Anais do I Workshop do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis da UFVM – UFU & II Workshop do Núcleo de Biorrefinaria da Rede de Química do Estado de Minas Gerais

Universidade Federal de Uberlândia, Campus Santa Mônica

Uberlândia – Minas Gerais

13 de novembro de 2016

Organização:

Prof. Dr. Alexandre Soares dos Santos (UFVJM)
Prof. Dr. Leandro Vinícius Alves Gurgel (UFOP)
Profa. Dra. Miria Hespanhol Miranda Reis (UFU)
Prof. Dr. Daniel Pasquini (UFU)

Comitê Científico

Núcleo de Biorrefinaria da RQ-MG

Daniel Pasquini; Reinaldo Ruggiero; Antônio Carlos Ferreira Batista; Waldomiro Borges Neto; Harumi Otaguro; Rosana Maria Nascimento de Assunção; Antônio Carlos Ferreira Batista; Anizio Marcio de Faria; Patrícia Santiago Oliveira Patrício; Miria Hespanhol Miranda Reis; Patterson Patrício de Souza; Alexandre Soares dos Santos; Márcio José da Silva; Laurent Frederic Gil; Ricardo Reis Soares; Leandro Vinícius Alves Gurgel; Sérgio Francisco de Aquino; Rosana Maria Nascimento de Assunção; Daniel Alves Cerqueira; Luís Carlos de Morais; Vânya Márcia Duarte Pasa.

Programa de Pós-graduação em Biocombustíveis – UFVJM/UFU

Alexandre Soares dos Santos; Alexandre Walmott Borges; Alexandre Sylvio Vieira da Costa; Anizio Marcio de Faria; Ana Paula de Figueiredo Conte Vanzela; Antônio Ricardo Evangelista; Arlete Barbosa dos Reis; Carlos Frederico de Souza Castro; Daniel Pasquini; David Lee Nelson; Douglas Queiroz Santos; Edivaldo dos Santos Filho; Fernando César Juliatti; Guimes Rodrigues Filho; Jakelyne Viana Coelho; José Domingos Fabris; Juan Pedro Bretas Roa; Lílian de Araújo Pantoja; Marcelo Luiz de Laia; Márcio César Pereira; Milla Alves Baffi; Moilton Ribeiro Franco Junior; Nísia Andrade Villela Dessimoni Pinto; Paulo Henrique Fidêncio; Reginaldo de Camargo; Reinaldo Ruggiero; Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz; Rogério Alexandre Alves de Melo; Sandro Luiz Barbosa dos Santos; Vívian Machado Benassi.

Realização

Universidade Federal de Uberlândia – UFU
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM
Rede de Química do Estado de Minas Gerais – RQ-MG

Apoio

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG
Conselho Regional de Química / Minas Gerais – CRQ-MG

PROGRAMAÇÃO

DIA 13/11 – MANHÃ

08:00 **-** Recepção

08:30 – Abertura: Prof. Dr. Alexandre Soares dos Santos (UFVJM – Coordenador do I Workshop do Programa de Pós-graduação em Biocombustíveis) e Prof. Dr. Leandro Vinícius Alves Gurgel (UFOP – Coordenador do II Workshop do Núcleo de Biorrefinaria da RQ-MG)

09:00 – Palestra: Dr. Carlos Frederico de Souza Castro (IFGOIANO) – *"Uso de pré-tratamentos e coquetéis enzimáticos para etanol celulósico a partir de bagaço de cana de açúcar"*

09:45 – Intervalo para café e Sessão de painéis

10:30 – Palestra: Dr. Bruno Eduardo Lôbo Baêta (UFOP) – *"Aproveitamento energético a partir da digestão anaeróbia de hidrolisado hemicelulósico gerado pelo pré-tratamento por auto-hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar considerando o contexto da biorrefinaria"*

Apresentação oral: trabalhos selecionados

11:20 – Msc. Carlos André Gonçalves – "*Análise biométrica de cana de açúcar submetida à adubação com organomineral à base de torta de filtro*"

11:40 – MSc. Wayler Silva dos Santos - "*Avaliação preliminar de fotocélulas baseadas em* $BiVO_4/Bi_4V_2O_{11}$ *para conversão de energia: oxidação fotoeletroquímica da água/glicerina*"

12:00 – Intervalo para almoço

DIA 13/11 – TARDE

13:30 – Palestra: Sr. Douglas Martins (Gerente administrativo da SIAMIG) – *"Cenário Atual e Perspectiva do Setor Sucroenergético"*

Apresentação oral: trabalhos selecionados

14:20 – MSc. Ilva de Fátima Souza - "*Caracterização e identificação de fungo filamentoso isolado de casca de coco indaiá (Attalea dubia) com potencial para produção de enzimas holocelulolíticas*"

14:40 - Dr. Carlos Frederico de Souza Castro - "*Produção de etanol de bagaço de cana-de-açúcar, com pré-tratamento ácido diluído associado à radiação de micro-ondas e caldos enzimáticos brutos*"

15:00 - Intervalo para café e Sessão de painéis

Apresentação oral: trabalhos selecionados

15:45 – BSc. Thiago Alves Lopes Silva – "*Avaliação do efeito da explosão a vapor catalisada por NaOH na composição química e estrutural do bagaço de cana-de-açúcar*"

16:05 – MSc. Myrlene de Oliveira Ottone – "*Aplicação de SiO_2-SO_3H na síntese de cetais empregando glicerol bruto oriundo da transesterificação de triglicerídeos como reagente*"

16:30 – Prêmio Manuel Hernandez e Encerramento

17:00 – Reunião de trabalho do Núcleo de Biorrefinaria da RQ-MG

18:00 - Confraternização

Trabalhos apresentados no I Workshop do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis & II Workshop do Núcleo de Biorrefinaria da RQ-MG

Título	Autores	Pág.
A soja na matriz energética: o biodiesel.	Leonardo Martins Pereira	1
Análise biométrica de cana de açúcar submetida à adubação com organomineral à base de torta de filtro.	Carlos André Gonçalves, Narcisa Silva Soares, Reginaldo Camargo, Nathália Dias Araújo, Vinícius Cardoso Sabino e Robson Thiago Xavier de Sousa	3
Análise da variabilidade genética de progênies de macaúba (*Acrocomia aculeata*).	Flavia Campos Vieira, Ariadne Marques e Marcelo Luiz de Laia	5
Aplicação de SiO_2-SO_3H na síntese de cetais empregando glicerol bruto oriundo da transesterificação de triglicerídeos como reagente.	Sandro L. Barbosa, Myrlene O. Ottone, Maisa C. Santos, Camila D. Lima, Gabriela R. Hurtado e Stanley I. Klein.	7
Aplicação da mistura catalítica, SiO_2-SO_3H, na síntese de di-metóxi e tri-metóxi éteres de glicerol, importantes aditivos para o biodiesel e o diesel.	Sandro L. Barbosa e Melina A. Rodrigues	9
Avaliação da mirmecofauna em cana-de-açúcar submetida à adubação com biossólido.	Narcisa Silva Soares, Carlos André Gonçalves, Reginaldo Camargo, Milene Nunes Carvalho e Robson Thiago Xavier de Sousa	10
Avaliação da mirmecofauna em cana-de-açúcar submetida à adubação com organomineral à base de torta de filtro.	Narcisa Silva Soares, Carlos André Gonçalves, Reginaldo de Camargo, Jaqueline Elise Garcia Chiesa e Robson Thiago Xavier de Sousa	12
Avaliação de meios de cultivo para a fermentação alcoólica de D-xilose por leveduras selvagens pré-selecionadas.	Gabriela M. P. Barbosa, Angeliane D. Reis, Rafael H. R. Gomes, Lilian A. Pantoja e Alexandre Soares dos Santos	14
Avaliação de parâmetros biométricos da cana-de-açúcar submetida à adubação com biossólido.	Carlos André Gonçalves, Narcisa Silva Soares, Reginaldo Camargo, Nathália Dias Araújo, Vinícius Cardoso Sabino e Robson Thiago Xavier de Sousa	16

Avaliação do crescimento celular e análise da composição de microalgas com potencial para a produção de biocombustíveis.	Marina Lemos Sartori, Fernanda Silva Monção, Lílian Araújo. Pantoja e Alexandre Soares dos Santos	18
Avaliação do efeito da explosão a vapor catalisada por NaOH na composição química e estrutural do bagaço de cana-de-açúcar.	Thiago Alves Lopes Silva, Hernán Dário Zamora Zamora, Leandro Henrique Ribeiro Varão, Daniel Pasquini e Milla Alves Baffi	20
Avaliação do pré-tratamento do inoculante e da combinação de substratos sobre a produção de biogás a partir de glicerol bruto, dejetos suínos e glicose.	Fidel Alejandro Aguilar-Aguilar, Júlia Carvalho, Thamires Soares, Lílian Araújo Pantoja e Alexandre Soares dos Santos	22
Avaliação preliminar de fotocélulas baseadas em $BiVO_4/Bi_4V_2O_{11}$ para conversão de energia: oxidação fotoeletroquímica da água/glicerina.	Wayler S. dos Santos, Mariandry V. Rodriguez, André S. Afonso, João P. Mesquita, Luiz C. A. Oliveira, José D. Fabris e Márcio César Pereira	24
Caracterização e identificação de fungo filamentoso isolado de casca de coco indaiá (*Attalea dubia*) com potencial para produção de enzimas holocelulolíticas.	Ilva F. Souza, Jéssica P. Matos, Lílian Araújo Pantoja, Ana Paula F. C. Vanzela e Alexandre Soares dos Santos	26
Caracterização físico-química das vinhaças in natura e tratadas com *Candida utilis*: subsídio à produção de biomassa proteica e à redução da carga poluente.	Juliana R. M. Pires, Paulo H. Grazziotti, Nísia A. V. D. Pinto, Arlete B. Reis, Marcus H. Canuto, Maria Lúcia F. Reis, Carla L. B. Borges, Daniela C. S. Oliveira e David Lee Nelson	28
Codigestão anaeróbica de resíduo de manga e dejeto suíno para produção de biogás.	Fidel Alejandro Aguilar-Aguilar, Alexandre Soares dos Santos, Sergio Perez Fabiel, P.J e Sebastian e Gustavo Yáñez-Ocampo	31
Efeitos da temperatura, tempo e concentração de substrato na síntese de hemicelulases a partir de resíduos de Alstroemeria sp. usando o fungo *Pleurotus ostreatus.*	Hernán D. Zamora Z., Thiago A. L. Silva, Leandro H. R. Varão, Daniel Pasquini e Milla Alves Baffi	33
Hidrólise, destoxificação e fermentação da fração hemicelulósica da torta de dendê (*Elaeis guineensis*) com linhagens de *Scheffersomyces stipitis.*	Philipe Luan Brito, Gabriela Maria Pereira Barbosa, Lílian de Araújo Pantoja e Alexandre Soares dos Santos	35

Hidrólise-hidrogenação catalítica do óleo de soja visando à produção de ácidos graxos livres saturados.	C. A. B. Crisóstomo , K. M. Souza , T. S. S. Almeida e R. R Soares	37
Isolamento, seleção e identificação de leveduras selvagens com habilidade para conversão de xilose a etanol.	Raquel Valinhas e Valinhas, Alexandre Soares dos Santos e Lílian de Araújo Pantoja	40
Otimização da produção de celulases e hemicelulases por *Aspergillus niger* utilizando sorgo biomassa como fonte de carbono e variando as fontes de nitrogênio.	Lídia Manfrin Dias, Carlos Juliano Brant Albuquerque, Daniel Pasquini e Milla Alves Baffi	42
Otimização do pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com ácido acético e investigação dos efeitos sobre sua estrutura e composição físico-química.	Carlos A. P. de Oliveira, Ione L. S. de Almeida e Ricardo R. Soares	44
Pré-tratamento e hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar.	Patrísia de Oliveira Rodrigues, Beatriz Vieira dos Santos, Milla Alves Baffi, Daniel Pasquini e Leandro Vinícius Alves Gurgel	46
Produção de ésteres metílicos (biodiesel) e estudo de imobilização com as lipases produzidas por *Trichoderma pseudokoningii* e *Bauveria bassiana* com atividade de transesterificação.	Andressa T. Vieira, Ana C. Vici, Marita G. Pereira, Maria L.T.M. Polizeli, Rosana M.N. Assunção, Anízio M. Faria e Antônio C. F. Batista	48
Produção de etanol de bagaço de cana-de-açúcar, com pré-tratamento ácido diluído associado à radiação de micro-ondas e caldos enzimáticos brutos.	João P. L. do Nascimento, Natália C. Rodrigues, Aline S. Sousa, Carlos F. de S. Castro, Fábio H. Dyszy, Edson L. Souchie, Caio O. Gorgulho e Edivaldo X. Ferreira Filho	50
Produção de etanol de mandioca com extratos enzimáticos brutos dos isolados fúngicos FLQT1-1, FLQT4-1 e FLQT6-1.	Jose Wilson Batista Silva Junior, Manoel Aguiar Neto Filho, Helen Carolina Santos, Carlos Frederico De Souza Castro, Fábio Henrique Dyszy e Edson Luiz Souchie	52
Ramas de batata-doce como biomassa lignocelulósica para a produção de etanol de segunda geração.	Silvania Saldanha da Silva Pinto, Daniel José Silva Viana, David Lee Nelson e Roberta Luíza Saldanha Pinto	54
Seleção e identificação de microalgas dulcícolas com o propósito de produção de biocombustíveis	Marina Lemos Sartori, Fernanda Silva Monção, Lílian Araújo Pantoja e	56

de terceira geração.	Alexandre Soares dos Santos	
Síntese do éster “Oleato de Solketila” a partir da esterificação do solketal com ácido oléico empregando a mistura catalítica SiO_2-SO_3H.	Melina A. Rodrigues, Sandro L. Barbosa e Maísa C. Santos	58

A soja na matriz energética: o biodiesel

Leonardo Martins Pereira (PG)

Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFVJM-UFU *

Palavras Chave: *Biodiesel; Políticas Públicas; Estado Socioambiental.*

1 - Introdução

A soja, ao que se sabe, é umas das leguminosas mais importantes do mundo, originária do leste da Ásia, no Brasil surgiu no Rio Grande do Sul, onde encontrou condições climáticas favoráveis ao seu desenvolvimento. O trabalho também analisará a consolidação da soja no cerrado brasileiro, o que levou o Brasil a se tornar um grande produtor mundial da cultura.

Será que a incorporação do biodiesel na matriz energética brasileira, que tornou obrigatório a mistura de biodiesel no diesel de petróleo é o que fará a diferença na viabilidade da produção do biodiesel ou será que não será necessário ou recomendado um plano nacional desvinculado da Agencia Nacional do Petróleo? Hoje a lei determina a mistura de 7% de biodiesel ao óleo diesel, com a nova redação da Lei nº. 13.033/2014, dada pela Lei nº. 13.263, de 2016, esse percentual será de 8% até um ano depois da edição da lei e chegará a 10% passados 36 meses de vigor da lei.

Como se sabe, a viabilidade técnica de processar o petróleo pesado produzido na Bacia de Campos é limitada, existe, a curto prazo, uma sólida possibilidade para se introduzir o biodiesel na matriz energética brasileira, seja como mistura ao diesel, seja como combustível exclusivo ou para a substituição parcial do petróleo importado.

A introdução de um combustível renovável na matriz energética em substituição ao diesel mineral não pode ser vista unicamente pela lógica econômica. Essa substituição tem dimensões estratégicas, contribuindo para amortecer os impactos dos aumentos de preço internacional do petróleo, devido a causas estruturais e conjunturais do setor, bem como pode ser utilizado como um instrumento de políticas públicas que resultam em melhor qualidade de vida nas cidades e no campo, uma vez que pode representar alternativa de emprego e renda para setores ainda hoje marginalizados dos processos econômico e produtivo, como é o caso da agricultura familiar.

2 - Material e Métodos

O presente trabalho visa analisar a sojicultura, ou seja, a soja e a agroindústria, mais especificamente a possibilidade e a viabilidade da introdução da soja na matriz energética brasileira.

Assim, será analisado a soja, a planta, seu cultivo, perspectiva nacional e internacional, seu preço, custo e a possibilidade do seu processamento e a produção de biodiesel.

3 - Resultados e Discussão

O Brasil possui condições de solo e clima para produção de oleaginosas em todo território, tanto pode ser de culturas nativas, caso do babaçu, quanto cultivadas, como a mamona e o dendê. Outra possibilidade são as culturas que já estão estabelecidas, caso da soja. Além das condições de produção de oleaginosa, a tecnologia de obtenção de óleo de soja está presente em todas as regiões do país.

A soja não é a opção mais atrativa para produção de biodiesel, no que concerne ao custo de produção do seu óleo, quando comparada com outras oleaginosas, como se pode ver na Tabela 3. Entretanto, a escala de produção, as opções de conversibilidade do produto e a forma como está estruturado o seu complexo, colocam o biodiesel de soja como uma alternativa a ser fortemente considerado.

Tabela 1. Estimativa do potencial em óleo por hectare de algumas oleaginosas.

Matéria prima	Rendimento do cultivo (kg/hectare)	Conteúdo de óleo considerado (%)	Potencial de óleo (kg/hectare)	Uso de terra (hectares/ton de óleo)
Dendê (côco)	9479(*)	20	1896	0,5
Amendoim (em casca)	2018(*)	41,5	837	1,2
Milho (grão)	3254(*)	6,5	211	4,7
Soja (grão)	2558(*)	18,5	473	2,1
Coco da baía (fruto)	3146(*)	57	1793	0,6
Algodão (caroço)	459(*)	15	69	14,5
Mamona	643(**)	46	296	3,4
Girassol	1342(***)	48	644	1,6
Canola	1200(#)	42	504	2,0

(*)=calculado pela média de rendimento no Brasil entre 2000 e 2004. Fonte, IBGE, 2006.
(**)=média Brasil safra 2003/04. Fonte: CONAB. Levantam. Fev 2005.
(***)=calculado pela média de rendimento no Brasil, no ano de 2005. Fonte: IBGE, 2006.
(#)=média de rendimentos no Rio Grande do Sul. GLOBO RURAL, 2006.
Peso médio do coco da baía considerado=500g

O óleo de soja é, somente, um dos componentes do sistema produtivo da soja. Sua produção é condicionada à demanda do mercado externo de farelos e de tortas; no mercado interno essa produção concorre para o abastecimento nacional de óleos comestíveis, participando da cadeia alimentícia da população, que se apresenta estável conforme tabelas já colacionados.

Os grandes grupos detêm a capacidade de esmagamento e a produção de biodiesel. Atualmente existem 52 plantas produtoras de biodiesel autorizadas pela ANP para operação no País, correspondendo a uma capacidade total autorizada de 20.310,11 m³/dia.

Segundo o boletim mensal do biodiesel da ANP, existe ainda 2 novas plantas de biodiesel autorizadas para construção e 1 planta de biodiesel autorizada para aumento

de capacidade de produção, o que representaria um acréscimo de 9,87 % na capacidade atual. Nossa capacidade mensal de produção é de 609.303 m³ de Biodiesel, entretanto a nossa produção é de 271.388 m³ mensal, o que significa um potencial de produção de combustível sem necessidade de investimento em toda cadeia produtiva de biodiesel.

A soja, como já dito anteriormente, tem uma cadeia produtiva bem estruturada, tanto no plantio, quanto na tecnologias de produção, ou seja uma cadeia bem definida e moderna, com uma ampla rede de pesquisa que assegura pronta solução de qualquer novo problema que possa aparecer na cultura.

A produção de biodiesel a partir da soja pode ter uma estratégia de aproveitamento de parte da capacidade nominal de esmagamento instalada no país que se encontra com mais de 40% de ociosidade. Para completar o processo produtivo de biodiesel seria necessário incorporar as unidades de transesterificação às plantas de esmagamento. Isto significa que não alteraria a atual distribuição do controle segmento agro-industrial, onde 50% são controlados por quatro grupos econômicos.

Pasquis (2004) observa que as restrições a entrada de novas empresas está levando a concentrar o controle do setor de esmagamento em poder de grandes grupos econômicos internacionais. No caso de produção do biodiesel, esta tendência não deve mudar uma vez que é no segmento de produção de óleo que repousa as melhores oportunidades de melhoria futura da competitividade do complexo soja.

No que se refere á sustentabilidade social, o biodiesel de soja também não se apresenta sustentável, uma vez que em pouco alterará o perfil da ocupação de mão-de-obra do complexo da soja. Cabe aqui lembrar que a produção de soja é uma atividade concentradora de renda e socialmente excludente.

Com relação à geração de empregos, a opção por biodiesel de soja pode não ser a mais apropriada, sobretudo quando comparada com outras oleaginosas, como a mamona. Uma usina de beneficiamento de soja, com capacidade de esmagamento de 2,5 t/dia, pode empregar 40 pessoas e o acréscimo de 2.500.000 t/ano, geraria em torno de 11.000 empregos; enquanto a produção de biodiesel de mamona tem como meta prevista pelo Governo Federal para 2010 assentar 153 mil famílias e gerar 1.350.000 empregos em toda a cadeia produtiva do biodiesel. Essa meta é resultado de uma projeção da capacidade de produção de 1.500.000 t/ano de biodiesel de mamona que permitirá uma mistura de até 5% ao diesel.

Dessa forma, tomando-se como referência a mamona, o biodiesel de soja não tem sustentabilidade social. Pode-se inferir que o biodiesel de soja tem sustentabilidade estratégica duvidosa, visto que sua produção tende a ficar com grandes grupos econômicos, em sua maioria, internacionais.

O biodiesel de soja apresenta vantagens competitivas com relação a custo de produção, regionalização e mercado internacional, mas sua produção apresenta dimensões ambientais e sociais duvidosas, como já salientado.

A produção de biodiesel pode representar uma alternativa concreta para geração de emprego e de renda no campo, caso ocorra a promoção e a inclusão social de agricultores familiares, ou seja, dependerá de políticas públicas.

O Governo Federal, por meio do Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar (Pronaf), considerando a importância da agricultura familiar e levando em conta as possibilidades do setor, deverá disponibilizar linhas de financiamento e de incentivos fiscais para o cultivo de matérias-primas para combustível renovável, beneficiando famílias, que produziriam oleaginosas para atender o mercado de biodiesel.

Sabemos que será necessário novos estudos e principalmente uma implementação de um plano de governo, que viabilize efetivamente a industrialização da soja, a produção de biodiesel, não como um plano subsidiário a Agencia Nacional de Petróleo, mas como uma revolução agroindustrial, incentivando o desenvolvimento das regiões produtoras, no caso os planaltos centrais do Brasil, onde a soja tem um preço atrativo e pode gerar emprego e renda.

4 - Agradecimentos

Agradecimento à UFVJM-UFU pelo apoio.

5 - Bibliografia

BRASIL. Secretaria de Comunicação de Governo e Gestão Estratégica da Presidência da República. Informativo N° 270 – Brasília, 05 de janeiro de 2014.

CONSTANTINO, Carlos Ernani Delitos ecológicos: a lei ambiental comentada artigo por artigo: aspectos penais e processuais penais / Carlos Ernani Constantino. 3.ed. São Paulo : Atlas, 2005.

COSTA, José Antonio. ultura da soja / José Antonio Costa. Porto Alegre : Evangraf, 1996.

FERES, Paulo Fernando Dias. Os biocombustíveis na matriz energética alemã: possibilidades de cooperação com o Brasil / Paulo Fernando Dias Feres. Rio de Janeiro : FUNAG, 2010

FONSECA. M. A. N. "Projeto OVEG – Programa de Óleos Vegetais". X Encontro dos Centros de Apoio Tecnológico (CAT). Secretaria de Tecnologia Industrial (STI).

HOLANDA, A. – Biodiesel e a Inclusão Social – Cadernos de Altos Estudos da Câmara dos Deputados – Brasília – 2013.

MARQUES, Benedito Ferreira. Direito agrário brasileiro / Benedito Ferreira Marques; colaboração [de] Carla Regina Silva Marques. 6.ed., rev. e ampl. São Paulo : Atlas, 2011.

PASQUIS, R. – Etude Préliminaire en Vue de l'Evolution des Projets de Reforme Agraire en Amazonie Legal – Relatório de Pesquisa – CIRAD-UnB-CenDoTec- 2011.

ROESSING, A.C. & STOLF, L.C. Soja: aspectos econômicos e contribuição para o crescimento da economia brasileira. 2008.

SOJA: do plantio à colheita./editores: Tuneo Sediyama, Felipe Silva, Aluízio Borém. Viçosa. MG: Ed. UFV, 2015

Tecnologias de produção de soja / Álvaro Antônio Nunes Viana...[et al.]; Tuneo Sediyama [editor]. Londrina : Mecenas, 2013.

ANÁLISE BIOMÉTRICA DE CANA DE AÇÚCAR SUBMETIDA À ADUBAÇÃO COM ORGANOMINERAL À BASE DE TORTA DE FILTRO

Carlos André Gonçalves (PG/PQ) [a,b], Narcisa Silva Soares (PQ) [b], Reginaldo Camargo (PQ)[a,c], Nathália Dias Araújo (PQ)[b], Vinícius Cardoso Sabino (PG/PQ)[a,b], Robson Thiago Xavier de Sousa (PQ)[d]

[a]Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFU-UFVJM, [b]Instituto Luterano de Ensino Superior de Itumbiara/ILES/ULBRA, [c]Departamento de Ciências Agrárias/UFU, [d]Companhia Mineira de Açúcar e Álcool-Vale do Tijuco *****(carlosag@outlook.com.br)

Palavras Chave: *Cana de açúcar, biometria, torta de filtro, adubação, Saccharum.*

1 - Introdução

A cana de açúcar possui um ciclo de 5 anos, apresentando um número médio de 5 cortes, a produtividade média é aproximadamente 85 toneladas por hectare, com rendimento em açúcar de 138 kg por tonelada, rendimento de etanol de 82 litros por tonelada e balanço energético de 1:9,3 (BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2014)[1]. Possui a torta de filtro como um dos resíduos provenientes do processo de clarificação do açúcar, composto pela mistura de bagaço moído e do lodo da decantação, sendo que para cada tonelada de cana moída, são produzidos cerca de 30 a 40 kg de torta (Santos et al, 2010).

De Almeida Júnior et al (2011)2 avaliaram os efeitos da aplicação de doses de torta de filtro e de fertilizante mineral sobre os atributos químicos do solo para determinar qual a melhor combinação dessas fontes na produção de massa seca de cana de açúcar e observaram que a aplicação de torta de filtro promoveu uma melhoria na fertilidade do solo, sendo que as plantas responderam favoravelmente à adubação.

Portanto, percebe-se que a utilização da torta de filtro na adubação da cana de açúcar pode ser uma forma de destinação desse resíduo além de trazer benefícios para a cultura, com isso o objetivo do trabalho foi avaliar a produtividade, a partir de parâmetros biométricos, da cana de açúcar submetida à adubação com torta de filtro.

2 - Material e Métodos

O ensaio experimental ocorreu na Fazenda São José – Usina CMAA Vale do Tijuco da Cooperativa Mineira de Álcool e Açúcar, no município de Prata – MG, com o cultivo da variedade de cana-de-açúcar RB 92579. A área amostral do delineamento com a cana-de-açúcar foi dividida em 24 blocos casualizados com três metros entre si. Cada bloco composto por cinco linhas de 10 metros de comprimento com espaçamento entre si de 1,5 metros. Neste delineamento foram realizados seis tratamentos: 50% (T1), 100% (T2), 150% (T3), 200% (T4) de porcentagens de torta de filtro enriquecida, sendo a dosagem de torta de filtro definida pelo teor de NPK necessário para cultura da cana, baseado na dosagem utilizada pela usina além do controle negativo (C-), sem adubação e do controle positivo (C+), com adubação química de NPK, recomendado pela usina, com quatro repetições para cada tratamento. A aplicação do adubo à base de torta de filtro foi realizada no momento do plantio, após seis meses do plantio e após o primeiro corte da cana-de-açúcar equivalendo a um ano, totalizando 3 aplicações do organomineral.

A medida do diâmetro foi realizada com a utilização de um paquímetro no terço médio do colmo. O comprimento médio dos colmos afere-se com auxílio de uma trena e o número de colmos por hectare foi estimado pela contagem dos colmos totais da parcela ou das três linhas centrais. Utilizando os dados obtidos e considerando densidade igual a 1 utilizou-se a metodologia sugerida por Martins e Landell (1995)[3] na qual: **$TCH=D^2 \times C \times H \times (0{,}007854/E)$** em que; **D**= diâmetro de colmos (cm); **C**=número de colmos por metro linear; **H**= comprimento médio de colmos (cm); **E**=espaçamento entre sulcos (m). Os resultados obtidos foram submetidos à analise de variância (Teste F) e, quando significativo, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3 - Resultados e Discussão

Os resultados demostram que os diferentes tipos de adubação aplicado no cultivo da cana-de-açúcar variaram significativamente para os parâmetros registrados (Tabela 1).

Tabela 1 – Variáveis biométricas* para cultivar de cana-de-açúcar RB 92579 submetida à diferentes concentrações de adubação com Lodo de Esgoto, com 10 meses de idade, 1º corte, safra 2015/2016.

Tratamentos	Diâmetro mm	Altura cm	Nº Colmo	TCH $t.ha^{-1}$
Fonte				
C-	27,59a	13,53a	10,41a	56,17a
C+	28,15a	15,93b	10,18a	67,29b
T1	28,10a	14,60c	10,68a	64,52b
T2	28,43a	14,52a,c	11,08a,b	67,15b
T3	28,64a	14,53a,c	10,71a	66,89b
T4	33,87b	15,61a	11,67b	109,43c

*Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna, para cada atributo, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Os diâmetros do colmo das plantas foram superiores quando adicionado um valor nutricional referente à torta de filtro à 200% (F = 19,694; gl = 5; p = 0,000). De

acordo com a análise feita no comprimento do colmo o controle positivo foi o que teve um maior desenvolvimento, diferindo significativamente com os tratamentos T1, T2 e T3 (F=10,018; gl=5; p=0,000). Entretanto, o tratamento T4 com 200% de torta de filtro apresentou média semelhante ao controle positivo.

O número de colmos industrializáveis também apresentou diferença significativa entre as fontes de adubação (F=7,441; p=0,000), obtendo maiores valores o tratamentos com torta de filtro a 200% (T4).

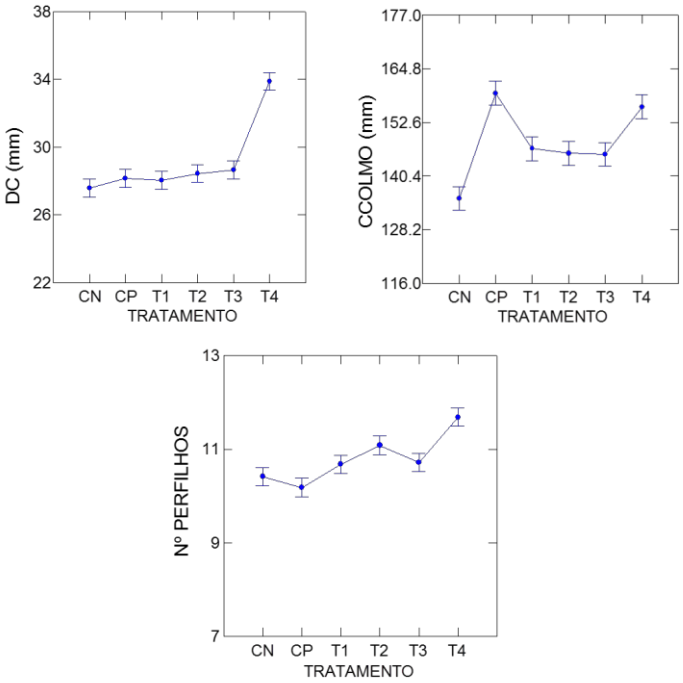


Figura 1. Análise de variância dos parâmetros biométricos avaliados na cultivar de cana-de-açúcar RB 92579, 92579 submetida à diferentes concentrações de adubação com Torta de filtro enriquecida, com 10 meses de idade, 1º corte, safra 2015/2016. (DC: diâmetro do colmo; CColmo: altura de comprimento de colmo; Perfilhos: nº de colmo industrializáveis).

O tratamento que apresentou os melhores resultados estimados de produtividade de cana, ou TCH, foi o com adubação com torta de filtro a 200% (T4), com 109,43 t ha-1, seguido pela adubação de100% (T2), com 67,15 t ha-1. Já o tratamento que obteve o menor valor de TCH foi controle negativo, com 56,17 t ha-1 (Tabela 1). Os resultados demonstram que houve diferença significativa entre as fontes de adubação (F=26,268; gl=5; p=0,000), onde o tratamento T4 foi diferente de todos os demais e os tratamentos T1, T2 e T3 não diferiram significativamente do controle positivo com adubação química (Figura 2).

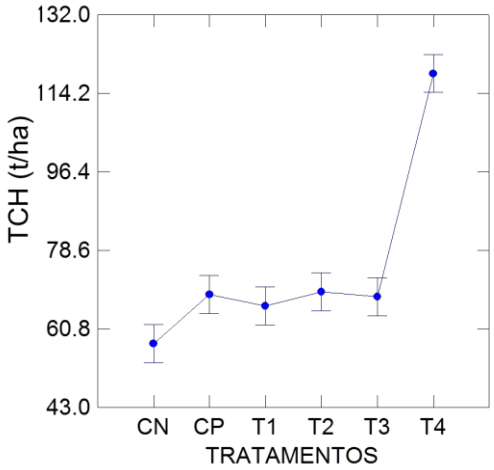


Figura 2. Estimativa de produtividade da cultivar de cana-de-açúcar RB 92579 submetida à diferentes concentrações de adubação com Torta de filtro enriquecida, com 10 meses de idade, 1º corte, safra 2015/2016 (TCH: Tonelada de Cana por Hectare estimada).

Os dados obtidos neste estudo corroboram com os resultados encontraram por Santos et al (2010)[4], os quais avaliaram o crescimento vegetativo e a produtividade da cana de açúcar, em função da adubação com torta de filtro enriquecida com fosfato solúvel e obtiveram que a produtividade de colmos e o perfilhamento foram influenciados pelas doses de torta de filtro, além de não alterarem a qualidade do caldo da cana, ao avaliar o Brix.

4 - Agradecimentos

Agradecemos à CAPES, FAPEMIG, CNPq, UFU, ILES/ULBRA e à Usina Companhia Mineira de Açúcar e Álcool – Vale de Tijuco (CMAA) pela sessão de máquinas, equipamento, área de plantio e cultivar utilizada.

5 - Bibliografia

[1]BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2014 – Anuário estatístico da agroenergia, 2014. Brasília – Brasil, 2014.

[2]DE ALMEIDA JÚNIOR, A. B., DO NASCIMENTO, C. W., SOBRAL, M. F., DA SILVA, F. B., & GOMES, W. A. Fertilidade do solo e absorção de nutrientes em cana-de-açúcar fertilizada com torta de filtro1. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v. 15, n. 10, p. 1004-1013, 2011.

[3]LANDELL, M. G. A.; BRESSIANI, J.A. 2008. *Melhoramento Genético, Caracterização e Manejo Varietal*. In: DINARDOMIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. Cana-de-Açúcar, Campinas: Instituto Agronômico & Fundação IAC. p. 882. 2008.

[4]SANTOS, D. H.; TIRITAN, C. S.; FOLONI, J. S. S.; FABRIS, L. B. Produtividade de cana-de-açúcar sob adubação com torta de filtro enriquecida com fosfato solúvel. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, v. 40, n. 4, p. 454-461, 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/71917>.

Análise da variabilidade genética de progênies de macaúba (*Acrocomia aculeata)*

Flavia Campos Vieira[a], Ariadne Marques[b], Marcelo Luiz de Laia[c]

[a]*Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFVJM (bioflavia76@yahoo.com.br)*
[b]*Doutoranda em Ciência Florestal/UFVJM (ariadne_marqs@hotmail.com),* [c]*Programa de Pós-graduação em Biocombustíveis, Departamento de Engenharia Florestal/UFVJM (marcelo.laia@ufvjm.edu.br)*

Palavras Chave: macaúba, filogeografia, PCR, marcador molecular

1 - Introdução

Nas últimas décadas, a filogeografia, que estuda os padrões intraespecíficos de distribuição da variabilidade genética, com base na relação entre a genealogia e a distribuição geográfica da espécie, tem ganhado espaço em pesquisas na área da biologia evolutiva (1).

As variabilidades genéticas intra e interpopulacional podem ser analisadas mediante investigação do polimorfismo de proteínas e de sequências de DNA (2). Para isso, marcadores moleculares para estudos populacionais e filogeográficos que sejam altamente polimórficos e com altas taxas de mutações são cada vez mais requeridos.

Existe uma preferência por DNA de organelas, pois são geralmente haploides, com herança materna. Para o DNA nuclear, espaçadores de sequências transcritas são muito úteis e, geralmente, se apresentam bastante informativos.

Portanto, o presente estudo teve por objetivo investigar a diversidade genética de progênies de macaúba (*Acrocomia aculeata)* por meio da análise de polimorfismos individuais gerados pela amplificação de regiões ITS, mediante aplicação da técnica de PCR.

2 - Material e Métodos

Amostras de folhas de 42 progênies de *A. aculeata* provenientes de indivíduos de populações nativas foram cedidas pelo coordenador do Banco Ativo de Germoplasma da Macaúba (BAG-Macaúba repositório #:084/2013/CGEN/MMA), o Prof. Sérgio Yoshimitsu Motoike. Após a coleta elas foram armazenadas em sacos plásticos devidamente etiquetados e acondicionados inicialmente em caixa com gelo, e posteriormente em freezer a -80 ºC.

O BAG está localizado na fazenda experimental da Universidade Federal de Viçosa no município de Araponga/MG (20º40'1"S, 42º31'15"W). Suas progênies são provenientes de sementes coletadas nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Paraíba e Rio Grande do Norte.

Tabela 1. Identificação, procedência, latitude, longitude, altitude (Alt.) e número de plantas por progênie (Nip) coletadas do banco de germoplasma de macaúba.

