

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DOUTORADO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS

TESE DE DOUTORADO

ESTUDO DA HIDRÓLISE ÁCIDA DO BAGAÇO DO PEDÚNCULO DE
CAJU E FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DO LICOR HIDROLISADO
PARA PRODUÇÃO DO ALCÓOL ETÍLICO

EZENILDO EMANUEL DE LIMA

CAMPINA GRANDE – PB
2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA DE PROCESSOS

CENTRO DE CIÊNCIAS
E TECNOLOGIA



ENGENHARIA DE PROCESSOS
UFCG

**Estudo da hidrólise ácida do bagaço do pedúnculo
de caju e fermentação alcoólica do licor
hidrolisado para produção do álcool etílico**

ALUNO: Ezenildo Emanuel de Lima

ORIENTADOR: Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva

Campina Grande, junho de 2012

EZENILDO EMANUEL DE LIMA

**Estudo da hidrólise ácida do bagaço do pedúnculo
de caju e fermentação alcoólica do licor
hidrolisado para produção do álcool etílico**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Engenharia de Processos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva

Campina Grande, junho de 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

L732e

Lima, Ezenildo Emanuel de.

Estudo da hidrólise ácida do bagaço do pedúnculo de caju e fermentação alcoólica do licor hidrolisado para produção do álcool etílico/Ezenildo Emanuel de Lima – Campina Grande, 2012.
150f.: il.

Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia.
Orientador: Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva.
Referências.

1. Bioetanol. 2. Hidrólise. 3. Adsorção. 4. Fermentação.
5. Resíduo Agroindustrial. I. Título.

CDU 661.722(043)


DIGITALIZAÇÃO:

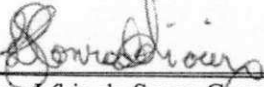
SISTEMOTECA - UFCG

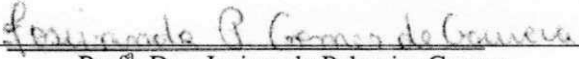
EZENILDO EMANUEL DE LIMA

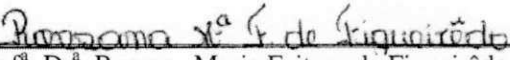
Estudo da hidrólise ácida do bagaço do pedúnculo de caju e fermentação alcoólica do licor hidrolisado para produção do álcool etílico

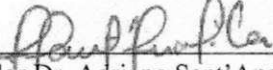
BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva
DEQ / CT / UFPB
Orientador

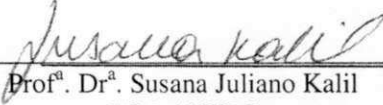

Prof.ª Dra. Líbia de Sousa Conrado
UAEQ / CCT / UFCG
(Examinadora interna)


Prof.ª Dra. Josivanda Palmeira Gomes
UAEA / CTRN / UFCG
(Examinadora interna)


Prof.ª Dr.ª Rossana Maria Feitosa de Figueirêdo
UAEA / CTRN / UFCG
(Examinadora externa)


Pesquisador Dr. Adriano Sant'Ana Silva
PNDP-CAPES / CCT / UFCG
(Examinador externo)


Prof.ª Dr.ª Gorete Ribeiro de Macedo
LEQ / DEQ / UFRN
(Examinadora externa)


Prof.ª Dr.ª Susana Juliano Kalil
EQA / UFRG
(Examinadora externa)

Dedico este trabalho aos meus pais José Pedro e Margarida pelos ensinamentos ao longo de minha vida, carinho, amizade, apoio incondicional e amor, aos meus filhos Aysla e Emanuel pelo amor incondicional e a minha amada esposa Maria Antonieta, com amor e admiração, pela compreensão e apoio, e por ser uma grande incentivadora para que eu pudesse chegar até este momento.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, que nas horas de maior desespero iluminou meu caminho, e tornou concreto mais um sonho na minha vida; se não fosse Ele, nada disso seria possível. Com fé e esperança nesse Deus maravilhoso, consegui trilhar mais uma etapa da minha vida.

A minha esposa **Maria Antoniêta de Andrade Lima** e meus filhos **Aysla Andrade Lima** e **Emanuel Andrade Lima**, que sempre acreditaram na minha capacidade, pelo apoio dado durante todo o decorrer do curso, pois este era um sonho delas e meu; foram vocês, nas horas mais difíceis da minha caminhada, meu ponto de sustentação, com palavras de perseverança e conforto, fortalecendo-me com carinho, amor e compreensão, por esses laços que sempre nos uniram e deram um valor especial para consolidação desta vitória.

A meus pais, **Margarida Maria de Lima** e **José Pedro de Lima**, pelo dom da vida e pela força e coragem nesta caminhada.

Ao orientador **Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva**, pela admiração, respeito e sua contribuição para a realização deste trabalho.

As Coordenadoras dos Laboratórios de Engenharia Bioquímica (LEB) e Laboratório de Transferência em Meios e Sistemas Particulados (LTCMMP) da Unidade Acadêmica de Engenharia Química, Professoras **Dra. Líbia de Sousa Conrado Oliveira** e **Dra. Odelsia Leonor S. de Alsina**, pela disponibilidade, apoio no desenvolvimento do projeto e confiança

À **UFCCG**, pelo apoio e oportunidade para realização deste trabalho.

A meu companheiro de jornada **Dr. Adriano Sant'Ana Silva**, pela amizade, cumplicidade, companheirismo e confiança desde o início.

Aos Professores . **Dr^a. Rossana Maria Feitosa de Figueirêdo**, **Dra. Josivanda Palmeira Gomes**, **Dr. Osvaldo Soares da Silva**, **Dr. Randayal Swarnakar**, **Dr. Gilmar Trindade de Araújo** que compartilharam comigo momentos de crescimento intelectual e profissional.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos**, pela oportunidade em desenvolver o projeto.

Aos funcionários da Unidade Acadêmica de Engenharia Química **Jardes Caiçara, José Lopes, Cajá, Zezinho, João e Nogueira (in memorian)**, pelo apoio e incentivo.

Aos **avaliadores da banca** por sua apreciação, disponibilidade de tempo e importantes sugestões.

Ao **CNPq** - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo apoio financeiro.

Aos colegas do curso **Hermeval, Flavia, Mariano Neto, Alberto, Daniel Baracuy, Daniel Campos, Vitória, Ângela, Zé Carlos e Siumara Alcantara**, pelas experiências compartilhadas.

Ao **IFPE**-Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco/*campus Afogados da Ingazeira*, pelo acolhimento e apoio neste projeto.

A **todos** que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

*“Não se pode acreditar em tudo aquilo que se lê... Devemos tomar cuidado, seja para fazer,
seja para receber ou seja apenas para ler”.*

(Marcial Salaverry)

"A persistência realiza o impossível".

(provérbio Chinês)

“Deus é puríssima essência. Para os que têm fé nele, Deus simplesmente é.”

(Mahatma Gandh)

*“Aprendi que não posso exigir o amor de ninguém...
Posso apenas dar boas razões para que gostem de mim...
E ter paciência para que a vida faça o resto...”*

(William Shakespeare)

RESUMO

Atualmente, as pesquisas sobre os biocombustíveis de 2ª geração, neste caso o etanol celulósico proveniente da biomassa tem-se apontado como o foco de diversas pesquisas no Brasil e no mundo. O etanol celulósico, normalmente, é produzido pela fermentação dos açúcares fermentescíveis obtidos por meio do processo de hidrólise ácida ou enzimática de materiais lignocelulósicos. Como matéria-prima para este processo químico, diversas biomassas encontram-se disponíveis, contudo, faz-se necessário a utilização de culturas que apresentem elevado teor de celulose, tenham baixo custo e que possam ser convertidos em açúcares fermentescíveis para posterior fermentação alcoólica. A utilização do bagaço do pedúnculo de caju para a produção de bioetanol visa o aproveitamento de uma cultura regional que apresenta cerca de 85% de desperdício. Devido a estrutura complexa desse material faz-se necessário submetê-lo à pré-tratamentos físicos e/ou químicos antes do processo de hidrólise para produção de etanol. O pré-tratamento visa à remoção da lignina e da hemicelulose, reduzindo a cristalinidade da celulose e aumentando a porosidade dos materiais para facilitar o processo de hidrólise, que pode gerar compostos tóxicos para o processo de fermentação alcoólica, como furfural, hidroximetilfurfural (HMF) e ácido acético. Objetivou-se com este trabalho estudar a pré-hidrólise e hidrólise ácida da matéria-prima lignocelulósica bagaço do pedúnculo do caju (*Anarcadium occidentale* L.), remoção dos compostos tóxicos do licor hidrolisado usando a lignina residual como adsorvente, fermentação alcoólica dos licores para a produção de bioetanol de 2ª geração com dois tipos de leveduras e estimativa da produção desse álcool a partir da matéria-prima em estudo. O bagaço de caju, com base na sua caracterização química e físico-química, apresentou-se como uma fonte promissora de celulose, para a hidrólise ácida, visando a obtenção de bioetanol. No processo de pré-hidrólise, os resultados obtidos sugerem que as melhores concentrações de glicose, xilose e arabinose, são obtidos a 120 °C, concentração de ácido de 5% e razão mássica de bagaço de 1:6, sendo este processo eficaz na remoção da hemicelulose principalmente na extração da arabinose, e a temperatura a variável de maior influência na extração dessas pentoses. Para a hidrólise ácida o experimento realizado com as condições: temperatura de 200 °C, concentração de ácido igual a 6% e razão de 1:6, apresentou a combinação da maior concentração de açúcares com a mínima concentração de compostos tóxicos. Para o estudo de adsorção (destoxificação) dos congêneres furfural, hidroximetilfurfural (HMF) e ácido acético pela lignina residual do processo de hidrólise, teve o pH como a variável de maior influência visando a remoção desses compostos no licor. O estudo da fermentação alcoólica dos licores hidrolisados com os dois tipos de leveduras, apresentou-se a linhagem de *Saccharomyces cerevisiae* comercial com maior eficiência fermentativa em qualquer dos processos fermentativos estudados (3 tratamentos). O rendimento e a eficiência do processo de obtenção de etanol celulósico a partir do processamento do bagaço do pedúnculo do caju, o máximos obtido foi respectivamente de 0,445 g de etanol/g de bagaço e 87,1% para o licor hidrolisado com a adição do suco de caju.

Palavras chave: bioetanol, hidrólise, adsorção, fermentação, resíduo agroindustrial,

ABSTRACT

At present, researches about the second generation biofuels; in this case, the cellulosic ethanol extracted from biomass, has been appointed as the focus of several studies in Brazil and all over the world. The cellulosic ethanol is generally produced by fermentation of fermentable sugars that are obtained using the process of acid or enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. As raw material for this chemical process, several biomass are available, however, it is necessary to use cultures that have high cellulose content, low cost and it could be converted into fermentable sugars. The use of the cashew bagasse for the production of bioethanol allows the use of a regional culture that has about 85% of waste. Due to the complex structure of this material, it is necessary to submit it to the pre-treatment physical and/or chemicals before the process of hydrolysis for ethanol production. Pre-treatment, usually, is used to remove the lignin and hemicellulose, reduce cellulose crystallinity and increase the porosity of the materials. The objective of this work was to study the pre-hydrolysis and acid hydrolysis of lignocellulosic raw cashew bagasse peduncle (*Anarcadium occidentale* L.), removal of toxic compounds from the liquor hydrolyzate using the residual lignin as adsorbent, alcoholic fermentation of liquors for the production of second generation bioethanol with two types of yeast and alcohol production estimate this from the raw material under study. The cashew bagasse, based on their chemical characterization and physical chemistry, presented himself as a promising source of cellulose to hydrolysis, in order to produce bioethanol. In the process of pre-hydrolysis, the results obtained suggest that the best concentrations of glucose, xylose and arabinose, are obtained at 120 ° C, acid concentration of 5% and a weight ratio of 1:6 bagasse, this process was effective in the removal of hemicellulose mainly in the extraction of arabinose and the temperature was variable of bigger influence in the extraction of pentose. For the acid hydrolysis done with the following hydrolysis conditions: temperature 200 °C, acid concentration equal to 6% and ratio of 1:6 has the combination of the highest concentration of sugars with a minimum concentration of toxic compounds. In the study by adsorption (detoxification) congeners of furfural, and hydroxymethylfurfural (HMF) and acetic acid by the residual lignin in the hydrolysis process, it had the pH as the variable of major influence in order to remove the compounds in the liquor. The kinetics study of the alcoholic fermentation of the hydrolyzed liquor to the two types of yeast, the strain of *Saccharomyces cerevisiae* trade was efficient fermentation than in any of the fermentations studied (three treatments). The yield and efficiency of production of ethanol from cellulosic pulp of processing stalk cashew maximum dry were respectively 0.445 g ethanol/g of pulp and liquor to 87.1% hydrolyzed with the addition of cashew apple juice.

Keywords: bioethanol, hydrolysis, adsorption, fermentation, agroindustrial residue.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Estrutura da celulose. Parte central da cadeia molecular.	10
Figura 2.2 - Ligações intra-moleculares e inter-moleculares em duas moléculas adjacente de celulose	11
Figura 2.3 - Estruturas dos açúcares presentes nas polioses.	12
Figura 2.4 - Estrutura proposta para macromolécula de lignina de eucalipto.....	14
Figura 2.5 - Processos de separação das frações constituintes da biomassa.....	16
Figura 2.6 - Degradação de materiais lignocelulósicos por hidrólise ácida.....	18
Figura 2.7 - Desestruturação da fibra vegetal pelo efeito de um pré-tratamento.....	21
Figura 2.8 - Principais produtos formados a partir da hidrólise ácida em biomassas.....	28
Figura 3.1 - Fluxograma do processamento do bagaço do pedúnculo do caju BCU para BCS.....	49
Figura 3.2 - Reator utilizado nos experimentos.....	52
Figura 3.3 - Fluxograma do processo de obtenção do resíduo e licor da pré-hidrólise do bagaço do pedúnculo.....	54
Figura 3.4 - Fluxograma do processo de obtenção do resíduo e licor da hidrólise do bagaço do pedúnculo.....	56
Figura 3.5 - Fluxograma do processo de adsorção de inibidores (destoxificação) do licor da hidrólise do bagaço do pedúnculo.....	60
Figura 3.6 - Processo de obtenção do fermentado proveniente dos licores oriundo do BCS via hidrólise ácida, após processo de adsorção e licor hidrolisado + suco de caju.....	61
Figura 4.1 - Resíduo do pedúnculo do caju lavado e seco, respectivamente.....	65
Figura 4.2 - Análise da distribuição granulométrica do bagaço de caju.....	67
Figura 4.3 - Perfis das concentrações dos açúcares extraídos no processo de pré-hidrólise em função do tempo, na temperatura de 105 °C.....	70
Figura 4.4 - Perfis das concentrações dos congêneres: ácido acético, hidroximetilfurfural (HMF) e furfural, extraídos no processo de pré-hidrólise em função do tempo na temperatura de 105 °C.....	71
Figura 4.5 - Perfis das concentrações dos açúcares e congêneres extraídos no processo de hidrólise a temperatura de 140 °C em função do tempo.....	72
Figura 4.6 - Perfis das concentrações dos açúcares e congêneres extraídos no processo de hidrólise a temperatura de 160 °C em função do tempo.....	72
Figura 4.7 - Perfis das concentrações dos açúcares e congêneres extraídos no processo de hidrólise a temperatura de 180 °C em função do tempo.....	72
Figura 4.8 - Perfis das concentrações de glicose extraída no processo de hidrólise em função do tempo nas temperaturas de 140, 160 e 180 °C.....	73
Figura 4.9 - Perfis das concentrações de xilose extraído no processo de hidrólise função em do tempo nas temperaturas de 140, 160 e 180 °C.....	74

Figura 4.10 - Perfis das concentrações de arabinose extraído no processo de hidrólise em função do tempo nas temperaturas de 140, 160 e 180 °C	74
Figura 4.11 - Concentração de ácido Acético extraídos no processo de hidrólise em função do tempo nas temperaturas de 140, 160 e 180 °C.....	75
Figura 4.12 - Concentração de hidroximetilfurfural (HMF) extraídos no processo de hidrólise em função do tempo nas temperaturas de 140, 160 e 180 °C.....	75
Figura 4.13 - Concentração de furfural, extraídos no processo de hidrólise em função do tempo nas temperaturas de 140, 160 e 180 °C.....	75
Figura 4.14 - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a pentoses (xilose + arabinose), na pré-hidrólise ácida.....	77
Figura 4.15 - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a glicose na pré-hidrólise ácida.....	78
Figura 4.16 - Influência da razão e da temperatura sobre as pentoses (arabinose e xilose) no licor pré-hidrolisado fixando-se a concentração do ácido no nível superior.....	81
Figura 4.17 - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a glicose, na hidrólise ácida do bagaço de caju.....	86
Figura 4.18 - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a xilose, na hidrólise ácida do bagaço de caju.....	86
Figura 4.19 - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a furfural (A), hidroximetilfurfural –HMF (B) e ácido acético (C) na hidrólise ácida do bagaço de caju.....	89
Figura 4.20 - Influência da temperatura (°C) e concentração (%) sobre a glicose no licor hidrolisado fixando-se a razão massa/ácido no nível inferior (1:6).....	90
Figura 4.21 - Aspecto do adsorvente empregado no processo de destoxificação.....	92
Figura 4.22 - Licor hidrolisado antes (A) e após (B) o processo de destoxificação.....	92
Figura 4.23 - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a glicose, na hidrólise ácida do bagaço de caju.....	95
Figura 4.24 - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a xilose, na hidrólise ácida do bagaço de caju.....	95
Figura 4.25 - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre hidroximetilfurfural –HMF no estudo da adsorção do licor hidrolisado do bagaço de caju.....	96
Figura 4.26 - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a furfural no estudo da adsorção do licor hidrolisado do bagaço de caju.....	96
Figura 4.27 - Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre ácido acético no estudo da adsorção do licor hidrolisado do bagaço de caju.....	97
Figura 4.28 - Influências do pH e tempo (min) sobre a adsorção da glicose (mg/L) no licor hidrolisado fixando-se a razão massa de lignina/licor no nível inferior.....	100
Figura 4.29 - Influências do pH e tempo (min) sobre a adsorção do HMF (mg/L) no licor hidrolisado fixando-se a razão massa de lignina/licor no nível inferior.....	101

Figura 4.30 - Influências do pH e tempo (min) sobre a adsorção do furfural (mg/L) no licor hidrolisado fixando-se a razão massa de lignina/licor no nível inferior.....	101
Figura 4.31 - Região de melhor relevância do pH e tempo sobre a adsorção da glicose, HMF e Furfural no licor hidrolisado fixando-se a razão massa de lignina/licor no nível inferior que possui a maior remoção dos inibidores com a menor adsorção dos açúcares.....	102
Figura 4.32 - Cinética de consumo de glicose e produção de etanol no Licor Hidrolisado com adição de levedura <i>S. cerevisiae</i> comercial (A), levedura <i>S. cerevisiae</i> industrial (B).....	105
Figura 4.33 - Cinética de consumo de glicose e produção de etanol no Licor Hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual com adição de levedura <i>S. cerevisiae</i> comercial (A), levedura <i>S. cerevisiae</i> industrial (B).....	105
Figura 4.34 - Cinética de consumo de glicose + frutose e produção de etanol no Licor Hidrolisado mais adição de suco de caju com inoculação de levedura <i>S. cerevisiae</i> comercial (A), levedura <i>S. cerevisiae</i> industrial (B).....	106
Figura 4.35 - Rendimento de etanol em função do tempo de fermentação no Licor Hidrolisado com adição de levedura <i>S. cerevisiae</i> comercial (—◆—), levedura <i>S. cerevisiae</i> Industrial (—■—).....	108
Figura 4.36 - Rendimento de etanol em função do tempo de fermentação no Licor Hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual com adição de levedura <i>S. cerevisiae</i> comercial (—■—), levedura <i>S. cerevisiae</i> industrial (—◆—).....	108
Figura 4.37 - Rendimento de etanol em função do tempo de fermentação no Licor Hidrolisado mais adição de suco de caju com adição de levedura <i>S. cerevisiae</i> comercial (—■—), levedura <i>S. cerevisiae</i> industrial (—◆—).....	109
Figura 4.38 - Balanço de massa para a produção de etanol celulósico a partir do processamento do bagaço do pedúnculo do caju seco.....	113

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1	Composição química e físico-química do pedúnculo do caju amarelo e vermelho.....	9
Tabela 2.2	Processos para o pré-tratamento da matéria-prima lignocelulósica para hidrólise.....	20
Tabela 2.3	Estimativas de rendimentos e custos para produção de bioetanol.....	44
Tabela 3.1	Valores reais e níveis dos fatores estudados para o planejamento fatorial da pré-hidrólise.....	53
Tabela 3.2	Matriz de fatorial 2^3 com 5 pontos centrais e 6 axiais, totalizando 19 experimentos com 5 pontos centrais e 6 axiais, totalizando 19.....	54
Tabela 3.3	Valores reais e níveis dos fatores estudados para o planejamento fatorial da hidrólise.....	55
Tabela 3.4	Matriz de planejamento fatorial 2^3 utilizada na hidrólise.....	55
Tabela 3.5	Valores reais e níveis codificados dos fatores estudados para o planejamento fatorial para o estudo do processo de destoxificação.....	59
Tabela 3.6	Matriz de fatorial 2^3 com 3 pontos centrais e 6 axiais, totalizando 17 experimentos.....;	59
Tabela 4.1	Caracterização química e físico-química do bagaço do caju úmido (BCU) e seco (BCS) a 55 °C	63
Tabela 4.2	Caracterização físico-química do bagaço em base seca, após o pré-tratamento ácido.....	68
Tabela 4.3	Comparação entre a composição química do bagaço do caju pré-tratado utilizada neste trabalho com outros resíduos lignocelulósicos pré-tratados descritas na literatura.....	69
Tabela 4.4	Matriz de planejamento experimental com as variáveis de entrada e de saída obtidos no processo de pré-hidrólise do bagaço de caju para o tempo de 90 min.....	77
Tabela 4.5	ANOVA para as respostas das pentoses (arabinose + xilose) na pré-hidrólise.....	79
Tabela 4.6	ANOVA para as respostas da glicose na pré- hidrólise.....	80
Tabela 4.7	Caracterização físico-química dos componentes majoritário do bagaço após o pré-tratamento ácido.....	81
Tabela 4.8	Matriz de planejamento experimental com as variáveis de entrada e de saída obtidos no processo de hidrólise do bagaço de caju.....	83
Tabela 4.9	ANOVA para as respostas da glicose na hidrólise.....	89
Tabela 4.10	ANOVA para as respostas da xilose na hidrólise.....	89
Tabela 4.11	Caracterização físico-química dos componentes majoritário do bagaço após a hidrólise ácida para o experimento 6, que apresentou os níveis que maximizam a extração de glicose.....	90
Tabela 4.12	Caracterização físico-química do licor hidrolisado por meio de cromatografia	92

liquida de alta eficiência, para os açúcares e inibidores da fermentação, licor padrão para o estudo de adsorção.....	
Tabela 4.13 Concentração (mg/L) de açúcares e compostos tóxicos no licor hidrolisado de bagaço do pedúnculo de caju em função do processo de adsorção com lignina residual.....	93
Tabela 4.14 Porcentagem de redução de açúcares e compostos tóxicos no licor hidrolisado de bagaço do pedúnculo de caju em função do processo de adsorção com lignina residual.....	94
Tabela 4.15 ANOVA para a resposta da glicose no estudo de adsorção no licor hidrolisado.....	98
Tabela 4.16 ANOVA para a resposta da HMF no estudo de adsorção no licor hidrolisado	99
Tabela 4.17 ANOVA para a resposta da furfural no estudo de adsorção no licor hidrolisado.....	99
Tabela 4.18 ANOVA para a resposta da ácido acético no estudo de adsorção no licor hidrolisado.....	99
Tabela 4.19 Caracterização físico-química do licor hidrolisado, por cromatografia líquida de alta eficiência, para os açúcares e inibidores da fermentação (concentrações expressas em mg/L).....	103
Tabela 4.20 Resultados dos valores de pH e sólidos solúveis totais (°Brix), dos três licores para as duas linhagens de levedura durante o processo fermentativo.....	104
Tabela 4.21 Resultados em percentual dos rendimentos e eficiência da fermentação dos três tratamentos nos licores para as duas linhagens de levedura no processo fermentativo.....	109
Tabela 4.22 Comparativo percentual dos rendimentos e eficiência da fermentação dos licores hidrolisados com e sem redução da glicose por meio da adsorção pelas leveduras	110
Tabela 4.23 Resultados em percentual dos rendimentos e das eficiências das fermentações dos licores para as duas linhagens de levedura no processo sem destoxificação (licor hidrolisado <i>in natura</i>) e com tratamento de adsorção (destoxificação).....	110
Tabela 4.24 Valores de rendimento teórico em bioetanol, obtidos em fermentações com diferentes tipos de substratos.....	111

