

## HIDRÓLISE DE FOLHAS E TALOS DO CULTIVO DE OLIVEIRAS

FABIELE SCHAEFER RODRIGUES<sup>1</sup>, MYLENA GONÇALVES ANCHIETA<sup>2</sup>,  
LISSARA POLANO ODY<sup>3</sup>, ESTÊVÃO SANTOS LAUREANO DA CUNHA<sup>4</sup>,  
MARCUS VINÍCIUS TRES<sup>5</sup>, GIOVANI LEONE ZABOT<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Mestranda em Engenharia Agrícola, UFSM, Santa Maria, (55) 3220-3325, fabielesrodrigues@hotmail.com

<sup>2</sup> Mestranda em Engenharia Agrícola UFSM, Santa Maria, (55) 981034262, mylenaanchieta@gmail.com

<sup>3</sup> Mestranda em Engenharia Agrícola UFSM, Santa Maria, (55) 996594984, lissaraody@yahoo.com.br

<sup>4</sup> Graduando em Engenharia Mecânica, UFSM, Cachoeira do Sul, (51) 999830907, estevao.sl@gmail.com

<sup>5</sup> Prof. Dr. UFSM, Cachoeira do Sul, (51) 3724-8417, marcus.tres@ufsm.br

<sup>6</sup> Prof. Dr. UFSM, Cachoeira do Sul, (51) 3724-8419, giovani.zabot@ufsm.br

Apresentado no  
XLIX Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola - CONBEA 2020  
23 a 25 de novembro de 2020 - Congresso On-line

**RESUMO:** Dentre alguns processos utilizados como pré-tratamento da biomassa, a hidrólise subcrítica surge como uma importante alternativa. Diante disso, o principal objetivo deste trabalho foi aplicar o método de hidrólise subcrítica para obter açúcares fermentescíveis a partir de folhas e talos do cultivo de oliveiras. A caracterização da biomassa envolveu a determinação de cinzas, diâmetro médio e extrativos totais. Após isso, ocorreu o processo de hidrólise subcrítica em temperaturas de 180 °C e 220 °C e vazões de 10mL/min e 20mL/min. A determinação dos açúcares redutores foi realizada pelo método do ácido dinitrosalicílico. Para a análise de açúcares, a quantificação de xilose, glicose, celobiose e arabinose foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência. No processo de hidrólise subcrítica, temperaturas menores de reação são eficientes quando se usam vazões menores, atingindo aproximadamente 31 g/L de açúcares redutores em 3min de reação. Quando o processo de hidrólise envolve temperaturas superiores, a vazão não se apresenta como um fator determinante para os resultados devido ao fato da influência da temperatura se sobrepôr à vazão. Glicose foi o principal monossacarídeo identificado no meio hidrolisado.

**PALAVRAS-CHAVE:** oliveiras; hidrólise subcrítica; açúcares redutores.

## HYDROLYSIS OF LEAVES AND STALKS FROM OLIVE CULTIVATION

**ABSTRACT:** Among some processes used as pre-treatment of biomass, subcritical hydrolysis is an important alternative. Therefore, the main objective of this work was to apply subcritical hydrolysis to obtain fermentable sugars from leaves and stalks of olive cultivation. The characterization of biomass involved the determination of ash, average diameter and total extracts. Subcritical hydrolysis process was done at temperatures of 180 °C and 220 °C and flow rates of 10mL/min and 20mL/min. The determination of reducing sugars was performed using the dinitrosalicylic acid method. For the analysis of sugars, the quantification of xylose, glucose, cellobiose and arabinose was determined by high performance liquid chromatography. In the subcritical hydrolysis process, lower reaction temperatures are efficient when using lower flow rates, reaching approximately 31 g/L of reducing sugars in 3min of reaction. When the hydrolysis process involves higher temperatures, the flow is not a determining factor for the results due to the fact that the influence of temperature overlaps the flow rate. Glucose was the main monosaccharide identified in the hydrolyzed medium.