Identificação	Procedência	Latitude	Longitude	Alt. (m)	Nip	Amostras
BGP9	Piranga	20º39.3'34"S	043º18,8'02"W	679	3	3.3, 3.19, 3.20
BGP10	Montes Claros	-	-	-	3	3.14, 3.30, 3.32
BGP17	Pereirinhas – Entre Rios de Minas	20º40'32,0"S	044º12'09,6"W	995	3	3.1, 3.6, 3.42
BGP22	Abaeté – Cedro do Abaeté	19º07'15.9"S	045º51'40.0"W	991	3	3.15, 3.27, 3.38
BGP47	São Paulo	22º29,2'30"S	050º46,3'36"W	399	3	3.16, 3.34, 3.39
BGP49	Bocaiúva	-	-	-	3	3.2, 3.11, 3.41
BGP53	SJDR – Lavras antes trevo de Itumirim	21º17'20.2"S	044º49'15,8"W	930	3	3.8, 3.9, 3.35
BGP71	Antes de Ibiá – Serra do Salitre	19º19'39.8"S	046º38'14.8"W	861	3	3.10, 3.13, 3.28
BGP74	Ponte na BR 040 perto do acesso 62	17º57'39.7"S	045º42'11.9"W	712	3	3.24, 3.36, 3.37
BGP77	Entre Nova Serrana – Conceição do Pará	19º48'05.5"S	044 55 06.0"W	647	3	3.7, 3.18, 3.21
BGP102	Mato Grosso do Sul	21º42'04.8"S	057º53'39.0"W	-	3	3.25, 3.29, 3.40
BGP105	Mato Grosso do Sul	21º28'42.3"S	556º10'03.6"W	-	3	3.4, 3.17, 3.23
BGP112	Macaíba	-	-	-	3	3.12, 3.22, 3.33
BGP123	Paraíba	-	-	-	3	3.5, 3.26, 3.31
Total					**42**	

As amostras foliares armazenadas foram submetidas ao protocolo de extração de DNA descrito por Lanes et al. (2009) (3).

As amostras de DNA total obtidas foram quantificadas em espectrofotômetro por meio das leituras de absorbância em 260 nm e 280 nm e a qualidade foi verificada por eletroforese em gel de agarose 0,8 %, corado com brometo de etídio, submetido a uma tensão de 120 V por cerca de 1h. As amostras foram diluídas em soluções de trabalho para concentração de 25 ng/µL.

Para a amplificação da região ITS dos genes nucleares de DNA ribossomal 18S-26S utilizou-se o par de oligonucleotídeos iniciadores ITS 2 e ITS 5 (WHITE et al., 1990). A reação de amplificação foi realizada em volume de 25 µL com 4,0 µL de DNA, $MgCl_2$ 2,0 mM, 0,5 µL de desoxinucleotídeos, 1,0 µL de cada iniciador, tampão 10x e 0,5 U de enzima Taq DNA polimerase. A reação de PCR foi realizada em termociclador My Cycle-BioRad com uma etapa inicial a 94 ºC por 5 min, 35 ciclos compostos por 3 etapas: 94 ºC por 45 seg, 61 ºC para pareamento dos oligonucleotídeos iniciadores, por 30 seg e 72 ºC por 2 min para a extensão da cópia. Uma etapa final a 72 ºC por 7 min foi adicionada ao programa.

A amplificação mediada pela reação de PCR foi analisada por eletroforese em gel de agarose 1,5 %, em tampão TAE 1X (Tris-acetato, EDTA, pH 8,0), corado com brometo de etídeo e visualizado sob luz UV, em transiluminador (Loccus Biotecnologia Transluminator L. Pix).

3 - Resultados e Discussão

A extração do DNA total a partir das folhas das 42 progênies de *A. aculeata* foi realizada com sucesso.

A integridade do DNA é fundamental para o processo de amplificação por PCR, bem como, para a reprodutibilidade dos produtos obtidos (4). Com base na qualidade das sequências ITS obtidas, foi possível

distinguir geneticamente as progênies estudas. Das 42 amostras analisadas, 24 apresentaram bandas reprodutíveis para os iniciadores ITS 2 e ITS 5 (Figura 1). A ausência de bandas nas demais amostras é um indício de tratar-se de indivíduos muito distintos dos demais, pois os iniciadores ITS 2 e ITS 5 reconhecem e amplificam sequências especificas de DNA. Logo, os polimorfismos gerados resultaram da divergente constituição de nucleotídeos das amostras analisadas.

Figura 1. Análise por eletroforese em gel de agarose 1,5% das 42 progênies analisadas por PCR, com os iniciadores ITS 2 e ITS 5. Onde M representa o marcador de peso molecular.

Das amostras que exibiram bandas de amplificação, apenas duas diferiram das demais. A maioria das amostras apresentaram semelhante padrão, com a presença de uma banda. A amostra 2.35 apresentou duas bandas reprodutíveis. Por sua vez, a amostra 2.31 divergiu de todas as amostras analisadas, quanto a sua constituição genética ao apresentar três bandas nítidas, sendo uma das bandas mais destacada.

Os padrões polimórficos observados na análise das progênies revelaram que, embora ocorram em populações diferentes, alguns indivíduos mostraram-se menos divergentes do que observado entre indivíduos da mesma população.

A menor divergência genética entre as progênies de diferentes regiões pode estar relacionada a questões ecológicas, principalmente se as regiões forem geograficamente próximas (5). E, permite inferir que as pressões evolutivas a que foram divergentemente submetidas, não foi suficiente para promover a supressão de semelhanças genéticas que as aproximam.

Os polimorfismos observados permitiram inferir, ainda, que ocorreu contato secundário entre populações que permaneceram isoladas no passado, uma vez que, observa-se a presença de indivíduos geneticamente distintos em um mesmo espaço geográfico (região ou acesso).

Entende-se que, fatores como a endogamia, deriva genética ou seleção podem alterar a frequência de certos alelos e ocasionar a formação de grupos divergentes dentro das populações (6).

De maneira inversa, o acesso BGP74 apresentou similaridade genética entre todas as progênies analisadas (2.24, 2.36 e 2.37). Ou seja, esta região não apresentou variabilidade genética entre as progênies que nela ocorrem.

Esta ausência de variabilidade genética pode estar relacionada à ocorrência de barreiras geográficas naturais, como serras, que podem levar a uma maior distância genética entre populações (5). E, podem limitar o fluxo gênico da população.

Dessa forma, fatores como o tamanho populacional, sistema de reprodução, fluxo gênico e habitat influenciam na distribuição da variação genética inter e intrapopulacional.

As dissimilaridades moleculares observadas podem justificar e ter contribuído para as diferenças morfológicas entre os indivíduos, o que fundamenta sistematizar a espécie *Acrocomia aculeata* em subespécies.

Destaca-se que, a classificação e o conhecimento detalhado de determinada espécie permitem que seu potencial seja explorado pelo homem. No caso das plantas em processo de domesticação, como a macaúba, este conhecimento é extremamente importante, uma vez que fundamentará os programas de melhoramento genético da espécie.

4 - Conclusões

Os resultados encontrados confirmam a existência de elevada diversidade genética entre e dentro de populações de *Acrocomia aculeata*. O que reforça a necessidade de subdividir a espécie.

5 - Bibliografia

[1]Caicedo, A.L.; Schaal, B.A.. Population structure and phylogeography of *Solanum pimpinellifolium* inferred from a nuclear gene. *Molecular Ecology*, **2004.** 13: 1871-1882.

[2]AVISE, J.C. Molecular Markers Natural History and Evolution. Chapman and Hall, New York. 511pp. 1994.

[3] Lanes, E.C..M; Miranda, G.V.; Fuscaldi, J.L.; Soares, M.O.; Knop, F. C.; Mariguele, K. H.; Figueira, R. A. Otimização da metodologia de extração de DNA genômico em plantas de milho para análise de SSR. In: V Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2009, Guarapari-ES. Anais... Guarapari-ES: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2009. 1CD-ROM

[4] Ferreira, M. E.; Grattapaglia, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998, 220p.

[5] Nucci, S. M. Desenvolvimento, caracterização e análise da utilidade de marcadores microssatélites em genética de população de macaúba. 2007. 82f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico, Campinas.

[6] Loveless, M.D.; Hamrick, J.R. Ecological determinants of genetic structure in plant mutation. Annual Review of Ecology and Systematics, 15: 65-95, 1984.

Aplicação de SiO_2-SO_3H na síntese de cetais empregando glicerol bruto oriundo da transesterificação de triglicerídeos como reagente

Sandro L. Barbosa[1]* (PQ), Myrlene O. Ottone[1](PG), Maisa C. Santos[1](PG), Camila D. Lima[1] (PG), Gabriela R. Hurtado[2] (PQ), Stanley I. Klein[3] (PQ).

[1]Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM. -. Rodovia MGT 367- Km 583 nº 5000 - Alto da Jacuba, 39100-000, Diamantina/MG, Brasil; e-mail: sandro.barbosa@ufvjm.edu.br
[2]Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP, Instituto de Ciência e Tecnologia, Av. Eng. Francisco José Longo, nº 777, Jardim São Dimas, São José dos Campos, SP, Brasil, CEP 12245-000.
[3]Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho – UNESP, Instituto de Química, R. Prof. Francisco Degni s/n, Quitandinha, Araraquara/ SP, Brasil, CEP 14800-900.
Palavras chave: grupo protetores, catalisador heterogêneo, cetalização, glicerol bruto.

Introdução

Devido ao aumento da poluição ambiental causado pelo uso de combustíveis fosseis, somado a escassez futura dessa matéria-prima, o biodiesel vem chamando atenção mundial.[1] Além de ser uma fonte renovável, apresenta propriedades similares ao combustível derivado do petróleo. Com o aumento na sua produção, aumenta consequentemente a formação do seu subproduto, o glicerol. Esse subproduto derivado da reação, é improprio para o consumo industrial, o que se torna um problema no mercado. Afim de reverter essa situação alguns pesquisadores vêm encontrando alternativas para o consumo do glicerol. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi empregar o glicerol bruto como reagentes na síntese de cetais, os quais são importantes grupos protetores de carbonílas de aldeídos e cetonas e importantes intermediários na síntese de tensosativos não iônicos, tais como, os monoglicerídeos ou mesmo utilizados diretamente como aditivos de combustível.[2]

Resultados e Discussão

Neste trabalho, o catalisador heterogêneo por nós desenvolvido,[3] SiO_2–SO_3H, produzido a partir da imobilização de grupos sulfônicos em sílica gel previamente sintetizada a partir de areia de construção/ carbonato e posteriormente aquecida a 400ºC durante 4h. O catalisador foi sintetizado pela adição de ácido sulfúrico à sílica gel, sob agitação durante 12h à t.a. Ambos, sílica e catalisador, foram analisados e determinados por técnicas analíticas, tais como, isotermas de adsorção de nitrogênio (BET), raios-X, IV, ATG e MEV/EDS. O índice de H^+ (1.16 mmols H^+/g) desta mistura catalítica foi determinada por titulação potenciométrica.

As reações de formação dos cetaís empregando glicerol bruto, oriundo da transesterificação de triglicerídeos de óleos e gorduras residuais (0.5 mmol) com cetonas, tais como, ciclohexanona, 4-metilacetofenona, propanona, benzofenona, metiletilcetona (1 mmol) e SiO_2-SO_3H (25% m/m) foram realizadas sob irradiação das micro-ondas durante 5 min, em um meio reacional livre de solventes (tolueno, clorofórmio, benzeno), comumente empregados para reter água, sub-produto da reação e responsável pela reação inversa de hidrolise do cetal. Vale ressaltar que a reação ocorreu livre de solvente, a água formada é retida por adsorção pelo catalisador heterogêneo, deslocando o equilíbrio reacional na direção dos produtos. Esta reação foi acompanhada por CCD, utilizando como eluente uma mistura contendo hexano e acetato de etila (6:4). Após cada processo reacional o catalisador foi lavado em éter dietílico, seco à 200ºC durante 2hs e reutilizado, se mostrando efetivo em até 4 repetições.

A figura abaixo demostra alguns dos produtos por nos sintetizados.

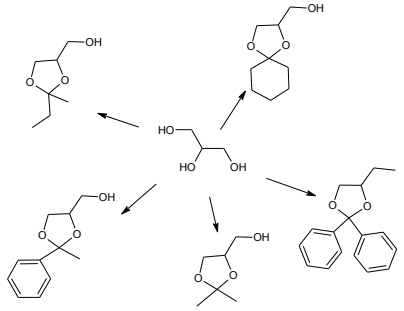


Figura 1: Cetais sintetizados a partir do glicerol bruto

Os rendimentos obtidos foram determinados por CG/EM, variando de 50-98%.

Conclusões

Este trabalho, além de apresentar uma nova metodologia para a produção de cetais, emprega o glicerol bruto, um subproduto da transesterificação de triglicerídeos, como um excelente reagente e de baixo custo. Vale ressaltar que alguns dos produtos por nós sintetizados são importantes aditivos para combustíveis ou mesmo podem ser aplicados como intermediários na síntese de monoglicerídeos.

Agradecimentos

CAPES e FAPEMIG pelo apoio financeiro.

[1] Tielmam. D.; Hill, J.; Lehman C. *Science* **2006**, 314, 1598-1600.

[2] Pawar, R. R.; Jadhav, S.V.; Bajaj, H.C. Chemical Engineering Journal, **2014**, 235.

[3] S. L. Barbosa; et. al./ Catalysis Communtions, **2015**, 68, 97-100.

Aplicação da mistura catalítica, SiO_2-SO_3H, na síntese de di-metóxi e tri-metóxi éteres de glicerol, importantes aditivos para o biodiesel e o diesel.

Sandro L. Barbosa (PQ)[a], Melina A. Rodrigues (IC)[b]

*[a]Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFVJM, [b]Departamento de Farmácia/UFVJM**(sandro.barbosa@ufvjm.edu.br)

Palavras Chave: *Catalisador heterogêneo, glicerol bruto, di-metóxi glicerol éter, tri-metóxi glicerol éter, aditivos.*

1 - Introdução

Os compostos oxigenados (alcoóis e éteres) são utilizados como aditivos para gasolina, aumentando a octanagem de motores de combustão interna e reduzindo a poluição do ar, assegurando uma combustão mais completa do combustível nos motores. Enquanto isso, o uso desses compostos junto ao diesel de petróleo tem a função de reduzir a emissão de gases nocivos (materiais particulados), bem como, a emissão de NO_x. Os alcoóis são menos interessantes, pois possuem uma série de desvantagens, tais como: alta solubilidade em água, alta pressão de vapor de Reid, alto calor latente de vaporização e uma baixo poder calorífico. Estes inconvenientes resultam em problemas tais como: diminuição do fluxo de combustível, aumento da emissão de compostos voláteis, partida fria, problemas de dirigibilidade e baixo poder calorífico. Por outro lado, os éteres, além de possuírem todos os benefícios dos alcoóis, possuem um alto grau de octanagem, aumentam a combustão da gasolina e reduzem as emissões de CO.[1]

2 - Material e Métodos

A eterificação do glicerol com metanol produzindo os isoméricos mono-metoxi éteres de gliceróis (MMEsG); 3-metoxi-1,2-propanodiol e o 2-metoxi-1,3-propanodiol; os di-metoxi éteres de glicerol (DMEsG); 1,3-dimetoxi-2-propanol e o 2,3-dimetoxi-1-propanol, assim como, o tri-metoxi éter de glicerol (TMEG);1,2,3-trimetóxi propano, os quais são utilizados como aditivos para biodiesel e o diesel de petróleo são os principais objetivos deste trabalho.

Neste trabalho um promissor aditivo oxigenado para a gasolina e o diesel de petróleo, composto pela mistura MMEsG, DMEsG e TMEG foi sintetizado. Vale ressaltar, que entre as vantagens desta síntese, está o baixo preço das matérias-primas, já que o metanol é muito mais barato do que o isobutileno ou o álcool *t*-butílico geralmente empregado na síntese de aditivos, assim como, uma grande quantidade de glicerol bruto foi por nós produzidos através da reação da transesterificação dos triglicerídeos com metanol.

3 - Resultados e Discussão

Recentemente descrevemos a síntese e o emprego da mistura catalítica, SiO_2-SO_3H em reações de eterificação.[2] Nesta síntese utilizamos as seguintes proporções glicerol bruto (10.00 mmols)/ MeOH (1.00 mol/ SiO_2-SO_3H (10% m/m) em relação ao glicerol bruto (Figura 1).

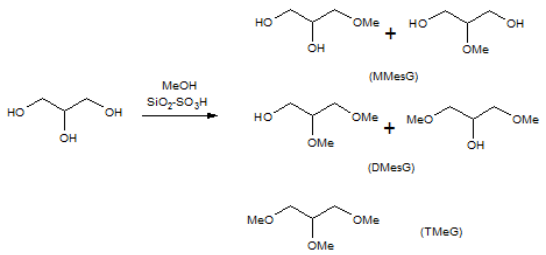


Figura 1. Síntese dos diferentes éteres.

A mistura foi adicionada em um balão de fundo redondo de 2 bocas (250 mL) e mantida em refluxo a temperatura de 70 ºC durante 6 h sob condição de pressão atmosférica. Após esse período a mistura foi filtrada a fim de reter o catalisador sólido, o qual foi lavado em hexano e transferido a uma estufa mantida a 150 ºC por 2 h, em seguida foi armazenado em um dessecador, até ser utilizado novamente em um novo processo de síntese. A mistura de produtos foi extraída em clorofórmio e solução saturada de NaCl, seca em $MgSO_4$ e rota-evaporada a fim de eliminar o solvente utilizada na extração. O rendimento total da mistura foi de 18.15% MMEsG, 31.40% DMEsG e 50.41% de TMEG (CG/EM), confirmando total conversão do glicerol bruto nos respectivos éteres.

O emprego do SiO_2–SO_3H, na formação de uma mistura dos éteres glicerólicos, MMEsG, DMEsG e do TMEG, ocorreu com total consumo do glicerol bruto de partida, demonstrou ser um método muito efetivo e de fácil trabalho prático. Vale salientar que neste processo não foi verificado a formação de sub-produtos oriundos da polimerização do glicerol, demonstrando que a mistura catalítica, possui uma alta afinidade ao glicerol, ficando este retido em seus poros e o metanol sendo escoado o tempo todo para seu interior, proporcionando a reação de eterificação assimétrica.

4 - Agradecimentos

Agradecimento à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

5 - Bibliografia

[1]Chang, J-S.; Lee, Y-D.; Chou, L. C-S.; Ling, T-R. Chou, T-C. *I&EC research* **2012**, *51*, 655-661.

[2]Barbosa, S. L.; Ottone, M.; Santos, M. C.; C. Junior, G.; Lima, C. D.; Clososki, G. C.; Lopes, N. P.; Klein, S. I. *Catalysis Communtions* **2015**, *68*, 97-100.

AVALIAÇÃO DA MIRMECOFAUNA EM CANA-DE-AÇÚCAR SUBMETIDA À ADUBAÇÃO COM BIOSSÓLIDO

Narcisa Silva Soares (PQ) [b], Carlos André Gonçalves (PG/PQ) [a,b], Reginaldo Camargo (PQ) [a,c], Milene Nunes Carvalho (PQ)[b], Robson Thiago Xavier de Sousa (PQ)[d]

[a]Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFU-UFVJM, [b]Instituto Luterano de Ensino Superior de Itumbiara/ILES/ULBRA, [c]Departamento de Ciências Agrárias/UFU, [d]Companhia Mineira de Açúcar e Álcool-Vale do Tijuco *(carlosag@outlook.com.br)

Palavras Chave: *biossólido, cana-de-açúcar, formigas*

1 - Introdução

O uso agronômico do lodo de esgoto tem se mostrado como uma tendência mundial. Estudos revelam que o seu uso traz benefícios às culturas em função do fornecimento de nutrientes, promovendo o aumento ou a manutenção dos níveis de fertilidade do solo (ALBURQUERQUE et al., 2015)[1]. A reciclagem agrícola do lodo de esgoto destaca-se por reduzir a pressão sobre a exploração dos recursos naturais envolvida na produção de fertilizantes e os custos decorrentes dos insumos agrícolas nos sistemas produtivos. Além disso, evita a adoção de outros métodos de descarte do lodo de esgoto, como incineração e deposição em aterros sanitários, minimizando assim o impacto ambiental (QUITANA, CARMO, MELO, 2011)[2].

Entretanto, ainda não se conhece a ação do biossólido sobre a fauna presente nos canaviais, podendo afetar não apenas a fauna prejudicial como também a diversas outras populações de artrópodes benéficos; muitos destes, importantes agentes de controle natural, como as formigas, que desempenham diversos papéis num ecossistema, e respondem relativamente rápido às alterações ambientais.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adubação com o Lodo de Esgoto (LE) enriquecido com NPK (Nitrogênio, Fósforo e Potássio) aplicados na cultura de cana-de- açúcar sobre a mimercofauna de solo, verificando a influencia dessa adubação na riqueza e abundância de formigas.

2 - Material e Métodos

O ensaio experimental foi conduzido na Fazenda São José – Usina CMAA Vale do Tijuco da Cooperativa Mineira de Álcool e Açúcar, localizada no município de Prata – MG. O delineamento utilizado foi divido em 24 blocos casualizado, sendo seis tratamentos com quatro repetições: controle negativo sem adubação, controle positivo com adubação química de NPK recomendado pela usina, quatro tratamentos com o biossólido em concentrações de 50%, 100%, 150% e 200% (L1, L2, L3 e L4, respectivamente) enriquecido, a dosagem do Lodo de Esgoto (biossólido) foi definida pelo teor de NPK necessário para cultura da cana, com base na dosagem utilizada pela usina.

A aplicação do adubo a base do Lodo de Esgoto foi realizada no momento do plantio da cana-de-açúcar, após 6 meses do plantio e após o primeiro corte da cana-de-açúcar equivalendo a um ano, totalizando 3 aplicações do organomineral no solo.

Diferentes métodos de coleta foram utilizados para coleta dos formicídeos (pitfall; armadilhas de superfície; armadilhas de subsolo), sendo distribuídos 12 pontos de amostragem para cada tratamento. As armadilhas permaneceram no campo por sete dias. Os indivíduos coletados foram mantidos em recipientes que continham álcool 70%, devidamente etiquetados, para identificação no laboratório de pesquisa do ILES/ULBRA utilizando a chave de identificação para subfamílias e gêneros de Baccaro et al. (2015)[3]. A abundância e a riqueza de formigas entre os tratamentos foram analisados por ANOVA (Systat 10.2).

3 - Resultados e Discussão

Foram amostrados 1868 indivíduos da família Formicidae, classificados em apenas 5 morfoespécies e distribuídas em 3 subfamílias e 4 gêneros. Os indivíduos amostrados foram distribuídos em 125 indivíduos no controle positivo (C+), 150 no controle negativo (C-), 284 no LE 50% (L1), 312 no LE 100% (L2), 320 no LE 150% (L3) e 677 no LE 200% (L4). Observa-se que em todos os tratamentos com LE a abundância de formiga foi superior aos controles, com destaque para L4 com 36% dos indivíduos amostrados.

A subfamília Myrmicinae apresentou a maior riqueza observada com 3 morfoespécies: *Pheidole* sp1, *Pheidole* sp2 e *Monomorium* sp, enquanto que a subfamília Dolichoderinae apresentou apenas *Dorymyrmex* sp e a subfamília Dorylinae apenas *Acanthostichus* sp. A espécime *Dorymyrmex* sp foi a mais abundante e dominante em todos os tratamentos, com maior frequência relativa no tratamento L4 (Figura 1).

A dominância da espécie *Dorymyrmex* sp provavelmente ocorreu pelas características do ambiente do canavial. Essa espécie é caracterizada por construir ninhos em solos, preferencialmente em lugares abertos regiões arenosas e com pouca coberta vegetal. São frequentes em regiões áridas, forrageiam pelo solo nos períodos mais quentes do dia, se alimentam de insetos vivos (BACCARO et al., 2015).

A espécie a *Pheidole* sp 1 esteve presente dos tratamentos L1, L2, L3 e C- (controle negativo). A espécie *Pheidole* sp 2 foi exclusiva do C+ (controle positivo). A espécies *Monomorium* sp foi exclusiva no tratamento comadubação do Lodo de Esgoto, sendo encontrada somente no tratamento L2. A espécie *Acanthostichus* sp também foi exclusivas dos tratamentos com adubação com Lodo de Esgoto, sendo encontrada somente no tratamento L1.

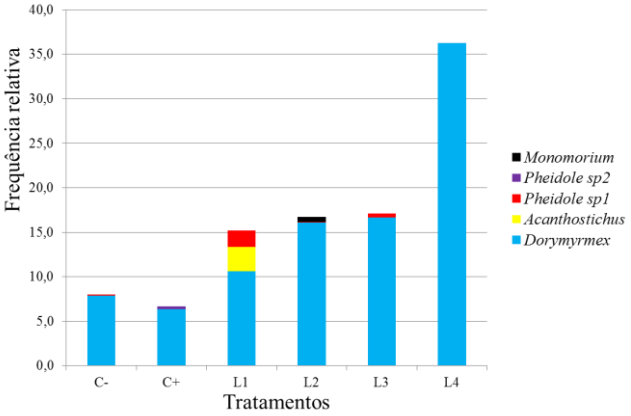


Figura 1: Frequência relativa de espécie de formigas coletadas em canavial sob a influência de adubação com Lodo de Esgoto (biossólido), no município de Prata-MG em abril de 2016. (C-: controle negativo sem adubação; C+: controle positivo com adubação química; L1: adubação com biossólido 50%; L2: adubação com biossólido 100%; L3: adubação com biossólido 150%; L4: adubação com biossólido 200%)

A abundância de formigas por tratamento foi similar (ANOVA, F= 0,84; p=0,54), apesar do tratamento L4 com maior dosagem de lodo de esgoto, apresentar uma tendência de maior número de indivíduos, representado pelo espécime *Dorymyrmex* sp (Figura 2).

A riqueza de formigas no canavial foi maior no tratamento L1 com menor dosagem de adubação com biossólido (ANOVA, F=4,04; p=0,01), demonstrando que o uso do lodo de esgoto favorece a manutenção da fauna de formigas (Figura 2). Dados semelhantes foram encontrados por Gabriel e colaboradores (2006)[4] em estudos com uso de biossólido na cultura de milho, onde a diversidade de formigas foram maiores nos tratamentos com dosagem de 12 e 24t/ha.

Esses dados reforçam os estudos de Silva et al. (2010)[5] que também verificaram que o uso do lodo de esgoto no cultivo da cana-de-açúcar proporcionou um aumento na fertilidade do solo e na produtividade agrícola sem alterar as características agro-industriais da planta.

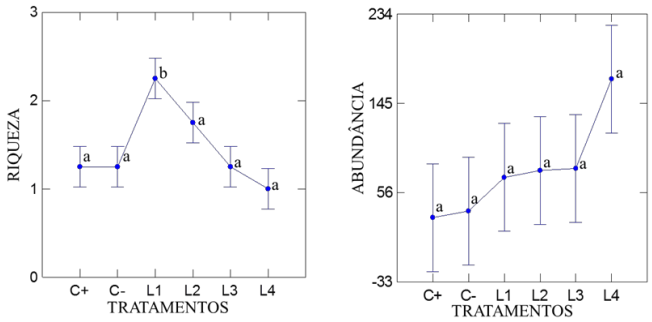


Figura 2. Análise de Variância (ANOVA) relativa à abundância e riqueza de formigas coletadas em canavial sob diferentes adubações com torta de filtro enriquecida, no município de Prata-MG em março de 2016. Letras iguais no gráfico indicam que não diferem em nível de 5% pelo teste de Tukey. (C-: controle negativo sem adubação; C+: controle positivo com adubação química; L1: adubação com LE 50%; L2: adubação com LE 100%; L3: adubação com LE 150%; L4: adubação com LE 200%)

Portanto, conclui-se que a adubação à base de lodo de esgoto favoreceu a permaneça de espécies de formigas benéficas para o ambiente, a exemplo da *Acanthostichus* sp que representa uma espécie predadora especialista, a qual pode auxiliar no controle de pragas.

4 - Agradecimentos.

Agradecemos à CAPES, FAPEMIG, CNPq, UFU, ILES/ULBRA e à Usina Companhia Mineira de Açúcar e Álcool – Vale de Tijuco (CMAA) pela sessão de máquinas, equipamento, área de plantio e cultivar utilizada.

5 - Bibliografia

[1]ALBURQUERQUE, H. C. et al. Yield and nutrition of sunflower fertilized with sewage sludge. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental,* v. 19, n. 6, p.553-559, 2015.

[2] QUINTANA, N. R. G., CARMO, M. S. do, MELO, W. J. De. Lodo de esgoto como fertilizante : produtividade agrícola e rentabilidade econômica. *Nucleous*, v. 8, n.1, p.185-191, 2011.

[3]BACCARO, F. B; FEITOSA, R. M; FERNANDEZ, F; FERNANDES, I. O; IZZO, T. J; SOUZA, J. L. P; SOLAR, R. *Guias Para os Gêneros de Formigas*. ed. Inpa. Manaus, 2015.

[4]GABRIEL, D. Efeito do uso do lodo de esgoto sobre os artrópodes do solo em cultura de milho *Zea mays* L. *Biológico*, v.67, n.1, p.448-451, 2006.

[5]SILVA, F. C.; BOARETTO, A. E.; BERTON, R. S.; ZOTELLI, H. B.; PEXE, C. A.; BERNARDES, E. M. Efeito de lodo de esgoto na fertilidade de um Argissolo Vermelho-Amarelo cultivado com cana-de-açúcar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 36, n. 5, p. 831-840, 2010.

AVALIAÇÃO DA MIRMECOFAUNA EM CANA-DE-AÇÚCAR SUBMETIDA À ADUBAÇÃO COM ORGANOMINERAL À BASE DE TORTA DE FILTRO

Narcisa Silva Soares (PQ) [b], Carlos André Gonçalves (PG/PQ) [a,b], Reginaldo de Camargo (PQ)[a,c], Jaqueline Elise Garcia Chiesa (PQ)[b], Robson Thiago Xavier de Sousa (PQ)[d]

[a]Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFU-UFVJM, [b]Instituto Luterano de Ensino Superior de Itumbiara/ILES/ULBRA, [c]Departamento de Ciências Agrárias/UFU, [d]Companhia Mineira de Açúcar e Álcool-Vale do Tijuco *(carlosag@outlook.com.br)

Palavras Chave: *organomineral, cana-de-açúcar, formigas*

1 - Introdução

Com o aumento de produção de açúcar e álcool no mundo, a expansão dos canaviais no Brasil passou a ser notável e predominante, pelo aumento da demanda e por ser uma produção de baixo custo. É sabido que essa grande atividade está ligada a impactos ambientais negativos com invasão de áreas de preservação ambiental agravados pelos resíduos líquidos e sólidos da indústria da cana-de-açúcar Dessa forma, é preciso considerar novas inclusões, e mudanças na pratica agrícola dessa cultura desde o plantio, colheita, adubação, controles de praga sustentável, em busca de um ambiente mais sustentável (BIANCHINI et al., 2015)[1].

Em relação às mudanças como a adubação orgânica, desde 2003 se trabalha com a proposta de uso de resíduo da própria indústria sucroalcooleira. Sabe-se que a torta de filtro é um resíduo composto da mistura de bagaço moído e lodo da decantação, sendo proveniente do processo de clarificação. É um composto orgânico rico em cálcio, nitrogênio e potássio, com composição variante, dependendo da variedade da cana e da sua maturação. (SANTOS DIEGO, 2010)[2].

Entretanto, a adubação orgânica pode causar diversos efeitos no manejo de pragas, dependendo da cultura agrícola e suas respectivas pragas (BIANCHINI et al., 2015)[1].

Neste sentido, há a necessidade de analisar a influência desse adubo na cultura da cana-de-açúcar na mirmecofauna presente no ambiente ao redor, pois a torta de filtro pode possuir propriedades que podem atrair alguns desses insetos pragas maléficos ao canavial. Fazendo com que esse adubo cause problemas a plantação, maior despesa para o produtor com uso de inseticidas e mais danos ao meio ambiente. Em contrapartida, o uso desse organomineral pode atrair insetos benéficos para controle de outra praga nos canaviais, sendo então vantajoso para o meio ambiente e plantação.

Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da adubação com torta de filtro enriquecida, aplicadas na cultura de cana de açúcar sobre a mirmecofauna do solo. Como objetivos específicos: a) verificar a influência dessa adubação na riqueza e abundancia de formigas; b) comparar o efeito das diferentes concentrações de adubação organomineral com controle químico, na diversidade de formigas.

2 - Material e Métodos

O ensaio experimental foi conduzido na Fazenda São José – Usina CMAA Vale do Tijuco da Cooperativa Mineira de Álcool e Açúcar, localizada no município de Prata – MG, a área amostral do delineamento com a cana-de-açúcar foi dividida em 24 blocos casualizados, realizado seis tratamentos com quatro repetições: controle negativo (C-) sem adubação, controle positivo (C+) com adubação química de NPK utilizado e recomendado pela usina, 50% (T1), 100% (T2), 150% (T3), 200% (T4).

A aplicação do adubo organomineral a base da torta de filtro enriquecida, foi realizada no momento do plantio da cana-de-açúcar, após seis meses do plantio, e após o primeiro corte de cana de açúcar, equivalendo a um ano, totalizando três aplicações do organomineral no solo.

Para cada tratamento foram utilizados três métodos de coleta para captura de formigas (pitfall, armadilha de superfície e de subsolo). A coleta das formigas ocorreu antes do primeiro corte da cana-de-açúcar e após duas aplicações do adubo. As armadilhas permaneceram no campo por sete dias. Os indivíduos coletados foram mantidos em recipientes que continham álcool 70%, devidamente etiquetados, para identificação no laboratório de pesquisa do ILES/ULBRA utilizando a chave de identificação para subfamílias e gêneros de Baccaro et al. (2015)[3]. A abundância e a riqueza de formigas entre os tratamentos foram analisados por ANOVA (Systat 10.2)

3 - Resultados e Discussão

Foram coletados 1.438 formigas em todo experimento, sendo 125 indivíduos coletados no controle positivo (C+), 150 no controle negativo (C-), 344 no tratamento 1 (T1), 218 no tratamento 2 (T2), 220 no tratamento 3 (T3), e 381 no tratamento 4 (T4) (Figura 1). Verifica-se que todos os tratamentos com torta de filtro enriquecida apresentaram maior abundância de formigas quando comparado aos controles, destacando T4 com 27% do total dos indivíduos e T1 com 24%.

As formigas amostradas foram classificadas em 6 morfoespécies distribuídas em 3 subfamílias e 4 gêneros, sendo elas a subfamília Myrmicinae com 4 morfoespécies: *Pheidole* sp1, *Pheidole* sp2, *Pheidole* sp3 e *Solenopsis* sp, a subfamília Dolichoderinae apresentando a espécie *Dorymyrmex*, e a subfamília Formicinae com a espécie *Acropyga* sp (Tabela 1).

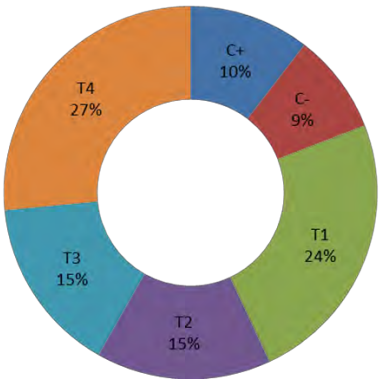


Figura 1. Abundância relativa de formigas presente em cultivo de cana-de-açúcar adubado com torta de filtro enriquecida, no município de Prata-MG em março de 2016. (C-: controle negativo sem adubação; C+: controle positivo com adubação química; T1: adubação com torta 50%; T2: adubação com torta 100%; T3: adubação com tora 150%; T4: adubação com torta 200%).

Em cada tratamento encontrou-se frequências diferentes para cada espécie sendo que a *Dorymyrmex* sp esteve presente em todos os tratamentos, a *Pheidole* sp1 esteve presente no tratamento 1 (T1), a *Pheidole* sp2 no controle positivo(C+) e no tratamento 2 (T2), a *Pheidole* sp3 no controle negativo (C-), a *Solenopsis* sp no tratamento 4 (T4), e a *Acropyga* sp no tratamento 3 (T3) e no tratamento 4 (T4) .

Tabela 1 – Morfoespécies de formigas e sua abundância absoluta presente em cultivo de cana-de-açúcar adubado com torta de filtro enriquecida, no município de Prata-MG em março de 2016. (C-: controle negativo sem adubação; C+: controle positivo com adubação química; T1: adubação com torta 50%; T2: adubação com torta 100%; T3: adubação com tora 150%; T4: adubação com torta 200%).

Táxons (Subfamília /Morfoespécie)	TRATAMENTOS (Abundância absoluta)						TOTAL
	C-	C+	T1	T2	T3	T4	
Dolichoderinae *Dorymyrmex sp*	147	119	303	218	184	361	1.330
Formicinae *Acropyga* sp	-	-	-	-	36	16	52
Myrmicinae *Pheidole* sp1	-	-	8	-	-	-	8
Pheidole sp2	-	6	33	-	-	1	40
Pheidole sp3	3	-	-	-	-	-	3
Solenopsis sp	-	-	-	-	-	3	3

Apesar dos tratamentos, com adubação com torta de filtro enriquecida se mostrar mais favoráveis para comunidade de formigas, não houve diferença significativa na abundância (ANOVA, F= 0,85; p=0,54) e na riqueza de espécie (ANOVA, F=1,20; p=0,35) quando comparado a adubação química e os demais tratamentos (Figura 2).

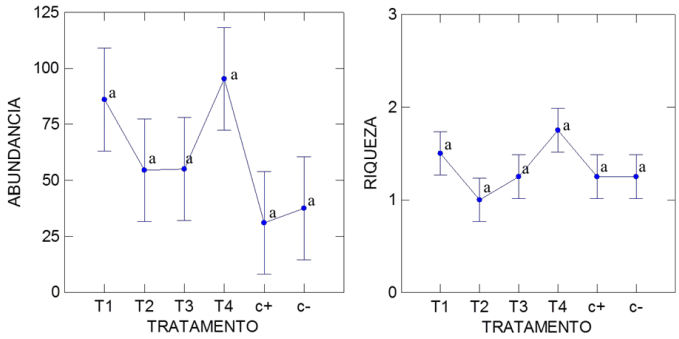


Figura 2. Análise de Variância (ANOVA) relativa à abundância e riqueza de formigas coletadas em canavial sob diferentes adubações com torta de filtro enriquecida, no município de Prata-MG em março de 2016. Letras iguais no gráfico indicam que não diferem a nível de 5%. (C-: controle negativo sem adubação; C+: controle positivo com adubação química; T1: adubação com torta 50%; T2: adubação com torta 100%; T3: adubação com tora 150%; T4: adubação com torta 200%)

As espécies *Acropyga* sp, *Pheidole* sp1 e *Solenopsis* sp foram exclusivas dos tratamentos com adubação à base de torta de filtro, com destaque para a primeira a qual é a espécie hipogéica dependente de alimentação feita pelas cochinilhas presente nas raízes das plantas (BACCARO et al., 2015)[3]. O uso da adubação com torta de filtro enriquecida em canaviais se mostrou com influência positiva para mirmecofauna, favorecendo espécies benéficas para o cultivo da cana-de-açúcar sem alteração na estrutura da comunidade.