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Justificativa	3
1.2 Objetivos	5
1.2.1 Objetivo geral.....	5
1.2.2 Objetivos específicos.....	5
2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA	7
2.1 O caju	7
2.2 Materiais lignocelulósicos constituição e características	9
2.2.1 celulose.....	10
2.2.2 Hemicelulose.....	11
2.2.3 Lignina.....	13
2.2.4 Extrativos.....	15
2.3 Aproveitamento do material lignocelulósico.....	16
2.4 Aplicações dos materiais lignocelulósicos para produção de bioetanol.....	17
2.5 Pré-tratamento do material lignocelulósico.....	19
2.5.1 Pré-tratamento hidrotérmico (hot water liquid).....	22
2.5.2 Pré-tratamento com ácido diluído.....	22
2.6 Hidrólise da biomassa	23
2.6.1. Hidrólise ácida de biomassa.....	24
2.6.2 Antecedentes sobre fermentação de licores resultantes da hidrólise.....	28
2.6.3 Inibidores da fermentação alcoólica gerados durante os pré-tratamentos ou na hidrólise ácida.....	29
2.6.3.1 Furfural e hidroximetilfurfural (HMF).....	31
2.6.3.2 Ácidos alifáticos.....	32
2.6.3.3 Compostos fenólicos.....	32
2.7. Fundamentos da adsorção	33
2.7.1 Aplicações da adsorção.....	34
2.7.2 Processos adsorptivos para remoção de inibidores e aumento da fermentabilidade dos licores de hidrólise.....	36
2.7.2.1 Métodos biológicos.....	36
2.7.2.2 Métodos químicos e físicos.....	36
2.7.2.3 Emprego da lignina residual como adsorvente.....	37
2.8 Produção de bioetanol	37
2.8.1 Matérias primas para a produção de bioetanol.....	38
2.8.2 Processo de produção.....	38
2.8.3 Processo fermentativo.....	39
2.8.4 Leveduras e produção de Bioetanol.....	40
2. 9. Etanol de segunda geração: desafios e oportunidades	41
2.10. Estimativas de rendimentos e custos para produção de bioetanol	43
2.11. Trabalhos de produção de etanol de 2ª geração	44

3. MATERIAL E MÉTODOS.....	48
3.1 Local da pesquisa.....	48
3.2 Matéria prima.....	48
3.3 Processamento para obtenção do bagaço do caju seco.....	48
3.4 Caracterização do bagaço.....	49
3.5 Estudos cinéticos das pré-hidrólise e hidrólise do bagaço de caju.....	52
3.6 Planejamento experimental para o estudo do processo de pré-hidrólise e hidrólise ácida do bagaço de	53
3.6.1 Processo de pré-hidrólise.....	53
3.6.2 Processo de hidrólise.....	55
3.6.3 Caracterização do resíduo do pré-hidrolisado e dos licores pré e hidrolisado..	56
3.6.4. Análise dos dados e avaliação do modelo.....	57
3.7 Estudo do processo de remoção de inibidores.....	57
3.7.1. Obtenção da lignina residual (adsorvente).....	58
3.7.2. Solução dos adsorbatos	58
3.7.3. Ensaio de adsorção dos inibidores presente no licor.....	58
3.8 Estudo da fermentação alcoólica dos hidrolisados ácidos.....	69
3.8.1 Rendimento do produto $Y_{p/s}$	61
3.8.2 Eficiência do processo fermentativo (E_f).....	62
3.9 Estimativas da produção de etanol a partir do bagaço do pedúnculo de caju.	62
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
4.1 Caracterização do bagaço do caju úmido (BCU) e seco (BCS).....	63
4.1.1 Caracterização química e físico-química do bagaço do caju úmido e seco.....	63
4.1.2. Análise granulométrica do bagaço pedúnculo do caju seco.....	65
4.1.3 Caracterização do bagaço do caju após o pré-tratamento ácido.....	68
4.2 Cinéticas de reação de pré-hidrólise e hidrólise no reator.....	69
4.2.1 Cinéticas de reação de pré-hidrólise no reator.....	70
4.2.2 Cinéticas de reação de hidrólise no reator	71
4.3 Estudo da influência das variáveis independentes sobre a pré-hidrólise ácida.....	76
4.4 Estudo das influências das variáveis independentes sobre a hidrólise ácida.....	82
4.5. Aplicação do processo de adsorção dos inibidores do licor hidrolisado do bagaço do pedúnculo de caju (destoxificação).....	91
4.6 Estudo cinético da fermentação dos hidrolisados.....	102
4.6.1 Cinética de consumo dos açúcares e de produção de etanol.....	104
4.6.2 Eficiência Fermentativa.....	107
4.7 Estimativas da produção de etanol a partir do bagaço do pedúnculo de caju	112
5. CONCLUSÕES	114
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	116
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	117
7. APÊNDICE.....	139

1. INTRODUÇÃO

O etanol desperta de modo crescente a atenção de pesquisadores, empresas e governos. Isso decorre das pressões de preços e limitação das fontes não renováveis de combustíveis fósseis, assim como de preocupações de natureza ambiental relacionadas à emissão de substâncias que comprometem o meio ambiente.

Por motivos econômicos geopolíticos e ambientais, as atenções do mundo se voltam para as fontes alternativas de energia, em especial para o etanol. O estabelecimento de metas extremamente ambiciosas para aumento do consumo deste álcool nos próximos anos, principalmente nos países desenvolvidos, requer um aumento substancial na produção de etanol e, nesse sentido, estimula a pesquisa e o desenvolvimento de novas matérias-primas para o álcool etílico, como a biomassa lignocelulósica, e a construção de biorrefinarias integradas, um conceito análogo das refinarias de petróleo (ALAIN, 2010).

No Brasil, a partir da trajetória virtuosa de trinta anos do etanol combustível, as atenções também se voltam para a álcoolquímica, como caminhos para a ampliação da produção química no país frente às limitações de oferta doméstica de nafta petroquímica. As iniciativas nacionais contemplam o desenvolvimento de novas tecnologias de etanol com base na biomassa lignocelulósica proveniente de resíduo da agroindústria e a instalações de biorrefinarias, mas dentro de um enfoque e de uma estratégia própria decorre da especificidade de cada biomassa, em termos de custos e balanço energético positivo (BASTOS, 2007).

As instalações de biorrefinarias capazes de transformar vários tipos de biomassa a preços competitivos em relação às atuais fontes fósseis, em combustíveis, produtos químicos, eletricidade e fonte de calor, tem-se apresentado como foco mundial dos pesquisadores na área tecnológica. De tal forma que as biorrefinarias e o uso da biomassa celulósica emergem como fundamentais para alcançar as metas de produção/consumo de etanol, em função das limitações das fontes atualmente empregadas.

Na produção do álcool celulose que corresponde à produção utilizando-se como matérias-primas à biomassa lignocelulósica, provenientes de resíduos da agroindústria e culturas vegetais, são empregadas três etapas de operação, que são: a) Pré-tratamento para separar celulose e lignina; b) Hidrólise ácida ou enzimática, para transformação da celulose em glicose; c) Fermentação alcoólica por leveduras (ROSSELL, 2006a).

Para produção de álcool celulose com substratos lignocelulósicos os principais problemas são: formação de substâncias inibidoras da fermentação alcoólica na hidrólise ácida e redução do custo da hidrólise enzimática (PEREIRA Jr., 2006).

Segundo Rossell (2006b), os processos de adsorção empregando carvão ativo e outros adsorventes orgânicos e inorgânicos como zeólitas, resinas de troca iônica entre outros, são tratamento para remoção de inibidores do licor hidrolisado, cujo teor de inibidores no licor, após o tratamento ácido depende da natureza da matéria-prima utilizada.

A utilização de culturas que apresentem alta potencialidade em celulose que podem ser convertidos em álcool merecem ser estudadas, uma vez que em seu processo podem apresentar menos inibidores para o processo de fermentação, gerando assim, um novo desafio para a otimização do processo de obtenção de álcool celulose.

Portanto, dentre varias matérias-primas lignocelulósicas, o cajueiro apresenta-se como alternativa provável, pois o pedúnculo do fruto é bastante desperdiçado e o Brasil se destaca no cenário mundial por ser um dos principais produtores.

A agroindústria de caju no Brasil possui uma área cultivada de 754.863 ha, proporcionando uma produção de 105.886 toneladas de castanha e mais de 952.974 toneladas de pedúnculos por ano (IBGE, 2010). O cultivo desta cultura é uma atividade de grande importância sócio-econômica para a região Nordeste do Brasil, responsável por 100% da exploração econômica do cajueiro, principalmente, nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí que possuem cerca de 88% da área cultivada no País. Entretanto, o aproveitamento do pedúnculo (pseudofruto) ainda é insignificante em relação à quantidade de matéria-prima disponível (AGOSTINI-COSTA et al., 2004).

Dessas duas partes, o pedúnculo apresenta o menor aproveitamento (estima-se inferior a 12% da produção). O grande desperdício do pedúnculo é devido à reduzida estabilidade pós-colheita, associada à pequena capacidade de absorção da indústria e curto período de safra (PAIVA et al., 2000). A elaboração e consumo de produtos obtidos a partir do bagaço do pedúnculo de caju proporcionam uma alternativa de aproveitamento, além da possibilidade de diversificação da produção agroindustrial.

O aproveitamento racional de restos de culturas como o pedúnculo do caju visando à possibilidade da aplicação para a produção de biocombustíveis a partir de sua massa constituída de celulose necessita de mais estudos.

1.1. Justificativa

No novo cenário mundial, as atenções voltadas para o etanol não estão mais restritas ao etanol combustível, mas incorpora o álcool etílico grau químico, fonte de matérias-primas (químicas) utilizadas em diversos setores da indústria de transformação. A alcoolquímica é o segmento da indústria química que utiliza o álcool etílico como matéria-prima para fabricação de diversos produtos químicos. Com efeito, boa parte dos produtos químicos derivados do petróleo pode ser obtida também deste composto, em particular o eteno, matéria-prima para resinas, além de produtos hoje importados derivados do etanol como acetato e o éter etílico. Da mesma forma, muitos produtos químicos eram obtidos de outras fontes fósseis como o carvão, até serem suplantados pela petroquímica como fonte principal de matéria-prima (BASTOS, 2007).

A substituição de combustíveis fósseis por biocombustíveis tem sido estimulada pelo governo, não apenas em virtude da volatilidade e do aumento dos preços do petróleo, mas pela perspectiva de limitação das reservas e o meio ambiente. Não parece haver dúvida sobre o esgotamento da oferta mundial de fontes fósseis; a incerteza é apenas sobre quando isso ocorrerá (CHEMICAL ENGINEERING, 2009). Além disso, o volume expressivo de dióxido de carbono (CO₂) que é lançado atualmente na atmosfera. Em 2002, 24 bilhões de toneladas métricas foram lançadas pela queima de combustíveis fósseis e, em 2015, essa quantidade deve alcançar 33 bilhões. A queima de um galão de etanol, adiciona pouco carbono à atmosfera e o montante desprendido no processo é praticamente igual ao absorvido pelas plantas na produção do próximo galão (TECHNOLOGY REVIEW, 2006). O etanol gera dez vezes mais energia do que consome em sua produção (INOVAÇÃO UNICAMP, 2008).

Tendo em vista a constante busca de novos materiais do tipo biomassa para a produção de álcool celulose, o pedúnculo do fruto do caju se apresenta como alternativa provável, uma vez que o cajueiro é cultivado atualmente em 27 países. Sendo o Brasil o 3º produtor de castanha do mundo, com uma produção anual de mais de 1 milhão de toneladas anuais (EMBRAPA, 2009), em uma área cultivada de mais de aproximadamente 755 mil hectares, com uma extensa área tropical em todo o Brasil, geralmente por pequenos agricultores (AZEVEDO, 2011).

Levando-se em consideração o tamanho do consumo mundial, além do fato de que o pedúnculo do fruto do caju atinge peso oscilando de 70 a 90 gramas, e cerca de 25% desta

massa não é aproveitada quando na produção de sucos, verifica-se que as toneladas e mais toneladas dos resíduos da produção do suco, tendem a ser, em grande parte desperdiçadas ou só uma pequena parte dos resíduos servem como adubo orgânico. Desta forma utilizando o pedúnculo do fruto do caju tem-se um aumento significativo da produção de álcool etílico sem o aumento da área plantada.

A utilização do pedúnculo de caju para a produção de biocombustível (bioetanol) é uma forma de aproveitá-lo diminuindo o seu desperdício, que é em torno de 85% da produção anual, e fazendo com que a cultura do caju seja mais valorizada, gerando emprego e renda. Esse desperdício se deve ao fato de ser o principal interesse comercial do fruto integral a industrialização da castanha, para a produção de óleos e castanha comestível, com alto índice de exportação desses produtos (MACHADO, 2009).

Além disso, já é do conhecimento científico que etanol de matérias-primas como frutas e amiláceas apresentam melhor qualidade, ou seja, etanol que tem potencial de ser usado como álcool extrafino nas indústrias alimentícias, farmacêutica e na alcoolquímica (SILVA, 1998).

Como suporte para o desenvolvimento da pesquisa utilizou-se o Laboratório de Engenharia Bioquímica do Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Federal de Campina Grande - LEB/CCT/UFCG, que atua na produção de bioetanol, utilizando-se do material lignocelulósico bagaço do pedúnculo do caju (*Anacardium occidentale* L.) e cladódio da raquete da palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill), por via ácida e enzimática, com posterior fermentação dos licores hidrolisados para produção de etanol. Estas pesquisas estão relacionadas com os projetos aprovados: (Processo no 552815/2007-1-"Aproveitamento do pedúnculo de caju na produção de biocombustível (bioetanol)", aprovado no Edital MCT/CNPq/CTA Agro/CTBio nº 39/2007-Tecnologias de Vanguarda para a Produção de Etanol e Biodiesel) e o cladódio da raquete da palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill). Com relação a produção de inibidores que podem afetar a fermentação do licor pré-tratado, rico em pentoses, estuda-se a utilização de adsorventes minerais e orgânicos, argilas bentoníticas e lignina, para retirar esses inibidores (furfural, HMF e ácido acético). Este estudo também está relacionado a um projeto, vinculado ao CNPq (Processo 476209/2008-0 Edital MCT/CNPq 14/2008 - Universal / Edital MCT/CNPq 14/2008 - Universal - remoção de inibidores por adsorção e hidrolisados de biomassas utilizando argilas bentonitas como adsorvente).

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo geral

Estudar a hidrólise ácida e fermentação da matéria-prima lignocelulósica bagaço do pedúnculo do caju (*Anarcadium occidentale* L.) para a produção dos licores hidrolisados visando à fermentação alcoólica (fermentação submersa).

1.2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar química, física e fisico-química da matéria-prima bagaço do pedúnculo de caju *in natura* e seco a 55 °C (umidade, pH, sólidos solúveis totais (°Brix), açúcares redutores totais, açúcares redutores, acidez total titulável, cinzas, celulose, hemicelulose, lignina total, fibras em detergente neutro, fibras em detergente ácido, extrativos e análise granulométrica do bagaço seco);
- Estudar à pré-hidrólise ácida da matéria lignocelulósica (bagaço de caju), com H₂SO₄ diluído, utilizando-se de metodologias adaptadas que são utilizadas para a pré-hidrólise do bagaço da cana-de-açúcar e outras matérias lignocelulósicas;
- Reconhecer à Caracterização química e físico-química dos resíduos (bagaço) dos pré-hidrolisados ácidos (umidade, fibras, celulose, hemicelulose, lignina total, pH, °Brix, cinzas);
- Reconhecer à Caracterização química e físico-química dos licores pré-hidrolisados ácidos (açúcares -glicose, xilose, arabinose; pH, °Brix, 5-hidroximetilfurfural – HMF, furfural e ácido acético);
- Apresentar um estudo das hidrólises ácidas da matéria lignocelulósica (resíduo da pré-hidrolise-bagaço de caju), com H₂SO₄ diluído, utilizando-se de metodologias adaptadas que são utilizadas para a hidrólise do bagaço da cana-de-açúcar e outras matérias lignocelulósicas;
- Caracterizar química e físico-química dos licores hidrolisados ácidos (açúcares -glicose, xilose, arabinose; pH, °Brix, 5-hidroximetilfurfural –HMF, furfural e ácido acético);
- Identificar os prováveis inibidores produzidos nos processos de hidrólise ácida;

-
- Aplicar um processo de adsorção na retirada de inibidores do licor (hidrólise ácida) de maior influência para facilitar a etapa seguinte de fermentação alcoólica, utilizando-se de ligninas residuais (provenientes da hidrólise);
 - Realizar um estudos das cinéticas da fermentação alcoólica dos hidrolisados (licores) ácidos, verificando as influências dos tratamentos (licor hidrolisado, licor hidrolisado após processo de adsorção e licor hidrolisado com adição de suco de caju) sobre o processo fermentativo, utilizando-se de leveduras (comercial e industrial);
 - Determinar os parâmetros cinéticos nas fermentações alcoólicas dos hidrolisados (rendimento teórico ($Y_{P/S}$) e eficiência do processo fermentativo (E_f));
 - Verificar a estimativa da produção de etanol a partir do bagaço do pedúnculo de caju (balanço de massa).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O caju

O cajueiro pertencente à família *Anacardiaceae*, *Dicotyledonea*, gênero *Anacardium*, espécie *Anacardium occidentale* L. (cajueiro comum). Segundo estudiosos é uma planta perene, nativa do Brasil. Sua origem é um fato; o litoral nordestino é tido como centro de origem e dispersão do cajueiro comum (SOUZA et al., 2002).

São conhecidas cerca de vinte variedades de caju, classificadas segundo a consistência da polpa, o formato, o paladar e a cor da fruta (amarela, vermelha ou roxo-amarelada, dependendo da variedade (AZEVEDO, 2011).

O caju é um fruto de especial interesse botânico, sendo conhecido pela sua castanha de alta qualidade. O fruto do cajueiro, a castanha, é definido como um aquênio reniforme pendente do pedúnculo floral, hipertrofiado, carnoso e suculento, denominado comumente de caju. A castanha é constituída basicamente de três partes: a casca, a película e a amêndoa. A proporção entre estes três componentes é, 65,4% de casca, 2,5% película e 32,1% de amêndoa (FARIA, 1994).

São encontrados vários tipos de caju que se diferenciam pela cor podendo ser amarelo, vermelho, manteiga, banana, maçã e travoso. As propriedades nutricionais da fruta se destacam pelas altas concentrações de carboidratos e vitamina C (ácido ascórbico), bem como uma apreciável concentração de tanino. Estes componentes presentes no pseudofruto fazem com que haja várias opções de utilização do pedúnculo do caju, tais como na indústria de sucos, indústria alimentícias de doces, geléias e derivados (HOLANDA et al., 1998).

Encontrado em grande parte do mundo ocidental. Sua área de ocorrência esta compreendida entre as latitudes de 30° Norte e 31° Sul, sendo cultivado atualmente em 27 países. Os principais produtores de castanha são Índia, Nigéria, Brasil, Tanzânia e Indonésia, com 36,60, 14,64, 12,81, 8,86 e 5,74%, respectivamente, da produção mundial (PEREIRA et al., 2005).

No Brasil, a cajucultura possui uma área cultivada de 754.863 ha, proporcionando uma produção de 105.886 toneladas de castanha e mais de 952.974 toneladas de pedúnculos por ano. O cultivo desta cultura é uma atividade de grande importância sócio-econômica para a região Nordeste do Brasil, responsável por 100% da exploração econômica do cajueiro,

principalmente, nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí que possuem cerca de 88% da área cultivada no País (IBGE, 2010); entretanto, o aproveitamento do pedúnculo (pseudofruto) ainda é insignificante em relação à quantidade de matéria-prima disponível (AGOSTINI-COSTA et al., 2004).

O caju representa para a região Nordeste uma atividade econômica de grande expressão, garantindo renda para cerca de mais de 300 mil pessoas e gerando divisas superiores a 100 milhões de dólares anuais. Porém o aproveitamento industrial do caju é feito praticamente do fruto (a castanha) para produção de castanha comestível, já que apenas 15% do pedúnculo (parte suculenta) é aproveitado para a produção do suco e derivados do pseudofruto. Dessa forma contribuindo para o agravamento de problemas, sociais e econômicos, como a proliferação de doenças causadas por ratos, entre outros agentes patológicos, devido ao acúmulo de restos de pedúnculos depositados no meio ambiente e o grande desperdício (PAIVA e BARROS, 2004).

A ocupação de mão-de-obra temporária nos trabalhos de colheita que ocorre no período de setembro a dezembro chega a 200 mil pessoas. Estratificando estes números entre os principais estados produtores, vê-se que no Ceará são gerados 30.000 empregos diretos e 100.000 indiretos. No Piauí a atividade proporciona 28.300 trabalhadores rurais permanentes e 56.700 temporários (MOURA, 2007).

Sua exploração econômica é uma atividade relativamente nova, dos anos 1950 e 1960. No Brasil, o pedúnculo do cajueiro pode ainda ser aproveitado na forma de subprodutos variados como sucos, sorvetes, doces, licor, mel, geléias, cajuína, refrigerantes gaseificados, e aguardentes. Entretanto, embora o caju alcance preços elevados nos principais centros de consumo brasileiros, o pedúnculo ainda não oferece retorno econômico para a maioria dos produtores. Com isso várias pesquisas foram desenvolvidas para a obtenção de genótipos de cajueiro feita com o uso de clones, que permitissem não só o aumento de produtividade, como também a melhoria da qualidade da castanha para a indústria e o aproveitamento do pedúnculo. (PEREIRA et al., 2005).

De acordo com Souza et al. (2002), a composição físico-químico do pedúnculo caju do varia largamente em função da variedade, tipo de solo, o clima, do estado de maturação, do tamanho, da duração da colheita e de variações ambientais regionais e as condições de cultivo entre outros fatores.

A Tabela 2.1 apresenta a composição média do pedúnculo do caju amarelo e vermelho em diferentes anos e safras distintas.

