

KIMBERLY LUCIANA BEIRA-MAR DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE APLICAÇÃO INDUSTRIAL DE
SUBPRODUTOS DA CADEIA PRODUTIVA DAS PALMEIRAS AMAZÔNICAS
AÇAÍ (*Euterpe oleracea*), TUCUMÃ DO AMAZONAS (*Astrocaryum aculeatum*) E
TUCUMÃ DO PARÁ (*Astrocaryum vulgare*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Valéria Monteze Guimarães

Coorientadora: Gabriela Píccolo Maitan-Alfenas

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S237a
2021

Santos, Kimberly Luciana Beira-mar dos, 1994-
Avaliação do potencial de aplicação industrial de
subprodutos da cadeia produtiva das palmeiras amazônicas Açai
(*Euterpe oleracea*), Tucumã do Amazonas (*Astrocaryum
aculeatum*) e Tucumã do Pará (*Astrocaryum vulgare*) / Kimberly
Luciana Beira-mar dos Santos. – Viçosa, MG, 2021.

1 dissertação eletrônica (69 f.): il.

Orientador: Valeria Monteze Guimaraes.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, 2021.

Referências bibliográficas: f. 64-69.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.129>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Palmeira. 2. Biomassas - Composição. 3. Hidrólise.
4. Enzimas. I. Guimaraes, Valeria Monteze, 1961-.
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Bioquímica e Biologia Molecular. Programa de Pós-Graduação
em Bioquímica Aplicada. III. Título.

CDD 22. ed. 633.851

Bibliotecário(a) responsável: Renata de Fátima Alves CRB6/2578

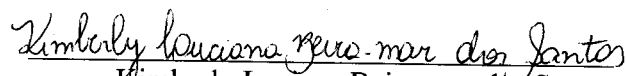
KIMBERLY LUCIANA BEIRA-MAR DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE APLICAÇÃO INDUSTRIAL DE
SUBPRODUTOS DA CADEIA PRODUTIVA DAS PALMEIRAS AMAZÔNICAS
AÇAÍ (*Euterpe oleracea*), TUCUMÃ DO AMAZONAS (*Astrocaryum aculeatum*) E
TUCUMÃ DO PARÁ (*Astrocaryum vulgare*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 30 de agosto de 2021.

Assentimento:


Kimberly Luciana Beira-mar dos Santos
Autora


Valéria Montezê Guimarães
Orientadora

Aos meus pais, Nirvana e Luis,

*“Eu prefiro ser essa metamorfose ambulante do que ter aquela velha opinião formada
sobre tudo...”*

Raul Seixas

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me permitido chegar até aqui, viva e saudável, por me amparar, me guiar e me iluminar;

À minha mãe, Nirvana de Paula, que me ensinou a ler, a escrever e a resistir às adversidades da vida. Pelo dom da vida, pela força, determinação e amor;

Ao meu pai, Luis Carlos, que sempre me amparou, escutou, aconselhou e me proporcionou uma estrutura sólida que me permitiu a dedicação aos estudos, por tanto amor e por acreditar tanto na minha capacidade;

Aos meus irmãos que sempre acreditaram no meu potencial intelectual e às minhas sobrinhas que me impulsionam a ser melhor todo dia;

A todos os professores que passaram por mim, em especial Edson Júnior do Carmo por me abrir tantas portas e Jerusa Araújo Quintão Arantes Faria por todo o auxílio prestado nos estudos, sem eles este ciclo não teria acontecido;

À minha orientadora, Valéria Monteze Guimarães por me receber de braços abertos, pela orientação e confiança depositada em mim e a minha coorientadora Gabriela Píccolo Maitan-Alfenas pelas dicas, sugestões e oportunidades;

Aos meus amigos de graduação, que sempre torceram por mim e estiveram ao meu lado em todos os momentos: Selecionados, Luiz Pedro, Gabriely Baraúna, Amanda Amaral e Rafael Brito;

Aos meus amigos de casa, Eliana Alviárez, Eugênio Andrade e Gabriel Ito por tornarem nossa casa um lugar de paz, de alegria, de muitos risos e por terem compartilhado tantas experiências comigo;

Aos meus amigos do laboratório e de fora dele que se tornaram amigos de vida: Lucas Filipe, Riziane Gomes, Yan Clevelares, Roberta Corsino, Camila Loureiro, Marciana Morales, Jean Pierre, Rafaela Breder, Rafaela Ladeira, Elisa Barreto, Marcel Arruda, Mariane Sampaio, Bárbara Avancini e Mauro Henrique que foram sempre presentes em todos os momentos, por compartilharem experiências e momentos incríveis, por serem bons ouvintes e companheiros nessa jornada;

Ao suporte estrutural e financeiro da FAPEMIG, CNPq, CAPES, ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada e à Universidade Federal de Viçosa pelos serviços e apoio prestados durante a realização do mestrado.

“Quando um ciclo chega ao fim, o outro se descortina...”

Luli Braga

RESUMO

DOS SANTOS, Kimberly Luciana Beira-mar, M.Sc, Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2021. **Avaliação do potencial de aplicação industrial de subprodutos da cadeia produtiva das palmeiras amazônicas açai (*Euterpe oleracea*), tucumã do Amazonas (*Astrocaryum aculeatum*) e tucumã do Pará (*Astrocaryum vulgare*).** Orientadora: Valéria Monteze Guimarães. Coorientadora: Gabriela Píccolo Maitan-Alfenas.

O crescente aumento demográfico associado à demanda por insumos e energia é uma preocupação mundial. Várias estratégias estão sendo desenvolvidas visando mitigar os efeitos do consumo de recursos não-renováveis, uma delas é o uso de biomassas vegetais, que surgem como uma alternativa limpa, sustentável e abundante. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de aplicação industrial de subprodutos das cadeias produtivas de biomassas amazônicas como o açai, tucumã do Amazonas e tucumã do Pará. Ensaio de caracterização química destas biomassas amazônicas permitiram compreender a composição e a grande biodisponibilidade de moléculas de interesse biotecnológico, como polissacarídeos, lignina, proteínas e lipídios. Baseado na composição rica em nutrientes, a casca de tucumã do Amazonas *in natura* e a fibra da polpa de tucumã do Pará, foram avaliadas quanto ao seu potencial como fonte de carbono na indução de enzimas lignocelulolíticas utilizando cinco fungos conhecidos pela sua produção de (hemi)celulases, são eles: *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Chrysosporthe cubensis*, *Trichoderma deliquescens* e *Ceratocystis fimbriata*. Os resultados mostraram que ambas as biomassas são excelentes fontes de carbono, no entanto os extratos enzimáticos mais completos em termos de atividade enzimática e quantidade de enzimas foi produzido pelos fungos *C. cubensis* e *T. deliquescens* cultivados na casca de tucumã do Amazonas. Além disso, ensaios de hidrólise enzimática das biomassas foram realizados utilizando os extratos enzimáticos brutos de *C. cubensis* e *T. deliquescens* e o coquetel comercial CellicCTec 2. Os melhores resultados de liberação de glicose foram alcançados na hidrólise da fibra polpa de tucumã do Pará processada pelos coquetéis de *C. cubensis* e *T. deliquescens*. As análises experimentais permitiram concluir que a biodisponibilidade das biomassas aqui estudadas pode ser a chave para o desenvolvimento regional sustentável, pois permite que os recursos naturais sejam completamente aproveitados de forma racional e consciente, mas também gerando retorno econômico e desenvolvimento social.

Palavras-chave: Açai. Tucumã do Amazonas. Tucumã do Pará. Caracterização química. Hidrólise enzimática

ABSTRACT

DOS SANTOS, Kimberly Luciana Beira-mar, M.Sc, Universidade Federal de Viçosa, August 2021. **Evaluation of the potential for industrial application of by-products from the production chain of açai (*Euterpe oleracea*), Amazon tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) and Pará tucumã (*Astrocaryum vulgare*) palm trees.** Adviser: Valéria Monteze Guimarães. Co-adviser: Gabriela Píccolo Maitan-Alfenas.

The growing demographic increase associated with the demand for inputs and energy is a global concern. Several strategies are being developed to mitigate the effects of consumption of non-renewable resources, one of them is the use of plant biomass, which appears as a clean, sustainable and abundant alternative. The objective of this work was to evaluate the potential of industrial application of by-products from the production chains of Amazonian biomass such as açai, tucumã from Amazonas and tucumã from Pará. Chemical characterization tests of these Amazonian biomasses allowed us to understand the composition and great bioavailability of molecules of biotechnological interest, such as polysaccharides, lignin, proteins, lipids and minerals. Based on the nutrient rich composition, fresh Amazon tucumã bark and Pará tucumã pulp fiber were evaluated for their potential as a carbon source in the induction of lignocellulolytic enzymes using five fungi known for their production of (hemi)cellulases, they are: *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Chrysosporthe cubensis*, *Trichoderma deliquescens* and *Ceratocystis fimbriata*. The results showed that both biomasses are excellent sources of carbon, however, the most complete enzyme extracts in terms of enzyme activity and amount of enzymes was observed by the fungus *C. cubensis* and *T. deliquescens* cultivated on fresh Amazon tucumã bark. In addition, biomass enzymatic hydrolysis assays were performed using crude enzymatic extracts of *C. cubensis* and *T. deliquescens* and the commercial cocktail CellicCTec 2 in both biomasses. The best results of glucose release were achieved in the hydrolysis of tucumã from Pará Pulp fiber processed by cocktails of *C. cubensis* and *T. deliquescens*. Experimental analyzes allowed us to conclude that the bioavailability of the biomasses studied here can be the key to sustainable regional development, as it allows natural resources to be fully utilized in a rational and conscious way, but also generating economic return and social development.

Keywords: Açai. Amazon Tucumã. Pará Tucumã. Chemical characterization. Enzymatic hydrolysis

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Caroço de açaí moído com extrativos (A); Caroço de açaí moído livre de extrativos (B) e Fração líquida após remoção de extrativos (C). 41
- Figura 2.** Fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará moída com extrativos (A); Fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará moída livre de extrativos (B); Fração líquida após remoção de extrativos da fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará (C); Casca de tucumã do Amazonas in natura moída com extrativos (D); Casca de tucumã do Amazonas in natura moída livre de extrativos (E); Fração líquida após remoção de extrativos da casca de tucumã do Amazonas in natura (F). 41
- Figura 3.** Casca de tucumã do Amazonas in natura (A) e após pré-tratamento hidrotérmico (B) 55
- Figura 4.** Hidrólise da fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará e casca de tucumã do Amazonas após 72 horas a 50 °C usando o extrato enzimático de *Chrysosporthe cubensis* e *Trichoderma deliquescens* cultivados na fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará. (A) Hidrólise da casca de tucumã do Amazonas por *Chrysosporthe cubensis* (B) Hidrólise da casca de tucumã do Amazonas por *Trichoderma deliquescens* (C) Hidrólise da fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará por *Chrysosporthe cubensis*, (D) Hidrólise da fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará por *Trichoderma deliquescens*. Açúcares liberados: (●) Glicose, (■) Xilose e (Δ) Arabinose..... 56
- Figura 5.** Hidrólise da fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará e casca de tucumã do Amazonas após 72 horas a 50 °C usando o extrato enzimático de *Chrysosporthe cubensis* e *Trichoderma deliquescens* crescidos na casca de tucumã do Amazonas. (A) Hidrólise da fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará por *Chrysosporthe cubensis* (B) Hidrólise da fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará por *Trichoderma deliquescens* (C) Hidrólise da casca de tucumã do Amazonas por *Chrysosporthe cubensis*, (D) Hidrólise da casca de tucumã do Amazonas por *Trichoderma deliquescens*. Açúcares liberados: (●) Glicose, (■) Xilose e (Δ) Arabinose. 59
- Figura 6.** Hidrólise da fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará (A) e casca de tucumã do Amazonas (B) após 72 horas a 50°C utilizando o coquetel comercial CellicCTec 2. Açúcares liberados: (●) Glicose, (■) Xilose e (Δ) Arabinose. 62

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Caracterização química do caroço de açaí após processamento industrial, casca de tucumã do Amazonas *in natura* e fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará após processamento industrial.....37
- Tabela 2.** Compostos fenólicos e carotenoides totais no caroço de açaí, na casca de tucumã do Amazonas e na fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará.....37
- Tabela 3.** Atividade enzimática (U/mL) e concentração de proteínas (mg/mL) dos extratos brutos produzidos pelos fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Chrysosporthe cubensis*, *Trichoderma deliquescens* e *Ceratocystis fimbriata* crescidos na casca de tucumã do Amazonas *in natura*.47
- Tabela 4.** Atividade específica (U/mg de proteína) dos extratos brutos produzidos pelos fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Chrysosporthe cubensis*, *Trichoderma deliquescens* e *Ceratocystis fimbriata* crescidos na casca de tucumã do Amazonas *in natura*.48
- Tabela 5.** Atividade enzimática (U/mL) e concentração de proteínas (mg/mL) dos extratos brutos produzidos pelos fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Chrysosporthe cubensis*, *Trichoderma deliquescens* e *Ceratocystis fimbriata* crescidos na fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará processada.49
- Tabela 6.** Atividade específica (U/mg de proteína) dos extratos brutos produzidos pelos fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Chrysosporthe cubensis*, *Trichoderma deliquescens* e *Ceratocystis fimbriata* crescidos na fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará processada.....50
- Tabela 7.** Concentração relativa de celulose, hemicelulose e lignina da casca de tucumã do Amazonas antes e após o pré-tratamento hidrotérmico.....55

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral.....	15
2.2	Objetivos específicos	15
3.	REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1	O desenvolvimento sustentável e a economia circular	16
3.2	Biomassa Vegetal.....	16
3.3	Componentes da biomassa lignocelulósica.....	17
3.3.1	Celulose.....	17
3.3.2	Hemicelulose.....	18
3.3.3	Lignina	18
3.3.4	Componentes minoritários	18
3.4	Família Arecaceae.....	19
3.5	Açaí (<i>Euterpe oleracea</i>).....	20
3.6	Tucumã do Amazonas (<i>Astrocaryum aculeatum</i>) e Tucumã do Pará (<i>Astrocaryum vulgare</i>).....	21
3.7	Pré-tratamento da biomassa	22
3.8	Hidrólise enzimática da biomassa.....	24
4.	MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1	Caracterização química das biomassas	26
4.1.1	Reagentes	26
4.1.2	Matéria-prima.....	26
4.1.3	Preparo da amostra.....	26
4.1.4	Determinação do teor de umidade	26
4.1.5	Determinação de extrativos totais	27
4.1.6	Determinação de lignina total	27
4.1.7	Determinação de carboidratos totais	28
4.1.8	Determinação de proteínas totais	28
4.1.9	Determinação de extrato etéreo.....	29
4.1.10	Determinação de cinzas	30

4.1.11	Perfil de ácidos graxos	30
4.1.12	Extração e quantificação de Carotenoides totais.....	31
4.1.13	Extração e quantificação de compostos fenólicos.....	32
4.2	Aplicação da casca do tucumã do amazonas (<i>Astrocaryum aculeatum</i>) e fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará (<i>Astrocaryum vulgare</i>) para produção de enzimas fúngicas	32
4.2.1	Microrganismos	32
4.2.2	Multiplicação e manutenção das culturas fúngicas.....	32
4.2.3	Produção de extrato enzimático bruto.....	33
4.2.4	Determinação de proteínas totais	33
4.2.5	Determinação de atividade enzimática.....	33
4.2.6	Pré-tratamento hidrotérmico da casca de tucumã do Amazonas in natura	35
4.2.7	Hidrólise enzimática da biomassa pré-tratada	35
4.2.8	Análise dos produtos da hidrólise	36
5.	RESULTADO E DISCUSSÃO	37
5.1	Caracterização química das biomassas	37
5.1.1	Umidade	37
5.1.2	Extrato etéreo e perfil de ácidos graxos	38
5.1.3	Carotenoides totais e compostos fenólicos	40
5.1.4	Lignina total	42
5.1.5	Carboidratos	43
5.1.6	Proteínas.....	44
5.1.7	Cinzas.....	45
5.2	Enzimas produzidas por fungos filamentosos cultivados em casca de tucumã do Amazonas e fibra da polpa de tucumã do Pará.....	45
5.2.1	Pré-tratamento hidrotérmico da casca de tucumã do Amazonas	54
5.3	Hidrólise enzimática da casca de tucumã do Amazonas e fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará.....	56
5.3.1	Hidrólise da casca de tucumã do Amazonas e fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará utilizando os extratos enzimáticos de <i>Chrysosporthe cubensis</i> e <i>Trichoderma deliquescens</i> crescidos na fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará.	56

5.3.2	Hidrólise da casca de tucumã do Amazonas e fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará utilizando os extratos de <i>Chrysoporthe cubensis</i> e <i>Trichoderma deliquescens</i> crescidos na casca de tucumã do Amazonas	58
5.3.3	Hidrólise da casca de tucumã do Amazonas e fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará utilizando o coquetel comercial CellicCTec 2.....	61
6.	CONCLUSÃO	62
7.	REFERÊNCIAS	64

1. INTRODUÇÃO

A população mundial atual é de quase 8 bilhões de pessoas e estima-se que esse número atinja 11 bilhões até 2100 (ONU, 2019). O crescimento demográfico gera impactos econômicos, sociais e ambientais, pois há um aumento na demanda por geração de energia, pela produção de alimentos, produtos químicos, materiais e bens de consumo (Saath & Fachinello, 2018). No entanto, a matéria-prima utilizada para a geração destes insumos são provenientes de recursos não-renováveis (Crist, Mora & Engelman, 2017; Ning et al., 2021).

Ao longo dos anos, a preocupação com a escassez de matéria-prima e com o impacto ambiental causado pelas ações humanas, tornaram-se pauta em reuniões globais como a Conferência das Nações Unidas sobre a Mudança do Clima (COP 21), em que 195 países, incluindo o Brasil, assinaram o chamado Acordo de Paris, que visa mitigar a emissão de gases do efeito estufa e reduzir as alterações climáticas.

Diante desta preocupação, a biomassa vegetal surge como uma matéria-prima limpa, sustentável e de baixo custo que engloba uma variedade de resíduos agroindustriais e/ou florestais distribuídos amplamente na natureza (Premjet et al., 2013). Biomassas, em geral, possuem um vasto potencial de aplicação nos mais diversos setores industriais. Esta aplicabilidade deve-se a sua abundância e alta heterogeneidade proveniente da elevada complexidade química (Vaz Júnior, 2015).

O Brasil possui uma grande biodiversidade e disponibilidade de biomassas, e grande parte está localizada na região amazônica. As palmeiras amazônicas tem ganhado destaque no mercado nacional pois apresentam uma série de propriedades antioxidantes, antiinflamatórias e organolépticas que as tornam biomassas vegetais com aplicação na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética. Dentre as espécies nativas, destacam-se o açai (*Euterpe oleracea*), o tucumã do Amazonas (*Astrocaryum aculeatum*) e o tucumã do Pará (*Astrocaryum vulgare*) de importância social, econômica e nutricional para a região (Oliveira et al., 2014; Souza et al., 2019).

Entretanto, a expansão do mercado de frutas regionais traz consigo a geração de quantidades significativas de resíduos florestais não madeireiros, como a casca, o caroço e a polpa processada. O consumo do tucumã do Amazonas se limita à região norte do país, no entanto foram geradas 268,5 toneladas de resíduos provenientes da cadeia produtiva de tucumã do Amazonas, no período compreendido entre maio de 2011 e abril de 2012 na cidade de

Manaus, com uma média mensal de 22,4 toneladas (Didonet et al., 2012). Em Belém, a agroindústria do açaí gera cerca de 590 mil toneladas de caroço (IBGE, 2017). Além da alimentação humana, o açaí e o tucumã do Pará são utilizados na formulação de cosméticos, gerando como biomassa residual o caroço de açaí e a fibra da polpa de tucumã do Pará.

