



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS – UFT
CÂMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS
ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

WELDA GONÇALVES DO NASCIMENTO

**COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA E COEFICIENTES DE HIDRÓLISE
ENZIMÁTICAS DE RESÍDUOS DA PALMEIRA MACAÚBA (*Acrocomia
aculeata*)**

**PALMAS-TO
2019**

WELDA GONÇALVES DO NASCIMENTO

**COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA E COEFICIENTES DE HIDRÓLISE
ENZIMÁTICAS DE RESÍDUOS DA PALMEIRA MACAÚBA (*Acrocomia
aculeata*)**

Trabalho de Conclusão de Curso exigido como
requisito obrigatório para obtenção de Título de
Bacharel em Engenharia de Alimentos da
Universidade Federal do Tocantins-UFT.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Benko de Siqueira

PALMAS-TO

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

N244c Nascimento, Welda Gonçalves do .
COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA E COEFICIENTES DE
HIDRÓLISE ENZIMÁTICAS DE RESÍDUOS DA PALMEIRA
MACAUBA (*Acrocomia aculeata*) . / Welda Gonçalves do Nascimento.
– Palmas, TO, 2019.
35 f.

Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins –
Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Engenharia de Alimentos,
2019.

Orientador: Guilherme Benko de Siqueira

1. Macaúba. 2. Composição Química. 3. Coeficiente de hidrólise.
4. Etanol 2G. I. Título

CDD 664

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

WELDA GONÇALVES DO NASCIMENTO

COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA E COEFICIENTES DE HIDRÓLISE
ENZIMÁTICAS DE RESÍDUOS DA PALMEIRA MACAÚBA (*Acrocomia
aculeata*)

Monografia foi avaliada e apresentada à UFT –
Universidade Federal do Tocantins – Campus
Universitário de Palmas para obtenção de Título de
Bacharel em Engenharia de Alimentos e aprovada
em sua forma final pelo Orientador e pela Banca
Examinadora.

Data de Aprovação 13 / 12 / 2021

Banca Examinadora:

.....
Prof.(a) Dr(a) Guilherme Benko de Siqueira Orientador(a), UFT

.....
Prof.(a) Dr(a) Flávia Lucila Tonani de Siqueira Examinador(a), UFT

.....
Prof.(a) D (e) Joenes Mucci Pelluzio Examinador(a), UFT

A Deus e aos meus pais,
Siriaco e Vanússia,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelas bênçãos derramadas durante toda a minha vida e por fortalecer com fé, que me motivou para a conclusão dessa jornada.

Aos meus pais, Sírriaco Carneiro e Vanusia Gonçalves, que com muita paciência e carinho fizeram de tudo para que eu pudesse continuar com os estudos, me dando condições físicas, emocionais, financeiras e psicológicas para buscar meus sonhos e continuaram acreditando em mim mesmo quando eu mesma não acreditava

Aos meus irmãos, Wanderson, Welma e Willian, pelo apoio e carinho.

Ao meu namorado, Richardson, companheiro de todos os momentos, sempre me incentivando, ajudando e não me deixando desistir.

Ao meu professor orientador Dr. Guilherme Benko de Sirqueira, pela instrução, dedicação, empenho e inspiração durante a realização deste trabalho.

À Ana Beatriz e Auricélia, que durante a graduação nos tornamos mais que amigas, irmãs. Obrigada pelos conselhos, pelo carinho, pelas risadas, pelas horas ao telefone e pela amizade sincera.

Aos amigos que conquistei ao longo desta caminhada, Antonio Dheyson, Ellen, Hellen Larissa, Nathália, Nayane, Priscila, Talia e Tuanny.

Ao meu colega Ilys Janes Alves de Sousa, pela disposição em ajudar em tudo que foi necessário na parte laboratorial e análises de dados.

Aos Técnicos e estagiários do LASOR pelo apoio nos procedimentos laboratoriais.

E a todos aqueles que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Em síntese a *Acrocomia aculeata* é uma palmeira cuja se pode usufruir de praticamente todos os seus recursos naturais além de ser facilmente encontrada em praticamente todo território brasileiro. Com base nisso, através de um trabalho de cooperação técnica entre a Universidade Federal de Viçosa (UFV) e a Universidade Federal do Tocantins (UFT) foram utilizados resíduos obtidos pela extração de óleo pelo processo de extrusão a frio o qual foi realizado pela UFV.

Com o objetivo de avaliar e descrever quantitativa a composição química bromatológica dos seguintes resíduos: casca + mesocarpo extrusada e amêndoa extrusada, juntamente com as avaliações do potencial de hidrólise da fração amilácea, e hidrólise dos carboidratos fibrosos (celulose e hemicelulose), também foi avaliado o seu potencial para produção de etanol (primeira e segunda geração), o experimento foi conduzido no laboratório de Análise de Solo e Resíduos Agroindustriais na UFT.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2x2, sendo dois resíduos extrusados da macaúba (AMÊNDOA EXT e CASCA+MESO EXT) e dois pré-tratamentos (com e sem fervura) antes das hidrólises enzimáticas do amido e da parede celular, resultando assim em quatro tratamentos sendo cinco repetições por tratamento, totalizando 20 parcelas experimentais.

O pré-tratamento com fervura foi de grande valia o qual melhorou o potencial de hidrólise amilolítica e fibrolítica das biomassas derivadas do processamento da macaúba com relação ao pouco teor de amido e celulose hidrolisáveis que foram encontrados nas biomassas, a utilização das mesmas para a obtenção de etanol pode não ser a melhor alternativa para seu aproveitamento.

Decorrente disso estudos futuros de identificação dos componentes presentes nas frações hidrossolúveis de ambas as biomassas pode ser promissor para a indústria de alimentos como fonte de aminoácidos (amêndoa extrusada) e de carboidratos fibroso e não fibrosos solúveis (mesocarpo da macaúba).

Palavras-chave: *Acrocomia aculeata*. Composição bromatológica. Resíduos. Hidrólise enzimática. Biodiesel.

ABSTRACT

In summary the *Acrocomia aculeata* is a palm tree that can enjoy practically all of its natural resources, besides being easily found in practically all Brazilian territory. Based on this, through a technical cooperation work between the Federal University of Viçosa (UFV) and the Federal University of Tocantins (UFT) residues obtained from oil extraction by the cold extrusion process were used, which was carried out by UFV. In order to quantitatively evaluate and describe the chemical composition of the chemical composition of the following residues: bark + extruded mesocarp and extruded almond, along with evaluations of the hydrolysis potential of the starch fraction, and hydrolysis of fibrous carbohydrates (cellulose and hemicellulose), it was also evaluated its potential for ethanol production (first and second generation), the experiment was conducted in the Soil and Agroindustrial Waste Analysis laboratory at UFT. A completely randomized experimental design (DIC) in a 2x2 factorial scheme was used, with two extruded macaúba residues (ALMOND EXT and PEEL + MESO EXT) and two pre-treatments (with and without boiling) before the enzymatic hydrolysis of starch and cell wall, thus resulting in four treatments with five replications per treatment, totaling 20 experimental plots. The pre-treatment with boiling was of great value as it improved the potential of amylolytic and fibrolytic hydrolysis of biomass derived from macaúba processing in relation to the low content of hydrolysable starch and cellulose that were found in the biomass, the use of these to obtain ethanol may not be the best alternative for its use. As a result of this, future studies of and identification of components present in the watersoluble fractions of both biomasses may be promising for the food industry as a source of amino acids (extruded almond) and soluble fibrous and non-fibrous carbohydrates (macaúba mesocarp).