4 - Agradecimentos.

Agradecemos à CAPES, FAPEMIG, CNPq, UFU, ILES/ULBRA e à Usina Companhia Mineira de Açúcar e Álcool – Vale de Tijuco (CMAA) pela sessão de máquinas, equipamento, área de plantio e cultivar utilizada.

5 - Bibliografia

[1]BIACHINI, R. A; PISSINATO, T. R; CAMPOS, A. P; MOREIRA, W. M. Q; RAMOS, M. H. C. Efeitos da Adubação de Plantas no Manejo de Pragas. *Revista Fafibe on-line*. v. 8, n. 1, p. 108 – 120, 2015.

[2]SANTOS, DIEGO. Produtividade de cana-de-açúcar sob adubação com torta de filtro enriquecida com fosfato solúvel. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, vol. 40, núm. 4, octubre-diciembre, 2010, pp. 454-461

[3]BACCARO, F. B; FEITOSA, R. M; FERNANDEZ, F; FERNANDES, I. O; IZZO, T. J; SOUZA, J. L. P; SOLAR, R. Guias Para os Gêneros de Formigas. ed. Inpa. Manaus, 2015.

Avaliação de meios de cultivo para a fermentação alcoólica de D-xilose por leveduras selvagens pré-selecionadas

Gabriela M. P. Barbosa (PG) [a], Philipe L. Brito (PG) [a], Angeliane Deane Reis (IC) [b], Lilian A. Pantoja (PQ) [a,b], Alexandre Soares dos Santos (PQ) [a,c]*

[a] *Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis / UFVJM;* [b] *Bacharelado em Ciência e Tecnologia – ICT / UFVJM;* [c]*Departamento de Ciências Básicas – FCBS/UFVJM*
*(alexandre.soares@ufvjm.edu.br)

Palavras Chave: *fermentação alcoólica, bioetanol, xilose*

1 - Introdução

A produção comercial do etanol lignocelulósico é possível desde que alguns entraves tecnológicos sejam superados, como o baixo rendimento na conversão da matéria-prima em bioetanol e o custo de produção elevado[1]. O principal açúcar presente na hemicelulose é a D-xilose, uma pentose[2]. A seleção e o melhoramento de leveduras fermentadoras de pentoses têm estado entre as abordagens utilizadas para o aumento da eficiência do processo fermentativo[3]. Analisar e compreender o comportamento dos micro-organismos durante o metabolismo das pentoses são fatores relevantes para se obter melhores rendimentos e produtividade em etanol.

Desta forma, o presente estudo teve por objetivo avaliar o comportamento de leveduras selvagens pré-selecionadas na fermentação alcoólica de xilose frente a meios sintéticos com diferentes formulações.

2 - Material e Métodos

As duas linhagens de leveduras, R10 e R150, utilizadas neste trabalho fazem parte da coleção microbiana mantida pelo LabBBio/UFVJM. As culturas foram reativadas em meio YEPM, constituído de 3,0 g L^{-1} de extrato de levedura, 3,0 g L^{-1} de extrato de malte, 5,0 g L^{-1} de peptona de soja, 10 g L^{-1} de glicose e 15 g L^{-1} de ágar-ágar. Foram realizados ensaios para avaliar o potencial fermentativo das linhagens empregando quatro meios sintéticos com diferentes formulações. Os ensaios foram realizados em triplicata utilizando os meios propostos por Bellido *et al.* [1] (D-xilose 20 g L^{-1}, Glicose 35 g L^{-1}, Extrato de levedura 10 g L^{-1}, Peptona 20 g L^{-1}, $(NH4)_2SO_4$ 0,47 g L^{-1}, KH_2PO_4 12,8 g L^{-1}, Na_2HPO_4 0,51 g L^{-1}, $MgSO_4.7H_2O$ 0,47 g L^{-1}), Silva *et al* [3] (D-xilose 30 g L^{-1}, Glicose 15 g L^{-1}, Extrato de levedura 3,0 g L^{-1}, Ureia 2,3 g L^{-1}, $MgSO_4.7H_2O$ 1,0 g L^{-1}), Fu *et al.* [4] (Glicose 10 g L^{-1}, Xilose 10 g L^{-1}, Extrato de Levedura 0,5 g L^{-1}, $(NH_4)_2SO_4$ 2,0 g L^{-1}, KH_2PO_4 2,0 g L^{-1}, $MgSO_4.7H_2O$ 1,0 g L^{-1}, $MnSO_4$ 0,1 g L^{-1}) e Oliveira [5] (20,0 g L^{-1} de D-xilose, 1,25 g L^{-1} de ureia, 1,1 g L^{-1} de KH_2PO_4, 2,0 g L^{-1} de extrato de levedura e 40 mL L^{-1} de solução de micronutrientes). O inóculo foi preparado utilizando o meio proposto por Oliveira [5], seguindo incubação por 48h a 30 °C e agitação de 150 rpm. Após o tempo de incubação, as células foram recuperadas por centrifugação e ressuspensas em água destilada estéril até a concentração de 1 D.O. a 600 nm. O inóculo foi realizado na proporção de 1/10 (v/v) em todos os quatro meios avaliados, seguido de incubação nas mesmas condições do preparo do inóculo. O processo fermentativo foi monitorado a cada 4 horas, onde a amostra foi centrifugada a 10.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi recolhido para análise de açúcares e as células foram ressuspensas em água destilada estéril para a leitura de D.O. a 600 nm. Após constatar o término do consumo de açúcar, o ensaio fermentativo foi interrompido e a concentração de etanol foi determinada.

A dosagem de açúcares redutores (AR) foi realizada pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS)[6]. Já o teor de glicose foi determinado por método enzimático-colorimétrico com uso do Kit GLICOSE PP (Trinder da empresa ANALISA). Para a dosagem de etanol utilizou-se o método espectrofotométrico após oxidação do etanol com dicromato de potássio em solução de ácido sulfúrico[7].

3 - Resultados e Discussão

As duas linhagens de levedura mostraram-se capazes de produzir etanol, inclusive em meio de cultivo contendo apenas xilose como fonte de carbono. Foi possível observar diferença significativa nos valores de produção, rendimento ($Y_{P/S}$) e produtividade volumétrica (Q_P) obtidos para os diferentes meios testados e para as duas linhagens de levedura analisadas (Tabela 1).

Tabela 1 – Parâmetros fermentativos.

Levedura	Meio	Etanol g L^{-1}	$Y_{P/S}$	Q_P
R10	1	0.61±0,04$^{(d)}$	0.04±0,00$^{(d)}$	0.01±0,00$^{(d)}$
	2	**6.54±0,03$^{(a)}$**	**0.17±0,00$^{(b)}$**	**0.05±0,00$^{(a)}$**
	3	0.70±0,08$^{(d)}$	0.03±0,00$^{(e)}$	0.01±0,00$^{(d)}$
	4	4.48±0,01$^{(b)}$	0.11±0,00$^{(c)}$	0.03±0,00$^{(b)}$
R150	1	0.71±0,05$^{(c)}$	0.04±0,00$^{(d)}$	0.01±0,00$^{(b)}$
	2	**5.78±0,20$^{(a)}$**	**0.17±0,00$^{(a)}$**	**0.05±0,00$^{(a)}$**
	3	0.90±0,09$^{(c)}$	0.03±0,00$^{(e)}$	0.01±0,00$^{(b)}$
	4	2.07±0,28$^{(b)}$	0.06±0,00$^{(c)}$	0.01±0,00$^{(b)}$

Letras diferentes na mesma coluna indicam haver diferença significativa segundo teste de Tukey a $p<0,05$.

A formulação do meio 2 propiciou os maiores valores de produção, rendimento e produtividade para as duas linhagens avaliadas. A linhagem R10 atingiu a produção de 6,5 g L^{-1} de etanol após 121h de fermentação com o $Y_{P/S}$ de 0,17 g g^{-1} no meio 2. Já com o meio 1, que continha apenas xilose como fonte de carbono, a produção de etanol foi de apenas 0,61 g L^{-1} com $Y_{P/S}$ de 0,03. Esse fato indica que a cofermentação da glicose foi importante para a obtenção do etanol.

Notou-se que os meios fermentativos que propiciaram os maiores valores de etanol possuem, na sua composição, xilose e glicose como fontes de carbono. Alguns modelos propostos para a fermentação de xilose a etanol por meio da via metabólica das pentoses-fosfato apontam a ocorrência de um desequilíbrio redox pela limitação de NAD+, diminuindo a produção de etanol. Uma alternativa estudada para equilibrar o balanço redox constitui em adicionar glicose ao meio fermentativo permitindo a cofermentação da glicose e xilose em condições microaeróbicas[5].

A cinética fermentativa de crescimento e consumo de açúcar no Meio 2 pode ser observado na Figura 1. A partir de 50 horas de bioprocesso a taxa de crescimento e de consumo das linhagens foi drasticamente minimizada. A linhagem R10 consumiu todo o substrato contido no meio, entretanto, o mesmo fato não ocorreu para a levedura R150. Abgogbog *et al*[8] afirma que as fermentações de D-xilose podem atingir 120 h, pois normalmente a pentose é consumida após o término do consumo da hexose. Este fato evidencia que cerca de 7,0 g/L de xilose não foi consumida pela linhagem R150. Apesar das diferenças encontradas entre as linhagens no que se diz respeito ao consumo de açúcar, os valores de rendimento obtidos foram iguais.

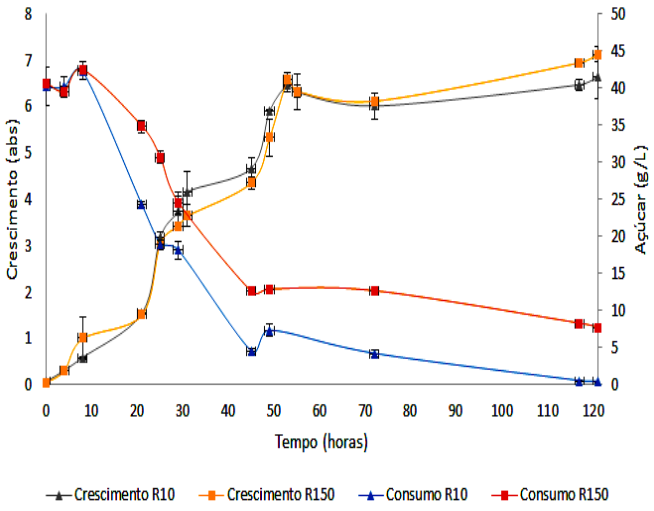


Figura 1. Cinética fermentativa das linhagens R10 e R150 para o meio 2.

Os resultados permitiram também observar a importância do uso de suplementos nutricionais, tais como: extrato de levedura, outras fontes de nitrogênio e a presença de íons (Mg^{2+}, K^{+}).

4 - Agradecimentos

Agradecimento a Capes pela bolsa de estudos e ao grupo de pesquisa LabBBio.

5 - Bibliografia

[1] Bellido, C; Benito, G. G; Coca, M; Lucas, S; Cubero, M. T. G. Influence of aeration on bioethanol production from ozonized wheat straw hydrolysates using Pichia stipitis. **Bioresource Technology**. 2013, 133, 51-58.

[2] Silva, J. P. A; Mussato, S. I; Roberto, I. C; Teixeira, J. A. Fermentation medium and oxygen transfer conditions that maximize the xylose conversion to ethanol by Pichia stipitis. **Renewable Energy.** 2012, 37, 259-265

[3] Pereira, F. C; Hickert, L. R; Sehnem, N. T; Cruz, P. B. S; Rosa, C. A; Ayub, M. A. Z. Conversion of sugars present in rice hull hydrolysates into ethanol by *Spathaspora arborariae, Saccharomyces cerevisiae*, and their co-fermentations. **Bioresource Technology**. 2011, 102, 4218–4225

[4] Fu, N; Peiris, P; Markham, J; Bavor, J. A novel co-culture process with *Zymomonas mobilis* and *Pichia stipitis* for efficient ethanol production on glucose/xylose mixtures. **Enzyme and Microbial Technology**. 2009, 45, 210–217.

[5] Oliveira, F.P. Avaliação da aclimatação de *Pichia stipitis* ao hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana e hierarquização da toxicidade dos inibidores celulares. 2010. 143p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2010.

[6] Miller G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426, 1959.

[7] Isarankura-Na-Ayudhya, C., T. Tantimongcolwat, T. Kongpanpee, P. Prabkate and V. Prachayasittikul, 2007. Appropriate technology for the bioconversion of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) to liquid ethanol. **EXCLI J**., 6: 167-176.

[8] AGBOGBOG, F. K; KELLY, G. C; SMITH, M. T; WENGER, K. S. Fermentation of glucose/xylose mixtures using *Pichia stipites*. *Process Biochemistry*. 2006, 41, 2333-2336.

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOMÉTRICOS DA CANA-DE-AÇÚCAR SUBMETIDA À ADUBAÇÃO COM BIOSSÓLIDO

Carlos André Gonçalves (PG/PQ) [a,b], Narcisa Silva Soares (PQ) [b], Reginaldo Camargo (PQ)[a,c], Nathália Dias Araújo (PQ)[b], Vinícius Cardoso Sabino (PG/PQ)[a,b], Robson Thiago Xavier de Sousa (PQ)[d]

[a]*Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFU-UFVJM,* [b]*Instituto Luterano de Ensino Superior de Itumbiara/ILES/ULBRA,* [c]*Departamento de Ciências Agrárias/UFU,* [d]*Companhia Mineira de Açúcar e Álcool-Vale do Tijuco* ***(**carlosag@outlook.com.br)

Palavras Chave: *biossólido, cana-de-açúcar, produtividade*

1 - Introdução

A cana-de-açúcar é uma das principais culturas do Brasil, fornecendo à indústria sucroalcooleira matéria-prima para produção de álcool e açúcar e também atuando como fonte de energia, por meio da fibra (DALRI; CRUZ, 2008)[1].

Um ponto fundamental a ser considerado é a sustentabilidade interna da cana-de-açúcar, a qual tem por característica ser uma cultura com elevado grau de tecnologia aplicada ao sistema produtivo, como, por exemplo, as elevadas doses de adubo. Neste contexto, autores apontam o uso do lodo de esgoto de maneira parcial ou mesmo integral como possibilidade de substituir a adubação mineral e ainda, aumentar a produtividade e a reciclagem de nutrientes com prática sustentável (DEON et al., 2010[2]; SILVA et al., 2010[3]).

A análise biométrica se destaca como uma importante ferramenta utilizada com sucesso na cultura da cana para estimar produtividade submetida a diferentes variáveis. A biometria consiste em um método de avaliar o desenvolvimento vegetativo da cana-de-açúcar, onde se avalia: o perfilhamento, a altura e o diâmetro do colmo de cana (LANDELL E BRESSIANI, 2008)[4].

O objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros biométricos da cana-de-açúcar em solo submetida à adubação com lodo de esgoto enriquecido (biossólido) no primeiro ciclo de corte ano 2015/2016.

2 - Material e Métodos

O ensaio experimental foi conduzido na Fazenda São José – Usina CMAA Vale do Tijuco da Cooperativa Mineira de Álcool e Açúcar, localizada no município de Prata – MG, com o cultivo da variedade de cana-de-açúcar RB 92579. A área amostral do delineamento com a cana-de-açúcar foi dividida em 24 blocos casualizados que possuem três metros entre si. Cada bloco é composto por cinco linhas de 10 metros de comprimento com espaçamento entre si de 1,5 metros. Neste delineamento foram realizados seis tratamentos: 50 (L1), 100 (L2), 150 (L3), 200 (L4) de porcentagens do Lodo de Esgoto enriquecido, a dosagem do Lodo de Esgoto foi definida pelo teor de NPK necessário para cultura da cana, com base na dosagem utilizada pela usina e controle negativo (C-) sem adubação, controle positivo (C+) com adubação química de NPK recomendado pela usina. Para cada tratamento foram realizados quatro repetições. A aplicação do adubo a base do Lodo de Esgoto foi realizada no momento do plantio da cana-de-açúcar, após seis meses do plantio e após o primeiro corte da cana-de-açúcar equivalendo a um ano, totalizando 3 aplicações do organomineral.

A biometria foi realizada de acordo com o método proposto por Martins e Landell (1995)[5], onde se utiliza a seguinte expressão matemática: **TCH=D^2 x C x H x (0,007854/E)** onde; **D**= diâmetro de colmos (cm); **C**=número de colmos por metro linear; **H**= comprimento médio de colmos (cm); **E**=espaçamento entre sulcos (m). Os resultados obtidos foram submetidos a analise de variância (Teste F) e, quando significativo, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3 - Resultados e Discussão

As análises biométricas indicaram diferenças significativas em todos os parâmetros avaliados (Tabela 1). O diâmetro do colmo apresentou maior valor significativo no tratamento com adubação com 200% com lodo de esgoto (L4) (F=9.39; p=0,000) e as demais concentrações (L1, L2 e L3) não apresentaram diferença significativa com o controle. (Figura 1). Esses dados corroboram com dados apresentados por Cerri (2011)[6], o qual evidenciou que a presença de um componente orgânico na adubação, aumenta a retenção de nutrientes no solo, pois o componente orgânico potencializa a capacidade de troca catiônica. Isto proporciona menor perda de nutrientes por lavagem e maior aproveitamento do fertilizante pelas plantas, embora, comparados aos sintéticos os organominerais, tenham liberação mais lenta de nutrientes.

Tabela 1 – Variáveis biométricas* para cultivar de cana-de-açúcar RB 92579 submetida à diferentes concentrações de adubação com Lodo de Esgoto, com 10 meses de idade, 1º corte, safra 2015/2016.

Tratamentos	Diâmetro mm	Altura cm	Nº Colmo	TCH t.ha^{-1}
Fonte				
C-	27,59a	13,53a	10,41a	56,17a
C+	28,15a	15,93b	10,18a	67,29b
L1	28,08a	14,20a	10,37a,b	60,74b
L2	27,74a	15,18b	10,48a,b	64,12b
L3	28,32a	15,70b	10,93b	72,09b
L4	32,02b	15,30b	11,12b	91,14c

*Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna, para cada atributo, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Analisando a altura do comprimento do colmo verifica-se que houve diferença significativa (F=12,293; p=0,000), onde o controle positivo apresentou a maior média de 15,93mm, seguido pelo tratamento com lodo de esgoto a 150% (L3) com média de 15,70mm. Destaca-se que não houve diferença significativa entre o controle positivo e os tratamentos L2, L3 e L4 (Figura 1).

O número de colmos industrializáveis também apresentou diferença significativa entre as fontes de adubação (F=3,941; p=0,002), obtendo maiores valores os tratamentos com lodo de esgoto a 200% (L4) e 150% (L3) (Figura 1).

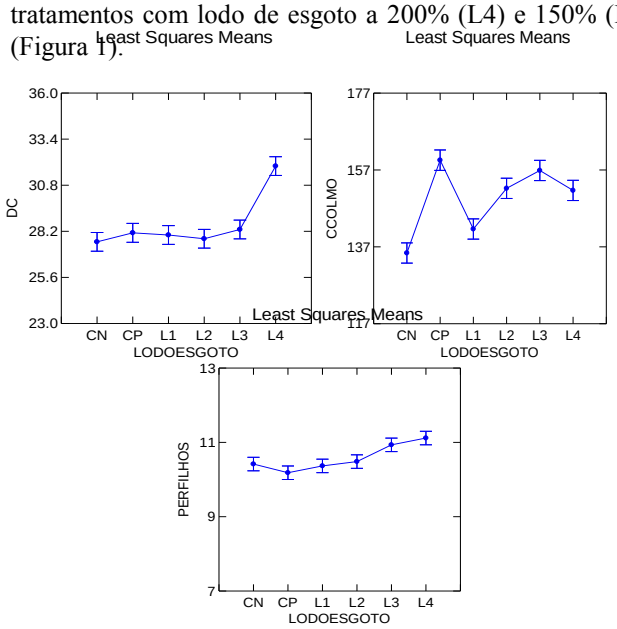


Figura 1. Análise de variância dos parâmetros biométricos avaliados na cultivar de cana-de-açúcar RB 92579, 92579 submetida à diferentes concentrações de adubação com Lodo de Esgoto, com 10 meses de idade, 1º corte, safra 2015/2016. (DC: diâmetro do colmo; CColmo: altura de comprimento de colmo; Perfilhos: nº de colmo industrializáveis).

O tratamento que apresentou os melhores resultados estimados de produtividade de cana, ou TCH, foi o com adubação com lodo de esgoto a 200% (L4), com 91,14 t ha-1, seguido pelo lodo de esgoto a 150% (L3), com 72,09 t ha-1. Já o tratamento que obteve o menor valor de TCH foi controle negativo, com 56,17 t ha-1 (Tabela 1). Os resultados demonstram que houve diferença significativa entre as fontes de adubação (F=14,876; p=0,000), onde o tratamento L4 foi diferente de todos os demais e os tratamentos L1, L2 e L3 não diferiram significativamente do controle positivo com adubação química (Figura 2).

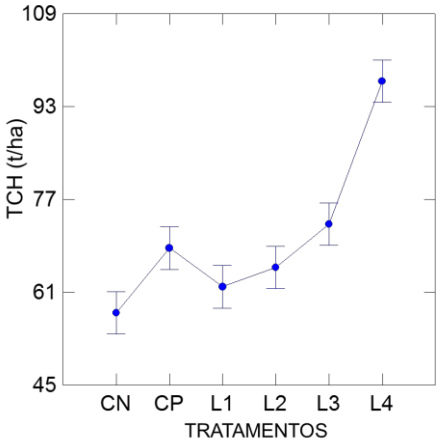


Figura 2. Estimativa de produtividade da cultivar de cana-de-açúcar RB 92579, 92579 submetida à diferentes concentrações de adubação com Lodo de Esgoto, com 10 meses de idade, 1º corte, safra 2015/2016 (TCH: Tonelada de Cana por Hectare estimada).

Ao se analisar a estimativa de produção de cana-de-açúcar pelo atributo morfológico de seu caule, ou seja, pela capacidade de açúcares solúveis armazenados, infere-se diretamente na capacidade de translocamento de fotoassimilados para os órgãos acumuladores. Para Taiz & Zeiger (2013)[7], uma planta somente possui boa aptidão para tal efeito, quando esta está perfeitamente suprida por nutrientes minerais. Assim, implica-se que os tratamentos que assumem maior produtividade, é também aqueles que estão perfeitamente suprindo as necessidades minerais das plantas.

4 - Agradecimentos.

Agradecemos à CAPES, FAPEMIG, CNPq, UFU, ILES/ULBRA e à Usina Companhia Mineira de Açúcar e Álcool – Vale de Tijuco (CMAA) pela sessão de máquinas, equipamento, área de plantio e cultivar utilizada.

5 - Bibliografia

[1]DALRI, A. B.; CRUZ, R. L. Produtividade da cana-de-açúcar fertirrigada com N e K via gotejamento subsuperficial. *Engenharia. Agrícola*, Jaboticabal, v.28, n.3, p.516-524, jul./set. 2008.

[2] DEON, M. D.; GOMES, T. M.; MELFI, A. J.; MONTES, C. R.; SILVA, E. Produtividade e qualidade da cana-de-açúcar irrigada com efluente de estação de tratamento de esgoto. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v.45, n.10, p.1149-1156, 2010.;

[3]SILVA, F. C.; BOARETTO, A. E.; BERTON, R. S.; ZOTELLI, H. B.; PEXE, C. A.; BERNARDES, E. M. Efeito de lodo de esgoto na fertilidade de um Argissolo Vermelho-Amarelo cultivado com cana-de-açúcar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 36, n. 5, p. 831-840, 2010.

[4] LANDELL, M. G. A.; BRESSIANI, J.A. 2008. *Melhoramento Genético, Caracterização e Manejo Varietal*. In: DINARDOMIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. Cana-de-Açúcar, Campinas: Instituto Agronômico & Fundação IAC. p. 882. 2008

[5]MARTINS, A. L. M.; LANDELL, M. G. A. *Conceitos e critérios para avaliação experimental em cana-de-açúcar utilizados no programa Cana IAC*. Pindorama: Instituto Agronômico, 1995.p. 2-14.

[6]CERRI, C. E.. Eficiência Agronômica dos Organominerais. Palestra Fórum ABISOLO, 2011.

[7]Taiz, L. & Zeiger E. *Plant Physiology*. Sinauer, 2013.

Avaliação do crescimento celular e análise da composição de microalgas com potencial para a produção de biocombustíveis

Marina Lemos Sartori [a], Fernanda Silva Monção [a], Lílian A. Pantoja [b] e Alexandre S. Santos [c]*

[a] Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis – UFVJM; [b] Instituto de Ciência e Tecnologia/UFVJM;
*[c] Departamento de Ciências Básicas – UFVJM. *(alexandre.soares@ufvjm.edu.br)*

Palavras Chave: *algas, Chlorella, bioetanol, biodiesel.*

1 - Introdução

As mudanças climáticas associadas à queima de combustíveis fósseis nas últimas décadas vêm se intensificando e ameaçando todos os ecossistemas[1]. Devido a este fato, a redução da dependência por combustíveis fósseis através do uso de biocombustíveis está sendo vista como uma prática viável[2], pois as vantagens do uso incluem a sustentabilidade, não toxicidade e biodegradabilidade[3]. Este fato estimula o interesse comercial em desenvolver tecnologias para a produção de combustíveis a partir de fontes renováveis[4].

Dentre as várias alternativas ao uso de biomassas convencionais que contribuem para a solução destes problemas estão as microalgas. Estas são capazes de acumular grandes quantidades de compostos ricos em energia, como por exemplo, amido e triacilglicerol. Estes compostos ricos em energia podem ser convertidos em bioetanol e biodiesel respectivamente[2].

Neste contexto, com intuito de contribuir com os estudos voltados para a busca de combustíveis renováveis, o presente trabalho teve por objetivo avaliar microalgas dulcícolas isoladas em corpos d'água na região do Alto Vale do Jequitinhonha quanto à produtividade volumétrica, ao teor de lipídios, amido e açúcares solúveis totais (AST) visando sua utilização como matéria-prima para produção de biodiesel e bioetanol de terceira geração.

2 - Material e Métodos

As amostras de microalgas dos gêneros *Chlorella* e *Ankistrodesmus* foram isoladas após coleta no córrego do Rio Grande, localizado em Diamantina (18º14'29.9184"; 43º35'31.758"), em tanques de criação de peixes no Departamento de Zootecnia da UFVJM (18º11'49.9092"; 43º34'24.9708") e em uma cultura hidropônica localizada do Departamento de Agronomia da UFVJM (18º11'4236"; 43º34'21.6372").

A avaliação do crescimento celular foi realizada durante 15 dias utilizando as técnicas de contagem celular em microscópio óptico (BEL Photonics) com o auxílio de uma câmara de Neubauer[6] e leitura da densidade óptica a 570nm em espectrofotômetro (BIOSPECTRO SP22).

Os isolados foram avaliados ainda quanto ao teor de lipídios, amido e açúcares solúveis totais. Para tanto, estes foram centrifugados e secos até peso constante em estufa à 105ºC. O teor de lipídios foi determinado por meio do método de Bligh e Dyer modificado[7]. O teor de amido e açúcares solúveis totais (AST) foram determinados pelo método adaptado de McCready et al., 1950[8], e pelo método da antrona sulfúrica, respectivamente.

3 - Resultados e Discussão

O perfil de crescimento celular dos isolados está ilustrado na Figura 1. O isolado *Chlorella* sp.2 foi o que apresentou maior crescimento celular.

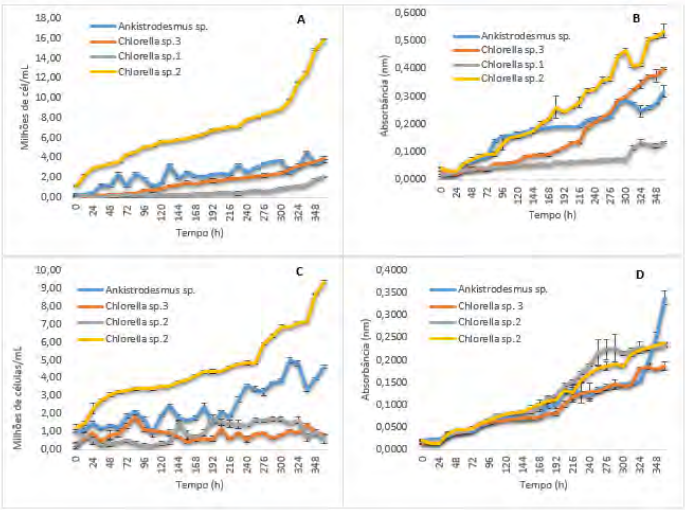


Figura 1. Comparação da cinética dos isolados. A) Técnica de contagem celular em meio CHU; B) Técnica de contagem celular em meio LC Oligo; C) Técnica de densidade óptica meio CHU; D) Técnica de densidade óptica meio LC Oligo.

A Tabela 1 resume as concentrações iniciais, finais e as produtividades volumétricas de biomassa para cada um dos quatro isolados avaliados. Os resultados do teor de amido, AST e lipídios estão apresentados na Tabela 2.

O isolado *Chlorella* sp.2 cultivado em meio de cultura CHU apresentou concentrações finais de biomassa mais altas que os demais (em torno de 1,8 g L^{-1}) e maiores valores de produtividade (0,06 g L^{-1} dia^{-1}). Lam e Lee (2012)[9] constataram que a microalga *Chlorella* sp. possui altas produtividades, o que a caracteriza como um dos organismos mais comumente utilizado na produção de biomassa de algas. No trabalho de Fang et al. [10] foram encontrados de 0,8 a 1,0 g L^{-1} de concentração final de biomassa seca da microalga Chlorella sp. em um período de oito dias de cultivo.

Através das análises cinéticas dos isolados e pelos estudos realizados, foi possível verificar que a microalga

Chlorella sp. pode ser considerada uma biomassa promissora para a produção de biocombustíveis. Microalgas deste gênero são facilmente cultivadas devido à sua estrutura unicelular simples, são altamente adaptáveis em vários ambientes, ricas em substâncias e compostos como clorofila, proteínas, vitaminas, sais minerais, aminoácidos essenciais e lipídios, além de possuírem um conteúdo de óleo que varia de 28 a 32% em peso seco[11].

O gênero *Chlorella* sp.2 cultivado em meio de cultura CHU foi o que obteve a maior fração lipídica (9,4%) quando comparado com os outros isolados. Contudo, o resultado obtido ainda não foi expressivo, indicando que os isolados não utilizam o lipídio como sua principal fonte de reserva energética. Este fato demonstra sua inviabilidade na produção de biodiesel.

Tabela 1- Concentrações iniciais, finais e produtividades volumétricas das biomassas dos gêneros isolados. Gêneros: *Chlorella* sp.2 (II)*; Chlorella* sp.1 (I); *Chlorella* sp.3 (III); *Ankistrodesmus* sp. (IV). Meios de cultura: a. Meio CHU; b. Meio LC Oligo

Gêneros	Concentração inicial de biomassa ($g\ L^{-1}$)	Concentração final de biomassa ($g\ L^{-1}$)	Produtividade volumétrica ($g\ L^{-1}\ dia^{-1}$)
II.a	0,825±0,005	1,775±0,005	0,063± 0,022
I.a	0,825±0,001	1,600±0,003	0,052±0,016
III.a	0,925±0,012	1,650±0,013	0,048±0,026
IV.a	0,875±0,008	1,400±0,001	0,035±0,036
II.b	0,575±0,003	1,225±0,026	0,043±0,001
I.b	0,475±0,015	0,900±0,013	0,028±0,031
III.b	0,500±0,004	0,900±0,003	0,027±0,004
IV.b	0,600±0,012	1,175±0,032	0,038±0,005

O gênero que apresentou maior fração de AST foi o *Chlorella* sp.3, sendo significativo nos dois meios de cultura (49,90% em meio CHU e 43,71% em meio LC Oligo). Para o amido, os gêneros que alcançaram melhores resultados foram *Chlorella* sp.1 (53,56%) e *Chlorella* sp. 3 (40,38%) quando cultivados no meio de cultura CHU, o que indica que estes isolados utilizam o amido como sua principal fonte energética e, portanto, apresentam potencial para a produção de bioetanol.

Tabela 2- Teor de amido, AST e lipídios nas microalgas isoladas. MC: Meio de Cultivo

MC	Gênero	Lipídios (%)	AST (%)	Amido (%)
CHU	*Chlorella* sp.2	9,4±1,8	39,8±0,5	35,6±0,7
	Chlorella sp.1	5,4±1,1	33,6±4,7	53, 6±0,7
	Chlorella sp.3	2,8±0,1	49,9±3,2	40,4±3,1
	Ankistrodesmus sp.	4,7±0,9	36,3±3,1	32,9±3,7
LC Oligo	*Chlorella* sp.2	3,9±0,4	46,5±5,3	32,1±2,9
	Chlorella sp.1	5,7±0,6	35,4±2,7	41,7±2,7
	Chlorella sp.3	0, 8±0,2	43,7±1,0	44,3±2,3
	Ankistrodesmus sp.	7,3±0,5	37,8±3,3	28,9±0,9

4 - Agradecimentos

Agradecimento ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e à UFVJM pelas bolsas de estudo concedidas.

5 - Bibliografia

[1] Brennan, L., Owende, P. Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 14, p. 557-577, 2010.

[2] Shih-Hsin Ho, Xiaoting Ye, Tomohisa Hasunuma, Jo-Shu Chang Akihiko Kondo. Perspectives on engineering strategies for improving biofuel production from microalgae — A critical review. Biotechnology Advances, 1448–1459, 2014.

[3] Lam, M. K., Lee, K. T. Microalgae biofuels: A critical review of issues, problems and the way forward. Biotechnology Advances, v. 30, p. 673-690, 2012.

[4] Halim, R.; Danquash, M.K.; Webley, P.A. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. Biotechnology Advances, v. 30, p. 709-732. 2012.

[5] ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2004. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Pp.1-20. Rio de Janeiro, Projeto NBR 12648:2004. 28ª reunião;

[6] Lourenço, S. O. Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações. São Carlos: Editora RiMa. 606 p. 2006;

[7] Bligh, E. G.; Dyer, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal Biochemistry Physiology. n.37, p.911-917, 1959.

[8] Mccready, R. M. et al. Determination of starch and amylose in vegetables. Application to peas. Analytical Chemistry. v.22. 1156-1158 p. 1950.

[9] Lam, M. K., Lee, K. T. Microalgae biofuels: A critical review of issues, problemsand the way forward. *Biotechnology Advances*, v. 30, p. 673-690, 2012.

[10] Fang L., Wen X., Yahong G. , Zhengrong O., Liming L. And Yeguang L. Growth Rate and Biomass Productivity of Chlorella as Affected by Culture Depth and Cell Density in an Open Circular Photobioreactor. J. Microbiol. Biotechnol. 23(4), 539–544. 2013.

[11] Alam, F.; Date, A.; Rasjidin, R.; Mobin, S.; Moria, H. Biofuel from algae- Is it a viable alternative? Procedia Engineering 49 p.221 – 227. 2012.

Avaliação do efeito da explosão a vapor catalisada por NaOH na composição química e estrutural do bagaço de cana-de-açúcar

Thiago Alves Lopes Silva* (PG)[a], Hernán Dário Zamora Zamora(PG)[a], Leandro Henrique Ribeiro Varão(PG)[a], Daniel Pasquini(PQ)[a], Milla Alves Baffi(PQ)[a]

[a]*Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFU**(thiago_1209@hotmail.com)

Palavras Chave: E*xplosão a vapor, NaOH, lignina, bagaço de cana-de-açúcar.*

1 - Introdução

Atualmente, tem-se estudado diversos tipos de pré-tratamentos para reduzir a recalcitrância da biomassa lignocelulósica com intuito de aumentar sua digestibilidade química/enzimática, para que esta possa ser utilizada na produção de etanol e/ou outros bioprodutos de valor agregado.

O pré-tratamento de explosão a vapor é um dos mais utilizados para desestruturação de materiais lignocelulósicos. No mesmo a biomassa é submetida a uma atmosfera de vapor saturado de alta pressão seguida de uma descompressão súbita, provocando assim a solubilização da fração hemicelulósica e modificações na estrutura da lignina devido as elevadas temperaturas atingidas.[1] Neste contexto, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito da explosão a vapor catalisada por NaOH sobre as propriedades química e estruturais do bagaço de cana-de-açúcar.

2 - Material e Métodos

i) Pré-tratamento de explosão a vapor

Para realização do pré-tratamento de explosão a vapor adicionou-se 40 g de BCA (base úmida) e 800 mL de solução de hidróxido de sódio 0,1 M em um reator de escala laboratorial com capacidade de 1,4 L. Após atingir 180ºC (1h 30min) (8,8 Kgf/cm^2), o sistema foi mantido nessas condições por 5 min e despressurizado subitamente.

ii) Caracterização química

Determinou-se o teor de lignina Klason (TAPPI T13M-54)[2], holocelulose pelo método do clorito ácido e α-celulose por extração alcalina[3] e a hemicelulose foi calculada indiretamente pela diferença entre os teores de holocelulose e α-celulose.

iii) Análise de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As amostras foram pastilhadas com KBr na proporção mássica de 1:100 e os espectros foram obtidos na região de 4500 - 400 cm^{-1} com 32 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} no espectrofotômetro Shimadzu IRPrestige 21.

iv) **Difração de Raio X (DRX)**

Os difratogramas foram obtidos em um difratômetro Shimadzu XRD - 6000 LabX com velocidade de varrimento de 2 °/min, intervalo de 4 a 40° (2θ), potência de 40 kV com uma corrente de 30 mA e radiação CuKa (1,5406 Â). O índice de cristalinidade foi calculado conforme Segal et al.(1959)[4] e corrigido pelo rendimento do pré-tratamento.

v) Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As micrografias eletrônicas foram obtidas com ampliação de 500X e tensão de aceleração de 5.0Kv (Microscópio eletrônico Carl Zeiss EVO 10 MA).

3 - Resultados e Discussão

Na Tabela 1, encontram-se descritos os percentuais mássicos para os principais componentes do bagaço de cana-de-açúcar *in natura* e após o pré-tratamento de explosão a vapor catalisado por NaOH.

Tabela 1 – Composição química do bagaço de cana-de-açúcar "*in natura*" **(BI)** e pré-tratado **(BENaOH).**

Composição Química (%)	Amostra	
	BI	BEh
Lignina Total	24,22 ± 0,36	8,48± 0,40
Hemicelulose	27,61 ± 0,07	27,85 ± 0,19
α-celulose	42,77 ± 0,29	33,93 ± 0,08

*Valores em base seca e considerando o rendimento do pré-tratamento (71,82%).