**KEYWORDS:** olive trees; subcritical hydrolysis; reducing sugars.

**INTRODUÇÃO:** Biomassa é um recurso renovável, sendo a maior fonte de material orgânico da terra. As fontes de biomassa estão presentes em múltiplos segmentos, como nos resíduos agrícolas e florestais, dentre os quais os resíduos da cultura de oliveiras. A utilização destes resíduos como matéria-prima para o processo de hidrólise apresenta-se como forma eficiente. Em geral, a biomassa vegetal é composta por 40% de celulose, 35% de hemicelulose e 25 % de lignina, e denomina-se complexo lignocelulósico (TORRES et al., 2015). O processo de hidrólise com água subcrítica é um método eficiente como pré-tratamento da biomassa. Segundo Reddy (2014), a água tem capacidade de extração ou de reação seletiva nas condições subcríticas de temperatura e pressão. A reação de conversão da biomassa lignocelulósica que ocorre em decorrência da hidrólise com água subcrítica apresenta a capacidade de quebra da estrutura rígida do complexo lignocelulósico em moléculas menores, como os açúcares fermentescíveis (PRADO et al, 2014). Diante deste contexto, o principal objetivo deste trabalho é aplicar o método de hidrólise subcrítica para obter açúcares fermentescíveis a partir de folhas e talos do cultivo de oliveiras.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Utilizou-se como matéria-prima os resíduos de folhas e talos da cultura de oliveiras resultantes da colheita de azeitonas, obtidas na cidade de Cachoeira do Sul/RS nas safras de 2018-2019. A biomassa passou por um pré-tratamento inicial, sendo seca em estufa durante 24h a 60 °C. Posteriormente, utilizou-se um moinho de facas (SL-30-SOLAB, Brasil) para realizar a moagem. A caracterização da biomassa envolveu três etapas, como a determinação de cinzas, do diâmetro médio e de extrativos totais. Para a determinação de cinzas, três amostras contendo 5g de biomassa de oliveira moída foram colocadas em um forno mufla e incineradas durante o período de 2h. A determinação de óleo foi realizada através do método de Soxhlet com solvente hexano. O processo ocorreu de forma seguida e intermitente por aproximadamente 6 horas com refluxo de solvente. O diâmetro médio da biomassa foi apurado através do auxílio de peneiras granulométricas, sendo que 20g da biomassa foram colocadas em peneiras, as quais foram agitadas durante 10 min de forma contínua e posteriormente foi realizado o cálculo do diâmetro médio, conforme a equação 1. Após a caracterização da biomassa, ocorreu o processo de hidrólise subcrítica, onde 10g de biomassa moída foi inserida dentro do reator. A válvula de saída foi fechada e o reator foi pressurizado com água. A pressão foi fixada em 25 MPa e a temperatura foi variada entre 180 °C e 220 °C, e a hidrólise procedeu-se durante 10min, e ao decorrer deste período seis pontos foram coletados por ensaio, nos períodos 1min, 2min, 3min, 6min, 8min e 10min. As vazões estudadas foram de 10mL/min e 20mL/min. Após a realização da hidrólise, as amostras foram armazenadas em geladeira para posterior análise. A determinação dos açúcares redutores totais foi realizada pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS), utilizando glicose como solução padrão. A absorbância foi medida por um espectrofotômetro (UV-1900, Shimadzu, Japão) em comprimento de onda de 540 nm. As amostras contendo solução hidrolisada foram filtradas através de uma membrana de nylon de 0,22 µm e a quantificação de xilose, glicose, celobiose e arabinose foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Proeminence UFLC-Nexera XR, Shimadzu, Japão), equipada com um detector de índice de refração (IR) (RID 10A, Shimadzu, Japão). Utilizou-se uma coluna amino Asahipak NH2P-50 (250 mm × 4,6 mm) (Asahi Kasei, Japão) em temperatura de 50 °C. A fase móvel consistiu em uma solução de acetonitrila: água na proporção de 69:31. A vazão volumétrica da fase móvel foi de 0,5mL/min e o volume de injeção das amostras foi de 15 µL. Na fase estacionária, os compostos foram separados e analisados com um detector de infravermelho a 30 °C por um tempo total de execução de 16min.