Tabela 2.1 - Composição química e físico-química do pedúnculo do caju amarelo e vermelho

Discriminação	Pedúnculo do caju *	Pedúnculo de caju **
	amarelo	vermelho
Umidade (%)	86,33	86,07
Sólidos solúveis ° Brix	10,70	10,98
Açúcares total (%)	8,00	8,38
Açúcares redutores (%)	-	8,00
Proteínas (Nx6,25) (%)	-	0,74
Extrato etéreo (%)	-	0,39
Amido	-	1,33
Taninos (%)	0,35	0,403
Acidez total (% ácido málico)	0,35	0,336
Ácido Ascórbico (mg/100g)	261,00	204,00
pH	3,90	4,48
Carotenóides	-	0,224
Vitamina A (UI)	-	11,32
Cinzas (%)	-	0,38
Cálcio (mg/100g)	14,70	14,7
Ferro (mg/100g)	-	0,35
Fósforo (mg/100g)	32,55	32,55

Fonte: Soares (1986) *, Faria (1994)**

O conhecimento da composição dos resíduos é primordial para se determinar o tratamento e tipo de aproveitamento para o qual será destinado. A composição química de cada tipo de resíduo é única, no entanto os resíduos alimentares geralmente são compostos por carbono, hidrogênio e oxigênio, o nitrogênio também pode estar presente. Muitos contêm carboidratos, celulose e cinzas. Estes contêm um significativo conteúdo de energia metabolizável pelo organismo humano e animal (CARIOCA e ARORA, 2000).

Segundo Paiva et al., (2000), estudos mostram que para cada quilo de castanha corresponde a 9 quilos de polpa. A produção da polpa, em 2007 foi de 2,3 milhões de toneladas. Calcula-se que é utilizado apenas de 15% a 20% da polpa na fabricação de doces, sucos, vinho ou consumo *in natura* sendo que 80% é desperdiçado, ou seja, 1,9 milhões de toneladas são resíduos, tratados como lixo.

2.2 Materiais lignocelulósicos constituição e características

Conforme Silva (1995) os materiais lignocelulósicos são um composto de micro fibrilas de celulose, envolvidas em uma matriz amorfa de polioses e lignina. Essa matriz amorfa age como uma barreira natural ao ataque de microorganismos ou enzimas, e torna

esses materiais estruturalmente rígidos e pouco reativos, segundo o mesmo autor a compreensão da complexidade estrutural e da reatividade dos materiais lignocelulósicos exige o conhecimento das características e das propriedades de cada um dos seus componentes. Há também na composição da massa total do bagaço os extrativos como graxas, gomas, amidos, alcalóides, resinas e óleos essenciais.

2.2.1 Celulose

A celulose (23 - 50% da matéria seca da biomassa lignocelulósica) é um polímero linear que contém até 15.000 unidades de β -D-glicoses unidas por ligações glicosídicas β -1,4 carbono-carbono e por ligações de hidrogênio intramoleculares (ligações entre unidades de glicose da mesma molécula) e intermoleculares (entre unidades de glicose de moléculas adjacentes) (ARANTES e SADDLER, 2010).

As ligações intermoleculares são responsáveis pela rigidez e as ligações intramoleculares são responsáveis pela formação de fibrilas, estruturas altamente ordenadas que se associam formando as fibras de celulose. As fibrilas apresentam desde regiões com elevado grau de cristalinidade, nas quais as cadeias de glicana estão firmemente ligadas em paralelo, até regiões com menor grau de ordenação, chamadas de regiões amorfas. Na região cristalina, as fibras têm maior resistência à tração, ao alongamento e à solvatação (absorção de solvente) que na região amorfa, onde a fibra possui sua maior flexibilidade (VÁSQUEZ et al., 2007).

Devido à linearidade das cadeias, as moléculas adjacentes formam uma rede de agregados (micro fibrilas) insolúveis em água. A unidade repetitiva da cadeia de celulose é a celobiose, mostrada na Figura 2.1.

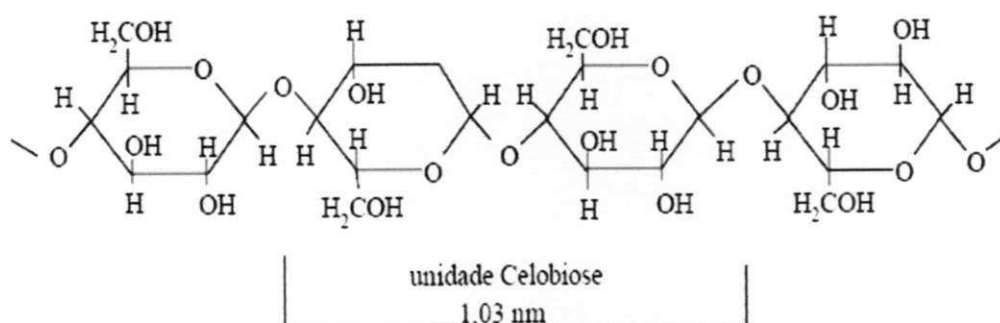


Figura 2.1 – Estrutura da celulose. Parte central da cadeia molecular (FENGEL E WEGENER, 1989).

Segundo Barbosa et al, (2008), a maioria dos materiais lignocelulósicos é constituída por celulose, hemicelulose e lignina, na proporção 4:3:3 e pequenas quantidades de extrativos e sais minerais (CARVALHO et. al., 2005)

As microfibrilas, com diâmetro médio de 1 a 30 nm, apresentam regiões cristalinas e amorfas. As pontes de hidrogênio inter-molecular e intra-molecular, observados na Figura 2.2, são responsáveis pela manutenção das regiões cristalinas e torna a celulose altamente resistente à hidrólise ácida ou enzimática, uma vez que o contato micro fibrila-água-ácido é restrito (SILVA, 1995). Assim agentes ou métodos que atuem sobre a cristalinidade, beneficiam a hidrólise da celulose (DUARTE, 1989).

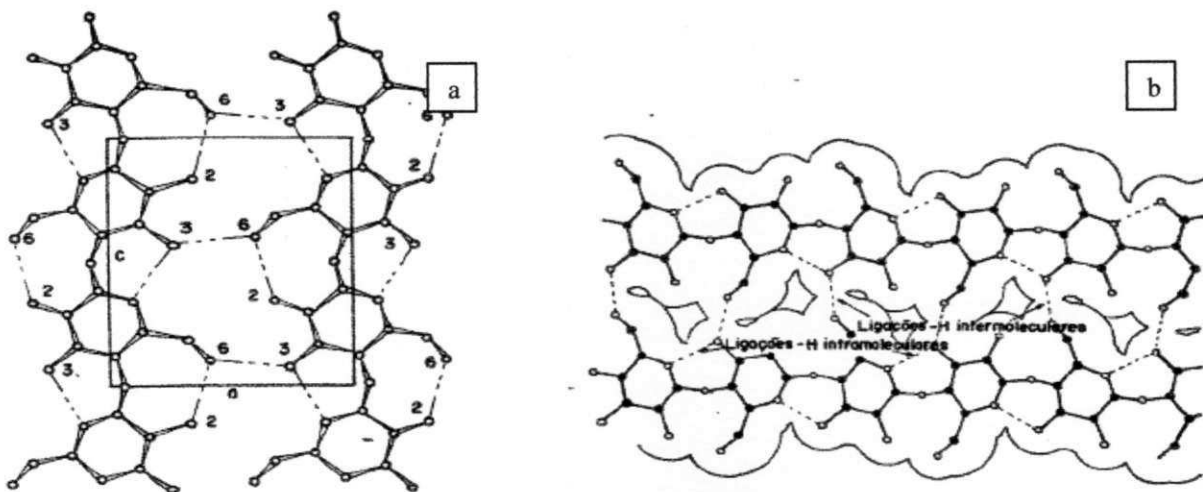


Figura 2.2 – Ligações intra-moleculares e inter-moleculares em duas moléculas adjacente de celulose (DUARTE, 1989).

As longas cadeias de glicose, combinadas a formar microfibrilas com diâmetro entre 4-10 nm em eletromicrofibrilas tornam a celulose resistente. O conjunto de microfibrilas, aos quais são organizadas em lamelas para formar a estrutura fibrosa das várias camadas da parede celular vegetal. As microfibrilas de celulose são revestidas com hemicelulose e embebidas em lignina, formando os materiais lignocelulósicos (CARLILE et al., 2002).

2.2.2 Hemicelulose

A hemicelulose é um polímero de pentose, em especial as D-xilanas, que são polímeros de D-xilose em ligação com cadeias laterais de arabinose e outros açúcares e por isso é o polímero de principal interesse em processos de bioconversão de xilose à xilitol (BALAT et al., 2008). A estrutura amorfa da hemicelulose torna-se mais facilmente hidrolisada do que a celulose por possuir em torno de 100 a 200 unidades de açúcares (BARBOSA et al., 2008).

A hidrólise da hemicelulose fornece pentoses (xilose e arabinose), carboidratos estes não diretamente fermentescíveis por leveduras industriais, sendo a bio-transformação destas pentoses a etanol um dos desafios mais importantes a resolver no âmbito científico e tecnológico. Ainda da hemicelulose resultam hexoses tais como: glicose, manose e galactose; sendo que esta última exige linhagens de levedura específicas para produção de etanol. (ROSSELL, 2007).

As poliooses estão estruturalmente mais relacionadas à celulose e são depositadas na parede das células em estágio anterior à lignina. A natureza química das poliooses varia, nas plantas, de tecido para tecido e de espécie para espécie. As poliooses, ao contrário da celulose, são compostas por vários açúcares (pentoses, hexoses, ácidos hexurônicos e deoxi-hexoses mostradas na Figura 2.3) que formam polímeros de cadeia mais curta e em alguns casos ramificada (BARBOSA et al., 2008).

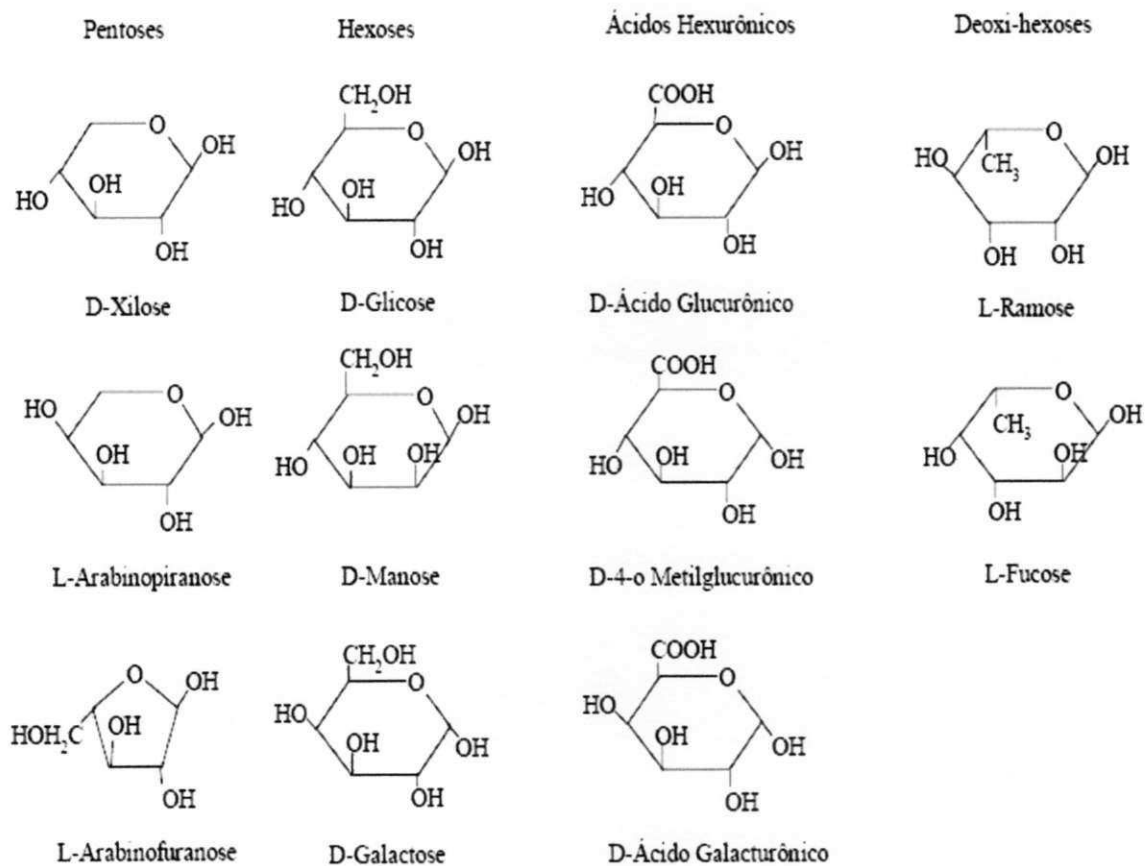


Figura 2.3 – Estruturas dos açúcares presentes nas poliooses (FENGEL E WEGENER, 1989).

As poliooses são classificadas basicamente de acordo com os açúcares presentes na cadeia principal do polímero: xilanas, mananas, glucanas, galactanas e pectinas.

As xilanas são homopolímeros formados por moléculas de xilose, as mananas são heteropolímeros formados por unidades de manose e glicose, as galactanas são altamente ramificadas, com a cadeia principal formada por unidades de galactose e cadeias laterais formadas por glucurônico e as glucanas e pectinas estão presentes em tecidos especiais das plantas, como os de reserva alimentar (SILVA, 1995).

2.2.3 Lignina

A lignina é um polímero de fenilpropano com diferentes ligações entre os monômeros com estruturas tridimensionais (BARBOSA et al., 2008). Que tem sua constituição na polimerização desidrogenativa do álcool coniferílico (SALIBA et al., 2001). A palavra lignina vem do latim *lignum*, que significa madeira. Trata-se de um dos principais componentes dos tecidos de gimnospermas e angiospermas, ocorrendo em vegetais e tecidos vasculares é o polímero orgânico mais importante e abundante do reino vegetal, depois da celulose (SILVA, 1995).

A lignina classifica-se em core e não core, com base em sua susceptibilidade relativa à hidrólise deve ser definida claramente de acordo com o trabalho em questão, devido à grande diversidade de maneiras de tratamento para seu isolamento, as interações entre a lignina, a celulose e as polioses determinam a ultra-estrutura da parede celular dos materiais lignocelulósicos. (HENDRIKS e ZEEMAN, 2009).

Lignina core: consiste de polímeros fenilpropanóides da parede celular, altamente condensados e muito resistentes à degradação. Eles são compostos de unidades p-hidroxifenila (H), guaiacila (G) e siringila (S), em proporções diferentes, de acordo com sua origem.

Lignina não core: consiste de compostos fenólicos de baixo peso molecular, liberados da parede celular por hidrólise, que é representada por ácidos p-hidroxicinâmico éster-ligados (SALIBA et al., 2001).

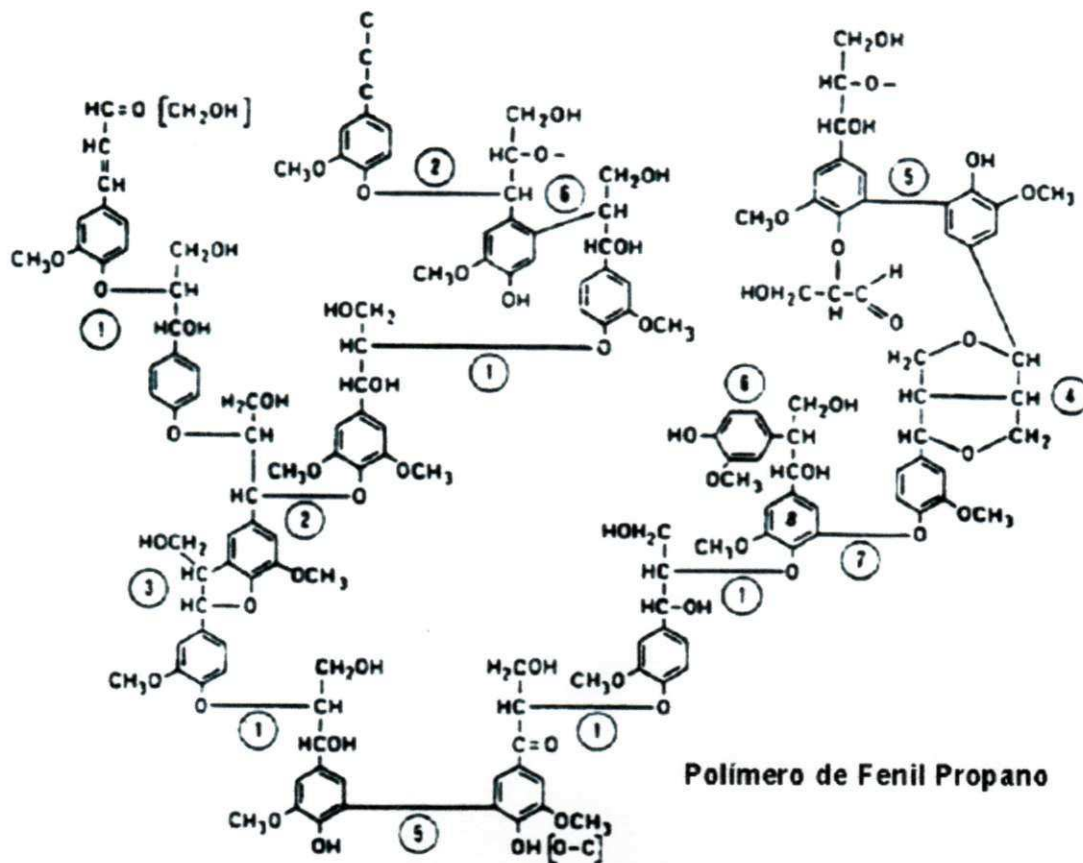


Figura 2.4 – Estrutura proposta para macromolécula de lignina de eucalipto (FENGEL E WEGENER, 1989).

A lignina ocorre na parede celular de plantas superiores em diferentes composições: madeiras duras de 25 a 35%, madeiras macias de 18 a 25% e gramíneas de 10 a 30% sendo neste último caso responsável, em parte, pela resistência mecânica do bagaço, bem como no suporte para dispersão dos metabólicos exercidos pelas células.

O bagaço é fortemente recalcitrante, devido à forte ligação existente entre a celulose hemicelulose e lignina. Para utilizá-lo na produção de etanol, é necessário submeter o material a várias etapas de processamento: pré-tratamento, hidrólise, fermentação e destilação. Os processos de pré-tratamento de materiais lignocelulósicos podem ser térmicos, químicos, físicos, biológicos ou uma combinação de todos esses, o que dependerá do grau de separação requerido e do fim proposto. A pesquisa investigou os pré-tratamentos e a hidrólise ácida e enzimática, pois nas etapas de fermentação e destilação o subproduto (bagaço de cana-de-açúcar) seguiria os mesmos processos na produção de etanol convencional (FERRAZ et al., 1994; CARRASCO, 1992).

2.2.4 Extrativos

Os componentes em menor proporção encontrados em biomassas incluem uma variedade de compostos orgânicos, cuja presença relativa é governada por uma série de fatores, entre os quais, os de natureza genética e climática. Estes componentes não estão na parede celular da planta e são conhecidos como extrativos, por serem solúveis em água, solventes orgânicos ou volatilizados a vapor (RAMOS, 2003). Segundo este autor é comum a denominação de resina para uma determinada classe de extrativos. Porém, este termo se aplica a um conjunto de substâncias químicas que inibem a cristalização e, portanto, caracteriza mais a condição física do que a composição química da fração.

O teor de extrativos em biomassas varia de 3 a 10% (massa/massa), sendo estes constituintes responsáveis por determinadas características das plantas, como cor, cheiro, resistência natural ao apodrecimento, sabor e propriedades abrasivas (D'ALMEIDA, 1998). Deste modo, os seguintes compostos podem ser encontrados em resinas: estilbenos, terpenos, lignanas, flavonóides e outros aromáticos. Além destas substâncias, outros compostos orgânicos também podem estar presentes nos extrativos, como gorduras, ceras, ácidos graxos, álcoois, esteróides e hidrocarbonetos de elevada massa molar (FENGEL e WEGENER, 1989).

Os extrativos interagem com reagentes utilizados nos processos de hidrólise e delignificação da biomassa, bem como na quantificação da lignina presente na mesma, acarretando resultados errôneos na caracterização do material (além do pré-tratamento é importante na análise dos constituintes celulose, hemicelulose e lignina). A estrutura complexa e compacta faz necessário submeter à biomassa a pré-tratamentos físicos e/ou químicos antes da sua hidrólise para produção de etanol (DUARTE et al., 2005).

A quantidade e a qualidade dos extrativos pode influenciar na escolha do material lignocelulósico para determinados fins. Por exemplo, os extrativos coloridos (valor estético), os voláteis (repelentes de fungos e insetos) e os com altos teores de taninos e resinas (interferem na produção da polpa celulósica) (ROWELL et al., 2005).

As cinzas também são encontradas em grande quantidade nos materiais lignocelulósicos, mas também não pertencem a arquitetura da parede celular. Compostos inorgânicos (cinzas) são encontrados na forma de sais, sendo os mais significativos os compostos de silício, cálcio e magnésio (RAMOS, 2003). Nas cascas de árvores, a grande

quantidade de minerais pode resultar no acúmulo de cristais de oxalato ou carbonatos de cálcio ou magnésio (FOELKEL, 2012).

2.3 Aproveitamento do material lignocelulósico

Visando à tendência de biorrefinarias, a separação seletiva de frações constituintes de uma dada biomassa pode viabilizar o uso das frações resultantes para a geração de produtos com maior valor agregado. Dessa forma a celulose, a hemicelulose e a lignina, constituintes de resíduos lignocelulósicos, podem gerar, de uma maneira geral, hexoses, pentoses e derivados do fenilpropano, destes, em especial, a glicose e a xilose, podem ser convertidos em vários produtos. Para isto, vários processos têm sido propostos na literatura para a separação das frações do complexo lignocelulósico e melhor aproveitamento das biomassas residuais. Tais técnicas são baseadas em processos biológicos, físico-químicos, ou a combinação destes, dependendo do fim proposto (WYMAN, 2003; HENDRIKS e ZEEMAN, 2009). Na Figura 2.5 estão esquematizados os processos de separação dos constituintes biomássicos

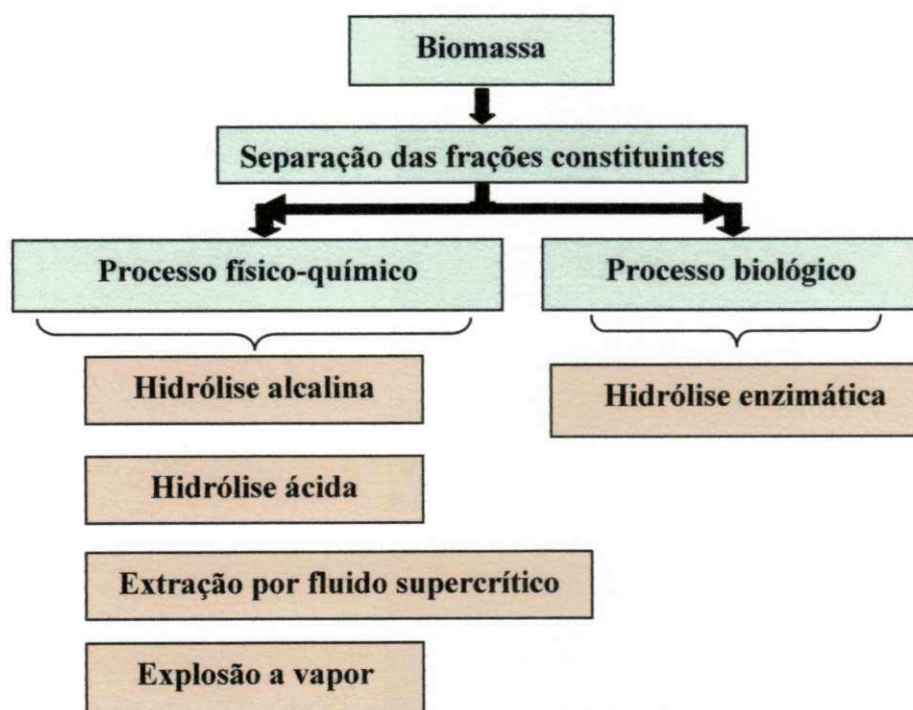


Figura 2.5 - Processos de separação das frações constituintes da biomassa (KAMM E KAMM, 2004).