Analisando a Tabela 1 nota-se que o pré-tratamento em questão removeu 65% da lignina e 20,67% da celulose presente na biomassa, no entanto ocorreu a preservação da fração hemicelulósica. A remoção da lignina ocorreu porque o tratamento álcali realiza a saponificação dos grupos ésteres presente na mesma[5].

Na figura 1 estão representados os espectros de FTIR da biomassa in natura e pré-tratada, os quais apresentam bandas típicas de substratos lignocelulósicos.

Observa-se nos espectros o aumento da intensidade do pico 3380 cm^{-1} no BENaOH, o qual representa as vibrações –OH presentes nas estruturas centrais da celulose e hemicelulose[6] evidenciando assim uma maior exposição das hidroxilas destes carboidratos após a remoção da lignina. Ocorreu uma elevada redução das bandas 1600 cm^{-1}, 1510 cm^{-1}, 1425 cm^{-1} e 833 cm^{-1} após o pré-tratamento, as quais representam, respectivamente, as vibrações do anel aromático da lignina[7] e a vibração C-H fora do plano das unidades de *p*-Hidroxifenil (percursor da lignina)[8], fato que comprova a remoção de lignina apresentada na caracterização química. A redução dos sinais em 1725cm^{-1} (C=O hemicelulose[9]; ligação carbonil éster do ácido p-

cúmarico- lignina[10]) e 1245 cm^{-1} (alongamento C-O do grupo acetil da hemicelulose[11] e/ou vibração siringil e guaiacil da lignina[12]), geralmente são associadas a remoção de hemicelulose, porém neste trabalho a fração hemicelulósica foi preservada indicando assim que estas modificações, possivelmente ocorreram devido a clivagem da ligação entre a hemicelulose- lignina e pela desacetilação da hemicelulose[9]. O aumento da intensidade da banda 897 cm^{-1} (estiramento C-O-C das ligações β-glicosídicas entre a hemicelulose e celulose[9]) pode ser atribuído à exposição das ligações β(1→4) que ocorreu após a solubilização da lignina.

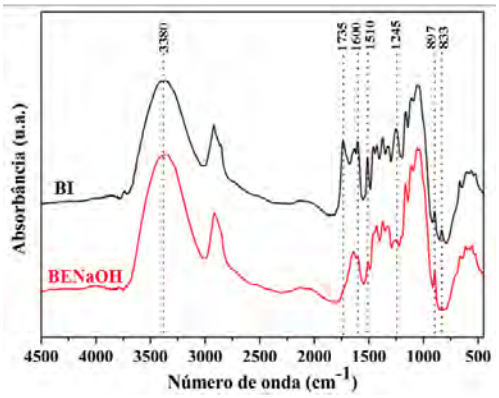


Figura 1. Espectro de infravermelho para o bagaço *in natura* e pré-tratado.

A figura 2 representa os difratogramas utilizados para o cálculo do índice de cristalinidade.

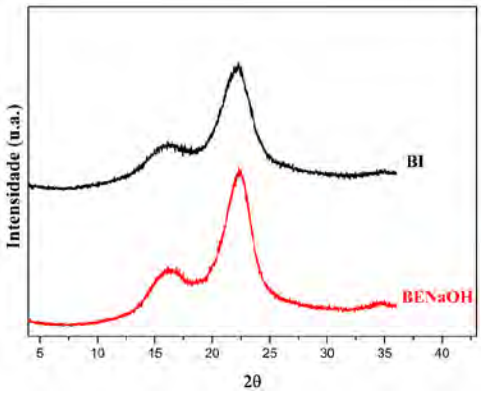


Figura 2. Espectro de infravermelho para o bagaço *in natura* e pré-tratado.

O índice de cristalinidade (ICr) calculado do BENaOH (71,10%) teve um aumento de 2,6% quando comparado ao BI (68,50), sendo este aumento provocado pela remoção de lignina, a qual é um componente amorfo. Contudo após a realização de pré-tratamentos este índice deve ser corrigido considerando o rendimento destes. Após esta correção, notou-se que o ICr decresceu de 68,50 (BI) para 51,06 (BENaOH). A redução da cristalinidade é reportada na literatura como um dos principais fatores que interferem na hidrólise enzimática da biomassa[13].

As micrografias eletrônicas de varredura apresentadas nas Figuras 3A e 3B evidenciam, respectivamente, a estrutura compacta da biomassa *in natura* e a completa desestruturação da fibra após o pré-tratamento.

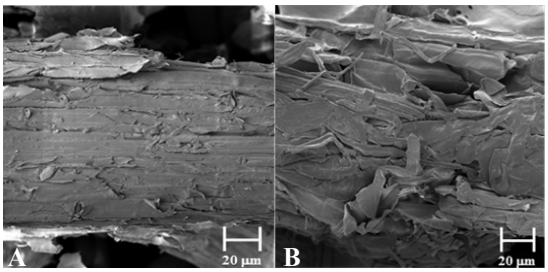


Figura 3. Micrografias do bagaço de cana-de-açúcar *in natura* (A) e pré-tratado por explosão a vapor com NaOH (B).

Por fim, cabe destacar que o pré-tratamento em estudo promoveu a completa modificação estrutural das fibras da biomassa e simultaneamente garantiu uma elevada solubilização da lignina, sendo essa comprovada pelo espectro de FTIR, bem como reduziu a cristalinidade da celulose. Estes fatores são correlacionados com a melhoria da digestibilidade enzimática da biomassa.

4 - Agradecimentos

Agradecimento à FAPEMIG, CNPq e ao Laboratório Multiusuário de Microscopia da FEQ-UFU.

5 - Bibliografia

[1]Kumar, P.; Barret, D. M.; Delwiche, M. J.; Stroeve, P. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 48. 3713–3729, 2009;
[2]Milne, T. et al. *Sourcebook of methods of analysis for biomass and biomass conversion processes*. Golden. Ed Elsevier. 343p.1990;
[3]Browning, B.L. *Methods of Wood Chemistry*. New York. Interscience Publishing. 384p. 1967;
4 Segal, L.; Creely, J. J.; Martin, A. E.; Conrad, C. M. *Textile Research Journal,* 29. 786-794, 1959;
[5] Brodeur, G.; Yau, E.; Badal, K.; Collier, J.; Ramanchandran, K. B.; Ramakrishnan, S. *Enzyme Research*, 2011. 1-17, 2011.
6 Yang, H.Y.; Wang, K.; Song, X. L.; Xu, F.; Sun, R.C. *Process Biochemistry*, 47. 619–625, 2012;
7 García, A.; Alriols, M.G.; Spigno, G.; LabidiI, J. *Biochemical Engineering Journal*,67.173-185, 2012;
8 Hoareau, W.; Wanderson, G. T.; Siegmund, B.; Castellan, A.; Frollini, E. *Polymer Degradation and Stability*, 86. 567-576, 2004;
[9]Xiao, X., Bian, J., Li, M.-F., Xu, H., Xiao, B., Sun, R.-C. *Bioresource Technology*,159. 41–47, 2014;
[10]Nazir, M. S.; Wahjoedi, B. A.; Yussof, A. W.; Abdullah, M. A. *BioResources*, 8. 2161-2172, 2013;
[11]Li, F.H; Hu, H. J.; Yao, R. S.; Wang, H.; Li, M. M. Industrial & *Engineering Chemistry Research*,51. 6270-6274, 2012;
[12] Ernesto, V. A. R. T.; Ribeiro, C. A.; Hojo, O.; Fertonani, F. L.; Crespi, M. S. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 97. 653-656, 2009;
[13]Yang, B.; Dai, Z.; Ding, S.-H.; Wyman, C. E. *Biofuels*, 2. 421-450, 2011;

Avaliação do pré-tratamento do inoculante e da combinação de substratos sobre a produção de biogás a partir de glicerol bruto, dejetos suínos e glicose.

Fidel Alejandro Aguilar-Aguilar (PG) [a]*; Júlia Carvalho (IC) [a]; Thamires Soares (IC) [a]; Lílian A Pantoja (PQ) [b]; Alexandre S Santos (PQ) [c]

[a] Programa de Pós-graduação em Biocombustíveis. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Diamantina, MG, Brasil; [b] Instituto de Ciência e Tecnologia - UFVJM; [c] Departamento de Ciências Básicas - UFVJM. *(falexaguilar@gmail.com)

Palavras Chave: *Hidrogênio, fermentação, dejetos, glicerol, glicose*

1 - Introdução

Aproximadamente 10 kg de glicerol bruto (GB) são gerados por cada 100 kg de biodiesel produzido. Este glicerol frequentemente é considerado um resíduo por seu baixo valor de mercado [1]. Estima-se que tenham sido geradas 378 mil toneladas de glicerol bruto em 2015. Uma alternativa para o aproveitamento desta glicerina seria seu uso como substrato para a produção de biogás através de digestão anaeróbia. Para a fermentação do glicerol bruto há também a necessidade de uma fonte de nitrogênio que suporte a atividade microbiana. Os dejetos provenientes da suinocultura (DS) extensiva praticada no Brasil podem servir como fonte de matéria orgânica complementar para tal propósito, pois são ricos em nitrogênio e, se não tratados adequadamente, podem provocar desequilíbrio ambiental e danos para a saúde humana[4].

A utilização de pré-tratamentos térmicos, ácidos ou alcalinos do material inoculante podem favorecer a produção de gás, priorizando a formação de hidrogênio através da promoção da inibição de bactérias metanogênicas e homoacetogênicas[2].

Neste trabalho foram avaliados o efeito do pré-tratamento do inóculo e da variação das concentrações dos substratos (glicerol bruto, dejetos suínos e glicose) sobre a produção de biogás durante a fermentação escura.

2 - Material e Métodos

O inóculo foi obtido na estação de tratamento de esgoto da UFVJM, Campus JK. O lodo ativado usado como inócuo foi pré-tratado por choque térmico, alcalinização e acidificação[2]. O glicerol bruto, produto da transesterificação de óleo de fritura residual realizada na UFVJM, o dejeto suíno, obtido da estação de suinocultura da UFVJM e o lodo ativado foram caracterizados físico-quimicamente de acordo com metodologia proposta pela APHA [3]. Os experimentos foram realizados em escala laboratorial em sistema de batelada, com temperatura de 35°C. Para avaliação do efeito da concentração dos substratos glicerol bruto, dejetos suínos e glicose sobre a fermentação escura foi usado planejamento composto central rotacional com três fatores, seis pontos axiais e quatro pontos centrais. A medida do volume de biogás produzido foi feita com o auxílio de gasômetro. O software Statistica 7.0 foi usado para o tratamento dos dados.

3 - Resultados e Discussão

Na Tabela 1 são apresentados os valores referentes a caracterização físico-química do glicerol bruto, dejeto suíno e do inóculo (lodo ativado); segundo Labatut et al.[4], a relação STV/ST representa a percentagem de matéria orgânica total de cada resíduo. Observa-se que os resíduos deste trabalho têm grande potencial como substratos para produzir hidrogênio.

Tabela 1. *Caraterização inicial dos resíduos e do inoculo.*

Parâmetros	Glicerol bruto	Dejeto Suíno	Inóculo
pH	10,3	6,5	6,7
ST (g L^{-1})	870,3	199,9	6,8
SVT (g L^{-1})	870,1	167,5	5,0
STV/ST	0,99	0,84	0,73
DQO (g L^{-1})	*	137,8	5,5

ST: Sólidos totais, SVT: sólidos voláteis totais, DQO: demanda química de oxigênio.

Os resultados mostraram que o pré-tratamento do inoculo que resultou em maior produção de gás foi o pré-tratamento térmico (Figura 1). A concentração de glicose apresentou um efeito positivo ($p<0,1$) e as concentrações de glicerol e de dejeto suíno não apresentaram efeito significativo ($P>0,1$) sobre a produção de gás quando o inóculo foi pré-tratado termicamente (Figura 2). Para o inoculo pré-tratado com ácido, o glicerol foi quem apresentou efeito positivo significativo ($p<0,1$) (Figura 3).

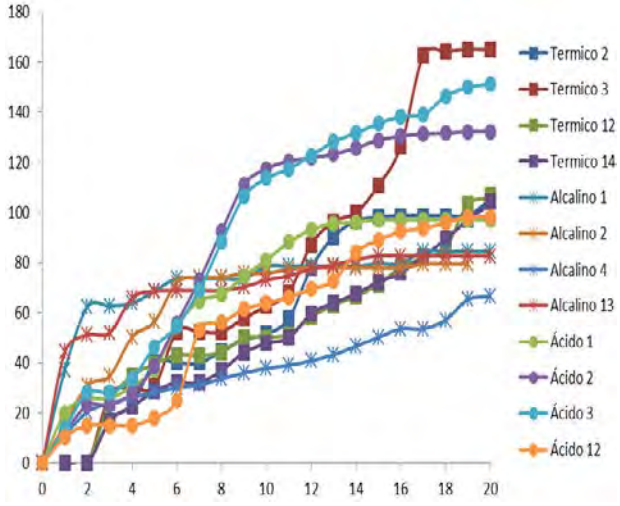


Figura 1. Cinética da produção de gás em sistemas com inóculos pré-tratados.

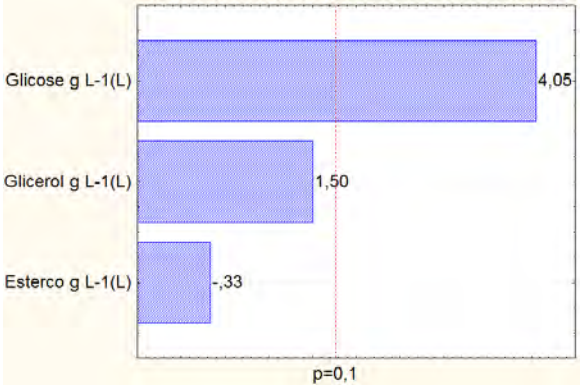


Figura 2. Gráfico de Pareto para os efeitos estimados da glicose, glicerol bruto e dejeto suíno após pré-tratamento térmico do inóculo.

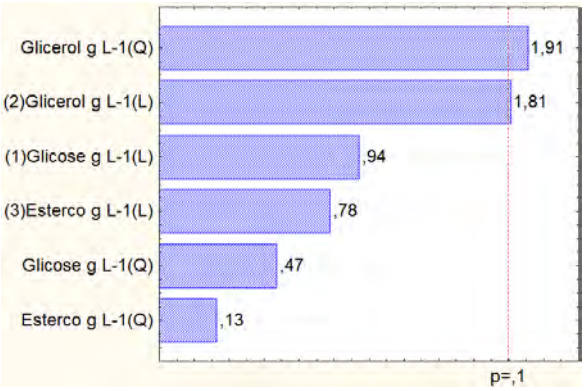


Figura 3. Gráfico de Pareto para os efeitos estimados da glicose, glicerol bruto e dejeto suíno após pré-tratamento ácido do inóculo.

Com o inóculo pré-tratado com álcali o glicerol e o dejeto suíno apresentaram efeito negativo ($p<0,15$) após 8 dias de fermentação e a glicose não apresentou efeito significativo ($p>0,5$) (Figura 4).

Segundo Viana et al.[5] o uso direto do glicerol bruto na digestão anaeróbia pela alta carga orgânica e pelas altas concentração de íons Cl^{-1}, entre 34 e 46g L^{-1}, formados durante a neutralização do glicerol na indústria da produção de biodiesel, inibiriam o crescimento bacteriano afetando diretamente a produção de biogás. Esse efeito negativo não foi observado no sistema com inoculo tratado com ácido.

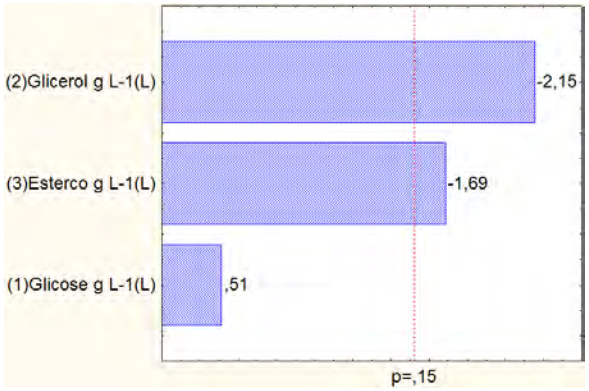


Figura 4. Gráfico de Pareto para os efeitos estimados da glicose, glicerol bruto e dejeto suíno após pré-tratamento alcalino do inóculo.

Nas melhores condições foi possível produzir biogás entre 100-170 mL/g$DQO_{initial}$. Observou-se que os métodos para a preparação de inóculo e a interação entre o glicerol bruto, o dejeto suíno e a glicose afetaram o potencial de produção de biogás.

4 - Agradecimentos

Agradecimento à FAPEMIG pelo apoio financeiro e à UFVJM por concessão de bolsa de estudos.

5 - Bibliografia

[1]Siles, L.J.; Santos, M.; Pérez, A. and Martín A. *Bioresour Technol*. (2009), 100:5609–5615.

[2]Labatut R. A., Angenent L. T., Scott N. R. Bioresourse Technology. 102:2255–2264

[3] APHA. Standard method for the examination of water and wastewater. New York: American Public Health Association, 1995.

[4]Viana, M. B.; Freitas, A. V; Leitão, R. C.; Pinto, G. A. S.; Santaella, S.T. Environmental Technology Reviews, 2012, 1:37-41.

Avaliação preliminar de fotocélulas baseadas em $BiVO_4/Bi_4V_2O_{11}$ para conversão de energia: oxidação fotoeletroquímica da água/glicerina

Wayler S. dos Santos (PG) [a,b,*], Mariandry V. Rodriguez (PQ) [b], André S. Afonso (PQ) [b], João P. Mesquita (PQ) [c], Luiz C. A. Oliveira (PQ) [d], José D. Fabris (PQ) [a], Márcio C. Pereira (PQ) [b]

[a]*Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFVJM;* [b]*Instituto de Ciência, Engenharia e Tecnologia/UFVJM;* [c]*Departamento de Química/UFVJM;* [d]*Departamento de Química/UFMG;* *(waylerssantos@gmail.com)

Palavras Chave: *$BiVO_4/Bi_4V_2O_{11}$, célula fotoeletroquímmica, oxidação da água/glicerina, conversão de energia.*

1 - Introdução

No Brasil, são produzidos aproximadamente 250 mil toneladas/ano de glicerina e 1,2 milhões de toneladas/ano a nível mundial, e sabe-se que em torno de 10% do volume de matéria-prima inicial do processo de transesterificação de óleos é convertido em glicerina.[1]

Neste contexto faz-se necessário desenvolver processos ou métodos para utilização deste resíduo. A estratégia em nossos trabalhos foi fabricar e avaliar preliminarmente dispositivos fotoeletroquímicos formados pela heterojunção $BiVO_4/Bi_4V_2O_{11}$, os quais são capazes de coletar luz e convertê-la em energia elétrica ou H_2 (armazenamento de energia), simultaneamente com a oxidação fotoeletroquímica de soluções aquosas (Na_2SO_4 0,5M puro ou contendo glicerina 0,5M).[4,5]

O aclopamento destes materiais é adequado, devido ao nível de banda de condução (EBC) do semicondutor tipo-n $BiVO_4$ (energia *bandgap* de 2,5 eV) ser mais negativa do que a EBC do semicondutor tipo-n $Bi_4V_2O_{11}$ (energia *bandgap* de 2,25 eV).[2] Assim, os elétrons excitados podem ser injetados a partir da EBC de $BiVO_4$ para a EBC de $Bi_4V_2O_{11}$, melhorando a separação das cargas nos semicondutores.[3] Mas, uma das principais vantagens desta junção é o alinhamento apropriado da banda de energia, facilitando o fluxo de corrente, melhorando cerca de 83% a fotocorrente e fotovoltagem geradas em relação a $BiVO_4$ e $Bi_4V_2O_{11}$ puros.[4,5]

2 - Material e Métodos

Fotoeletrodos à base da heterojunção $BiVO_4/Bi_4V_2O_{11}$ puro (W0) e dopado com 1 (W1), 2 (W2) e 3% (W3) em massa de W foram preparados por *spray pyrolysis* em um substrato condutor FTO.[4,5] Foram feitas medidas fotoeletroquímicas sob luz branca LED (λ > 450 nm, 5 mW cm^{-2}). Medidas com 3 eletrodos foram realizadas com um potenciostato/galvanostato (AUTOLAB PGSTAT 128N) usando uma configuração de célula com três eletrodos: um eletrodo de referência de Ag/AgCl (3,0 M de KCl), um fio de platina como contra-eletrodo e um eletrodo de trabalho com área de irradiação de 1,0 cm^2, e velocidade de varredura de 20 mV s^{-1}. Uma solução aquosa a 0,5 M de Na_2SO_4 (pH = 6,6) foi usada como eletrólito. Para converter o potencial obtido (*vs.* Ag/AgCl) para ERH (eletrodo reversível de hidrogênio), a seguinte equação foi utilizada: $E_{ERH} = E_{Ag/AgCl} + 0{,}059pH + E^o_{Ag/AgCl}$. Sendo $E^o_{Ag/AgCl}$ (3 M KCl) = 0,197 a 25 ºC. E, também foram realizadas medidas de voltametria cíclica com dois eletrodos para as melhores configurações eletrodo de trabalho (ET) / contra eletrodo (CE) a fim de verificar a eficiência a *zero bias* das fotocélulas W1/W0, W1/W2 e W1/W3, utilizando-se soluções Na_2SO_4 0,5M pura ou com a adição de glicerina 0,5M.

3 - Resultados e Discussão

O comportamento óptico dos fotoeletrodos foi investigada por espectroscopia UV-Vis no modo de reflectância difusa, e os espectros obtidos indicam que todos os filmes absorvem luz em torno de 200-510 nm, indicando que tanto a radiação UV e visível pode ser absorvida. A energia de *bandgap* foi estimada no intervalo de 2,33-2,44 eV para $Bi_4V_2O_{11}$ e 2,52-2,54 eV para $BiVO_4$ (Figura 1).

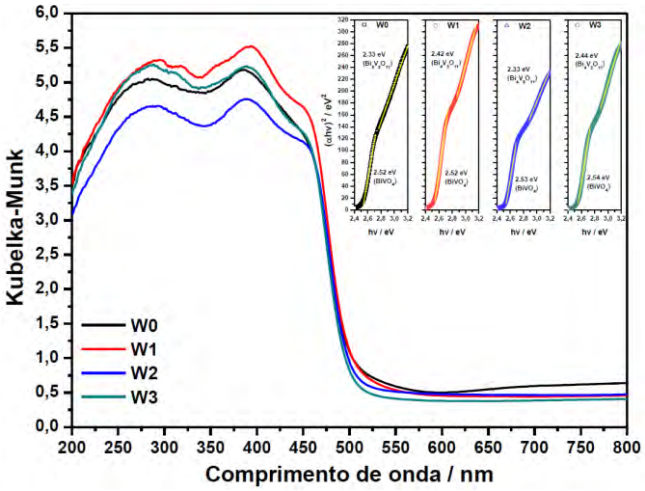


Figura 1. Espectros Uv-vis por reflectância difusa e gráfico Tauc para os fotoeletrodos.

Sob irradiação de luz branca, a densidade de fotocorrente anódica dos fotoeletrodos W0, W1, W2 e W3 a 1,23 V vs. ERH são respectivamente, 0,05, 0,07, 0,14 e 0,18 mA cm^{-2}. E, a densidade de fotocorrente catódica a 0

V vs. ERH são respectivamente –0,09, –0,12, –0,18 e –0,28 mA cm^{-2} (Figura 2). Estes resultados demonstram que os fotoeletrodos podem promover tanto a oxidação fotoeletroquímica da água para oxigênio, como também são fotoativos na reação de redução para produzir hidrogénio que é um combustível renovável.

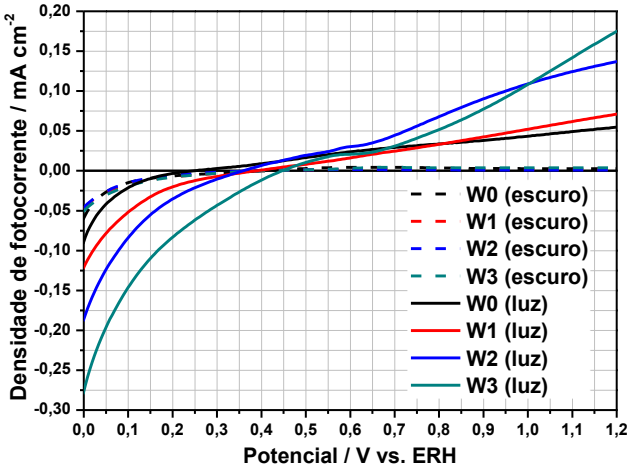


Figura 2. Voltametria cíclica com três eletrodos.

A voltametria cíclica com dois eletrodos realizada evidenciou que com a adição de glicerina à solução de Na_2SO_4 0,5M, mesmo com eficiência pouco abaixo dos demais à *zero bias* (Tabela 1), mostrou-se um sistema bastante promissor, provocando um aumento expressivo em cerca de 138% na densidade de fotocorrente gerada com a aplicação de potenciais catódicos e anódicos (Figura 3).

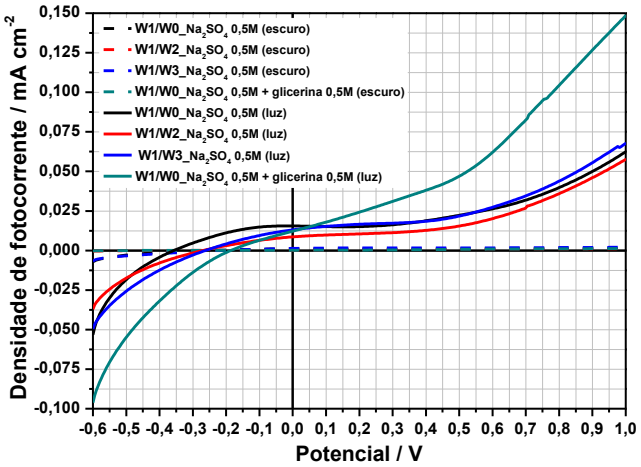


Figura 3. Voltametria cíclica com dois eletrodos.

Tabela 1 – Dados preliminares sob condições de *zero bias*.

Fotocélula (ET/CE)	Solução aquosa	*Parâmetros		
		J_{sc} (mA cm^{-2})	η_{total} (%)	η_{STH} (%)
W1/W0	Na_2SO_4 0,5M	0,0155	0,05	0,38
W1/W2	Na_2SO_4 0,5M	0,0086	0,02	0,21
W1/W3	Na_2SO_4 0,5M	0,0131	0,02	0,32
W1/W0	Na_2SO_4 0,5M + glicerina 0,5M	0,0122	0,01	–

*J_{sc} (densidade de fotocorrente de curto-circuito), η_{total} (eficiência total para conversão de luz) e η_{STH} (eficiência para conversão de luz em hidrogênio, admitindo 100% de eficiência faradaica).

Além disso, vale ressaltar que, a fotovoltagem gerada pelas fotocélulas W1/W0, W1/W2 e W1/W3 foram respectivamente, 1,54, 1,34 e 1,27 V. De acordo com os resultados obtidos por nosso grupo de pesquisa, na interface da heterojunção $BiVO_4/Bi_4V_2O_{11}$ ocorre a formação de uma camada de inversão de buracos, a qual corrobora para a estruturação de uma virtual junção p-n com alta fotovoltagem. Esta fotovoltagem gerada pode ser aumentada, alterando a polarização de $Bi_4V_2O_{11}$ pela dopagem com tungsténio, culminando na geração de altas fotovoltagens, diminuição na recombinação das cargas sobre a superfície do fotoeletrodo, e elevação na eficiência das células fotoeletroquímicas.[4]

4 - Agradecimentos

Os autores são gratos ao CNPq e FAPEMIG—Brasil pelo suporte financeiro.

5 - Bibliografia

[1]Mota, C. J. A., Silva, C. X. A. & Goncalves, V. L. C. *Química Nova [online],* vol. 32, n. 3, p. 639-648, 2009.

[2]Ding, C., Shi, J., Wang, D., Wang, Z., Wang, N., Liu, G., Xiong, F, & Li, C. *Physical Chemistry Chemical Physics,* vol. 15, n. 13, p. 4589-4595, 2013.

[3]Liu, Z., Niu, J., Feng, P., Sui, Y., & Zhu, Y. *RSC Advances,* vol. 4, n. 82, p. 43399-43405, 2014.

[4]Dos Santos, W. S., Rodriguez, M., Afonso, A. S., Mesquita, J. P., Nascimento, L. L., Patrocínio, A. O., Silva, A. C., Oliveira, L. C. A., Fabris, J. D. & Pereira, M. C. *Scientific Reports,* vol 6, art. n. 31406, 2016.

[5]Dos Santos, W. S., Almeida, L. D., Afonso, A. S., Rodriguez, M., Mesquita, J. P., Monteiro, D. S., Oliveira, L. C. A., Fabris, J. D. & Pereira, M. C. *Applied Catalysis B: Environmental,* vol. 182, p. 247-256, 2016.

Caracterização e identificação de fungo filamentoso isolado de casca de coco indaiá (*Attalea dubia*) com potencial para produção de enzimas holocelulolíticas

Ilva F. Souza (PQ) [a]; Jéssica P. Matos (PG) [b]; Lílian A. Pantoja (PQ) [a]; Ana Paula F. C. Vanzela (PQ) [c]; Alexandre S. Santos (PQ) [d]

[a]Intituto de Ciência e Tecnologia- UFVJM; [b]Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis – UFVJM; [c]Departamento de Farmácia – FCBS/UFVJM; [d] Departamento de Ciências Básicas – FCBS / Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

Palavras Chave: *Celulases, Xilanases, Mucor* sp.*, Bioetanol*

1 - Introdução

Celulases e hemicelulases são catalisadores enzimáticos amplamente utilizados em processos biotecnológicos por possuírem capacidade para decompor fibras vegetais e liberar açúcares solúveis. Recentemente a indústria dos biocombustíveis tem aumentado a demanda por estas enzimas.

Muito se tem avançado sobre o estudo e produção de celulases e hemicelulases. Todavia, a redução do custo por unidade de enzima e a seleção de linhagens mais eficientes e especializadas ainda são desafios para o setor. Além de um excelente sistema de secreção enzimática e capacidade de síntese proteica em grande escala, os fungos filamentosos se destacam por produzirem enzimas com diversas especificidades e características físico-químicas.

Neste contexto, o presente estudo teve por objetivo caracterizar um fungo filamentoso isolado de casca de coco indaiá com potencial para a produção de enzimas celulolíticas e xilanolíticas, realizar sua caracterização e identificá-lo.

2 - Material e Métodos

2.1 Avaliação da produção de celulases e xilanases

A cultura filamentosa isoladas foi submetida ao processo de fermentação submersa para avaliação da produção das atividades endoglucanásica (CMCásica), β-glucosidásica e xilanásica em meio líquido segundo Manachini et al. (1987) suplementado com 1,0% de CMC. As determinações das atividades enzimáticas foram realizadas com base nos métodos descritos por Ghose (1987) e Bailey et al. (1992). Os métodos para as determinações das atividades foram adaptados para ensaio em microplacas de 96 poços. As leituras espectrofotométricas foram realizadas em leitor de microplacas (ASYS UVM340) nos comprimentos de onda determinados para cada ensaio de atividade. Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima, expressa em mL do meio fermentado livre de partículas, necessária para produzir a liberação de 1μmol de açúcar redutor ou glicose por minuto, nas condições do ensaio.

2.2 Caracterização e identificação do isolado selecionado

A identificação do gênero do fungo isolado foi realizada com base em observações macro e microscópicas apoiada na literatura científica (Richardson, 2009; Hermet et al., 2012)

Para a identificação molecular, foi realizada a extração de DNA segundo Sambrook et al. (2000). O DNA genômico foi amplificado por PCR com 25 ciclos de amplificação depois de uma desnaturação inicial de DNA a 95°C por 5 minutos. Foram usados os iniciadores universais ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') frente e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') reverso (White et al., 1990), que permitiram a amplificação da região responsável pela codificação do rRNA 5.8S e 28S. A amplificação e o sequenciamento dos produtos de PCR foram realizados pela empresa Macrogen USA (www.macrogenusa.com). A sequência obtida foi analisada com o uso do programa BLASTN 2.3.0+ para comparação de similaridade com sequências depositadas no GenBank (National Center for Biotechnology Information, NCBI, www.ncbi.nlm.nih.gov).

3 - Resultados e Discussão

3.1 Isolamento e avaliação da produção enzimática

Os resultados revelaram que a linhagem isolada foi capaz de secretar 1.560 ± 169 U L^{-1} de atividade endoglucanásica e 1.972 ± 162 U L^{-1} de atividade xilanásica nos tempos de 120 horas e 96 horas, respectivamente.

O perfil do progresso de produção enzimática do fungo avaliado pode ser visto na Figura 1. Aparentemente, a atividade endoglucanásica alcançou um máximo em 96 horas e permaneceu estável até o final do ensaio, por cerca de 200 horas. As atividades β-glucosidásica e xilanásica tiveram picos de produção em 120 horas e 96 horas, respectivamente, e decaíram após esses tempos. Um segundo pico de atividade xilanolítica foi observado com 192 horas.

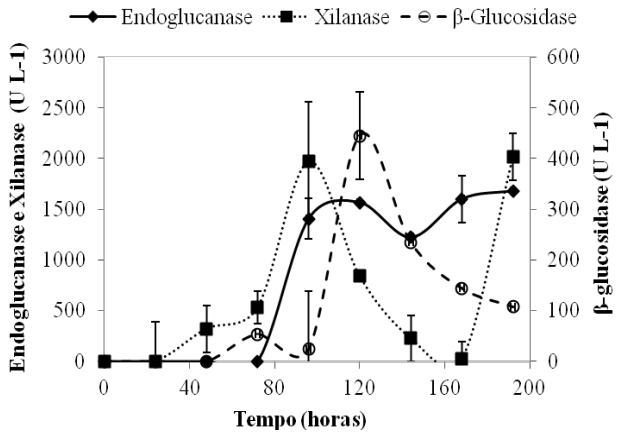


Figura 1. Progresso da produção enzimática para as atividades Endoglucanase, β-Glucosidase e Xilanase no experimento de fermentação.

3.2 Caracterização e identificação do isolado

A caracterização macroscópica e microscópica do isolado somada à pesquisa de homologia da região do espaçador interno de transcrição ITS1 junto ao banco de dados BLASTN indicaram que o micro-organismo estudado tratava-se de linhagem do gênero *Mucor*.

Microscopicamente (Figura 2) foram observadas hifas hialinas e cenocíticas que raramente apresentaram septos. Foram notados esporangiósporos ovalados, esporângios globosos e columela subglobosa com colarete. Todas as características morfológicas macro e microscópicas observadas são compatíveis com o gênero Mucor (Hermet et al., 2012; Dodemont *et al*., 2015).

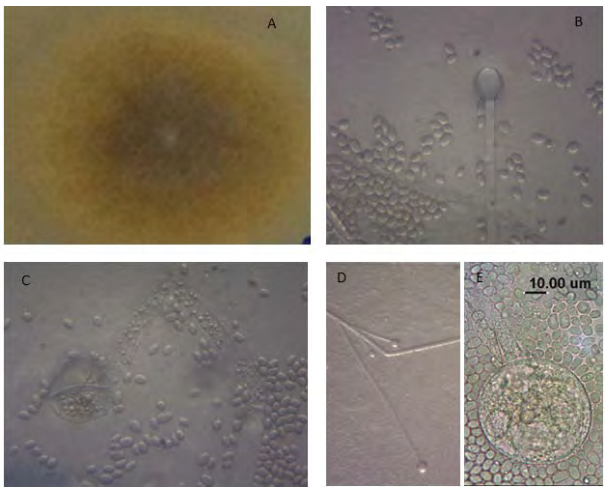


Figura 2. Aspecto macro e microscópico da linhagem de Mucor cultivada em meio BDA a 28°C com cinco dias de crescimento. (A) Aspecto macroscópico, (B) Columela obovoide com colarete, esporângios globosos e hifas hialinas cenocíticas, (C) Esporângio em esporangióforo com esporangiosporos (D) Esporangióforos com ramificações longas e curtas com esporângios globosos (E) Esporângios globosos. Observação em aumento de 40x (D), as demais (A, B, C, E) visualização com aumento de 100x. Barra = 10 µm.

A análise da sequência dos produtos de PCR por meio da ferramenta BLASTN, usando o banco de sequências de nucleotídeos não redundantes (GenBank+EMBL+DDBJ+PDB+RefSeq sequences) com 33.791.422 sequências depositadas, indicou similaridade de 99% para duas espécies do gênero *Mucor*, *M. circinelloides* e *M. racemosus* (Tabela 2). As duas linhagens destacadas na Tabela 2, são as que obtiveram a maior pontuação na classificação geral na pesquisa realizada com o BLASTN.

Tabela 2. Similaridade da linhagem isolada com a sequência de algumas espécies depositadas na coleção de nucleotídeos do GenBank do NCBI.

Referência	Número de Acesso BLASTN	Similaridade A/B* (%)
Mucor circinelloides cepa NRRL 66013	KM056329.1	567/573 (99)
Mucor racemosus ATCC 1216B	AJ271061.1	567/573 (99)

*A/B = relação entre o número de bases da sequência amplificada do isolado pesquisado e o número de bases da sequência alvo presente na espécie referência

4 - Agradecimentos

Agradecimento à FAPEMIG e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo financiamento do estudo.

5 - Bibliografia

[1] Bailey M J, Biely P & Poutanen K. *Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity.* Jounal of Biotechnology, 23:257–270, 1992.

[2]Ghose T.K. *Measurement of cellulose activities.* Pure and Applied Chemistry, 59: 257–26, 1987.

[3]Hermet A. Eheust M.D, Mounier J, Barbier J & Jany J.L *Molecular systematics in the genus Mucor with special regards to speciesen countered in cheese,* Fungal Biology, 116:692-705, 2012.

[4]Manachini PL, Fortina MG & Parini C. *Purification and properties of endopolygalacturonase produced by Rhizopus stolonifera*. Biotechnology Letters, 9: 219-224. 1987.

[5]Richardson M. *The ecology of the Zygomycetes and its impact on environmental exposure,* Clinical Microbiology and Infection, 5:2-9, 2009.

[6]Sambrook J, Fritsch EF & Maniatis, T . *Molecular cloning: a laboratory manual.* USA, Cold Spring Harbor, Laboratory Press. 2000.