A destinação adequada dos resíduos gerados pelas cadeias produtivas do tucumã do Amazonas, tucumã do Pará e açaí exige um conhecimento da sua composição química. A partir disto, é possível propor uma aplicação que se enquadra no princípio de utilização racional e consciente dos recursos florestais amazônicos, contribuindo para um retorno econômico e social da região, auxiliando na preservação e sustentabilidade dos recursos naturais. Portanto, o objetivo deste trabalho foi determinar a composição química da casca de tucumã do Amazonas *in natura*, do caroço de açaí e da fibra da polpa de tucumã do Pará e avaliar o potencial da casca de tucumã do Amazonas *in natura* e da fibra da polpa de tucumã do Pará como fonte de carbono na indução de enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas em fungos filamentosos, bem como na obtenção de moléculas de interesse biotecnológico a partir da hidrólise das biomassas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar o potencial de aplicação biotecnológica de subprodutos das palmeiras amazônicas Açaí (*Euterpe oleracea*), Tucumã do Amazonas (*Astrocaryum aculeatum*) e Tucumã do Pará (*Astrocaryum vulgare*).

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a caracterização química da casca de tucumã do Amazonas *in natura*, da fibra da polpa de tucumã do Pará e do caroço de açaí;
- Quantificar carotenóides e compostos fenólicos das biomassas por espectrofotometria;
- Avaliar o perfil de ácidos graxos das biomassas por cromatografia gasosa;
- Avaliar o potencial da casca de tucumã do Amazonas *in natura* e da fibra da polpa de tucumã do Pará como fonte de carbono na indução de enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas em fungos filamentosos;
- Avaliar o potencial das biomassas para obtenção de moléculas de interesse biotecnológico.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O desenvolvimento sustentável e a economia circular

A população mundial atual é de quase 8 bilhões de pessoas e estima-se que esse número atinja 11 bilhões até 2100 (ONU, 2019). O crescimento demográfico gera impactos econômicos, sociais e ambientais, pois há um aumento na demanda por geração de energia, pela produção de alimentos, produtos químicos, materiais e bens de consumo (Saath & Fachinello, 2018). No entanto, a matéria-prima utilizada para a geração destes insumos são provenientes de recursos não-renováveis (Crist, Mora & Engelman, 2017; Ning et al., 2021).

A necessidade de alinhar o desenvolvimento econômico e a conservação ambiental recebe o nome de desenvolvimento sustentável. O termo desenvolvimento sustentável surgiu em 1987 no relatório Brundtland da Organização das Nações Unidas (ONU) e é definido como o desenvolvimento capaz de suprir as necessidades da geração atual, sem comprometer a capacidade de atender as necessidades das futuras gerações, ou seja, o uso racional dos recursos naturais (Comissão Mundial sobre Meio ambiente e desenvolvimento, 1991).

Associado ao desenvolvimento sustentável, tem-se a economia circular, que é definida por Geissdoerfer et al., (2019) como um modelo regenerativo no qual o desperdício de recursos e energia são minimizados desde o princípio. Este modelo se adequa às demandas mundiais por insumos e energia, pois incentiva a transição do uso de recursos naturais finitos para a valorização da matéria-prima renovável, como as biomassas vegetais.

A biomassa vegetal surge como uma alternativa limpa, sustentável e de baixo custo que engloba uma variedade de resíduos agroindustriais e/ou florestais distribuídos amplamente na natureza (Premjet et al., 2013). Biomassas, em geral, possuem um vasto potencial de aplicação nos mais diversos setores industriais. Esta aplicabilidade deve-se a sua abundância e alta heterogeneidade proveniente da elevada complexidade química (Vaz Júnior, 2015). Essas biomassas, ao serem convertidas, podem gerar produtos de alto valor agregado como biocombustíveis e blocos construtores químicos como fenóis e xilitol (Leitão, et al., 2017; Borges, 2020; De Moura et al., 2020; Rosa et al., 2021).

3.2 Biomassa Vegetal

O Brasil é o país que abriga a maior biodiversidade de fauna, flora e microrganismos do mundo e, devido à essa diversidade biológica, apresenta grande potencial no uso de biomassas. De acordo com Kerekezi et al., (2004), a biomassa pode ser definida como todo material de

origem vegetal ou animal utilizado com a finalidade de produzir energia. A biomassa vegetal, por sua vez, é definida como uma energia química produzida pelas plantas, que por meio da fotossíntese, transformam CO₂ e água em carboidrato e oxigênio (Pacheco, 2006).

As biomassas vegetais podem ter diversas origens como plantas não lenhosas, plantas lenhosas e resíduos orgânicos e, dentro desses grupos, podem ser classificadas de acordo com seu potencial econômico para exploração industrial, são eles: Amilácea (milho, batatas, mandioca, trigo e cevada), sacarídea (cana-de-açúcar), lignocelulósica (açai, bagaço da cana-de-açúcar, farelo de trigo, madeira de eucalipto) e oleaginosa (soja, dendê, tucmã, amendoim e algodão) (Vaz Júnior, 2015).

A biomassa lignocelulósica é o material orgânico mais abundante na terra e pode ser proveniente de subprodutos agrícolas, madeira de conífera, resíduos celulósicos, biomassas herbáceas e resíduos sólidos municipais (Cardona et al., 2010). Esta biomassa é composta principalmente de celulose (30% a 50%), hemicelulose (15% a 35%) e lignina (10% a 30%), a composição da biomassa é influenciada por uma série de fatores abióticos como a origem, plantio, transporte, estocagem e espécie vegetal (Brand & Muñiz, 2012; Bufalino et al., 2018).

3.3 Componentes da biomassa lignocelulósica

3.3.1 Celulose

A celulose é o biopolímero mais abundante da Terra, compondo a parede celular de plantas, algas e algumas bactérias (Souza et al., 2015). Sua estrutura é um homopolissacarídeo formado por unidades repetitivas de celobiose, dímero de glicose, unidas através de ligações do tipo β -1,4-glicosídicas, que se repetem formando cadeias lineares que interagem entre si (intramoleculares) e/ou entre cadeias adjacentes (intermoleculares) por meio de ligações de hidrogênio (Carvalho et al., 2009).

As interações intra e intermoleculares são responsáveis pela estrutura supramolecular e estável da celulose e pela formação de regiões cristalinas caracterizadas pelo seu alto nível de organização e regiões desordenadas, chamadas regiões amorfas. A proporção entre as regiões cristalinas e amorfas, determina o índice de cristalinidade (D'Almeida, 1988; Henrique, 2014; Souza et al., 2015).

3.3.2 *Hemicelulose*

A hemicelulose é um heteropolissacarídeo composto por pentoses (D-xilose e L-arabinose), hexoses (D-manose, D-galactose e D-glicose) e alguns ácidos orgânicos como ácido acético e ácido glucurônico. A estrutura da hemicelulose é linear, porém com ramificações ao longo de toda a cadeia principal, que pode ser composta pelo mesmo açúcar ou por uma mistura de vários açúcares (Kumar & Singh, 2018).

As características químicas da hemicelulose a tornam mais suscetível à degradação de produtos químicos devido ao tamanho curto das cadeias (50-300 unidades de açúcares) e à presença de ramificações. O papel da hemicelulose é fornecer uma ligação entre a lignina e a celulose (Holtzapfle 1993).

3.3.3 *Lignina*

A lignina é o polímero aromático mais abundante do planeta e a segunda biomassa mais abundante da Terra (Wang et al., 2020). Sua estrutura é constituída de uma macromolécula fenólica, irregular e amorfa que tem como precursores os álcoois p-coumarílico, coniferílico e sinapílico, ligados por meio de ligações C-C, estes monolignóis produzem respectivamente, p-hidroxidifenil (H), guaicil (G) e siringil (S) (Boerjan, et al., 2003; Júnior, 2015).

A estrutura da lignina não é totalmente elucidada, no entanto, sabe-se que as unidades de monoalglóis encontram-se em quantidade e proporção diferente nas espécies vegetais. Segundo Boerjan (2003), as ligninas de angiospermas consistem principalmente em unidades G e S e traços de unidades H, enquanto a gimnosperma é composta principalmente de unidades G com baixos níveis de unidades H, enquanto que as ligninas de gramíneas incorporam unidades G e S em níveis comparáveis. Este composto atua como uma barreira física na parede celular vegetal, conferindo à planta uma resistência aos ataques biológicos, químicos e físicos (Azadi t al., 2013).

3.3.4 *Componentes minoritários*

As biomassas vegetais também são compostas por outras substâncias encontradas em menores quantidades como os extrativos, as proteínas e os minerais.

Os extrativos são compostos que não fazem parte da parede celular vegetal, portanto são facilmente extraíveis por solventes orgânicos como etanol, hexano, acetona, dentre outros. Este grupo é composto por uma ampla variedade de substâncias como compostos fenólicos,

pigmentos, clorofila, ácidos graxos e carboidratos (Ghofrani et al., 2015). Estes compostos são responsáveis pela cor e odor observados nas biomassas, além de conferirem resistência ao ataque biológico e ao apodrecimento natural. A quantidade de extrativos na biomassa irá variar de acordo com a espécie vegetal e a parte estudada (Brand & Muniz, 2012).

As proteínas são cadeias de aminoácidos que exercem diversas funções biológicas que contribuem para o desenvolvimento e manutenção do organismo. Na biomassa de origem vegetal, suas concentrações variam de acordo com a espécie estudada (Picchi et al., 2009). O resíduo mineral fixo (cinzas) é a porção inorgânica da biomassa que permanece após a queima de toda matéria orgânica. As cinzas podem ser compostas por cálcio, potássio, magnésio e muitos outros minerais. As funções destes compostos no metabolismo da biomassa podem ser divididas em energética, funcional, físico-químicas e plástica (Klock et al., 2005).

3.4 Família Arecaceae

As palmeiras (Arecaceae) são uma das maiores famílias de monocotiledôneas encontradas nas regiões tropicais e subtropicais e compõem o terceiro grupo de biomassas de origem vegetal mais utilizado pela humanidade, pois fornecem alimentos, madeiras, fibras e outros subprodutos (Henderson et al., 1993; Clement et al., 2005; Johnson, 2010; Scariot, 2015). Além disso, há uma relação estreita com a fauna e flora da região onde ocorrem, constituindo a dieta de aves, mamíferos, peixes e insetos (Lleras et al, 1983; Villachica, 1996; Cintra et al. 2005; Rojas-Robles e Stiles 2009).

Esta família é constituída por 3000 espécies amplamente distribuídas ao redor de todo o globo, cerca de 390 espécies estão localizadas no Brasil, e destas, aproximadamente 290 espécies e 41 gêneros encontram-se na região amazônica (Oliveira et al., 2014; Souza et al., 2019). Apesar da grande importância, poucas palmeiras dessa família têm seu potencial econômico explorado (Lleras et al, 1983; Scariot, 2015). Dentro deste panorama pode-se citar o gênero *Astrocaryum*, composto por 40 espécies distribuídas em 12 países como Brasil, Peru e Colômbia (Kahn, 2008) e o gênero *Euterpe* distribuído ao longo da Amazônia continental, composto por 39 gêneros e um número variado de espécies (Kahn, 1997). Dentre as espécies nativas da Amazônia, pelo menos três (*Euterpe oleracea*, *Astrocaryum aculeatum* e *Astrocaryum vulgare*) são apontadas como espécies com potencial econômico.

3.5 Açaí (*Euterpe oleracea*)

O açaizeiro é uma palmeira nativa da Amazônia oriental encontrada ao longo dos igarapés, terrenos de baixada e áreas com umidade permanente (Bentes-Gama et al., 2005). Esta palmeira fornece um fruto pequeno e arredondado, com diâmetro variando entre 1cm e 2cm e pode atingir até 25 m de altura. Sua ocorrência natural abrange os estados do Amapá, Maranhão, Pará, Tocantins, Mato Grosso e o leste do Amazonas, além de países como Venezuela e Colômbia (Calzavara, 1972; Cavalcante, 1991; Macedo, 1995).

Na região norte, a polpa do fruto é amplamente consumida na sua forma “batida” acompanhada de farinha de mandioca, peixes e camarão, mas também como sorvete, picolé, doces e sobremesas (Lobato & Ravena-Cañete, 2019). Embora seja um fruto característico de toda a região norte do país, é no Pará que se concentra a maior produção nacional, sendo o estado responsável por aproximadamente 95% da produção, o que correspondeu a 1.330.598 toneladas só no ano de 2019 (CONAB, 2019).

O mercado do açaí teve sua ascensão na década de 90 e hoje é consumido em grande parte do território nacional, além de ser exportado para países como Estados Unidos, Japão e Austrália (CONAB, 2019). Sua ascensão pode ser atribuída ao conhecimento das propriedades nutricionais do fruto como a quantidade de fibras, lipídios e os pigmentos antioxidantes como as antocianinas (Souza, 2015; Silva et al., 2017). Com a ascensão do consumo do fruto, a agroindústria do açaí gera cerca de 591,692 toneladas de caroço, que corresponde a 83% do fruto, e embora sejam utilizados na indústria de bijóias e ração, há uma grande quantidade que ainda é despejada em locais inapropriados causando problemas ambientais (Tavares & Homma, 2015; Gantuss, 2016). Diante disto, vários pesquisadores realizaram o estudo das propriedades do caroço de açaí e seu potencial de aplicação em diversos ramos industriais, desde a construção civil até a alimentação animal.

Para definir qual a melhor aplicação e potencial de uso de um resíduo agroindustrial, realiza-se o estudo da biomassa visando auxiliar nos processos de bioconversão e valorização destes resíduos. De acordo com Barbosa et al., (2019) o caroço de açaí pode ser utilizado na produção de compósitos para aplicação na construção civil, além de contribuir com a redução dos impactos causados na floresta amazônica para obtenção de madeiras. Para Monteiro et al., (2017) o caroço do açaí por ser utilizado como fonte de geração de energia elétrica, substituindo o uso de lenha. O caroço de açaí pode ser, ainda, uma fonte de inulina, açúcar com potencial de aplicação na indústria alimentícia (Lima, 2015).

3.6 Tucumã do Amazonas (*Astrocaryum aculeatum*) e Tucumã do Pará (*Astrocaryum vulgare*)

A Amazônia apresenta inúmeras Arecaceae nativas com potencial econômico, tecnológico, nutricional, de sabores e aromas inigualáveis. Dentre essas palmeiras, destaca-se o tucumã do Amazonas (*Astrocaryum aculeatum*) e o tucumã do Pará (*Astrocaryum vulgare*). O *A. aculeatum* é uma palmeira de estipe solitário, com até 20 m de altura e 30 cm de diâmetro, e internós densamente espinhosos (Henderson; Scariot, 1993). Esta palmeira é nativa do estado do Amazonas, mas também é encontrada em estados brasileiros como Acre, Rondônia, Roraima, Pará e Mato Grosso, além das Guianas, Venezuela, Colômbia, Peru e Bolívia (Cavalcante, 1991; Kahn e Millán, 1992). Ocorre em floresta de terra firme, vegetação secundária, savanas, pastagens e roçados, sendo excepcionalmente tolerante a solos pobres e degradados (Fao, 1987). O *A. vulgare* é uma palmeira um pouco menor que pode atingir até 15m de altura e seus frutos apresentam uma grande variação de coloração e diâmetro (Lima, Trassato & Coelho, 1986).

Na região norte, o tucumã faz parte da dieta de humanos e animais e é comercializado em feiras livres de duas formas: o fruto inteiro e a polpa *in natura*. No entanto, somente a polpa é consumida, como recheio de sanduíches, tapioca, cremes e sorvetes (Yuyama, 2008).

A polpa do tucumã é considerada uma fonte alimentícia altamente calórica devido ao elevado conteúdo de lipídios e uma quantidade significativa de β -caroteno, precursor da vitamina A, além de teores satisfatórios de fibra e vitamina E (Santos et al., 2015; Matos et al., 2019). Seus valores chegam a ser três vezes maiores que o encontrado na cenoura e até noventa vezes maior do que no abacate, suprimindo a dose diária necessária para crianças e adultos (Guedes, 2006; Ferreira, 2008). Devido à presença destes compostos, o fruto apresenta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas. O óleo extraído do mesocarpo, é considerado comestível, de cor amarela, e possui características organolépticas e nutritivas de alto valor para a indústria de alimentos e cosmética (Menezes et al., 2012).

As propriedades nutricionais do tucumã chamaram atenção de diversos pesquisadores que passaram a explorar o potencial da fruta para os mais diversos fins. Lira et al., (2012) estudaram o processo de conversão do resíduo de semente do tucumã em bio-óleo por pirólise rápida. E como resultado, os autores demonstraram que existe um grande potencial para o uso do bio-óleo proveniente do tucumã na produção de biocombustível, além da produção de alguns compostos de alto valor, como levoglucosan e guaiacol.

Manzato et al., (2017) apresentaram um novo método de extração de celulose do endocarpo do fruto e realizaram sua caracterização estrutural, morfológica e térmica. A partir dos resultados, foi possível indicar a utilização do caroço como fonte de celulose, conseqüentemente, de açúcares redutores que podem ser utilizados na produção de etanol de segunda geração. Ramos et al., (2018) conseguiram reduzir a produção de metano (CH₄) por ruminantes somente suplementando o óleo de tucumã na dieta desses animais. SAGRILLO et al., (2015) comprovaram que os extratos etanólicos obtidos da casca e polpa do tucumã diminuíram os efeitos citotóxicos do peróxido de hidrogênio nos linfócitos humanos.

A vasta aplicabilidade do tucumã agrega valor à palmeira e torna-o um grande atrativo para os mais diversos ramos industriais. No entanto, a cadeia produtiva do tucumã gera uma grande quantidade de resíduos florestais não madeireiros, como a casca (epicarpo), o endocarpo e a semente. Resíduos florestais não madeireiros referem-se a todos os produtos provenientes da floresta que não sejam madeira, como: folhas, frutos, flores, sementes dentre outros (Machado, 2008).

De acordo com Didonet et al., (2012), foram geradas 268,5 toneladas de resíduos provenientes do consumo de tucumã do Amazonas no período compreendido entre maio de 2011 e abril de 2012 na cidade de Manaus, com uma média mensal de 22,4 toneladas. Parte dos subprodutos gerados a partir do tucumã é reaproveitada, como por exemplo, o endocarpo na indústria de biojóias e a amêndoa na alimentação humana e na ração animal. Entretanto, há uma grande quantidade de material residual, como a casca, que poderia ser utilizada, agregando valor a este material que é geralmente descartado, muitas vezes em função do desconhecimento de suas propriedades ou por falta de opções tecnológicas.

Os trabalhos mais recentes que utilizam os subprodutos da cadeia produtiva do tucumã aplicam estes resíduos para a geração de energia através de pirólise rápida (Lira et al., 2013), extração de óleo da amêndoa para a alimentação (Costa et al., 2016), uso da casca como catalisador na produção de biodiesel (Mendonça et al., 2019) e uso da amêndoa para obtenção de biodiesel (Cruz et al., 2020). São poucos os trabalhos que mencionam a casca de tucumã como fonte de carbono na produção *on site* de enzimas (Fernandes, 2016; Souza, 2018).

3.7 Pré-tratamento da biomassa

O pré-tratamento atua sobre a biomassa lignocelulósica causando mudanças estruturais na parede celular como a área de superfície, cristalinidade e grau de polimerização da celulose, bem como reduzindo as barreiras físicas como o conteúdo de lignina e hemicelulose (Mosier et al., 2005; Gupta et al., 2009). As mudanças físicas e estruturais ocasionadas pelo pré-tratamento

tornam a celulose mais acessível às enzimas resultando em um maior rendimento na conversão de biomoléculas (Saini et al., 2015).