Os processos físico-químicos baseiam-se na separação das frações constituintes das biomassas através da utilização de reagentes químicos, com aquecimento e com ou sem auxílio de pressão, para obtenção direta de produtos ou de subprodutos químicos, como açúcares. Já, a separação dos constituintes das biomassas em processos biológicos requer a

utilização de enzimas específicas como agentes hidrolíticos na quebra das longas cadeias das moléculas de celulose, em açúcares (SCHUCHARDT e RIBEIRO, 2001).

2.4 Aplicações dos materiais lignocelulósicos para produção de bioetanol

A matéria orgânica, não fóssil, de origem vegetal ou animal é denominada de biomassa, que pode ser explorada para fins energéticos. A biomassa é assim um enorme reservatório de energia, incluindo resíduos florestais, resíduos agroindustriais provenientes da indústria transformadora da madeira, resíduos urbanos, resíduos de origem animal, etc., que podem ser convertidos em diferentes formas de energia (calor, eletricidade, combustíveis rodoviários) (ADENE e AREAC, 2005).

Toda biomassa lignocelulósica é composta basicamente por celulose, hemicelulose, lignina e pequenas quantidades de extrativos e sais minerais. A celulose, principal componente da parede celular da fibra vegetal, e com uma estrutura cristalina altamente ordenada e de alta massa molecular. A lignina é composta por um conjunto de polímeros amorfos reticulares de alta massa molecular, geralmente associado com a celulose e a hemicelulose, com estrutura química fortemente aromática. As hemiceluloses são polímeros ramificados compostos de polissacarídeos de baixa massa molecular, associados à parede celular das plantas com a celulose e a lignina. São heteroglicanos constituídos por, relativamente, poucos resíduos de açúcar, sendo os mais comuns a D-xilose, D-manose, D-galactose, D- glicose e L-arabinose, que conferem características aos diferentes tipos de hemicelulose como arabinogalactana, galactoglicomanana, glicomanana e arabinoxilana (CARVALHO et al., 2005).

Os compostos lignocelulósicos podem ser convertidos, através de processos químicos e bioquímicos, em combustíveis líquidos, entre eles o bioetanol. A produção desse combustível é realizada através da fermentação de açúcares, geralmente a partir de três tipos de matérias-primas, açúcar de cana ou de beterraba, cereais (estes mediante fermentação dos açúcares do amido) e biomassa lenhosa (esta mediante a fermentação dos açúcares contidos na celulose e na hemicelulose) (ADENE e AREAC, 2005).

A Figura 2.6 apresenta as três principais frações dos materiais lignocelulósicos, a celulose, a lignina e a hemicelulose, a qual tem sido o foco desse trabalho, e também mostra um esquema do mecanismo da reação de hidrólise ácida da fração hemicelulósica.

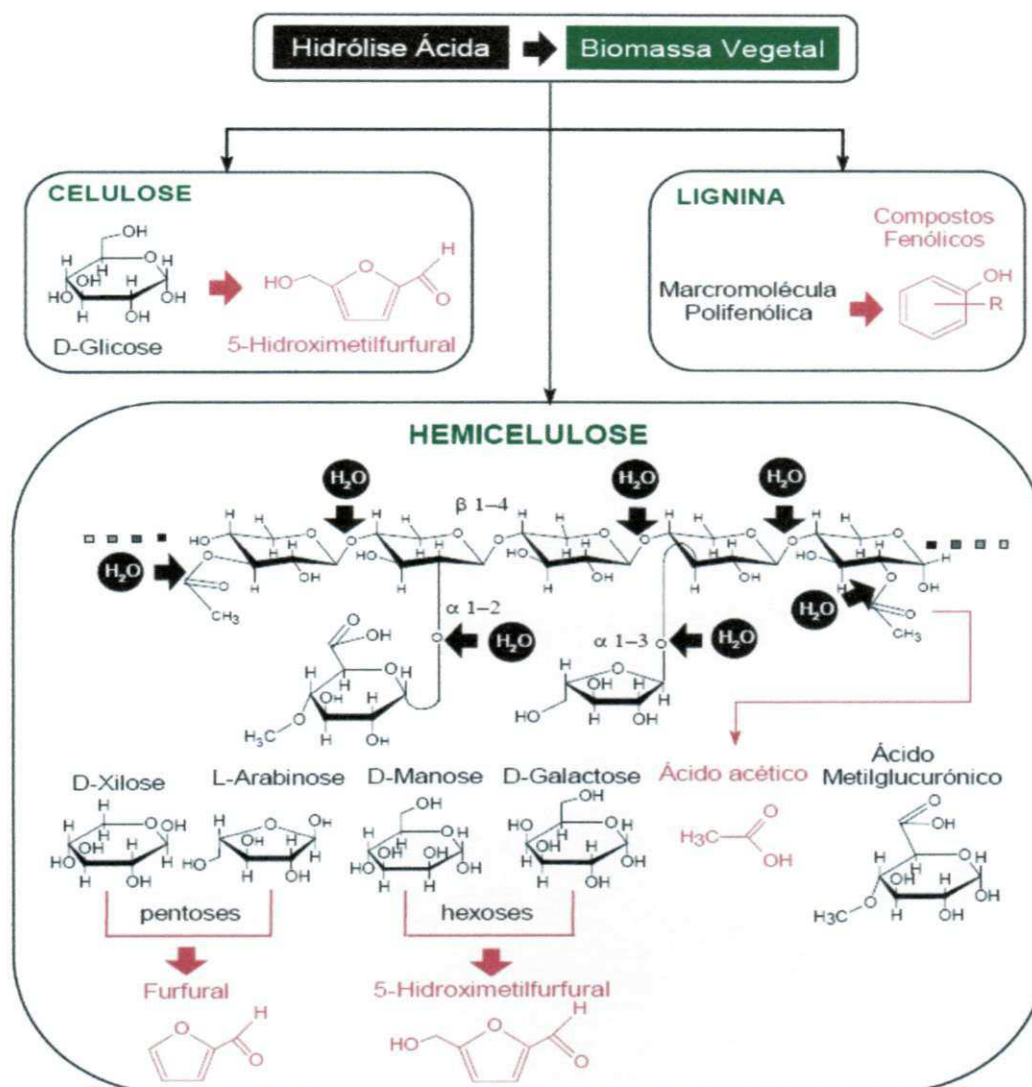


Figura 2.6 - Degradação de materiais lignocelulósicos por hidrólise ácida (MARTON et al., 2003).

A produção de etanol com base na biomassa lignocelulósica utiliza processos químicos (empregando ácidos) ou da biotecnologia moderna (empregando enzimas) para a quebra de moléculas de celulose e produção de açúcares, para então produzir o etanol por meio de processos fermentativos alcoólicos da biotecnologia convencional (BASTOS, 2007).

Sendo a hidrólise ácida o processo mais comum utilizado para quebrar as moléculas de celulose e hemicelulose em açúcares, mesmo apesar da hidrólise enzimática proporcionar um rendimento de 100% por apresentar atuação específica nas moléculas, porém atualmente esse processo não permite o desenvolvimento economicamente viável. O processo ácido oferece as vantagens de por degradação prévia e tempos reduzidos de reação, sendo realizada com ácidos concentrados ou diluídos, e seus problemas principais são relacionados com corrosão e recuperação do ácido (DUARTE, 1989).

Durante a hidrólise ácida vários compostos que podem funcionar como inibidores da fermentação são originados devido altas temperaturas e condições ácidas. Esses inibidores dependem da matéria-prima utilizada e se agrupam em três categorias: derivados do furano, ácidos alifáticos de baixa massa molecular e derivados fenólicos (ROSSELL, 2006b).

O processo de hidrólise de materiais lignocelulósicos para produção do álcool etílico como combustível vem como alternativa para substituição dos combustíveis derivados de substâncias fósseis e redução da emissão de CO₂ na atmosfera. Existem basicamente dois tipos de álcool etílico carburante, o anidro e o hidratado, ambos são combustíveis usados em veículos de passeio e comerciais leves que diferem quanto ao seu uso. O álcool anidro, ou álcool etílico anidro carburante (AEAC), é praticamente puro, com um teor alcoólico entre 99,3 e 99,8%, a 20 °C. É utilizado como um aditivo que aumenta o teor de oxigenados na gasolina. No Brasil a mistura é atualmente de 25%. Já o álcool hidratado, ou álcool etílico hidratado carburante (AEHC), contém um teor alcoólico entre 92,6 e 93,8%, a 20 °C, sendo o restante água, por isso o seu nome de "hidratado" e é utilizado diretamente nos automóveis conhecidos como "carros 100% a álcool" (SCANDIFFIO, 2005)

2.5 Pré-tratamento do material lignocelulósico

O pré-tratamento é necessário devido à forte ligação existente entre a celulose, hemicelulose e lignina, e o objetivo deste processo é remover a lignina e a hemicelulose, reduzir a cristalinidade da celulose e aumentar a porosidade do material. O pré-tratamento deve atender aos seguintes requisitos:

- ✓ melhorar a formação de açúcares ou a capacidade de futura formação de açúcares pela hidrólise;
- ✓ evitar a degradação ou perda de carboidratos;
- ✓ evitar a formação de co-produtos que sejam inibitórios para hidrólise subsequente;
- ✓ ter baixo custo.

O pré-tratamento desorganiza a estrutura da biomassa celulósica, beneficiando o trabalho das enzimas e ácidos que atuam na conversão de carboidratos em açúcares. A figura 2.6 representa a ação do pré-tratamento ácido sobre o material lignocelulósico.

O processo de obtenção de bioetanol lignocelulósico consiste no pré-tratamento desse material, para que seja separada a lignina da celulose e da hemicelulose. Atualmente, as tecnologias promissoras de pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar por exemplo, consistem no processo físico/químico de explosão à vapor, (“Steam Explosion”), na presença de catalisador, no processo de tratamento com vapor (“Steam Treatment”) em presença de catalisador ácido ou água quente pressurizada (“Hot Water”). Mas, estas tecnologias necessitam de mais desenvolvimento. Na Tabela 2.2 são apresentados os processos mais utilizados para o pré-tratamento da matéria-prima lignocelulósica.

Tabela 2.2 - Processos para o pré-tratamento da matéria-prima lignocelulósica para hidrólise

Processo	Descrição	Tempo de tempo	Rendimento de glicose	Custo
Físicos				
Explosão de vapor	A biomassa triturada é tratada com vapor (saturado, 160° - 260°C) seguido de uma rápida descompressão	1-10 min	45%-65%	---
Termoidrólise	Utiliza água quente a alta pressão (pressões acima do ponto de saturação) para hidrolisar a hemicelulose	30 min	88%-98%	---
Químicos				
Hidrólise ácida	Por meio do uso de ácidos sulfúrico, clorídrico, ou nítrico, concentrados ou diluídos	2-10 min	75%-90%	+
Hidrólise alcalina	Pelo uso de bases, como hidróxidos de sódio ou cálcio	2 min	60%-75%	++
Organosolv	Uma mistura de um solvente orgânico (metanol, bioetanol e acetona, por exemplo) com um catalisador ácido (H ₂ SO ₄ , HCl) é usada para quebrar as ligações internas da lignina e da hemicelulose	40-60 min	70%-80%	
Biológicos				
	Utilização de fungos para solubilizar a lignina. Geralmente, é utilizada em combinação com outros processos			
Combinados				
Explosão de vapor catalisada	Adição de H ₂ SO ₄ (ou SO ₄) ou CO ₂ na explosão de vapor pode aumentar a eficiência da hidrólise enzimática, diminuir a produção de compostos inibidores e promover uma remoção mais completa da hemicelulose	1-4 min	88%	---
Afex (ammonia fiber explosion)	Exposição à amônia líquida a alta temperatura e pressão por um certo período de tempo, seguida de uma rápida descompressão		50%-90%	
Explosão de CO ₂	Simila à explosão de vapor		75%	

Fonte: BNDES (2008)

* O sinal + indica efeito vantajoso (menor custo).

A separação do processo em pré-tratamento e hidrólise causa confusão, uma vez que, os processos definidos como pré-tratamento da matéria-prima lignocelulósica consistem em processos de hidrólise (EMBRAPA, 2009).

A conversão da celulose em glicose pode ocorrer por hidrólise ácida ou enzimática. Embora o processo de hidrólise enzimática seja mais promissor, essa via em escala industrial ainda não se mostra viável economicamente devido à ausência de enzimas celulolíticas com elevada atividade que permitam sua utilização a custos compensadores. Para facilitar a exposição da celulose à ação ácida é necessário realizar um pré-tratamento para diminuir a recalcitrância da biomassa vegetal in natura.

A presença de hemicelulose e lignina dificulta a quebra da celulose, reduzindo a eficiência dessa etapa. Portanto, a remoção desses compostos aumenta a porosidade do material, tornando mais eficiente o processo de hidrólise (CHANG e HOLTZAPPLE, 2000; HSU et al., 1980).

A Figura 2.7 apresenta uma ilustração do efeito do pré-tratamento na fibra vegetal.

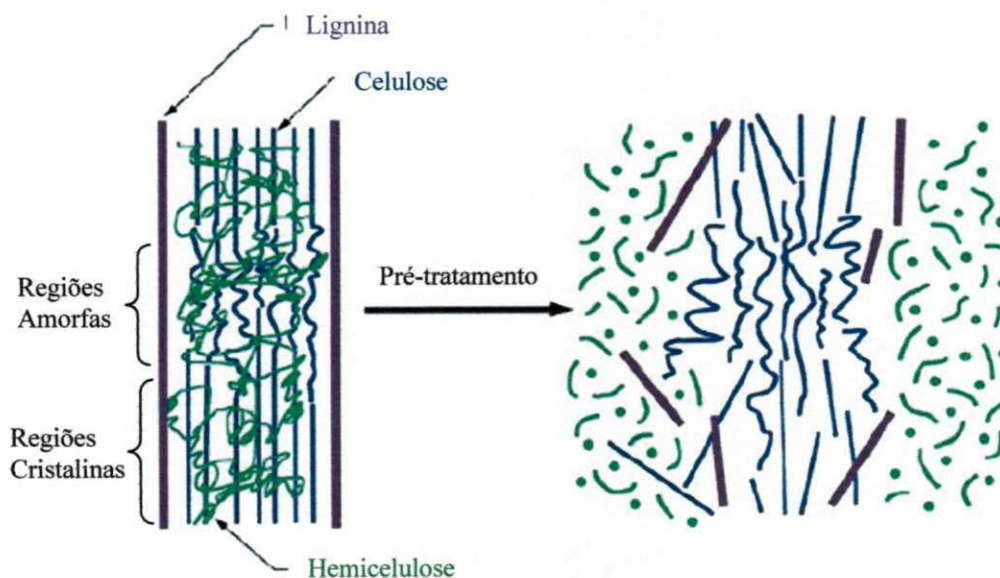


Figura 2.7 - Desestruturação da fibra vegetal pelo efeito de um pré-tratamento (MOSIER et al., 2005).

As condições de pré-tratamento podem ter dois efeitos opostos. Se o pré-tratamento for muito drástico, ocorre a degradação da fração celulósica, além da formação de inibidores da fermentação; se for muito brando, a acessibilidade da enzima continuará sendo baixa (SENDELIUS, 2005). No primeiro caso, pode-se realizar um tratamento do hidrolisado para remover alguns inibidores como o furfural e hidroximetilfurfural (HMF), além do ácido

sulfúrico e ácido acético, aplicando-se, por exemplo, os métodos de overlime, eletrodialise e carvão ativo. A formação de furfural e HMF é decorrente da reação de desidratação da xilose e da glicose, respectivamente. Esses compostos quando presentes no licor a ser fermentado podem danificar a parede celular dos microorganismos bem como prolongar a fase “lag” de crescimento (MUSSATO et al., 2004; RABELO et al., 2008).

O pré-tratamento pode ser físico (moagem da biomassa, aplicação de radiação), químico (pré-tratamento hidrotérmico, oxidação úmida – Wet Oxidation, pré-tratamento em meio ácido ou básico), biológico (microorganismos decompositores da madeira) ou a combinação desses. A escolha das condições de pré-tratamento dependerá de uma avaliação global do processo, rendimento e manutenção da integridade dos insumos de interesse (MOSIER et al., 2005; WYMAN et al., 2005).

2.5.1 Pré-tratamento hidrotérmico (hot water liquid)

Sob temperaturas e pressões elevadas, a água pode ser usada para fracionar a biomassa vegetal em seus constituintes através da clivagem dos complexos lignina-carboidrato, além de romper as ligações glicosídicas dos polissacarídeos. O ácido acético formado a partir da desacetilação parcial da fração hemicelulósica atua como catalisador da reação da hidrólise da biomassa promovendo a despolimerização da hemicelulose (processo auto-catalítico). Em temperaturas na faixa entre 180-220 °C e em curtos períodos de reação, diferentes quantidades de lignina podem ser extraídas com água e o grau de polimerização da celulose pode diminuir (ALLEN et al., 2001; SILVA et al., 2009).

Allen et al. (2001) obtiveram uma fração sólida rica em celulose quando realizaram um pré-tratamento hidrotérmico usando uma carga de 5% de fibra de milho a 215 °C e uma maior recuperação de pentoses em relação ao pré-tratamento por explosão a vapor feito com uma carga de 70% de fibra de milho. Também ocorre uma menor formação de furfural em relação ao pré-tratamento por explosão a vapor (SCHUCHARDT & RIBEIRO, 2001; MARTÍN et al., 2006).

2.5.2 Pré-tratamento com ácido diluído

Dos três principais componentes da biomassa vegetal (celulose, hemicelulose e lignina), a hemicelulose é a mais susceptível à hidrólise, seguida da celulose (PARAJÓ et al., 1998). Dessa forma, o pré-tratamento com ácido diluído é empregado para se obter um

hidrolisado contendo açúcares fermentáveis, principalmente açúcares pentoses. Este tipo de pré-tratamento é feito usando ácidos fortes, geralmente H_2SO_4 ou HCl (TAHERZADEH e KARIMI, 2007). Opta-se por usar ácidos diluídos para evitar problemas como a corrosão dos equipamentos e a alta demanda de energia necessária para a recuperação do ácido. Também ocorre uma menor formação de furfural e HMF (PARAJÓ et al, 1998; GALBE e ZACCHI, 2002) e o pH do hidrolisado hemicelulósico obtido do processo necessita ser corrigido para a sua utilização nos processos fermentativos, sem que haja inibição dos microrganismos por um pH desfavorável à sua eficiente bioconversão (SAHA, 2003).

2.6. Hidrólise da biomassa

A hidrólise é um método que permite o aproveitamento individual dos potenciais dos três polímeros principais da biomassa, ao invés de provocar a conversão simultânea de todos eles. Sob condições apropriadas, a hidrólise de maneira seletiva oferece a possibilidade de conversão das hemiceluloses em monossacarídeos (principalmente xilose e manose) e da celulose em D-glicose. A lignina pode ser removida antes da hidrólise ou permanecer como resíduo da reação em função do método utilizado (HÅKANSSON e AHLGREN, 2005; LAVARACK et al., 2002).

A hidrólise de biomassa tem sido estudada por mais de 100 anos; usando ácidos ou enzimas (MILLET et al., 1954), Embora a hidrólise enzimática de celulose possa proporcionar um rendimento de 100% (MOK et al., 1992), ela é definitivamente lenta, não permitindo até o momento o desenvolvimento de um processo economicamente viável. A capacidade da reação é muito superior aos da hidrólise ácida, envolvendo operação com elevados volumes de soluções diluídas, e a reciclagem do catalisador enzimático é complexa. A atividade enzimática é severamente restrita ou mesmo completamente bloqueada pela presença de lignina. Revestindo a celulose, a lignina torna o tamanho médio dos capilares na biomassa muito pequenos para a entrada das grandes moléculas enzimáticas, confinando o ataque a superfície externa. Portanto, torna-se imperioso um custoso pré-tratamento para aumentar a acessibilidade enzimática (GELLERSTEDT e HENRIKSSON, 2008), removendo a lignina e destruindo a cristalinidade da celulose, outro obstáculo ao acesso da enzima.

A hidrólise ácida oferece as vantagens de atuação específica sem degradação prévia e tempos reduzidos de reação. Pode ser efetuada com ácidos diluídos ou concentrados, e seus problemas principais são relacionados com corrosão e recuperação do ácido. Pré-tratamentos

que aumentem a área superficial e reduza a Cristalinidade da celulose promovem a reação. Enquanto que para a hidrólise enzimática, a lignina deve ser previamente degradada. Solubilizada e removida, na hidrólise ácida ela auto condensa-se durante a reação e permanece como resíduo insolúvel (DUARTE, 1989).

A lignina obtida com a hidrólise pode ter aproveitamentos variados que são classificados em combustível, polímeros modificados, pré-polímeros e fonte de insumos químicos de baixo peso molecular (MORAIS et al., 1994).

Entretanto seu uso principal sempre foi como fonte de energia (BOTARO e CURVELO, 2009), sendo seu conteúdo calorífico estimado em 6.000 kcal (FENGEL e WEGENER 1984), e na biomassa corresponde a 40% do valor total do combustível (PERLACK et al., 2005).

2.6.1. Hidrólise ácida de biomassa

A hidrólise ácida permite atuação seletiva inicial sobre a hemicelulose, heteropolissacarídeo ramificado de cadeia reduzida e amorfo, devido a diferenças estruturais com a celulose, homopolissacarídeo linear de cadeia muito longa e regiões cristalinas. A hemicelulose pode ser seletivamente hidrolisada em condições mais suaves (LEE et al., 1996), sob controle da concentração ácida e da temperatura, aos seus componentes monossacarídicos (RAHMAN et al., 2008), sem afetar a celulose e com reduzido efeito sob a lignina.

Os monossacarídeos solúveis são separados do resíduo lignocelulósico e utilizados principalmente para fermentação. Esta reação chamada de pré-hidrólise (SPRINGER et al., 1985) é importante para evitar uma mistura indesejável de monossacarídeos com o produto de hidrólise da celulose. A D-glicose. Ademais, a hidrólise da celulose exigindo condições mais drásticas, provocaria decomposições das pentoses da hemicelulose com formações de produtos que comprometem a fermentabilidade do hidrolisado (PALMQVIST e HAHN-HÄGERDAL, 2000). Após isso, o resíduo lignocelulósico pode ser submetido á hidrólise principal sob condições determinadas, produzindo a D-glicose solúvel e liberando a lignina insolúvel com certo nível de autocondensações. Os processos de hidrólise com ácido diluído são operados em temperaturas elevadas. Produzindo soluções de açúcar em concentração de 10 a 12% e rendimentos limitados a 50-60%. Embora rendimentos superiores sejam prováveis para reações com tempos reduzidos a temperaturas mais altas, há uma barreira de

ordem operacional que é a falta de equipamentos de transferência de calor para aquecimento e resfriamento muito rápido (LAVARACK et al., 2002).