Caracterização físico-química das vinhaças *in natura* e tratada com *Candida utilis*: subsídio à produção de biomassa proteica e à redução da carga poluente

Juliana R. M. Pires[(a)], Paulo H. Grazziotti[(b)], Nísia A. V. D. Pinto[(a)], , Arlete B. Reis[(a)], Marcus H. Canuto[(c)], Maria Lúcia F. Reis[(d)], Carla L. B. Borges[(e)], Daniela C. S. Oliveira[(f)], David Lee Nelson[(a)]

[a]Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFVJM, [b]Departamento de Engenharia Florestal/ UFVJM, [c]Departamento de Ciências Básicas e da Saúde/ UFVJM, [d]Curso de Graduação em Agronomia/ UFVJM, [e]Curso de Graduação em Farmácia/ UFVJM, [f]Curso de Bacharelado em Ciência e Tecnologia/ UFVJM
(ju_demeira@yahoo.com.br)

Palavras Chave: *Vinhaça, Candida utilis, biomassa proteica.*

1 - Introdução

O Brasil é detentor da maior produção mundial de açúcar e álcool a partir da cultura de cana-de-açúcar. A geração de resíduos oriundos destes processos industriais, sejam eles sólidos ou líquidos, é inevitável. A vinhaça, resíduo líquido remanescente dos destiladores, constitui-se de água, matéria orgânica com elevada acidez, e sais minerais[1,2]. Desde 1970, com a criação do programa governamental – Proálcool - destinado a lançar o etanol como combustível, a vinhaça tem sido apontada como um dos maiores poluentes desta cadeia produtiva e seu descarte inadequado é um sério problema ambiental [3,4].

Para agregar maior valor à indústria sucroalcooleira, surge a utilização da vinhaça como substrato para produção de proteínas por leveduras. Dentre as leveduras utilizadas para esse fim, a *Candida utilis* (Torula) destaca-se devido à sua capacidade de degradar pentoses, hexoses e outras substâncias orgânicas como aldeídos, álcoois e ácidos[5]. Além de ser um bioprocesso sustentável de geração de alimento, o cultivo da Torula em vinhaça reduz, de forma considerável, o poder poluente desse resíduo, que pode ser descartado sem oferecer riscos ao meio ambiente, ou ainda, ser utilizado como fertilizante[6,7].

Este trabalho objetivou-se em realizar a caracterização físico-química da vinhaça *in natura* e da vinhaça tratada com o cultivo da levedura *Candida utilis,* para subsidiar a produção de biomassa proteica e a redução da carga poluente desse coproduto.

2 - Material e Métodos

A vinhaça foi coletada na destilaria Agro Industrial de Pompéu S/A - Açúcar, Etanol e Energia - Agropéu - na cidade de Pompéu, MG. A amostra de levedura *Candida utilis*, previamente isolada, foi fornecida pelo Prof. Dr. Carlos Augusto Rosa do Departamento de Microbiologia, UFMG.

Para o cultivo da levedura na vinhaça *in natura* foram utilizados três frascos Erlenmeyer com 50 mL de vinhaça mantidos na incubadora shaker orbital a 30 ºC, sob agitação de 150 rpm. Alíquotas de 400 µL de vinhaça foram retiradas de quatro em quatro horas e homogeneizadas em tubos de ensaio em agitador do tipo vórtex. O cultivo teve duração de 36 horas. O crescimento celular foi avaliado através da contagem de células na câmara de Neubauer em microscópio ótico e da absorbância a 550 nm em espectrofotômetro (Figura 1).

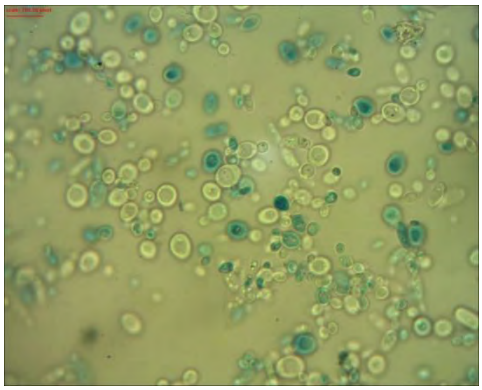


Figura 1 - Fotografia em microscópio óptico da levedura Torula após 20 horas de cultivo em vinhaça *in natura*, aumento 400x.

A relação linear existente entre a absorbância e a concentração celular foi obtida através da construção da curva de calibração do crescimento celular. A análise foi encerrada quando a levedura se apresentou na fase de crescimento estacionário[8].

Foi realizada a análise físico-química das vinhaças *in natura* e tratada. A vinhaça tratada com a torula foi centrifugada para a separação das células da levedura. As análises realizadas foram: composição centesimal, acidez, pH, sólidos solúveis totais (ºBrix), açúcares redutores, compostos fenólicos, proteínas totais, pH e DQO [9, 10, 11, 12, 13, 14, 15].

3 - Resultados e Discussão

A curva de crescimento da levedura se caracterizou por fase exponencial significativa, com duração de, aproximadamente, 16 horas (Figura 2). A fermentação tende a acontecer em anaerobiose. No entanto, como o cultivo das leveduras foi realizado sob aeração fornecida pela agitação do shaker, a fermentação tornou-se restrita devido à presença do oxigênio, nas condições específicas do meio. A aeração induz à oxidação dos

carboidratos através do processo de respiração realizado pelas leveduras. Consequentemente, há queda da produção de álcool e a multiplicação de células da levedura é favorecida[16].

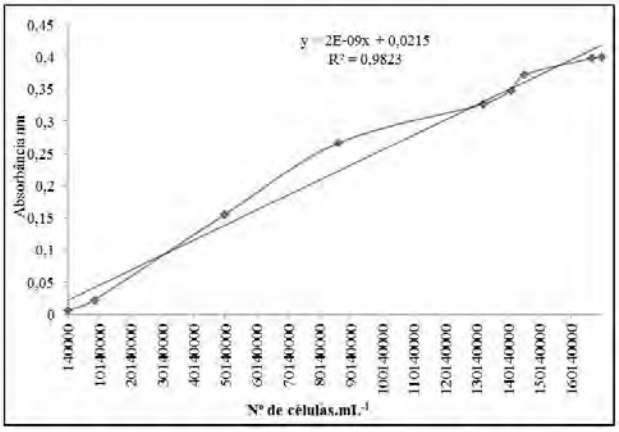


Figura 2 – Relação da absorbância com a concentração de células da *Candida utilis*.

Após 32 horas de crescimento, iniciou-se a fase estacionária que se caracteriza pela interrupção da divisão celular e consequente queda do número de indivíduos da população devido ao esgotamento de nutrientes essenciais e ao aporte de produtos inibidores do metabolismo das células [17, 18, 19].

Os teores de sólidos solúveis totais (SST), açúcares redutores, proteínas totais, umidade e pH observados na vinhaça não tratada corroboram com resultados de outros autores que desenvolveram suas pesquisas com a utilização dessa matéria prima para produção de biomassa proteica com fins alimentares[20, 21]. Na literatura, esses valores proporcionaram a produção de proteínas na faixa de 50 a 70% em relação à biomassa total produzida pela levedura [22, 23, 24].

A queda nos teores de açúcares redutores e carboidratos totais, após o cultivo da levedura na vinhaça, é explicado pelo consumo desse substrato incorporado na biomassa proteica durante o cultivo das células da levedura. A vinhaça se caracteriza por um coproduto rico em matéria orgânica e isso vem despertando interesse na produção de lipídios, pois esses têm composição semelhante aos óleos vegetais. O carbono presente na vinhaça também é incorporado às moléculas de lipídios[25]. Os resultados obtidos estão em concordância com essa afirmativa uma vez que foi obtido aporte de lipídios à vinhaça tratada (Tabela 1).

A vinhaça proveniente da indústria sucroalcooleira é um resíduo ácido, seu pH tem valores muito baixos, entre 3,7 a 4,6, e tem uma alta demanda química de oxigênio (DQO), fatores que contribuem para torná-la um agente altamente poluidor. Após ser tratada por cultivo da torula, o pH da vinhaça utilizada se elevou de 4.02 para 5.9. Esse fato ocorreu porque a população de leveduras promove a oxidação da matéria orgânica que, quando se decompõe, faz aumentar o pH do meio [26].

Tabela 1 – Caracterização físico-química e valores da demanda química de oxigênio (DQO) da vinhaça *in natura* e da vinhaça tratada

Item	Vinhaça *in natura*	Vinhaça tratada
ATT mL %	2,53	1,43
SST%	1,20	1,60
Umidade%	97,5	98,4
Matéria seca g/100g	0,040	0,12
AR g/l*	10,61	1,72
Cinzas %*	21,5	34,9
Lipídios%*	9,5	40,3
Proteínas totais g/100g*	16,0	14,9
Compostos fenólicos g/100g*	2,43	4,97
Carboidratos totais%*	52,6	9,4
VET kcal/100g*	361,0	333,0
pH	4,2	5,9
DQO **(mgO/L)**	25.550	7.480

* Baseado no peso seco

A DQO inicial foi de 25.550 mg $O.L^{-1}$. Este valor indica a quantidade de oxigênio necessária para mineralizar a matéria orgânica. O cultivo da torula na vinhaça reduziu a DQO em 70 %, pois a DQO da vinhaça após o crescimento da levedura foi de 7.480 mg $O.L^{-1}$. Portanto, esse bioprocesso reduziu a carga poluidora desse substrato, agregando maior valor a ele no que concerne à produção de proteínas de forma sustentável e menos agressiva ao meio ambiente [27, 28].

A análise físico-química da vinhaça indicou o seu potencial para a produção de biomassa proteica. Os resultados para o pH e para a DQO comprovaram a eficiência da levedura *Candida utilis* para tratamento de efluentes com elevada carga orgânica e acidez, como é o caso da vinhaça.

4 - Agradecimentos

FAPEMIG, CAPES, AGROPEU, Laboratório de Microbiologia ICB/ UFMG.

5 - Bibliografia

[1] WALISZEWSKI, K.N.; ROMERO, A.; PARDIO, V.T. Use of cane condensed olasses in feeding broilers. *Animal Feed Science Technology*, Amsterdam, v. 67, p. 253-258, 1997;

[2] CORTEZ, L. A. B.; BROSSARD PÉREZ, L. E. Experiences on Vinasse Disposal Part III: Combustion of Vinasse-# 6 Fuel Oil Emulsions. Brazilian Journal of Chemical Engineering, São Paulo, v.14, n.1, p.9-18, mar. 1997 ;

[3] MENEZES, T. J. B. Etanol: o combustível do Brasil. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980;
[4] ANCIÃES, A. W. Avaliação tecnológica do álcool etílico. 3.ed. *Brasília: Editorial do CNPq*, 1981;
[5] SANDRASEGARAMPILLAI, B.; ARASARATNAM, V. Palmyrah distillery spent wash for ethanol production by a thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* S1 at 40°C. *Journal of the Institute of Brewing,* v.117, n.3, p. 451– 455, 2011;
[6] DE BLAS, J. C; FRAGA, M. J.; RODRIGUES, J.M. Units for feed evaluation and requirements for commercial grow rabbits. Journal of Animal Science, v. 60, n. 1, p. 1021-1027, 1985;
[7] PILOTO, J.L.; MACÍAS, M. Studies on the chemical composition of Cuban torula yeast grown on sugar cane molasses or from vinasse residues. *Revista Computadorizada de Producción Porcina*, v. 12, n. 2, p.111-115, 2005;
[8] LEE, S. S.; ROBISON, F. F; WANG, H. Y. Rapid determination of yeast viability. Biotecnology and Bioengeneering, New York, v. 11, p. 641-49, 1981;
[9] LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. Journal of Biological Chemistry, v. 193, p. 265-275, 1951;
[10] VON de KAMER, S. B.; VAN GINKEL, L. Rapid determination of crude fiber in cereals. Cereal Chemistry, Saint Paul, v.19, n.4, p.239-251, July/Aug. 1952;
[11] MILLER, D.S; BENDER, A.E. The determination of the net utilization of proteins by a shortened method. *Br J Nutr*; v. 9, 382-388, 1955;
[12] SILVA, D.J. 1981. Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos. Viçosa: UFV, Impr. Univers. 165p;
[13] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis. 13.ed.Washington: AOAC, 1984;
[14] INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 2.ed. SãoPaulo, 2008. v. 4, formato digital;
[15] APHA (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20º ed. Washington (USA), 1998, 1162p;
[16] FURLETTI, M.E.M. Fatores fisicos químicos que interferem na fermentação alcoólica. In: DEANGELIS, D.F. (Org). Microbiologia da Fermentação Alcoólica. Rio Claro: UNESP, 1987, p.72-79;
[17] BETANCUR, G.J.V., Avanços em Biotecnologia de Hemicelulose para Produção de Etanol por *Pichia stipitis,* 2005.Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil;
[18] MARTÍN, C.; GALBE, M.; WAHLBOM, F.; HAHN-HÄGERDAL, B.; JÖNSSON, L. J.Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose-utilising *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 31, p. 274-282, 2007;
[19] TOSETTO, G.M. Comportamento de linhagens industriais de *Saccharomyces* frente a compostos inibitórios presentes no melaço de cana-de-açúcar na produção de Bioetanol. Tese de Doutorado. Faculdade de Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil, 2008;
[20] ARRIGONI, M. B.; SILVEIRA, A. C.; FURLAN, L. R.; PARRÉ, C.; COSTA, C.; CURI, P.R. Avaliação da vinhaça líquida em substituição à água na terminação de bovinos em confinamento. 1. DESEMPENHO. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 28, n. 11, p. 1333- 1340,1993;
[21] MORA, L. M.; LEZCANO, P.; HIDALGO, K. RODRÍGUEZ, B. Torula yeast (*Candida utilis*) on distiller's vinasse in growing pig diets. *Cuban Journal of Agricultural Science*, v. 46, n. 1, p.389-393, 2012;
[22] ARRIGONI, M. B.; SILVEIRA, A. C.; FURLAN, L. R.; PARRÉ, C.; COSTA, C.; CURI, P.R. Avaliação da vinhaça líquida em substituição à água na terminação de bovinos em confinamento. 1. DESEMPENHO. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 28, n. 11, p. 1333- 1340,1993;
[23] MORA, L. M.; LEZCANO, P.; HIDALGO, K. RODRÍGUEZ, B. Torula yeast (*Candida utilis*) on distiller's vinasse in growing pig diets. *Cuban Journal of Agricultural Science*, v. 46, n. 1, p.389-393, 2012;
[24] CAZETTA, M. L.; CELLIGOI, M. A. P. C.; BUZATO, J. B.; SCARMINO, I. S.; SILVA, R. S. F. Optimization study for sorbitol production by Zymomonas mobilis in sugar cane molasses. Process Biochemistry, London, v.40, n.2, p.747- 751, 2005;
[25] CELLIGOI, M. A. P. C. Produção de triglicérides, fosfolipídios e esteróis por Leveduras isoladas de Diferentes Nichos ecológicos. 1993. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro;
[26] SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. *Manual de Métodos de Análises Microbiológica de Alimentos*. São Paulo, SP: Livraria Varela, 317 p, 1997;
[27] CABELLO, P. E. et al. Tratamento de vinhaça em reator anaeróbio de leito fluidizado. Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia, Espírito Santo do Pinhal, SP, v. 6, n. 1, p. 321-338., 2009;
[28] RODRIGUEZ, B., CANELA, A.A., MORA, L.M., MOTTA, W.F., LEZCANO, P., EULER, A.C. Mineral composition of torula yeast (*Candida utilis*), grown on distiller´s yeast. Cuban Journal of Agricultural Science, v. 45, n. 2, 151-153, 2011.

Codigestão anaeróbica de resíduo de manga e dejeto suíno para produção de biogás

Fidel Alejandro Aguilar-Aguilar (PG) [a*], Alexandre S Santos (PQ) [b], Sergio Perez Fabiel(PQ)[d], P.J. Sebastian (PQ)[c], Gustavo Yáñez-Ocampo (PQ) [d]

[a] *Programa de Pós-graduação em Biocombustíveis. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Diamantina, MG, Brasil;* [b] *Departamento de Ciências Básicas – UFVJM;* [c] *Departamento de materiales solares y biocombustibles. Instituto de Energías Renovables (IER) da Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM);* [d] *Programa de Posgraduación en Energias Renovables, Universidad Politécnica de Chiapas (UPCH).*

*(falexaguilar@gmail.com)

Palavras Chave: *biodigestão, biogás, resíduos agroindustriais.*

1 - Introdução

No México a produção agroindustrial é uma das atividades econômicas de maior impacto sobre o balanço comercial do país. Por sua dimensão, a agroindústria é responsável pela geração de grandes quantidades de resíduos. Somente a agroindústria de manga Ataulfo (*Mangifera indica* L.) do Estado de Chiapas, México, produziu no ano de 2010 aproximadamente 36 mil toneladas de resíduos orgânicos[7] oriundas do processo de seleção para a exportação e comercialização do fruto. No mesmo estado, a atividade de engorda de suínos gera ao redor de 4,3 mil toneladas anuais de dejetos[5,7]. Ambos resíduos agroindustriais são potenciais matérias-primas para a geração de biogás (metano) por digestão anaeróbia.

O objetivo desse trabalho foi quantificar a biodegradabilidade e o rendimento da produção de metano pelo método conhecido como Potencial Bioquímico de Metano (BMP). O BMP é um índice de biodegradabilidade anaeróbia dos resíduos de manga e dejetos suínos, que determina o valor experimental da produção máxima de metano gerado a partir de uma quantidade conhecida de resíduos orgânicos.

2 - Material e Métodos

Os resíduos de manga (MA) e dejetos suínos (DS) foram caracterizados físico-quimicamente de acordo com as normas mexicanas para águas residuais modificadas para a análise de resíduos. A análise bromatológica foi feita conforme as normas mexicanas para alimentos. Todas as análises foram feitas em triplicata.

O ensaio de biodegradabilidade anaeróbica para determinação do BMP foi realizado como descrito por Owen *et al*. (1979)[6]. Os ensaios de codigestão anaeróbia dos resíduos de MA e ES foram conduzidos em biorreatores de vidro (garrafas Schott™) de 250 mL. Dois tratamentos foram estudados, o primeiro definido pela mistura de 30% de MA e 70% de ES e o segundo, considerado como controle, contendo 100% de ES. Os biorreatores foram selados e incubados a 30°C em agitação a 120 rpm, por 40 dias.

O valor de BMP foi calculado em função do volume de metano produzido por grama de DQO_{total} em cada tratamento. O volume de metano foi convertido a valores equivalentes aos obteníveis em condições normais de pressão e temperatura (0 °C, 1 atm e 22,4L gas mol^{-1}) de acordo com a lei dos gases ideais.

3 - Resultados e Discussão

Os dados da caracterização físico-química dos resíduos de MA e ES são mostrados na **Tabela 1**. Como se observa, a relação STV/ST, que representa o percentual de matéria orgânica em cada um dos resíduos, foi de 93% para o MA e 76% para o ES, entretanto, não significa que toda essa matéria orgânica possa ser degradada biologicamente.

Tabela 1 – Caracterização físico-química dos resíduos agroindustriais

	MA	ES	Inóculo
ST (g L-1)	139,8	215,20	11,5
STV (g L^{-1})	130,9	164,4	7,2
STV/ST	0,93	0,76	0,62
DQO_{total} (g L^{-1})	53,3	139,6	6,1
DBO_5 (g L^{-1})	40,7	84,4	1,7
DBO_5/DQO	0,76	0,60	0,28
pH	4,2	8,0	6,8

*MA Manga Ataulfo, DS dejetos suínos, ST Sólidos totais, SVT sólidos totais voláteis, DQO demanda química de oxigênio, DBO demanda bioquímica de oxigênio.

A relação DBO_5/DQO, por outro lado, indica a fração de matéria orgânica facilmente degradável por ação microbiana, Os valores da relação DBO_5/DQO para MA e ES foram de 76% e 60%, respectivamente. Efetivamente, esses valores representam a fração de matéria orgânica que tem potencial para ser convertida a gás metano. É importante relatar que um valor de 60% de matéria orgânica biodegradável já aponta o ES como um cosubstrato viável para a codigestão anaeróbia. Ainda assim, é preciso considerar a existência de uma diferença acentuada entre os valores de pH dos resíduos de MA e ES, 4,2 e 8 unidades, respectivamente (**Tabela 1**). O processo de digestão

anaeróbia é muito afetado pelo valor de pH, já que as bactérias metanogênicas vivem em um pH entre 6,8-7,4 unidades.

A análise bromatológica revelou que o resíduo de MA possui uma maior proporção de carboidratos (79,6%) quando comparado com o ES (32,5%) (**Tabela 2**). Por outro lado, o percentual de NTK é maior no resíduo de ES, com 20%, em comparação com o MA, que foi de 3,8%.

Tabela2. Composição centesimal dos resíduos orgânicos

	MA	ES
Carboidratos (%)	79,6	32,5
Fibra Bruta (%)	8,4	22,7
NTK (%)	3,8	20,0
Lipídeos (%)	5,6	5,9
Cinzas (%)	2,6	18,7

*NTK Nitrogênio total Kjeldahl

A produção de metano foi possível com um inóculo pré-adaptado que manteve uma atividade metanogênica específica de 0,02 gDQO $gSTV^{-1}$. Devido a isso, a fase exponencial alcançou seu ponto máximo entre os dias 20-25 para os dois tratamentos. A fase estacionaria teve uma duração de 15 dias. Foram detectadas diferenças na produção de metano (BMP) da codigestão anaeróbia do tratamento 30% de MA:70% de ES, com uma produção de 242±12 $mLCH_4$ $gDQO^{-1}$, e com o tratamento 100% de ES, que foi de 178±19 $mLCH_4$ $gDQO^{-1}$. De acordo com o trabalho de Astals *et al.* (2011)[1], quando se mistura dejeto suíno com um co-substrato se pode incrementar em até 125% a produção de metano. Isso se deveria a um balanço na relação C/N (carbono/nitrogênio) entre 20-40/1 e a capacidade tamponante do ES que evitaria a desestabilização do sistema originado pelo possível acúmulo de AGV´s. Já no presente trabalho, a mistura MA:ES teve 138% de aumento na produção de metano comparado ao uso exclusivo de ES. Ainda assim, o BMP do tratamento 100% de ES experimentado aqui, que foi de 178 $mLCH_4$ $gDQO^{-1}$, mostrou-se maior que o obtido por Astals *et al.* (2012) [2], que logrou um BMP de 95,7 $mLCH_4$ $gDQO^{-1}$. Esta variação provavelmente seja dependente de vários fatores, entre eles a origem e a composição do resíduo.

Da estequiometria, sabe-se que 1 gDQO L^{-1}, sob condições normais de pressão e temperatura, produz 350 mL de metano (Lesteur *et al*., 2010)[4]. Com base nisso, o tratamento com a mistura 30% de MA:70% de ES teve uma biodegradabilidade de 69%.

Enquanto no tratamento com100% de ES chegou-se a uma biodegradabilidade de 50%. Provavelmente, a codigestão favoreceu a biodegradabilidade em geral, pelo aporte de carboidratos (80%) do MA.

Também é possível que o conteúdo de fibras no ES possa estar associado com a baixa taxa de biodegradabilidade do tratamento 100% de ES durante o processo de digestão. Existem métodos alternativos para incrementar a biodegradabilidade. Bouallagui *et al*. (2005)[3] implementaram uma hidrólise prévia que consistiu na adição de NaOH a uma temperatura de 100°C a dejeto de frango, obtendo um incremento de material solúvel e aumento da produção de metano.

A adição de resíduo de manga, variedade Ataulfo, no processo de codigestão anaeróbia com dejeto suíno, aumentou o valor de BMP, com obtenção de 242 $mLCH_4$ $gDQO^{-1}$ contra 178 $mLCH_4$ $gDQO^{-1}$, obtido somente pela digestão anaeróbia do dejeto suíno. A adição de ES também se mostrou responsável pela manutenção do pH a valores próximos de 7, permitindo que a codigestão fosse conduzida em condições estáveis. A geração biológica de metano é uma alternativa para a produção de energia renovável, ao tempo em que também garante a mitigação dos impactos gerados pelo descarte inapropriado de resíduos orgânicos.

4 - Agradecimentos

Ao Consejo de Ciencia y Tecnología do Estado de Chiapas (COCYTECH); Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT); e ao corpo docente do curso de Engenharia Ambiental Aplicada da Universidad Politécnica de Chiapas (UPCH)

5 - Bibliografia

[1]Astals, S.; Ariso M., Galí, A.; Mata-Alvarez, J. Co-digestion of pig manure and glycerine: Experimental and modelling study. *Journal of Environmental Management*, Barcelona, Spain, v.92, p.1091-1096, 2011.

[2]Astals, S.; Nolla-Ardévol, V. and Mata-Alvarez J. Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: Biogas and digestate. *Bioresource Technolgy*, Barcelona, Spain, v.110, p.63-70, 2012.

[3]Bouallagui, H.; Touhami, Y.; Ben Cheikh, R. And Hamdi, M. Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. *Process Biochemistry*, Tunis, Tunisia, v.40, p.989-995, 2005.

[4]Lesteur M., Bellon-Maurel V., Gonzalez C., Latrille E., Roger J., Junqua G., Steyer J. (2010). Alternative methods for determining anaerobic biodegradability: A review. Process. Biochem. 45: 431–440

[5]Organización de las Naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO), Sistema de información para los recursos del pienso, 2012. http://www.fao.org. 16/02/2012.

[6]Owen, W. F; Stuckey, D. C; Healy, J. B; Young, L. Y; Mccarty, P.L. (1979). Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. *Water Research,* U.S.A., v.13, p.485-492

Efeitos da temperatura, tempo e concentração de substrato na síntese de hemicelulases a partir de resíduos de *Alstroemeria sp.* usando o fungo *Pleurotus ostreatus*

Hernán D. Zamora Z.* (PG) [a], Thiago A. L. Silva (PG) [a], Leandro H. R. Varão (PG) [a], Daniel Pasquini (PQ)[a], Milla Baffi (PQ)[a]

[a]*Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFU* *(hdzamoraz@ufu.br)

Palavras Chave: *hemicelulases, Alstroemeria sp., Pleurotus ostreatus*

1 - Introdução

Geralmente as hemiceluloses (HC) são o segundo constituinte que exibe mais abundância na parede celular vegetal e estão dispostas estruturalmente entre a celulose e a lignina[1]. As HC são copolímeros constituídos por pentoses, hexoses e ácidos urônicos. A xilana é o componente majoritário das HC (70%), sendo encontrada na parede celular da maioria dos vegetais. Esta apresenta estrutura formada usualmente por xilose na cadeia principal (unidas por ligações β-1,4-glicosídicas) e ácido glucurônico e arabinofuranose nas cadeias laterais[2]. Tais ligações mencionadas podem ser hidrolisadas por endo-xilanases e β-xilosidases; as primeiras atacam frações de xilana para produzir xilobiose e xilo-olissacarídeos, os quais posteriormente, são desdobrados em xilose por ação das β-xilosidases[3]. Estas enzimas possuem grande importância biotecnológica devido sua aplicação nas indústrias do papel (branqueamento da celulose), pão (estabilidade da massa), cerveja (filtração), bioetanol (fermentação de pentoses) e alimento animal (degradação de fibra para dietas)[4].

No ano 2013, 13500 ha de flores foram colhidos, dos quais os resíduos (1 ton/ha) só foram dispostos em aterros sanitários, queimados ou destinados para compostagem[5]. Assim, este trabalho objetivou aproveitar esse tipo de biomassa lignocelulósica para obter endo-xilanases e β-xilosidases através de fermentação sólida (FES), usando o fungo *P. ostreatus* linhagem PLO6, avaliando os efeitos da temperatura, tempo e concentração de substrato no processo de síntese.

2 - Material e Métodos

O substrato foi caracterizado determinando teor de lignina Klason (TAPPI T13M-54), celulose e HC pelo método de clorito-ácido[6]. As FES foram realizadas em triplicata em frascos Erlenmeyers de 250 mL, em pH 5,5 e utilizando como inóculo 5 discos miceliais (8 mm de diâmetro) de 8 dias de crescimento do fungo em meio Ágar Batata Dextrose a 28 ºC e pH 5,5. A produção de hemicelulases foi avaliada através de um planejamento fatorial completo 2^3, onde as variáveis de resposta foram as atividades das endo-xilanases e β-xilosidases e os fatores foram a temperatura (T: 24 e 32 ºC), o tempo (t: 8 e 15 d) e a concentração de substrato (CS: 20 e 30%). A solução nutriente foi composta por 0,3 g/L de $Mg(SO_4)\cdot 7H_2O$, 0,00156 g/L de $Mn(SO_4)\cdot H_2O$, 0,002 g/L de $CoCl_2$, 0,0431 g/L $Cu(SO_4)\cdot 5H_2O$, 0,005 g/L de $Fe(SO_4)\cdot 7H_2O$, 0,0014 g/L de $Zn(SO_4)\cdot 7H_2O$, 0,3 g/L de $CaCl_2$, 1,5 g/L de KH_2PO_4, 4 g/L de extrato de levedura, 0,001 g/L de tiamina e 0,2 g/L de tartarato de amônio. Para a extração das enzimas, a cada um dos frascos Erlenmeyers foram adicionados 50 mL de água destilada e homogeneizados por 1 hora a 200 rpm a temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram filtradas em tecido tipo *vual*, centrifugadas a 2000 rpm por 20 minutos e o sobrenadante foi filtrado novamente em papel filtro. As atividades enzimáticas das β-xilosidases e endo-xilanases foram determinadas pelo método espectrofotométrico usando, respectivamente, como substratos p-nitrofenil-β-D-xilopiranosidio (PNPX) e xilana[7].

3 - Resultados e Discussão

A composição lignocelulósica dos caules e folhas (misturados) da flor e de outras fontes utilizadas para produzir hemicelulases são exibidas na Tabela 1. Encontrou-se que os teores de celulose e lignina dos resíduos florais estiveram dentro dos valores reportados para outros substratos usados na produção de hemicelulases, no entanto, apesar de possuir um baixo conteúdo de HC, os resíduos de alstroeméria possibilitam uma produção de enzimas hemicelulolíticas.

Tabela 1 – Composição química do substrato

Análise*	Resíduos alstroeméria	Bagaço cana[8]	Farelo Trigo[8]
Celulose	36,1 ± 0,24	25-45	10,5-14,8
HC	14,7 ± 0,14	28-32	35,5-39,2
Lignina	15,2 ± 0,14	15-25	8,3-12,5

*Valores em % (base seca)

A Figura 1 representa as influências dos fatores: temperatura (T, 24 e 32 ºC), tempo (t, 8 e 15 d) e concentração de substrato (CS, 20 e 30%), sobre a produção de endo-xilanases (Figura 1a) e β-xilosidases

(Figura 1b). Observa-se que os fatores com maior influência na produção de enzimas hemicelulolíticas foram a T e a CS, os quais exibiram um efeito de primeira ordem que potencializou a síntese desse tipo de enzima quando os níveis foram mantidos nos níveis altos (T: 32 ºC e CS: 30%). Observa-se também, que o segundo efeito com a maior significância sobre as atividades enzimáticas corresponde à interação causada pelos fatores T e CS, os quais aumentam os valores das variáveis de resposta quando mantidos nos níveis altos. A configuração da CS foi semelhante à encontrada por Iandolo et al. (2011)[9], que obteve uma máxima atividade da endo-xilanase (76,9% U/g) a partir de resíduos de maçã através do crescimento do fungo *P. ostreatus* (Jacq.:Fr. tipo: Florida) linhagem ATCC MYA-2306 usando a metodologia de FES conduzida com uma CS de 29%. No trabalho de Liguori et al. (2015)[10], reportou-se que a máxima atividade da endo-xilanase (51,32 U/mL) foi atingida no nono dia usando o *P. ostreatus* da mesma linhagem que o autor anterior usando celulose micro-cristalina como substrato.

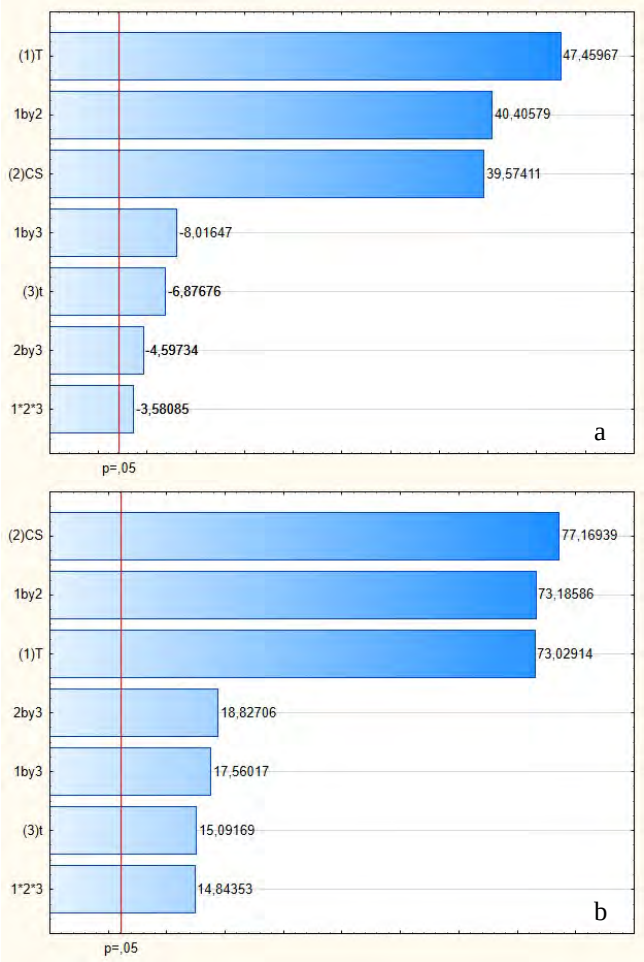


Figura 1. Gráfico de Pareto para os efeitos pesquisados a 95% de intervalo de confiança para: a) endo-xilanases; b) β-xilosidases

Outro fator que influenciou de forma significativa a obtenção das hemicelulases, mas em menor proporção que os relatados anteriormente, foi o t, o qual exibiu um efeito potencializador sobre a síntese de endo-xilanases, enquanto seu nível foi mantido no valor baixo (8 d), no entanto, o efeito do fator t sobre as β-xiloxidases foi considerado positivo enquanto seu nível tomou o valor alto (15 d). Esta tendência obtida têm muita relação com estudos prévios realizados por Sánchez-Santillán e Torres-Salado (2015)[11], os quais encontraram uma produção máxima de endo-xilanases após 7 dias de FES em sacolas de polipropileno usando bagaço de cana-de-açúcar como substrato de crescimento para o fungo *P. ostreatus* linhagem IE8. A combinação de T e t foram parecidas às condições de obtenção de endo-xilanases estudadas por Terrasan et al. (2013)[12], que usou o fungo termófilo *Penicillium janczewskii* sobre aveia em condição de cultivo submerso a 30 ºC e 8 d.

Considerando as análises estatísticas obtidas através dos gráficos de Pareto, as máximas atividades enzimáticas forma atingidas na configuração T = 32ºC, CS = 30% e t = 8 d no caso das endo-xilanases (77,1 U/g) e T = 32ºC, CS = 30% e t = 15 d para as β-xilosidases (67,3 U/g).

4 - Agradecimentos

Agradecimento a CAPES e FAPEMIG pelo apoio financeiro.

5 - Bibliografia

[1]Sarkar, N. et al. *Renewable Energy*, 37,19-27,2012;
[2]Chen, H. *Biotechnology of lignocellulose*. New York. Ed Springer. 510p.2014;
[3]Lima, T. et al. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 176,1-8,2014;
[4]Li, S. et al. Computational and Structural Biotechnology Journal. 2,1-11,2012;
[5]Junqueira, A. e Silva, M. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, 20, 115-120, 2014;
[6]Milne, T. et al. *Sourcebook of methods of analysis for biomass and biomass conversion processes*. Golden. Ed Elsevier. 343p.1990;
[7]Teixeira, R. e Wendling, B. *Solos nos biomas brasileiros: sustentabilidade e mudanças climáticas*. Uberlândia. Ed UFU. 337p.2014;
[8]Menon, M. *Progress in Energy and Combustion Science*. 38,522-550,2012.
[9]Iandolo, D. et al. *Bioresource Technology*. 102,7603-7607,2011;
[10]Liguori, R. *BioMed Research International*. 2015,1-14,2015;
[11]Sánchez-Santillán, P. *Life Science Journal*. 12,37-41,2015;
[12]Terrasán, C. *BioResources*. 8,1292-1305,2013;

Hidrólise, Destoxificação e Fermentação da Fração Hemicelulósica da Torta dde Dendê (*Elaeis Guineensis*) com Linhagens de *Scheffersomyces Stipitis*

Philipe Luan Brito[(1)], Gabriela Maria Pereira Barbosa[(1)], Lílian de Araújo Pantoja [(2)], Alexandre Soares dos Santos [(3)]*

[1] *Programa de Pós-graduação em Biocombustíveis. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina,MG.*
[2] *Instituto de Ciência e Tecnologia. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina,MG.*
[3] *Departamento de Ciências Básicas. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina,MG.*
* (alexandre.soares@ufvjm.edu.br)

Palavras Chave: *Bioetanol. Hemicelulose. Hidrólise ácida. Scheffersomyces stipitis.*

1 - Introdução

A indústria do bioetanol de segunda geração já é realidade no Brasil. Entretanto existem muitos desafios para o aumento da produção, da eficiência e para a redução do custo de produção. A fração hemicelulósica das biomassas vegetais contém açúcares como a D-xilose, L-arabinose, D-glicose, mas ainda é pouco utilizada para a produção de etanol, pois necessita de agentes fermentativos não convencionais. A fermentação de pentoses é realizada por organismos especializados como a levedura S*cheffersomyces stipitis*. A presença de compostos inibidores resultantes da hidrólise ácida da hemicelulose torna a produção de álcool a partir da hemicelulose ainda mais desafiadora. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do processo de destoxificação por *overliming* no desempenho de três linhagens de *Scheffersomyces stipitis* durante a fermentação alcoólica de hidrolisados hemicelulósicos da torta de dendê.

2 - Material e Métodos

A torta de dendê (*Elaeis guineensis*) foi cedida pela empresa Agropalma, Belém, PA, Brasil. As linhagens de leveduras *Scheffersomyces stipitis* estudadas foram NRRLY1214, NRRLY 7124 e CBS 6054, cedidas pela Fundação André Tosello. O preparo do hidrolisado ácido hemicelulósico da torta de dendê foi realizado adotando as condições ótimas do processo de pré-tratamento descritas por Ferreira [1] (Tabela 1).

