

PRODUÇÃO DE ETANOL UTILIZANDO AMIDO DE MILHO PRÉ-SACARIFICADO EM REGIME DESCONTÍNUO E DESCONTÍNUO ALIMENTADO

Gustavo Dolfini Souza Lula (PIC), José Eduardo Olivo (Orientador). E-mail: jeolivo@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Tecnologia, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Processos Industriais de Engenharia Química/Processos Bioquímicos

Palavras-chave: hidrólise enzimática; amiloglucosidase; α -amilase

RESUMO

A produção de etanol a partir de fontes renováveis surge como alternativa aos combustíveis fósseis, sendo o milho um dos principais insumos devido ao seu alto teor de amido. Este estudo avaliou a produção de etanol em regimes descontínuo e descontínuo alimentado, utilizando xarope de glicose proveniente da conversão ácida do amido de milho e submetido à hidrólise enzimática. Foram testados três grupos enzimáticos: α -amilase Liquozyme Supra 2.2X, α -amilase comercial e a combinação de α -amilase comercial com amiloglucosidase. As fermentações, conduzidas com *Saccharomyces cerevisiae* por 90 minutos, tiveram monitoramento de açúcares redutores, pH e etanol. Os resultados mostraram concentrações finais de 12,07 g/L (grupo 1), 7,9 g/L (grupo 2) e 15,64 g/L (grupo 3). A associação entre α -amilase e amiloglucosidase resultou em maior conversão de açúcares e rendimento fermentativo, destacando-se como estratégia eficiente para otimizar a produção de etanol a partir do amido de milho.

INTRODUÇÃO

A produção de etanol representa uma alternativa estratégica aos combustíveis fósseis por ser uma fonte de energia renovável e menos poluente (SANTOS et al., 2013). Entre as principais matérias-primas destacam-se a cana-de-açúcar e o milho, este último rico em amido, composto por amilose e amilopectina (CIPRIANO et al., 2021). Como o amido não possui açúcares fermentáveis, é necessária sua conversão em glicose por meio de hidrólise, que pode ser realizada por via ácida ou enzimática (DIAS et al., 2020). A hidrólise enzimática se destaca por oferecer maior especificidade, menor consumo energético e açúcares de maior pureza, resultando em melhor rendimento fermentativo. Assim, o presente trabalho teve como objetivo produzir etanol em regimes descontínuo e descontínuo alimentado, utilizando xarope de glicose obtido da conversão ácida do amido de milho e submetido à hidrólise enzimática para viabilizar a fermentação alcoólica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 250 g de xarope de glicose (Indemil ©), diluídos em 1 L de água destilada e submetidos à hidrólise enzimática com α -amilase e/ou amiloglucosidase em reator com agitação contínua (80–90 °C, 1 h). Após o monitoramento dos açúcares redutores pelo método GOD-PAP, adicionaram-se ureia, superfosfato, leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e água destilada, obtendo-se uma solução final com cerca de 30 g/L de glicose. A fermentação foi realizada a 32 °C por 90 minutos em três grupos experimentais: grupo 1 (α -amilase Liquozyme Supra 2.2X), grupo 2 (α -amilase comercial) e grupo 3 (α -amilase comercial + amiloglucosidase). Nos grupos 1 e 2 foram coletadas sete alíquotas por subgrupo (A, B, C e D) em intervalos de 15 minutos, enquanto no grupo 3 foram retiradas quatro alíquotas por subgrupo (E e F) a cada 23 minutos. As amostras foram resfriadas, centrifugadas e o sobrenadante utilizado para análises de açúcares redutores, pH e etanol. Os subgrupos corresponderam a processos em batelada (A, C e E) e batelada alimentada (B, D e F). A quantificação do etanol foi feita por destilação em torre de escala laboratorial e cromatografia gasosa (coluna a 100 °C, injetor a 120 °C, detector a 150 °C e filamento a 200 °C), com injeções manuais de 1 μ L e tempo de retenção de 3 minutos. O tratamento dos dados e a elaboração dos gráficos foram realizados no Microsoft Excel.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras A, C e E dos grupos representam a fermentação descontínua de cada reator, já as amostras B, D e F representam a realimentação destes reatores. O primeiro grupo representado pelas amostras A e B, onde foi utilizada apenas a α -amilase Liquozyme Supra 2.2X, apresentou os dados de concentração de etanol (g/L) e concentração de açúcares redutores totais (g/L), demonstrados na tabela abaixo (Tabela 1):

Tabela 1

Tempo	Amostra	Etanol	ART	Tempo	Amostra	Etanol	ART
0	A1	5,47	23,518	105	B1	7,10	9,713
15	A2	3,95	15,877	120	B2	8,37	7,238
30	A3	4,71	14,394	135	B3	10,20	3,645
45	A4	16,72	12,372	150	B4	11,30	1,504
60	A5	6,78	10,350	165	B5	11,36	1,372
75	A6	6,83	10,237	180	B6	12,31	0,471
90	A7	7,12	9,684	195	B7	12,07	0

O segundo grupo, representado pelas letras C e D, refere-se à fermentação onde utilizou-se apenas a α -amilase comercial. Esta apresentou os dados de concentração de etanol (g/L) e concentração de açúcares redutores totais (g/L), demonstrados na tabela abaixo (Tabela 2):