Muito embora os processos com ácido concentrado ofereçam resultados mais satisfatórios que os com ácido diluído, seus altos custos associados com a corrosão de equipamentos e a recuperação do ácido são uma barreira a viabilidade econômica. Estes fatores foram responsáveis pelo abandono do método e pela maior procura e desenvolvimento dos processos com ácido diluído.

Os processos utilizando ácido concentrado operam em temperaturas próximas a 50°C, pressão atmosférica (ou próxima) e com rendimentos em açúcares elevados (85% ou mais), produzindo hidrolisados concentrados. As variações principais podem estar no ácido utilizado e no sistema empregado para sua recuperação. Como o hidrolisado é concentrado, o método se torna apropriado à produção de açúcar cristalizado com menor consumo energético. Os ácidos mais estudados são o sulfúrico, clorídrico, fluorídrico, trifluoracético e fórmico (LAVARACK et al., 2002).

Embora já tenha demonstrado, nos primórdios do século, que ácido sulfúrico concentrado a frio converta prontamente celulose em glicose, sua aplicação não recebeu maior atenção, devido à dificuldade elevada na recuperação do ácido. Até o momento, o melhor método (que se limita a 80%) é feito para diálise de difusão com uma membrana de troca iônica. O ácido trifluoracético tem importantes vantagens sobre o ácido sulfúrico na hidrólise total de polissacarídeos porque o tempo de reação é menor e não há necessidade da neutralização convencional por ser o ácido trifluoracético volátil o que permite sua remoção por evaporação (FENGEL e WEGENER, 1989). Entretanto a presença de lignina em materiais de origem vegetal dificulta a hidrólise. Os ácido fórmico e fluorídrico puros também fornecem bons rendimentos em hidrolisado, mas são parcialmente incorporados na glicose liberada (DELGENES et al., 1996).

As matérias-primas indiretamente fermentescíveis como o bagaço de cana-de-açúcar, o bagaço de frutas e outras, representam materiais lignocelulósicos que podem ser transformados em açúcar fermentescível e produzir etanol. Por meio do bagaço gerado como excedente de resíduos celulósicos, a celulose e a hemicelulose podem ser transformadas em açúcares, por hidrólise ácida ou sacarificação, que são então fermentados para produção de álcool hidratado (LAVARACK et al., 2002)..

Segundo Iranmahboob et al. (2002), os processos de hidrólise com ácidos diluído e concentrado e a hidrólise enzimática, constituem os três principais processos que causam o rompimento da estrutura lignocelulósica em suas principais frações.

A conversão das moléculas da sacarose para produzir álcool, a partir de material lignocelulósico, consiste basicamente de duas etapas: a transformação da celulose em açúcar e a fermentação do açúcar (LIMA e MARCONDEZ, 2002).

Na primeira etapa realiza-se um pré-tratamento, para quebrar a celulose transformando-a em glicose, por hidrólise ácida. Na segunda etapa, efetua-se a fermentação alcoólica onde o açúcar extraído da celulose será transformado em etanol, com auxílio da levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) (MÉRICO et al., 2007).

Para que matérias lignocelulósicas possam ser utilizadas como matérias-primas no processo, para a produção de álcool, elas precisam ser submetidas a um pré-tratamento para desorganizar o complexo lignocelulósico. A celulose contida no bagaço é quebrada e transformada em açúcar, através de uma solução diluída de ácido (sulfúrico ou clorídrico), cuja concentração ácida depende do tipo de resíduo vegetal utilizado (LIMA e MARCONDEZ, 2002). A lignina é o grande obstáculo nesse processo. A quebra dessa substância libera fenóis e outros componentes que inibem o processo fermentativo (ROSSELL, 2007).

O processo de sacarificação pode ser contínuo ou descontínuo. No contínuo, a massa lignocelulósica permanece por um período de tempo de retenção suficiente, em determinada temperatura, para proporcionar a conversão. O descontínuo é realizado colocando o material lignocelulósico em tanque de ferro ou aço inoxidável, contendo serpentina interna para o resfriamento, registros para tomadas de amostras, agitador mecânico e um exaustor de vapor (LIMA et al., 2001).

Os grandes desafios de utilização da hidrólise ácida ou enzimática em larga escala para produção de etanol, com substratos lignocelulósicos (bagaços), são as reduções dos custos das enzimas e na hidrólise ácida a minimização da presença da formação de substâncias inibidoras da fermentação alcoólica (PEREIRA Jr., 2006; BASTOS, 2007).

A acidez obtida no processo pode ser através da ação direta de um ácido (hidrólise homogênea) ou pela liberação de H⁺ de uma resina catiônica (hidrólise heterogênea). Na hidrólise ácida homogênea, a escolha do ácido depende de sua compatibilidade com o

produto final, observa-se que os xaropes obtidos são muito coloridos devido às condições drásticas de reação (pH e temperatura) (CHENG et al., 2008).

No processo de hidrólise ácida, o catalisador é um ácido. Entretanto, por se tratar de um catalisador muito rápido, o ácido precisa ser muito bem controlado para não levar as reações paralelas indesejáveis ou incontroláveis. Por outro lado, o catalisador enzimático é um biocatalisador. Este faz o trabalho certo, com o máximo de eficiência, mas o ataque é mais lento. O biocatalisador é mais propenso a bloqueios e a inibições, por isso o desenvolvimento da tecnologia é mais complexo (DELGENES et al., 1996; DOMÍNGUEZ, 2003).

Entretanto, no caso específico do Brasil, a hidrólise ácida pode ser um caminho mais rápido para se gerar um processo comercial de aproveitamento de bagaços (como de cana-de-açúcar, frutas, etc.) e da palha para produção de etanol. Isso não significa que a hidrólise enzimática não tenha interesse comercial, muito pelo contrário, mas é uma tecnologia muito complexa e levará mais tempo para ser viabilizada (ROSSELL, 2006a)

Os ácidos utilizados como catalisadores nos processos de hidrólise liberam prótons que atuam nas ligações glicosídicas entre os monômeros de açúcares nas cadeias poliméricas. O rompimento destas ligações libera uma série de compostos, principalmente, açúcares como xilose, glicose e arabinose (AGUILAR et al., 2002). São liberados, também, produtos como furfural, da degradação de pentoses, e de 5-HMF, oriundo da desidratação de hexoses, havendo ainda formação de ácido fórmico e de ácido levulínico, produzidos a partir da degradação de 5-HMF (NAKATA e SUZUKI, 1989). Também é gerado ácido acético, dos grupos acetil, de compostos não-estruturais da fração extrativa e produtos de degradação da lignina.

A hidrólise da matéria-prima lignocelulósica é a etapa mais crítica do processo, porque durante o mesmo há formação de inibidores da levedura, agente da produção de etanol. O teor de inibidores no licor, após o tratamento ácido depende da natureza da matéria-prima utilizada. Esses inibidores da fermentação alcoólica gerados durante o processo podem ser derivados do furano, dos ácidos alifáticos de baixa massa molecular e derivados fenólicos, causam efeitos tóxicos sobre os microrganismos. Os compostos fenólicos causam danos na membrana celular (NAKATA e SUZUKI, 1989).

Na Figura 2.8 tem-se um esquema simplificado dos produtos formados a partir da

hidrólise ácida de biomassas lignocelulósicas.

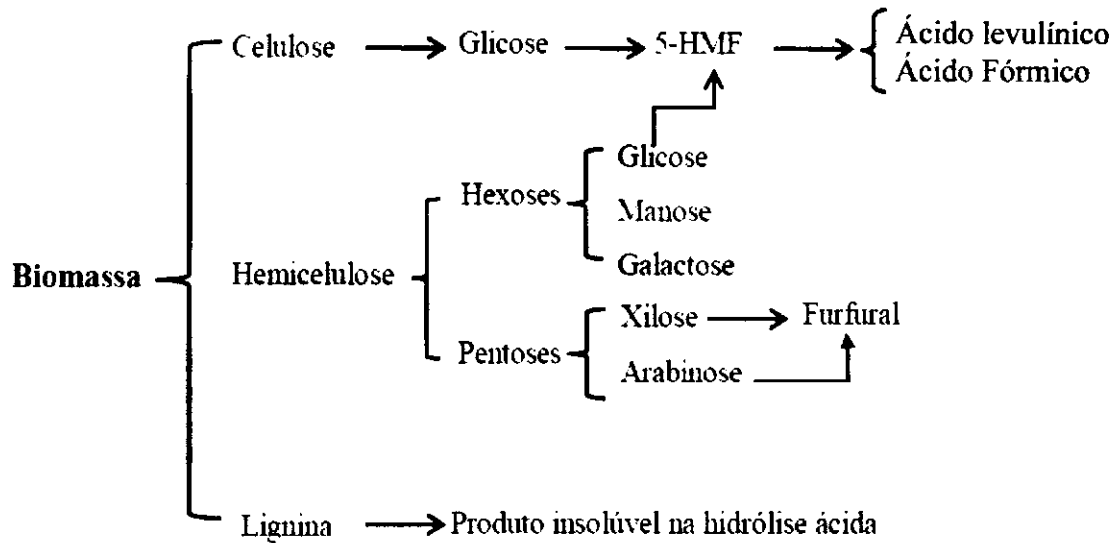


Figura 2.8 - Principais produtos formados a partir da hidrólise ácida em biomassas (PALMQVIST E HAHN-HÄGERDAL, 2000).

O furfural e o hidroximetilfurfural podem causar diminuições da taxa específica de crescimento e da produtividade volumétrica ou específica de etanol e redução da síntese de biomassa. Os ácidos alifáticos causam diminuição do rendimento em etanol e diminuem a produção de biomassa. Os compostos fenólicos causam danos na membrana celular (ROSSELL, 2006a).

2.6.2 Antecedentes sobre fermentação de licores resultantes da hidrólise

Para avaliar as possíveis rotas de fermentação do licor de hidrólise é importante levar em conta as experiências já realizadas anteriormente em escala industrial, de demonstração ou realizadas com o propósito de estabelecer as bases para um processo de demonstração (RUSSELL, 2006b).

A hidrólise catalisada por ácidos diluídos foi praticada industrialmente na Rússia até recentemente (MURTAGH, 1997). O processo praticado na unidade de Tavda era uma versão otimizada do processo Schoeller, que empregava resíduos florestais e era realizado em batelada e por percolação, atingindo conversão de 60% das hexoses. A fermentação era realizada combinando mostos de amiláceos sacarificados com o licor resultante da hidrólise. O vinho final apresentava teor alcoólico muito baixo, 1,3 °GL e em conseqüência a demanda de vapor era de 20 kg/L de etanol. As pentoses não eram empregadas para fermentação de etanol, sendo direcionadas para bio- síntese de proteína unicelular. Este processo apresenta elevado investimento em equipamentos e em custo operacional não sendo econômico.

O Centro de Tecnologia Canavieira (BALAT e BALAT, 2008; BNDES, 2008; ROSSELL, 2006b) realizou um extenso estudo sobre fermentação de licor de hidrólise proveniente do processo DHR para demonstrar a etapa de fermentação alcoólica. O licor proveniente da hidrólise era misturado com xarope e mel residual, a fim de reduzir o impacto dos inibidores provenientes da hidrólise ácida organosolvente e procurando manter a fermentação em condições operacionais próximas às ótimas: processo com reciclo de fermento, vinho final de 8,5 °GL, temperatura de 34 °C. Os resultados obtidos foram positivos, sendo estabelecidas as condições para realização da fermentação alcoólica do licor obtido no processo DHR.

O processo Iogen (TOLAN, 2006) em demonstração no Canadá, emprega pré-tratamento da biomassa lignocelulósica por explosão com vapor e pré-acidificação com ácido sulfúrico, seguido de um estágio de hidrólise enzimática realizada por adição de preparados de celulase. A fermentação alcoólica é realizada num estágio posterior misturando o licor de hidrólise a um mosto de amido de amiláceos previamente sacarificado. As pentoses estão sendo descartadas, pois a tecnologia de fermentação destas, que Iogen pretende empregar ainda não atingiu o estágio de demonstração. Não são realizados tratamentos de depuração do licor de hidrólise, os inibidores que estejam presentes são diluídos aos níveis de tolerância na mistura com o mosto de amiláceos.

2.6.3 Inibidores da fermentação alcoólica gerados durante os pré-tratamentos ou na hidrólise ácida

Durante o pré-tratamento do material lignocelulósico ou nos processos de hidrólise catalisada por ácidos, não somente se obtém os açúcares provenientes da hidrólise e dissolução da celulose e hemicelulose. Por causa das altas temperaturas e condições ácidas nas que se desenvolvem estes pré-tratamentos, se originam uma série de compostos que podem atuar como inibidores potenciais da fermentação. A natureza e concentração destes compostos dependem do tipo de matéria-prima (conteúdo percentual de celulose, hemicelulose e lignina), do pré-tratamento utilizado, das condições do processo (temperatura e tempo de reação) e do emprego ou não de catalisadores ácidos. Os produtos de degradação, que são potenciais inibidores da fermentação, se agrupam em três categorias (DOMINGUEZ, 2003):

- Derivados do furano;

- Ácidos alifáticos de baixa massa molecular;
- Derivados fenólicos.

Em consequência das altas temperaturas empregadas nos pré-tratamentos, os açúcares originados na hidrólise, principalmente da hemicelulose, se degradam originando os compostos derivados do furano: o furfural, formado a partir da degradação das pentoses (xilose e arabinose) e o 5-hidroximetilfurfural (HMF), formado como consequência da degradação das hexoses (glicose, manose e galactose). Por sua vez, estes dois compostos podem-se degradar a outros produtos. O furfural pode se degradar a ácido fórmico ou se polimerizar. O HMF origina quantidades equimoleculares de ácidos fórmico e levulínico. Ademais destes dois ácidos alifáticos (fórmico e levulínico), forma-se ácido acético procedente da hidrólise dos radicais acetila da hemicelulose. O teor destes inibidores no licor, após o pré-tratamento depende da natureza do material lignocelulósico empregado. Os hidrolisados procedentes de materiais que contém uma percentagem comparativamente maior de hemicelulose apresentam uma maior concentração de furfural e ácido acético (LASER et al., 2002).

Durante o pré-tratamento, uma parte da lignina também se degrada originando uma grande variedade de compostos fenólicos. Trata-se de um grupo de compostos muito heterogêneo que podem se encontrar em forma de monômeros, dímeros e polímeros com uma grande variedade de substituintes. Dentre estes, encontram-se ácidos, aldeídos e álcoois aromáticos. Os fenóis originados no pré-tratamento variam segundo o tipo de biomassa, considerando que existem grandes diferenças na lignina dependendo da espécie vegetal da qual esta provém (NEGRO et al., 2003).

Um derivado fenólico muito abundante nos hidrolisados é o ácido 4-hidroxibenzóico, originado na ruptura das ligações ester que unem os grupos hidroxilas dos álcoois cinâmicos da lignina. Outros derivados fenólicos abundantes nos hidrolisados são o siringaldeído e o ácido siríngico, procedentes da degradação das unidades siringilpropano da lignina. O 4-hidroxibenzaldeído e os ácidos gentísico, salicílico e protocatéuico também tem sido identificados nos hidrolisados. Foram identificados também: a vanilina e o ácido vanílico, o catecol, o guaiacol, a hidroquinone, o aldeído coniferílico e o ácido homovanílico (SÁNCHEZ e CARDONA, 2008).

Um tipo de compostos (não incluídos nos três grupos citados anteriormente) que se liberam durante o pré-tratamento são os extrativos. Entre eles se encontram diferentes tipos de resinas (ácidos graxos, terpenoides, esteróis e ceras) e compostos fenólicos (flavonóides, taninos, etc.). Estes compostos, embora em baixa concentração, estão presentes no bagaço e podem agir como inibidores dos microorganismos empregados na fermentação dos hidrolisados (ROSSELL, 2006b).

2.6.3.1 Furfural e hidroximetilfurfural (HMF)

Entre os efeitos negativos produzidos pelo furfural sobre os microorganismos em geral e as leveduras de fermentação alcoólica em particular são descritos:

Diminuição da taxa específica de crescimento;

Diminuição da produtividade volumétrica ou específica de etanol;

Redução da síntese de biomassa.

Os efeitos negativos produzidos pelo HMF embora menos intensos, considerando que a toxicidade deste sobre os microorganismos é menor que a do furfural são os mesmos. O efeito tóxico ocasionado pelos compostos furânicos parece estar associado ao fato de que por serem aldeídos, quimicamente reativos, podem reagir com determinadas moléculas biológicas tais como lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos ou ocasionar danos à membrana celular (DOMINGUEZ, 2003)

Ademais, o furfural inibe enzimas glicolíticas e fermentativas. A inibição que o furfural exerce sobre a álcool-dehidrogenase poderia explicar a excreção de acetaldeído observada durante as primeiras horas de fermentação (LASER et al., 2002).

O furfural e o HMF são metabolizados tanto por bactérias como leveduras (TAHERZADEH, 2000). Em condições de anaerobiose, como consequência do metabolismo do furfural, se produz principalmente álcool fufurílico e em menor concentração, ácido furoico. A hipótese de que a redução do furfural a álcool furfurílico é catalisada por uma reação (álcool-dehidrogenase) dependente do NADH, está praticamente aceita. Em condições de anaerobiose, durante a fermentação se produz glicerol para regenerar o excesso de NADH produzido na bio-síntese e manter o balanço redox intracelular. Nas fermentações em presença de furfural não se observa produção de glicerol, isto sugere que a redução do furfural a álcool furfurílico oxida o NADH em condiciones de anaerobiose.

2.6.3.2 Ácidos alifáticos

Embora esteja bem documentado na bibliografia que os ácidos alifáticos fracos reduzem o rendimento em etanol e diminuem a produção de biomassa, o mecanismo pelo qual se produz a inibição não está completamente esclarecido (PAMPULHA e LOUREIRO, 1989). Um dos mecanismos proposto para explicar o efeito inibitório dos ácidos alifáticos é a teoria do desacoplamento. Segundo esta, o efeito tóxico depende do pKa dos ácidos e do pH do meio. Unicamente a forma dissociada dos ácidos penetra na célula por difusão, onde, devido ao maior pH intracelular se dissocia, provocando uma diminuição do pH que deve ser compensada por uma ATPase de membrana que bombeia prótons afóra da célula a expensas da hidrólise de ATP (TAHERZADEH e KARIMI, 2007).

A menor quantidade de ATP disponível para a formação de biomassa celular, explicaria a redução do crescimento observada quando há no meio ácidos alifáticos. Quando a concentração de ácido é suficiente alta, supera-se a capacidade de bombeio de prótons, o que origina a acidificação do citoplasma e a posterior morte celular. Outro mecanismo proposto, para explicar este efeito inibitório dos ácidos é a acumulação intracelular de ânions. Segundo esta teoria, enquanto que os prótons são excretados ao exterior os ânions são capturados na célula produzindo-se um acúmulo dos mesmos no interior desta. A inibição poderia estar relacionada com a toxicidade do ânion (TAHERZADEH, 2000).

De acordo com o mesmo autor, embora não se conheça com certeza o mecanismo de inibição dos ácidos alifáticos, o efeito tóxico mostrado por estes compostos pode se dever tanto ao desacoplamento como ao efeito inibitório do acúmulo de ânions. Provavelmente, o efeito dos ácidos alifáticos de cadeia curta também se deva a um efeito direto destes compostos sobre a integridade da membrana. A inserção das cadeias alifáticas na membrana pode alterar a estrutura e hidrofobicidade, produzindo um aumento da permeabilidade da mesma e afetar a sua função de barreira seletiva.

2.6.3.3 Compostos fenólico

Dos inibidores identificados nos hidrolisados dos materiais lignocelulósico, os compostos aromáticos de baixa massa molecular são os que se tem mostrado como os mais tóxicos para os microorganismos. Embora, o mecanismo de inibição não se conheça completamente, tem-se estudado o efeito dos derivados fenólicos sobre procarióticos como *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*. O efeito tóxico dos aldeídos aromáticos pode estar

relacionado à interação com determinadas zonas hidrofóbicas das células e causar perda da integridade da membrana afetando sua capacidade de agir como uma barreira seletiva. O efeito tóxico dos alcoóis aromáticos é atribuído ao dano ocasionado por estes na membrana plasmática (LASER et al., 2002).

O efeito inibitório mostrado pelos ácidos aromáticos pode basear-se em mecanismos semelhantes aos dos ácidos alifáticos descritos anteriormente. Embora tenham sido realizados diversos estudos sobre o efeito dos derivados fenólicos nas leveduras e em especial sobre *Saccharomyces*, o mecanismo de inibição sobre os eucarióticos não está completamente esclarecido. De igual forma o furfural e o HMF, existem dados na bibliografia que demonstram a capacidade de determinados microorganismos, tanto bactérias como *K. pneumoniae* o *Z. mobilis*, como leveduras pertencentes aos gêneros *Saccharomyces*, *Pichia*, *Pachysolen* e *Candida* de metabolizar os aldeídos aromáticos. Porém, os dados disponíveis na bibliografia referentes ao papel da álcooldehidrogenase de *S. cerevisiae* na conversão destes compostos resultam contraditórios (DOMINGUEZ, 2003).

2.7. Fundamentos da adsorção

A adsorção pode ser definida como um fenômeno no quais moléculas de uma dada espécie química vão se concentrar na superfície de um sólido devido às interações microscópicas com os constituintes do sólido. Em muitos casos, a adsorção dos compostos ocorre em consequência do grau de hidrofobicidade, da porosidade, da estrutura molecular dos compostos e da variação de volume do material adsorvente (KHAN et al., 2004; MCKAY et al., 1997). A espécie química que será adsorvida recebe o nome de soluto ou adsorvato e a superfície sólida será chamada de substrato ou adsorvente.

A adsorção tem sido aplicada desde a antiguidade em que se utilizavam sólidos para remover impurezas de soluções gasosas e líquidas, tornando-se uma ferramenta útil, desde cedo, para a purificação e a separação de substâncias de uso doméstico, como, por exemplo, a descoloração do açúcar e outros alimentos, por meio de ossos queimados (RUTHVEN, 1984).

A vantagem que a adsorção possui, quando comparada com outros processos de separação, consiste no fato desta apresentar uma alta seletividade em nível molecular, permitindo a separação de vários componentes (NG et al., 2002).

2.7.1 Aplicações da adsorção

Inúmeros são os processos de purificação e separação que utilizam a adsorção. Estes são relativamente recentes, seu grande desenvolvimento ocorreu no início da década de 70, com o aparecimento de novos materiais adsorventes, principalmente os de natureza sintética, como as zeólitas (ROSSELL, 2006b).

A adsorção é um importante processo de purificação e separação amplamente utilizada em todos os ramos industriais, como a indústria farmacêutica, as indústrias de petróleo e petroquímicas, de química fina e da biotecnologia (MARRA, 1991; SCHEER et al., 2000).

Alguns exemplos citados pela literatura mostram o grande número de aplicações para a adsorção. Entre esses processos podem-se citar:

- Tratamento de efluentes contendo compostos orgânicos (AKSU e YENER, 1998; WOLBORSKA e PUSTELNIK, 1996);
- Desintoxicação do licor hidrolisado de eucalipto, por resina de recheada com carvão ativado com íons de cádmio, para produção do xilitol (CANILHA et al., 2004);
- Estudo da adsorção de contaminantes orgânicos provenientes da água de produção do petróleo, em coluna de leito fixo, utilizando biomassa como adsorvente (SANTOS et al., 2005);
- Adsorção de poluentes de soluções aquosas para o tratamento de efluentes (MCKAY et al., 1987; LORAIN et al., 2001);
- Remoção de componentes perigosos e venenosos de gases e líquidos (KELLER, 1995);
- Descoloração de líquidos, recuperação de gases e remoção da umidade de líquidos e gases (SUSU, 2000).