Keywords: *Acrocomia aculeata*. Chemical composition; Waste. Enzymatic hydrolysis. Biodiesel.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Partes da macaúba. Palmas – TO, 2019.....	13
Figura 2. Fração solúvel total (% MS) identificada na hidrólise amilácea das biomassas AMÊNDOA EXT e CASCA + MESO EXT da Macaúba, com e sem pré tratamento. Palmas – TO, 2019	26
Figura 3. Coeficiente de Hidrólise (% MS) identificada na hidrólise amilácea das biomassas AMÊNDOA EXT e CASCA + MESO EXT da Macaúba, com e sem pré tratamento. Palmas - TO, 2019	27
Figura 4. Fração solúvel total (% MS) identificada na hidrólise fibrolítica das biomassas AMÊNDOA EXT e CASCA + MESO EXT da Macaúba, com e sem pré tratamento. Palmas – TO, 2019	28
Figura 5. Coeficiente de Hidrólise (%MS) identificada na hidrólise dos Carboidratos fibrosos para as biomassas AMÊNDOA EXT e CASCA + MESO EXT da Macaúba, com e sem pré-tratamento. Palmas – TO, 2019	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Frações bromatológicas das biomassas extrusadas da macaúba amêndoa e mesocarpo + casca (proporção 1:1 <i>in natura</i>). Palmas – TO, 2019	24
---	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivos Específicos.....	13
3. REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 A Palmeira.....	14
3.2 O Fruto	14
3.4 Utilização Da Macauba.....	16
3.5 Enzima	17
3.6 Enzimas Amilolíticas	18
3.7 Hidrólise Enzimatica.....	18
4.1 Origem e Caracterização do Material, Local do Experimento e Preparo Das Amostras	19
4.2 Variáveis Estudadas	20
4.3 Tratamentos Experimentais E Delineamento Experimental	20
4.4 Processo De Hidrólise Enzimática Do Amido	21
4.5 Processo De Hidrólise Enzimática Da Parede Celular.....	22
3.6 Análises Estatísticas.....	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1 Composição Bromatológica Dos Resíduos Extrusados Da Macaúba (Amêndoa E Mesocarpo + Casca)	24
5.2 Fração Solúvel Total E Coeficiente De Hidrólise Enzimáticos.....	27
5. CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1. INTRODUÇÃO

A macaúba apresenta o nome científico *Acrocomia aculeata* e é uma palmeira que alcança até 25 metros de altura e possui espinhos longos e pontiagudos. Ela pode ser encontrada em quase todo o Brasil e por isso é também conhecida por outros nomes, como macaúba, mucajá, mocujá, mocajá, macaíba, macaiúva, bacaiúva, bocaiúva, umbocaiúva, imbocaiá, coco-de-catarro ou coco-de-espinho (CERRATINGA, 2019).

A macaúba é indicada como uma das principais matérias-primas para a indústria de biodiesel, por sua alta produtividade, alta combustão e por ser pouco poluente (Teles, 2009). Outro aspecto relevante para a utilização da macaúba na produção de biocombustíveis deve-se ao fato de seu fruto gerar co-produtos muito valorizados. As tortas produzidas a partir do processamento da polpa podem ser aproveitadas na nutrição animal e/ou como adubo (Collares, Ferreira & Cabral, 2009). Outro importante subproduto é o endocarpo, que pode ser utilizado como carvão por apresentar elevado poder calorífico (Boas, Carneiro, Vital, Carvalho & Martins, 2010).

A polpa contém cerca de 45% da composição do fruto (RAMOS et al., 2008) e apresenta a cor amarelo-alaranjado, rico em compostos bioativos e contém em sua composição ácidos graxos, altos níveis de ácido oleico e ácidos palmíticos (HIANE et al., 2005; AMARAL et al., 2011).

O fruto é a parte mais importante da planta, cuja polpa é consumida in natura ou usada para extração de óleo comestível. A amêndoa fornece óleo claro com qualidades semelhantes ao da azeitona. (BHERING, 2017).

O uso em larga escala de produtos e co-produtos da macaúba vem sendo estruturado em função da sua adaptabilidade a diferentes ambientes e alta densidade energética.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Descrever a composição bromatológica e os coeficientes de hidrólise enzimáticos dos resíduos do processamento industrial para extração de óleo (extrusão a frio) de frações do fruto da Macaúba.

2.2 Objetivos Específicos

Caracterizar a composição química e bromatológica dos resíduos da extração de óleo da Macaúba, sendo eles: casca + mesocarpo extrusada (CASCA+MES

O EXT) e amêndoa extrusada (AMÊNDOA EXT);

Avaliar o potencial de hidrólise da fração amilácea do CASCA+MESO EXT e AMÊNDOA EXT;

Avaliar o potencial de hidrólise dos carboidratos fibrosos (celulose e hemicelulose) dos resíduos CASCA+MESO EXT e AMÊNDOA EXT;

Avaliar o potencial para produção de etanol (primeira e segunda geração) dos resíduos CASCA+MESO EXT e AMÊNDOA EXT;

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A Palmeira

A palmeira da macaúba é encontrada em quase todo o Brasil, desde o Pará até São Paulo, Mato Grosso do Sul e Paraná ocorrendo também na Argentina, Bolívia e Paraguai. Pertence à família Palmeira e seu nome científico é *Acrocomia aculeata*. Sua etimologia refere-se a acrocomia, que significa "mecha na altura", e aculeata, espinhenta, pois em geral ela possui espinhos ou acúleos em seu caule (ARISTONE, 2006; SALIS e JURACY, 2005).

Esse coco acabou sendo conhecido por diferentes nomes regionalizados, sendo que algumas variações podem ter surgido devido à questão do sotaque da língua como, macaúba, macaíba, macajuba e macaúva. Além desses nomes, o fruto da *Acrocomia aculeata* também é conhecido como bocaiúva, bacaiuveira, bacaiúva, coco-babão, cocobaboso, coco-de-catarro, coco-deespinho, coco-de-espinha, coco-xodó, imbocaia, macaibeira, macaiá, mocajá, macauveira, macujá, macujazeiro, marcová, mucajá e umbocaiúva (ARISTONE, 2006; BRASIL, 2002).

A palmeira pode ter comprimento de 5 a 20 metros de altura, com caule provido de espinhos duros, escuros e compridos, suas folhas são grandes, alongadas e pinadas e o período de floração é de setembro a janeiro e seu fruto leva de 13 a 14 meses para amadurecer (GOMES, 2007; ARISTONE, 2006).

3.2 O Fruto

Os frutos são drupas globosas esféricas ou ligeiramente achatadas em seus polos, com diâmetro variando de 2,5 a 5,0 cm. O epicarpo (casca) rompe-se facilmente quando maduro. Ao retirar a casca encontra-se o mesocarpo (polpa), que é fibrosa e de cor variando de amarelo claro a laranja escuro, de sabor adocicado, rico em glicerídeos e carotenoides. Essa polpa está firmemente ligada à casca interna, essa muito mais dura que a casca externa. A casca interna, chamada de tegumento, parece com madeira escura (AOQUI, 2012; ARISTONE, 2006).

Há grande variação no tamanho do fruto, na coloração da casca e polpa. Essas diferenças podem estar relacionadas com fatores genéticos, visto que plantas de uma

mesma região, onde clima e solo são os mesmos, apresentam grande diversidade (CICONINI, 2011).

Do fruto de macaúba são extraídos dois tipos de óleos: da polpa e da amêndoa, com características químicas diferentes e economicamente importantes. O óleo de polpa da macaúba concentra 21% ácidos graxos saturados (AGS) correspondendo 15,59% de palmítico e, 79% de ácidos graxos insaturados (AGI) sendo o majoritário o ácido oleico com 73,03%, também apresenta coloração alaranjada devido à presença de carotenoides, contendo uma proporção de ácido graxo monoinsaturado similar ao azeite de oliva. (NUNES, 2013; CICONINI, 2011; HIANE, PENTEADO e BADOLATO, 1990).

O mesocarpo (tecido organizado abaixo do epicarpo e sob o endocarpo, mais conhecido como polpa, com volume médio de 52% do total do fruto) é fibroso, mucilaginoso, de sabor adocicado, rico em carboidratos, de coloração amarelo ou esbranquiçado e comestível. O endocarpo (com volume médio de 31% do total do fruto) é fortemente aderido à polpa, com parede óssea enegrecida e a amêndoa oleaginosa, revestida de fina camada de tegumento. Cada fruto contém, geralmente, uma semente envolvida por endocarpo duro e escuro com aproximadamente 3 mm de espessura. (HIANE et al., 2005). A figura 1 apresenta uma fotografia das partes do fruto macaúba.