Tabela 2

Tempo	Amostra	Etanol	ART	Tempo	Amostra	Etanol	ART
0	C1	2,81	15,281	105	D1	0,48	14,531
15	C2	2,97	9,656	120	D2	0,63	14,224
30	C3	2,93	9,726	135	D3	6,40	2,938
45	C4	3,33	8,936	150	D4	7,02	1,731
60	C5	3,33	8,944	165	d5	7,51	0,774
75	C6	3,43	8,746	180	D6	7,86	0,086
90	C7	3,27	9,056	195	D7	7,90	0

O terceiro grupo, representado pelas letras E e F, refere-se à fermentação onde utilizou-se α -amilase comercial em conjunto com a amiloglucosidase. Esta apresentou os dados de concentração de etanol (g/L) e concentração de açúcares redutores totais (g/L), demonstrados na tabela abaixo (Tabela 3):

Tabela 3

Tempo	Amostra	Etanol	ART	Tempo	Amostra	Etanol	ART
0	E1	1,04	30,106	92	F1	8,27	14,424
23	E2	3,99	22,795	115	F2	9,69	11,635
46	E3	7,79	15,350	138	F3	14,17	2,861
69	E4	10,54	9,968	161	F4	15,64	0

A comparação entre os três grupos no que diz respeito ao crescimento da concentração de etanol e decaimento da concentração de açúcares redutores está ilustrada no gráfico abaixo (gráfico 1):

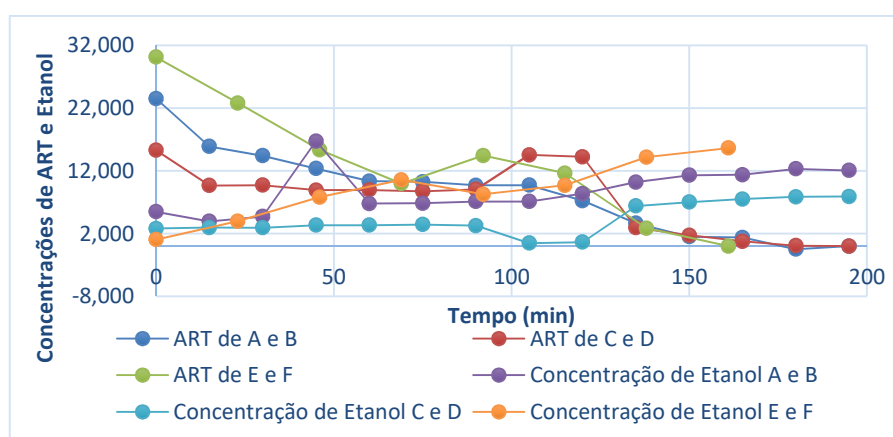


Gráfico 1: Curvas referentes às concentrações de etanol e açúcares redutores ao decorrer do tempo de fermentação (Tabelas 1, 2 e 3). O eixo X representa o tempo em minutos e o eixo Y a concentração em gramas por litro.

Os resultados mostraram que o grupo 1 (amostras A e B), tratado com a enzima α -amilase Liquozyme Supra 2.2X, alcançou concentração final de etanol de 12,07 g/L. No grupo 2 (amostras C e D), que utilizou apenas a α -amilase comercial, a

concentração foi de 7,9 g/L. Já o grupo 3 (amostras E e F), submetido à ação conjunta da α -amilase comercial e da amiloglucosidase, apresentou o melhor desempenho, atingindo 15,64 g/L de etanol. A comparação entre os grupos 1 e 2 indica que a α -amilase Liquozyme Supra 2.2X proporcionou maior rendimento fermentativo que a α -amilase comercial, possivelmente devido à sua maior atividade enzimática ou concentração de unidades ativas, resultando em hidrólise mais eficiente do amido e maior liberação de glicose fermentável. Em relação ao grupo 3, o aumento expressivo na concentração final de etanol sugere que a amiloglucosidase foi essencial para converter oligossacarídeos e dextrinas residuais em glicose, ampliando a disponibilidade de açúcares fermentáveis e, consequentemente, elevando a produção de etanol.

CONCLUSÕES

Conclui-se que a combinação de α -amilase e amiloglucosidase constitui uma estratégia mais eficiente para maximizar o aproveitamento do amido de milho no processo fermentativo, superando o uso isolado de cada enzima. Os resultados também evidenciam a importância da escolha adequada das enzimas hidrolíticas para otimizar a etapa de sacarificação, influenciando diretamente o rendimento final da produção de etanol.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, José Eduardo Olivo, ao Departamento de Engenharia Química e ao EAIC/PPG.

REFERÊNCIAS

CIPRIANO, E.; MAJOR, T.; PESSELA, B.; BARROS, A. A. C. Produção de álcool etílico anidro a partir da hidrólise e fermentação alcoólica do amido do milho. In: ORDENS DOS ENGENHEIROS DE ANGOLA (OEA). **Anais do IVº Congresso da Ordem dos Engenheiros de Angola (OEA): Engenharia Disruptiva: Construindo um futuro sustentável para Angola**, 2021. v. único, p. 43. Luanda: OEA, 2021. Disponível em <https://anais2021.oea.ao/index/publication.pdf>

DIAS, B. V. et al. Produção de etanol a partir de amido de milho hidrolisado com amilases do malte de cevada. **Tópicos multidisciplinares em ciências biológicas**, Ponta Grossa, p. 123- 130, 2020.

SANTOS, K. G. D. et al. Avaliação do Brix Final, Temperatura de Destilação e Teor Alcoólico na Produção de Bioetanol. BBR – **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, p. 269- 272, 2013.