A etapa de pré-tratamento da biomassa é indispensável para a obtenção de moléculas de interesse biotecnológico, por isso muitas pesquisas tem sido realizadas para desenvolver o melhor pré-tratamento de acordo com a aplicação final, estes são classificados como: físicos, químicos, físico-químicos e biológicos, e possuem o mesmo objetivo que é reduzir a recalcitrância da biomassa e facilitar a obtenção dos produtos de interesse.

O pré-tratamento físico inclui principalmente a moagem da biomassa, esta etapa permite a redução da cristalinidade da celulose por meio da particularização da amostra. Em tamanhos menores, a área de superfície é aumentada, facilitando o acesso às biomoléculas de interesse (Kumar & Singh, 2018).

O pré-tratamento químico envolve principalmente o uso de ácidos ou bases. Na hidrólise ácida, a biomassa é modificada principalmente pela solubilização da hemicelulose, facilitando o acesso à celulose. No entanto, este tipo de pré-tratamento gera a alta formação de compostos inibidores, corrói os reatores e requer a neutralização do líquido hidrolisado para o descarte correto (Taherzadeh & Karimi, 2008). Na hidrólise alcalina, a celulose também passa a ser mais facilmente acessada pois, a lignina é o principal composto removido e o grau de polimerização da celulose é reduzido, além disso, durante este pré-tratamento há uma baixa formação de inibidores e a reação ocorre em condições brandas de temperatura e pressão. Contudo, as desvantagens desse processo incluem o custo do catalisador alcalino e o tempo de reação relativamente longo (Cheng et al., 2010; Tan et al., 2021).

O pré-tratamento biológico envolve o uso de enzimas ou microrganismos e assim como os demais pré-tratamentos apresentam suas vantagens e desvantagens. O pré-tratamento utilizando enzimas é realizado em condições moderadas e promove uma degradação seletiva da lignina, porém o tempo de reação é muito longo e a taxa de hidrólise pode ser muito baixa. Além disso, as enzimas podem ser facilmente inativadas. Por outro lado, os microrganismos são mais tolerantes às modificações do meio, mas esta metodologia demanda um longo tempo e um controle rigoroso das condições de crescimento (Canilha et al., 2012).

Outra forma de desconstrução da biomassa é o pré-tratamento físico-químico, que utiliza diversos métodos de atuação sobre a biomassa lignocelulósica como o de explosão de fibra de amônia (AFEx), ultra-som, autohidrólise ou pré-tratamento de explosão de vapor, pré-tratamento de oxidação úmida, pré-tratamento de explosão de CO₂ e o pré-tratamento hidrotérmico (Kumari & Singh, 2018). Entre os vários métodos de pré-tratamento físico-químico, o pré-tratamento hidrotérmico tem ganhado espaço frente as outras metodologias de

desconstrução da biomassa lignocelulósica pois é considerado uma tecnologia ambientalmente correta e mais econômica (Zheng et al., 2014; Fang et al., 2015).

Neste pré-tratamento, a pressão é utilizada para manter a água em estado líquido mesmo em altas temperaturas, promovendo uma alta solubilização da hemicelulose. As vantagens deste pré-tratamento incluem: A ausência de reagentes químicos, dispensa a necessidade de trabalhar com reatores resistentes a corrosão e menor geração de inibidores (Garrote et al., 1999; Brandon et al., 2008; Zheng et al., 2014). Baseado nestas propriedades este pré-tratamento já foi empregado em diferentes biomassas lignocelulósicas como bagaço de cana-de-açúcar (Laser et al., 2002), capim-elefante (Toscan, 2013), madeiras macias e duras (Nitsos et al., 2016) e bagaço de malte (Maione, 2019).

3.8 Hidrólise enzimática da biomassa

A estrutura da biomassa lignocelulósica a torna uma fonte rica em energia renovável e uma excelente fonte de obtenção de moléculas de interesse biotecnológico. A partir da hidrólise da celulose é possível obter glicose, da hemicelulose obtém-se principalmente xilose e a partir da hidrólise da lignina obtém-se uma série de compostos fenólicos.

Há duas principais metodologias utilizadas para realizar a hidrólise da biomassa, a hidrólise química e a hidrólise enzimática. A hidrólise química utiliza ácidos concentrados ou diluídos como catalisadores da reação, já na hidrólise enzimática a reação é catalisada por enzimas. A hidrólise enzimática apresenta uma série de vantagens frente a hidrólise ácida, como condições brandas de temperatura e pressão, especificidade da reação, menor formação de compostos indesejáveis, além de não requerer materiais altamente resistentes à corrosão.

Durante a hidrólise enzimática da biomassa lignocelulósica cada enzima atua sob um substrato específico liberando os produtos no caldo hidrolisado. As enzimas que atuam sob a celulose recebem o nome de celulases, um complexo enzimático formado por três principais grupos de enzimas, são elas: As endo-1,4- β -D-glucanases ou endoglucanases (EC 3.2.1.4) que hidrolisam as ligações β -1,4-glicosídicas nas regiões amorfas da celulose, atuando de forma randômica liberando celooligossacarídeos, as exo-1,4- β -D-glucanases ou celobiohidrolases (EC 3.2.1.91) que são enzimas processivas, divididas em celobiohidrolase I, que atua na extremidade redutora da cadeia de celulose e celobiohidrolase II, que atua na extremidade não redutora e as 1,4- β -D-glucosidades ou β -glicosidases (EC 3.2.1.21) que catalisam a hidrólise da celobiose, liberando monômeros de glicose. Estas enzimas possuem ação sinérgica, esse mecanismo permite a redução da ação inibitória causada pelos produtos liberados no meio. As enzimas fortemente inibidas pelo seu próprio produto de reação são as celobiohidrolases e as

β -glicosidases, inibidas por celobiose e glicose, respectivamente (Ogeda & Petri, 2010; Gupta et al., 2016; Florencio et al., 2017).

A hidrólise da hemicelulose requer um grupo mais variado de enzimas devido à sua estrutura heterogênea e ramificada. Este complexo enzimático envolve principalmente as endo- β -1,4-xilanase ou xilanases (EC 3.2.1.8) que hidrolisam aleatoriamente a cadeia principal de xilose, liberando xilooligossacarídeos, as exo- β -1,4-xilosidases ou β -xilosidase (EC 3.2.1.37) que hidrolisam xilooligossacarídeos curtos e produzem xilose e as α -L-arabinofuranosidases (EC 3.2.1.55) que hidrolisam as cadeias laterais de L-arabinosil (Saha, 2003; Dumon et al., 2012).

A lignina é outro composto presente na biomassa lignocelulósica, não constituído de polissacarídeo, que pode ser hidrolisado a produtos de interesse biotecnológico devido à sua estrutura fenólica. As enzimas que atuam sobre esses compostos incluem a manganês peroxidase, a lignina peroxidase e a lacase. As lacases (EC 1.10.3.2) atuam sobre substratos orgânicos e inorgânicos como os mono, di e polifenóis por meio de uma reação de oxidorredução (Mikolasch & Schauer, 2009; Pacheco & Soares, 2014).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização química das biomassas

Os procedimentos analíticos para caracterização química de biomassa foram realizados conforme metodologias preconizadas pelo *National Renewable Energy Laboratory* - NREL em seus *Laboratory analytical procedures* – LAP, pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) e pelas normas do Instituto Adolfo Lutz. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.1.1 Reagentes

Os reagentes químicos foram produzidos pela Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA), Merck (Darmstadt, Alemanha), Vetec Fine Chemical (Duque de Caxias, RJ, Brasil), Bio-Rad Laboratories (Hercules, CA, EUA), Química Moderna (Barueri, SP, Brasil), Quimibrás (Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e Dinâmica Química Contemporânea (Indaiatuba, SP, Brasil).

4.1.2 Matéria-prima

O caroço de açaí e a fibra da polpa de tucumã do Pará foram gentilmente cedidos pela Natura & Co (Benevides, PA, Brasil). As cascas de tucumã do Amazonas *in natura* foram obtidas nos mercados centrais de Manaus (AM, Brasil), após descascamento manual do fruto.

4.1.3 Preparo da amostra

A casca de tucumã do Amazonas *in natura* foi seca em estufa a 45 °C até peso constante, e triturada em moinho de facas tipo Willey Modelo MA-680. A fibra da polpa de tucumã do Pará e o caroço de açaí já foram recebidos secos e moídos. Todas as biomassas foram padronizadas no tamanho de partícula para 20 *mesh* (0,841 mm) em peneiras granulométricas e armazenadas em recipiente hermeticamente fechado, ao abrigo da luz, sob temperatura ambiente.

4.1.4 Determinação do teor de umidade

O teor de umidade foi determinado por analisador de umidade infravermelho automático Ohaus MB 25 conforme descrito por Sluiter et al., (2008).

4.1.5 Determinação de extrativos totais

A determinação de extrativos foi realizada pelo método gravimétrico utilizando o extrator soxhlet de acordo com o descrito por Sluiter et al., (2008). Assim, 1g ($\pm 0,1$ mg) de biomassa seca foi pesado e acondicionado em papel filtro nas medidas 11x5 cm e a um balão de fundo chato, foi adicionado 200 mL de álcool etílico. As amostras foram dispostas no dedal do extrator soxhlet conectado a um sistema de refrigeração e uma manta aquecedora. O sistema de refluxo foi realizado por 16 horas e o teor de extrativos foi determinado conforme equação 1.

$$\text{Extrativos (\%)} = \left(\frac{M_i - M_f}{m} \right) \times 100 \quad (1)$$

Em que:

M_i = Massa do cartucho + amostra inicial

M_f = Massa do cartucho + amostra após extração;

M = Massa da amostra em base seca.

4.1.6 Determinação de lignina total

O teor de lignina foi obtido pelo método de Klason conforme descrito por Sluiter et al., (2012). Para isto, 0,3 g ($\pm 0,1$ mg) de biomassa seca e livre de extrativos foram pesados em tubo de ensaio, seguido da adição de 3 mL de ácido sulfúrico 72%. Então, os tubos foram mantidos em banho maria a 30 °C por 60 minutos, após este tempo, os hidrolisados foram transferidos para um Erlenmeyer de 250 mL, seguido da adição de 84 mL de água deionizada. As amostras foram autoclavadas por 1 hora a 121 °C e, após resfriamento, filtradas em cadinho de placa sinterizada nº 2, previamente calcinado em mufla. Para determinação de lignina insolúvel, os cadinhos com os resíduos da hidrólise ácida foram armazenados em estufa a 105 °C até peso constante e a fração solúvel foi transferida para um balão volumétrico e completado o volume final para 250 mL. Em seguida, a fração solúvel foi analisada em espectrofotômetro nos comprimentos de onda ultravioleta a 215nm e 280nm. A lignina insolúvel foi determinada pela diferença de peso do cadinho vazio e o cadinho com os resíduos conforme equação 2 e a lignina solúvel foi determinada de acordo com a equação 3.

$$\text{Lignina Insolúvel (\%)} = \frac{m_1}{m_2} \times 100 \quad (2)$$

Em que:

% Lignina = Teor percentual de lignina klason insolúvel;

M1 = massa, em gramas, de lignina klason insolúvel seca;

M2 = massa, em gramas de biomassa inicial previamente seca em estufa 45°C.

$$\text{Lignina Solúvel (g/L)} = \frac{(4,53 \times A_{215}) - A_{280}}{300} \quad (3)$$

Essa equação é resultante da solução simultânea de duas equações:

$$A_{280} = 0,68 C_D + 18 C_L$$

$$A_{215} = 0,15 C_D + 70 C_L$$

Em que:

A_{280} = valores de absorvância da solução a 280 nm

A_{215} = valores de absorvância da solução a 215 nm

C_D = concentração de carboidratos (g/L)

C_L = concentração de lignina solúvel (g/L)

Os valores 0,68 e 0,15 são respectivamente as absorvâncias molares dos carboidratos em 280 nm e 215 nm, e os valores 18 e 70 são absorvâncias molares da lignina solúvel em 280 e 215 nm, respectivamente.

4.1.7 Determinação de carboidratos totais

A partir da hidrólise ácida também foi determinada a concentração de açúcares monoméricos presentes na fração solúvel, conforme descrito por Ferraz et al., (2000). A análise foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando uma coluna BIORAD HPX-87H a 65 °C, fluxo de 0,6 mL/min, eluição com ácido sulfúrico a 0,005 mol/L e os açúcares foram detectados em detector de índice de refração (Shimadzu RID-20A). A concentração dos açúcares solúveis foi determinada utilizando curvas padrão com diferentes concentrações de glicose, xilose, arabinose e ácido acético.

4.1.8 Determinação de proteínas totais

As proteínas totais foram determinadas pelo método de Kjeldahl conforme proposto nas normas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Em um papel livre de nitrogênio, foram pesados 0,3 g ($\pm 0,1$ mg) de biomassa seca e colocadas em tubo digestor, seguido da adição de 10 mL de solução catalisadora (sulfato de cobre pentaidratado, selênio em pó e ácido sulfúrico). As

amostras foram mantidas em bloco digestor Tecnal TE-04/25 seguindo o método da rampa de temperatura de acordo com o **Quadro 1**.

Quadro 1. Temperaturas utilizadas para o método de rampa de temperatura

Etapa	Temperatura	Tempo
1	100 °C	20 min
2	125 °C	20 min
3	150 °C	20 min
4	175 °C	20 min
5	200 °C	20 min
6	225 °C	20 min
7	250 °C	20 min
8	275 °C	20 min
9	300 °C	20 min
10	340 °C	2 horas

Após 2 horas, 1 mL de peróxido de hidrogênio PA foram adicionados, então a digestão ocorreu por mais 40 minutos. Por fim, foi adicionado 10 mL de água destilada.

A destilação foi realizada em destilador de nitrogênio Tecnal TE-036/1. Os tubos foram posicionados no sistema de fixação de tubo e os Erlenmeyer de 250 mL, com 25 mL de solução indicadora (Ácido bórico 4%; vermelho de metila e azul de metileno) foram posicionados no bico do condensador, onde permaneceram até a mudança de coloração da solução. O produto final, borato de amônio, foi titulado com solução de ácido clorídrico 0,05 N. A porcentagem de proteínas totais foi determinada conforme equação 4.

$$Proteínas (\%) = \frac{(V \times f \times 0,0014 \times 5,75 \times 100)}{P} \quad (4)$$

Em que:

V = volume gasto de HCl 0,05 N da amostra

f = fator de correção do HCl 0,05 N

0,0014 = mili equivalente grama do nitrogênio

5,75 = fator de conversão do nitrogênio em proteína de origem vegetal

P = peso da amostra (g)

4.1.9 Determinação de extrato etéreo

O teor de lipídios presente na amostra foi determinado por método gravimétrico utilizando extrator soxhlet conforme proposto pela AOAC (1990). Assim, 4 g ($\pm 0,1$ mg) de

biomassa foram pesadas em cartucho de papel filtro com chumaço de algodão no fundo, nas medidas 10x11 cm. Em um balão de fundo chato previamente seco em estufa 105 °C, foram adicionados 200 mL de éter de petróleo, as amostras foram acondicionadas no dedal do extrator soxhlet conectado a um sistema de refrigeração e uma manta aquecedora.

O sistema de refluxo foi mantido por 8 horas, e após o término, o balão retornou para a estufa 105 °C até peso constante. A porcentagem de lipídios na amostra foi determinada pela diferença de peso do balão vazio e peso do balão após a extração, conforme equação 5.

$$\text{Lipídeos (\%)} = (P2 - P1) \times 100 \times PA \quad (5)$$

Em que:

P2 = Peso do balão após a extração e secagem

P1 = Peso do balão vazio

PA= peso da amostra em gramas

4.1.10 Determinação de cinzas

A determinação do teor de cinzas foi realizada de acordo com o descrito por Sluiter et al., (2008). Os cadinhos de porcelana foram calcinados em mufla, resfriados em dessecador, e pesados em balança analítica. No cadinho tarado, foram pesados 1 g ($\pm 0,1$ mg) de biomassa, e então, o cadinho com a amostra foi acondicionado em forno de mufla e nas primeiras 2 horas foi mantida uma temperatura de 300 °C, e após este tempo, a temperatura foi ajustada para 575 °C e mantida por 4 horas. Posteriormente, os cadinhos foram acondicionados em dessecador para resfriamento e pesados. O teor de cinzas foi obtido pela diferença de peso inicial e final, conforme equação 6.

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{\text{Resíduo do cadinho (g)}}{\text{Peso amostra (g)}} \times 100 \quad (6)$$

4.1.11 Perfil de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos da casca de tucumã e da fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará foi determinado utilizando cromatógrafo a gás modelo CG solution da Shimadzu, com detector por ionização de chama e coluna capilar Carbowax (30mx0,25mm). Inicialmente, os ácidos graxos foram extraídos da amostra, assim 0,15 g ($\pm 0,1$ mg) de biomassa foi pesada em tubo de vidro com tampa rosqueável, em seguida, 1 mL de hexano foi adicionado e foi borbulhado nitrogênio. A amostra foi armazenada a 4 °C por 16 horas. Passado este tempo, a

solução de óleo em hexano foi transferida para um novo tubo para evaporação do solvente. Posteriormente, 0,4 mL de metóxido de sódio 0,4 M foi adicionado e os tubos foram mantidos em banho maria a 30 °C por 1 hora. Então, 1 mL de água deionizada e 1 mL de hexano foram adicionados, esta solução permaneceu em repouso e ao abrigo da luz por 1 hora. Em seguida, 0,750 mL da fase orgânica foi transferida para um novo tubo, onde foi adicionado sulfato de sódio anidro.

Após extração dos ácidos graxos, 1 µL de amostra foi injetado com o auxílio de uma seringa de 10. µL (Hamilton ®) em sistema Split = 5. O nitrogênio foi empregado como gás de arraste, em uma velocidade linear programada para 43.2 cm/s. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 200 °C e 220 °C, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi de 200 °C (mantida por 5 minutos), aumentando em 4 °C por minuto até atingir 220 °C (mantida por 20 minutos). O fluxo do gás de arraste na coluna foi de 1,0 mL/minuto.

4.1.12 Extração e quantificação de Carotenoides totais

A quantificação de carotenoides foi realizada pelo método descrito por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004). Assim, 1 g de amostra foi pesado e transferido para um almofariz de vidro contendo 3 g de celite. No almofariz, a extração inicial foi realizada com 30 mL de acetona e maceração. A mistura obtida foi filtrada em funil de buchner acoplado a um kitasato e bomba à vácuo. O extrato filtrado foi transferido para um funil de separação com 40 mL de éter de petróleo, e foi lavado três vezes com água destilada; na última lavagem foi adicionado sulfato de sódio anidro para auxiliar na separação de fases. A identificação e quantificação de carotenoides totais foi realizada em espectrofotômetro na faixa de espectro visível. Para determinação de licopeno, a absorvância foi de 470 nm e para β-caroteno, de 450 nm.

$$\text{Carotenoides totais } (\mu\text{g/g}) = \frac{AxVx10^4}{A_{1\text{cm}}^{1\%} xM} \quad (7)$$

Em que:

A = absorvância da solução no comprimento de onda de 470 nm para o licopeno e de 450 nm para o betacaroteno;

V = volume final da solução, em mL;

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$ = coeficiente de extinção molar ou coeficiente de absorvância molar de um pigmento em um determinado solvente específico (3450 para o licopeno e 2592 para o β-caroteno);

M = massa da amostra tomada para a análise.

4.1.13 Extração e quantificação de compostos fenólicos

A quantificação de compostos fenólicos foi determinada pelo método azul da prússia, de acordo com o descrito por Pueyo & Calio (2009). Assim 1g de amostra foi pesada em Erlenmeyer de 125 mL e a extração dos compostos foi realizada com a adição de 10 mL de solução de metanol a 60% por 15 minutos sob agitação de 180 rpm. Em seguida, a solução foi centrifugada a 10000 g por 5 minutos. O sobrenadante foi coletado e utilizado no ensaio de quantificação de compostos fenólicos. Então, 750 μ L de amostra diluída foi adicionada a um tubo de ensaio, seguido da adição de 50 μ L de cloreto férrico 0,5M e 50 μ L ferricianeto de potássio 0,5M. A reação ocorreu durante 5 minutos, ao abrigo da luz e em temperatura ambiente. A leitura foi realizada em espectrofotômetro na faixa de espectro visível a 700 nm. A concentração de compostos fenólicos foi calculada utilizando uma curva padrão construída com diferentes concentrações de ácido gálico.