A adsorção ocorre sempre que duas fases imiscíveis são colocadas em contato. Assim a concentração de uma substância numa fase é maior na interface do que no seu interior, e esta substância acaba se acumulando na superfície da outra, ou seja, o processo de adsorção consiste na concentração de uma substância na interface de duas fases imiscíveis. Estas duas fases envolvidas são conhecidas como adsorvente e adsorbato. O adsorvente é o substrato no qual ocorre a acumulação da substância adsorvida e o adsorbato é a substância que se adsorve (RUTHVEN, 1984).

A descoberta e comercialização de materiais adsorventes conduziram ao desenvolvimento da adsorção como processo de separação. O sucesso da adsorção, como processo de separação, depende da escolha do material adsorvente e da otimização das variáveis do processo. A grande vantagem que a adsorção possui é apresentar uma alta seletividade em nível molecular, permitindo a separação de vários componentes e também por apresentar um baixo consumo energético, característica bastante importante nos dias atuais (SCHEER et al., 2000).

Vários fatores afetam a adsorção, tais como a estrutura molecular ou natureza do adsorvente, a solubilidade do soluto, o pH do meio e a temperatura. A estrutura molecular ou a natureza do adsorvente é particularmente importante no ordenamento do grau de adsorção que pode ocorrer e o tipo e a localização dos grupos funcionais responsáveis pela adsorção afeta sua adsorvibilidade. Além desses fatores, o diâmetro molecular do adsorbato também afeta a adsorção. Compostos com diâmetros moleculares menores têm mais facilidade em difundir-se para o interior do sólido e conseqüentemente a adsorção é maior (RUTHVEN, 1988).

A solubilidade do soluto impede a atração para a superfície do adsorvente. Grupos polares têm uma alta afinidade com a água e isto geralmente diminui a adsorção a partir de soluções aquosas. Baixos valores de pH favorecem a adsorção de ácidos orgânicos enquanto que altos valores de pH favorecem a adsorção de bases orgânicas. No entanto, o valor ótimo de pH deve ser determinado para cada caso. A temperatura é a variável que afeta a extensão da adsorção, que, em geral, é um processo exotérmico onde, altas temperaturas diminuem a quantidade de soluto adsorvido. Baixas temperaturas são favoráveis à adsorção embora a velocidade e a extensão da adsorção sejam afetadas por outros fatores. De um modo geral, os seguintes parâmetros operacionais devem ser considerados: tipo de adsorvente, concentração do soluto, pH, temperatura, tempo de contato e agitação (BUTT et al., 2006).

O processo de adsorção pode ocorrer de duas maneiras: adsorção física ou química. Na adsorção física, também denominada de fisiossorção, há uma interação de Van der Waals. A entalpia da adsorção física possui valores na faixa de 20 kJ mol⁻¹, sendo insuficiente para romper as ligações químicas, desta forma a molécula fisicamente adsorvida mantém a sua identidade, além da quantidade adsorvida depender mais do adsorbato que do adsorvente e do processo poder ocorrer em multicamadas (RUTHVEN, 1988).

Na adsorção química, também denominada de quimiossorção, as moléculas unem-se a superfície do adsorvente por ligações químicas geralmente covalentes e tendem a se acomodar

em sítios que propiciem o número de coordenação máximo com o substrato. A entalpia de adsorção química é muito maior que da adsorção física, com valores na faixa de 200 kJ mol^{-1} (LATAYE et al., 2008).

Basicamente o estudo da adsorção na interface sólido-líquido consiste na determinação da mudança de concentração que ocorre quando certa quantidade de solução entra em equilíbrio com uma conhecida quantidade do adsorvente (MORENO-CASTILLA, 2004). Com base na mudança de concentração do soluto na solução, a quantidade adsorvida de um dado componente pode ser determinada e construída em função da concentração deste mesmo componente na solução de equilíbrio, obtendo-se uma curva conhecida, chamada, isoterma de adsorção (BUTT et al., 2006).

2.7.2 Processos adsortivos para remoção de inibidores e aumento da fermentabilidade dos licores de hidrólise

Com o propósito de aumentar a fermentabilidade dos hidrolisados obtidos após o pré-tratamento é necessário reduzir a concentração, ou eliminar totalmente do meio, os compostos tóxicos gerados no pré-tratamento. Dependendo dos mecanismos empregados para a eliminação dos inibidores, estes métodos podem-se agrupar em: biológicos e químicos e físicos (ROSSELL, 2007)

2.7.2.1 Métodos biológicos

Consistem no emprego de microorganismos capazes de metabolizar alguns dos compostos tóxicos presentes nos hidrolisados. Um exemplo de tratamento biológico é a destoxificação de hidrolisados utilizando micélios de *Trichoderma reesei*. Este microorganismo é capaz de metabolizar as pentoses e oligômeros presentes no hidrolisado sem ser afetado pelos produtos tóxicos presentes no mesmo. Durante o tratamento com este fungo tem-se eliminado compostos como o ácido acético, o furfural e o ácido benzóico.

2.7.2.2 Métodos químicos e físicos

Dentre os métodos químicos e físicos podem ser citados: Os solventes orgânicos de volatilidade relativa elevada comparada a da água, de extração com solventes; Tratamentos com hidróxidos alcalino-térreos; Remoção por evaporação e destilação; Adsorção em carvão ativo e carvão vegetal; zeólitos; Emprego de resinas de troca iônica; Emprego da lignina residual entre outros.

2.7.2.3 Emprego da lignina residual como adsorvente

Emprego da lignina residual como adsorvente tem sido um novo método proposto para a destoxificação de hidrolisados de lignocelulósicos, que consiste em utilizar a lignina que se produz como resíduo na hidrólise como adsorvente numa extração, aproveitando suas propriedades hidrofóbicas. As vantagens de utilizar a lignina residual como agente destoxicador frente às resinas cromatográficas, são principalmente econômicas e para reduzir os custos do tratamento. Sendo a lignina um subproduto da hidrólise depois de seu emprego na destoxificação poderá ainda ser empregada como combustível primário Cortez (2005).

2.8 Produção de bioetanol

O Brasil e os Estados Unidos surgem como os dois principais países que investem e produzem no mercado mundial emergente do etanol. O Brasil, aliás, poderá perder rapidamente a enorme vantagem competitiva de que desfruta hoje o seu etanol de cana-de-açúcar ante o avanço do etanol de lignocelulose, que disporá de uma base de matéria-prima extremamente abundante e barata (LIMA et al., 2011).

Devido à importância socioeconômica da produção biológica de etanol no Brasil e no mundo, tendo em vista a utilização deste produto em indústrias de alimentos e, como fonte combustível ecologicamente correta, estudos visando à obtenção de melhores procedimentos tecnológicos no processo fermentativo tornam-se de fundamental importância (MARQUES e SERRA, 2004).

O etanol é o álcool etílico produzido desde os tempos antigos pela fermentação dos açúcares encontrados em produtos vegetais (cereais, beterraba e cana). Boa parte do etanol industrial é feita por meio da fermentação, embora também seja feita sinteticamente de fontes como o eteno derivado do petróleo. O novo conceito de etanol (ou bioetanol) corresponde a sua fabricação utilizando como matéria-prima a biomassa lignocelulósica (BASTOS, 2007).

Segundo Lima et al. (2001), o etanol é utilizado no Brasil principalmente como combustível nos motores de Ciclo Otto no setor de transporte rodoviário. Sua classificação como hidratado pode ser:

- Álcool industrial com graduação alcoólica em torno de 93,2 INPM a 20 °C.
- Álcool refinado com teor alcoólico mínimo de 94,2 INPM a 20 °C.

- Álcool Anidro com teor alcoólico superior a 99,3 INPM a 20° C.

2.8.1 Matérias primas para a produção de bioetanol

Segundo Schell et al. (2007), toda matéria que contenha carboidratos, $C_n(H_2O)_n$, pode ser usada para a produção do etanol. De acordo com o tipo de carboidratos presentes nas matérias-primas elas podem ser classificadas em três tipos descritos a seguir:

- a) Materiais açucarados: contêm açúcares simples, ou seja, carboidratos com seis (monossacarídeos) ou doze átomos de carbono (dissacarídeos), como glicose, frutose, e maltose. Os monossacarídeos se limitam aos sucos de frutas e são diretamente fermentescíveis, sendo utilizados apenas na produção de álcool em bebidas como vinho e sidra. Já os dissacarídeos são fermentados após uma hidrólise ocorrida pela ação da enzima invertase, produzida pelo próprio agente de fermentação. Ex.: cana-de-açúcar, beterraba açucareira, melaços, mel de abelhas e frutas;
- b) Materiais amiláceos: contêm carboidratos mais complexos como amido e inulina que podem ser quebrados em glicose pela hidrólise ácida ou ação de enzimas num processo denominado malteação ou sacarificação. Ex.: grãos amiláceos (milho, sorgo, cevada, trigo) raízes e tubérculos (batata, batata-doce, mandioca);
- c) Materiais celulósicos: São constituídos de celulose, e apesar de estarem disponíveis em grande quantidade, não oferecem por enquanto, condições econômicas na produção de etanol, pois para tornarem-se fermentescíveis devem passar por um processo complexo de hidrólise ácida. Ex.: palha, madeira, resíduos agrícolas e de fábricas de papel.

Para a seleção do tipo de matéria-prima ideal visando à obtenção de etanol, alguns parâmetros produtivos relativos às matérias-primas disponíveis devem ser avaliados. Destacam-se a produtividade do processo, o balanço energético total, o custo de produção, os requisitos de qualidade de solo e clima para a produção em larga escala da matéria-prima, os resíduos gerados no processo com valor energético, a sazonalidade, os usos alternativos dos resíduos e da matéria-prima, o nível de difusão da cultura, o nível tecnológico e os impactos ambientais.

2.8.2 Processo de produção

O etanol de lignocelulose, bioetanol, é um combustível renovável produzido a partir de resíduos vegetais, agroindustriais e de materiais lignocelulósicos, como a raquete da palma

fORAGEIRA, palha de milho, casca de arroz entre outros. E o processo de fabricação partir destes materiais é dividido em quatro etapas (ROSSELL, 2007; CORTEZ, 2005).

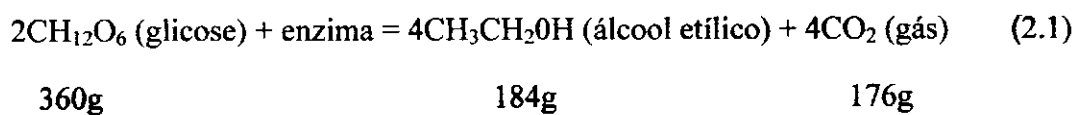
Na primeira etapa, há o pré-tratamento do material, adotado o processo de pré-hidrólise e hidrólise ácida, onde a lignocelulose é submetido à quebra da estrutura cristalina da fibra e há a recuperação de açúcares mais fáceis de hidrolisar. (ROSSELL, 2007). Em seguida, vem a etapa de deslignificação. É retirada a lignina, complexo que dá resistência à fibra e protege a celulose da ação de microorganismos, porém, apresenta grande inibição ao processo fermentativo (CORTEZ, 2005).

Na terceira fase, o líquido proveniente do tratamento ácido, rico em açúcares, é fermentado, por meio de levedura *Saccharomyces cerevisiae*, o mesmo fungo utilizado na fabricação de pães (ROSSELL, 2007; CORTEZ, 2005). E por fim destilado, para separação do álcool do fermentado.

2.8.3 Processo fermentativo

Após as lentas e constantes incorporações de novos conhecimentos ao longo do tempo, chegou-se à atual concepção de fermentação alcoólica. De acordo com Amorim (2005) as cepas mais utilizadas na conversão de açúcar em etanol constituindo-se de *Saccharomyces cerevisiae* e espécies relacionadas. Diversos fatores físicos (temperatura e pressão osmótica), químicos (pH, oxigenação, inibidores, nutrientes minerais e orgânicos) e microbiológicos (espécie, linhagem e concentração da levedura e contaminação bacteriana) afetam o rendimento da fermentação, ou seja, a eficiência da conversão de açúcares em etanol. Geralmente as quedas na eficiência fermentativa decorrem de uma alteração na estequiometria do processo, levando à maior formação de produtos secundários (especialmente glicerol e ácidos orgânicos) e biomassa (TIAN et al., 2009; STAMBUCK et al., 2008; LIMA et al., 2001).

A reação química global que ocorre no processo de fermentação alcoólica está apresentada na Equação 2.1 (OSTROWSKI et al., 2006).



No processo de fermentação alcoólica de açúcares, os principais produtos, álcool etílico e gás carbônico, são produzidos em proporções equimolares, conforme a equação de

gay-lussac. Entretanto a molécula de glicose passa por um processo anaeróbico por doze etapas intermediárias antes de ser transformada em etanol e gás carbônico. Ao lado de etanol e gás carbônico, formam acetaldeídos, glicerol, 2,3 – butileno glicol, ácido láctico, ácido succíneo e ácido cítrico como produto constante da fermentação alcoólica e que contribuem para o sabor e o aroma do vinho (SILVA, 1998). O mesmo autor afirma ainda que a fermentação alcoólica é um processo bioquímico de transformação de açúcares em álcool desencadeada por leveduras. Nesses casos pode-se recorrer a leveduras selecionadas, entre outras. É importante realçar a temperatura de fermentação, pois ao fermentar o mosto libera calor e eleva a sua temperatura influenciando o desenvolvimento da fermentação. As temperaturas mais elevadas inibem as leveduras responsáveis por trabalhar os aromas e propiciam o aparecimento da indesejável acidez volátil pelo que se torna necessário controlá-la o que pode prolongar o tempo de fermentação de um mosto de três a quatro semanas.

A fermentação alcoólica constitui uma das etapas mais importantes para elaboração de vinhos e bebidas fermentadas, podendo ser conduzida com várias leveduras. Mesmo que, em maior ou menor quantidade, possa intervir certo número de espécies e inclusive de gênero de leveduras, o papel principal é desempenhado pela *Saccharomyces cerevisiae* (BARRE et al., 2000). Esta fermentação se desenvolve em condições de parcial anaerobiose (quantidade de oxigênio disponível no meio, no início da fermentação, é inferior a 10mg/L de oxigênio), sendo que o metabolismo da *Saccharomyces cerevisiae* em tais condições é estritamente fermentativo. Esses autores certificam que durante a fermentação alcoólica são produzidos metabólicos fermentativo e biomassa. A produção de biomassa sempre é pequena quando comparada com quantidade de açúcares convertidos em etanol e gás carbônico.

Durante o processo fermentativo um estudo cinético deste pode ser realizado, onde consiste de uma análise de evolução dos valores de concentração de um ou mais componentes do sistema de cultivo, em função do tempo de fermentação, sendo esses componentes a concentração dos microrganismos (X), os produtos (P) do metabolismo e os substratos (S) que compõem o meio de cultura (SCHMIDELL et al., 2001).

2.8.4 Leveduras e produção de bioetanol

Durante a fermentação alcoólica, as leveduras produzem etanol, dióxido de carbono e um grande número de componentes secundários, sendo os mais abundantes os álcoois superiores (LIMA, 2001). O pH é um fator importante em qualquer processo biológico, havendo valores mínimo, ótimo e máximo de pH para o desenvolvimento de cada

microrganismo (PERAZZO NETO, 1999). De acordo com Franco e Landgraf (1996), o pH em torno da neutralidade (entre 6,5 e 7,5) é o mais favorável para a maioria dos microrganismos. Ainda comenta que os bolores e leveduras apresentam maior tolerância ao pH, sendo que os bolores podem se multiplicar em valores de pH mais baixos que as leveduras, sendo estas mais tolerantes que as bactérias a valores baixos de pH, onde os valores de pH ótimo para a multiplicação de *Saccharomyces cerevisiae* é entre 4 e 5. Holanda et al. (1998) estudando o enriquecimento protéico do pedúnculo do caju por meio de leveduras, constataram que se deve observar o pH das massas de caju, uma vez que em $\text{pH} < 3,5$ pode ocorrer uma redução na eficiência de conversão protéica da levedura, embora o elevado índice de acidez evite a contaminação de microrganismos no meio, tais como bactérias.

A temperatura tem grande influência no crescimento microbiano, havendo uma temperatura mínima, abaixo da qual o microrganismo não se desenvolve; uma temperatura ótima na qual o crescimento microbiano é máximo; e uma temperatura máxima, acima da qual não há crescimento microbiano sendo necessário observar a temperatura para não comprometer o processo fermentativo. Franco e Landgraf (1996) relatam que os microrganismos mesófilos têm uma temperatura ótima de multiplicação variando entre 25 e 40 °C, e corresponde a grande maioria dos microrganismos. Em fungos filamentosos, a temperatura influencia diretamente a germinação dos esporos, crescimento, formação de produtos e esporulação (PINTO et al., 1998).

2.9 Etanol de segunda geração: desafios e oportunidades

Os efeitos do aquecimento global e dos impasses na política externa energética forçaram uma tomada de atitude em nível global para o desenvolvimento de pesquisas na área de energias limpas e renováveis (ROSSELL, 2007).

O Brasil, com grande experiência na produção de etanol a partir do caldo da cana-de-açúcar, desde a década de 70 no programa nacional PRÓ-ÁLCOOL, apresenta uma posição de vantagem com relação às variedades de cana desde então desenvolvidas para aquela finalidade. Este país acumulou experiência no programa de melhoramento genético da cana, que disponibiliza variedades mais adequadas à diferentes biomas brasileiros, e também no desenvolvimento da tecnologia dos motores flex, que hoje dominam a linha de produção de motores para automóveis (CORTEZ, 2005).

Outra grande vantagem brasileira é a grande disponibilidade de recursos naturais agroenergéticos: água, terra, condições favoráveis de clima e solo. Contudo, a posição de

vantagem brasileira no cenário bioenergético mundial pode mudar devido às pesquisas neste campo sendo conduzidas por países concorrentes. O Brasil hoje produz para a demanda interna e atende também parte da demanda externa. Contudo, a pressão por tecnologias mais rentáveis, limpas e com certificação de sustentabilidade sócio-ambiental tem sido constante. Associadas a essas exigências do mercado estão à busca por tecnologias agrícolas de precisão, condições de trabalho que não infrinjam os direitos humanos, uso racional dos recursos naturais, mitigação da emissão de gases causadores do efeito estufa, e busca por soluções biotecnológicas avançadas no desenvolvimento de recursos biológicos mais adequados para atender a demanda por biocombustíveis, bem como soluções relacionadas à linha de produção dos biocombustíveis (ROSSELL, 2007).

Existe uma tendência consolidada e crescente na utilização das fibras vegetais na produção de energia na forma de etanol. A biotecnologia oferece oportunidade de manipulação de muitas características da parede celular destas fibras. Uma possibilidade é aumentar a susceptibilidade da biomassa vegetal à degradação por enzimas produzidas por microrganismos, um termo cunhado em inglês como “Green technology” e que constitui uma forma mais limpa e ambientalmente sustentável, devido à não utilização de pré-tratamentos químicos, cujos resíduos constituem um problema ambiental (RODRIGUES, 1995).

Pesquisas paralelas para o desenvolvimento de novas tecnologias de fermentação e de biorreatores também têm sido conduzidas no sentido de aperfeiçoar as linhas de produção. O melhoramento genético vegetal tem focado principalmente no desenvolvimento de variedades de cana melhor adaptadas aos diferentes regiões brasileiras. Estas adaptações incluem maior tolerância a estresse hídrico, resistência a doenças, florescimento tardio (o florescimento constitui um dreno de carboidratos fermentáveis), maior produtividade de biomassa, maior tolerância ao adensamento (visando ao melhor aproveitamento da área de plantio), menor exigência nutricional (principalmente de P e N). Para buscar esses objetivos, novas variedades têm sido geradas, por meio de triagem e seleção de indivíduos com características mais interessantes, e o uso destes indivíduos em um programa de cruzamento genético controlado (GRAVITIS, 1998).

A necessidade por uma biomassa mais adequada à produção de álcool de segunda geração tem imposto um nível recente de critério de seleção, que é a constituição química da parede celular. Na UFV, a RIDESA tem conduzido um programa de melhoramento genético liderado pelo Professor Márcio Barbosa voltado à obtenção de variedades de cana com menor teor de lignina. As variedades pré-selecionadas são testadas quanto ao seu potencial de

rendimento de açúcares fermentáveis, ao mesmo tempo em que tem se buscado elucidar a estrutura da lignina e da hemicelulose da parede de diferentes variedades de cana, trabalho de Pós-doutoramento que tenho conduzido (ROSSELL, 2007).

Conhecer a matéria prima é o princípio para se determinar linhas de ação e estratégias de pesquisa visando à alteração das propriedades da parede celular da cana. O desenvolvimento de tecnologias para o aproveitamento rentável e ambientalmente sustentável da energia contida nos polímeros dos resíduos lignocelulósicos requer pesquisa multidisciplinar, em vários âmbitos da área da ciência. A biotecnologia envolvida nestes estudos constitui no momento uma área de fronteira do conhecimento e para a concretização dos estudos requeridos, um contínuo aporte de financiamento público e privado são necessários. A viabilização destas pesquisas também requer o contínuo aprimoramento de pessoal qualificado e das estruturas laboratoriais (CORTEZ, 2005; DOMÍNGUEZ, 2003).

2.10 Estimativas de rendimentos e custos para produção de bioetanol

A produção de bioetanol utilizando matéria-prima lignocelulósica (biocombustíveis de segunda geração) ainda está em fase de desenvolvimento nos laboratórios e plantas-piloto das instituições de pesquisa. A produção comercial será possível, mas exigirá o domínio de tecnologias ainda não completamente desenvolvidas que atualmente são complexas, com baixo rendimento na conversão da matéria-prima em bioetanol, balanço energético negativo e com custo de produção elevado Jardine et al. (2009).

Em seu estudo, Seabra (2008) apresentou os principais resultados de estudos recentes sobre processos em desenvolvimento para produção de bioetanol (Tabela 2.3). Os rendimentos se referem à produção de bioetanol por tonelada de biomassa seca. O custo dessa biomassa, também apresentado pelo autor, informa o valor adotado para o cálculo do custo do bioálcool, sendo definido de forma exógena ao processo produtivo.

Segundo Budny e Sotero (2007), o custo de produção do etanol de 1º geração no Brasil, a partir do caldo de cana-de-açúcar, é da ordem de US\$ 0,22. Comparando estes custos com os custos de produção apresentados na Tabela 2.3 pode-se observar que o bioetanol de 2º geração, produzido a partir de resíduos lignocelulósicos, não será competitivo com o de 1º geração a curto prazo, independentemente do tipo de pré-tratamento aplicado à biomassa. Por esse motivo pesquisas que venha contemplar o aumento de bioetanol de 2º geração vem cada vez mais sendo estudos.

Tabela 2.3 - Estimativas de rendimentos e custos para produção de bioetanol

Processo	Rendimento (litro / t)	Custo da biomassa	Custo do etanol	Disponibilidade	Referência
SSF Pré-tratamento com ácido diluído	~ 300	3 €/GJ	0,98 €/litro	Custo prazo	
SSCF* Pré-tratamento com explosão de vapor	~ 340	2,5 €/GJ	0,58 €/litro	Médio prazo	Hamelinck et al. (2005)
CBP** com termoidrólise com explosão	~ 400	2 €/GJ	0,39 €/litro	Longo prazo	
SSCF Pré-tratamento com ácido diluído	374	33 US\$/t	0,28 US\$/litro (mínimo preço)	Custo prazo	Aden et al. (2002)
SSCF Pré-tratamento com ácido diluído	283	44 US\$/t	0,38 US\$/litro	Custo prazo	Wooley et al. (1999)
SSCF Pré-tratamento com ácido diluído	413	28 US\$/t	0,20 US\$/litro	Longo prazo	

* Processo simultâneo de sacarificação e co-fermentação

** Bioprocessamento consolidado – fermentação de biomassas lignocelulósicas empregando simultaneamente diferentes espécies de microorganismos

Fonte: Seabra (2008).

