OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE PRÉ-TRATAMENTO COM ÁCIDO-DILUÍDO EM CLADÓDIOS DE *Cereus hildmannianus* PARA PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO.

Márcia Cervante Ferreira (PIBIC/UEM), Luis Henrique Brambilla Alves (Coorientador), Wanderley Dantas dos Santos (Orientador). E-mail: wdsantos@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas/ Bioquímica

Palavras-chave: Biocombustível. Lignocelulose. Pré-tratamento.

RESUMO

O aumento global na demanda por biocombustíveis, especialmente o E2G, tem impulsionado o desenvolvimento de abordagens mais abrangentes sobre a produção de bioetanol, considerando não apenas culturas comuns já utilizadas, mas também culturas não convencionais. Culturas como a do *C. hildmannianus*, uma cactácea comum no sul do Brasil, se apresenta como um bom objeto de estudo devido a sua versatilidade para recobrimento de solos esgotados nutritivamente. Entretanto, a utilização da completude de sua biomassa exige um esforço extra (pré-tratamento) para possibilitar a liberação da celulose e sua posterior conversão enzimática em açúcar fermentescível. Este projeto teve como foco a padronização do pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído em três plantas distintas de *C. hildmannianus*. A complexidade dessa cultura devido à presença natural de mucilagem dificultou a padronização de pipetagens para reação por método colorimétrico DNS a 0,5% de ácido devido a não homogeneidade do licor pré-tratado. A padronização de temperatura, tempo de reação e concentração de ácido foi essencial para chegar no conjunto de melhor performance na liberação açúcares redutores, onde a concentração a 1% de ácido sulfúrico no tempo de 30 minutos apresentou melhor resultado. Também foi possível observar diferenças na liberação de açúcares redutores entre as plantas analisadas, o que deve fomentar estudos mais abrangentes quando a homogeneidade da amostra em quesitos como idade da planta, disponibilidade energética e morfofisiologia.

INTRODUÇÃO

O etanol classificado como segunda geração (E2G) é o etanol produzido através do processamento de biomassas lignocelulósicas, muitas vezes advindas de resíduos agrícolas (bagaço de cana-de-açúcar e palha de milho), além de outras culturas com potencial energético na produção de biocombustível (Barbosa, 2015

apud Cortez, 2010). A utilização de *Cereus hildmannianus* pode oferecer inovação na utilização dessa cultura na produção de bioetanol.

A ocorrência de *C. hildmannianus* na região sul é bem difundida, podendo ser encontrado em solos pedregosos e um de baixa disponibilidade de nutrientes sem que isso afete seu crescimento (Silva *et. al.*, 2021 *apud* Porto, 2009). Essa característica o destaca como potencial alternativa complementar à utilização da cana-de-açúcar, atuando em solos onde a cana não prospera tão bem.

Diante desse panorama, este projeto se propôs a padronizar o pré-tratamento da biomassa de *C. hildmannianus* por hidrólise ácida com ácido sulfúrico diluído, visando à desestruturação da matriz lignocelulósica e o aumento da biodisponibilidade da celulose para hidrólise.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo da biomassa

Os cladódios de *C. hildmannianus* selvagens foram coletados da coleção viva do Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal da Universidade Estadual de Maringá. Após coletados, os cladódios foram lavados em água corrente, fracionados e secos em estufa à 65 ºC por cinco dias. A biomassa seca foi então moída em moinho bola e peneirada para padronização de tamanho.

Pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído

Amostras com massa de 2g de três plantas selvagens de *C. hildmannianus* foram colocadas em erlenmeyers de 100 mL juntamente a 20 mL de ácido sulfúrico diluído à 0,5%, 1% e 2%. Os frascos foram autoclavados a 120 ºC em intervalos de tempo de 15, 30 e 60 minutos. Após o processo, os frascos foram resfriados à temperatura ambiente, e as frações sólida e líquida foram separadas por centrifugação.

Determinação de açúcares redutores (AR)

Os açúcares redutores do licor pré-tratado foram quantificados por método colorimétrico de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (Miller, 1959) em espectrofotômetro a 540 nm.

Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3×3. Os dados foram previamente avaliados quanto aos pressupostos de normalidade e homogeneidade das variâncias. Quando observadas diferenças estatísticas, estas foram comparadas pelo teste de Tukey, também a 5% de significância. Todas as análises foram realizadas utilizando o software R.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para o pré-tratamento na concentração a 1% de ácido estão plotados no gráfico a seguir:

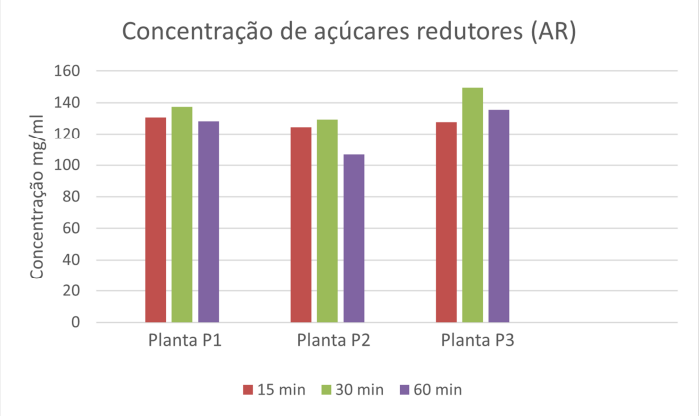


Figura 1 – Concentração de açúcares redutores a 1% de ácido

Em avaliação a 1% de ácido sulfúrico, a amostra pré-tratada não apresentou mucilagem visível e alíquotas uniformes puderam ser coletadas para análise de açúcares redutores. Quando submetido a teste de *Tukey*, o tempo de 30 minutos se mostrou mais eficaz na liberação de açúcares redutores, sendo considerado o ideal para o pré-tratamento da biomassa lignocelulósica de *C. hildmannianus*

O resultado do pré-tratamento foi semelhante ao obtido por Barbosa (2015) em seu estudo utilizando *Opuntia*, onde obteve o mesmo tempo e temperatura ideal para essa cactácea.

Quando analisadas no software R, as plantas P1 e P3 não apresentaram diferença estatística entre si, enquanto a planta P2 apresentou ser um pouco inferior. A diferença observada entre as plantas pode estar relacionada a variações fisiológicas e estruturais da biomassa, como idade do tecido, teor de lignina, grau de lignificação e disponibilidade hídrica. Plantas que estão mais expostas à radiação solar também tendem a apresentar maior deposição de compostos estruturais, o que pode influenciar na eficiência do pré-tratamento. Essas variáveis devem ser consideradas em estudos futuros para uma melhor padronização da biomassa.

Quando submetida a concentração de 0,5% de ácido, a biomassa apresentou grande quantidade de mucilagem, podendo estar relacionada à alta concentração de polissacarídeos hidrofílicos característicos de cactáceas, como pectinas e hemiceluloses solúveis (Medeiros et al., 2024). Devido a concentração branda, a ruptura eficiente da matriz lignocelulósica não aconteceu, comprometendo a homogeneização das amostras e dificultando análises quantitativas, como a determinação de açúcares redutores.

Na concentração de 2% de ácido sulfúrico, o licor pré-tratado no tempo de 15 minutos, acabou apresentando precipitados após neutralização prévia a reação de *DNS*, se mostrando agressiva demais. Segundo Deshavath (2020) a formação

destes precipitados após neutralização pode estar associada à degradação de açúcares e formação de subprodutos, como o furfural e hidroximetilfurfural (HMF), bastante comuns em hidrólises ácidas severas

CONCLUSÕES

Dessa maneira, os resultados obtidos demonstram que o equilíbrio entre intensidade do tratamento e preservação dos açúcares é determinante para a eficiência do processo, sendo o pré-tratamento com 1% de ácido sulfúrico por 30 minutos a condição mais adequada para a biomassa de *C. hildmannianus*.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação Araucária pelo apoio financeiro concedido por meio da bolsa de iniciação científica, fundamental para o desenvolvimento deste trabalho. Deixo também meus agradecimentos à Universidade Estadual de Maringá (UEM) e aos Laboratórios de Bioquímica de Plantas Bioplan e de Genética e Biotecnologia Vegetal da UEM.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, K. L. **Produção de etanol 2G através de *Opuntia ficus-indica* utilizando *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyveromyces marxianus***. 2015. Dissertação (Mestrado Profissional em Energia da Biomassa) – Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo, 2015.

DESHAVATH, N. N.; MUKHERJEE, G.; GOUD, V. V.; VEERANKI, V. D.; SASTRI, C. V. Pitfalls in the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) assay for the reducing sugars: Interference of furfural and 5-hydroxymethylfurfural. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 156, p. 180–185, 2020.

G. L. MILLER; Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Anal**. Chem. 1 March 1959; 31 (3): 426–428.

MEDEIROS, V. P. B.; OLIVEIRA, K. Á. R. de; QUEIROGA, T. S.; SOUZA, E. L. Development and application of mucilage and bioactive compounds from Cactaceae to formulate novel and sustainable edible films and coatings to preserve fruits and vegetables—A review. **Foods**, v. 13, n. 22, p. 3613, 2024.

SILVA, A. S.; SANTOS, R. S.; OLIVEIRA, M. F. Etanol de segunda geração: perspectivas e desafios na produção de biocombustíveis. **Multiciência Online**, Santiago, v. 8, n. 3, 2021.