4.2 Aplicação da casca do tucumã do Amazonas (*Astrocaryum aculeatum*) e fibra da polpa de tucumã do Pará (*Astrocaryum vulgare*) para produção de enzimas fúngicas

4.2.1 Microrganismos

Os fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Chrysosporthe cubensis*, *Trichoderma deliquescens* e *Ceratocystis fimbriata* foram obtidos do estoque de fungos do Laboratório de Análises Bioquímicas do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa (MG, Brasil).

4.2.2 Multiplicação e manutenção das culturas fúngicas

Os fungos foram cultivados em meio PDA a 28 °C por 7 dias. A ativação dos microrganismos foi realizada em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de meio líquido com a seguinte composição: Glicose 10 g/L; NH_4NO_3 1g/L; KH_2PO_4 1 g/L; MgSO_4 0,5 g/L e extrato de levedura 2 g/L. O meio líquido foi autoclavado por 15 minutos a 121 °C, e, após resfriamento, 10 discos de cada cultura foram inoculados em cada frasco e incubados em *shaker* por 5 dias, a 28°C e 150 rpm.

4.2.3 Produção de extrato enzimático bruto

O extrato bruto enzimático foi obtido a partir de fermentação em estado semi-sólido (FSS). O meio foi preparado em Erlenmeyers de 250 mL contendo 12,5g de fonte de carbono (casca de tucumã do Amazonas *in natura* e fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará processada) e 18,75 mL de meio mineral (NH_4NO_3 1 g/L; KH_2PO_4 1,5 g/L; MgSO_4 0,5 g/L, CuSO_4 0,25 g/L e extrato de levedura 2 g/L) contendo elementos traços (MnCl_2 0,1 mg/L; H_3BO_3 0,075 mg/L; Na_2MoO_4 0,02 mg/L; FeCl_3 1 mg/L e ZnSO_4 3,5 mg/L) com umidade final de 60%. Posteriormente, o meio foi autoclavado por 15 minutos a 121 °C e então inoculado com 8 mL do pré-inóculo, os frascos foram mantidos em incubadora BOD a 28°C por 7 dias. A extração das enzimas foi realizada com tampão acetato de sódio, 50 mM, pH 5, na proporção 10:1 (tampão: massa de substrato seco) sob agitação a 150 rpm por 60 minutos em temperatura ambiente. A fração líquida foi obtida por filtração em filtro de nylon, seguido de centrifugação a 10.000 x g por 10 minutos, o extrato enzimático foi congelado para análises posteriores.

4.2.4 Determinação de proteínas totais

A determinação de proteínas totais dos extratos enzimáticos foi realizada pelo método de Bradford (1976). O ensaio foi realizado com a adição de 800 µL de extrato enzimático diluído e 200 µL de reagente de Bradford, a reação ocorreu durante 15 minutos em temperatura ambiente ao abrigo da luz. A quantificação foi realizada por meio de leitura de absorbância a 595 nm em espectrofotômetro utilizando albumina sérica (BSA) como padrão.

4.2.5 Determinação de atividade enzimática

4.2.5.1 Açúcares redutores totais

As atividades enzimáticas foram determinadas utilizando papel de filtro Whatman nº 1 (1x6 cm, 50 mg) para determinação de celulase total, carboximetilcelulose (CMC) 1,25% (p/v) para determinação de endoglucanase, xilana *from beechwood* 1,25% (p/v), *locus bean gum* 0,625% (p/v) e ácido poligalacturônico 0,25% (p/v), para determinação de atividade enzimática de xilanase, mananase e poligalacturonase, respectivamente. Os açúcares redutores totais liberados durante os ensaios enzimáticos foram quantificados usando o ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) e a glicose como padrão (Miller, 1959).

Para os ensaios de CMC, xilanase, mananase e poligalacturonase, adicionou-se 200 μL de substrato diluído em tampão acetato de sódio 100 mM, pH 5 e 50 μL de extrato enzimático diluído. A mistura reacional foi mantida em banho-maria a 50 °C por 30 minutos para atividade de CMC, mananase e poligalacturonase e 15 minutos para atividade de xilanase. A reação foi paralisada pela adição de 250 μL de DNS, seguido de fervura por 5 minutos e adição de 500 μL de água destilada. A determinação de celulase total, o ensaio continha 1,4 mL de tampão acetato de sódio 100 mM, pH 5, um retângulo de papel filtro Whatman nº 1 e 100 μL de extrato enzimático diluído. A mistura reacional foi mantida em banho-maria a 50 °C por 60 minutos, e então, a reação foi paralisada pela adição de 500 μL de DNS, seguido de fervura por 5 minutos. Para todos os ensaios, foi realizado a leitura de absorbância a 540 nm em espectrofotômetro.

Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima que liberou 1 μmol do produto correspondente (glicose, xilose, manose, ácido galacturônico) por minuto, nas condições de ensaio utilizadas.

4.2.5.2 Ensaio de pNP

As atividades de β -glicosidase, α -glicosidase, β -xilosidase, β -galactosidase, α -galactosidase, α -arabinofuranosidase, β -celobiohidrolase e β -manosidase foram mensuradas utilizando os substratos sintéticos pnitrofenil β -D-glicopiranosídeo (ρ -NP β Glc), pnitrofenil α -D-glicopiranosídeo (ρ -NP α Glc), pnitrofenil β -D-xilopiranosídeo (ρ -NP β Xil), pnitrofenil β -D-galactopiranosídeo (ρ -NP β Gal), pnitrofenil α -D-galactopiranosídeo (ρ -NP α Gal), pnitrofenil α -D-arabinopiranosídeo (ρ -NP α Ara), pnitrofenil β -D-celobiopiranosídeo (ρ -NP β Cel) e pnitrofenil β -D-manopiranosídeo (ρ -NP β Man), respectivamente, conforme descrito por Visser et al., (2013). A mistura reacional foi preparada utilizando 35 μL de tampão acetato de sódio, 100 mM, pH 5,0, 50 μL do substrato sintético (ρ -NP) na concentração de 2 mM e 15 μL do extrato enzimático diluído. O tempo de incubação foi de 15 minutos a 50 °C e a reação foi paralisada com a adição de 100 μL de solução de carbonato de sódio 0,5M. A leitura da absorbância foi realizada a 410 nm e os valores convertidos em μmoles de pNP, utilizando uma curva padrão de ρ -Nitrofenol.

Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima que liberava 1 μmol de p-nitrofenol por minuto, nas condições de ensaio utilizadas.

4.2.5.3 Atividade de Lacase

A atividade da lacase foi determinada monitorando a oxidação do substrato ABTS. O ensaio enzimático foi realizado em tampão acetato de sódio, 100 mM, pH 5, a 50 °C. O meio reacional continha 100 µL da solução de enzima diluída, 350 µL do tampão e 50 µL de ABTS 10 mM. Essa mistura foi incubada por 15 min e, ao final do período de incubação, a absorbância foi imediatamente medida a 420 nm. A atividade da lacase foi calculada pelo princípio de Lambert-Beer, usando um coeficiente de extinção molar de $3,6 \times 10^4$ M.

4.2.6 Pré-tratamento hidrotérmico da casca de tucumã do Amazonas in natura

A casca de tucumã do Amazonas, previamente seca e moída, foi submetida a um pré-tratamento hidrotérmico antes da etapa de hidrólise enzimática. Para isto, foi utilizada uma carga de sólidos de 10% (m/v) e o pré-tratamento foi realizado em autoclave a 121 °C por 30 minutos. O material pré-tratado foi separado em fração líquida e sólida com o auxílio de um funil de Buchner e papel filtro. A fração sólida foi seca em estufa até peso constante para o cálculo de rendimento conforme a equação 8:

$$R(\%) = \left(\frac{M_f}{M_i} \right) * 100 \quad (8)$$

Em que:

R – Rendimento do pré-tratamento (%)

M_f – Massa seca inicial de biomassa (g)

M_i - Massa seca final de biomassa após pré-tratamento (g)

4.2.7 Hidrólise enzimática da biomassa pré-tratada

As enzimas utilizadas na hidrólise das biomassas pré-tratadas foram o extrato enzimático bruto produzido por *Chrysosporthe cubensis* e *Trichoderma deliquescens*, crescidos em ambas as biomassas, tucumã do Pará e tucumã do Amazonas. Além disso foi utilizado o coquetel comercial Cellic® CTec 2. Os extratos enzimáticos de *C. cubensis* e *T. deliquescens* foram concentrados 10 vezes usando um sistema de ultrafiltração Amicon® (Millipore Co. Billerica, MA, EUA) com um filtro de membrana (Cut-off Mr 10.000 Da).

Os ensaios de hidrólise enzimática da casca de tucumã do Amazonas pré-tratada hidrotérmicamente e da fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará (resultante do processo industrial) foram realizados em frascos Erlenmeyer de 125 mL com volume de trabalho de 50 mL, com uma carga inicial de sólidos de 10% (m/v) em tampão acetato de sódio 100 mM em pH 5,0. A carga da enzima foi especificada como 15 unidades de FPase por grama de biomassa seca. Também foram adicionados azida sódica (10 mM) e tetraciclina ($40 \mu\text{g mL}^{-1}$) para inibir a contaminação microbiana. A reação foi realizada em *shaker* de chão a 50 °C, 250 rpm, por 72 h. Alíquotas de 1,0 mL foram retiradas do meio reacional a cada 12 h para quantificação dos produtos de hidrólise. As alíquotas foram aquecidas a 100 °C, para inativação das enzimas, resfriadas e centrifugadas por 5 minutos a 15.000 x g. A conversão de polissacarídeos a açúcares fermentescíveis foi determinada utilizando as equações 9 e 10:

$$RH(\%) = \frac{\text{Quantidade de glicoseliberada}(g) \times 0,9 \times 100}{\text{Quantidade de celulose na biomassa pré - tratada}(g)} \quad (9)$$

$$RH(\%) = \frac{\text{Quantidade de xilose liberada}(g) \times 0,88 \times 100}{\text{Quantidade de hemicelulose na biomassa pré - tratada}(g)} \quad (10)$$

Em que:

RH = Rendimento da hidrólise;

0,9 = Fator de conversão de celulose à glicose;

0,88 = Fator de conversão de hemicelulose à xilose.

4.2.8 Análise dos produtos da hidrólise

A análise dos produtos de hidrólise foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando uma coluna BIORAD HPX-87H a 65 °C, fluxo de 0,6 mL/min, eluição com água deionizada e detector de índice de refração (Shimadzu RID-20A). Glicose, xilose, arabinose, ácido acético, ácido fórmico, hidroximetilfurfural e furfural foram utilizados como padrões.

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização química das biomassas

A caracterização química de uma biomassa vegetal é fundamental para a valorização adequada dos seus produtos e subprodutos. A partir do conhecimento de suas propriedades químicas e bioquímicas é possível otimizar processos, estabelecer um padrão de qualidade e calcular os custos de produção (Oliveira, 2013; Vaz-Júnior & Soares, 2014). Baseado neste princípio, realizou-se a caracterização química de subprodutos da cadeia produtiva de biomassas amazônicas: caroço de açaí, casca de tucumã do Amazonas *in natura* e fibra da polpa de tucumã do Pará, e os resultados estão descritos nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Caracterização química do caroço de açaí, casca de tucumã do Amazonas *in natura* e fibra da polpa de tucumã do Pará.

Composição (%)	Açaí	Tucumã do Amazonas	Tucumã do Pará
Celulose	22,54 ± 0,11	17,56 ± 0,12	19,55 ± 0,25
Hemicelulose	26,52 ± 0,33	16,84 ± 0,11	13,65 ± 0,07
Lignina	40,72 ± 0,13	26,80 ± 0,63	23,57 ± 0,86
Proteínas	3,72 ± 0,28	6,13 ± 0,28	9,53 ± 0,17
Cinzas	2,40 ± 0,22	5,28 ± 0,06	3,44 ± 0,07
Total (%)	95,90	72,61	69,74

Média ± Desvio padrão. Dados expressos em base seca

Tabela 2. Compostos fenólicos e carotenoides totais no caroço de açaí, na casca de tucumã do Amazonas e na fibra da polpa de tucumã do Pará.

Composição	Açaí	Tucumã do Amazonas	Tucumã do Pará
Compostos fenólicos (mg/g)	35,0 ± 0,002	35,0 ± 0,001	6,0 ± 0,001
Carotenoides totais (µg/g)	nd.	215 ± 9,62	62,32 ± 1,42

Média ± Desvio padrão. Dados expressos em base úmida nd: não detectado

5.1.1 Umidade

A determinação da umidade é uma etapa antecedente à caracterização da biomassa, pois, teores elevados de água podem contribuir para o crescimento microbiano e degradação da biomassa, além de diluir a concentração dos solventes utilizados nas etapas analíticas (Sluiter et al., 2011). As amostras de caroço de açaí e da fibra da polpa de tucumã do Pará, previamente secas, apresentaram umidade de 9,11% e 7,17%, respectivamente. As amostras de cascas de

tucumã do Amazonas *in natura*, obtidas após descascamento manual dos frutos, apresentou umidade de 57,2%.

De acordo com Foelkel (2016) e Deboni (2017), biomassas florestais apresentam um teor de umidade elevado e os números variam de acordo com a parte do vegetal. Os teores de umidade reduzidos nas amostras de caroço de açaí e de fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará justifica-se pelo processamento industrial pelo qual foram submetidas. Para realizar as análises posteriores, todas as biomassas foram caracterizadas com base no seu peso seco, sendo a umidade inferior a 10% conforme preconizado por Sluiter et al., (2011).

5.1.2 Extrato etéreo e perfil de ácidos graxos

O extrato etéreo pode ser definido como a soma de substâncias extraídas pelo éter de petróleo, que ao ser aquecido, remove da amostra substâncias como ácidos graxos livres, triglicerídeos, ceras, pigmentos e vitaminas (Cecchi, 2003; Galeriani & Cosmo, 2020). Dentre as biomassas analisadas, a fibra da polpa de tucumã do Pará, a casca de tucumã do Amazonas e o caroço de açaí apresentaram extrato etéreo equivalente a 30,3%, 28,0% e 0,46%, respectivamente.

O baixo percentual de extrato etéreo observado para o caroço de açaí encontra-se dentro dos valores relatados na literatura, variando de 0,6% a 4,9% (Altman, 1956; Townsend et al., 2001; Lima, 2015; Domingues et al., 2017; Cordeiro et al., 2019; Barros et al., 2021), tais variações são consideradas naturais quando a matéria-prima é de origem vegetal. Por outro lado, a alta concentração de extrato etéreo determinado na fibra da polpa de tucumã do Pará e na casca de tucumã do Amazonas deve-se à natureza oleaginosa das biomassas, sendo assim a fração de óleos também foi extraída pelo solvente.

Devido à alta concentração de lipídios observada na casca de tucumã do Amazonas e na fibra da polpa de tucumã do Pará, realizou-se o perfil de ácidos graxos presente no óleo extraído dessas biomassas. O perfil de ácidos graxos da casca de tucumã do Amazonas e da fibra da polpa de tucumã do Pará mostrou uma quantidade expressiva de ácido graxo insaturado, com predominância do ácido oleico, correspondendo a 70,8% e 72,40%, respectivamente.

Tabela 3. Perfil de ácidos graxos da casca de tucumã do Amazonas e da fibra da polpa de tucumã do Pará

Ácido Graxo	Nome comum	Tucumã do Amazonas	Tucumã do Pará
		(%)	(%)
C16	Ácido Palmítico	9,6 ± 0,02	8,0 ± 0,50
C18	Ácido Esteárico	5,2 ± 0,35	8,8 ± 0,26
C18:1	Ácido Oleico (ω 9)	70,8 ± 0,06	72,4 ± 0,63
C18:2	Ácido Linoleico (ω 6)	11,9 ± 0,35	9,6 ± 0,12
C18:3	Ácido α -Linolênico (ω 3)	2,3 ± 0,04	1,0 ± 0,00
Total (%)	-	100	99,97

Área (%) \pm Desvio Padrão

O perfil de ácidos graxos encontrados no óleo da casca de tucumã do Amazonas e na fibra da polpa de tucumã do Pará é muito semelhante ao encontrado em outros óleos vegetais, como o azeite de oliva. Crizel et al., (2018) relataram a análise de duas variedades de azeite de oliva extra virgem e como resultado, obtiveram uma composição majoritária de ácido oleico sendo igual a 73,5% e 78,5%.

O ácido oleico é considerado o ácido graxo monoinsaturado mais importante por estar associado à prevenção de doenças cardiovasculares, diminuindo o LDL colesterol e aumentando o HDL colesterol (Lima et al., 2000; Oliveira et al., 2012). Outro ácido observado no perfil de ácidos graxos de ambas as biomassas é o ácido linoleico, este ácido poliinsaturado é precursor de substâncias que desempenham funções celulares importantes como os ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA).

A predominância de ácidos graxos insaturados na casca de tucumã do Amazonas (85%) e na fibra da polpa de tucumã do Pará (83%) é característica de uma série de óleos vegetais com mercados bem estabelecidos no Brasil e no mundo como o óleo de girassol (90%), óleo de soja (85%) e óleo de milho (87%) (MAPA, 2004; Fuentes, 2011; Souza et al., 2020).

Vasconcelos (2010) determinou a composição de lipídios presente no óleo da casca de tucumã do Amazonas e no óleo da polpa de tucumã do Pará, e os resultados mostraram uma concentração de 22,24% e de 37,35%, respectivamente. Guedes (2006) analisou lotes diferentes de polpa de tucumã do Pará e descreve uma variação de 34% a 39% no teor de lipídios. Neste trabalho, os teores de lipídios observados para a fibra da polpa de tucumã do Pará e casca de tucumã do Amazonas pode ser até 4 vezes mais que o observado para a polpa de abacate (Nogueira-de-Almeida et al., 2018) e 10 vezes mais que a quantidade de lipídios descrita para a castanha (Míiguelez et al., 2004; Pereira-Lorenzo et al., 2006). Além disso, para a casca de tucumã do Amazonas é possível ainda inferir a presença de polifenóis, visto que estas

substâncias são ditas protetoras, e atuam contra ataques de insetos, microrganismos e outras condições de estresse (Naczk & Shahidi, 2004).

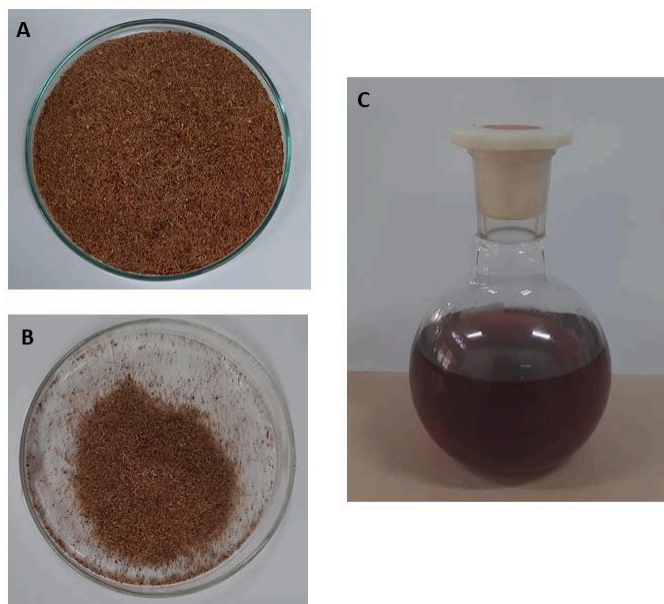
Diante disso, a casca de tucumã do Amazonas e a fibra da polpa de tucumã do Pará apresentam potencial em diferentes segmentos industriais, tais como: fonte para produção de óleos vegetais, suplemento na ração de animais, formulação de cosméticos e na alimentação humana. No entanto, para estabelecer o uso destes óleos, é necessário testes que o qualifiquem como apropriados para o consumo humano conforme preconizado pela RDC nº 270/2005 da ANVISA.

