

Estudo Cinético Enzimático da Hidrólise de Bagaço de Laranja

Costa, J. R. C.^{1*}; Homem, C. L. G.¹; Pinheiro, I. R.²

¹ Discente de Engenharia Química, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, Brasil.

² Docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, Brasil.

* e-mail: juanr.costa@hotmail.com

Resumo

A realização deste trabalho teve como objetivo o estudo cinético da hidrólise enzimática do bagaço de laranja in natura, o qual definiremos como polpa cítrica (bagaço, casca e semente), e aplicação do hidrolisado para produção de um combustível disponível e estratégico para o país (etanol). A polpa cítrica é uma biomassa de baixo custo e níveis elevados de carboidratos, o que viabiliza a sua utilização em processos biotecnológicos. Os estudos cinéticos enzimáticos realizados demonstraram que a polpa cítrica apresenta grande potencial de conversão de biomassa em açúcares redutores (AR). Em relação à eficiência da hidrólise, obteve-se um valor máximo de açúcares redutores (7,39 g/L) no tempo reacional de 9 horas com produtividade de 0,589 g/L.h e conversão de açúcares redutores (4,22 g/L), e relação de 0,053 grama de AR por grama de polpa cítrica.

Abstract

This study aimed the Kinetic Study of the enzymatic hydrolysis of orange bagass (pomace, peel and seed), and applying the hydrolyzate to produce a strategic available and fuel (ethanol) to the country. The orange bagass is a low cost biomass and high levels of carbohydrates, which enables their use in biotechnological processes. Enzyme kinetic studies showed that orange bagass has great potential for biomass conversion into reducing sugars. About the efficiency of hydrolysis, there is obtained a maximum value of reducing sugars (7.39 g/L) in the reaction time of 9 hours with productivity of 0.589 g/L.h and converting reducing sugars (4.22 g/L), and ratio of 0.053 reducing sugars gram per gram of the obtained citrus pulp.

Keywords (Palavras chaves): enzimas, bagaço de laranja, etanol.

1. Introdução

O Brasil é o maior produtor mundial de laranjas, além de ser o maior exportador do suco de laranja do mundo, atendendo a demanda de diversos países. Em 2009, as exportações do complexo cítrico somaram 2,9 milhões de toneladas (suco concentrado, suco não concentrado e subprodutos), sendo que o Brasil é responsável por 50 % da produção mundial de suco de laranja, e 98 % do que ele produz é exportado [1].

Durante a produção deste, apenas metade do peso da laranja fresca é transformado em suco, gerando grandes quantidades de resíduos (casca, polpa e sementes), que representam os outros 50 % do peso da fruta. Entretanto, a partir destes resíduos é possível obter subprodutos com alto valor comercial, proporcionando benefícios econômicos e ambientais e

indo ao encontro das diretrizes da Política Nacional de Resíduos Sólidos [2].

O resíduo do processamento de frutos cítricos possui alto valor agregado devido à sua composição. Esse subproduto é de grande interesse industrial apresentando grande potencial para ser utilizado na obtenção de uma gama de produtos através da hidrólise química ou enzimática e posterior conversão biológica [3 e 4].

A ação combinada das enzimas celulase e pectinase se complementam no processo de hidrólise da biomassa lignocelulósicas sendo uma alternativa para aumentar o rendimento do processo.

O uso de celulase e pectinase como enzimas complementares, no processo de hidrólise-sacarificação do farelo de mandioca demonstrou que

no processo em que se fez o emprego da pectinase como enzima complementar obteve-se uma melhor eficiência na hidrólise [5].

Os materiais lignocelulósicos insolúveis que compõem a parede celular da casca de laranja são compostos de pectina (polissacarídeo ramificado), celulose (constituído de glicose) e hemiceluloses (polímero ramificado composto de xilose e outros açúcares de 5 carbonos) [6].

O processo de hidrólise enzimática ocorre pela ação de enzimas. Essas enzimas são chamadas celulases, secretadas por fungos ou bactérias, sendo esses, microrganismos que se alimentam da matéria orgânica, alterando-a e formando substâncias químicas [7 e 8].

A produção de bioetanol a partir da biomassa lignocelulósica é referida como a segunda geração de biocombustíveis, cujo processamento é uma das mais promissoras tecnologias em fase de desenvolvimento [8].

Dentro do contexto apresentado o presente trabalho se propôs avaliar a cinética de transformação da polpa cítrica (bagaço, casca e semente) em açúcares fermentescíveis para produção de etanol.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Materiais

A biomassa residual (polpa cítrica) empregada nos ensaios experimentais foi gentilmente fornecida por produtores rurais da região do Caparaó/ES que fazem o processamento da fruta para obtenção de suco in natura.

Neste trabalho foram empregados os seguintes concentrados enzimáticos cedidos pela Novozymes®: Complexo Enzimático (NS22119) – arabinase, β -glucanase, celulase, hemicelulase, pectinase e xilanase; Complexo de Celulase (NS22086).

Os dados de atividade da celulase em papel de filtro e atividade da pectinase empregados nesse trabalho, são provenientes de estudos realizados nos laboratórios da engenharia química, do CCA UFES - Alegre [9 e 10].