Tabela 1: Condições experimentais utilizadas para obtenção dos hidrolisados hemicelulósicos da torta de dendê.

Fator	Valores ótimos
Concentração de H_2SO_4 (% m/v)	**5,3**
Concentração de torta (% m/m)	**29,0**
Tempo (minutos)	**61,5**

Após a hidrólise da torta de dendê, a fração solúvel foi caracterizada quanto aos teores de açúcares redutores, glicose e compostos fenólicos totais. Os teores de furfural, 5-hidroximetilfurfural e ácido acético também foram mensurados, através de cromatografia líquida de alta eficiência. A destoxificação do hidrolisado ácido foi realizada pelo método de *overliming* descrito por Purwadi *et al*. [2]. Após a destoxificação, o hidrolisado tratada foi caracterizado quantos aos mesmos parâmetros anteriormente relatados. O processo fermentativo foi conduzido com duas abordagens. Foi realizada a fermentação do hidrolisado destoxificado e do hidrolisado não destoxificação (controle) em um primeiro ensaio. Na segunda abordagema, o hidrolisado destoxificado e o hidrolisado ão destoxificação foram previamente diluídos (1:1) com meio de cultivo proposto por Bellido et al. (2011). Os processos fermentativos foram conduzidos em frascos cônicos de 125 mL contendo 25 mL de hidrolisado. Foi usado inoculo com densidade celular de 1 DO na proporção de 10% v/v. A fermentação foi acompanhada a intervalos de tempo regulares, em que foram avaliados as concentrações de açúcares redutores, glicose e o crescimento celular (contagem de células em câmera de Neubawer). Ao final do processo fermentativo foi dosada a concentração de álcool de acordo com metodologia descrita por Isarankura-Na-Ayudhya *et al*. [3]. Os dados obtidos foram examinados por meio análise de variância e a comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey a 95% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico OriginPro ® Versão 8.

Os processos fermentativos foram avaliados quanto às taxas de rendimento em etanol ($Y_{P/S}$, g_{etanol} $g_{açúcar}^{-1}$), Produtividade volumétrica (Q_P, g L^{-1} h^{-1}) e Eficiência fermentativa (Ef, %).

3 - Resultados e Discussão

A composição química do hidrolisado ácido hemicelulósico da torta de dendê antes e após o tratamento de destoxificação encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2. Composição química do hidrolisado ácido hemicelulósico da torta de dendê antes (HAH) e após os processos de destoxificação (HDO).

Componentes	Tratamentos	
	HAH	HD*O*
AR [g L^{-1}]	83,10 ± 1,60	60,74 ± 4,00
Glicose [g L^{-1}]	0,91 ± 0,02	0,52 ± 0,01
CF [g L^{-1}]	0,66 ± 0,03	0,44 ± 0,02
AcA [mg L^{-1}]	12,02 ± 1,02	19,64 ± 1,80
Furfural [mg L^{-1}]	489,50	246,20
HMH [mg L^{-1}]	46,10	28,20

HAH=hidolisado ácido hemicelulósico sem tratamento de destoxificação. HDO= hidolisado ácido hemicelulósico destoxificado por *overliming*. AR=açúcares redutores. CF=compostos fenólicos totais. AcA=ácido acético. HMH=5-hidroximetilfurfural.

O tratamento ácido resultou em hidrolisado 83,10±1,60 g L^{-1} de açúcares redutores. A concentração de glicose no hidrolisado ácido (HAH) foi baixa, apresentando valores de 0,91±0,02 g L^{-1}. Foi observado que a destoxificação utilizando *overliming* reduziu em 27% a concentração dos açúcares redutores. Esse fato pode ter ocorrido devido à degradação dos monossacarídeos em pH alcalino [4]. O mesmo fenômeno foi observado para os teores de glicose. A concentração de ácido acético presente no hidrolisado ácido foi de 12,0 g L^{-1}. Este valor é superior aos relatados na literatura para processos utilizando diferentes biomassas na produção do hidrolisado ácido hemicelulósico. Não foi observado remoção de ácido acético pelo tratamento de destoxificação avaliado. A concentração CF encontrada no HAH sem destoxificação foi de 0,66 g L^{-1}. Estes valores quando comparados com dados relatados na literatura provenientes de hidrolisados hemicelulósicos de diferentes matérias-primas pode ser considerado baixo. A remoção dos compostos fenólicos, furfural e 5-hidroximetilfurfural pelo método *overliming* foi de 65%, 50,3% e 38,8 %, respectivamente.

O consumo de açúcares redutores e o crescimento celular das linhagens de *S. stipitis* durante o processo fermentativo estão ilustrados na Figura 1. No meio fermentativo elaborado com o hidrolisado não destoxificado não foi constatado nenhuma produção de etanol, apesar de ter sido observado crescimento celular. O consumo de açúcar no meio não destoxificado foi de cerca de 25%. No meio destoxificado por *overliming* o consumo de açúcar foi superior a 90%. A produção de etanol foi observada para as linhagens NRRLY 1214, NRRLY 7124 e CBS 6054 no meio HD*O* e foram iguais a 6,2 g L^{-1}, 6,13 g L^{-1} e 2,7 g L^{-1}, respectivamente. Os melhores valores de rendimento, $Y_{P/S}$ (0,33±0,02) e de Q_P (0,068±0,003 g h^{-1}) foram alcançados pela linhagem NRRLY 7124 no meio HD*O*.

A diluição do hidrolisado HAH da torta de dendê utilizando meio suplementado resultou em significativa melhora no processo de fermentação para as três linhagens de *S. stipitis*.

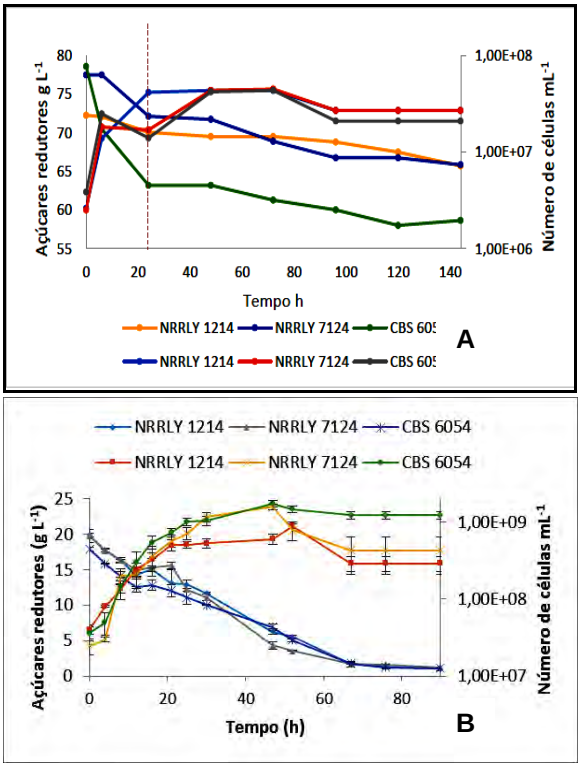


Figura 1. Perfil do consumo de açúcares redutores e do crescimento celular das linhagens de *S. stipitis* CBS 6054, NRRLY 1214 e NRRLY 7124 no meio nãodestoxificado (**A**) e no meio destoxificado por *overliming* (**B**).

4 - Agradecimentos

Os autores agradecem aos órgãos de fomento CNPq, FAPEMI e CAPES e também à UFVJM pelo suporte estrutural e técnico.

5 - Bibliografia

[1] Ferreira, C.M.A. **Avaliação da torta de dendê (*elaeis guineensis*) para produção de bioetanol de segunda geração**. Dissertação (Mestrado). UFVJM. Diamantina (MG). 2013, 77p.

[2] Purwadi, R., Niklasson, C., Taherzadeh, M.J.: Kinetic study of detoxification of dilute-acid hydrolyzates by $Ca(OH)_2$. **J. Biotechnol.** 114, 187–198 (2004).

[3] Isarankura-Na-Ayudhya, C., Tantimongcolwat, T., Kongpanpee, T., Prabkate, P., Prachayasittikul, V.: Appropriate Technology for the Bioconversion of Water Hyacinth (Eichhornia crassipes) to Liquid Ethanol Future Prospects for Community Strengthening and Sustainable Development. **EXCLI J.** 6, 167–176 (2007).

[4] Amartey, S., Jeffries, T.: An improvement in Pichia stipitis fermentation of acid-hydrolysed hemicellulose achieved by overliming (calcium hydroxide treatment) and strain adaptation. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 12, 281–283 (1996).

Hidrólise-hidrogenação catalítica do óleo de soja visando à produção de ácidos graxos livres saturados

C. A. B. CRISÓSTOMO [a], K. M. SOUZA [b], T. S. S. ALMEIDA [b], R. R SOARES [a, b]

[a] Universidade Federal de Uberlândia, Departamento de Biocombustíveis
[b] Universidade Federal de Uberlândia, Departamento de Engenharia Química
E-mail para contato: camilobrandeq@gmail.com.

Palavras Chave: ***Hidrólise, Hidrogenação, Ácidos graxos livres, Níquel, Estanho.***

1 - Introdução

Recentemente foi verificado que a solução aquosa do glicerol, formada após a hidrólise de óleos utilizando catalisadores heterogêneos, pode sofrer a reação de reforma em fase líquida (APR - *Aqueous Phase Reforming*) levando a formação de hidrogênio e dióxido de carbono. Este hidrogênio pode atuar na reação de hidrogenação dos ácidos graxos livres (AGL), formando ácidos graxos livres saturados, os quais são de alta relevância para indústrias alimentícias e oleoquímicas. Dessa forma, a hidrogenação além de melhorar a qualidade dos AGL, permite a obtenção de um ácido graxo específico de maior valor agregado. Catalisadores a base de platina, paládio e níquel são promissores para este tipo de reação. Catalisadores a base de níquel podem ser uma alternativa atrativa para este tipo de processo devido ao menor custo.

Neste sentido, o presente trabalho busca selecionar um catalisador ativo para a reação de hidrólise de óleos vegetais e para a reação subsequente, a hidrogenação dos ácidos graxos a partir do H_2 obtido do glicerol. Os testes catalíticos foram realizados com óleo de soja comercial, catalisadores 15% NiO/γ-Al_2O_3, calcinados a diferentes temperaturas; e um catalisador bi metálico Ni-Sn/ γ-Al_2O_3, razão molar de Ni/Sn de 1:1.

2 - Material e Métodos

Foram preparados catalisadores monometálicos contendo 15% em peso de NiO, suportados em γ-Al_2O_3. Os catalisadores foram preparados pelo método da impregnação seca do suporte com uma solução aquosa de $Ni(NO_3)_2.6H_2O$. Os catalisadores obtidos foram então calcinados a diferentes temperaturas, sendo estas: 300, 400 e 500 ^oC, por 4 horas. Estes foram então nomeados como NiO-300, NiO-400 e NiO-500. Uma amostra, nomeada como NiO-seco, não foi calcinada. O catalisador bi metálico foi preparado a partir da impregnação seca do catalisador NiO-seco, com uma solução aquosa de $SnCl_2$, de forma a obter a razão molar de Ni-Sn desejada (1:1) e foram em seguida calcinados a 300°C, por 4 horas. O teor em massa obtido para o catalisador Ni-Sn foi de 17,2 % de Sn e 8,6 % de Ni.

A caracterização foi feita através de análises de Redução a Temperatura Programada (TPR) e Difração de Raios-X (DRX).

Para a realização das reações de hidrólise foi utilizado um reator batelada de 500 mL (Snipe-Tite), equipado com um sistema de agitação e controlador de aquecimento. As condições reacionais estudadas foram: temperatura de 250 °C, pressão inicial em torno de 25 bar, agitação entre 800-900 rpm, tempo de reação de 2 horas, razão mássica de óleo/agua de 1:1 e 10% (m/m) de catalisador em relação ao óleo. Dessa forma, a mistura reacional consistiu em 100 g óleo de soja comercial, 100 g de água e 10 g de catalisador.

Primeiramente, os reagentes óleo e água foram introduzidos no reator batelada e em seguida iniciou-se a reação de redução *ex-situ* do catalisador, ou seja, em outro reator, sendo este de fluxo contínuo. Após a redução, o catalisador foi transferido para o reator batelada. Em seguida pressurizou-se o reator e iniciou-se o aquecimento e a agitação. O tempo de reação foi considerado a partir do momento em que se atingiu a temperatura requerida. A agitação foi mantida a velocidade constante. Os produtos foram obtidos após 2 horas de reação e foram primeiramente filtrados para a remoção do catalisador. Em seguida, o filtrado contendo as fases oleosa e aquosa foi transferido para um funil de decantação para a separação das fases.

A concentração de triglicerídeos foi obtida por cromatografia gasosa, através do método EN 14105 (ASTM D-6584). O teor de AGL foi determinado mediante metodologia EN 14103 adaptada.

3 - Resultados e Discussão

A Figura 1 a seguir mostra os resultados de TPR obtidos, indicando as temperaturas máximas de redução.

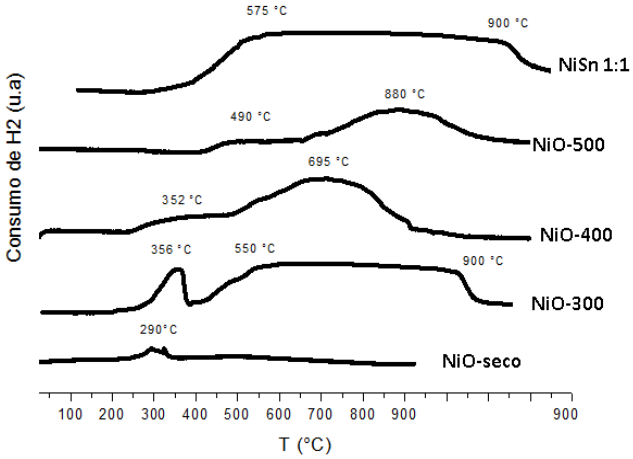


Figura 1. Perfis de TPR dos catalisadores testados.

Picos em temperaturas menores que 400°C, como observado no Ni-seco e Ni-300, podem ser atribuídos à decomposição de nitratos residuais. Picos entre 400 e 700°C, observado em todos os catalisadores calcinados, podem ser relacionados à redução de espécies de óxido de níquel presentes na fase "bulk", à redução do NiO com menor interação com o suporte, ou, ainda, à redução de espécies Ni^{2+}, superficiais e altamente dispersas, a Ni metálico. Já picos próximos a 900° C correspondem a uma estrutura estável denominada aluminato de níquel (Scheffer *et al.,* 1989).

Para os catalisadores NiO/Al_2O_3, observou-se que o aumento da temperatura de calcinação promoveu o aumento na temperatura de redução. Quando comparado ao catalisador NiO-300, verifica-se que a adição de Sn também faz com que a redução se inicie a temperaturas mais elevadas.

A Figura 2 mostra os resultados de DRX dos catalisadores, da alumina utilizada e do NiO obtido pela calcinação do $Ni(NO_3)2.6H_2O$ a 400° C por 3 horas.

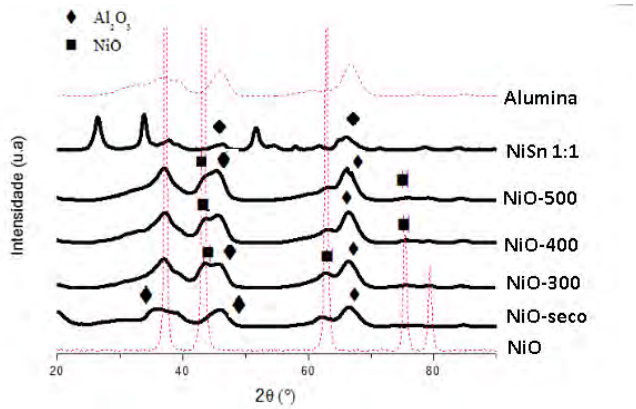


Figura 2. Difratogramas dos catalisadores testados

Os resultados mostram que a calcinação promoveu o aparecimento da espécie NiO nos catalisadores, visualizada na posição 2θ = 43, 2º. Segundo a ficha JCPDS este pico é característico da fase NiO cristalina (bunsenite de estrutura cúbica e grupo espacial Fm3m). O difratograma do catalisador não calcinado não apresentou a fase NiO. No catalisador bi metálico não foi verificado picos de difração que possam ser atribuídos ao NiO Pode ter ocorrido a formação de alguma espécie Ni-Sn-alumina, ocasionada pela adição do promotor.

A Figura 3 mostra a conversão de triglicerídeos, após 2 horas de reação. A calcinação não promoveu nenhum efeito significativo sobre a conversão de TG. Uma explicação para este resultado é que, teoricamente, a hidrólise ocorre em sítios ácidos e todos os catalisadores testados apresentam o mesmo teor de Al_2O3 (85 %), o sítio ácido no caso. A adição de Sn aumentou a conversão de TG para quase 100 %.

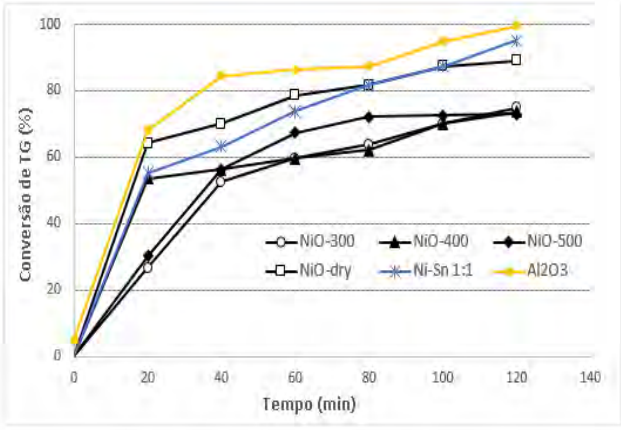


Figura 4. Conversão de triglicerídeos.

A Figura 4 mostra o rendimento em ácidos graxos livres totais.

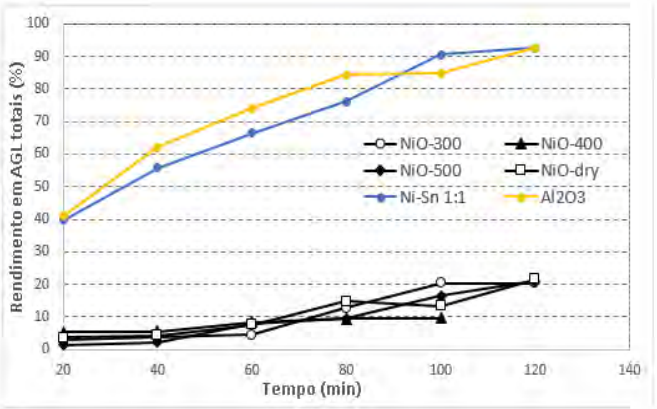


Figura 5. Rendimento em AGL totais.

A Tabela 1 mostra a seletividade de ácidos graxos livres (AGL).

Tabela 1. Seletividade (%) de Ácidos Graxos Livres (AGL)

	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	X_{TG}
S 100%*	12,9	5,05	25,25	58,84	100
s/c (branco)**	-	-	-	-	<1
γ-Al2O3	14,39	6,91	24,72	55,58	99,48
NiO-300	17,93	37,12	27,59	19,35	74,94
NiO-400	23,01	15,96	21,50	42,09	73,55
NiO-500	21,73	15,59	20,43	44,66	72,90
NiO-dry	20,50	19,22	20,51	42,05	88,99
Ni-Sn 1:1	16,86	13,52	14,42	57,07	95,07

** considerando uma hidrólise de 100% sem hidrogenação*
***sem catalisador*

Todos os catalisadores se mostraram estáveis e ativos para a reação estudada. A γ-Al_2O_3 apresentou uma boa atividade, mostrando a importância da densidade de sítios ácidos. A calcinação e a adição do promotor Sn proporcionaram a formação de ácidos graxos saturados, o que está relacionado à geração *in situ* do glicerol através da reação de reforma em fase líquida (APR).

4 - Agradecimentos

Agradecimento à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

5 - Bibliografia

[1]Chenard, G. D; Salazar R.P.; Aranda D.G.A. *Hydrolisysysis Hydrogenation of soybean oil and tallow.* Natural Science, Vol.3, No.7, p. 530-534, 2011.

[2]King, J.W.; Holliday, R.L.;LIST, G. R. *Hydrolysis of Soybean Oil in a Subcritical Water Flow Reactor*. Green Chem. 1, p. 261–264, 1999.

[3]Moretto, E; Fett, R. *Tecnologia de óleos de gorduras vegetais tais na indústria de alimentos*. São Paulo, Varela, V.150, 1998.
[4]Scheffer B., Molhoek P., Moulijn J.A., *Appl. Cata*l. 46, p.11, 1989.

[4]Wang, W. W; Thapalya, N; Campos, A; Roberts V, L. *Hydrogen fuels from vegetable oils via hydrolysis and thermo-catalytic decarboxylation*. *Fuel*, p. 622-629, 2012

Isolamento, seleção e identificação de leveduras selvagens com habilidade para conversão de xilose a etanol

Raquel Valinhas e Valinhas [a], Alexandre Soares dos Santos [a, b] e Lílian de Araújo Pantoja [a, c] *

[a]*Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis – UFVJM;* [b]*Departamento de Ciências Básicas – FCBS/UFVJM;*
[c] *Instituto de Ciência e Tecnologia – UFVJM*
*lilianpantoja@gmail.com

Palavras Chave: *Bioetanol, Hemicelulose, Fermentação alcoólica, Galactomyces geotrichum, Candida akabanensis*

1 - Introdução

A busca por linhagens de leveduras fermentadoras de pentoses é uma demanda do processo de produção de etanol a partir de substratos lignocelulósicos. A xilose, proveniente dos processos de hidrólise da hemicelulose não é metabolizada por linhagens de leveduras convencionais, como as da espécie *Saccharomyces cerevisiae* utilizadas na maioria dos processos industriais para obtenção de álcool de primeira geração.

Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo isolar e identificar leveduras selvagens presentes em biomassas vegetais e avaliar sua capacidade para converter D-xilose em etanol.

2 - Material e Métodos

As leveduras foram isoladas em meio ágar YNB (Yeast Nitrogen Base 0,67%, D-xilose 3% e 1,5 % de ágar) incubado a 28°C por até 48 horas e purificadas meio ágar YMPD (Yeast Extract Malt Dextrose 0,3 %, de extrato de levedura, 0,3% de extrato de malte, 0,5 % de peptona, 1% de glicose e 1,5 % de Agar) por 48 horas a 28ºC. A habilidade dos isolados em fermentar xilose é produzir gás foi testada em tubos de ensaio com rosca contendo meio YNB e, no interior, tubos de Durhan invertido. As linhagens selecionadas foram submetidas a processo de fermentação alcoólica conduzido em batelada simples a 28ºC sob agitação a 105 rpm em dois meios de cultivo. O Meio I foi composto por 10,0 g L^{-1} de peptona de soja, 10,0 g L^{-1} de extrato de levedura, 12,8 g L^{-1} de KH_2PO_4, 0,51 g L^{-1} de Na_2HPO_4, 0,47 g L^{-1} de $(NH_4)_2SO_4$, 0,47 g L^{-1} de $MgSO_47H_2O$, tendo 35,0 g L^{-1} de glicose e 20,0 g L^{-1} de D-xilose como fontes de carbono e o Meio II composto de 20,0 g L^{-1} de D-xilose, 1,25 g L^{-1} de ureia, 1,1 g L^{-1} de KH_2PO_4, 2,0 g L^{-1} de extrato de levedura e 40 mL L^{-1} da solução de micronutrientes (12,5 g L^{-1} de $MgSO_47H_2O$, 1,25 g L^{-1} de $CaCl_2$, 12,5 g L^{-1} de ácido cítrico, 0,9 g L^{-1} de $FeSO_47H_2O$, 0,19 g L^{-1} de $MnSO_4$, 0,3 g L^{-1} de $ZnSO_47H_2O$, 0,025 g L^{-1} de $CuSO_45H_2O$, 0,025 g L^{-1} de $CoCl_26H_2O$, 0,035 g L^{-1} de $(NH_4)_6MoO_{24}4H_2O$, 0,05 g L^{-1} de H_3BO_3, 0,009 g L^{-1} de KI e $Al(SO_4)_3$ 0,0125 g L^{-1}). A intervalos de tempo regulares foram retiradas alíquotas para avaliação do crescimento celular e consumo dos açúcares redutores. O processo fermentativo foi avaliado quanto ao fator de rendimento de produção de etanol ($Y_{P/S}$), a produtividade volumétrica (Q_P) e a eficiência fermentativa (E*f*). Ao final de cada fermentação foi determinada a concentração de etanol.

Os isolados com aptidão para produção de etanol foram identificados através do sequenciamento de regiões variáveis do rDNA utilizando os iniciadores NL1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAA-3') e NL4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3') para a amplificação do domínio D1/D2 da região rDNA 26S e os iniciadores ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') para a amplificação da região ITS do rDNA 5.8S. As sequências obtidas foram analisadas através do programa BLAST e comparadas com as sequências depositadas no banco de dados GenBank.

3 - Resultados e Discussão

202 linhagens foram capazes de assimilar xilose. Somente quatro linhagens, codificadas como R10, R131, R150 e R163, provenientes do inhame, bagaço de cana-de-açúcar, tomate e pimentão, respectivamente, apresentaram habilidade em fermentar a pentose.

Durante o processo de fermentação alcoólica os açúcares disponíveis foram quase que totalmente consumidos nos dois meios testados, evidenciando a habilidade dos microrganismos selecionados em consumir xilose (Fig. 1A e B).

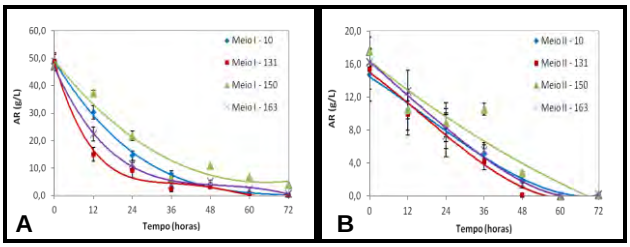


Figura 1. Cinética do consumo de açúcares nos Meios I e II

As taxas de consumo de açúcares foram diferentes para todas as linhagens testadas no Meio I (Fig. 1 A) e equivalentes quando testadas no Meio II (Fig. 1 B).

No Meio I, foi possível observar que a xilose foi consumida mais lentamente e que passou a ser utilizada após o consumo da glicose (Fig. 2). A literatura corrobora a preferência de consumo das leveduras por glicose em relação a outros açúcares[1].

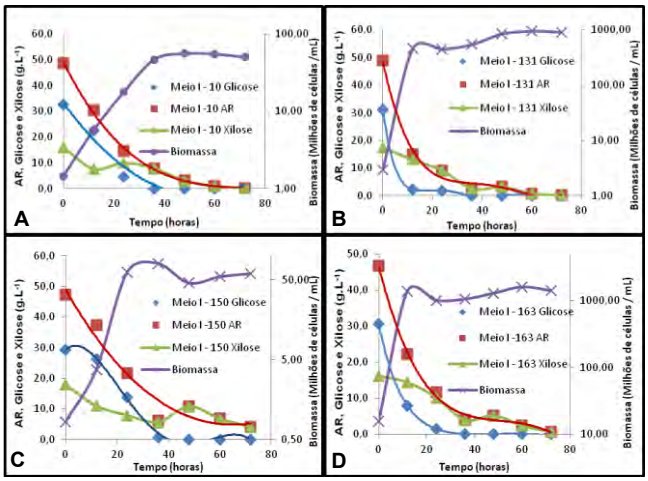


Figura 2. Perfil de crescimento *vs* consumo de substrato no Meios I.

Os rendimentos ($Y_{P/S}$) foram estatisticamente semelhantes para os micro-organismos cultivados tanto no Meio I quanto no Meio II (Tab.1).

O isolado R10, oriundo do inhame, foi o que apresentou valores de $Y_{P/S}$ (0,35 gp gs^{-1}) e E_f (69,4%) mais altos. Os valores Q_P obtidos no Meio I foram semelhantes para as linhagens R10 e R150, que diferiram estatisticamente das demais (R131 e R163). No Meio II não houve diferença significativa dos valores de Q_P e etanol para as linhagens estudadas. No Meio I a linhagem R131 apresentou os maiores valores Q_P (0,23 g L^{-1} h^{-1}) e etanol (14,05 g L^{-1}), sendo estatisticamente semelhante aos resultados do isolado R163 no mesmo meio.

Zhang e Geng[2], avaliando a capacidade de fermentação de xilose de linhagens hibridas (*Saccharomyces cerevisiae* com *Pichia stipitis*), obtiveram rendimentos em etanol variando entre 0,28±0,01 a 0,31±0,03 g g^{-1}, e produtividade volumétrica em etanol entre 0,32±0,01 a 0,38±0,02 g L^{-1} h^{-1} em meios de fermentação contendo 150 g L^{-1} de D-xilose. Constata-se, portanto, que as linhagens pesquisadas neste trabalho apresentaram taxas de rendimento próximas ou dentro das faixas obtidas por estes autores. No entanto, ao comparar os valores Q_P, esta se mostrou inferior em mais de 70%.

Tabela 1 – Variáveis de resposta do processo fermentativo nos Meios I, contendo 35 g L^{-1} de glicose e 20 g L^{-1} de D-xilose, e no Meio II, contendo apenas 20 g L^{-1} de D-xilose.

Condições x Isolados	$Y_{P/S}$ (gp gs^{-1})	E*f* (%)	Etanol (g L^{-1})	Q_P (g L^{-1} h^{-1})
Meio I – 10	$0,23^a$	44,6	$10,75^a$	$0,15^{ac}$
Meio I – 131	$0,29^a$	57,6	$14,05^b$	$0,23^b$
Meio I – 150	$0,22^a$	44,0	$9,20^a$	$0,13^c$
Meio I – 163	$0,31^a$	60,8	$13,65^b$	$0,19^d$
Meio II – 10	$0,35^a$	69,4	$5,03^c$	$0,07^e$
Meio II – 131	$0,34^a$	66,7	$5,12^c$	$0,07^e$
Meio II – 150	$0,29^a$	57,0	$5,05^c$	$0,07^e$
Meio II – 163	$0,29^a$	57,4	$4,70^c$	$0,07^e$

Legenda: $Y_{P/S}$= fator de rendimento de produção de etanol; E*f* = eficiência fermentativa; Q_P= produtividade volumétrica; A presença da mesma letra entre as linhas indica não haver diferença estatística entre os valores com o teste de Tukey (p=0,05).

As linhagens aqui isoladas e selecionadas foram identificadas como *Galactomyces geotrichum* (R10 e R150) e *Candida akabanensis* (R131). Não há na literatura registro de aplicação biotecnológica para a produção de biocombustíveis a partir destas espécies. A linhagem R163 ainda não foi identificada.

As condições fermentativas não foram otimizadas e nem foram testados hidrolisados hemicelulósicos, o que deixa margem para estudo de otimização. Os dados obtidos geram boas perspectivas para o melhor aproveitamento de açúcares provenientes das etapas de hidrólise de materiais lignocelulósicos, incentivando assim, a busca por novas linhagens fermentadoras de xilose.

4 - Agradecimentos

À CAPES, FAPEMIG e CNPQ pelo apoio financeiro.

5 - Bibliografia

[1]Cadete, R. M.; Santos, R. O.; Melo, M. A.; Mouro, A.; Golçalves, D. L.; Stambuk, B. U.; Rosa, C. A. *Spathaspora arborariae* sp. nov., a D-xylose-fermenting yeast species isolated from rotting wood in Brazil. *FEMS Yeast Research*, 9.1338-1342, 2009;

[2] Zhang, W.; Geng, A. Improved ethanol production by a xylose-fermenting recombinant yeast strain constructed through a modified genome shuffling method. *Biotechnology for Biofuels*, 5.1.46, 2012;

Otimização da produção de celulases e hemicelulases por *Aspergillus niger* utilizando sorgo biomassa como fonte de carbono e variando as fontes de nitrogênio

Lídia Manfrin Dias (PG) [a], Carlos Juliano Brant Albuquerque [b], Daniel Pasquini[c], Milla Alves Baffi[d]

[a] *Mestranda do Programa de Pós-Graduação em BiocombustíveisUFU/UFVJM*, [b]*Instituto de Ciências Agrárias/UFMG*, [c] *Departamento Instituto de Química/UFU*, [d]*Instituto de Ciências Agrárias/UFU* (millabaffi75@gmail.com)

Palavras Chave: Sorgo biomassa, celulases, hemicelulases, fermentação em estado sólido, *Aspergillus niger*.

1 - Introdução

Com o rápido aumento populacional, a depleção de recursos naturais e a poluição ambiental, o bioetanol tem atraído a atenção como fonte de energia, pode ser uma matéria-prima renovável e possibilitar a diminuição dos problemas ambientais gerados por combustíveis fósseis.

A biomassa lignocelulósica é uma matéria-prima barata e prontamente disponível para produção de bioetanol ou etanol celulósico, cuja composição conta com uma rede complexa de celulose, hemicelulose e lignina, o que envolve a necessidade de etapas de pré-tratamento e sacarificação[1].

O sorgo (*Sorghum bicolor*) é um cereal muito utilizado na alimentação animal e produção de grãos. O sorgo biomassa, um dos cinco tipos diferentes desse cereal, é uma matéria-prima promissora para a produção de etanol celulósico devido à baixa porcentagem de lignina em sua composição, cerca de 1 a 10%[2]. A lignina pode afetar negativamente a acessibilidade das enzimas à celulose e, por isso, uma matéria-prima reduzida em teor de lignina é interessante para a produção de etanol celulósico[3].

O processo de sacarificação da biomassa requer o uso de celulases e hemicelulases. No entanto, as enzimas utilizadas atualmente têm um alto custo, comprometendo a produção de bioetanol celulósico em grande escala[4].

Assim, o objetivo deste trabalho é potencializar a produção de celulases e hemicelulases, utilizando sorgo como fonte de carbono e indutor da produção das enzimas de interesse e variando as fontes de nitrogênio, a fim de reduzir os custos no processo de sacarificação da biomassa.

2 – Material e Métodos

A produção de enzimas foi realizada por fermentação em estado sólido (FES) utilizando como inóculo o fungo *Aspergillus niger*, linhagem SCBM1 (mesofílico, com crescimento ótimo a 30°C).

A linhagem A. niger SCBM1 foi cultivada em placas de Petri contendo meio ágar Sabouraud estéril a 30°C. As FES foram conduzidas em frascos erlenmeyer de 250 mL contendo 5 g de sorgo biomassa, variedade LE 268, cedido pela Embrapa Milho e Sorgo e 5 mL de solução nutriente contendo 0,5% da fonte de nitrogênio, 0,3% KH_2PO_4, 0,05% $MgSO_4$.7H2O e 0,05% $CaCl_2$, em 1 L de água destilada.

Foram realizadas quatro fermentações, cada uma com uma fonte de nitrogênio diferente, a saber: sulfato de amônio, uréia, peptona e extrato de levedura, todos a 0,5%.

Após autoclavados, os frascos foram acrescidos de 5 discos miceliais de aproximadamente 0,5 cm de diâmetro cada do meio de cultura contendo o microrganismo e o volume de solução nutriente completado até 20 mL. As fermentações foram conduzidas por sete dias a 30°C.

A cada 24 horas, foram adicionados 50 mL de água destilada em cada erlenmeyer e os frascos foram homogeneizados por uma hora em agitador a 200 rpm e temperatura ambiente. As amostras foram filtradas em tecido tipo *vual*, e centrifugadas a 10000 rpm por 10 minutos. Os extratos foram novamente filtrados em papel de filtro e estocados a -20°C para posterior dosagem enzimática.

As atividades das enzimas analisadas neste estudo foram as celulases β-glicosidase, carboximetilcelulase e avicelase, e as hemicelulases xilanase e β-xilosidase.

As atividades das enzimas β-glicosidase e β-xilosidase foram quantificadas utilizando ρ-nitrofenil β-D-glicopiranosídeo 4 mM (PNPG, Sigma) como substrato para quantificar β-glicosidase e ρ-nitrofenil β-D-xilopiranosídeo (PNPX, Sigma) para quantificar β-xilosidase. A concentração de ρ-nitrofenol (ρNP) liberado foi determinada por espectrofotometria a 410 nm. Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 µmol de ρNP por minuto de reação, a partir da curva padrão de ρNP[5].

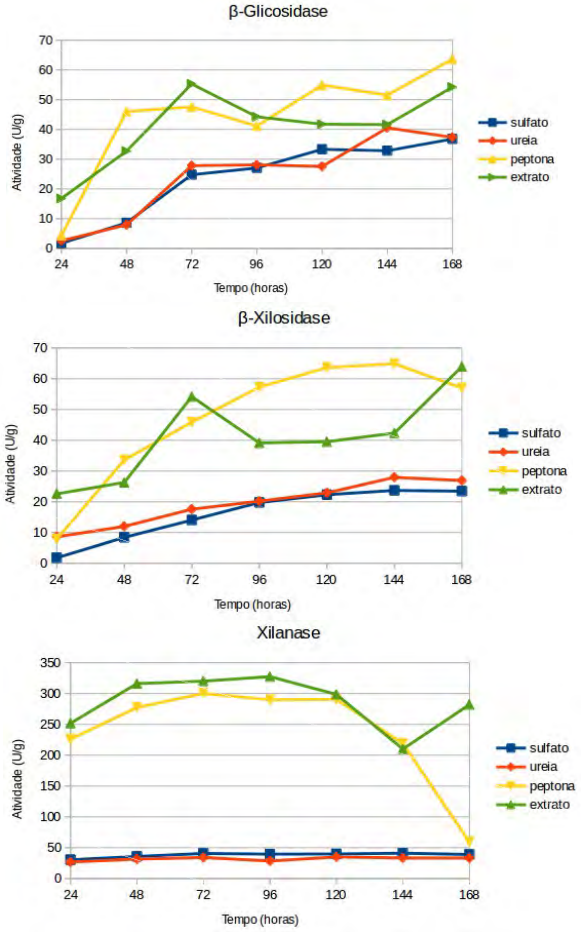
As atividades de xilanase, avicelase e carboximetilcelulase (CMCase) foram determinadas com xilana, avicel ou carboximetilcelulose a 1% como substratos, respectivamente, e os açúcares redutores liberados foram quantificados pelo método do DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico)[6]. Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 µmol de glicose ou xilose por minuto de reação, determinado a partir de curva padrão de glicose ou xilose, respectivamente.

3 – Resultados e Discussão

Nos resultados obtidos, para as quatro fontes de nitrogênio avaliadas, a peptona mostrou-se mais promissora para estudos posteriores de produção de enzimas (Figura 1).