Figura 1: Partes da macaúba.



Fonte: <<http://www.google.com.br/imagens>> acessado em: 4 de dezembro de 2019.

3.4 Utilização Da Macauba

A Macaubeira é uma palmeira de ampla distribuição nos biomas brasileiros. Seus frutos apresentam elevada produtividade de óleo e coprodutos a partir do quarto de crescimento da palmeira, com vida útil de exploração superior a 25 anos. O rendimento de óleo para cultivos comerciais supera em 10 vezes o da soja, atualmente, principal fonte de matéria-prima para a produção de biodiesel (EMBRAPA, 2013).

É considerada uma das espécies com maior potencial de exploração econômica imediata, devido à elevada produtividade de óleos e aproveitamento total dos coprodutos, além do sistema de cultivo considerado sustentável do ponto de vista ambiental, social e econômico (CICONINI, 2011).

Segundo Ciconini (2011), esta palmeira pode ser utilizada para diferentes fins, como as folhas na nutrição animal, os frutos para produção de farinhas e óleos, o endocarpo e casca para biomassa e o endocarpo para carvão ativado. Dos frutos de macaúba pode-se extrair o óleo tanto da polpa quanto da amêndoa. Este perfil de ácido graxo está relacionado diretamente com a redução de doenças cardiovasculares e controle de dislipidemias.

O endocarpo pode ser utilizado na fabricação de carvão, em função dos altos teores de lignina, apresentaram maior resistência à decomposição térmica, necessitando de temperaturas mais elevadas para se transformar em carvão e concentrar o carbono em suas estruturas, ou mesmo queimado diretamente. (ARISTONE, 2006; SILVA, BARRICHELO e BRITO, 1996).

Mesmo que seja bastante promissora, a utilização da macaúba, na cadeia produtiva do biodiesel e das indústrias de óleos de uma maneira geral, requer, ainda, uma série de estudos com o objetivo de solucionar gargalos que atualmente inviabilizam o uso imediato dessa oleaginosa para a obtenção de óleos com qualidade adequada ao seu uso posterior (FARIAS, 2010).

Vale lembrar que existe um potencial de exploração da macaúba através do extrativismo que é muito grande. Outra aplicação bastante interessante para os óleos derivados tanto da polpa quanto da castanha na fabricação de biodiesel tem motivado os pesquisadores a desenvolverem pesquisas sobre o assunto e a utilização mais nobre delas

na alimentação humana além da área cosmética (ARISTONE, 2006; SALIS e JURACY, 2005).

Estudos mais detalhados das características de frutos do cerrado são escassos na literatura, sendo necessárias mais pesquisas que determinem a composição em macronutrientes, vitaminas e minerais compostos bioativos, a biodisponibilidade destes nutrientes e a utilização dos frutos no processamento de alimentos com elevado valor agregado (SILVA et al., 2008).

3.5 Enzima

As enzimas são proteínas específicas que catalisam reações químicas em processos biológicos especiais. Segundo Koblitz (2010) as enzimas são catalisadores biológicos que operam em pequena quantidade e podem ser recuperadas, dependendo das condições dos tratamentos aplicados. Agem no sistema metabólico dos seres vivos, na decomposição de matéria orgânica e na deterioração dos alimentos. Ainda, as enzimas aceleram as reações tornando bastantes viáveis alguns processos biotecnológicos (LEHNINGER et al., 2014).

As enzimas de origem microbiana vêm ganhando destaque, tendo em vista sua ampla aplicação na indústria têxtil, alimentícia, farmacêutica e na produção de etanol. As enzimas de origem microbiana possuem algumas vantagens, como menor tempo de produção, maior facilidade de manipulação genética dos microrganismos produtores, alto grau de purificação e maior especificidade e estabilidade nas aplicações industriais (SINGH, 2012).

As enzimas estão envolvidas tanto em processos naturais, como a produção de energia, quanto em processos industriais, como em processamento de nutrientes, na manipulação de medicamentos e na preservação de alimentos. Das inúmeras enzimas conhecidas, a sua maioria tem aplicação industrial, sendo que 75% delas são hidrolases (COURI et al., 2008; SPANAMBERG et al., 2004).

3.6 Enzimas Amilolíticas

As enzimas são denominadas de acordo com o substrato sobre o qual atuam, portanto, o termo amilase indica a ação sobre o amido, que contém dois tipos de polissacarídeos: a amilose (15-20%) e a amilopectina (80-85%) (HARGER, 1982).

As amilases hidrolisam moléculas de amido liberando diversos produtos, incluindo dextrinas e progressivamente pequenos polímeros compostos de unidades de glicose (GUPTA et al 2003 e PANDEY et al 2005). Estas enzimas apresentam grande importância em biotecnologia com aplicações desde alimentos, fermentação, têxtil e indústrias de papel. Atualmente grandes quantidades de amilases microbianas estão disponíveis comercialmente e têm aplicação quase completa na hidrólise do amido em indústrias de processamento do amido.

3.7 Hidrólise Enzimática

A hidrólise enzimática tem sido muito usada pelas indústrias na produção de etanol de amiláceos, por possuir uma das características importantes da catálise enzimática sua especificidade, que é consideravelmente maior do que a catálise química, quanto à reação e ao substrato (TORRES et. al. 2012).

Para a realização da hidrólise do amido pode ser utilizada a hidrólise ácida ou a hidrólise enzimática, contudo dentre esses dois métodos o enzimático vem sendo muito utilizado na produção de etanol de fontes amiláceas.

Para que as culturas amiláceas consigam produzir álcool, é necessário que haja a quebra do amido, processo esse chamado de hidrólise, transformando o amido em açúcar para que ocorra o processo de fermentação e posteriormente a produção de álcool. No processo de hidrólise, além de água, há necessidade de agentes químicos ou enzimáticos capazes de romper as ligações glicosídicas (ZANIN et al., 2000).

Já hidrolise enzimática da parede celular é realizada por enzimas celulasas, compostas por endoglucanases, exoglucanases e β -glicosidasas, as quais agem simultaneamente na conversão da celulose em oligossacarídeos e glicose (YU ET AL.,2015). A reação é conduzida em condições brandas, com pH variando entre 4 e 5 e temperaturas entre 40 e 50 °C. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Origem e Caracterização do Material, Local do Experimento e Preparo Das Amostras

Para realização deste trabalho foram utilizados os resíduos obtidos no processamento industrial da Macaúba para extração de óleo pelo processo de extrusão a frio, realizados pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Cabe salientar que se trata de um trabalho de cooperação técnica entre a UFT e UFV vinculado ao PROCAD Amazônia.

Os resíduos foram obtidos pelo processo de extrusão a frio dos seguintes componentes do fruto da macaúba: a amêndoa (in natura); uma mistura de mesocarpo com a casca do fruto na proporção 1:1 (in natura), gerando assim dois tipos de resíduos extrusados (duas biomassas), denominado neste trabalho por amêndoa extrusada (AMÊNDOA EXT) e mesocarpo + casca extrusados (CASCA+MESO EXT).

A prática de associar ao mesocarpo da macaúba a casca (exocarpo do fruto da macaúba) foi realizada como alternativa para que a extrusora da indústria conseguisse retirar o óleo do mesocarpo, não sendo possível seu processamento isoladamente com o equipamento (extrusora) atual da indústria da UFV.

Uma vez obtidas as biomassas, estas foram levadas ao laboratório de Análise de Solo e Resíduos Agroindustriais (LASOR) da Universidade Federal do Tocantins (UFT) vinculado ao Mestrado em Agroenergia em Palmas – TO, onde as análises laboratoriais foram realizadas.