$$d_{mg} = \exp \left\{ \frac{\sum_{i=1}^n [w_i \log(d_i \cdot d_{i+1})^{0,5}]}{\sum_{i=1}^n w_i} \right\} \quad (1)$$

em que,

- $d_{mg}$  - diâmetro médio (mm);  
 $d_i$  - abertura nominal da  $i$ -ésima peneira (mm);  
 $d_{i+1}$  - abertura nominal da peneira maior que a  $i$ -ésima peneira (mm);  
 $w_i$  - massa do material retido na  $i$ -ésima peneira (g).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO:** A determinação de cinzas das folhas e talos de oliveira apresentou valor igual a  $3,38 \pm 0,02\%$  (base mássica). O diâmetro médio aferido foi de 0,84 mm. A quantidade de óleo obtida pelo método de Soxhlet foi de 1,72% (base mássica). Como pode ser visualizado na Tabela 1, o ensaio 1 apresentou melhores resultados com altas concentrações de açúcares, tanto no tempo de reação de 3min quanto no tempo de reação igual a 10min. Este resultado valida as informações referentes à hidrólise subcrítica, onde temperaturas mais distantes do ponto crítico da água também realizam o processo de modo eficiente. No ensaio 3, diferentemente do ensaio 1, na temperatura de 180 °C não se obteve o melhor resultado possível. Isto pode ser explicado pela duplicação da vazão que ocorreu neste ensaio. Deste modo, não houve tempo suficiente para completar a hidrólise e, assim, o material lignocelulósico não foi dissociado em sua totalidade. Diferentemente do comportamento dos ensaios 1 e 3, os ensaios 2 e 4, onde a temperatura de hidrólise foi de 220 °C, apresentaram uma resposta inversa quando comparado ao aumento da vazão ao decorrer do processo de hidrólise. No ensaio 2, onde a vazão foi ajustada em 10mL/min, não se obtiveram resultados tão satisfatórios quanto ao ensaio 4, que tinha vazão igual a 20mL/min. Desta forma, a influência da temperatura ajustada nestes ensaios se sobrepôs à vazão e, assim, a vazão não foi um fator determinante para a obtenção dos melhores resultados de hidrólise nestas referidas condições. Os materiais lignocelulósicos, como restos culturais, caracterizados neste trabalho pelas folhas e talos da cultura de oliveiras, apresentam em sua composição: lignina, celulose e hemicelulose. Da dissociação de celulose e hemicelulose, açúcares de cadeias menores são obtidos. Desta forma, os resultados dos açúcares presentes na biomassa hidrolisada estão descritos da Tabela 2. Dentre os açúcares analisados, a glicose é a o açúcar que apresentou o maior rendimento em todos os ensaios realizados. As maiores concentrações de glicose são provenientes dos ensaios realizados com vazão igual a 10 mL/min, sendo que o ensaio 1 com temperatura de 180°C apresentou valor de rendimento de glicose similar ao ensaio 2 com temperatura de 220°C. Os rendimentos de açúcares no tempo de reação igual a 3min são muito superiores ao tempo de reação de 10min. Em ordem decrescente de rendimento, os açúcares com maior concentração foram glicose, arabinose, xilose e celobiose, corroborando resultados obtidos com outras biomassas usando o processo aplicado neste projeto (ABAIDE et al, 2019; SANTOS et al, 2020).

TABELA 1. Rendimento de açúcar nas amostras hidrolisadas de resíduos de folhas e talos de oliveira aos 3 e 10 minutos de reação.

Ensaio*	Codificação	Vazão (mL/min)	Temperatura (°C)	Açúcares Redutores (g/L)	
				3min	10min
1	180 °C / V-10	10	180	$31,3 \pm 5,6$	$11,0 \pm 2,4$
2	220 °C / V-10	10	220	$18,8 \pm 3,1$	$1,9 \pm 0,3$
3	180 °C / V-20	20	180	$16,4 \pm 2,3$	$1,4 \pm 0,7$
4	220 °C / V-20	20	220	$26,4 \pm 2,1$	$0,7 \pm 0,1$

V: Vazão volumétrica; \* Ensaio realizado em duplicata.