5.1.3 *Carotenoides totais e compostos fenólicos*

O conteúdo de compostos fenólicos quantificado no caroço de açaí correspondeu a 35,0 mg/g (**Tabela 2**). Os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário de plantas, essenciais para o crescimento e reprodução. Este grupo de compostos abrange uma série de moléculas com diferentes complexidades que se encontram na forma livre ou ligados a açúcares e proteínas (Costa et al., 2011).

Dentre os compostos fenólicos vegetais, as antocianinas são pigmentos naturais, responsáveis por uma grande variedade de cores e pertencentes ao grupo dos flavonóides (Cardoso et al., 2011). Como observado no presente estudo, o extrativo do caroço de açaí apresentou coloração arroxeadada (**Figura 1**), o que sugere a presença de compostos antocianínicos, os quais são facilmente removidos no processo de extração sucessiva com solventes orgânicos (Reátegui et al., 2014; Benvenuti et al., 2018). As antocianinas apresentam grande importância na dieta humana podendo ser considerada como uma importante aliada na prevenção/retardamento de doenças cardiovasculares, do câncer e doenças neurodegenerativas. Também, devido ao seu poder antioxidante, esta atua contra as espécies reativas de oxigênio, conferindo propriedades farmacológicas sendo utilizada para fins terapêuticos (Lopes et al., 2007; Cardoso et al., 2011).

Figura 1. Carço de açá moído com extrativos (A); Carço de açá moído livre de extrativos (B) e Fração líquida após remoção de extrativos (C).



Fonte: Autora (2021)

Neste estudo, a casca de tucumã do Amazonas apresentou elevado conteúdo de carotenoides totais, de 215 $\mu\text{g/g}$ e 35 mg/g de compostos fenólicos (**Tabela 2**). De acordo com Garcia (2012), a casca de tucumã do Amazonas é rica em polifenóis (790,9 \pm 43,65 $\text{mg}/100\text{g}$), flavonóides (77,9 \pm 0,02 $\text{mg}/100\text{g}$), taninos (26,4 \pm 0,01 $\text{mg}/100\text{g}$) e alcaloides (1,3 \pm 0,29 $\text{mg}/100\text{g}$), além de conter 69,45 $\mu\text{g/g}$ de carotenoides e 31,6% de lipídios (Nunes et al., 2013; Silva et al., 2018). Já para a fibra da polpa de tucumã do Pará, o conteúdo de carotenoides foi de 62,32 $\mu\text{g/g}$ enquanto foi quantificado apenas 6,0 mg/g de compostos fenólicos (**Tabela 2**). De acordo com Ferreira et al., (2008) o tucumã do Pará apresenta uma concentração de carotenoides igual a 147 ($\mu\text{g/g}$) só na casca e 116 ($\mu\text{g/g}$) na polpa do fruto. Os menores valores observados no presente estudo, estão associados ao fato de esta biomassa ser proveniente de processos industriais. A casca de tucumã do Amazonas e a fibra da polpa de tucumã do Pará são biomassas oleaginosas, portanto infere-se que a coloração amarela observada na fração líquida dos extrativos dessas biomassas seja proveniente da interação de lipídios e carotenoides, com o solvente orgânico utilizado (**Figura 2**).

Figura 2. Fibra da polpa de tucumã do Pará moída com extrativos (A); Fibra da polpa de tucumã do Pará moída livre de extrativos (B); Fração líquida após remoção de extrativos da fibra da polpa de tucumã do Pará (C); Casca de tucumã do Amazonas in natura moída com extrativos (D); Casca de

tucumã do Amazonas in natura moída livre de extrativos (E); Fração líquida após remoção de extrativos da casca de tucumã do Amazonas in natura (F).



Fonte: Autora (2021)

5.1.4 *Lignina total*

O caroço de açaí mostrou uma concentração de 40,7% de lignina, resultado semelhante ao trabalho realizado por Barbosa et al., (2019), em que o conteúdo de lignina do caroço de açaí foi obtido pela metodologia preconizada pela TAPPI T 222 om-02 resultando em um teor de 47,9%. A análise do conteúdo de lignina na casca de tucumã do Amazonas e na fibra da polpa de tucumã do Pará revelou que os teores desse composto se encontram dentro dos níveis relatados na literatura para materiais lignocelulósicos, sendo iguais a 26,8% e 23,5%, respectivamente.

Concentrações elevadas de lignina em uma biomassa podem assumir um caráter positivo ou negativo, a depender da aplicação final. No processo de hidrólise enzimática para a obtenção de açúcares fermentescíveis, este polímero pode atuar como uma barreira física para as enzimas dificultando o acesso aos polissacarídeos de interesse (Ko et al., 2014; Santos et al., 2019). Por outro lado, a estrutura aromática da lignina é ideal para a produção de uma série de compostos químicos (Santos, 2010; Leitão et al., 2017).

Dentre as biomassas aqui estudadas, o caroço de açaí é a mais promissora na aplicação industrial devido à alta concentração de lignina presente na biomassa residual, podendo ser utilizado para a obtenção de materiais poliméricos como poliésteres, poliamidas e resinas (Salve, 2020) e como molécula com propriedade adsorvente, sendo utilizada no tratamento de efluentes da indústria têxtil (Cemin, 2019). Enquanto a casca de tucumã do Amazonas e a fibra

da polpa de tucumã do Pará podem ser destinados para a produção de biocombustíveis, como bioetanol e biodiesel, devido ao menor conteúdo de lignina quando comparado ao caroço de açaí.

5.1.5 *Carboidratos*

A celulose é o principal componente estrutural da parede celular vegetal e consiste em unidades de glicose anidra (Saini et al., 2015), enquanto que a hemicelulose é um polímero de pentoses e hexoses que realiza a ligação entre a celulose e a lignina de uma biomassa (Holtzaple, 1993).

A análise cromatográfica indicou que a celulose do caroço de açaí constitui 22,5% da biomassa, enquanto que a hemicelulose constitui 26,5%. Os dados disponíveis na literatura referentes à composição do caroço de açaí variam quanto aos métodos de análise utilizados. O conteúdo de celulose e hemicelulose no caroço de açaí foi relatado como 34,4% e 12,2%, respectivamente (Altman, 1956), como 45,3% e 18,2% respectivamente (Oliveira, 2014) e como 5,4% e 33,2%, respectivamente (Lima, 2015). As diferenças observadas no conteúdo de polissacarídeos podem ser atribuídas à uma série de fatores como a variedade da cultura, clima, época da colheita, dentre outros (Kandel et al., 2013; Szczerbowski et al., 2014).

Para a casca de tucumã do Amazonas o conteúdo de celulose e hemicelulose foi equivalente a 17,5% e 16,8% da biomassa, respectivamente. O conteúdo de celulose na casca de tucumã do Amazonas equipara-se a casca de outros frutos como o observado no estudo de Veveris et al., (2007) para a casca de limão e laranja que apresentaram um conteúdo celulolítico igual a 12,7% e 13,6%, respectivamente. A porção hemicelulolítica da casca de tucumã do Amazonas apresentou valores aproximados ao conteúdo de hemicelulose relatado para capim elefante com 9,19% e caule de girassol com 11,9% (Nargotra et al., 2018; Lu et al., 2019).

A celulose constitui 19,5% da fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará, enquanto que a hemicelulose constitui 13,6%. Este conteúdo de hemicelulose é semelhante ao descrito para outras biomassas residuais como a palha de milho, palha de trigo e palha de cana com conteúdo de hemicelulose de 13,9%, 15,5% e 18,8%, respectivamente (Lu et al., 2019). A fração celulolítica equipara-se a outros materiais lignocelulósicos comuns como resíduos de banana com 13,2%, folhas 15-20% e outros resíduos agrícolas com 5-15% (Kumar & Sharma, 2017).

5.1.6 Proteínas

A concentração de proteínas foi determinada pelo método de Kjeldahl e os resultados obtidos estão descritos na **Tabela 1**. O caroço de açaí apresentou uma concentração de 3,72% de proteínas, valor semelhante ao descrito por Silva et al., (2018) e Townsend et al., (2001) que relataram as características químico-bromatológicas do caroço de açaí e obtiveram uma concentração de proteínas igual a 3,86% e com variações de 4% a 5,3%, respectivamente. Segundo Townsend et al., (2001), concentrações proteicas inferiores a 7% indicam um resíduo de baixo valor nutritivo impedindo a sua utilização na alimentação animal, por exemplo.

A baixa concentração de proteínas é observada em vários estudos utilizando caroços e sementes de frutos, sendo igual a 2,16% para o caroço de abacate (Ferrari 2015), 1,12% para a semente de goiaba (Silva, 2011) e 4,39% para o caroço de manga (Vieira, 2009). As proteínas são uma importante fonte de nitrogênio para microrganismos e animais, pois a partir da hidrólise das cadeias polipeptídicas, obtém-se peptídeos e aminoácidos essenciais para o desenvolvimento e manutenção do organismo (Silva & Silva, 2009).

A casca de tucumã do Amazonas apresentou uma concentração de proteínas igual a 6,13% e a fibra da polpa de tucumã do Pará igual a 9,53%. Os dados disponíveis na literatura referentes à concentração de proteínas na casca de tucumã do Amazonas apresentaram uma grande variação. Silva (2016) e Vasconcelos (2010) relataram uma concentração de proteínas de 7,5% e 10,09%, respectivamente, enquanto que valores muito inferiores foram descritos por Leitão (2008), 3,39%. O mesmo foi observado para a fibra da polpa de tucumã do Pará. Bora et al., (2001) descreveram uma concentração de proteínas igual a 8,44%, em contrapartida, Ferreira et al., (2009) relataram uma concentração de proteínas igual a 3,54%.

As variações observadas entre os estudos anteriormente citados e os dados apresentados neste trabalho podem ser justificadas por dois fatores: 1- Alguns trabalhos expressam os dados da concentração de proteínas em base úmida, neste estudo as análises foram realizadas em base seca. A remoção da umidade é a primeira etapa durante o processo de caracterização química da biomassa, pois a água presente no meio interfere na qualidade e estabilidade do material (Terra et al., 2007). Dados expressos em base seca apresentam um valor mais concentrado do nutriente presente na amostra, uma vez que não há água livre no meio; 2 – O fator de conversão de nitrogênio a proteína utilizado neste trabalho foi de 5,75 conforme preconizado pela RDC nº40/2011 da ANVISA para proteínas de origem vegetal. Alguns trabalhos utilizam o fator de conversão igual a 6,25 e, de acordo com a resolução, este valor é determinado para proteína animal ou misturas proteicas.

5.1.7 Cinzas

A determinação de cinzas foi realizada pelo método gravimétrico e os resultados estão descritos na **Tabela 1**. A casca de tucumã do Amazonas apresentou um teor de cinzas de 5,28%, aproximadamente 2,5 vezes mais que o encontrado para o caroço de açaí (2,40%) e 1,5 vezes mais que na fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará (3,44%). A fibra da polpa de tucumã do Pará apresentou teores de cinzas ligeiramente maiores que o observado na literatura. Vasconcelos (2010) registrou um teor de cinzas de 2,49% e Guedes (2006) relata um teor de 1,74% de cinzas. O mesmo é observado para o caroço de açaí, Bufalino et al., (2018) descreve um teor de cinzas de 1,09% e Silva et al., (2020) um teor de 1,75%. Teores elevados de cinzas podem ocorrer em biomassas provenientes da indústria, pois durante a operação, transporte e armazenamento do material pode ocorrer a contaminação por resíduos minerais presentes no solo e/ou recipientes de armazenamento (Neiva et al., 2018; Carvalho et al., 2021).

Polachini et al., (2020) obtiveram um resultado de teor de cinzas muito semelhante ao observado para a casca de tucumã do Amazonas, variando de 4,84% a 5,13% na casca de mandioca, enquanto que no bagaço da mandioca os valores observados foram entre 2,89% e 2,99%. De acordo com Neiva et al., (2018), o teor de cinzas encontrado para as cascas de materiais vegetais pode ser sete vezes maior que o encontrado para as outras partes do mesmo vegetal, visto que as cascas possuem a função de proteção, logo, possuem um teor elevado de minerais que contribuem para a rigidez e dificultam o ataque de patógenos. Isso pode ser observado em outras cascas de materiais vegetais como a casca de maracujá com teor de cinzas de 6,04% (Macagnan et al., 2015) e para a casca do cacau com 10,86% (Martins et al., 2020).

5.2 Enzimas produzidas por fungos filamentosos cultivados em casca de tucumã do Amazonas e fibra da polpa de tucumã do Pará

Para avaliar a eficiência da fibra da polpa de tucumã do Pará e da casca de tucumã do Amazonas como fonte de carbono na produção de enzimas fúngicas, após o cultivo de fungos selecionados, foram determinadas as atividades de celulases, hemicelulases, poligalacturonase e lacase. A seleção dos fungos foi realizada de acordo com resultados anteriores do nosso grupo de pesquisa, que indicaram esses fungos como promissores para produção de enzimas lignocelulolíticas, com potencial para degradação de diferentes biomassas (Coura, 2012; Costa, 2013; Falkoski et al., 2013; Leal, 2015). As biomassas testadas neste estudo foram capazes de induzir a produção de uma grande variedade de enzimas do complexo celulolítico e de

ligninases como a lacase. As atividades enzimáticas variaram de acordo com o fungo produtor do extrato enzimático e a biomassa testada (Tabelas 1, 2, 3 e 4).

Tabela 3. Atividade enzimática (U/mL) e concentração de proteínas (mg/mL) dos extratos brutos produzidos pelos fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Chrysosporthe cubensis*, *Trichoderma deliquescens* e *Ceratocystis fimbriata* crescidos na casca de tucumã do Amazonas *in natura*.

Atividade (U/mL)	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Chrysosporthe cubensis</i>	<i>Trichoderma deliquescens</i>	<i>Ceratocystis fimbriata</i>
FPase	0,386 ± 0,017	0,457 ± 0,094	0,671 ± 0,080	0,519 ± 0,081	0,485 ± 0,173
Endoglucanase	0,119 ± 0,002	0,157 ± 0,023	0,085 ± 0,012	0,111 ± 0,041	0,041 ± 0,010
Xilanase	0,343 ± 0,046	0,318 ± 0,013	0,210 ± 0,004	0,095 ± 0,021	0,058 ± 0,006
Poligalacturonase	0,219 ± 0,077	0,255 ± 0,033	0,409 ± 0,021	1,072 ± 0,071	0,307 ± 0,006
Mananase	0,047 ± 0,005	0,142 ± 0,054	0,093 ± 0,010	0,059 ± 0,021	0,052 ± 0,004
Lacase	nd.	nd.	0,064 ± 0,006	0,002 ± 0,000	0,004 ± 0,001
β-glicosidase	nd.	0,007 ± 0,005	0,060 ± 0,003	0,004 ± 0,001	0,014 ± 0,003
α-glicosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
β-xilosidase	nd.	nd.	0,002 ± 0,000	nd.	nd.
β-galactosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
α-galactosidase	nd.	0,007 ± 0,007	0,002 ± 0,000	0,003 ± 0,002	nd.
α-arabinofuranosidase	nd.	nd.	0,004 ± 0,001	nd.	nd.
β-celobiohidrolase	nd.	nd.	0,018 ± 0,000	nd.	nd.
β-manosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
Proteína (mg/mL)	0,114 ± 0,011	0,182 ± 0,024	0,063 ± 0,002	0,089 ± 0,004	0,102 ± 0,018

Média ± Desvio Padrão; nd: Não detectado.

Tabela 4. Atividade específica (U/mg de proteína) dos extratos brutos produzidos pelos fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Chrysosporthe cubensis*, *Trichoderma deliquescens* e *Ceratocystis fimbriata* crescidos na casca de tucumã do Amazonas *in natura*.

Atividade (U/mg de proteína)	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Chrysosporthe cubensis</i>	<i>Trichoderma deliquescens</i>	<i>Ceratocystis fimbriata</i>
FPase	3,397 ± 0,184	2,494 ± 0,185	10,588 ± 0,863	5,834 ± 0,674	4,688 ± 0,860
Endoglucanase	1,048 ± 0,087	0,876 ± 0,245	1,342 ± 0,143	1,263 ± 0,516	0,404 ± 0,028
Xilanase	3,043 ± 0,699	1,763 ± 0,309	3,343 ± 0,166	1,071 ± 0,275	0,583 ± 0,165
Poligalacturonase	2,092 ± 0,279	1,580 ± 0,311	6,621 ± 0,280	12,199 ± 0,931	2,683 ± 0,730
Manase	0,473 ± 0,070	0,675 ± 0,156	1,511 ± 0,002	0,753 ± 0,132	0,543 ± 0,150
Lacase	nd.	nd.	1,018 ± 0,126	0,019 ± 0,000	0,044 ± 0,017
β-glicosidase	nd.	nd.	0,946 ± 0,007	0,043 ± 0,015	0,140 ± 0,050
α-glicosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
β-xilosidase	nd.	nd.	0,064 ± 0,005	nd.	nd.
β-galactosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
α-galactosidase	nd.	0,040 ± 0,045	0,027 ± 0,006	0,037 ± 0,016	
α-arabinofuranosidase	nd.	nd.	0,067 ± 0,014	nd.	nd.
β-celobiohidrolase	nd.	nd.	0,279 ± 0,006	nd.	nd.
β-manosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.

Média ± Desvio Padrão; nd: Não detectado.

Tabela 5. Atividade enzimática (U/mL) e concentração de proteínas (mg/mL) dos extratos brutos produzidos pelos fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Chrysosporthe cubensis*, *Trichoderma deliquescens* e *Ceratocystis fimbriata* crescidos na fibra da polpa de tucumã do Pará.

Atividade (U/mL)	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Chrysosporthe cubensis</i>	<i>Trichoderma deliquescens</i>	<i>Ceratocystis fimbriata</i>
FPase	0,427 ± 0,070	0,410 ± 0,033	0,553 ± 0,098	0,451 ± 0,071	0,312 ± 0,054
Endoglucanase	0,187 ± 0,019	0,116 ± 0,018	0,164 ± 0,0077	0,194 ± 0,094	0,202 ± 0,018
Xilanase	0,358 ± 0,164	0,114 ± 0,014	0,350 ± 0,029	0,243 ± 0,024	0,066 ± 0,019
Poligalacturonase	0,111 ± 0,035	0,058 ± 0,016	0,242 ± 0,021	0,470 ± 0,162	0,092 ± 0,037
Manase	0,205 ± 0,020	0,124 ± 0,003	0,161 ± 0,011	0,370 ± 0,056	0,137 ± 0,012
Lacase	nd.	nd.	0,061 ± 0,059	0,002 ± 0,000	nd.
β-glicosidase	nd.	nd.	0,021 ± 0,007	nd.	nd.
α-glicosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
β-xilosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
β-galactosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
α-galactosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
α-arabinofuranosidase	nd.	nd.	0,012 ± 0,005	nd.	nd.
β-celobiohidrolase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
β-manosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
Proteína (mg/mL)	0,116 ± 0,013	0,117 ± 0,000	0,077 ± 0,015	0,096 ± 0,023	0,106 ± 0,000

Média ± Desvio Padrão; nd: Não detectado.

Tabela 6. Atividade específica (U/mg de proteína) dos extratos brutos produzidos pelos fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Chrysosporthe cubensis*, *Trichoderma deliquescens* e *Ceratocystis fimbriata* crescidos na fibra da polpa de tucumã do Pará.