Os resíduos extrusados foram submetidos à secagem em estufa com circulação forçada de ar a 55 °C por 72 horas. Após a secagem do material em estufa ocorreu o processo de moagem utilizando moinho de facas acoplado com peneira de 1 mm.

4.2 Variáveis Estudadas

As variáveis estudadas neste trabalho podem ser divididas em dois grupos:

Variáveis quantitativas e descritivas da composição química e bromatológica das biomassas. Foram obtidas pelos procedimentos analíticos descritos por Silva & Queiroz (2012) sendo eles:

Caracterização das frações bromatológicas de Weende: matéria seca (MS, %); proteína bruta (PB, %MS); extrato etéreo (EE, %MS); fibra bruta (FB, %MS); matéria mineral (MM, %MS) e extrativo não nitrogenado (ENN, %MS) obtido por diferença $[100\%MS - (PB+EE+FB+MM)]$; amido hidrolisável (%MS)

Caracterização da Parede celular dos Resíduos extrusados: fibra em detergente neutro (FDN, %MS); fibra em detergente ácido (FDA, %MS); Hemicelulose (HEM, %MS) obtida pela diferença entre FDN e FDA; Lignina (%MS); Celulose (CEL, %MS);

Variáveis quantitativas do ensaio experimental, utilizadas para a comparação entre os efeitos dos tratamentos experimentais, sendo elas:

Fração solúvel total (FST, % MS) que representa a fração hidrossolúvel associada aos componentes enzimaticamente hidrolisados nas amostras;

Coefficientes de hidrólise para as frações amilácea (CH amido) e coeficiente de hidrólise dos carboidratos fibrosos, celulose e hemicelulose (CHcf);

4.3 Tratamentos Experimentais E Delineamento Experimental

O presente trabalho objetivou além da descrição quantitativa da composição química bromatológica das biomassas da macaúba *in natura*, estudar também o potencial de geração de etanol a partir dos carboidratos fibrosos (celulose) e não fibrosos (amido) de cada biomassa.

Entretanto, devido ao alto conteúdo de óleo observado nos materiais extrusados, a fervura prévia das amostras por 1h como método de pré-tratamento antes das hidrólises (amilácea ou fibrolítica), foi considerada como alternativa para separar o óleo das biomassas e otimizar a hidrólise.

A fervura pode ser uma alternativa industrial para a separação do óleo da biomassa, sendo de fácil aplicação e não demanda utilização de produtos químicos, o que poderia inviabilizar a utilização das frações solúveis resultantes desse processamento para alimentação humana e/ou animal.

Assim, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2x2, sendo dois resíduos extrusados da macaúba (AMÊNDOA EXT e CASCA+MESO EXT) e dois pré-tratamentos (com e sem fervura) antes das hidrólises enzimáticas do amido e da parede celular, resultando assim em quatro tratamentos sendo cinco repetições por tratamento, totalizando 20 parcelas experimentais.

4.4 Processo De Hidrólise Enzimática Do Amido

A hidrólise enzimática do amido tem por finalidade liberar glicose livre para posterior fermentação etílica. Entretanto, há que se considerar que nem todo amido hidrolisado resulta em glicose, parte pode estar solúvel na forma de dissacarídeos como a maltose.

Para a realização da hidrólise do amido, foram pesadas 1g de amostra de cada tratamento (seca e moída), sendo posteriormente acondicionada em tubo de ensaio de 100 mL. A este tubo foi adicionado 20 mL de água destilada com pH ajustado para 5, e então as amostras submetidas ao pré-tratamento ficaram sob fervura por 30 minutos antes da adição das enzimas (α -amilase e amiloglucosidade).

Após a fervura e resfriamento as amostras submetidas ao pré-tratamento, completou-se o volume de cada tubo para 20 mL e então foi acrescentada a todos os tratamentos a enzima α -amilase (Liquozyme® Supra 2.2x) na concentração de 30 μ l/g de amostra e posteriormente levadas ao banho-Maria (NOVOZYMES, 2002).

Nesta etapa do processo os tubos de ensaios, foram acondicionados ao banho-Maria Dubnoff – SL 157 (SOLAB).O equipamento teve a temperatura ajustado para 90°C gradualmente a uma rotação de 180 rpm/min durante 1 h. Após esta etapa o meio foi resfriado até 60°C e nesta temperatura foi adicionada a enzima sacarificante amiloglucosidade (AMG 300L) na concentração 40 μ l/g de amostra, onde ficou em processo por mais 1 hora (NOVOZYMES, 2002).

A metodologia descrita acima foi adaptada e fundamentada segundo

informações do fabricante (NOVOZYMES, 2002).

Após o término da hidrólise o material foi filtrado com ajuda de uma bomba de vácuo (200 watts), ajustado ao funil de Büchner no qual estava acoplado ao Kitassato (2000 ml), utilizou-se papel filtro de peso conhecido, foi medido o volume final da solução com auxílio de uma proveta (100 ml). Após as filtrações, a fração líquida foi armazenado em tubos Falcons de 15 ml e a mostra retida nos papéis filtros foram colocados na bandeja e levadas para estufa a 50 °C por 24 horas. Sendo posteriormente pesada a fim de se obter o peso final pós-hidrólise.

Assim o coeficiente de hidrólise do amido foi obtido pela equação 01:

$$\text{CH amido (\% MS)} = \frac{\text{Pf} - \text{Pi}}{\text{Pi}} \times 100 \quad \text{Equação 01}$$

Onde:

CH amido = Coeficiente de hidrólise do amido, expresso % MS;

Pf = Peso da amostra final;

Pi = Peso da amostra inicial;

Como a quantificação do amido contido nas amostras foi realizada via hidrólise enzimática, não sendo possível neste ensaio, fazer inferência do percentual do amido total que foi hidrolisável, pois pode haver mais amido na amostra que a fração hidrolisável quantificada. Para tanto, outras técnicas de quantificação de amido devem ser consideradas.

4.5 Processo De Hidrólise Enzimática Da Parede Celular

A hidrólise enzimática da parede celular também tem por finalidade liberar glicose livre para posterior fermentação etílica, assim como citado para o amido. Entretanto, há que se considerar que nem toda parede celular será hidrolisada, e parte pode resultar em glicose livre, parte pode estar solúvel na forma de dissacarídeos como a celubiose.

Há de se considerar ainda que a parede celular vegetal apresenta dois carboidratos, a celulose e a hemicelulose. O primeiro é constituído de um polímero de glicose em ligações tipo β , sendo a hemicelulose constituída por polímeros de pentoses. Assim, o

complexo enzimático Cellic CTec2 batelada VCNI0013 da empresa Novozymes apresenta a capacidade de hidrolisar ambos os carboidratos.

Para a realização da hidrólise da parede celular, foram pesadas 0,83g de amostra de cada tratamento (seca e moída), sendo posteriormente acondicionada em Erlenmeyer de 125 mL. A este erlenmeyer foi adicionado 40 mL de água destilada com pH ajustado para 5, e então as amostras submetidas ao pré-tratamento ficaram sob fervura por 30 minutos antes da adição do complexo enzimático Cellic CTec2.

Após a fervura e resfriamento das amostras, acrescentou-se 50 µl/g de amostra da Cellic CTec2 tanto nas amostras fervidas como, nas que não fervidas.

Logo em seguida as amostras foram encaminhadas para a mesa agitadora modelo Solab a 48 °C, agitação de 150 rpm, durante 72 horas (NOVOZYMES, 2015).

Após o término da hidrólise o material foi filtrado com ajuda de uma bomba de vácuo (200 watts), ajustado ao funil de Büchner no qual estava acoplado ao Kitassato (2000 ml), utilizou-se papel filtro de peso conhecido, foi medido o volume final da solução com auxílio de uma proveta (100 ml). Após as filtrações, a fração líquida foi armazenado em tubos Falcons de 15 ml e a mostra retida nos papéis filtros foram colocados na bandeja e levadas para estufa a 50 °C por 24 horas. Sendo posteriormente pesada a fim de se obter o peso final pós-hidrólise.