TABELA 2. Rendimento dos açúcares (g/L) das amostras hidrolisadas de resíduos de folhas e talos de oliveira aos 3min e 10min de reação.

ENSAIO	180 °C	220 °C /	180 °C	220 °C	180 °C	220 °C	180 °C	220 °C /
	/ V-10	V-10	/ V-20	/ V-20	/ V-10	/ V-10	/ V-20	V-20
	3min de reação				10 min de reação			
Xilose	1,72	2,34	0,55	0,75	0,18	0,06	0,00	0,00
Arabinose	3,02	5,96	1,40	0,96	0,95	0,55	0,03	0,10
Glicose	26,85	21,74	11,06	7,36	5,00	2,61	0,75	0,00
Celobiose	0,65	2,40	0,08	0,24	0,04	0,06	0,03	0,04
TOTAL	32,23	32,44	13,10	9,32	6,16	3,27	0,81	0,14

V: Vazão volumétrica.

**CONCLUSÕES:** Dentre os ensaios realizados, é possível inferir que os resultados de açúcares apresentaram maiores concentrações no tempo de 3min ao invés do tempo de 10min. Isso pode ser explicado pelo fato de que em 3min a taxa de dissociação da hidrólise foi maior, ou seja, havia bastante celulose e hemicelulose sendo dissociadas. Com o passar da reação, a concentração destes compostos foi diminuindo. Temperaturas menores de reação são eficientes quando vazões menores são usadas. Quando o processo de hidrólise envolve temperaturas superiores, a vazão não se apresenta como um fator determinante para os resultados devido ao fato da influência da temperatura se sobrepor à vazão.

**AGRADECIMENTOS:** Os autores agradecem à CAPES, ao CNPq e à FAPERGS.

#### REFERÊNCIAS:

ABAIDE, E. R.; MORTARI, S. R.; UGALDE, G.; VALÉRIO, A.; AMORIM, S. M.; DI LUCCIO, M.; MOREIRA, R. F. P. M.; KUHN, R.; PRIAMO, W.; TRES, M. V.; ZABOT, G. L.; MAZUTTI, M. A. Subcritical water hydrolysis of rice straw in a semi-continuous mode. *Journal of Cleaner Production*, v.209, p.386-397, 2019.

PRADO, J. M.; FORSTER-CARNEIRO, T.; ROSTAGNO, M. A.; FOLLEGATTI-ROMERO, L. A.; MAUGERI FILHO, F.; MEIRELES, M. A. Obtaining sugars from coconut husk, defatted grape seed, and pressed palm fiber by hydrolysis with subcritical water. *The Journal of Supercritical Fluids*, v.89, p.89-98, 2014.

REDDY, H. K.; MUPPANEMI, T.; SUN, Y.; LI, Y.; PONNUSAMY, S.; PATIL, P. D.; DAILEY, P.; SCHAUB, T.; HOLGUIN, F. O.; DUNGAN, B.; COOKE, P.; LAMMERS, P.; VOORHIES, W.; LU, X.; DENG, S. Subcritical water extraction of lipids from wet algae for biodiesel production. *Fuel*, v.133, p.73-81, 2014.

SANTOS, M. S. N.; ZABOT, G. L.; MAZUTTI, M. A.; UGALDE, G. A.; REZZADORI, K.; TRES, M. V. Optimization of subcritical water hydrolysis of pecan wastes biomasses in a semi-continuous mode. *Bioresource Technology*, v.306, p.123129, 2020.

TORRES, P; LACHOS, D. FORSTER, T. **Hidrólise em água subcrítica para produção de açúcares redutores totais a partir do resíduo de pó de café verde.** In: Congresso sobre Geração Distribuída e Energia no Meio Rural, 10., 2015, São Paulo. *Anais do AGRENER GD 2015*. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015. p. 1-10.