Para a β-glicosidase, os melhores resultados obtidos, em unidade de atividade enzimática por grama de substrato, foram 63,61 U/g em 168 horas de fermentação utilizando peptona, e 55,26 U/g em 72 horas para extrato de levedura. Para β-xilosidase, peptona e extrato de levedura obtiveram resultados parecidos, com produção de 64,88 U/g em 144 horas de fermentação utilizando peptona e 63,95 U/g em 168 horas para extrato de levedura. A xilanase também obteve resultados semelhantes, para peptona e extrato de levedura, com máximo de atividade de 300 U/g em 72 horas de fermentação para peptona, e 327,37 em 96 horas para extrato de levedura. A avicelase só apresentou atividade quando em fermentação utilizando peptona como fonte de nitrogênio, com máximo de produção de 30,64 U/g em 72 horas de fermentação. Já a carboximetilcelulase (CMCase) apresentou atividades semelhantes para peptona e extrato de levedura, com máximo de produção de 41,47 U/g em 120 horas para peptona e 43,52 U/g em 168 horas de fermentação para extrato de levedura (Figura 1).

Em estudo semelhante utilizando o fungo *Neurospora crassa* e palha de sorgo como fonte de carbono, Dogaris *et al.*, 2009 reportou valores de atividade enzimática inferiores quando comparado aos do presente estudo, exceto para endoglucanase (carboximetilcelulase). Este mesmo autor relatou atividades enzimáticas mais baixas quando fontes orgânicas complexas como peptona e extrato de levedura foram empregadas[7].



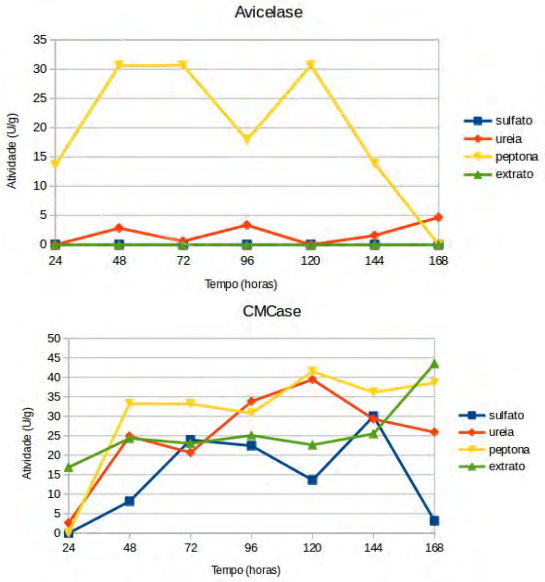


Figura 1. Produção de enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas por *Aspergillus niger*, utilizando sorgo biomassa e diferentes fontes de nitrogênio.

A ação em conjunto dessas enzimas na hidrólise apresenta um maior rendimento em glicose livre. Dessa forma, peptona e extrato de levedura apresentaram resultados semelhantes para quase todas as enzimas testadas, porém apenas a peptona apresentou atividade de avicelase satisfatória, dentre todas as fontes de nitrogênio testadas, e esta então foi a escolhida para testes futuros de produção de enzimas.

Portanto, tem-se como conclusão deste trabalho que a peptona (como fonte de nitrogênio) e o sorgo biomassa (como fonte de carbono) foram bons indutores na produção de enzimas por *Aspergillus niger*, sendo um substrato promissor para estudos posteriores, que contarão ainda com a mistura de diferentes razões de fontes de carbono, como sorgo biomassa e farelo de trigo.

4 – Agradecimentos

Agradecimento à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

5 – Bibliografia

[1]PANDEY, A. K.; EDGARD, G.; NEJI, S.; Optimization of concomitant production of cellulase and xylanase from Rhizopus oryzae SN5 through EVOP-factorial design technique and application in Sorghum Stover based bioethanol production. **Renewable Energy**, p. 1 – 6, 2016;

[2]MAY, A.; PARRELLA, R. A. C.; DAMASCENO, C. M. B.; SIMEONE, M. L. F; Sorgo como matéria-prima para produção de bioenergia: etanol e cogeração. **Informe Agropecuário**, v. 35, n. 278, p. 73 – 81, 2014;

[3]MOONEY, C. A.; MANSFIELD, S. D. TOUHY, M. G.; SADDLER, J. N. The effect of initial pore volume and lignin content on the enzymatic hydrolysis of softwoods. **Bioresource Technology**, v. 64, n.2, p.113-119, 1998;

[4]CHEN, H; FU, X.; Industrial technologies for bioethanol production from lignocellulosic biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 57, p. 468 – 478, 2016;

[5]BAFFI, M. A.; TOBAL, T.; LAGO, J. H. G.; LEITE, R. S. R.; BOSCOLO, M.; GOMES, E.; DA-SILVA, R. A Novel β-glucosidase from *Sporidiobolus pararoseus*: Characterization and application in winemaking. **Journal of Food Science**, Vol. 76, n. 7, 2011;

[6]MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31 (3), p. 426–428, 1959.

[7]DOGARIS, I.; VACONTIOS, G.; KALOGERIS, E; MAMMA, D.; KEKOS, D. Induction of cellulases and hemicellulases from Neurospora crassa under solid-state cultivation for bioconversion of sorghum bagasse into ethanol. Industrial crops and products, v. 29, p. 404 – 411, 2009.

Otimização do pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar com ácido acético e investigação dos efeitos sobre sua estrutura e composição físico-química

Carlos A. P. de Oliveira (PG) [a], Ione L. S. de Almeida (PQ) [b], Ricardo R. Soares*(PQ)[b]

[a]*Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFU,* [b]*Faculdade de Engenharia Química/UFU*

Palavras-chave: *Biorrefinaria; Bagaço de cana-de-açúcar; Pré-tratamento; Ácido acético*

1 - Introdução

O Brasil se destaca por ser o maior produtor mundial de cana-de-açúcar[1]. A partir do processo de extração realizado nas usinas, gera-se o bagaço de cana, uma importante fonte para obtenção de precursores com relevante interesse comercial[2,3]. Um melhor aproveitamento desta biomassa pode ser conseguido a partir de um pré-tratamento adequado, porém esta etapa representa cerca de 20% do custo em biorrefinarias[4,5]. Neste trabalho, o pré-tratamento do bagaço de cana *in natura* (SCB) com ácido acético, foi otimizado visando maximizar a perda de massa (SCB1) e a recuperação de xilose (SCB2). Os principais compostos presentes no hidrolisado foram quantificados por HPLC e as frações sólidas recuperadas após os pré-tratamentos foram caracterizadas para verificar possíveis alterações estruturais. A utilização deste ácido apresenta vantagens quanto à hidrólise da fração hemicelulósica e deslignificação, além de ser mais barato e menos corrosivo aos reatores quando comparado co ácidos minerais, podendo ainda ser recuperado ao final do processo[6].

2 - Material e Métodos

O bagaço de cana (10% umidade) foi triturado e a fração com granulometria entre 500-850 µm usada nos ensaios. O pré-tratamento foi realizado em reator fabricado em aço inox (325 mL), pressurizado com argônio. Para a otimização, delineou-se um planejamento fatorial $2^{(4-1)}$, seguido de um planejamento no composto central (PCC) e análise de superfície de resposta. Os compostos hidrolisados foram quantificados por HPLC e as frações sólidas caracterizadas através de análises de difração de raios-X (DRX), TGA, DSC, elementar (CHNS/O) e de poder calorífico superior (PCS).

3 - Resultados e Discussão

A análise de superfície de resposta (gráficos não mostrados) revelou que condições mais severas favoreceram a perda de massa (SCB1: 104 min/176°C) enquanto condições mais brandas foram ideais para a recuperação de xilose (SCB2: 62 min/155°C). A análise dos hidrolisados mostrou que em SCB1, a formação de produtos de degradação (Tabela 1) foi maior devido às condições utilizadas, com destaque para furfural e o ácido levulínico. Os ácidos fórmico, lático e glicólico, além do hidroximetilfurfural também foram identificados. Em SCB2, os açúcares foram preservados, destacando-se a maior recuperação de xilose ocasionada pelas condições mais brandas.

Tabela 1 – Quantificação dos hidrolisados após os pré-tratamentos (% m/m)

Compostos	SCB1	SCB2
Xilose	5,38	10,98
Arabinose	0,27	0,33
Glicose	0,75	-
Furfural	3,85	0,22
HMF	0,19	0,02
Ácido fórmico	1,68	2,05
Ácido lático	1,19	0,42
Ácido glicólico	1,40	1,09
Ácido levulínico	4,09	3,12

A caracterização das frações sólidas demonstrou que em SCB1 ocorreu uma maior deslignificação do material, enquanto em SCB2 foi favorecida a hidrólise da hemicelulose (Tabela 2).

Tabela 2 – Composição química de SCB, SCB1 e SCB2 (% m/m)

Ensaio	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Cinzas	Extrativos
SCB	32,68	28,23	26,98	1,94	10,32
SCB1	38,62	23,93	22,77	1,67	9,70
SCB2	36,20	21,52	25,75	1,70	9,78

Ambos pré-tratamentos removeram uma quantidade maior de compostos oxigenados. A retirada destes compostos aumentou a população de ligações do tipo C-C, mais energéticas, ocasionando uma elevação no PCS dos materiais pré-tratados[7] (Tabela 3).

Tabela 3 – Resultados da análise elementar (% m/m) e de PCS (kJ kg^{-1}) de SCB, SCB1 e SCB2

Ensaio	C	H	N	S	O	PCS
SCB	46,33	6,22	0,35	0,82	46,30	17.886
SCB1	49,45	6,60	0,19	0,84	42,94	19.354
SCB2	47,09	6,40	0,17	0,83	45,53	18.385

A remoção das frações amorfas após os pré-tratamentos, ocasionou um aumento na cristalinidade dos materiais, o que facilita o acesso em processos de hidrólise enzimática[8]. Além disso, esta remoção contribuiu para uma diminuição nas entalpias de degradação (ΔH_{deg}) dos materiais pré-tratados, o que pode ser interessante para processos de conversão térmica.

Tabela 4 – Índice de cristalinidade (% ICr) e entalpias de degradação (J g^{-1}) de SCB, SCB1 e SCB2

Ensaio	% ICr	ΔH_{deg}
SCB	55,67	1.173,0
SCB1	67,43	721,6
SCB2	62,26	742,6

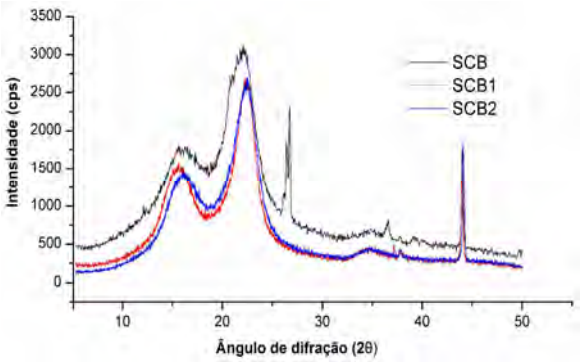


Figura 1. Difratogramas de SCB, SCB1 e SCB2.

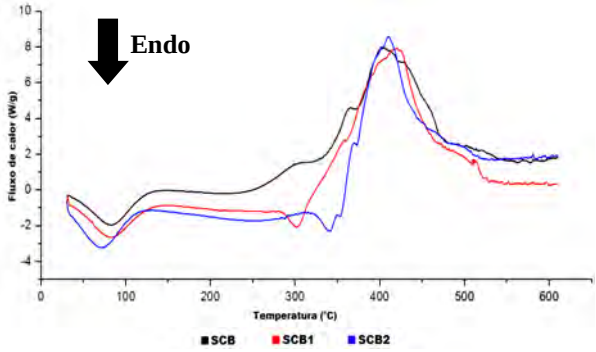


Figura 2. Curvas DCS de SCB, SCB1 e SCB2.

Com base nos resultados obtidos, pode-se afirmar que o pré-tratamento proposto é passível de aplicação em biorrefinarias, podendo ser direcionado para a obtenção de açúcares e/ou outros precursores com aplicação nas indústrias química, farmacêutica e de materiais, além de possibilitar um reaproveitamento dos resíduos gerados após esta etapa, para a produção de briquetes, hidrólise enzimática ou ainda isolamento da celulose cristalina ou da lignina para a construção de biocompósitos.

4 - Agradecimentos

Agradecimento à FAPEMIG e à CAPES-PNPD 2957/2011

5 - Bibliografia

[1]CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar, v.3, Safra 2016/17, n.2, p.1-72, 2016;
[2]Girisuta B, Dussan K, Haverty D, Leahy JJ, Hayes MHB. Chem Eng J 2013;217:61-70;
[3]Pol E, Bakker R, Zeeland A, Garcia DS, Punt A, Eggink G. Bioresource Technol 2015;181:114-23;
[4]Sambusiti C, Licari A, Solhy A, Aboulkas A, Cacciaguerra T, Barakat A. Bioresource Technol 2015;181:200-06;
[5]Kang Y, Realff MJ, Sohn M, Lee JH, Bommarius AS. Biotechnol Progr 2015;31:25-34;
[6]Yu Q, Zhuang X, Lv S, He M, Zhang Y, Yuan Z, Qi W, Wang Q, Wang W, Tan X. Bioresource Technol 2013;129:592-98;
[7]Carmona R, Nunes T, Alonso MF. Biomass Bioenerg. 2015;74: 96-102;
[8]Yoon LW, Ang TN, Ngoh GC, Chua ASM. Biomass Bioenerg 2012;36:160-69;

Pré-tratamento e hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar

Patrísia de Oliveira Rodrigues* (PG) [a], Beatriz Vieira dos Santos (PG) [a], Milla Alves Baffi (PG) [ad], Daniel Pasquini (PQ)[a,b], Leandro Vinícius Alves Gurgel (UFOP)[c]

[a]Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFU, [b]Departamento de Química/UFU, [c]Departamento de Química/UFOP, [d]Instituto de Ciências Agrárias/UFU
***(patytrisia15@yahoo.com.br)**

Palavras Chave: *Aspergilus niger, FPAse, fermentação, celulases*

1 - Introdução

Nos últimos anos, a busca pela hidrólise efetiva de resíduos lignocelulósicos se tornou alvo de inúmeras pesquisas em todo mundo. Estudos utilizando enzimas têm sido realizados na busca de processos hidrolíticos com elevado rendimento em açúcares fermentescíveis[1].

Com o intuito de aumentar a eficiência no reaproveitamento da biomassa, a hidrólise enzimática ocorre em condições mais brandas de pH e temperatura e sem a formação de subprodutos[1].

Para a hidrólise de resíduos lignocelulósicos é necessário um coquetel de enzimas, como por exemplo, as celulases: endoglucanase, exoglucanase e b-glicosidase e alguns microrganismos, em especial fungos filamentosos, têm alto potencial para produção de enzimas hidrolíticas eficientes[2]. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi realizar a hidrólise enzimática do bagaço de cana *in natura* e pré-tratado com hidróxido de sódio (NaOH), utilizando um extrato bruto, rico em celulases e xilanase, produzido por *Aspergillus niger* linhagem SCBM1.

2 - Material e Métodos

O pré-tratamento foi realizado utilizando 100 g de bagaço e 2,5L de solução de hidróxido de sódio (NaOH) 2%. As amostras foram submetidas a refluxo em extrator soxhlet, durante 4 horas a 121°C. Posteriormente, o resíduo foi triturado e lavado até que o filtrado obtivesse pH igual a 7,0. A amostra foi então seca em estufa por 12 horas a 50°C.

A produção de enzimas por fermentação em estado sólido (FES) foi conduzida a 30 ºC em frascos erlenmeyer contendo uma mistura de 5 g (1:1) de bagaço de cana *in natura* e farelo de trigo, acrescido de seis discos miceliais do fungo *A. niger* SCBM1 e solução nutriente para o volume final de 20 mL. O período de incubação foi de até 196 horas. A atividade enzimática da FPAse foi determinada conforme descrito por Ghose[3] e expressa FPU/g de substrato seco.

A sacarificação foi feita em erlenmeyers de 50 mL, contendo 20 mL de uma mistura de: 5 mL de tampão citrato (0,05 mM, pH 4,8), bagaço bruto ou pré-tratado (3% de massa seca) previamente umedecido por 24 horas, extrato enzimático (10 FPU/g de celulose) e água destilada. Os frascos foram vedados e incubados a 50 ºC, sob agitação de 150 rpm por 24 horas. Posteriormente, os hidrolisados foram filtrados em filtro milipore de 0,22 µm e os açúcares liberados (glicose, xilose e arabinose) foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (*High Efficiency Liquid Chromatography* - HPLC).

3 - Resultados e Discussão

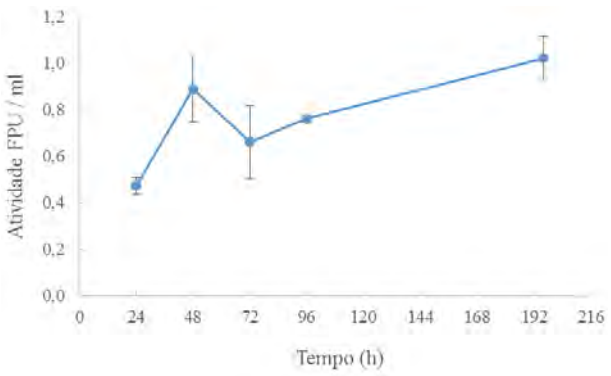
A composição química das amostras de bagaço *in natura* e pré-tratado utilizadas neste trabalho, são apresentadas na tabela a seguir.

Tabela 1. Composição química do bagaço bruto (BB) e pré-tratado (BT).

Propriedades	BB	BT
Cinzas	0,65	0,22
Lignina Klason Total	26,14	14,90
Celulose	54,36	75,04
Hemiceluloses	13,52	12,78

Após a FES, foi possível obter uma boa atividade enzimática da FPase, sendo o maior valor registrado em 196h com 1,02 FPU por mL (Figura 1).

Figura 1. Atividade de FPAse no extrato enzimático produzido por ***A. niger* SCBM1.**



No trabalho descrito por Pereira et al.[4] a maior produção da FPAse (0,24 FPU) foi obtida após 96 horas de incubação, utilizando os fungos termofílicos *Myceliophthora sp.* JCP 1-4 e *Rhizopus sp*. DABM 11/44 na FES. No nosso estudo, após 96 horas foi encontrado 0,76 FPU/g de bagaço. Portanto, esses dados sugerem que a linhagem *A. niger* SCBM1 demonstrou ser uma boa produtora desse tipo de celulase.

A liberação de açúcares foi quantificada no tempo único de 24 horas de sacarificação, tanto nos hidrolisados utilizando bagaço bruto como pré-tratado (Tabela 2), porém, não foram detectadas quantidades significativas de açúcares no hidrolisado utilizando bagaço *in natura,* confirmando a importância do pré-tratamento da biomassa.

Tabela 2. Açúcares liberados após hidrólise do bagaço *in natura* e após pré-tratamento alcalino (utilizando 3% massa seca, extrato de *A. niger* SCBM1 contendo 10 FPU por grama de celulose, 50 ºC, 24 horas).

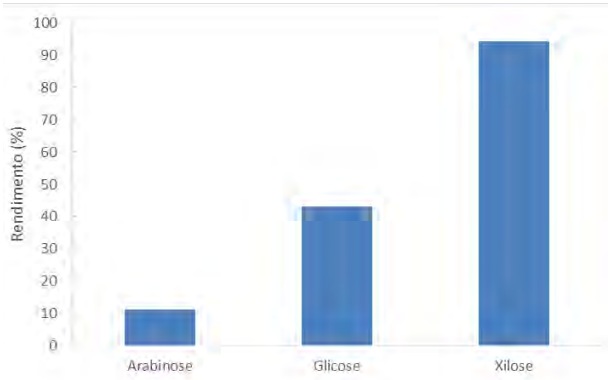
Bagaço de cana	Açúcar g / L		
	Arabinose	Glicose	Xilose
in natura	-	-	-
pré-tratado	0,39 ± 0,04	9,71 ± 2,73	3,396 ± 0,04

Os rendimentos de Arabinose, Glicose e Xilose foram calculados a partir da equação:

*Rendimento (%) = (g de glicose ou xilose ou arabinose / g de celulose ou g de hemiceluloses presente na amostra de bagaço usada na sacarificação) * 100*

Após o processo de sacarificação o maior rendimento obtido foi de xilose com 94,34% (Figura 2).

Figura 2. Rendimento de glicose, xilose e arabinose obtido após a sacarificação do bagaço pré-tratado.



Em recente publicação, Pereira et al.[5] encontrou valores menores dos açúcares glicose e xilose (4,19 e 1,92 g/L), utilizando bagaço de cana pré-tratado com ozônio e extrato enzimático *Myceliophthora thermophila* JCP 1-4.

Os dados obtidos indicam que o *A. niger* SCBM1 mostrou ser bastante promissor na produção de enzimas e na hidrólise da biomassa lignocelulósica para aplicação na produção de etanol de segunda geração. Além disso, a alta liberação de glicose e xilose após a hidrólise do bagaço pré-tratado e a ausência destes açúcares após a hidrólise do bagaço *in natura* mostrou que o pré-tratamento foi eficiente na desestruturação da biomassa, reafirmando a importância desta etapa para no processo de hidrólise.

4 - Agradecimentos

Agradecimento à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

5 - Bibliografia

[1]Araujo, C. R.; Garrido, C. V. S.; Santos, J. M. G. M.; Leal, S. C. S.; Campos, L. M. A. Estudo das rotas de hidrólise química e biológica para a produção de etanol de segunda geração a partir de resíduos lignocelulósicos. Seminário estudantil de produção acadêmica, 12. Anais... UNIFACS, 2013;

[2]Boonyuen, N; Manoch, L.; Luangsa-ard, J.; Piasai, O.; Chamswarng, C.; Chuasseharonnachai, C.; Ueapattanakit, J.; Arnthong, J.; Sriidrasutdhi, V. Decomposition of sugarcane bagasse with lignocellulose-derived thermotolerant and thermoresistant Penicillia and Aspergilli. International Biodeterioration & Biodegradation, v. 92, p. 86-100, 2014;

[3]Ghose, T.K., 1987. Measurement of cellulase activities. Pure Appl. Chem. 59, 257– 268;

[4]Pereira, J. C.; Marques, N. P.; Rodrigues, A.; Oliveira, T. B.; Boscolo, M.; Silva, R.; Gomes, E.; Martins, D. A. B. Thermophilic fungi as new sources for production of cellulases and xylanases with potential use in sugarcane bagasse saccharification. Journal of Applied Microbiology, v. 118, n. 4, p.928-939, 4 fev. 2015;

[5] Pereira, J. C., Travaini, R., Marques, N. P., Bolado-Rodríguez, S., Martins, D. A. B. Saccharification of ozonated sugarcane bagasse using enzymes from Myceliophthora thermophila JCP 1-4 for sugars release and ethanol production. Bioresource Technology, v. 204, p. 122–129, 2016;

Produção de ésteres metílicos (biodiesel) e estudo de imobilização com as lipases produzidas por *Trichoderma pseudokoningii* e *Bauveria bassiana* com atividade de transesterificação

Andressa T. Vieira1(PG)[a], Ana C. Vici (PQ)[b], Marita G. Pereira (PQ)[b], Maria L.T.M. Polizeli (PQ)[b], Rosana M. N. Assunção (PQ)[a], Anízio M. Faria*(PQ)[a], Antônio C. F. Batista (PQ)[a].

[a]*Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFU-campus Pontal,* [b]*Universidade de São Paulo-campus Ribeirão Preto* *(anizio@ufu.br)

Palavras Chave: *Biodiesel, Lipases, Imobilização, Derivados celulósicos, Biodiesel, Rota Metílica.*

1 - Introdução

As lipases catalisam a hidrólise de óleos em mono-diacilgliceróis e ácidos graxos livres. São amplamente produzidas por micro-organismos, formando um grupo biotecnológico importante de enzimas com diversas propriedades e especificidades. Entre suas aplicações, a biocatálise tem revelado uma promissora tecnologia para a síntese orgânica. Enzimas imobilizadas são mais estáveis do que as formas de enzimas livres, assim a imobilização se torna uma excelente ferramenta aliada à aplicação na biocatálise. Este trabalho teve como objetivo imobilizar as lipases de *Bauveria bassiana* e *Trichoderma pseudokoningii* em acetato butirato de celulose (ABC), nanofibras de celulose (NFC) e octanoato de celulose (OC), realizar ensaios para a produção de ésteres metílicos (biodiesel), com as lipases imobilizadas e caracterizar o produto obtido por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).

2 - Material e Métodos

Para a preparação dos derivados celulósicos foram empregados celulose microcristalina. Os reagentes, empregados sem purificação prévia, são todos em grau PA e PS e foram utilizados na síntese dos derivados de celulose tais como o acetato butirato de celulose (anidrido acético, anidrido butírico, ácido acético, ácido sulfúrico) e octanoato de celulose (cloreto de octanoila, piridina, cloreto de lítio, dimetilacetamida).

O processo de imobilização ocorreu por simples adsorção, overnight. Foi utilizado o tampão fosfato de sódio, pH 7, na concentração de 5 mM para favorecer a imobilização por adsorção. A atividade lipásica foi acompanhada por *p*NPP1 e as proteínas totais foram determinadas pelo método de Bradford.

Para a produção dos ésteres metílicos (biodiesel), utilizamos metanol e temperatura em torno de 37°C, diferentes estratégias foram empregadas para realização das reações enzimáticas considerando os diferentes fatores que influenciam a atividade enzimática e o desempenho das reações.

3 - Resultados e Discussão

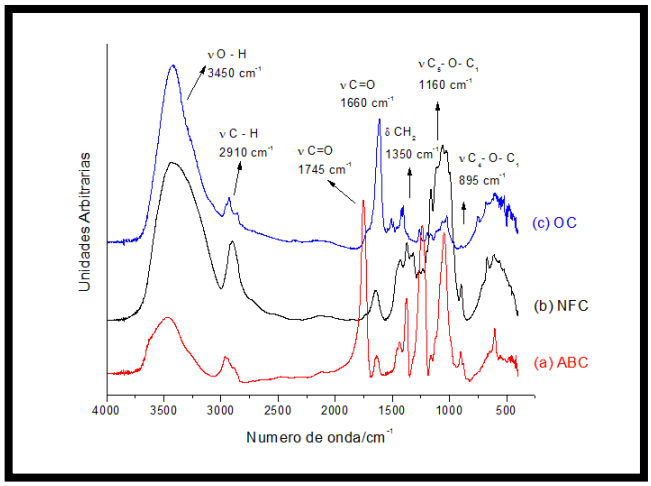


Figura 1. Espectros na região do infravermelho para: (a) ABC, (b) NFC e (c) OC.

A modificação química da celulose pode ser observada através do aparecimento das bandas de estiramento do grupo C=O ligado ao grupo funcional éster. A inserção deste grupo funcional aliada as mudanças observadas nos espectros infravermelho dos derivados celulósicos em comparação à NFC, que mantem os mesmos grupos funcionais da celulose original, confirmam a modificação química da celulose.

Tabela 4. Ensaios de imobilização das enzimas em suportes poliméricos

Lipases/fungos	Suportes/Porcentagem de imobilização (%)		
	NFC	ABC	OC
Trichoderma pseudokoningii	50	*	16
Beauveria bassiana	50	85	37

*A imobilização da *Trichoderma pseudokoningii* em acetato butirato de celulose não foi satisfatória.

Para a determinação cromatográfica do produto da reação enzimática, 50 µL do produto foram diluídos em 100 µL de n-heptano. A mistura foi agitada e acondicionada em freezer (~ -4 °C) até o momento da análise. Uma mistura de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos, C4-C24, foi preparada pela solubilização de 100 mg dos ésteres listados na Tabela 1 para 10 mL de n-heptano, produzindo uma solução, denominada de solução estoque, nas concentrações indicadas para cada éster metílico na Tabela 1.

Tabela 1. Mistura padrão de ésteres metílicos dos ácidos graxos empregadas para a identificação dos produtos da catálise enzimática na obtenção de biodiesel.

Ester metílico do ácido graxo		Conc. nominal na mistura (% m/m)	[Sol. Estoque] mg L^{-1}
1- Butirato de metila	C4:0	4,0	400,0
2- Octanoato de metila	C8:0	4,0	400,0
3- Decanoato de metila	C10:0	4,0	400,0
4- Undecanoato de metila	C11:0	2,0	200,0
5- Dodecanoato de metila	C12:0	4,0	400,0
6- Tridecanoato de metila	C13:0	2,0	200,0
7- Miristato de metila	C14:0	4,0	400,0
8- Miristoleato de metila	C14:1	2,0	200,0
9- Pentadecanoato de metila	C15:0	2,0	200,0
10- *cis*-10-pentadecenoato de metila	C15:1	2,0	200,0
11- Hexanoato de metila	C16:0	4,0	400,0
12- Palmitato de metila	C16:0	6,0	600,0
13- Palmitoleato de metila	C16:1	2,0	200,0
14- Heptadecanoato de metila	C17:0	2,0	200,0
15- *cis*-10-heptadecenoato de metila	C17:1	2,0	200,0
16- Estearato de metila	C18:0	4,0	400,0
17- Elaidato de metila	C18:1n9t	2,0	200,0
18- Oleato de metila	C18:1n9c	4,0	400,0
19- Linoleato de metila	C18:2	2,0	200,0
20- Linolelaidato de metila	C18:2	2,0	200,0
21- Linolenato de metila	C18:3	2,0	200,0
22- γ-linolenato de metila	C18:3n6	2,0	200,0
23- Araquidato de metila	C20:0	4,0	400,0

Para a enzima *Beauveria bassiana* imobilizada nos suportes de nanofibras de celulose, acetato butirato de celulose e octanoato de celulose foram coletadas porções dos materiais sintetizados e submetidas à análise cromatográfica por CG-EM. Os resultados obtidos na análise cromatográfica são apresentados na Figura 3

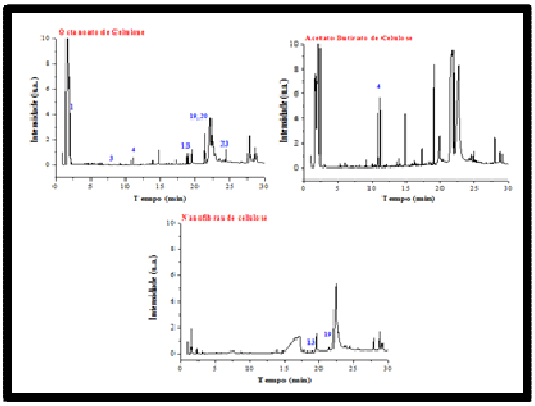


Figura 3. Cromatograma da separação de porções do material sintetizado pela *Beauveria bassiana* imobilizada em diferentes suportes.

Para as porções do material sintetizado pela lipase *Trichoderma pseudokoningii* imobilizada nos suportes de nanofibras de celulose e octanoato de celulose submetidas à análise cromatográfica por CG-EM, os resultados obtidos são apresentados na Figura 4.

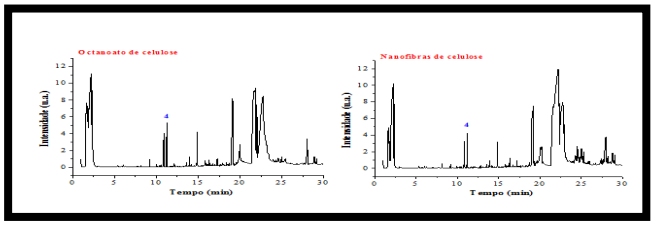


Figura 4. Cromatograma da separação de porções do material sintetizado pela *Trichoderma pseudokoningii* imobilizada em diferentes suportes.

De acordo com a Figura 4, a lipase *Trichoderma pseudokoningii* não apresentou a mesma eficiência para a conversão do óleo de soja em biodiesel como a *Beauveria bassiana*. Os resultados obtidos, seja com a enzima imobilizada no octanoato de celulose ou em nanofibras de celulose, são similares entre si e apresentam uma quantidade significativa de substâncias, provavelmente, provenientes da lixiviação da enzima e de resíduos da matéria prima ao longo de toda a análise cromatográfica, no entanto, sem a formação efetiva de ésteres metílicos de ácidos graxos. Esses resultados confirmam a necessidade de purificação do produto da síntese após o término da reação, como apontado anteriormente nas porções do material sintetizado pela enzima *Beauveria bassiana*.

4 - Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq processo nº 406838/2013-5; 563260/2010-6) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, processo nº 2013/50892-3; 2010/52322-3).

5 - Bibliografia

[1] Du, W; Li, W; Sun, T; Chen, X; Liu, D. *Appl Microbiol Biotechnol* **2008**, 79: 331–7.
[2] Tan, T; Lu, J; NieK Deng, L; Wang, F. *Biotechnol Adv* **2010**, 28: 628–34.
[3] Zhao, X; Qi, F; Yuan, C; Du, W; Liu, D. *Renew Sust Energ Rev* **2015**, 44: 182–197.

Produção de etanol de bagaço de cana-de-açúcar, com pré-tratamento ácido diluído associado à radiação de micro-ondas e caldos enzimáticos brutos

João P. L. do Nascimento (PG)[a], Natália C.Rodrigues (IC)[a], Aline S. Sousa (IC)[a], Carlos F. de S. Castro*(PQ)[a], Fábio H. Dyszy (PQ)[a], Edson L. Souchie (PQ)[a], Caio O. Gorgulho (PG)[b], Edivaldo X. Ferreira Filho (PQ)[b]

*[a] IFGoiano – Campus Rio Verde, Rio Verde, GO,[b]Laboratório de Enzimologia, Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasilia, Brasília, DF. *carlosfscastro@gmail.com*

Palavras Chave: *biomassa, sacarificação, biocombustíveis.*

1 - Introdução

O bioetanol lignocelulósico ganhou interesse substancial por muitos pesquisadores na produção de bioetanol. Contudo, a recalcitrância da biomassa lignocelulósica ainda é um obstáculo para melhorar a eficiência no processo de sacarificação.[1]

A biomassa lignocelulósica contém 30-50% de celulose; 10-40% de hemicelulose, 5-30% e pequenas quantidades de minerais, óleos solúveis, açúcares e outros componentes . A densa rede de ligações intramoleculares/intermoleculares de hidrogênio na celulose,heteropolissacarídeos ramificados de cadeia curta de hemicelulose e ligninas constituídas de polímeros amorfos tridimencionais formam uma rede complexa na biomassa lignocelulósica.[2] .

O pré-tratamento tem como objetivo desestruturar a matriz para diminuir o grau de cristalinidade da celulose e aumentar o percentual de celulose amorfa, que é a mais suscetível a um ataque enzimático subsequente.[3]

Ataques ácidos são comumente utilizados nos pré-tratamentos, sendo capazes de remover a hemicelulose, quebrando as ligações químicas fortes para produzir mono e oligossacarídeos solúveis em altas temperaturas[4].

Há um interesse crescente no uso de microondas como uma ferramenta no tratamento de biomassa lignocelulósica

As microondas são ondas eletromagnéticas, cujas frequências situam-se entre 300 MHz e 300 GHz, por definição geral. Enquanto que em sistemas de aquecimento convencional, a transferência de energia é o resultado dos gradientes de temperatura, a energia de microondas é transferida diretamente para o material a ser aquecido pela radiação eletromagnética, sendo este aquecimento mais direto, rápida e uniforme de aquecimento convencional.[4]

Este trabalho teve como objetivo determinar a concentração do ácido e o tempo de irradiação de microondas ótimos para o pré-tratamento de bagaço de cana-de-açucar, bem como utilizar extratos enzimáticos brutos para a sua hidrólise e subsequente fermentação, com a determinação do rendimento etanólico.

2 - Material e Métodos

Amostras de material lignocelulósico foram lavadas em água corrente e secas em estufa com circulação forçada de ar, a 40 °C até massa constante, em seguida moídas em granulação de 50 mesh e então armazenados de modo hermético.

A otimização foi realizada através de metodologia de superfície de resposta com delineamento fatorial de segunda ordem, design rotacionado em cinco níveis e duas variáveis, concentração de ácido (1 a 5% v/v) e tempo de irradiação (1 a 5 horas, com intervalos). O mesmo consistiu em 13 experimentos com quatro (2^2) pontos fatoriais, quatro pontos axiais, com α = 1,414 e ponto central com cinco replicatas.

Foi realizada a análise de carboidratos e oligossacarídeos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com tecnologia Dionex para detecção de íons, utilizando como fase móvel, hidróxido de sódio (pH 11).

Os extratos enzimáticos brutos foram obtidos por incubação dos isolados fúngicos FLQT7-1, FLQT8-1, FLQT9-1 e FLQT9-2. Os valores de pH e temperatura para máxima atividade celulolítica foram obtidos por análises de superfície de resposta em experimento central composto, com valores pH entre 2,3 e 8,7 e temperatura entre 33 e 96 ^{o}C.

O bagaço de cana-de-açucar – bruto e pré-tratado – foi submetido ao processo de sacarificação e fermentação em duas etapas. Inicialmente, foi adicionado extrato enzimático bruto, com carga enzimática de 10 FPU g de bagaço, e mantidos por 24 horas no pH e temperatura para máxima atividade celulolítica Foram adicionados, então, 2% m/v de levedura comercial *S. cerevisae* YP04 e mantidas por mais 72 horas a 30°C. A dosagem de etanol foi feita através do método do dicromato ácido (Pacheco, 2010).

3 - Resultados e Discussão

Através da análise de superfície de resposta (apresentada aqui como gráfico de contorno na Figura 1) obteve-se a seguinte equação de regressão: Glicose($g.L^{-1}$) = Glicose = 0,0201 + 0,02729 CONC% + 0,04356 TEMPO - 0,004881 CONC%2 - 0,007631 TEMPO2 + 0,000750

CONC%*TEMPO, com R^2 igual a 0,9612, valores ótimos para máximo de glicose iguais a concentração ácida de 3,02% (v/v) e 3 horas de irradiação, à potência de 10%.