Assim o coeficiente de hidrólise dos carboidratos fibrosos foi obtido pela equação 02 e 03:

$$CHcf (\% MS) = \frac{Pf - Pi}{Pi} \times 100 \quad \text{Equação 02}$$

$$CHcf (\%) = \frac{CHcf}{CEL + HEM} \times 100 \quad \text{Equação 03}$$

Onde:

Pf = Peso da amostra final;

Pi = Peso da amostra inicial;

CHcf = Coeficiente de hidrólise da carboidratos fibrosos, expresso % MS;

CEL = Teor celulose, expresso % MS;

HEM = Teor hemicelulose, expresso % MS;

Tanto na hidrólise enzimática do amido como dos carboidratos fibrosos foram utilizados tubos considerados como branco (sem adição das enzimas), a fim de permitir quantificar as frações solúveis sem o efeito hidrolítico das enzimas.

3.6 Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk previamente a análise de variância para a normalização deles se necessário, posteriormente foram submetidos a análise de variância pelo teste F a 5% de significância. As médias dos tratamentos foram comparadas entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de significância. A escolha do teste Scott-Knott s deve por apresentar vantagens em relação aos demais testes de comparação múltipla de médias, a saber: poder elevado, taxas de erro tipo I quase sempre de acordo com os níveis nominais, por ser robusto à violação da normalidade e por não apresentar ambiguidade dos resultados (Danner & Sasso, 2019). As análises estatísticas foram realizadas pelo software SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição Bromatológica Dos Resíduos Extrusados Da Macaúba (Amêndoa E Mesocarpo + Casca)

Inicialmente, foram realizadas análises da composição química e bromatológica dos resíduos da extrusão para obtenção de óleo de macaúba obtidos a partir da amêndoa (AMÊNDOA EXT) e da mistura mesocapo + casca (CASCA+MESO EXT) na proporção peso *in natura* 1:1. A partir destas determinações pôde-se planejar a sequência experimental deste trabalho para hidrólise do amido e das frações fibrosas (celulose e hemicelulose). Os resultados analíticos são apresentados na tabela 1 a seguir.

Tabela 1. Frações bromatológicas das biomassas extrusadas da macaúba amêndoa e mesocarpo + casca (proporção 1:1 *in natura*).

Determinações	CASCA+MESO EXT (1:1)	AMÊNDOA EXT
Matéria Seca (%)	96,83	95,38
Umidade (%)	3,17	4,62
Proteína Bruta (% MS)	4,25	30,38
Extrato Etéreo (% MS)	18,38	17,25
Matéria Mineral (% MS)	3,73	4,73
Fibra Bruta (% MS)	18,56	15,41
Extrativo não nitrogenado (% MS)	47,24	16,64
Amido hidrolisável (%MS)	6,17	0,48
FDN (% MS)	26,40	31,0
FDA (% MS)	18,80	22,15
Celulose (%MS)	2,70	8,63
Hemicelulose (% MS)	7,6	8,85
Lignina (% MS)	16,1	13,52

Resultados obtidos através de análises realizadas no laboratório LASOR – UFT.

A partir dos resultados da tabela 1 pode-se constatar que ainda há uma quantidade de óleo residual após a extrusão em ambas as biomassas estudadas, correspondendo a 18,38 %MS e 17,25 %MS para o CASCA+MESO EXT e AMÊNDOA EXT, respectivamente. Este teor de óleo residual pode ser um fator limitante para a ação enzimática tanto amilolítica quanto fibrolítica desejada. Assim, a partir destes resultados, foi idealizado um pré-tratamento para as biomassas para separação do óleo e facilitar a ação enzimática. Ainda se levou em consideração que o pré-tratamento deveria ser de fácil aplicação pela indústria e que não demandasse a utilização de solventes orgânicos. Tais premissas poderiam permitir um eventual estudo de utilização do resíduo extrusado em uma etapa subsequente ao pré-tratamento para a alimentação humana ou animal, bem como a recuperação e utilização das frações solubilizadas nesta etapa.

Em um estudo sobre a eficiência de extração de óleo do mesocarpo da macaúba por extrusão a frio Cardoso et al. (1999) reportou melhoria na eficiência do processo quando foi utilizada a adição do complexo enzimático Clorex[®] e CEC1-CTAA (pectinases).

Os frutos de macaúba são reconhecidamente ricos em óleos quando maduros (CARGNIN et al., 2008; CETEC, 1983; MONTOYA, 2013). A síntese e o acúmulo de óleo nos tecidos de reserva estão intimamente vinculados à disponibilidade de reservas

polissacarídeos (FRANÇA et al., 1999). Montoya (2013) estudando os frutos da macaúba reportou ser possível que o amido acumulado seja a matéria-prima necessária ao processo de síntese de óleo, uma vez que a redução no teor de amido coincidiu temporalmente com o aumento no teor de óleo do mesocarpo.

Outra característica marcante observada foi que a amêndoa extrusada apresentou elevado teor proteico o que pode ser um forte indicador para a investigação de outras destinações mais nobres para este resíduo da macaúba. O teor proteico da CASCA+MESO EXT foi pequeno, porém, esta biomassa apresentou elevado teor de extrativo não nitrogenado (ENN) o que inicialmente foi motivador para investigação da hidrólise amilácea, entretanto, posteriormente com o desenvolvimento do estudo verificou-se que apenas 6,17 % MS foi amido efetivamente hidrolisável. Este resultado nos leva a sugerir talvez uma grande participação da fração pectina no ENN o que deve ser objeto de investigação em estudos futuros.

O amido é uma molécula densa e pouco solúvel. Por esse motivo, deve ser quebrada em moléculas menores e moveis, as quais serão utilizadas no processo de amadurecimento do fruto. Contudo, cada fruto responde a diferentes processos bioquímicos na fase de amadurecimento (MONTTOYA, 2013). Frutos que acumulam óleo em sua polpa, como o abacate podem apresentar acúmulo de amido inexpressivo, enquanto açúcares redutores e açúcares não redutores apresentam um padrão crescente (FRANÇA et al, 1999). Talvez esta seja a explicação para o reduzido teor de amido hidrolisável encontrado na CASCA+MESO EXT.

Quanto a fração fibrosa (FDN), ambos os materiais apresentaram níveis consideráveis de FDN, também sugerindo aí uma possibilidade de hidrólise enzimática da fibra para geração de etanol de segunda geração. Entretanto, devido aos elevados conteúdos de lignina observados, 16,1% e 13,52% para CASCA+MESO EXT e AMÊNDOA EXT respectivamente, os teores de celulose na parede celular assumiram valores modestos, podendo ser um limitador para a produção de etanol de segunda geração. REVELLO (2014) reportou teores de lignina para o farelo da amêndoa da macaúba e farelo do mesocarpo sem a casca (epicarpo) de 20,44% e 2,65% respectivamente. Assim, para a amêndoa o valor citado está acima do presente trabalho, porém havendo discrepância com o presente trabalho uma vez que a epicarpo (isoladamente) segundo o mesmo autor apresentou 6,57% de lignina, o que resultaria em