Atividade (U/mg de proteína)	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Chrysosporthe cubensis</i>	<i>Trichoderma deliquescens</i>	<i>Ceratocystis fimbriata</i>
FPase	3,683 ± 0,195	3,510 ± 0,280	7,171 ± 0,162	4,751 ± 0,398	2,937 ± 0,522
Endoglucanase	1,637 ± 0,341	0,991 ± 0,153	2,060 ± 0,582	1,963 ± 0,514	1,908 ± 0,161
Xilanase	3,108 ± 0,972	0,976 ± 0,122	4,695 ± 0,376	2,644 ± 0,878	0,596 ± 0,146
Poligalacturonase	0,837 ± 0,047	0,503 ± 0,135	3,204 ± 0,278	5,144 ± 0,475	0,857 ± 0,097
Manase	1,791 ± 0,367	1,060 ± 0,025	2,046 ± 0,368	3,902 ± 0,351	1,287 ± 0,105
Lacase	nd.	nd.	0,875 ± 0,947	0,024 ± 0,001	nd.
β-glicosidase	nd.	nd.	0,288 ± 0,154	nd.	nd.
α-glicosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
β-xilosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
β-galactosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
α-galactosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
α-arabinofuranosidase	nd.	nd.	0,164 ± 0,100	nd.	nd.
β-celobiohidrolase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.
β-manosidase	nd.	nd.	nd.	nd.	nd.

Média ± Desvio Padrão; nd: Não detectado.

Os extratos enzimáticos produzidos pelo fungo *Aspergillus niger* crescido na casca de tucumã do Amazonas e na fibra da polpa de tucumã do Pará apresentaram concentração de proteínas de 0,114 mg/mL e de 0,116 mg/mL, respectivamente. Foram detectadas as atividades enzimáticas de FPase, endoglucanase, xilanase, poligalacturonase e mananase em ambos os extratos. Destaca-se aqui as atividades específicas de xilanase de 3 U/mg no extrato enzimático de *A. niger* crescido na casca de tucumã do Amazonas e 4 U/mg no extrato de *A. niger* crescido na fibra da polpa de tucumã do Pará. O fungo *A. niger* possui muitas aplicações na indústria devido ao seu conjunto de enzimas hidrolíticas e oxidativas (Costa, 2011) e grande adaptabilidade à substratos, crescendo em diversas fontes de carbono, como sabugo de milho, bagaço de cana-de-açúcar, farelo de trigo e farelo de cacau (Rodríguez-Zúñiga et al., 2011; Santos et al., 2013; Cavalcante et al., 2018; Alves et al., 2020).

Para os extratos enzimáticos produzidos pelo fungo *Penicillium chrysogenum* cultivado em casca de tucumã do Amazonas e na fibra da polpa de tucumã do Pará, as concentrações de proteínas foram de 0,182 mg/mL e de 0,117 mg/mL, respectivamente. Este fungo foi capaz de produzir enzimas do complexo celulolítico nas duas fontes de carbono testadas, tendo sido detectadas as atividades de FPase, xilanase e poligalacturonase. Destacaram-se as atividades específicas de FPase de 3,5 U/mg e 2,49 U/mg, induzidas pela fibra da polpa de tucumã do Pará e pela casca de tucumã do Amazonas, respectivamente. Os fungos do gênero *Penicillium* spp. são encontrados nos mais diversos tipos de habitats, especialmente no solo e ambientes úmidos e, por ser natural do solo, o *P. chrysogenum* desenvolveu várias enzimas como forma de sobrevivência nos nichos locais, incluindo celulasas (Van den Berg, 2011).

O fungo *Chrysosporthe cubensis* é um excelente produtor das enzimas do complexo celulolítico e é capaz de crescer em diversos substratos como sabugo de milho, polpa kraft, bagaço de cana-de-açúcar e farelo de trigo (Falkoski et al., 2013; Maitan-Alfenas, 2015). Os extratos enzimáticos produzidos por *Chrysosporthe cubensis* crescido na casca de tucumã do Amazonas e na fibra da polpa de tucumã do Pará apresentaram concentração de proteínas de 0,063 mg/mL e de 0,077 mg/mL, respectivamente. Dos microrganismos testados neste estudo, este foi o maior produtor de enzimas celulolíticas, em ambas as fontes de carbono testadas, com destaque para as atividades específicas de 10,58 U/mg de FPase, 3,34 U/mg de xilanase, 6,62 U/mg de poligalacturonase e 1 U/mg de lacase, quando cultivado na casca de tucumã do Amazonas e 7 U/mg de FPase, 4,6 U/mg de xilanase e 0,8 U/mg de lacase quando o cultivo foi realizado na fibra da polpa de tucumã do Pará. Estes resultados comprovam dados anteriores (Falkoski et al., 2013) que mostram que o fungo *C. cubensis* destaca-se como fonte para

produção de uma grande variedade de enzimas e com atividades relativamente superiores a outros fungos filamentosos.

Os extratos enzimáticos produzidos por *Trichoderma deliquescens* apresentaram concentração de proteínas de 0,089 mg/mL na casca de tucumã do Amazonas e de 0,096 mg/mL na fibra da polpa de tucumã do Pará. Fungos do gênero *Trichoderma* spp. são excelentes produtores de enzimas, especialmente as celulolíticas, e são utilizados em larga escala na indústria e na pesquisa, devido à capacidade de adaptação a diversos ambientes e substratos (Leal, 2015). Neste estudo, o *T. deliquescens* foi capaz de secretar uma gama de enzimas celulolíticas, com destaque para as atividades específicas de 4,7 U/mg de FPase e 2,6 U/mg de xilanase no extrato obtido da fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará e 12,1 U/mg de poligalacturonase para o extrato obtido da casca de tucumã do Amazonas.

O *Ceratocystis fimbriata* é um fungo de solo que apresenta capacidade de desenvolvimento e adaptabilidade em variados resíduos agroindustriais como farelo de trigo e casca de mandioca (Coura, 2012; Araújo, 2016). Para o extrato enzimático produzido por *C. fimbriata* cultivado na casca de tucumã do Amazonas e na fibra da polpa de tucumã do Pará, as concentrações de proteínas foram de 0,102 mg/mL e de 0,106 mg/mL, respectivamente. Este fungo foi capaz de produzir muitas das enzimas testadas neste estudo, incluindo lacase e β -glicosidase.

Os fungos filamentosos são excelentes degradadores de biomassa lignocelulósica na natureza, pois utilizam os açúcares liberados pela degradação da celulose como fonte de carbono. Para atuarem sobre esses substratos, esses fungos produzem uma ampla variedade de enzimas que são capazes de degradar e metabolizar a biomassa recalcitrante (Gupta et al., 2016; Florencio et al., 2017). Embora os microrganismos sejam os secretores das enzimas degradadoras da biomassa vegetal, a estratégia de cultivo e a fonte de carbono utilizada para a produção de enzimas *on-site* interfere muito no coquetel enzimático final.

Neste estudo, os extratos enzimáticos fúngicos foram obtidos por fermentação em estado semi-sólido, utilizando como fonte de carbono a casca de tucumã do Amazonas *in natura* e a fibra da polpa de tucumã do Pará. A fermentação em estado semi-sólido apresenta vantagens frente a fermentação submersa por mimetizar o ambiente em que os fungos crescem na natureza, gerar maior produtividade dos coquetéis enzimáticos, obter enzimas mais estáveis (quanto a pH e temperatura), permitir a utilização de resíduos agroindustriais como fonte de carbono, dentre outras (Barrios-González, 2012; Thomas et al., 2013).

Por ser uma biomassa *in natura* e ter seus constituintes íntegros, a casca de tucumã do Amazonas foi capaz de induzir uma maior quantidade de enzimas do complexo celulolítico e

foi também capaz de induzir as maiores atividades enzimáticas nos extratos brutos dos fungos *A. niger*, *P. chrysogenum*, *C. cubensis*, *T. deliquescens* e *C. fimbriata*, quando comparada à fibra da polpa de tucumã do Pará. De acordo com Santos (2016) e Souza (2018) a casca de tucumã do Amazonas é uma excelente fonte de carbono na produção de lacase por *Pleurotus nebrodensis*, sendo capaz de induzir a produção da enzima sem haver a necessidade de suplementação do meio.

A composição da biomassa lignocelulósica está intimamente relacionada à produtividade dos coquetéis enzimáticos fúngicos. A casca de tucumã do Amazonas é constituída por 17,5% de celulose e 16,8% de hemicelulose, enquanto a amostra de fibra da polpa de tucumã do Pará foi constituída de 19,5% de celulose e 13,6% de hemicelulose (**Tabela 1**) e segundo Gupta et al., (2016) a presença destes polissacarídeos no meio estimula a produção de enzimas extracelulares que catalisam a quebra destes polissacarídeos em monômeros facilmente absorvidos pelos microrganismos. Além disso, essas biomassas continham expressiva concentração de proteínas, sendo 6,1% e 9,5% para a casca de tucumã do Amazonas e fibra da polpa de tucumã do Pará, respectivamente, que enriquecem o meio de cultivo e permitem maior eficiência dos fungos na síntese e secreção de enzimas. Em adição, a casca de tucumã do Amazonas e fibra da polpa de tucumã do Pará continham razoável concentração de lignina, em torno de 26,6 % e 23,6 %, respectivamente, o que pode induzir a expressão de ligninases pelos fungos.

A utilização de subprodutos lignocelulósicos para a produção de enzimas por microrganismos é uma alternativa que se encaixa na utilização racional e sustentável de recursos naturais. Ao utilizar estes subprodutos na produção de enzimas, há uma redução no custo de produção, além de agregar valor a esse subproduto, geralmente descartado erroneamente ocasionando problemas ambientais. Diante disto, vários estudos são realizados com foco na utilização de subprodutos lignocelulósicos. Awan et al., (2013) e Cypriano (2015), avaliaram o potencial da biomassa de casca de laranja como fonte de carbono na produção de enzimas hidrolíticas por *Xanthomonas axonopodis* como a FPase. As atividades de celulase total descritas pelos autores foram inferiores as obtidas neste estudo, sendo iguais a 0,040 U/mL e 0,118 U/mL, respectivamente.

Alexandrino et al., (2007), induziram a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus* e, após cinco dias de cultivo, descreveram as atividades específicas de xilanase igual a 0,65 U/mg e endoglucanase igual a 0,43 U/mg. Kupsi (2012) descreveu as atividades máximas de endoglucanase igual a 0,128 U/mg e 0,156 U/mg e celulase total igual

a 0,153U/mg e 0,078U/mg induzida via fermentação sólida utilizando concentrações diferentes de casca de arroz pelos fungos *Rhizopus oryzae* e *Trichoderma Reesei*, respectivamente.

A fibra da polpa de tucumã do Pará apresenta conteúdos maiores de celulose e hemicelulose, com 19,5% e 13,6%, respectivamente. No entanto, esta biomassa induziu a produção de coquetéis enzimáticos inferiores em termos de quantidade de enzimas e atividade enzimática. Esta diferença pode ser justificada pelo processamento pelo qual a biomassa foi anteriormente submetida. Scholl (2014) realizou a produção de celulasas e xilanasas por *Penicillium echinulatum* utilizando capim-elefante pré-tratado por explosão a vapor e capim-elefante sem pré-tratamento como fonte de carbono. Os melhores resultados foram observados para o capim-elefante sem pré-tratamento, e de acordo com o autor, a presença de inibidores provenientes do pré-tratamento da biomassa, como furfural, hidroximetilfurfural e ácido acético apresentaram influência negativa sobre o metabolismo microbiano, logo reduzindo a produção de enzimas.

As melhores atividades observadas pelos fungos cultivados na casca de tucumã do Amazonas estão diretamente relacionadas aos seus componentes, na sua forma *in natura*, esta biomassa é uma fonte de carbono capaz de suprir as necessidades dos fungos disponibilizando além dos carboidratos, quantidades satisfatórias de proteínas, lipídios e minerais.

5.2.1 Pré-tratamento hidrotérmico da casca de tucumã do Amazonas

O pré-tratamento da biomassa é uma etapa determinante no que tange a diminuição da recalcitrância da parede celular vegetal. Neste trabalho, o pré-tratamento hidrotérmico foi empregado pois não utiliza reagentes químicos e é geralmente realizado sob condições brandas de pressão e temperatura, estes fatores reduzem o consumo de energia e os custos dessa etapa. Assim, este tipo de pré-tratamento tem sido escolhido e amplamente empregado no pré-tratamento de várias biomassas lignocelulósicas (Nitsos et al., 2016; Li et al., 2017). Durante o pré-tratamento hidrotérmico (PTH), dependendo das condições de severidade, a hemicelulose pode ser removida das microfibrilas, expondo a celulose que pode ser hidrolisada por enzimas celulolíticas (Himmel et al., 2007; Fang et al., 2015).

O rendimento de massa do pré-tratamento da casca de tucumã do Amazonas foi de 70%. Após o pré-tratamento, a concentração relativa de celulose, hemicelulose e lignina foi de 20,98%, 17,83% e 34,24%, respectivamente (Tabela 7).

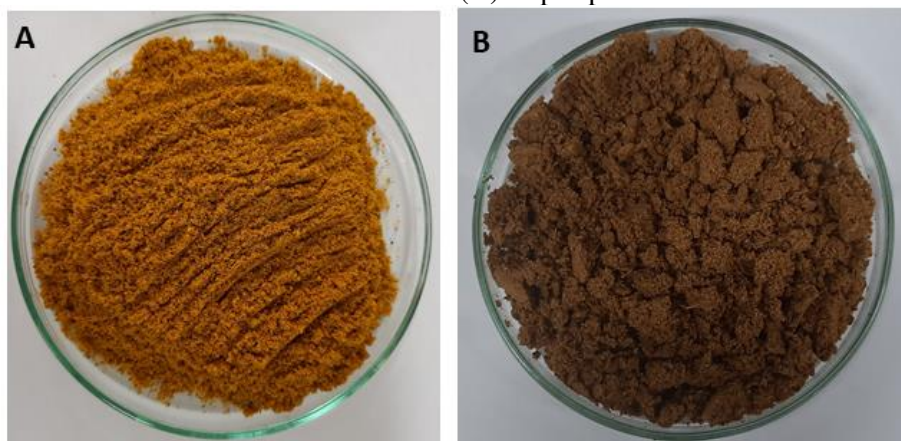
Tabela 7. Concentração relativa de celulose, hemicelulose e lignina da casca de tucumã do Amazonas antes e após o pré-tratamento hidrotérmico

Composição (%)	<i>In natura</i>	Pré-tratada
Celulose	17,56 ± 0,12	20,98 ± 0,23
Hemicelulose	16,84 ± 0,11	17,83 ± 0,94
Lignina	26,80 ± 0,63	34,24 ± 1,0
Média ± Desvio Padrão		

De acordo com Santos-Rocha et al., (2017) o rendimento de massa do pré-tratamento está associado às condições do ensaio, como temperatura, tempo e pressão, ou seja, quanto mais severas forem essas condições, menor será o rendimento. As temperaturas comumente utilizadas durante o pré-tratamento hidrotérmico variam de 156 °C a 200 °C (Toscan, 2013; Santos et al., 2014; Santos-Rocha et al., 2017).

Maione (2019) avaliou o efeito de diferentes temperaturas e tempos no pré-tratamento hidrotérmico de bagaço de malte. Condições mais severas de temperatura e tempo, isto é, utilizando uma temperatura de 200° C por 60 min promoveram rendimento de 45,4%, enquanto que condições mais brandas como 120 °C por 20 min e 60 min, promoveram rendimento de 77,8% e 71,2%, respectivamente. Além da perda de massa da casca de tucumã, observou-se uma mudança na coloração da biomassa após o PTH (Figura 3).

Figura 3. Casca de tucumã do Amazonas in natura (A) e após pré-tratamento hidrotérmico (B)



Fonte: Autora (2021).

Conforme descrito no item 5.1.3 a casca de tucumã do Amazonas é rica em β -caroteno e, segundo Rodrigues et al., (2013) a concentração deste pigmento diminui em altas temperaturas e em função do tempo de aquecimento. A mudança do aspecto também pode estar associada à ocorrência da reação de Maillard, esta reação ocorre entre açúcares redutores e proteínas e tem como produto final as melanoidinas, responsáveis pelo escurecimento não-enzimático da biomassa em temperaturas acima de 50 °C (Francisquini et al., 2017).

As concentrações relativas de celulose, hemicelulose e lignina da casca de tucumã do Amazonas após pré-tratamento hidrotérmico permaneceram elevadas indicando que provavelmente a perda de massa de 30% foi decorrente da solubilização de outros componentes da biomassa, que foram transferidos para a fração líquida. Este resultado também sugere que a casca de tucumã do Amazonas pode apresentar grande recalcitrância, uma vez que nas condições do pré-tratamento, não houve perda considerável de hemicelulose, o que geralmente ocorre nas biomassas lignocelulósicas submetidas ao pré-tratamento hidrotérmico (Santos et al., 2014). Este resultado está estritamente relacionado as condições brandas utilizadas durante o PTH.

5.3 Hidrólise enzimática da casca de tucumã do Amazonas e fibra da polpa de tucumã do Pará

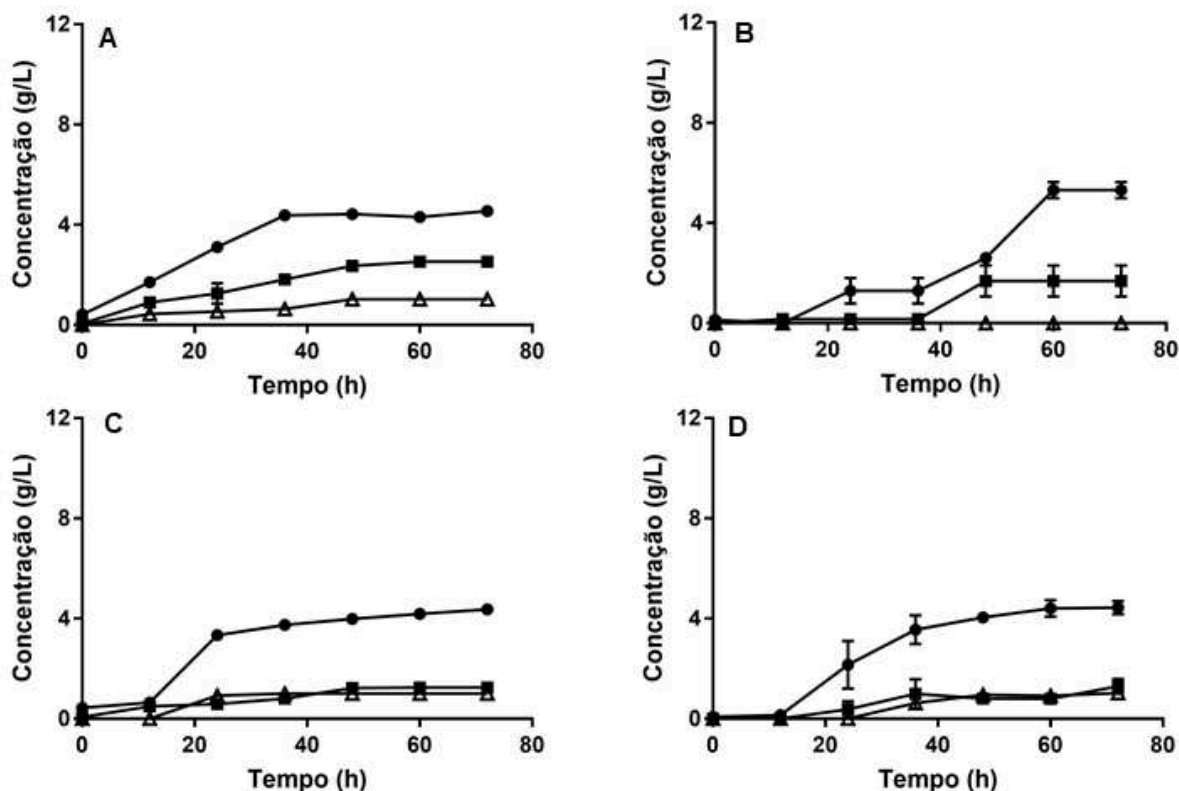
5.3.1 Hidrólise da casca de tucumã do Amazonas e fibra da polpa de tucumã do Pará utilizando os extratos enzimáticos de *Chrysosporthe cubensis* e *Trichoderma deliquescens* crescidos na fibra da polpa de tucumã do Pará.