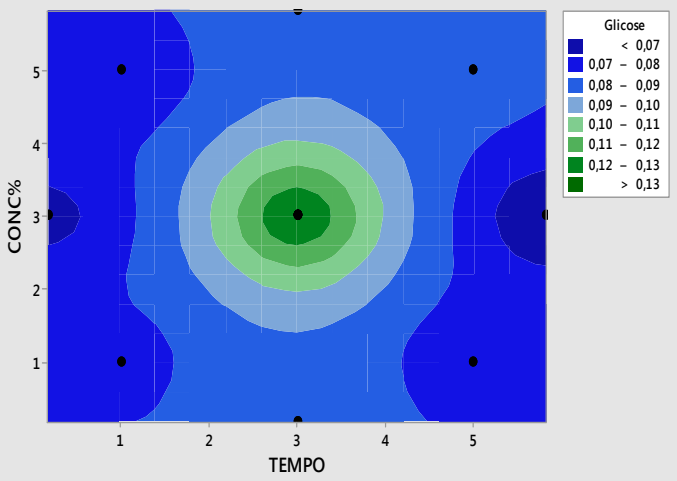


Figura 1. Gráfico de contorno para glicose em função da concentração de ácido e tempo de irradiação.

Lee *et al* (2017) utilizaram esta mesma concentração ácida e irradiação por feixes de elétrons no pré-tratamento do miolo de Kenaf com 500kGy obteve-se uma redução de 27,7 no índice de cristalinidade e um rendimento de 76,3% na hidrólise enzimática[5].Resultados apresentados por Zhu et al.(2016), que a combinação de microondas e ataques ácidos pode produzir seletivamente glicose a partir de bagaço de cana e *Miscanthus* [4].

A atividade celulolítica máxima para os extratos enzimáticos brutos está indicada na Tabela 1, na qual pode-se notar que todos os isolados fúngicos apresentam atividades celulítica máxima em pH levemente ácido e temperaturas em torno de 50 a 60 ^{o}C.

Tabela 1 – Valores de pH e temperatura para máxima atividade celulólitica dos extratos enzimáticos brutos

Isolado Fúngico	pH	Temperatura (^{o}C)
FLQT7-1	5,14	33
FLQT8-1	5,79	46,6
FLQT9-1	6,36	58,9
FLQT9-2	5,85	47,4

O bagaço de cana-de-açucar - bruto e pré-tratado - foi, então, submetido aos processos de sacarificação e fermentação, conforme descrito anteriormente, e, após um tempo de 96 horas, os teores de etanol foram determinados e expressos em litros de etanol produzidos por tonelada de bagaço (Tabela 2).

Tabela 2 – Produção de Etanol a partir de bagaço de cana-de-açúcar bruto e pré-tratado (Valores expressos em Litros de Etanol produzidos por tonelada de bagaço).

Isolado Fúngico	Bagaço Bruto	Bagaço Pré-Tratado
FLQT7-1	56	195
FLQT8-1	99	161
FLQT9-1	39	63
FLQT9-2	103	143
Zhang et al[6]		180

Em todos os casos, pode-se notar que o pré-tratamento ácido associado à radiação de micro-ondas permitiu elevar os teores de etanol produzidos, com incrementos variando entre 38 a 248%, sendo obtido, no caso do isolado fúngico FLQT7-1, um aumento de 139 litros de etanol produzidos por tonelada de bagaço de cana-de-açucar.

Os maiores valores foram obtidos com o pré-tratamento ácido diluído associado à radiação de micro-ondas e os extratos enzimáticos brutos dos isolados fúngicos FLQT7-1 e FLQT9-2.

Os valores obtidos são equiparáveis aos reportados na literatura, os quais indicam valores em torno de 180 litros de etanol produzidos por tonelada de bagaço de cana-de-açucar[6].

4 - Agradecimentos

Agradecimento à FAPEG, CAPES, IFB (Edital Nº 022/RIFB) e IFGoiano.

5 - Bibliografia

[1]Liu, Z. J., Lan, T. Q., Li, H., Gao, X. e Zhang, H.. *Bioresource Technology,* 223. 27–33, 2017;
[2]Gogoi, G. e Hazarika, S. *Separation and Purification Technology,.* 173**.** 113–120, 2017;
[3]Margarita, Z.-D. C. L., Osney, P.-O., Antonio, R.-R. P., María, Z.-D. C. B. e Geraldo, L.. *Ingeniería, Investigacíon y Tecnolología.* 16. 407–418, 2015;
[4]Zhu, Z.; Rezende, C. A.; Samister, R.; McQueen-Mason, S.J.; Macquarrie, D.J.; Polikarpov, I.; Gomez, L. D. *Biomass and Bioenergy* 93. 269–278, 2016;
[5]Lee, B.-M., Jeun, J.-P. e Kang, P.-H. *Radiation Physics and Chemistry.* 130**.** 216–220, 2017;
[6]Zhang, Z. ; Wong, H. H.; Alberston, P.L. ; Harrison, M. D. ; Doherty, W.O.S. ; O´Hara, I. M. *Bioresource Technology.* 192. 367-373, 2015

Produção de Etanol de Mandioca com Extratos Enzimáticos Brutos dos Isolados Fúngicos FLQT1-1, FLQT4-1 e FLQT6-1

SILVA JUNIOR, Jose Wilson Batista (IC)[a], NETO FILHO, Manoel Aguiar (PG)[b], SANTOS, Helen Carolina (IC)[a], CASTRO, Carlos Frederico de Souza (PQ)*[,b,c], DYSZY, Fábio Henrique (PQ)[b,c], SOUCHIE, Edson Luiz (PQ)[a]

[a] *Instituto Federal Goiano campus Rio Verde,* [b]Programa de Pós-Graduação em Agroquímica/IFGOIANO [c].
*(carlosfscastro@gmail.com)

Palavras Chave: *Amilase, mandioca, temperatura, pH, energia*

1 - Introdução

Com a demanda mundial por energia, a busca por novas fontes energéticas cresceu e, devido a isto, os combustíveis advindos de fontes renováveis, como o etanol, podem ser vistos como um novo viés na produção de energia global, visando também a diminuição dos impactos ambientais causadas pelo uso excessivo dos combustíveis fósseis [1].

O etanol é considerado um bom substituto dos combustíveis fósseis, pois possui alto valor energético e, também, tem valor acessível no mercado. A mandioca pode ser usada como matéria prima para a produção de etanol, e vem ganhando espaço entre as discussões sobre a produção deste biocombustível. Quando comparada a contabilidade energética das operações de cultivo e do processamento industrial, a mandioca revela vantagens em relação à cana-de-açúcar, grande protagonista no cenário da produção de etanol. Para que haja a produção de etanol a partir da mandioca, ocorrem diversos processos como a hidrólise e a produção de açucares fermentáveis, sendo as amilases as enzimas responsáveis pela hidrólise deste material amiláceo [2]. Diversos fungos amilolíticos foram isolados a partir de bagaço de cana-de-açúcar e o objetivo deste trabalho foi determinar a temperatura e o pHs ótimos para a ação das amilases produzidas pelos isolados fúngicos mais promissores - FLQT1-1, FLQT4-1-e FLQT6-1 -, usando fécula de mandioca como substrato.

2 - Material e Métodos

Para produção do extrato enzimático bruto, adicionou-se como substrato - fonte de amido - 1 g de fécula de mandioca em frascos Erlenmeyer de 250 mL, acrescidos de 100 mL de meio basal (pH 4,5) , auto clavado a 1 atm. 121 °C durante 15 minutos[3]. Após a esterilização, foram inoculados nos frascos, em triplicata, 1 disco de micélio fúngico (1 cm de diâmetro) e incubados por um período de 21 dias à 28 °C sob agitação de 150 rpm. Os discos foram obtidos de placas BDA com 7 dias de cultivo a 28 °C. Para a otimização, foi realizado um experimento central composto, utilizando-se pH entre 2,3 e 8,7 e as temperaturas, entre 33 e 96 °C, usando onde foi pesado 1g de fécula de mandioca em Erlenmeyer de 250 mL, seguido de 10 U g^{1-} substrato de caldo enzimático. As hidrólises enzimáticas foram conduzidas durante 6 horas. Ao término das mesmas, os açúcares redutores liberados foram quantificados pelo método de Miller[4].

A fermentação para produção de etanol foi realizada segundo Santos et al. (2010), onde porções de fécula de mandioca a 1 % m/v foram submetidas em triplicata à hidrólise enzimática nas condições ótimas em uma carga enzimática equivalente a 10 U g^{-1} de fécula em frascos Erlenmeyer de 125 mL. As enzimas foram adicionadas em uma etapa de pré sacarificação, para realizar a hidrólise do amido por 24 horas. Após esse período, foi adicionada levedura comercial (*S. cerevisae* YP04) numa concentração de 10 g L^{-1} , seguindo a fermentação a 32 °C durante 96 horas. Ao seu término, o material foi filtrado e centrifugado eo teor de etanol produzido foi determinado através do método do dicromato ácido[5].

3 - Resultados e Discussão

Os modelos que descrevem a atividade amilolítica em função do pH e temperatura dos caldos enzimáticos brutos dos isolados fúngicos FLQT1-1, FLQT4-1 e FLQT6-1 apresentaram R^2 igual a 0,95, 0,9007 e 0,9079, respectivamente. Observou-se que as alterações de pH e temperatura influenciaram significativamente na quantidade de açúcares liberados através hidrólise enzimática do amido. As temperaturas e pHs ótimos para a atividade amilólitca máxima estão apresentados na Tabela 1.

Os gráficos de contorno da atividade amilolítica em função do pH e temperatura estão representados nas Figuras 1, 2 e 3, com destaque para o ponto de atividade máxima.

Tabela 1 – Valores de pH e Temperatura para atividade amilolítica máxima dos isolados fúngicos.

FUNGO	pH	TEMPERATURA
FLQT1-1	5,7	61,5
FLQT4-1	5,2	62,7
FLQT6-1	5,4	64,7

Figura 1. pH e temperatura ótimos para a atividade amilolítica do fungo FLQT1-1

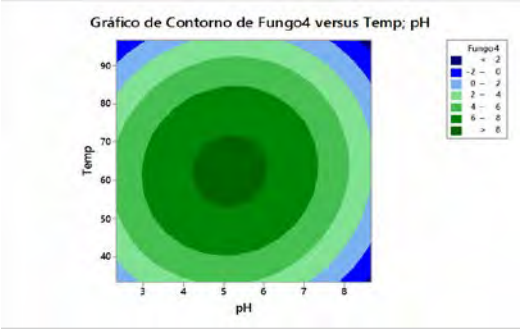


Figura 2. pH e temperaturas ótimos para a atividade amilolítica do fungo FLQT4-1

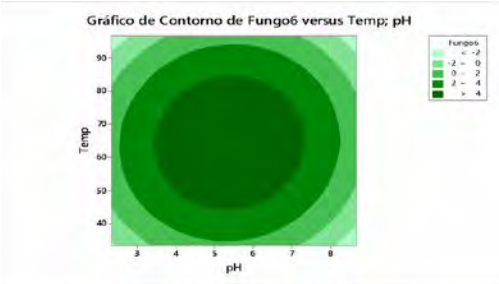


Figura 3. pH e temperatura ótimos para a atividade amilolítica do fungo FLQT6-1

O fungo termotolerante *Aspergillus fumigatus* foi estudado por Da Silva, et. al.[6] e apresentou resultados de temperatura ótima para a atividade amilolítica de 65ºC e pH 5,0, sendo estes resultados muito próximos aos obtidos neste trabalho, reforçando-o.

Os rendimentos de conversão de amido em açúcares redutores estão apresentados na Tabela 2. O isolado fúngico FLQT1-1 apresentou a maior conversão enzimática dentre os três isolados apresentados.

Ainda que o rendimento da hidrólise enzimática tenha sido relativamente baixo, devemos ressalvar que a fécula de mandioca foi submetida à hidrólise sem qualquer processo de solubilização ou gelificação, resultando em economia energética para o sistema como um todo. Mais ainda, os valores para a hidrólise enzimática estão em concordância com resultados relatados pela literatura, entre 12 a 98%[7].

Tabela 2 – Rendimentos para hidrólise enzimática de fécula de mandioca para os extratos enzimáticos brutos.

FUNGO	RENDIMENTO %
FLQT1-1	62 ± 6
FLQT4-1	29 ± 3
FLQT6-1	43 ± 2

Os ensaios de sacarificação e fermentação realizados indicaram rendimentos de produção etanólica de 39,8%, 42,5% e 29,5% para os isolados fúngicos FLQT1-1, FLAQT4-1 e FLQT6-1, respectivamente; com uma produção máxima estimada de 538,5 L Ton^{-1} de fécula de mandioca (isolado fúngico FLQT4-1). Tais valores situam-se próximos aos relatados na literatura, utilizando misturas enzimáticas comerciais[8].

O mercado enzimático tem crescido substancialmente e a necessidade de pesquisas relacionadas à otimização dos processos enzimáticos se fazem muito importantes em diversos ramos industriais[9]. Os resultados obtidos mostram um potencial uso em processos com pHs levemente ácidos, como os resultados para os isolados fúngicos FLQT1-1, FLQT4-1 e FLQT6-1.

4 - Agradecimentos

Ao QUITEC (Laboratório de química tecnológica do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde), ao laboratório de Microbiologia agrícola do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde. Ao CNPq e à FAPEG pelo apoio financeiro.

5 - Bibliografia

[1] Kohlehepp, G. **Estudos avançados**, 24 (68), 223-253, 2010;
[2] Gurung, N. Ray, S. Bose, S. Rai, V. **Biomedical Research International**, 2013 (2013), 1-18. http://dx.doi.org/10.1155/2013/329121
[3] Mandels, M. e Weber, J. **Advances in Chemistry Series**, 95, 391-414, 1969
[4] Miller, G. **Analytical Chemistry**, 31 (3), 426-428, 1959
[5] Steckelberg, C. Caracterização de leveduras de processos de fermentação alcoólica utilizando atributos de composição celular e características cinéticas. 2001. 215p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.
71.
[6] Da Silva, W. B. e Peralta, R. M. Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde, 6 (1), 2000
[7] Cinelli, B.A.; Castillho, L.R.; Freire, D.M.G.; Castro, A. M. **Fuel**, 150, 721-729, 2015;
[8] Curvelo-Santana, J. C.; Ehrhardt, D. D.; Tambourgi, E. B. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 30(3), 613-617, 2010.
[9] Monteiro, V. N.; Silva, R. N. **Revista Processos Químicos**, 3(5), 9-23, 2009., n. 5, p. 9-23, 2009.

RAMAS DE BATATA-DOCE COMO BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO.

Silvania Saldanha da Silva Pinto [1], Daniel José Silva Viana [1], David Lee Nelson[1], Roberta Luíza Saldanha Pinto[2]

[1]Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFVJM, [2]Discente do curso de Engenharia Florestal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Palavras Chave: Ramas de batata-doce, digestibilidade enzimática, celulose, produtividade.

1 - Introdução

A batata - doce [*Ipomoea batatas* L. (Lam.)] é uma dicotiledônea da família Convolvulaceae, possivelmente originária das Américas Central e do Sul, sendo encontrada desde a Península de Yucatan, no México, até a Colômbia, embora alguns autores afirmem que essa hortaliça tenha sua origem na Ásia ou África (FOLQUER, 1978; PEIXOTO et al., 1984). Na busca para a expansão da produção de bioetanol sem comprometer a segurança alimentar e garantindo o fornecimento de combustível, há vários estudos do processo para obtenção do bioetanol de segunda geração, que utilizem materiais lignocelulósicos, tais como o excedente de bagaço, cascas e outros resíduos agrícolas como ramas da batata-doce. Estes podem ser utilizados através de tratamentos químicos, termoquímicos ou rotas bioquímicas para obter o produto-alvo, melhorando a eficiência do processo, bem como reduzir os impactos ambientais (MARTIN et al., 2006; SANTOS, 2012).

2 - Material e Métodos

Digestibilidade enzimática da celulose das ramas de genótipos de batata-doce.

O ensaio de digestibilidade enzimática da celulose presentes nas ramas de batata-doce avaliados foi conduzidos em duas etapas. A primeira etapa envolveu o pré-tratamento das amostras secas e trituradas que foram imersas em ácido sulfúrico. Aproximadamente 8 g da amostra de ramas de batata-doce foram transferidas para um béquer contendo 32 mL de ácido sulfúrico diluído a 4% .(m/v), com razão sólido -líquido de 1:4 . Esta mistura foi continuamente agitada com bastão de vidro em banho termostático a 45 °C, por 5 min. Após este tempo, formam adicionadas à reação de hidrólise 500 mL de água destilada e esse conteúdo transferido para tubos, os quais foram vedados com papel alumínio e grafiti. Foram autoclavados por 30 min a 121 ºC e 1 atm. Após o pré-tratamento a fração insolúvel foi lavada com água para remoção do ácido sulfúrico e recuperada por filtração a vácuo em papel de filtro Whatman No 1. Foi seca em estufa com circulação de ar forçado a 65 ^{o}C até peso constante e reservada para a segunda etapa do ensaio. Na segunda etapa, 0,5 gramas do material pré-tratado e seco foi depositado em tubos de vidro com tampa de rosca, ao qual se adicionou 4,4 mL de tampão bicarbonato 50 mM, pH 5,0, e 100 µL de preparado celulolítico (Celluclast da Novozymes). O meio reacional foi incubado a 50 ^{o}C por 24 horas. Ao final do tempo de digestão enzimática, o conteúdo do tubo foi avolumado para 100 mL com água destilada e a concentração de glicose foi determinada pela leitura em espectrofotômetro a 540 nm. Para o cálculo de digestibilidade, foram considerados os teores de celulose contidos em cada amostra após o pré-tratamento ácido e a quantidade de glicose liberada após a hidrólise enzimática na condição definida.

3 - Resultados e Discussão

O ensaio de digestibilidade da fração celulósica contida na matéria seca das ramas de genótipos de batata doce selecionados com base na produtividade estimada de etanol ou em características composicionais (Tabela 1) etapa anterior ao pré-tratamento com ácido inorgânico diluído. Após o pré-tratamento ácido, o teor de celulose no material insolúvel recuperado aumentou (Tabela 2) por consequência natural da remoção da fração hemicelulósica (CARVALHO et al., 2015). Após o ensaio de digestibilidade enzimática do material pré-tratado, o teor de celulose no material insolúvel recuperado diminuiu a proporções distintas que dependeram do genótipo avaliado (Tabela 2). O resíduo insolúvel pós-digestão enzimática das ramas do genótipo Palmas foi o que apresentou menor valor de celulose (Tabela 2). A digestibilidade de cada material, que tomou por base a quantidade de glicose liberada após a ação enzimática, resultou em valores mais altos para os genótipos Marmel, Palmas e UFVJM 28 (Tabela 2), os quais alcançaram valores próximos a 40% de digestibilidade. O genótipo UFVJM 46, apesar de ter apresentado a maior produtividade agrícola de ramas, junto com o genótipo UFVJM 28, (Tabela 1), se mostrou recalcitrante ao ataque

enzimático, apresentando valor de digestibilidade de apenas 14,2 %.

Tabela 1 – Produtividade agrícola em matéria integral (PMI), produtividade agrícola em matéria seca (PMS), teor de matéria seca (TMS) e teor de celulose (CL) da parte aérea dos diferentes genótipos de batata-doce pesquisados

Genótipos	PMI ($t\ ha^{-1}$)	PMS ($t\ ha^{-1}$)	TMS (%)	CL (%)
Marmel	13.17 ± 1.97c	1.79 ± 0.40c	13.56 ± 1.30b	10.19 ± 3.71a
Palmas	13.37 ± 5.10c	1.92 ± 0.73c	14.52 ± 1.55b	7.96 ± 5.02a
UFVJM 14	21.04 ±11.5b	3.29 ± 1.86b	15.63 ± 1.43a	11.18 ± 6.17a
UFVJM 28	31.68 ± 8.94a	5.66 ± 2.20a	17.84 ± 5.22a	11.84 ± 2.46a
UFVJM 46	26.70 ± 3.36a	4.18 ± 0.60b	15.62 ± 1.30a	12.46 ± 4.25a
UFVJM 48	10.27 ± 2.44c	1.56 ± 0.30c	15.37 ± 1.45a	7.08 ± 3.10a
Média (%)	19.37	3.06	15.42	8.25
CV (%)	44.12	53.04	8.46	19.55

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste Scott - Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 2 – Teor de celulose após o pré-tratamento ácido (CL_{PT}), teor de celulose após a sacarificação enzimática (CL_{SC}) e digestibilidade enzimática (DE) de ramas de genótipos de batata-doce.

Genótipos	CL_{PT} (%)	CL_{SC} (%)	DE (%)
Marmel	23.72 ± 0,28 b	14.25 ± 0,01 b	39,60 ± 3,20 a
Palmas	19.64 ± 0,33 c	2.09 ± 0,01 e	42,41 ± 21,01 a
UFVJM 14	26.98 ± 0,91 a	13.79 ± 0,01 c	28,63 ± 1,33 b
UFVJM 28	27.09 ± 0,72 a	4.80 ± 0,10 d	41,06 ± 6,60 a
UFVJM 46	25.00 ± 0,29 b	20.31 ± 0,01 a	14,24 ± 2,71 b
UFVJM 48	21.00 ± 1,32 c	14.18 ± 0,01 b	18,36 ± 4,28 b
Média (%)	23.90	11.57	30,72
CV (%)	3.34	0.37	30,47

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste Scott - Knott a 5% de probabilidade.

4 - Agradecimentos

À FAPEMIG, CNPQ, CAPES, UFVJM e Fazenda Forquilha.

5 - Bibliografia

[1]CARVALHO, D.M.; SEVASTYANOVA, O.; PENNA, L.S.; SILVA, B.P.; LINDSTROM, M.E.; COLODETTE, J.L. 2015. **Assessment of chemical transformation in eucalyptus, sugarcane bagasse and straw during hydrothermal, dilute acid, and alkaline pretreatments**. Industrial Crops and Products 73: 118-126.

[2] FOLQUER. F. La batata (camote): **estudio de la planta y su produccion comercial**. San José. Costa Rica: Hemisfério Sul. 1978.134p.

[3] MARTIN. C. et al. **Investigation of cellulose convertibility and Ethanolic fermentation of sugarcane bagasse pretreated by wet oxidation and steam explosion.** Journal of Chemical Technology and Biotechnology. v. 81. p.1669-1677. 2006. *mist*s,68.188-190,1985 ;

[4] PEIXOTO. N.; MIRANDA. J. E. C. **Cultivo da batata doce em Goiás. Goiânia**. EMGOPA. 24p. (Circular técnica. 7). 1984.

[5]SANTOS, F. A.; QUEIRÓZ, J. H.; COLODETTE, J. L.;FERNANDES, S. A.; GUIMARÃES, V. M.; REZENDE S. T.; **Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol.** Universidade Federal de Viçosa – MG, Brasil, 2012.

Seleção e identificação de microalgas dulcícolas com o propósito de produção de biocombustíveis de terceira geração

Marina Lemos Sartori [a], Fernanda Silva Monção [a], Lílian A. Pantoja [b] e Alexandre S. Santos [c]*

[a] Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis – UFVJM; [b] Instituto de Ciência e Tecnologia/UFVJM;
*[c] Departamento de Ciências Básicas – UFVJM. *(alexandre.soares@ufvjm.edu.br)*

Palavras Chave: *algas, bioenergia, combustíveis renováveis.*

1 - Introdução

A terceira geração de biocombustíveis compreende o uso de micro-organismos fotossintetizantes, como as microalgas, capazes de armazenar quantidades elevadas de carboidratos e lipídios[1]. Estes compostos ricos em energia podem ser convertidos em bioetanol e biodiesel respectivamente[2].

As microalgas apresentam inúmeras vantagens para produção de biocombustíveis como a alta eficiência fotossintética e alta taxa de crescimento celular[3].

Para melhorar a viabilidade do uso de microalgas para produção de biocombustíveis é necessário um melhor entendimento de como obter uma maior velocidade de crescimento celular[2]. Portanto, fatores físico-químicos e nutricionais são indispensáveis para o crescimento das microalgas, como a intensidade luminosa, temperatura, pH, água, nutrientes (carbono, nitrogênio e fósforo), agitação e aeração[4].

Além de ampliar o conhecimento da biodiversidade local, o presente trabalho teve por finalidade isolar e identificar microalgas dulcícolas coletadas no Alto Vale do Jequitinhonha visando a produção de biocombustíveis.

2 - Material e Métodos

As amostras de microalgas estudadas foram provenientes de coletas de alíquotas de água no córrego do Rio Grande (18º14'29.9184"; 43º35'31.758"), em tanque de peixes no departamento de Zootecnia da UFVJM (18º11'49.9092"; 43º34'24.9708") e em um sistema de cultivo hidropônico localizado no departamento de Agronomia da UFVJM (18º11'4236"; 43º34'21.6372"). As amostras obtidas foram submetidas à centrifugação e o precipitado foi inoculado em meios de cultura líquido LC Oligo e CHU (ABNT-NBR 12648/2004)[5] para crescimento celular e aclimatação em BOD (New Lab) com fotoperíodo de 12 horas à temperatura de 25ºC e aeração constante.

O isolamento das espécies foi realizado pela técnica de micropipetagem, com o auxílio de microscópio óptico (BEL Photonics), e pela técnica de *spread plate*, nos meios LC Oligo-Ágar e CHU-Ágar. A identificação foi realizada com base em observações morfológicas, tendo como principal referência o Atlas de cianobactérias e microalgas de águas continentais brasileiras (LEITE *et al*., 2012)[6] e os trabalhos de Menezes e Bicudo (2008)[7]. Os gêneros foram registrados por meio de fotografias digitais utilizando o microscópio óptico (BEL Photonics) com a câmera Digilab com 5.0 MP. As células dos gêneros isolados também foram avaliadas quanto ao diâmetro e comprimento.

3 - Resultados e Discussão

A partir das coletas foram identificados 14 morfotipos em nível de gênero, ilustrados nas Figuras 1 e 2. A Tabela 1 mostra o diâmetro e comprimento dos isolados.

Figura 1. Micrografias dos gêneros de microalgas isolados e identificados. Lentes objetivas de 100X. A) *Chlorococcum* sp.1; B) *Scenedesmus* sp.1; C) *Scenedesmus* sp.2; D) *Nitzschia* sp.1; E) *Nitzschia* sp.2; F) *Scenedesmus* sp.3; G) *Chlorella* sp.; H) *Ankistrodesmus* sp.1. Barra de escala = 2 a 5µm.

De acordo com a literatura, dos gêneros de microalgas identificados, podemos destacar para a produção de biocombustíveis os gêneros *Chlorella* sp, *Scenedesmus* sp. e *Ankistrodesmus* sp.

Segundo Dragone *et al* (2011)[8], a *Chlorella* sp. é capaz de acumular cerca de 40% amido sob condições de privação de nitrogênio. De acordo com Mata *et al* (2010)[9], o gênero *Chlorella* sp. apresenta uma porcentagem de lipídios em suas células entre 14 e 15% do peso seco da biomassa.

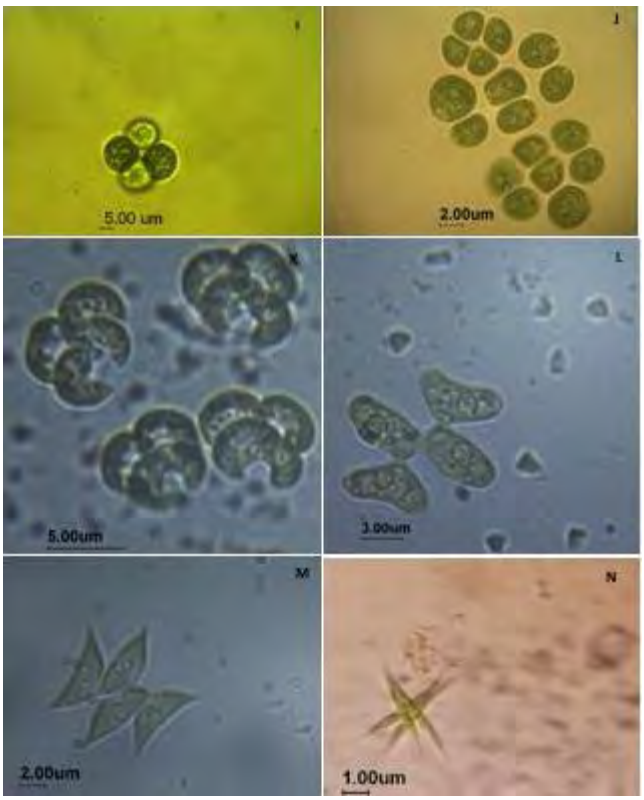


Figura 2. Micrografia dos gêneros de microalgas isolados e identificados. Lentes objetivas de 100X. I) *Chlorococcum* sp.2; J) *Chlorococcum* sp.3; K) *Kirchneriella* sp.; L) *Scenedesmus* sp.4; M) *Scenedesmus* sp.5; N) *Ankistrodesmus* sp.2. Barra de escala = 1 a 5µm.

Tabela 1 – Dimensões das células das microalgas isoladas

Gênero	Diâmetro (µm)	Comprimento (µm)	Figura
Chlorococcum sp.1	4,71-5,29	4,38-4,76	1A
Chlorococcum sp.2	9,96-11,92	10,41-12,39	2I
Chlorococcum sp.3	3,27-3,64	2,58-2,91	2J
Scenedesmus sp.1	3,45-3,85	1,23-1,40	1B
Scenedesmus sp.2	1,80-1,87	3,24-3,49	1C
Scenedesmus sp.3	1,94-2,17	7,16-7,19	1F
Scenedesmus sp.4	6,17- 6,20	3,10-3,20	2L
Scenedesmus sp.5	2,23-3,09	6,50-7,16	2M
Ankistrodesmus sp.1	0,52-0,73	1,0-4,0	1H
Ankistrodesmus sp.2	4,48-5,25	25,61-30,25	2N
Nitzschia sp.	23,41-24,14	4,81 5,40	1D e 1E
Chlorella sp.	5,46-6,12	4,98-5,87	2G
Kirchneriella sp.	3,70-4,48	1,98-2,27	2K

O gênero *Scenedesmus* sp. já foi apontado como uma das microalgas com potencial para a produção em larga escala visando à obtenção de óleo para a produção do biodiesel (DANTAS *et al*., 2010)[10]. De acordo com Duarte *et al* (2012)[1], o gênero *Scenedesmus* sp. revelou-se uma fonte bastante adequada para a produção de bioetanol, podendo atingir teores de até 95,6% de açúcares.

As espécies do gênero *Ankistrodesmus* sp. foram consideradas importantes para a bioenergia, seja para produção de biodiesel ou bioetanol, apresentando 22,96% de lipídios, 41,2% de proteínas e 16,03% de carboidratos (MENEZES, 2013)[4].

Considerando que há uma valorosa biodiversidade de microalgas a ser explorada nos diversos ecossistemas, se faz necessário maiores esforços na obtenção de novos exemplares desses micro-organismos com intuito de explorar seu potencial no contexto dos biocombustíveis.

4 - Agradecimentos

Agradecimento ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e à UFVJM por bolsas de estudo concedidas.

5 - Bibliografia

[1] Duarte, D. L. J.; Mendonza, W. S.; Velsaco, M. J.; Munõz, Y. P.; Suárez, N. A. U. Characterization Chlorophytas microalgae with potential in the production of lipids for biofuels. **Ciência, Tecnologia y Futuro**, v.5, p. 93-102, 2012.

[2] Shih-Hsin Ho, Xiaoting Ye, Tomohisa Hasunuma, Jo-Shu Chang Akihiko Kondo. Perspectives on engineering strategies for improving biofuel production from microalgae — A critical review. **Biotechnology Advances**, 1448–1459, 2014.

[3] Borges, L. *et al*. Effects of flocculants on lipid extraction and fatty acid composition of the microalgae *Nannochloropsis oculata* and *Thalassiosira weissflogii*. **Biomass & Bioenergy**, v. 35, n. 10, p. 4449-4454, 2011;

[4] Menezes, R. S. Avaliação da potencialidade de microalgas dulcicolas como fonte de matéria prima graxa para a produção de biodiesel. **Quimica Nova**, v. 36, n. 1, p. 10-15, 2013.

[5] ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2004. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Pp.1-20. Rio de Janeiro, Projeto NBR 12648:2004. 28ª reunião;

[6] Leite, C. L. S et al. **Atlas de cianobactérias e microalgas de águas continentais brasileiras**. Instituto de Botânica, São Paulo, 2012.

[7] Mendes, M.; Bicudo, C. E. Flagellate green algae from four water bodies in the state of Rio de Janeiro, Southeast Brazil. **Hoehnea** 35(3): 435-468. 2008.

[8] Dragone, G.; Fernandes, B.; Vicente, A. A.; Teixeira, J. A. **Third generation biofuels from microalgae**. Current Research Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology - Institute for Biotechnology and Bioengineering, Centre of Biological Engineering, University of Minho, Campus de Gualtar. Portugal. 2011.

[9] Mata, T. M.; Martins, A. A.; Caetano, N. S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14(1)**: 217-232. 2010.

[10]Dantas, D. M. M.; Drummond, A. R. F.; Santos, L. B. G.; Santos, F. K.; Bezerra, S. R.; Gálvez, A. O. Extração de óleo de microalga utilizando ultrassom com diferentes solventes visando a produção de biodiesel. 2010.

Síntese do éster "Oleato de Solketila" a partir da esterificação do solketal com ácido oléico empregando a mistura catalítica SiO_2-SO_3H.

Melina A. Rodrigues (IC)[b], Sandro L. Barbosa (PQ)[a], Maísa C. Santos[1] (PG)[a]

*[a]Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis/UFVJM, [b]Departamento de Farmacia/UFVJM**(almeida.melina@hotmail.com)

Palavras Chave: *catálise heterogênea, ésteres, glicerina bruta, solketal, solvente.*

1 - Introdução

Um dos principais objetivos do nosso grupo de pesquisa é a aplicação do glicerol bruto, oriundo da transesterificação de triglicerideos com methanol, como reagente na síntese de compostos orgânicos.[1] Neste trabalho, utilizaremos o glicerol bruto na síntese de solketal, o qual será posteriormente esterificado com ácido oléico a oleato de solketila. Um importante intermediário na síntese de monoglicerídeos e também um produto com grande aplicação na indústria de combustíveis (aditivos) ou na industria de cosmético, como, tensoativos.

2 - Material e Métodos

Neste trabalho, utilizaremos o glicerol bruto na síntese de solketal, o qual será posteriormente esterificado com ácido oléico a oleato de solketila. Um importante intermediário na síntese de monoglicerídeos e também um produto com grande aplicação na indústria de combustíveis (aditivos) ou na industria de cosmético, como, tensoativos.

3 - Resultados e Discussão

Recentemente nosso grupo de pesquisa, em um estudo inicial, realizou em processo "one pot" a síntese do Octanoato de solketila em 95%, empregando inicialmente o glicerol bruto e acetona em um processo sob refluxo e catalisado pela mistura SiO_2-SO_3H.[2] Após 2 h de reação foi adicionado o acido octanóico e o meio reacional mantido em refluxo por mais 12 h (Figura 1).

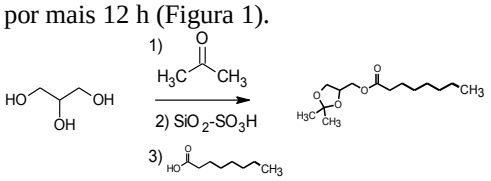


Figura 1. Formação do Ester de solketila.

Diante desse resultado, decidimos expandir essa síntese para diferentes ácidos graxos, tais como: o ácido graxo palmítico, o oléico, o linoléico e o esterárico. Para nossa surpresa a síntese de ésteres de solketila a partir desses ácidos graxos contendo entre 16 e 18 átomos de carbono em suas estruturas se mostrou pouco efetiva e os rendimentos obtidos foram muito baixos (5 a 10%).

O catalisador por nos desenvolvido SiO_2-SO_3H, apresenta uma área de superfície de 31 m^2g^{-1}, volume de poros de 0.23 cm^3g^{-1}, diâmetro de poros variando entre 10 a 200 nm e 1,30 mmol H^+/g. Acreditamos que o baixo volume de poros, a baixa área superficial, aliada a característica hidrofílica desse catalisador, tenham dificultado o escoamento dos reagentes hidrofóbicos como os ácidos graxos para o interior dos poros dessa mistura catalítica, não permitindo que a reação ocorresse. Dessa forma decidimos fazer essa reação em etapas, sintetizando inicialmente o solketal a partir de glicerol bruto, acetona e o catalisador SiO_2-SO_3H em um processo sob refluxo durante 2 h com rendimento de 93%, CG/EM (Figura 2).

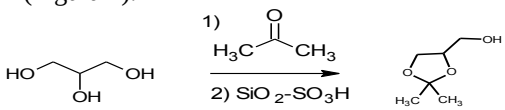


Figura 2. Formação do solketal.

O solketal foi purificado por destilação a pressão reduzida (88% rendimento) e utilizado como reagente em uma reação de esterificação com o ácido graxo oléico na proporção de 1:1 em mols sob SiO_2-SO_3H (20% m/m) em um meio reacional contendo tolueno (1.25 mL/mol de reagentes) e irradiado por micro-ondas por 6 min. (Equação 3)

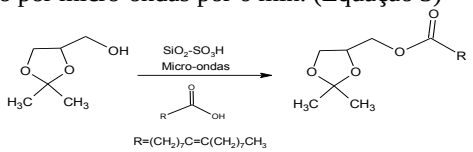


Figura 3. Esterificação do solketal.

A mistura reacional foi filtrada e extraída com uma solução de bicarbonato de sódio e clorofórmio como solvente, seco com $MgSO_4$ anidro e analisada pela técnica de eletrospray, [M+H] = 397.1856. A inserção de tolueno como solvente permitiu que obtivéssemos o oleato de solketila em 88% de rendimento. Demonstrando que nesse meio reacional o reagente hidrofóbico (ácido graxo oléico) teve diminuída a sua repulsão pelo catalisador hidrofílico, permitindo uma maior facilidade de escoamento desses reagentes para dentro dos poros da mistura catalítica.

O resultado obtido, demonstrou que é de fundamental importância o escoamento dos reagentes para os poros de uma mistura catalítica. Neste trabalho a tarefa de facilitar esse escoamento coube ao tolueno, mas acreditamos que outros solventes possam também ser efetivos. A participação de diferentes solventes nos estudo cinético dessas reações de esterificação, será objeto dos nossos próximos trabalhos. Vale ressaltar que o tolueno foi recuperado por destilação no final do processo reacional.

4 - Agradecimentos

Agradecimento à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

5 - Bibliografia

[1]Barbosa, S .L.; Ottone, M.; Almeida, M. T.; Lages, G. L. C.; Nelson, D. L.; Clososki, G.C.; Lopes, N.P.; Klein, S. I. *Catalysis Communication* 2016, *submetido*.
[2]Barbosa, S. L.; Ottone, M.; Santos, M.C.; Junior, G. C.; Lima, C. D.; Clososki, G. C.; Lopes, N. P.; Klein, S. I. *Catalysis Communication* 68 (2015) 97-100.