2.11 Trabalhos de produção de etanol de 2ª geração

Melo et al. (2008) realizaram a hidrólise do amido da torta de mamona por ácido e pela combinação de α -amilase, glicoamilase e pululanase, seguido da etapa de fermentação. A hidrólise química resultou em 27,3 g L⁻¹ de açúcares com 33,4% de eficiência de hidrólise. O hidrolisado obtido foi fermentado originando 11 g L⁻¹ de etanol ($Y_{P/S}=0,48$ g g⁻¹). A melhor condição de hidrólise enzimática foi (por grama de torta de mamona): 200 μ L de α -amilase, a 90 °C; 200 μ L de glicoamilase e 100 μ L de pululanase, ambas a 60 °C, que resultou em 75 g L⁻¹ de açúcares redutores totais, que corresponde a 91,4% de eficiência de hidrólise. Esses açúcares em seguida foram convertidos em 34,5 g L⁻¹ de etanol. O processo de hidrólise ácida foi capaz de promover a destoxificação da torta de mamona.

Conforme Rossell (2007), a fermentação do licor de açúcares redutores obtido após a hidrólise dos materiais lignocelulósicos é um estágio crítico para atingir um processo de obtenção de etanol que assegure uma conversão mínima destes açúcares e seja compatível com um custo de produção factível, sob uma visão técnica e econômica. Ainda deve ser levado em conta o consumo energético associado às condições de fermentação e o título de etanol no vinho final obtido, a necessidade de realizar processos de pré-tratamento do bagaço sem os quais a hidrólise torna-se inviável, independente da mesma ser catalisada por ácidos ou enzimas, haverá a formação de uma série de compostos secundários durante estes pré-tratamentos, que inibem fortemente a atividade fermentativa dos microorganismos em geral e a levedura em particular, de tal forma que o desenvolvimento de novas tecnologias para tratamento dos materiais lignocelulósicos tem sido vista com bons olhos do ponto de vista econômico ao considerar-se a sua utilização como substrato em processos para produção de etanol.

Mojovic et al. (2006) estudaram a produção de bioálcool a partir de hidrolisados da farinha de milho. Os pré-tratamentos utilizados para o substrato foram a liquefação, com α -amilase na temperatura de 85 °C durante 1 hora e pH 6,0, e posterior sacarificação, utilizando glucoamilase, temperatura de 55 °C e pH 5,0 durante 4 h. As fermentações do hidrolisado foram realizadas empregando fermento seco contendo *Saccharomyces cerevisiae* (1; 1,35 e 2% m/m) como inóculo e conduzidas em agitador rotativo com frequência de agitação de 100 min⁻¹, pH 5,0 e temperatura de 32 °C. Os ensaios de fermentação duraram menos de 48 h, sendo que foi obtido um rendimento de 45,59% em etanol (89,2% do teórico) e produtividade de 1,21 g L⁻¹ h⁻¹.

Sassner et al. (2006) empregando resíduos de madeira como substrato, após hidrólise ácida a 200 °C com H₂SO₄ 0,5% m/m durante 8 minutos e posterior fermentação (*S. cerevisiae*, pH 5, 37 °C) com sacarificação simultânea (glicosidase), obtiveram rendimento de 40,38% em etanol convertido a partir dos açúcares fermentáveis disponíveis após 24 h de fermentação. A concentração de etanol obtida no produto fermentado foi de 16 g L⁻¹ e a produtividade foi de 0,67 g L⁻¹ h⁻¹. Observaram ainda, que esta produção de etanol poderia ser elevada em até 32% utilizando leveduras capazes de fermentar hexoses e pentoses simultaneamente.

A produção de álcool etílico a partir de materiais lignocelulósicos esta mais voltada para utilização do bagaço da cana-de-açúcar, como alternativa de ampliação da produção deste combustível nas usinas e reaproveitamento de uma fonte rica em substâncias como

celulose e hemicelulose (ROSSELL, 2006a).

O etanol obtido através da fermentação de açúcares, utilizando um catalisador biológico, vem sendo considerado uma importante fonte de energia alternativa e ambientalmente de pouca agressividade e, conseqüentemente, estes processos vem sendo estudados em diversos aspectos. Buscando minimizar os custos de produção, barateando o processo, a utilização de materiais lignocelulósicos tem se mostrado promissora fonte de carboidrato para o substrato fermentativo, no qual se incluem a utilização dos resíduos agroindustriais. (SAITO e CABELLO, 2006). Estes autores no estudo avaliando a produção de etanol a partir de hidrolisado (rico em glicose) proveniente de tratamento hidrotérmico desenvolvido no farelo de mandioca, mostraram que as melhores condições foram: tempo de processo 35 minutos; temperatura de 140 °C; concentração do catalisador de 2,5% (m.s); obtendo-se nestas condições: concentração de glicose no hidrolisado de 7,26%; concentração de 100mg/L de compostos fenólicos e o processo fermentativo, mostrando que os compostos fenólicos não afetaram a fermentação, produção de 2,89% (p/p) de etanol e fator de conversão de 0,46 (m/m).

Estudando a obtenção de álcool etílico a partir de amido de mandioca Ostrowski et al. (2006), verificaram que a conversão de celulose e hemicelulose em açúcares fermentáveis através da hidrólise ácida apresentou um baixo rendimento e que a conversão por via enzimática é mais complexa, no entanto, mais interessante do ponto de vista industrial, e com o seu domínio, a produção de álcool a partir de amido de mandioca tende a se tomar uma operação mais simples.

Avaliando o potencial de produção de etanol a partir do bagaço de maçã, Nogueira et al. (2005) produziram um fermentado com 33,93 g L⁻¹ de etanol sob temperatura ambiente (19-25 °C) e empregando *S. cerevisiae* seca, reidratada por 20 min. como inóculo. Este valor representa um rendimento de 44,53%, partindo de uma concentração de 76,2 g L⁻¹ de açúcares fermentáveis. O suco de maçã, por ser mais rico em açúcares fermentáveis, resultou em 54,44 g L⁻¹ de etanol e um rendimento de 43,38% na fermentação.

Realizando a hidrólise ácida de eucalipto Carvalho et al. (2005) obtiveram valores de concentração de glicose, xilose, e arabinose no licor de 1,53; 24,32 e 0,56 g/dm³, que após submetido ao processo de concentração passaram a 6,84; 108,4 e 2,36 g/dm³, respectivamente.

Salazar et al. (2005) estudando a composição da palha de milho, verificaram que a

mesma era composta por 8,79, 57,49 e 41,18% de lignina, hemicelulósico e celulose, respectivamente.

Para estudos da hidrólise ácida, Tamanini et al. (2004) estudando a hidrólise da casca de aveia em reator de aço inoxidável com capacidade de 1,5 L, utilizaram as seguintes condições: temperatura de 156 °C, concentração de ácido sulfúrico (H₂SO₄) de 0,35% (m/v) e relação sólido: diluição ácida de 1:4,5 em 27 min. de reação.

Estudando a hidrólise ácida do bagaço de cana Rodríguez-Chong et al. (2004), usando ácido nítrico em concentração variável (2- 6%), aumento do tempo (0-300 min) e temperatura (100-128 °C), obtiveram concentrações de açúcares liberados (xilose, glicose e arabinose) e produtos de degradação (ácido acético e furfural). A influência da temperatura também foi estudada e aplicando os modelos cinéticos obtidos, as melhores condições foram selecionadas: 122 °C, 6% HNO₃ e 9,3 min. Usando estas condições foram obtidas xilose 18,6 g.L⁻¹; arabinose 2,04 g.L⁻¹; glicose 2,87 g.L⁻¹; ácido acético 0,9 g.L⁻¹ e furfural 1,32 g.L⁻¹.

Para estudos da hidrólise ácida, Matos et al. (2003) estudando a formação de xilitol, etanol e glicerol por *Candida guilliermondii* FTI 20037. durante a fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, em reator inox de 250 L a 121 °C, por 10 minutos, utilizando-se 100 mg de ácido sulfúrico por grama de matéria seca, na proporção sólido/líquido de 1:10. O hidrolisado foi três vezes concentrado em evaporador a vácuo a 70 °C e submetido ao tratamento combinando modificação de pH com óxido de cálcio comercial e ácido. Verifica-se valores de 50,1 g.L⁻¹ para xilose, 3,6 g.L⁻¹ para arabinose e 2,3 g.L⁻¹ para glicose.

Atualmente vários pesquisadores estão estudando as melhores formas de utilizar materiais lignocelulósicos obtidos de outras matérias-primas para obtenção de álcool etílico, empregando diversas formas de processamento para cada uma delas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local da pesquisa

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Engenharia Bioquímica (LEB) e Laboratório de Transferência em Meios e Sistemas Particulados (LTCMMP) da Unidade Acadêmica de Engenharia Química da Universidade Federal de Campina Grande. No LEB foram realizadas as seguintes etapas: recepção, seleção, lavagem, caracterização do pedúnculo do caju, trituração e moagem para obtenção do bagaço e no LTCMMP, foram realizadas as análises para as seguintes etapas: secagem do pedúnculo de caju, peneiramento, pré-hidrólise e hidrólise ácida, caracterização dos licores pré- hidrolisado e hidrolisado, estudo da adsorção dos inibidores, estudo cinético da fermentação do hidrolisado em três tratamentos, análise do fermentado e estimativas da produção de etanol a partir do bagaço do pedúnculo de caju.

3.2 Matéria-prima

A matéria-prima utilizada neste estudo foi o bagaço do pedúnculo do caju úmido (BCU), das variedades vermelha e amarela, a qual foi adquirida como um resíduo da produção de polpa de frutas da indústria FRUTNAT, localizada na cidade de Campina Grande, Paraíba.

3.3 Processamento para obtenção do bagaço do caju seco

O bagaço do pedúnculo do caju úmido (BCU), foi transportado para o local de processamento (LEB), onde ocorreu a seleção do bagaço para retirada de materiais indesejáveis do processamento como: pedaços de castanhas, talos, cascas e pedaços de embalagens. Posteriormente foi realizada a lavagem do bagaço do pedúnculo do caju com água na razão de 1:1, na temperatura de 60 °C, por um tempo médio de 20 min, para a lixiviação dos açúcares remanescentes. A solução lixiviada foi filtrada em chumaço de algodão para obtenção de uma solução açucarada denominada água da primeira lavagem, que foi reservada com a perspectiva de ser adicionada no processo fermentativo. Após, esta etapa o bagaço foi lavado com água destilada a temperatura ambiente por mais três vezes, até atingir °Brix zero, para garantir que no bagaço não tenha açúcares remanescentes do processo de extração. O bagaço então foi levado nas bandejas em camadas de 2 centímetro de espessura para secar em uma estufa com circulação de ar a uma temperatura média de 55 °C. Quando a massa nas bandejas atingiu peso constante, este material denominado bagaço do pedúnculo do caju seco (BCS) foi retirado, moído com o auxílio de moinho de facas e

peneirado em peneira 48 mesh para reduzir a granulometria, sendo envasado à vácuo em sacos plásticos com aproximadamente 500 g e armazenado em caixa de isopor, para o posterior uso.

Na Figura 3.1 está apresentado o fluxograma do processamento para obtenção do bagaço do caju seco a 55 °C (BCS) que foi utilizado nos processos posteriores de pré-hidrólise e hidrólise.

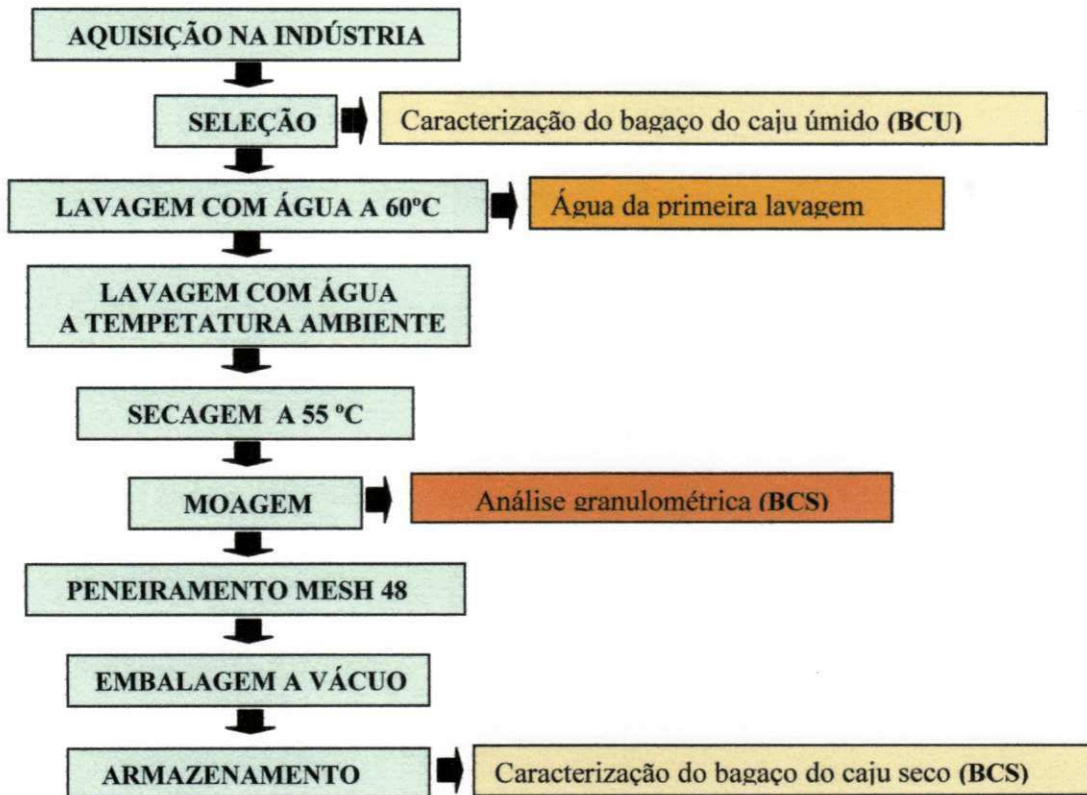


Figura 3.1 - Fluxograma do processamento do bagaço do pedúnculo do caju BCU para BCS.

3.4 Caracterização do bagaço

Foi utilizada uma quantidade de 200 e 250 g dos bagaços BCU e BCS respectivamente, para realizações das seguintes análises: concentrações de açúcares redutores e totais (glicose, frutose e sacarose), celulose, lignina, hemicelulose, sólidos solúveis totais (°Brix), acidez total titulavel, cinzas, pH, umidade, extrativos e granulometria.

O teor de açúcar foi determinado de acordo com a metodologia NREL/TP510 (NREL, 2008). As análises de açúcares foram realizadas através de cromatografia líquida, utilizando-se do HPLC. Os dados do cromatógrafo e as condições das operações foram as seguintes: cromatógrafo líquido equipado com uma bomba modelo ProStar 210 (Varian); Injetor manual com loop de 20µL; Detector de índice de refração modelo ProStar 356 (Varian); Coluna

analítica de aço inox Hi-Plex H (300 mm x 7,7 mm; Varian); Temperatura da coluna de 40 °C; Fase móvel: água miliQ com vazão de 0,6 mL/min; Tempo de análise: 15 minutos. Soluções padrões internos de açúcares: glicose, frutose, xilose, arabinose e sacarose (Sigma 99,99% grau HPLC) foram utilizadas na quantificação do teor de açúcares dos licores.

O teor de celulose nos materiais utilizados foi determinado conforme metodologia Tappi T17 wd-70, e T 203 cm-99 da TAPPI (2010).

Os teores de lignina foram determinados de acordo com metodologia Tappi T222 da TAPPI (2010).

Para análise de lignina solúvel foi utilizado o procedimento (MILAGRES e PRADE, 1994) adaptado. Foi utilizado o licor proveniente do procedimento anterior, que foi transferido para um balão volumétrico de 1000 mL e completado o volume com H₂SO₄ (4%). A solução de referência o branco foi o ácido sulfúrico a 4%. Em um espectrofotômetro UV/Visível, foram feitas medidas de absorvância nos comprimentos de ondas de 280 e 215 nm do filtrado, utilizando a solução de referência para a calibração absorvância zero. Sem diluição do licor, já que esta não altera os resultados obtidos. A concentração de lignina em gramas por litro foi calculada pela Equação 3.1.

$$C_L = \frac{4,53A_{215} - A_{280}}{300} (g/L) \quad 3.1$$

Sendo: A_{215} é o valor da absorvância a 215 nm.

A_{280} é o valor da absorvância a 280 nm.

O teor de lignina total foi obtido pela soma do teor de lignina insolúvel com o teor de lignina solúvel.

Para determinação de hemicelulose, utilizou-se o seguinte procedimento: em um Erlenmeyer de 250 mL foi adicionado 5,000 g de bagaço de caju, 0,7500 g de clorito de sódio, 0,5 mL de ácido acético concentrado e 100 mL de água destilada, a mistura foi agitada até o clorito ser dissolvido. O Erlenmeyer foi coberto com um vidro de relógio e colocado em um banho à temperatura de 75 °C por 3 h; sendo que a cada 0,5 hora foi adicionado ao Erlenmeyer a mesma quantidade de reagentes. O sistema foi resfriado a 10 °C em água com gelo, e depois filtrado através de um sistema de bomba a vácuo e papel de filtro nº 40 tarado. O material apresenta nesta fase uma textura gelatinosa de cor branca. Os resíduos foram lavados seis vezes com água e gelo e secos em uma estufa a 105 °C por 6 h. Após esse período, o resíduo foi pesado para quantificar a holocelulose.

Os métodos químicos de separação da hemicelulose do bagaço de caju foram baseados na sua solubilidade em solução de hidróxido de sódio a quente, o método descrito por Xu et al. (2006), propõe o isolamento da celulose do bagaço da cana-de-açúcar utilizando-se uma mistura de ácido acético a 80% com ácido nítrico a 70% na proporção de 10:1, v/v. 2 g da amostra de bagaço de caju, foi digerida por 20 min nesta solução, em agitador magnético à temperatura de 110 a 120 °C e o precipitado foi separado através de um sistema de bomba a vácuo e papel de filtro nº 40 tarado e determinado como celulose total. Além da celulose total poderão ser determinadas as celuloses alfa, beta e gama, que darão informações sobre a fração degradada pela radiação ionizante (FENGEL e WEGENER, 1989).

A celulose alfa foi determinada colocando o resíduo remanescente do procedimento anterior, adicionado a um Erlenmeyer de 250 mL, contendo 50 mL de hidróxido de sódio a 17,5%, à temperatura de 40 °C, em agitador magnético, durante 1 hora. Após esse tempo adicionou-se ao sistema 150 mL de água destilada por mais 0,5 hora, depois o material foi filtrado através de um sistema com bomba a vácuo e papel de filtro nº 40 tarado, o resíduo foi pesado para quantificação da celulose alfa e o licor filtrado, separado para determinar a celulose beta.

A celulose beta foi determinada utilizando o licor filtrado remanescente do procedimento anterior, colocado em um Erlenmeyer de 2 L, adicionado 50 mL de H₂SO₄ (72%), ocorrendo a formação de um precipitado, que foi separado através de um sistema de bomba a vácuo e papel de filtro nº 40 tarado e determinado como celulose beta. O teor de hemiceluloses corresponde à diferença entre holocelulose e o somatório dos teores de α -celulose e β -celulose.

O teor de sólidos solúveis totais (°Brix), acidez total titulável, cinzas, pH e umidade, foram determinados de acordo com as metodologias do Instituto Adolfo Lutz (Brasil, 2005).

Para a análise do teor de extrativos seguiu-se norma padronizada T 204 cm - 07, pela TAPPI (2010).

A granulometria foi determinada de acordo com a metodologia do fabricante do conjunto de peneiras, Pavinteste, usado no presente trabalho. Esse conjunto consiste de peneiras, com malhas de 20, 24, 35, 48, 65, 80 e 115 mesh. Após pesagem das peneiras vazias e empilhamento das mesmas no agitador, foram colocados 100 g do resíduo na peneira superior. O conjunto de peneiras foi agitado por 20 minutos na frequência 80 do agitador. O material retido em cada peneira teve sua massa determinada. Os resultados foram expressos como frações percentuais da massa de resíduo inicialmente utilizada para a análise.

3.5 Estudos cinéticos das pré-hidrólise e hidrólise do bagaço de caju

As reações de pré-hidrólise e hidrólise nas amostras (BCS) foram realizadas em um reator de aço inox de pressão autógena, com capacidade de 750 mL, com sistema de automação de tempo, aquecimento e temperatura interna e externa. Este estudo foi realizado para definir os tempos para realização dos experimentos de pré-hidrólise e hidrólise do bagaço de caju no reator. A Figura 3.2 apresenta o reator utilizado nos experimentos sistema completo e detalhamento da área de forno.



Figura 3.2 - Reator utilizado nos experimentos

Para o desenvolvimento das reações destes processos, foram utilizadas as seguintes condições:

Pré-hidrólise: massa de bagaço 70 g, solução de H_2SO_4 a 3% (Vetec PA), razão de massa/ácido de 1:10, temperatura de 105 °C, sendo coletada amostras a cada 15 min até ser verificado a redução da quantidade de glicose.

Hidrólise: massa de bagaço 30 g, solução de H_2SO_4 a 4% (Vetec PA), razão de massa/ácido de 1:8, temperaturas de 140, 160 e 180 °C, sendo coletada amostras a cada 15 min até ser verificado a redução da quantidade de glicose.

As amostras coletadas foram analisadas quanto as concentrações de: açúcares (glicose, xilose e arabinose) e dos congêneres (ácido acético, hidroximetilfurfural e furfural), extraídos nestes processos em função do tempo.

3.6 Planejamento experimental para o estudo do processo de pré-hidrólise e hidrólise ácida do bagaço de caju

Para os estudos das reações dos processos de hidrólise, foram utilizados planejamento experimental fatorial 2^k , para verificação das influências das variáveis de entrada (temperatura da hidrólise, concentração da solução de ácido sulfúrico e relação ácido e massa seca da matéria lignocelulósica) sobre a eficiência da extração em concentrações de glicose, xilose, arabinose, HMF, furfural e ácido acético, expressos em mg/L.

O tempo de reação foi estabelecido em 60 e 90 min., após o reator atingir a temperatura pré-estabelecida nos processos pré-hidrólise e hidrólise ácida do bagaço de caju, respectivamente.

3.6.1 Processo de pré-hidrólise

Para o processo da pré-hidrólise utilizou-se um planejamento experimental 2^3 com 5 pontos centrais e 6 axiais, totalizando 19 experimentos, aplicado a um delineamento composto central rotacional (DCCR).

Na Tabela 3.1 encontram-se, respectivamente, os níveis reais e codificados das variáveis de entrada estudadas no processo de pré-hidrólise e na Tabela 3.2 a matriz do planejamento. Os níveis reais foram definidos conforme estudos preliminares baseados em Torres Neto (2010), ao estudar a pré-hidrólise ácida da palma forrageira.