A hidrólise da biomassa libera produtos de interesse biotecnológico como os açúcares da parede celular vegetal e compostos fenólicos com diversas propriedades funcionais (Ogeda & Petri, 2010; Florencio et al., 2017). A hidrólise da casca de tucumã do Amazonas utilizando o extrato produzido por *C. cubensis* liberou 4,5 g/L de glicose, 1,8 g/L de xilose e 1,0 g/L de arabinose (Figura 4A), enquanto que o extrato enzimático produzido por *T. deliquescens* promoveu a liberação de 5,3 g/L de glicose e 1,6 g/L de xilose. A arabinose não foi detectada neste hidrolisado (Figura 4B).

Concentrações de açúcares semelhantes foram observadas na hidrólise da fibra da polpa de tucumã do Pará pelo extrato de *C. cubensis*, que foi capaz de liberar 4,3 g/L de glicose, 1,2 g/L de xilose e 1,0 g/L de arabinose (Figura 4C), enquanto que o extrato de *T. deliquescens* promoveu a liberação de 4,4 g/L de glicose, 1,2 g/L de xilose e 1,0 g/L de arabinose (Figura 4D).

Figura 4. Hidrólise da fibra da polpa de tucumã do Pará e casca de tucumã do Amazonas após 72 horas a 50 °C usando o extrato enzimático de *Chrysosporthe cubensis* e *Trichoderma deliquescens* cultivados na fibra da polpa de tucumã do Pará. (A) Hidrólise da casca de tucumã do Amazonas por *Chrysosporthe cubensis* (B) Hidrólise da casca de tucumã do Amazonas por *Trichoderma deliquescens* (C) Hidrólise da fibra da polpa de tucumã do Pará por *Chrysosporthe cubensis*, (D) Hidrólise da fibra da polpa de

tucumã do Pará por *Trichoderma deliquescens*. Açúcares liberados: (●) Glicose, (■) Xilose e (Δ) Arabinose.



A conversão de celulose a glicose durante a hidrólise da casca de tucumã do Amazonas, promovida pelo extrato de *T. deliquescens* cultivado na fibra da polpa de tucumã do Pará, foi de 29,4% e de 25,0% promovida pelo extrato de *C. cubensis*. Já na hidrólise da fibra da polpa de tucumã do Pará, a conversão de celulose a glicose foi de 25 % promovida pelo extrato bruto de *T. deliquescens* e de 24,4% promovida pelo extrato bruto de *C. cubensis*.

A conversão de hemicelulose a xilose durante a hidrólise da casca de tucumã do Amazonas, promovida pelo extrato de *T. deliquescens* cultivado na fibra da polpa de tucumã do Pará, foi de 10,1% e de 17,8% promovida pelo extrato de *C. cubensis*. Já na hidrólise da fibra da polpa de tucumã do Pará, a conversão de hemicelulose a xilose igualou-se para ambos os extratos avaliados, sendo igual a 17,4%. Os extratos enzimáticos de *C.cubensis* e *T.deliquescens* produzidos na fibra da polpa de tucumã do Pará apresentaram a eficiência semelhante ou igual nas biomassas testadas.

Trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa avaliaram a eficiência do coquetel enzimático de *T. deliquescens*, produzido em diferentes biomassas, na hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar. O extrato bruto foi capaz de converter 26,8% da celulose em glicose (Leal, 2015). Rendimentos similares foram observados na hidrólise da casca de tucumã do Amazonas (29,4%) e na fibra da polpa de tucumã do Pará (24,4%).

Falkoski et al., (2013) avaliaram a eficiência do coquetel de *C. cubensis* na hidrólise do bagaço da cana-de-açúcar pré-tratado alcalinamente com uma carga inicial de sólidos de 2%. O extrato de *C. cubensis* promoveu a conversão de 52,7% de celulose a glicose sendo mais eficiente que coquetéis comerciais. No presente estudo, a carga inicial de sólidos foi cinco vezes maior (10%) que o testado por Falkoski et al., (2013). Segundo Olsen et al., (2014) a carga de sólidos influencia diretamente no rendimento da hidrólise da biomassa pois em maiores concentrações pode ocorrer a inibição das celulases pelo próprio produto (glicose), bem como há um aumento da viscosidade do meio o que dificulta a homogeneização, logo a atividade enzimática.

Além disso, pesquisas anteriores do nosso grupo revelaram que a hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado alcalinamente obteve um alto rendimento, pois o pré-tratamento empregado removeu 44% da fração de lignina (Maitan-Alfenas et al., 2015). A remoção da fração de lignina da biomassa facilita o acesso das enzimas celulolíticas ao substrato, aumentando a conversão de celulose a glicose. Tanto na casca de tucumã do Amazonas quanto na fibra da polpa de tucumã do Pará há uma quantidade significativa de lignina que não é removida durante o pré-tratamento hidrotérmico.

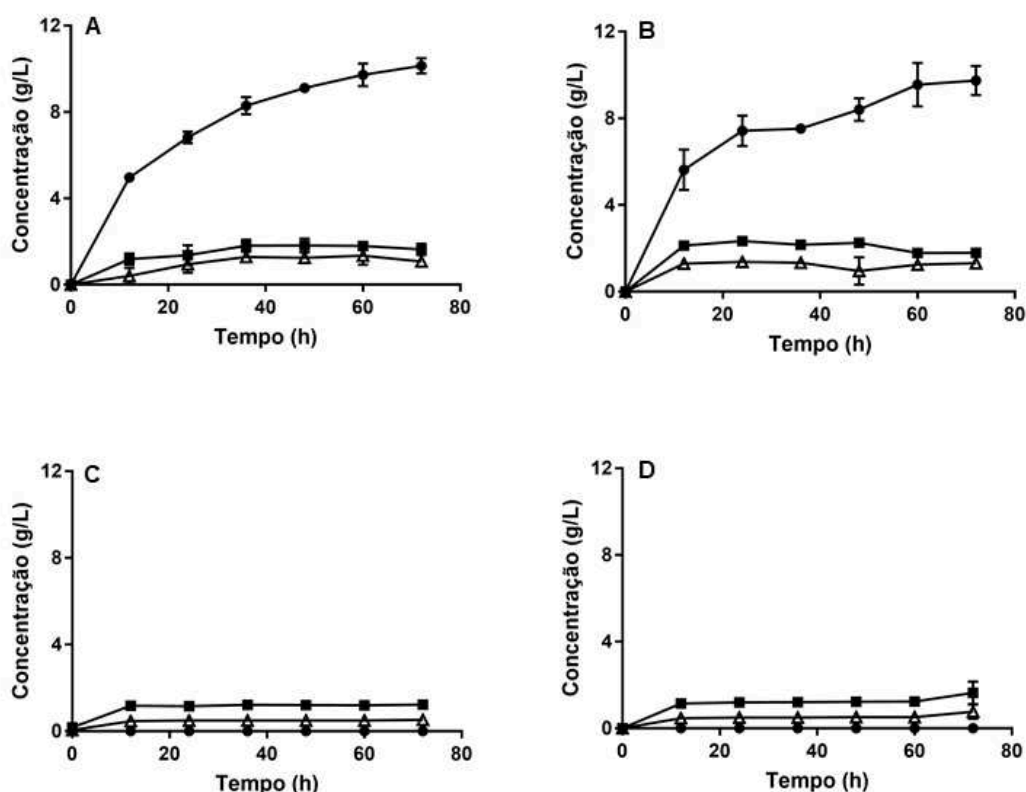
Em suma, a hidrólise de ambas as biomassas pelos coquetéis de *T. deliquescens* e *C. cubensis* cultivados na fibra da polpa de tucumã do Pará resultou em liberações satisfatórias de açúcares. No entanto, o extrato de *T. deliquescens* foi o melhor coquetel enzimático na hidrólise da casca de tucumã do Amazonas pré-tratada hidrotérmicamente e da fibra da polpa de tucumã do Pará.

5.3.2 Hidrólise da casca de tucumã do Amazonas e fibra da polpa de tucumã do Pará utilizando os extratos de Chrysosporthe cubensis e Trichoderma deliquescens crescidos na casca de tucumã do Amazonas

A maior liberação de açúcares foi observada a partir da hidrólise da fibra da polpa de tucumã do Pará pelo extrato de *C. cubensis* cultivado na casca de tucumã do Amazonas, que foi capaz de liberar 10,1 g/L de glicose, 1,6 g/L de xilose e 0,3 g/L de arabinose (Figura 5A) e também pelo extrato enzimático de *T. deliquescens* cultivado na mesma biomassa, que promoveu liberação de 9,7 g/L de glicose, 1,8 g/L de xilose e 1,3 g/L de arabinose (Figura 5B). Por outro lado, a hidrólise da casca de tucumã do Amazonas pelo extrato enzimático de *C. cubensis* cultivado nessa mesma biomassa, liberou somente 1,2 g/L de xilose e 0,5 g/L de arabinose (Figura 5C), enquanto o extrato de *T. deliquescens* foi capaz de promover liberação

de 1,6 g/L de xilose e 0,7 g/L de arabinose (Figura 5D). A quantidade de glicose liberada durante a hidrólise da casca de tucumã do Amazonas igualou-se ao observado no controle do ensaio, para ambos os extratos.

Figura 5. Hidrólise da fibra da polpa de tucumã do Pará e casca de tucumã do Amazonas após 72 horas a 50 °C usando o extrato enzimático de *Chrysosporthe cubensis* e *Trichoderma deliquescens* crescidos na casca de tucumã do Amazonas. (A) Hidrólise da fibra da polpa de tucumã do Pará por *Chrysosporthe cubensis* (B) Hidrólise da fibra da polpa de tucumã do Pará por *Trichoderma deliquescens* (C) Hidrólise da casca de tucumã do Amazonas por *Chrysosporthe cubensis*, (D) Hidrólise da casca de tucumã do Amazonas por *Trichoderma deliquescens*. Açúcares liberados: (●) Glicose, (■) Xilose e (Δ) Arabinose.



Espera-se que ao cultivar os fungos na mesma biomassa que seria posteriormente hidrolisada, estes fossem capazes de induzir a expressão de um conjunto de enzimas mais adequadas para a degradação da própria biomassa (Sánchez, 2009). No entanto, é também descrito que, dependendo do fungo e da composição das biomassas, muitas vezes um fungo cultivado em um determinado material lignocelulósico produz um arsenal de enzimas eficiente para a degradação de outras biomassas (Afonso, 2012; Zanchetta, 2012; Falkoski et al., 2013).

A conversão de hemicelulose a xilose, observada na hidrólise na casca de tucumã pelos extratos enzimáticos de *C.cubensis* e *T.deliquescens* foi de 10,8% e 14,6%, respectivamente. Na hidrólise da casca de tucumã do Amazonas pelas enzimas dos dois fungos cultivados na própria casca de tucumã do Amazonas, não foi observada a conversão de celulose a glicose. A

este fato podemos atribuir as seguintes justificativas: 1 - O pré-tratamento hidrotérmico da casca de tucumã do Amazonas foi ineficaz na redução da recalcitrância da biomassa nas condições de ensaio utilizadas; 2 - A lavagem da biomassa após o pré-tratamento não foi suficiente para remover os compostos provenientes da degradação da biomassa e, de acordo com Castro & Pereira Jr (2009), as enzimas do complexo celulolítico sofrem inibição pelo seu próprio produto de hidrólise (glicose). 3 - As atividades celulolíticas são detectadas utilizando substratos sintéticos, no entanto a eficiência das enzimas observadas durante um substrato complexo pode ser diferente; 4 - As enzimas celulolíticas podem realizar ligações improdutivas com a lignina presente na biomassa, o que reduz a eficiência das enzimas no processo (Siqueira, 2015) e 5- Outra justificativa para a não detecção de glicose no meio é a contaminação do ensaio por microrganismos, uma vez que a glicose é a principal moeda energética de diversos microrganismos, portanto sendo o primeiro açúcar a ser consumido.

Kabel et al., (2006) analisou 14 coquetéis comerciais quanto às atividades de celulasas e xilanase, e em todos os ensaios observou uma diferença significativa entre as atividades enzimáticas contra o substrato padrão e as atividades observada sobre o substrato natural. Estas diferenças são intrínsecas, visto que os substratos comumente utilizados na realização dos ensaios são purificados, o que facilita a formação do complexo enzima-substrato. Portanto, a escolha do coquetel enzimático mais adequado deve ser realizada de acordo com a composição da biomassa lignocelulósica.

A presença de lignina nas biomassas pode comprometer o rendimento da hidrólise pois, a lignina atua como uma barreira física e pode realizar ligações improdutivas com as celulasas, reduzindo a disponibilidade destas enzimas no meio reacional, logo diminuindo a eficiência da conversão da biomassa lignocelulósica em moléculas de interesse biotecnológico (Gao et al., 2013). Segundo Siqueira (2015) a adsorção improdutiva depende da concentração e da estrutura da lignina na biomassa residual, que por sua vez, depende do tipo de pré-tratamento utilizado.

A conversão de celulose a glicose na fibra da polpa de tucumã do Pará foi de 63,9% e 61,3% utilizando os coquetéis de *C. cubensis* e *T. deliquescens* crescidos na casca de tucumã do Amazonas, respectivamente. Além disso, a conversão de hemicelulose a xilose na fibra da fibra da polpa de tucumã do Pará foi de 15,8% e 25,8% utilizando os coquetéis de *C. cubensis* e *T. deliquescens* crescidos na casca de tucumã do Amazonas, respectivamente. Esta conversão de (hemi)celulose à glicose e xilose, está associada à composição química da biomassa e à eficiência do coquetel enzimático.

A fibra da polpa de tucumã do Pará é rica em polissacarídeos (33,1%), portanto é uma biomassa residual em potencial para a obtenção de produtos de alto valor agregado. Além disso,

por ser uma biomassa *in natura*, a casca de tucumã do Amazonas apresenta o complexo lignocelulolítico íntegro. Por isso, é menos susceptível à hidrólise enzimática, e isto pode estar diretamente associado ao grau de polimerização e cristalinidade da celulose. Biomassas com alto grau de cristalinidade da celulose dificulta o acesso das enzimas hidrolíticas ao substrato (Ogeda & Petri, 2010).

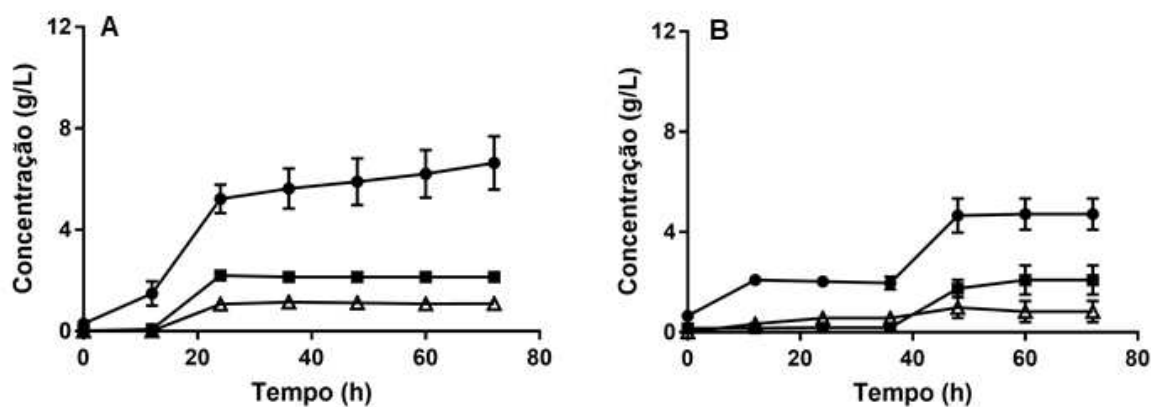
O coquetel enzimático de *C. cubensis* crescido na casca de tucumã do Amazonas *in natura* apresentou uma ampla gama de enzimas do complexo celulolítico, principalmente foram detectadas as atividades de FPase (10,5 U/mg), endoglucanase (1,3 U/mg), poligalacturonase (6,6 U/mg) e β -glicosidase (0,9 U/mg). A mesma eficiência foi observada para o coquetel enzimático de *T. deliquescens* crescido na casca de tucumã do Amazonas com atividade de FPase (5,8 U/mg), endoglucanase (1,2 U/mg), poligalacturonase (12,1 U/mg) e β -glicosidase (0,04 U/mg). A eficiência do coquetel enzimático está associada à quantidade e proporção das enzimas do complexo celulolítico, pois durante a hidrólise da biomassa, estas enzimas possuem efeito sinérgico contribuindo para a melhor degradação do complexo celulose-hemicelulose-lignina (Florencio et al., 2017). A atuação em conjunto dessas enzimas em associação ao baixo grau de polimerização da celulose resulta em uma alta conversão de polissacarídeos a açúcares.

Nas condições aqui estudadas, a hidrólise da fibra da polpa de tucumã do Pará pelos coquetéis de *C. cubensis* e *T. delisquescens* resultou em concentrações elevadas de açúcares. Isto indica que a associação entre biomassa vegetal e eficiência do coquetel enzimático é a chave para altos rendimentos de hidrólise.

5.3.3 Hidrólise da casca de tucumã do Amazonas e fibra da polpa de tucumã do Pará utilizando o coquetel comercial CellicCTec 2

A conversão de celulose a glicose na fibra da polpa de tucumã do Pará e na casca de tucumã do Amazonas pelo coquetel comercial CellicCTec2 foram de 41,7% e de 26,1%, respectivamente. Já a conversão da hemicelulose a xilose pelo coquetel comercial foi de 25,8% e 17,84%, respectivamente. O coquetel CellicCTec2 promoveu a liberação de quantidades significativas de glicose (6,6 g/L) após a hidrólise da fibra da polpa de tucumã do Pará, mas quantidades relativamente baixas de xilose (2,1 g/L) e arabinose (1 g/L) (Figura 6A). O mesmo foi observado na hidrólise da casca de tucumã do Amazonas pelo coquetel comercial, que promoveu a liberação de 4,7 g/L de glicose, mas somente 2 g/L de xilose e 0,8 de arabinose (Figura 6B).

Figura 6. Hidrólise da fibra da polpa de tucumã do Pará (A) e casca de tucumã do Amazonas (B) após 72 horas a 50°C utilizando o coquetel comercial CellicCTec 2. Açúcares liberados: (●) Glicose, (■) Xilose e (Δ) Arabinose.



O CellicCTec 2 é um coquetel comercial composto por celulases, incluindo elevada quantidade de β -glicosidasas, e também hemicelulases, que possui compatibilidade com diversas biomassas e pré-tratamentos, sendo tolerante a inibidores (Novozymes, 2010).

A maior liberação dos açúcares na fibra da polpa de tucumã do Pará pode ser atribuída à origem e ao processamento da polpa. Na hidrólise da casca de tucumã do Amazonas, o coquetel comercial foi capaz de liberar uma quantidade significativa de glicose (4,7 g/L), mesmo com a baixa eficiência do pré-tratamento.

Fazendo um comparativo entre o coquetel comercial e os extratos enzimáticos brutos, os melhores resultados de liberação de glicose foram observados na hidrólise da fibra da polpa de tucumã do Pará promovida pelos extratos de *C. cubensis* (10,1 g/L) e *T. deliquescens* (9,7 g/L) crescidos na casca de tucumã do Amazonas. A alta eficiência observada nestes extratos enzimáticos brutos sugere que a proporção das enzimas envolvidas na hidrólise da biomassa foi adequada para as condições de hidrólise aqui estudadas. Além disso, os extratos de *C. cubensis* e *T. deliquescens* apresentaram uma quantidade significativa de poligalacturonase, esta enzima degrada substâncias pécticas, facilitando o acesso das celulases à celulose. Logo, aumenta a eficiência de conversão de celulose a glicose que foi superior àquela obtida pelo coquetel comercial.