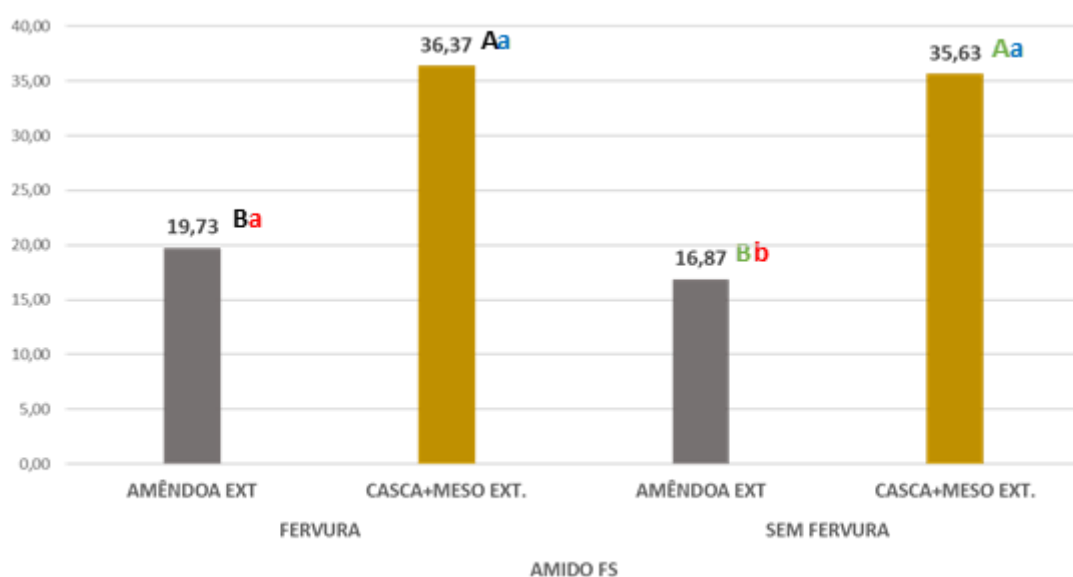
um teor bem abaixo do encontrado no presente trabalho. Talvez a variabilidade nos parâmetros encontrados seja influenciada pela variabilidade genética das populações de Macaúba, conforme citado por Ciconini (2012).

5.2 Fração Solúvel Total E Coeficiente De Hidrólise Enzimáticos

Entende-se por fração solúvel total das biomassas com sendo a fração solubilizada total em água mais a fração enzimaticamente hidrolisada para cada uma das hidrólises estudadas (amilolítica e fibrolítica). Neste sentido, para se isolar o efeito da hidrólise enzimática foram realizadas provas com um “branco” (sem enzima), de forma que a ação de solubilização de compostos hidrossolúveis fosse descontada.

Na figura 1 são apresentados os resultados das frações solúveis totais para ambas as biomassas em ambos os pré-tratamentos. Foi observada para essa variável efeito significativo da interação ($P < 0,05$) o que implica dizer que o pré-tratamento (fervura) influenciou de forma diferente a fração solúvel total entre as duas biomassas. Neste sentido o pré-tratamento não influenciou a fração solúvel total da CASCA+MESO EXT enquanto foi observada diferença nesta variável para a AMÊNDOA EXT, sendo que a fervura aumentou a fração solúvel da amêndoa extrusada quando comparada a não pré-tratada.

Figura 2. Fração solúvel total (% MS) identificada na hidrólise amilácea das biomassas AMÊNDOA EXT e CASCA + MESO EXT da Macaúba, com e sem pré-tratamento.

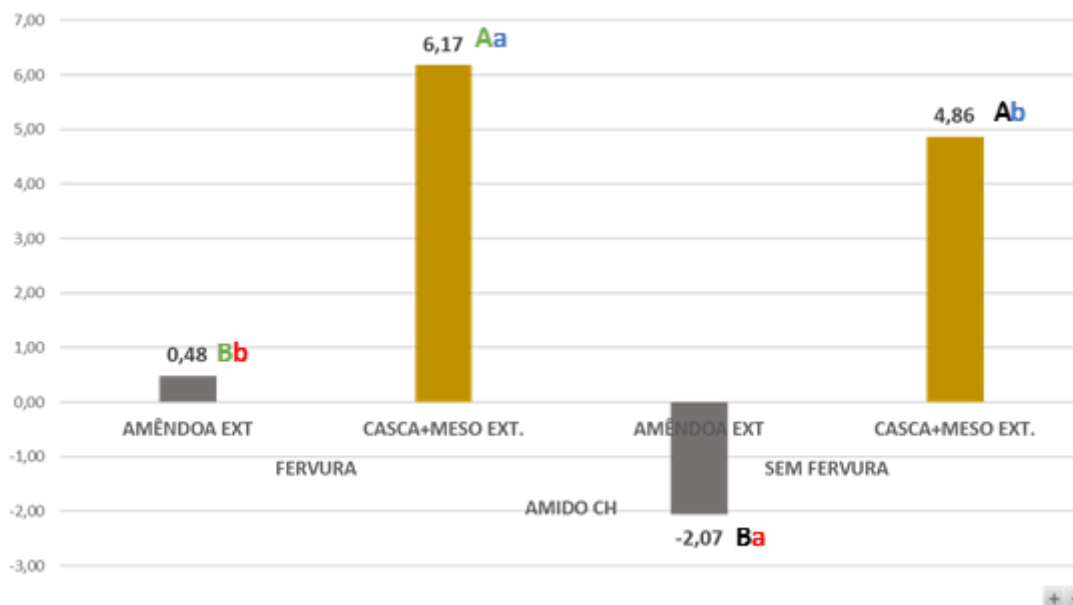


Médias seguidas de mesma letra “maiúscula” (comparam biomassas dentro de cada pré-tratamento) e “minúscula” (comparam pré-tratamentos dentro de cada biomassa) não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste Scott-Knott. CV (%): 3,56

Cabe ressaltar a expressividade das frações solúveis observada em ambas as biomassas. Pelo fato deste estudo ter focado estimar a glicose livre na fração solúvel, sugere-se em ensaios futuros que outros componentes solúveis sejam investigados, como aminoácidos livres e demais açúcares solúveis como maltose, frutose e celubiose.

Conforme já mencionado anteriormente, foi isolando o efeito da solubilização da água do efeito hidrolítico enzimático obteve-se o coeficiente de hidrólise para a fração amilácea e dos carboidratos fibrosos. Assim na figura 2 o coeficiente de hidrólise do amido (expresso em %) está apresentado para cada biomassa e pré-tratamentos estudados. Novamente neste caso, foi observada interação significativa ($P < 0,05$) para este parâmetro, mesmo tendo sido verificado um coeficiente de variação elevado. Ficou evidente que a fervura prévia à hidrólise exerceu efeito positivo em ambas as biomassas, porém, foi observado efeito negativo no coeficiente de hidrólise da AMÊNDOA EXT não pré-tratada, sugerindo ter ocorrido precipitação de material em suspensão com a adição das enzimas amilolíticas neste caso. Outro fator que pode ter colaborado para este índice foi que a concentração de amido na amêndoa extrusada é extremamente baixo, sendo qualquer outra variação não muito significativa frente ao que a enzima poderia mostrar em uma metodologia gravimétrica como a aplicada neste estudo. Para a CASCA+MESO EXT o teor de 6,17 % significa a fração de amido hidrolisável podendo não representar a totalidade de amido desta biomassa. Diante destes resultados, observou-se que para a hidrólise do amido em ambas as biomassas a fervura prévia à hidrólise exerceu efeito positivo sobre variável.

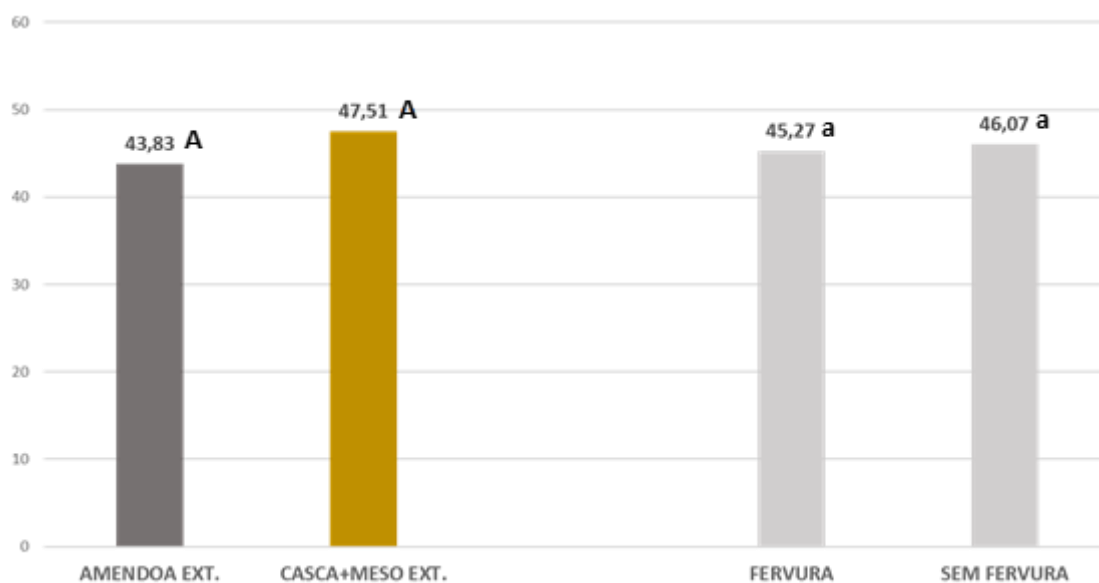
Figura 3. Coeficiente de Hidrólise (% MS) identificada na hidrólise amilácea das biomassas AMÊNDOA EXT e CASCA + MESO EXT da Macaúba, com e sem pré-tratamento.