Desta forma, a atividade enzimática de pectinase empregada foi de 153,25 U/mL para o complexo enzimático (NS22119) e 15 U/g_{polpacítrica} para o complexo celulase (NS22086).

A partir dessas atividades foi possível quantificar a dose de extrato enzimático a ser adicionado na hidrólise da polpa cítrica prensada (PCP).

2.2. Pré- tratamento da biomassa

No processo realizado, a biomassa (casca, bagaço, semente) passou por um processo de trituração em uma forrageira (Trapp TRF80), para redução dos resíduos a fragmentos. Após a trituração do resíduo, o mesmo foi submetido a análise de quantidade de água disponível, através de uma balança determinadora de umidade (Shimadzu MOC63U). Em seguida, a biomassa foi submetida à calagem com adição de hidróxido de cálcio (cal hidratada) e água (proporção 1:1). O material caleado seguiu para o processo de prensagem a frio onde o material caleado foi submetido a 3 ciclos de prensagem com carga de 10 toneladas.

2.3. Processo de hidrólise enzimática da polpa cítrica

Após o pré-tratamento, os resíduos sólidos provenientes da etapa de prensagem foram hidrolisados. A carga de enzima utilizada na hidrólise foi 1163 U/g_{pectina} [9] e 15 U/g_{polpacítrica} [10].

Conforme a literatura o teor de pectina na casca de laranja é de 3,5 a 5,5 % em base úmida [12], nesse trabalho foi adotado um percentual 4,0. O processo ocorreu em um biorreator (Marconi) encamisado e com sistema de agitação, tendo o volume de 500 mL (Figura 1). Ao reator, foram adicionados 30 g do substrato, 300 mL de água, 0,6 mL de antimicrobiano (fluoreto), 9 mL do complexo de enzima NS22119 e 395 μ L de celulase (NS22086).



Figura 1 - Biorreator utilizado na hidrólise enzimática.

A temperatura do sistema foi ajustada em 50 °C com o auxílio de um banho termostático. A hidrólise ocorreu em meio reacional com pH 9,5 durante 24 h sob agitação constante (nível 2). Retiraram-se amostras nos seguintes tempos: 3, 6, 9, 12, 16, 20 e 24 horas.

Este experimento foi conduzido em duplicata. Após as amostras serem centrifugadas, procedeu-se a

determinação de AR do sobrenadante por meio do método DNS. Ao final da hidrólise, foi feita uma filtração e determinado o teor de sólidos solúveis do meio com auxílio de um refratômetro de bancada (ABBE).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de umidade inicial da polpa cítrica na indústria é de aproximadamente 82 % [13]. A análise efetuada na biomassa empregada no trabalho mostrou que a mesma possuía teor de umidade igual a 76,04 % valor razoável ao se comparar com a literatura.

A curva cinética, construída a partir de uma média simples entre os valores de AR obtidos em triplicata (Figura 2) é apresentada com seus respectivos desvios padrão, indica o perfil de variação de açúcares no processo de hidrólise da PCP ao longo do tempo.

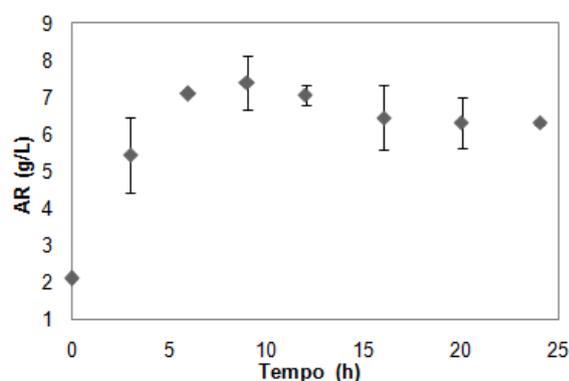


Figura 2: Variação da concentração de glicose no tempo de 24 h de hidrólise enzimática.

Em relação à eficiência da hidrólise, obteve-se um valor máximo de AR (7,39 g/L) no tempo reacional de 9 horas com produtividade de 0,589 g/L.h, em termos de grama de AR por grama de polpa cítrica a relação obtida foi de 0,053. Pode-se observar uma diminuição de AR após 9 h de reação, a partir desse instante, considerando-se a barra de erros, a reação atinge um estado estacionário com uma produção de AR de aproximadamente 4,22 g/L.

Para o cálculo da velocidade inicial (V_0) da hidrólise, procedeu-se um ajuste linear da curva que descreve a variação de AR na região ascendente da mesma e determinou-se o coeficiente angular da reta ajustada pelo método dos mínimos quadrados (Figura 3).

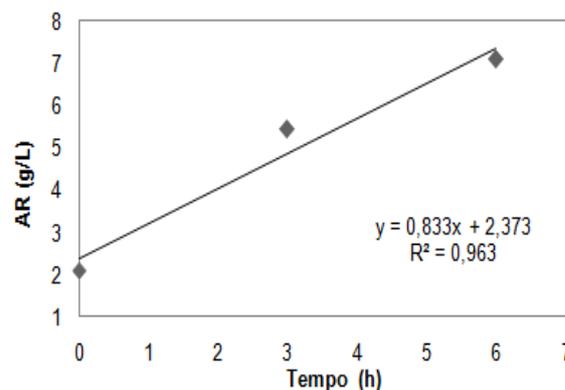


Figura 3: Ajuste linear para o cálculo da velocidade inicial (V_0) no processo de hidrólise da polpa cítrica.

