticas de Bromatologia para o Curso de Nutrição.* UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - CAMPUS DE BOTUCATU, 2005.

SCHNEIDER, Ilzemaro; HÖRNER, Manfredo. Aproveitamento da casca de arroz para a obtenção de álcool. *Revista do Centro de Ciências Rurais*, v. 9, n. 3, 1979.

SCHWARZ, A. Avaliação da Expansão da Produção de Etanol no Brasil. 2004. Brasília: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, 2004. *5 Comunicação ao CGEE, Consultor (Meio Ambiente*). p. 24. 2004

SHREVE, Randolph Norris; BRINK JR., Joseph A. *Indústrias de processos químicos.* 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1977

SILVA, M. S.; et al. Composição química e valor proteico do resíduo de soja em relação ao grão de soja. *Ciência Tecnologia Alimentos*, Campinas, v. 26, n. 3, p. 571-576, jul.-set. 2006.

SILVA NETTO, Eraldo Ferreira da; SILVA LEAL, Francis Pinheiro da. Biocombustíveis: uma vantagem para o futuro. *Bolsista de Valor*, v. 2, p. 11-16, 2012.

SILVA, Lara Raquel de Jesus Rodrigues; SHAYANI, Rafael Amaral; OLIVEIRA, Marco Aurélio Gonçalves de. Análise comparativa das fontes de energia solar fotovoltaica, hidrelétrica e termelétrica, com levantamento de custos ambientais. In: *Anais Congresso Brasileiro de Energia Solar-CBENS*. 2018.

ÚNICA, União da Indústria da cana de açúcar. *Flex: etanol puro ou com gasolina***,** 2008.

1 VELOSO, Jhonatan Marques. Graduado em Licenciatura Plena em Química pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná. Licenciado em Ciências Biológicas na Universidade Cruzeiro do Sul. Especialização em Ciências Marinhas Aplicadas ao Ensino pelo Instituto Federal de Santa Catarina. Experiência na área de Química, com ênfase em Química Orgânica.

2 DETOGNI, Maxsuillian Raimundo. Mestre em Química pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Graduado em Química (licenciatura), pelo Instituto Federal do Paraná (IFPR) - Campus Palmas, Atua em pesquisas relacionadas a química orgânica, química analítica e ensino de Química.Professor de Química, Matemática e Educação Financeira na Secretaria de Educação e Esporte - SEED.

3 BATISTA, Silvia Letícia Da Fonseca. Graduada em Licenciatura Plena em Química pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná.

4 BRANDL, Cândida Alissia. Licenciada em Química pelo Instituto Federal Farroupilha, Campus Panambi. Doutora em Química pela Universidade Federal de Santa Maria. Especialista em educação de jovens e adultos e Coordenação Pedagógica e Supervisão Escolar. Docente do Curso de Graduação em Química do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal do Paraná, Campus Palmas.

5 GIUSTI, Edneia Durli. Graduada em Ciências Habilitação Química pelo Centro Pastoral Educacional e Assistência Dom Carlos. Mestre em Química pela Universidade Federal do Paraná. Docente do Curso de Graduação em Química do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal do Paraná, Campus Palmas.

6 Aquino, Lucas Emanoel do Nascimento. Bacharel em Química pela Universidade Federal de Alagoas. Licenciado em Química pelo Programa Especial de Formação Pedagógica de Docentes em Química do Centro Universitário Claretiano. Tecnólogo em Análise e Desenvolvimento de Sistemas pela Unicesumar. Doutor em Química na Universidade Federal do Paraná. Docente do Curso de Graduação em Química do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal do Paraná, Campus Palmas.

7 Gomes, Sandra Inês Adams Angnes. Graduada em Ciências Habilitação Química pelo Centro Pastoral Educacional e Assistência Dom Carlos. Mestre em Química pela Fundação Universidade de Blumenau. Docente do Curso de Graduação em Química do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal do Paraná, Campus Palmas.