Médias seguidas de mesma letra “maiúscula” (comparam biomassas dentro de cada pré-tratamento) e “minúscula” (comparam pré-tratamentos dentro de cada biomassa) não diferem entre si ($P > 0,05$) pelo teste Scott-Knott. CV (%): 40,93

Para a fração solúvel total observada na metodologia de hidrólise enzimática dos carboidratos fibrosos (celulose e hemicelulose), não foi observada interação significativa entre os fatores experimentais ($P > 0,05$). Assim, a figura 3 apresenta as comparações de médias entre os fatores apenas. Para esta variável não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) entre biomassas e pré-tratamentos. Os valores da FST mais elevados em relação aos observados na metodologia da hidrólise do amido possivelmente decorre do maior tempo de reação da hidrólise e da proporção soluto solvente serem diferentes entre as metodologias. Entretanto, deve-se salientar que também na hidrólise da fibra a fração solúvel total foi muito expressiva em porcentagem da matéria seca, sugerindo ser uma fonte de estudo interessante quanto a sua composição.

Figura 4. Fração solúvel total (% MS) identificada na hidrólise fibrolítica das biomassas AMÊNDOA EXT e CASCA + MESO EXT da Macaúba, com e sem pré-tratamento.

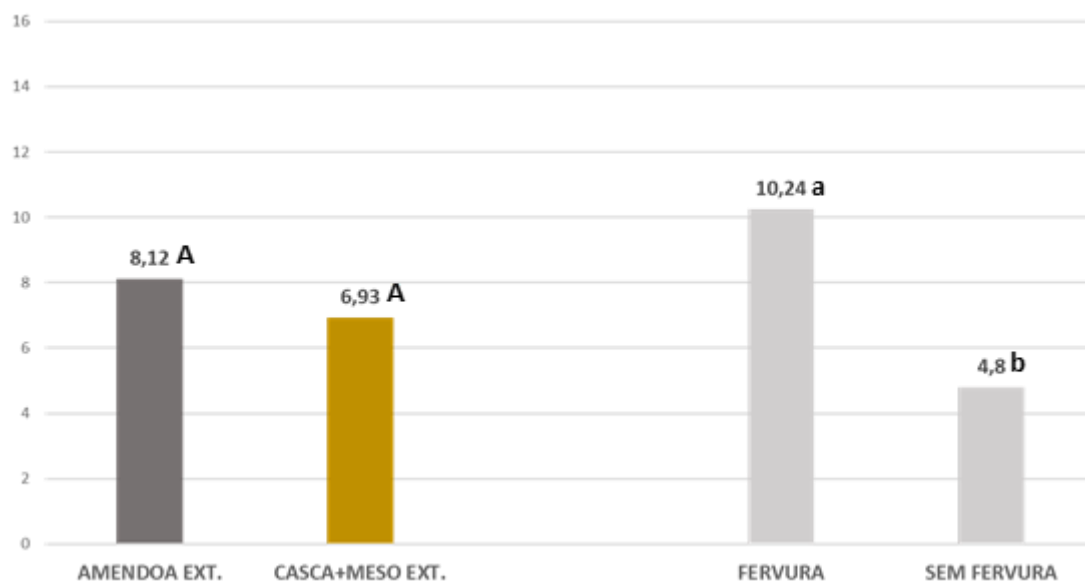


Médias seguidas de mesma letra “maiúscula” (comparam biomassas) e “minúscula” (comparam pré-tratamentos) não diferem entre si ($P>0,05$) pelo teste Scott-Knott. CV (%): 7,11

Conforme mencionado anteriormente, foi isolando o efeito da solubilização da água do efeito hidrolítico enzimático obteve-se o coeficiente de hidrólise para a fração dos carboidratos fibrosos celulose e hemicelulose.

A figura 4 apresenta o coeficiente de hidrólise (% MS) observado na hidrólise dos carboidratos fibrosos para a amêndoa extrusada (AMÊNDOA EXT) e casca + mesocarpo extrusados (CASCA + MESO EXT). Também neste caso não foi observada interação significativa ($P>0,05$) entre os fatores, sendo apresentado na figura 4 a comparação das médias entre os fatores experimentais. Fica evidente que para o coeficiente de hidrólise dos carboidratos houve apenas diferenças entre os pré-tratamentos independente das biomassas, uma possível explicação pode ser pelo efeito que a pré-tratamento (fervura) teve em separar das biomassas a fração oleosa do material, permitindo assim maior contato das enzimas com os substratos alvo, uma vez que ambas apresentaram teores semelhantes de extrativo não nitrogenado (vide Tabela 1).

Figura 5. Coeficiente de Hidrólise (%MS) identificada na hidrólise dos carboidratos fibrosos para as biomassas AMÊNDOA EXT e CASCA + MESO EXT da Macaúba, com e sem pré-tratamento.



Médias seguidas de mesma letra “maiúscula” (comparam biomassas) e “minúscula” (comparam pré-tratamentos) não diferem entre si ($P>0,05$) pelo teste Scott-Knott. CV (%): 43,32

Considerando que a soma das frações de celulose e hemicelulose da AMÊNDOA EXT e CASCA+MESO EXT correspondem a 17,48 %MS e 10,30 %MS respectivamente (ver tabela 1). Assim, a fração relativa de carboidratos fibrosos hidrolisados correspondeu a 46,94% para a AMÊNDOA EXT e 67,28% para a CASCA+MESO EXT.

5. CONCLUSÃO

Conclui-se, que o pré-tratamento foi efetivo em melhorar o potencial de hidrólise amilolítica e fibrolítica de ambas as biomassas derivadas do processamento da Macaúba.

A casca associada ao mesocarpo da Macaúba (proporção 1:1, *in natura*) apresentou maior coeficiente de hidrólise para o amido que a amêndoa extrusada, quando expresso em % da matéria seca.

Em função dos reduzidos teores de amido e celulose hidrolisáveis encontrados em ambas as biomassas, a utilização delas para a obtenção de etanol pode não ser a melhor alternativa para seu aproveitamento.