No processo de hidrólise realizado verificou-se que, no instante inicial, havia uma concentração de AR de 2,09 g/L. Observou-se, desde o instante inicial, uma alta produtividade de hidrólise, onde se obtém, rapidamente, uma velocidade inicial de hidrólise de 0,833 g/L.h (Figura 3). Podemos notar que ocorre uma produção de 5 g/L de glicose no intervalo de maior atividade enzimática (6 h).

A razão entre a massa de glicose e a massa de polpa cítrica obtidas nos dois ensaios foram de 0,053, o que é razoável quando se compara com o desempenho enzimático da hidrólise de bagaço de cana-de-açúcar sem pré-tratamento (0,05) [9]. Estudos realizados nos laboratórios de engenharia química da UFES evidenciam que o pré-tratamento da biomassa com peróxido de hidrogênio acarretou em valores maiores de produção de AR no processo hidrolítico, obtendo uma relação de grama de glicose por grama de bagaço tratado de aproximadamente 0,4, se comparado com o mesmo processo sem pré-tratamento [9]. Após o processo hidrolítico, o teor de sólido solúvel mensurado no hidrolisado deste trabalho foi de 5,25 °Brix.

6. CONCLUSÃO

A maior conversão na obtenção de açúcares fermentescíveis através da hidrólise enzimática com as enzimas combinadas, NS22119 e NS22086, foi de (4,22 g/L) ocorreu em 9 horas de hidrólise com produtividade de 0,589 g/L.h. A razão entre a massa de glicose e a massa de polpa cítrica obtida no ensaio foi de 0,053.

Entretanto, é necessário otimizar a metodologia de pré tratamento da polpa cítrica como o uso de NaOH ou peróxido de hidrogênio com intuito de se aumentar a eficiência na remoção da lignina presente e aumentar a eficiência ou a produtividade da hidrólise. A biomassa cítrica demonstrou ter potencial para produção de etanol visto que, a mesma não compete com a fabricação de alimento como, por exemplo, fontes amiláceas.

4. Referências

- [1] NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. O retrato da citricultura brasileira. *CitrusBR*. São Paulo. v. 33. n. 7. p. 1549-1558, 2010.
- [2] REZZADORI, K.; BENEDETTI, S; AMANTE, E.R. Proposals for the residues recovery: Orange waste as raw material for new products. *Food and bioproducts processing*. V. 90 p. 606–614, 2012.
- [3] RIVAS, B.; TORRADO, A., TORRE, P.; CONVERTI, A.; DOMÍNGUEZ, J. M. Submerged citric acid fermentation on orange peel to hydrolysate. *J. Agric. FoodChem*. v. 56. p. 2380-7, 2008.
- [4] PEREIRA Jr., N.; COUTO, M.A.P.G.; SANTA ANNA, L.M.M..Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and the context of biorefinery. In *Series on Biotechnology*. Ed. Amiga Digital UFRJ. Rio de Janeiro. v.2. 45p, 2008.
- [5] LEONEL, Magali. Uso de enzimas complementares na produção de etanol a partir de farelo de mandioca. 116p. Tese de doutorado (Doutorado em Energia na Agricultura), Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista. Botucatu, São Paulo, 1998.
- [6] GROHMANN, K.; CAMERON, R. G.; BUSLIG, B. S. Fractionation and pretreatment of orange peel by dilute acid hydrolysis. *Bioresour Technol*. v. 54. p. 129-41, 1995.
- [7] DEMIRBAS, A. H.; DEMIRBAS, I. Importance of rural bioenergy for developing countries. *Energy Conversion and Management*. v. 48. p. 2386-2398, 2007.
- [8] BASTOS, V. D. Etanol, álcoolquímica e biorrefinarias. *BNDES Setorial*. Rio de Janeiro. n. 25. p. 5-38, 2007.
- [9] CARVALHO, Pedro Ivo Nunes de. Estudo de hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar. 11p. Alegre: UFES, 2011b.
- [10] HOMEM, C. L. G; COSTA, J. R. Estudo Cinético Da Hidrólise Enzimática E Fermentação Alcoólica Da Biomassa Residual Da Indústria Cítrica. 66p. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia Química), Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2014.
- [11] WILKINS M. R.; WIDMER W. W.; GROHMANN K.; CAMERON R. G. Hydrolysis of grapefruit peel waste with cellulase and pectinase enzymes. *BioresourTechnol*. v. 98, p.1596-1601, 2007.
- [12] COELHO, Miguel Telesca. Características e Aplicações em Alimentos. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Ciência dos Alimentos. Pelotas, 2008.
- [13] YAMANAKA, H. T. Cítricos. Série P + L. Guia Técnico Ambiental. São Paulo: CETESB. 45p. 2005. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br>. Acesso em: 20 outubro, 2014.