6. CONCLUSÃO

Os subprodutos das cadeias produtivas de biomassas amazônicas como casca de tucumã do Amazonas, fibra da polpa de tucumã do Pará e caroço de açaí, são alvos promissores para reciclagem e aproveitamento, em processos que agregam valor e contribuem para um modelo de economia circular.

O caroço de açaí é uma biomassa rica em compostos de interesse biotecnológico como a celulose, hemicelulose e especialmente lignina, além de possuir quantidade significativa de antocianinas. Devido a essas propriedades, o caroço de açaí pode ter diversas aplicações como fonte de carbono na produção *on site* de enzimas, principalmente lacase. A quantidade expressiva de lignina residual também permite a utilização desta biomassa como fonte de produção e liberação de diversos compostos fenólicos de interesse industrial. Também os polissacarídeos, presentes em sua composição, podem ser hidrolisados a açúcares fermentescíveis.

A casca de tucumã do Amazonas *in natura*, comumente descartada a céu aberto nas feiras do Amazonas, e a fibra da polpa de tucumã do Pará são biomassas oleaginosas, compostas por uma quantidade expressiva de óleo vegetal rico em ômega 9, β -caroteno e polissacarídeos, além de proteínas e minerais, o que confere à essas biomassas um alto valor energético. Devido à estas propriedades, ambas as biomassas podem ser incorporadas como farinha na ração animal, como fonte de obtenção de corante natural e como fonte de obtenção de óleos vegetais para a indústria alimentícia ou na produção de biocombustíveis, como o biodiesel.

Além do mais, especialmente a casca de tucumã do Amazonas, que é uma biomassa *in natura* e altamente recalcitrante, mostrou ser excelente fonte de carbono na indução da produção de enzimas do complexo celulolítico por *C. cubensis* e *T. deliquescens*. Os coquetéis enzimáticos fúngicos produzidos nessa biomassa apresentaram maior capacidade de conversão de celulose à glicose na fibra da polpa de tucumã do Pará, do que o coquetel comercial CelliCTec2.

A biodisponibilidade das biomassas aqui estudadas pode ser a chave para o desenvolvimento regional sustentável, pois permite que os recursos naturais sejam completamente aproveitados de forma racional e consciente, mas também gerando retorno econômico e desenvolvimento social.

7. REFERÊNCIAS

ALEXANDRINO, Ana Maria; FARIA, Haroldo Garcia; SOUZA, Cristina Giatti Marques e PERALTA, Rosane Marina. Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 27(2): 364-368, abr.-jun. 2007.

ALMEIDA, João RM; MODIG, Tobias; PETERSSON, Anneli; HAGERDAL-HAHN, Barbel; LIDÉN, Gunnar and GORWA-GRAUSLUND. Increased tolerance and conversion of inhibitors in lignocellulosic hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae*. **J Chem Technol Biotechnol** 82:340–349, 2007.

ARRUDA, Jandeilson Alves; DE AZEVEDO, Thiago Anderson Oliveira; FREIRE, José Lucínio de Oliveira. BANDEIRA, Lucas Bochartt, ESTRELA, José Wellington de Medeiros e SANTOS, Sebastiana Joelma de Azevedo. Uso da cinza de biomassa na agricultura: efeitos sobre atributos do solo e resposta das culturas. **Revista principia**, divulgação científica e tecnológica do IFPB, Nº30, João Pessoa, setembro 2016.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis Agricultural chemicals; Contaminants; Drugs**. 15^a ed, v.1, USA, AOAC, 1990.

AWAN, Almas Taj; TSUKAMOTO, Junko and TASIC, Ljubica. Orange waste as a biomass for 2G-ethanol production using low cost enzymes and co-culture fermentation. **RSC Adv.**, 3, 25071–25078, 2013.

BAGHAEI, Behnaz e SKRIFVARS, Mikael. All-cellulose composites: A review of recente studies on structure, properties and applications. **Molecules**, 25, 2836, 2020.
Doi:10.3390/molecules25122836

BORGES, Mariana de Souza. **Avaliação de biomassas residuais produzidas no Tocantins como potenciais matérias-primas para a Biorrefinaria**. Dissertação (Mestrado Acadêmico) – Universidade Federal do Tocantins - Campus Universitário de Palmas – Cursos de Pós-graduação (Mestrado) em Ciências do Ambiente, 2020.

BUDZINSKI M, NITZSCHE R. Comparative economic and environmental assessment of four beech wood based biorefinery concepts. **Bioresour Technol**. 2016.

BUFALINO, Lina; GUIMARÃES, Arqueanise Andrade; SILVA, Breno Marques da Silva; SOUZA, Rafael Lucas Figueiredo de Souza; MELO, Isabel Cristina Nogueira Alves; OLIVEIRA, Dhimitrius Neves Paraguassú and TRUGILHO, Paulo Fernando. Local variability of yield and physical properties of açaí waste and improvement of its energetic attributes by separation of lignocellulosic fibers and seeds. **Journal of Renewable and Sustainable Energy** 10, 053102 (2018); DOI: 10.1063/1.5027232

CARDOSO, Luciana Marques; LEITE, João Paulo Viana and PELUZIO, Maria do Carmo Gouveia. Efeitos biológicos das antocianinas no processo aterosclerótico. **Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.**, Vol. 40 (1), 116-138, 2011

CHATURVEDI, Venkatesh e VERMA, Pradeep. An overview of key pretreatment processes employed for bioconversion of lignocellulosic biomass into biofuel and value added products. **3 Biotech** 3:415-431, 2013. DOI 10.1007/s13205-013-0167-8

COMISSÃO MUNDIAL SOBRE MEIO AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO. **Nosso futuro comum**. Editora Fundação Getúlio Vargas, 2ª edição. Rio de Janeiro, RJ – 1991.

COSTA, Wanderley Messias. **Tendências Recentes na Amazônia: os sistemas produtivos emergentes**. In: DA COSTA, Wanderley Messias; BECKER, Bertha Koiffmann; ALVES, Diógenes Salas (Orgs.). *Dimensões humanas do experimento de grande escala da biosfera-atmosfera da Amazônia*. Coleção Ciência Ambiental, São Paulo: Edusp, 2007.

CRIST, Eileen, MORA, Camilo & ENGELMAN, Robert. The interaction of human population, food production and biodiversity protection. **Science**, v. 356, p. 260-264, 2017. DOI: 10.1126/science.aal2011

CYPRIANO, Daniela Zacarias. **Biomassa de casca de laranja industrial como fonte de bioetanol e produtos de alto valor agregado**. Dissertação de mestrado (Química orgânica) – UNICAMP, Campinas, 2015.

DEBONI, Tamires Liza. Qualidade da biomassa florestal utilizada para geração de energia por uma unidade cogeneradores em Lages – SC. Dissertação de mestrado (Ciências Ambientais). Lages, SC, 2017.

DIDONET, Adriano Amir. **O mercado de um produto florestal não madeireiro e o resíduo sólido pela sua comercialização: O caso do tucumã (*Astrocaryum aculeatum* G. Mey G.Mey.) nas feiras de Manaus**. Dissertação de Mestrado (Ciências de Florestas Tropicais) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2012.

FERNANDES, Sérgio Eduardo; TASHIMA, Mauro Mitsuuchi; DE MORAES, João Cláudio Bassan; ISTUQUE, Danilo Bordan; FIORITI, César Fabiano; MELGES, José Luiz Pinheiro e AKASAKI, Jorge Luis. Cinza de bagaço de cana-de-açúcar (CBC) como adição mineral em concretos para verificação de sua durabilidade. **Revista Matéria**, v. 20, n 04, p.909-923, 2015.

FERRAZ, A; BAEZA, J; RODRIGUEZ, J; FREER, J. Estimating the chemical composition of biodegraded pine and Eucalyptus wood by DRIFT spectroscopy and multivariate analysis. **Biosource Technology** v. 74 p. 201-212, 2000.

FOELKEL, Celso. **Secagem na floresta e ao ar livre de toras e biomassa de Eucalipto**. Artigo técnico, 2016.

GALEMBECK, Fernando; BARBOSA, César Augusto Sales & SOUSA, Rafael Arromba. Aproveitamento sustentável de biomassa e de recursos naturais na inovação química. **Quím. Nova**, vol 32, nº 3, 571-581, 2009.

GUEDES, Andréa Madalena Maciel. **Estudo da extração de óleo da polpa de tucumã por CO₂ supercrítico**. Dissertação de mestrado (Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2006.

GUO, Hongliang; CHANG, Yingju e LEE, Duu-Jong. Enzymatic saccharification of lignocellulosic biorefinery: Research focuses. **Bioresource Technology** 252, 198-215, 2018.

HENDERSON, Andrew; SCARIOT, Aldicir. A flórmula da Reserva Ducke, I: Palmae (Arecaceae). **Revista Acta Amazônica** 23 (4): 349-369. 1993.

HIMMEL, Michael E; DING, Shi-You; JOHNSON, David K; ADNEY, William S; NIMLOS, Mark; BRADY, John W and FOUST, Thomas. Biomass Recalcitrance: Engineering plants and enzymes for biofuels production. **Science** 315, 804, 2007. DOI: 10.1126/science.1137016

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v.1.: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos, 4.ed. 1ª edição digital, São Paulo, 2008.

KABEL, Mirjam A; VAN DER MAAREL, Marc JEC; KLIP, Gert; VORAGEN, Alphons GJ e SCHOLS, Henk A. Standard assays do not predict the efficiency of commercial cellulase preparations towards plant materials. **Biotechnology and Bioengineering**, vol 93, n.1, 2006.

KAWAI, Tetsushi; NAKAZAWA, Hikaru; IDA, Noriko; OKADA, Hirofumi; OGASAWARA, Wataru; MORIKAWA, Yasushi and KOBAYASHI, Yoshinori. A comprehensive analysis of the effects of the main component enzymes of cellulase derived from *Trichoderma reesei* on biomass saccharification. **J Ind Microbiol Biotechnol**, 40:805-810, 2013. DOI 10.1007/s10295-013-1290-6

KAWAZOE, Nozomi; KIMATA, Yukio and IZAWA, Shingo. Acetic acid causes endoplasmic reticulum stress and induces the unfolded protein response in *Saccharomyces cerevisiae*. **Frontiers in Microbiology**, v.8, 2017.

KUMARI, Dolly & SINGH, Radhika. Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: A critical review. **Renewable and sustainable energy reviews**. v.90, p 877-891, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.111>.

KUPSKI, Larine. **Produção de celulases a partir de resíduo da indústria arrozeira empregando *Rhizopus oryzae* e *Trichoderma reesei***. Dissertação de mestrado (Engenharia e Ciência de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2012.

LEITÃO, Renato Carrhá; CASSALES, Ana Ribeiro; ALEXANDRE, LÍlian Chayn; PINHEIRO, Francisca Gleyciara Cavalcante; SOARES, Amanda Kelly Lima; DE BRITO, Maria Zilmara Rodrigues; VALE, Maria do Socorro; FILHO, Men de Sá Moreira de Souza; SANTAELLA, Sandra Teddê e ROSA, Mrsyleide de Freitas. **Produção de lignossulfonatos a partir da lignina extraída do bagaço de cana-de-açúcar**. ISSN 1679-6535. Fortaleza CE. Comunicado técnico 228, 2017.

LIMA, Rubens Rodrigues; TRASSATO, Luiz Carlos e COELHO, Valdir. O tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.): Principais características e potencialidade agroindustrial. 27 p., (EMBRAPA-CPATU, Boletim de pesquisa 75). Belém, 1986

LIU, J., FENG, Y., ZHU, Q., & SARKIS, J. Green supply chain management and the circular economy: Reviewing theory for advancement of both fields. **International Journal of**

Physical Distribution and Logistics Management, 48(8), 794-817 (2018).

<https://DOI.org/10.1108/IJPDLM-01-2017-0049>

LIU, Z. Lewis; MA, Menggen and SONG, Mingzhou. Evolutionarily engineered ethanologenic yeast detoxifies lignocellulosic biomass conversion inhibitors by reprogrammed pathways. **Mol Genet Genomics**. 282(3): 233–244, 2009. DOI:10.1007/s00438-009-0461-7.

LOPES, Toni Jefferson; XAVIER, Marcelo Fonseca; QUADRI, Maria Gabriela Novy and QUADRI, Marinho Bastos. Antocianinas: Uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **R. Bras. Agrobiência**, Pelotas, v.13, n.3, p. 291-297, jul-set, 2007

MAIONE, Nicole Ribeiro. **Pré-tratamento hidrotérmico do bagaço de malte visando a produção de etanol de segunda geração**. Dissertação de mestrado (Engenharia Química) – UFG – Goiânia, 2019.

MAITAN-ALFENAS, Gabriela Pícolo; VISSER, Evan Michael and GUIMARÃES, Valéria Monteze. Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: converting food waste in valuable products. **Current Opinion in food Science**, 1:44-49, 2015.

NING, Peng; YANG, Guofeng; HU, Lihong; SUN, Jingxin; SHI, Lina; ZHOU, Yonghong; WANG, Zhaobao & YANG, Jianming. Recent advances in the valorization of plant biomass. **Biotechnol Biofuels** (2021) 14:102

OLIVEIRA, Maria do Socorro Padilha; RIOS, Sara de Almeida. Potencial econômico de algumas palmeiras nativas da Amazônia. In: **VI Encontro Amazônico de Agrárias**. Universidade Federal Rural da Amazônia, 2014.

REÁTEGUI, José Luis Pasquel. **Extração de compostos do bagaço de amora-preta (Rubus sp.) usando CO2 supercrítico assistido por Ultrassom**. Dissertação de mestrado (Engenharia de Alimentos), UNICAMP, 2014.

RODRIGUES, Michelle S; BERALDO, Antonio L; JÚNIOR, Holmer Savastano e SANTOS, Sérgio F. Cinza de palha de cana-de-açúcar como adição mineral em fibrocimento. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, v.17, n.12, p.1347-1354, 2013.

SAATH, Kleverton Clovis de Oliveira & FACHINELLO, Arleli Luiz. **Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator Terra no Brasil**. RESR, Piracicaba-SP, vol 56, nº 2, p.195-212, abr./jun. 2018.

SAINI, Jitendra Kumar, SAINI, Reetu & TEWARI, Lakshmi. Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concept and recente developments. **3 Biotech**. v.5, p 337-353, 2015. DOI:10.1007/s13205-014-0246-5

SAGRILLO, Michele Rorato; GARCIA, Luiz Filipe Machado; FILHO, Olmiro Cezimbra de Souza; DUARTE, Marta Maria Medeiros Frescura; RIBEIRO, Euler Esteves; CADONÁ, Francine Carla and CRUZ, Beatrice Mânica. Tucumã fruits extracts (*Astrocaryum aculeatum* Meyer) decrease cytotoxic effects of hydrogen peroxide on human lymphocytes. **Food chemistry**, 173:741-748, 2015.

SANTOS, Fernando A; QUEIROZ, José H; COLODETTE, Jorge; MANFREDI, Mauro; QUEIROZ, Maria Eliana LR; CALDAS, Celso S e SOARES, Filipe EF. Otimização do pré-tratamento hidrotérmico da palha de cana-de-açúcar visando a produção de etanol celulósico. **Quim.Nova**, v.37, n.1, 56-62, 2014.

SANTOS, Luana Carolina Rocha Marinho. **Resíduos produzidos nas feiras baertas da cidade de Manaus como substratos para o cultivo e produção de lacase por *Pleurotus ostreatus***. Dissertação de mestrado (Biotecnologia e Recursos naturais da Amazônia) Manaus, 2016.

SANTOS-ROCHA, Msr; PRATTO, B; ALMEIDA, Mrg e CRUZ, AJG. Otimização de parâmetros operacionais do pré-tratamento da palha de cana-de-açúcar. **Scientia Plena**, v.13, n 3, 2017. DOI: 10.14808/sci.plena.2017.034203

SCHOLL, Angélica Luisi. Capim-elefante pré-tratado por explosão a vapor como matéria-prima para produção de enzimas, hidrólise enzimática e fermentação alcoólica. Dissertação de mestrado (Biotecnologia), Caxias do Sul, 2014.

SILVA, Michele Bezerra. **Caracterização físico-química e secagem de frutos de tucumã (*Astrocaryum aculeatum* Meyer): Uma avaliação da preservação de suas propriedades funcionais**. Dissertação de mestrado (Produção vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2016.

SILVERIO, Flaviano Oliveira; BARBOSA, Luiz Cláudio de Almeida; GOMIDE, José Lívio; REIS, Fernando Pinheiro e PILÓ-VELOSO, Dorila. Metodologia de extração do teor de extrativos em madeiras de Eucalipto. **R. Árvore**, Viçosa-MG, v.30, n.6, p.1009-1016, 2006.

SIQUEIRA, Germano Andrade. **Efeito da lignina de bagaços de cana-de-açúcar pré-tratados na hidrólise enzimática da celulose**. Tese de Doutorado (Biotecnologia Industrial), USP, Lorena, 2015

SOUZA, Fábio Geraldo; LIMA, Renato Abreu. A importância da família Arecaceae para a região norte. **Revista EDUCAmazônia – Educação Sociedade Meio Ambiente**. v. 23, n.2, p. 100-110, 2019.

SOUZA, Tayana Jessie Suwa Mesquita. **Casca de *Astrocaryum aculeatum* Meyer como substrato para produção de lacase por *Pleurotus ostreatus* LM 6226 para remoção de composto recalcitrante**. Dissertação de mestrado (Biotecnologia e Recursos naturais da Amazônia), Manaus, 2016.

SLUITER, J; TEMPLETON, D and WOLFE, J. **Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples**. In: Laboratory Analytical Procedure – Technical Report NREL/TP-510-42621 March 2008.

SLUITER, A; HAMES, B; RUIZ, R; SCARLATA, C; SLUITER, J and TEMPLETON, D. **Determination of Ash in Biomass**. In: Laboratory Analytical Procedure – Technical Report NREL/TP-510-42622 January 2008.

SLUITER, A; HAMES, B; RUIZ, R; SCARLATA, C; SLUITER, J; TEMPLETON, D and CROCKER, D. **Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass**. In: Laboratory Analytical Procedure – Technical Report NREL/TP-510-42618 January 2012.

SLUITER, A; RUIZ, R; SCARLATA, C; SLUITER, J and TEMPLETON, D. **Determination of Extractives in Biomass**. In: Laboratory Analytical Procedure – Technical Report NREL/TP-510-42619 January 2008.

TOSCAN, Andréia. **Efeito do pré-tratamento hidrotérmico no rendimento da hidrólise enzimática do capim-elefante**. Dissertação de mestrado (Biotecnologia). Caxias do Sul, 2013.

UNITED NATIONS. **The sustainable development goals report**. New York, 2019.

UNITED NATIONS, Department of Economic and Social Affairs, Population Division **World Population Prospects 2019: Highlights** (ST/ESA/SER.A/423), 2019.

VASCONCELOS, Bárbara Elisabeth Costa. **Avaliação das características físicas, químicas e nutricionais dos óleos de tucumã (*Astrocaryum aculeatum* e *Astrocaryum vulgare*) obtidos com CO₂ pressurizado**. Dissertação de mestrado (Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2010.

YUYAMA, Lucia Kiyoko Ozaki; MAEDA, Roberto Nobuyuki; PANTOJA, Lilian; AGUIAR, Jaime Paiva Lopes; MARINHO, Helyde Albuquerque. Processamento e avaliação da vida-de-prateleira do tucumã (*Astrocaryum aculeatum* G. Mey Meyer) desidratado e pulverizado. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 28 (2): 408-412, abr-jun. 2008.