Sugere-se como foco de pesquisas futuras o estudo de técnicas para melhoria da extração de óleo por extrusão a frio, buscando diminuir os teores de óleo residual nas biomassas. Também parece promissor o estudo e identificação dos componentes presentes nas frações hidrossolúveis de ambas as biomassas. Podendo ser uma alternativa para a indústria de alimentos como fonte de aminoácidos (amêndoa extrusada) e de carboidratos fibroso e não fibrosos solúveis (mesocarpo da macaúba).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, F.P. et al. Extração e caracterização qualitativa do óleo da polpa e amêndoas de frutos de Macaúba *Acrocomia aculeata* coletada na região de Botucatu – SP. **Revista Energia na Agricultura**, v.26, p.12-20, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.17224/EnergAgric.2011v26n1p12-20>>. Acessado: 09/12/2019
- ANDRIETTA, M. G. S.; STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, S. R. Bioetanol - Brasil, 30 anos na vanguarda. *MultiCiência: Revista Multidisciplinar dos Centros e Núcleos da Unicamp. Construindo a História dos Produtos Naturais*, n. 7, out. 2006.
- ARAÚJO, C. R. de et al. Estudo das rotas de hidrólise química e biológica para a produção de etanol de segunda geração a partir de resíduos lignocelulósicos. *Revista Eletrônica SEPA - Seminário Estudantil de Produção Acadêmica, UNIFACS*, v. 12, 2013.
- ARISTONE, F (Ed.). Como fazer farinha de bocaiúva: guia completo e livro de receitas. 41 Manual didático. 2006.
- BHERING, L. **Macaúba: matéria-prima nativa com potencial para a produção de biodiesel**. Pesquisador da Embrapa Agroenergia, Brasília – DF. 2017.
- CARDOSO, M. H.; MENEZES, H. C.; JACKIX, M. N. H.; GONÇALVES, E. B. Efeito dos Complexos Enzimáticos clarificantes CLAREX e CEC1-CTAA sobre a Qualidade do suco de Banana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v.34, n.5, p.849-854, 1999.
- CARGNIN, A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FOGACA, C. M.; COSTA, C. J.; PIMENTA DE AGUIAR, L. (2008). Potencial da Macaubeira como Fonte de Matéria prima para Produção de Biodiesel; Documentos 217, Embrapa Cerrados, Planaltina, Brazil.
- CARVALHO, L. C. et al. Cana-de-açúcar e álcool combustível: histórico, sustentabilidade e segurança energética. *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, Centro Científico Conhecer -Goiânia, v.9, N.16; p. 530, 2013.
- CERRATINGA. **Macaúba**. Disponível em: <http://www.cerratinga.org.br/macauaba/>. Acessado: 09/12/2019.
- CETEC-Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais (1983). **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos Vegetais**. Volume 1: Estudo das oleaginosas nativas de Minas Gerais Relatório final de projeto Convênio STI-MIC / Governo do Estado de Minas Gerais / Secretaria de Estado de Ciência Tecnologia.
- CICONINI, G. Caracterização de Frutos e Óleo de Macaúba dos biomas Cerrado e Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. 2012. 127 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande - MS.
- CICONINI, G. **Caracterização de frutos e óleo de polpa de macaúba dos biomas Cerrado e Pantanal do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil**. 2011. 128 f.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, 2011.

COURI, S.; PARK, Y.; PASTORE, G.; DOMINGOS, A. Enzimas na produção de alimentos e bebidas. In: BON, E. P. S.; FERRARA, M. A. A.; CORVO, M. L. (Eds.). *Enzimas em Biotecnologia: produção, aplicações e mercado*. Rio de Janeiro: Interciência, 2008. p. 153- 178.

DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z. Erros tipo I e tipo II e testes de comparação múltipla de médias. **Artigo** Disponível em: <<https://docplayer.com.br/9774185-Erros-tipo-i-e-tipo-ii-e-testes-de-comparacao-multipla-de-medias-moeses-andrigo-danner-e-simone-aparecida-zolet-sasso.html>>. Acesso em: 10 DEZ. 2019. Telefone lab autor: (46)3220-2545 está na Argentina, volta 16dez2019.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. Aproveitamento de espécies nativas e seus coprodutos no contexto de biorrefinaria. Brasília, DF, 37p, 2013.

FARIAS, T. M. **Biometria e processamento dos frutos da macaúba (*Acromia sp*) para a produção de óleos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FINGUERUT, J.; LEIMER, K. H.; LUCREDI, H. A.; ROSSELL, C. E. V. **Estequiometria da fermentação alcoólica a partir do caldo de cana**. Piracicaba: Copersucar, n. 12, p. 45-48, 1985 (Boletim Técnico Copersucar 35/85).

FRANÇA, L. F.; REBER, G.; MEIRELES, A.; MACHADO, N.; BRUNNER, G. (1999). **Journal of Supercritical Fluids** **14** 247–256 Supercritical extraction of carotenoids and lipids from buriti (*Mauritia flexuosa*), a fruit from the Amazon region.

GUPTA, R.; MOHAPATRA, H. ; GOSWAMI, V.K. ; CHAUHAN, B. Microbial α Amylases: a Biotechnological Perspective. *Process Biochemistry*. Jan. 2003. p. 1-18. Disponível em: Acesso em 08 Dez. 2003.

HARGER, C. ; SPRADA, D. ; HIRATSUKA, E. Amilase Fúngica. In: *Bioquímica das Fermentações*, 1982. 56 p.

HIANE, P. A.; PENTEADO, M. V. C.; BADOLATO, E. Teores de ácidos graxos e composição centesimal do fruto e da farinha da bocaiúva (*Acrocomia makayáyba* Barb. Rodr.). *Alim. Nutr.*, v.2, 1990.

MILANEZ, A. Y. et al. De promessa a realidade: como o etanol celulósico pode revolucionar a indústria da cana-de-açúcar - uma avaliação do potencial competitivo e sugestões de política pública. *BNDES Setorial*, n. 41, 2015.

MONTOYA, S. G. Caracterização do desenvolvimento do fruto da Palmeira Macaúba. 2013. 51 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa - MG.

NOVOZYMES, Novozymes Cellic® CTec2 and HTec2 - Enzymes for hydrolysis of lignocellulosic. 2015. Disponível em :<www.bioenergy.novozymes.com>. Acesso em: 17 jan. 2019.

NOVOZYMES. Ficha de Informação do produto: Liquozyme Supra 2.2x. Araucaria – PR, 2015. Disponível em < <https://www.novozymes.com/pt> > Acesso em: 08 dez. 2019

NOVOZYMES. Ficha técnica: AMG 300L. 2002. Disponível em:<<https://www.emporiadolupulo.com.br/upload/download/index/upload/34/>>. Acesso em: 08 dez. 2019.

NUNES, Â. A. **Óleo da polpa de macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.) com alta qualidade: processo de refino e termoestabilidade.** 2013. 126f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Católica Dom Bosco. Campo Grande, 2013.

PANDEY, A. Aspects of Fermenter Design for Solid State Fermentation. *Process Biochemistry*. v. 26, 1991. p. 335-361.

PEREIRA, D. G. S. Rendimentos da hidrólise enzimática e fermentação alcoólica de capim-elefante, capim-andropogon, capim-mombaça e bagaço de cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração. 2013. 52 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, 2013.

RAMOS, M.I.L. et al. Qualidade nutricional da polpa de bocaiúva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, p.90-94, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612008000500015>>. Acessado: 09/12/2019.

REVELLO, C. C. P. Avaliação do Valor Nutricional de Resíduos do Processamento da Macaúba (*Acrocomia aculeata*). E de seus subprodutos de bioconversão. 2014. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados – MS.

SALIS, S. M.; JURACY, A. R. M. A utilização da bocaiúva no Pantanal. Corumbá, n. 81, p.1-2, **Embrapa Pantanal**, jun. 2005.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos:** métodos químicos e biológicos. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2012. 235p.

SILVA, J. C.; BARRICHELO, L. E. G.; BRITO, J. O. Endocarpos de babaçu e de macaúba comparados à madeira de *Eucalyptus grandis* para a produção de carvão vegetal. IPEF, n.34, dez. 1986.

SILVA, M. R.; LACERDA, D. B. C. L.; SANTOS, G. G.; MARTINS, D. M. O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Revista Ciência Rural**. v.38, n.6. Santa Maria, set. 2008.

SINGH, A, K; MUKHOPADHYAY, M. Overatividade celulásica og fungal lipase: a revatividade celulásicaw. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 166 (2): 486-520,2012.

TORRES, L. M.; LEONEL, M.; MISCHAN, M. M. Concentração de enzimas amilolíticas na hidrólise do amido de gengibre. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 7, p. 1327-1332, 2012.

YU, X Et al. **Measurement of filter paper activities of cellulase with microplate-based assay**. *Saudi Journal of biological Sciences*, v. 23,n. 1, p.S93-S98,2015.