Tabela 3.1 - Valores reais e níveis codificados dos fatores estudados para o planejamento fatorial da pré-hidrolise

Variáveis	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Temperatura (°C)	80	90	105	120	130
Concentração da solução de H ₂ SO ₄ (%)	0	1	3	5	6
Razão massa do bagaço e volume de H ₂ SO ₄ (m/v)	1:6	1:8	1:10	1:12	1:14

Tabela 3.2 - Matriz de fatorial 2^3 com 5 pontos centrais e 6 axiais, totalizando 19 experimentos com 5 pontos centrais e 6 axiais, totalizando 19

Experimentos	Concentração de H_2SO_4 (%)	Razão (massa do bagaço e volume de H_2SO_4)	Temperatura ($^{\circ}C$)
1	-1	-1	-1
2	-1	-1	+1
3	+1	-1	-1
4	+1	-1	+1
5	-1	+1	-1
6	-1	+1	+1
7	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	$-\alpha$
13	0	0	$+\alpha$
14	$-\alpha$	0	0
15	$+\alpha$	0	0
16	0	$-\alpha$	0
17	0	$+\alpha$	0
18	0	0	0
19	0	0	0

Para o processo de obtenção do licor da pré-hidrólise do bagaço do pedúnculo de caju, foram realizadas as seguintes etapas apresentadas na Figura 3.3.

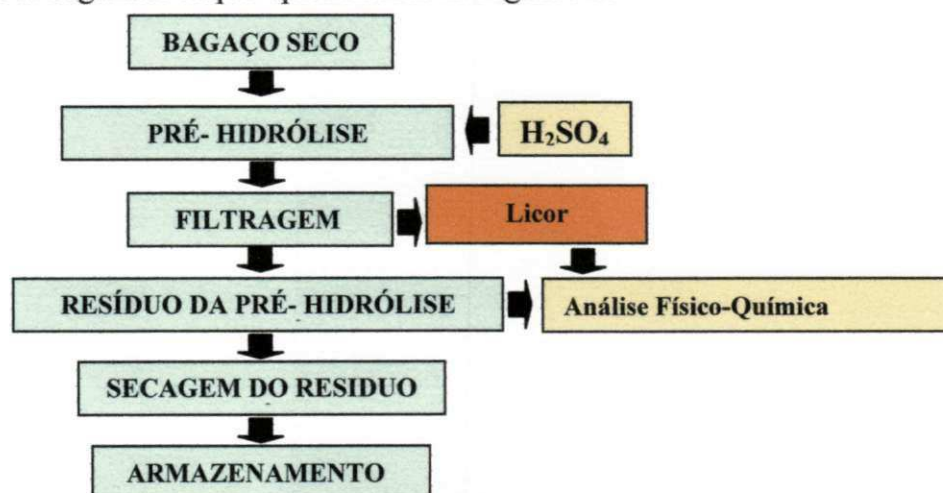


Figura 3.3 - Fluxograma do processo de obtenção do resíduo e licor da pré-hidrólise do bagaço do pedúnculo.

3.6.2 Processo de hidrólise

Para o processo de hidrólise utilizou-se um planejamento experimental 2^3 com 3 pontos centrais, totalizando 11 experimentos.

Na Tabela 3.3 encontram-se, respectivamente, os níveis reais e codificados das variáveis de entrada estudados no processo de hidrólise e na Tabela 3.4 a matriz do planejamento. O processo de hidrólise do material BCS foi uma adaptação das metodologias empregadas na hidrólise ácida do bagaço de cana-de-açúcar (BASTOS, 2007; ROSSELL, 2006) e de hidrólise ácida da casca da aveia (TAMANINI e HAULY, 2004).

Os níveis foram definidos, de acordo com os trabalhos de Cassales (2010) ao analisar a hidrólise da casca de aveia e Gurgel (2010) ao pesquisar a hidrólise da cana-de-açúcar, adaptando-se ao presente trabalho.

Tabela 3.3 - Valores reais e níveis dos fatores estudados para o planejamento fatorial da hidrólise

Variáveis	-1	0	+1
Temperatura (°C)	160	180	200
Concentração da solução de H ₂ SO ₄ (%)	2	4	6
Razão massa do bagaço e volume de H ₂ SO ₄ (m/v)	1:6	1:8	1:10

Tabela 3.4 - Matriz de planejamento fatorial 2^3 com 3 repetições no ponto central utilizada na hidrólise

Experimentos	Concentração de H ₂ SO ₄ (%)	Razão (massa do bagaço e volume de H ₂ SO ₄)	Temperatura (°C)
1	-1	-1	-1
2	-1	-1	+1
3	+1	-1	-1
4	+1	-1	+1
5	-1	+1	-1
6	-1	+1	+1
7	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0

O planejamento experimental foi realizado com o BCS separado do licor pré-hidrolisado que apresentou o melhor rendimento de glicose.

Para o processo de obtenção do licor da hidrólise do bagaço do pedúnculo de caju (BCS), foram realizadas as seguintes etapas apresentadas na Figura 3.4.

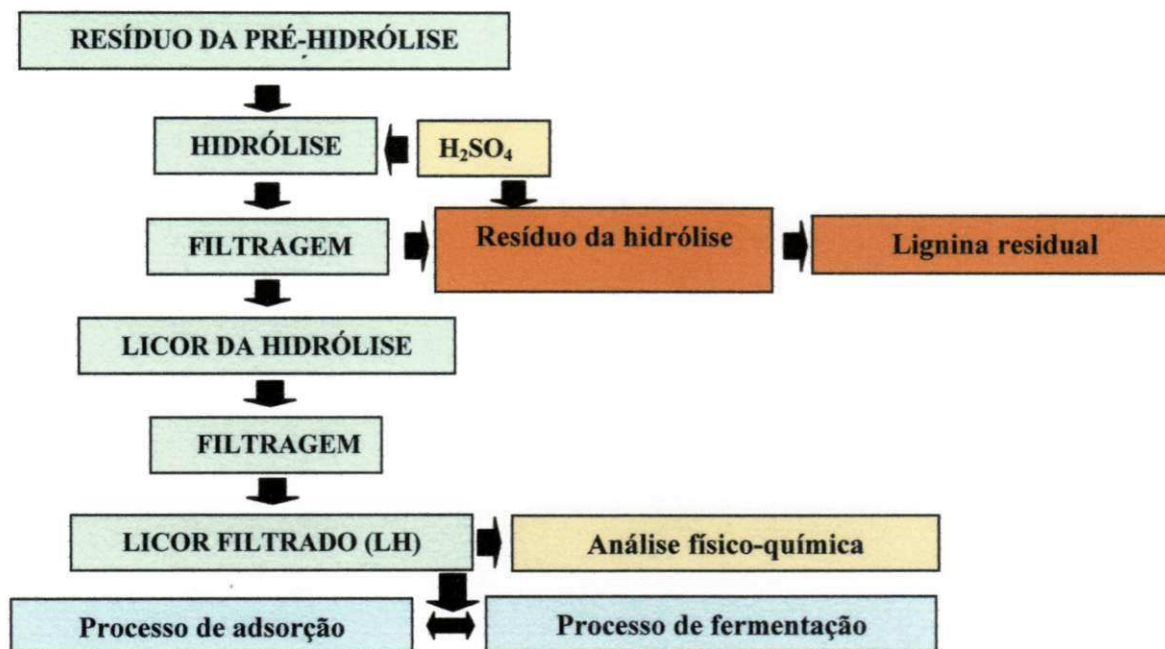


Figura 3.4 - Fluxograma do processo de obtenção do resíduo e licor da hidrólise do bagaço do pedúnculo.

3.6.3 Caracterização do resíduo do pré-hidrolisado e dos licores pré e hidrolisado

O resíduo da pré-hidrólise foi analisado quanto a sua estrutura celulósica (celulose, hemicelulose e lignina), de acordo com os métodos descritos anteriormente no item 3.3.

Os teores de açúcares foram determinados de acordo com a metodologia TP510 (NREL, 2008). As análises de açúcares foram realizadas através de cromatografia líquida, utilizando-se do HPLC, nas condições operacionais apresentadas no item 3.3.

O licor obtido na hidrólise foi analisado quanto ao pH e teores de açúcares (glicose, xilose e arabinose), de acordo com os métodos também descritos anteriormente no item 3.3. Os congêneres ácido acético, hidroximetilfurfural (HMF) e furfural, foram analisados pela adaptação do método de Bevilaqua (2010), que utilizou a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), e as condições das operações foram as seguintes: Cromatógrafo líquido equipado com uma bomba modelo ProStar 210 (Varian); Injetor manual com loop de 20 μ L; detector de índice de refração modelo ProStar 356 (Varian); (ácido acético); detector modelo

ProStar 356 (Varian) UV/ visível, comprimento de onda 284 nm (hidroximetilfurfural- HMF e furfural); Coluna analítica de aço inox Hi-Plex H (300 mm x 7,7 mm; Varian); temperatura da coluna de 40 °C; fase móvel: Ácido Sulfúrico diluído com água miliQ em uma concentração de 0,005M; vazão de 0,6 mL/min e tempo de análise de 60 min.

Soluções padrões internos de ácido acético, hidroximetilfurfural (Sigma 99,99% grau HPLC) e furfural (Sigma 99,99% grau HPLC), foram utilizados na quantificação do teor de congêneres do licor.

Para as análises dos teores de etanol no licor fermentado, foram utilizados os mesmos procedimento para os açúcares, porém com tempo de análise de 30 min. e soluções padrões internos (Vetec 99,9 UV/HPLC).

3.6.4 Análise dos dados e avaliação do modelo

Para a análise dos resultados obtidos utilizou-se o programa computacional Statistica 6.0 (STATSOFT, 1999). A partir da análise no programa computacional, foi possível obter o gráfico de Pareto, o modelo matemático codificado (regressão dos dados experimentais), validação do modelo matemático por meio da análise de variância (ANOVA), e geração dos gráficos de superfícies de resposta e curvas de nível.

O gráfico de Pareto foi utilizado para avaliar os efeitos das variáveis sobre as respostas em estudo. A ANOVA dos modelos gerados valida se o mesmo representa e prediz com precisão o processo. Os gráficos de superfícies de resposta e curvas de nível representaram graficamente o modelo matemático obtido e indicam o perfil das variáveis independentes sobre as respostas em estudo. O modelo matemático foi avaliado quanto a significância de sua regressão ao nível de 95% de confiança.

3.7 Estudo do processo de remoção de inibidores

Foi realizado o estudo do processo de adsorção dos inibidores do licor proveniente da hidrólise ácida, para retirar os prováveis inibidores para a fermentação alcoólica. Foi utilizado como adsorvente a lignina residual obtida do resíduo do processo de hidrólise ácida, utilizando o licor do experimento que maximize a concentração de glicose como solução dos adsorbatos. Esse estudo teve como objetivo avaliar a atuação desse adsorvente no processo de remoção (destoxificação) de compostos: ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural presentes no licor hidrolisado do BCS.

3.7.1 Obtenção da lignina residual (adsorvente)

A lignina residual foi obtida de acordo com metodologia da TAPPI (2010), no método Tappi T222. Pegou-se 10g do resíduo seco obtido do processo de hidrólise ácida, adicionados 50mL de H₂SO₄ (72%), em um erlenmeyer de 1000mL, adaptado com um sistema de refluxo e uma placa de aquecimento com agitação, deixando-se o ácido/resíduo sobre agitação por 2 hora, a temperatura de 40°C, após esse tempo obteve-se uma pasta negra que foi adicionada 850 mL de água destilada, reduzindo a concentração do ácido sulfúrico para 4%, elevou-se a temperatura para 105°C e foi deixada sobre agitação por 2 horas. Após essa etapa o resíduo foi filtrado através de um sistema com bomba a vácuo e papel de filtro nº 40, lavado exaustivamente, com 1000 mL água destilada para remoção do ácido excedente. Após a lavagem, o material retido no filtro foi seco em estufa a temperatura de 105 °C e denominado de lignina residual.

3.7.2 Solução dos adsorbatos

Como solução dos adsorbatos para o estudo de adsorção, utilizou-se o licor proveniente do experimento 06, que apresentou-se como melhor na obtenção de glicose, considerando apenas a máxima liberação dos açúcares (glicose), com as seguintes condições: temperatura de 200 °C, concentração de H₂SO₄ a 6,0% e razão de 1:6 (bagaço/ácido) e tempo de 60 min de reação, sendo os inibidores (HMF, furfural e ácido acético) presentes no licor os adsorbatos da solução para estudo.

3.7.3 Ensaio de adsorção dos inibidores presente no licor

O licor obtido da hidrólise ácida, teve seu pH inicial elevado com adição de NaOH 17,5%, conforme planejamento fatorial. E então submetido ao processo de adsorção conforme reportados em outros estudos (ROSSEL, 2006; PIVETTA et al., 2008). As condições operacionais foram: razão mássica 1:100 (1g da amostra/100g de do licor hidrolisado), mantendo-se a mistura sob agitação de 150 rpm a 30°C por 1hora, e filtrado a vácuo para eliminação do precipitado. Após cada ensaio dos tratamentos as amostras eram coletadas para análise de açúcares e inibidores da fermentação (congêneres).

Para os estudos de remoção de inibidores do licor, foi utilizado planejamento experimental fatorial 2^k, para verificação das influências das variáveis de entrada (massa de adsorvente, pH e tempo de adsorção) sobre a eficiência da remoção dos inibidores (HMF, furfural e ácido acético), presentes no licor.

O planejamento experimental 2^3 com 3 pontos centrais e 6 axiais, totalizando 17 experimentos, aplicado a um delineamento composto central rotacional (DCCR). Na Tabela 3.5 estão expressos os valores dos níveis codificados dos fatores estudados nos experimentos e na Tabela 3.6 a matriz do planejamento. As respostas estudadas foram concentrações de glicose, xilose, arabinose, HMF, furfural e ácido acético, em mg/L, após a destoxificação com a lignina residual em g/100 mL de licor.

Tabela 3.5 - Valores reais e níveis codificados dos fatores estudados para o planejamento fatorial para o estudo do processo de destoxificação

Variáveis	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Massa do adsorvente (g)	0,11	0,25	0,45	0,65	0,79
pH	1,92	4,0	7,0	10,0	12,05
Tempo (min)	6,36	20	40	60	73,64

Tabela 3.6 - Matriz do planejamento fatorial 2^3 com 3 pontos centrais e 6 axiais, totalizando 17 experimentos

Experimentos	Massa do adsorvente (g)	pH	Tempo (min)
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	$-\alpha$	0	0
13	$+\alpha$	0	0
14	0	$-\alpha$	0
15	0	$+\alpha$	0
16	0	0	$-\alpha$
17	0	0	$+\alpha$

Para o estudo do processo de destoxificação do licor da hidrólise do bagaço do pedúnculo de caju (BCS), foram realizadas as seguintes etapas apresentadas na Figura 3.5.

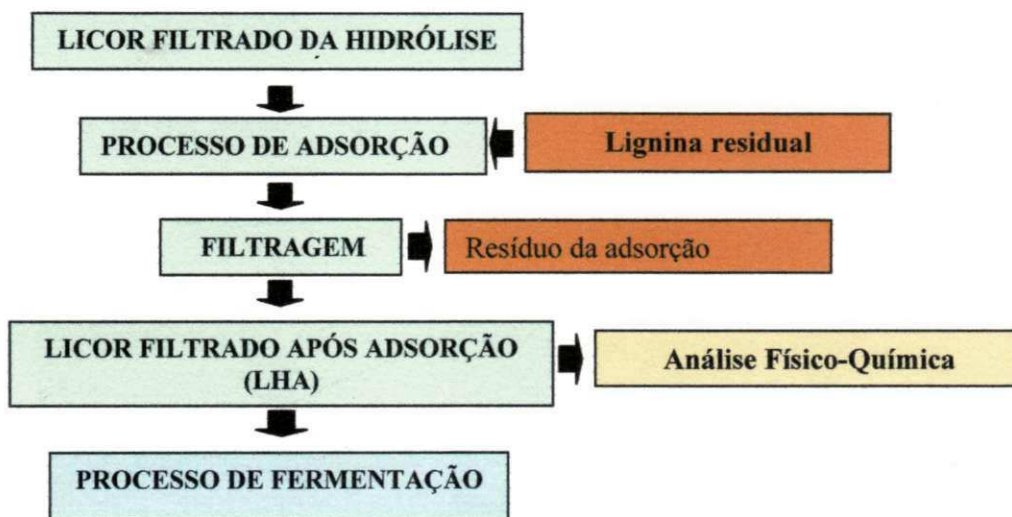


Figura 3.5 - Fluxograma do processo de adsorção de inibidores (destoxificação) do licor da hidrólise do bagaço do pedúnculo.

O experimento que apresentou maior redução dos prováveis inibidores da fermentação (congêneres) e menor redução de glicose no licor hidrolisado, foi utilizado no processo para produção de um tipo de licor destoxicado, para posterior uso no estudo de fermentação alcoólica dos licores.

3.8 Estudo da fermentação alcoólica dos hidrolisados ácidos

Foram realizados os estudos de cinética fermentativa da produção de etanol em bioreator de 0,250 L, operando em batelada simples, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* de panificação (fermento comercial de panificação, com 58% de umidade (levedura *Fleischmann*) e levedura *Saccharomyces cerevisiae* (FT858 GIASA) industrial empregada no processo de fermentação para produção de álcool etílico combustível, com 72,6% de umidade.

Para a fermentação alcoólica foram utilizados três tipos de licores (tratamentos): o licor proveniente da hidrólise ácida (LH), que apresentar os maiores valores de glicose e menores valores dos congêneres, o licor após o processo de adsorção (LHA) e o licor proveniente da hidrólise ácida com a adição de suco de caju (LHS). Aos licores foram adicionados fontes de macronutrientes (N, P, K) e micronutrientes (Mg, S, etc.), conforme descrito por Cassales (2010): $K_2S_2O_5$, 0,01 g/L; $(NH_4)_2SO_4$, 2 g/L; KH_2PO_4 , 3,5 g/L e adição de NaOH para assegurar um pH de 4,5, de forma a proporcionar condições favoráveis para o desenvolvimento do microrganismo. Para a inoculação dos licores, utilizou-se uma concentração de 10 g/L das leveduras em base úmida.



Figura 3.5 - Fluxograma do processo de adsorção de inibidores (destoxificação) do licor da hidrólise do bagaço do pedúnculo.

O experimento que apresentou maior redução dos prováveis inibidores da fermentação (congêneres) e menor redução de glicose no licor hidrolisado, foi utilizado no processo para produção de um tipo de licor destoxicado, para posterior uso no estudo de fermentação alcoólica dos licores.

3.8 Estudo da fermentação alcoólica dos hidrolisados ácidos

Foram realizados os estudos de cinética fermentativa da produção de etanol em bioreator de 0,250 L, operando em batelada simples, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* de panificação (fermento comercial de panificação, com 58% de umidade (levedura *Fleischmann*) e levedura *Saccharomyces cerevisiae* (FT858 GIASA) industrial empregada no processo de fermentação para produção de álcool etílico combustível, com 72,6% de umidade.

Para a fermentação alcoólica foram utilizados três tipos de licores (tratamentos): o licor proveniente da hidrólise ácida (LH), que apresentar os maiores valores de glicose e menores valores dos congêneres, o licor após o processo de adsorção (LHA) e o licor proveniente da hidrólise ácida com a adição de suco de caju (LHS). Aos licores foram adicionados fontes de macronutrientes (N, P, K) e micronutrientes (Mg, S, etc.), conforme descrito por Cassales (2010): $K_2S_2O_5$, 0,01 g/L; $(NH_4)_2SO_4$, 2 g/L; KH_2PO_4 , 3,5 g/L e adição de NaOH para assegurar um pH de 4,5, de forma a proporcionar condições favoráveis para o desenvolvimento do microrganismo. Para a inoculação dos licores, utilizou-se uma concentração de 10 g/L das leveduras em base úmida.

Para o processo de obtenção do fermentado alcoólico dos licores proveniente do BCS via hidrólise ácida, após processo de adsorção e licor hidrolisado mais adição de suco de caju, foram realizadas as etapas apresentadas no fluxograma da Figura 3.6.

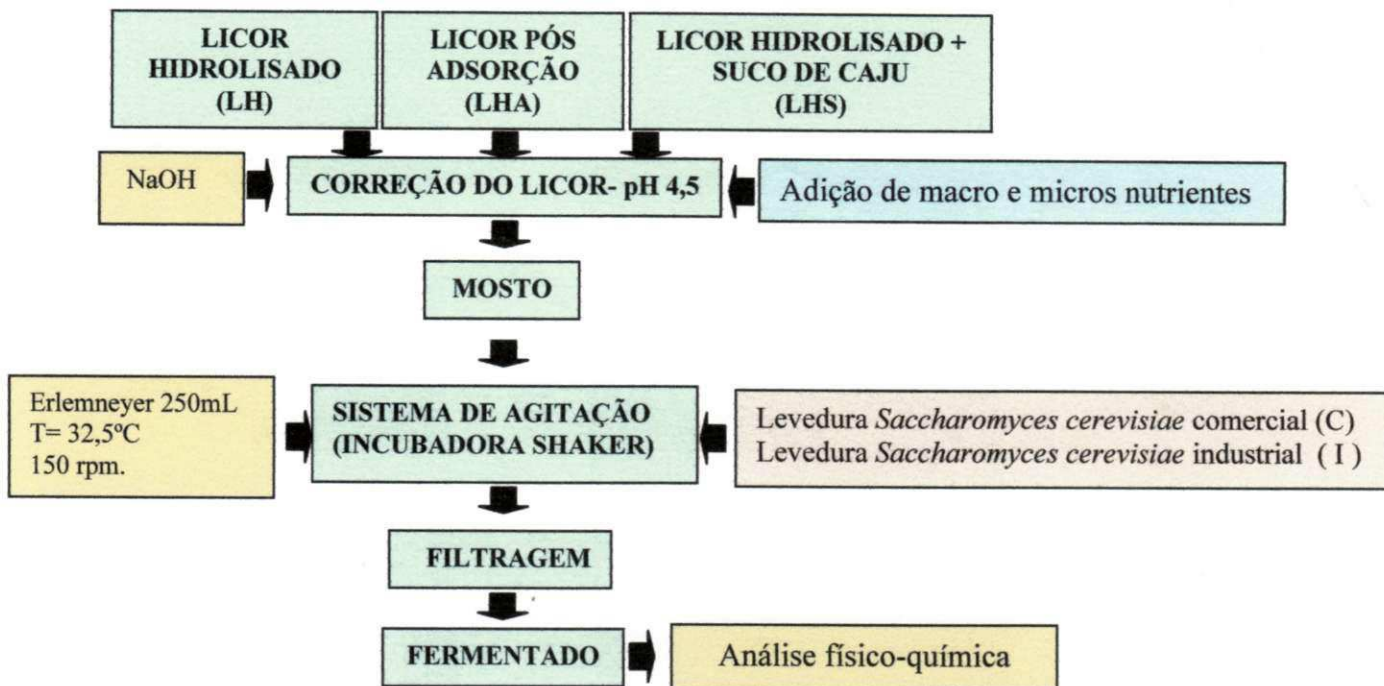


Figura 3.6 - Processo de obtenção do fermentado proveniente dos licores oriundo do BCS via hidrólise ácida, após processo de adsorção e licor hidrolisado + suco de caju.

A fermentação alcoólica foi conduzida em incubadora Shaker Marconi modelo MA-420, a temperatura de 32 °C e rotação de 150 rpm. Foram utilizados 200 mL de mosto em cada bioreator em triplicata para cada tipo de licor, e ao longo do tempo, foram coletadas alíquotas de aproximadamente 3 mL, em períodos regulares de 3, 6, 12, 24, 48, 60, 72 e 84 h, a fim de definir o perfil cinético da fermentação alcoólica.

Os produtos resultantes do processo de fermentação alcoólica foram analisados quanto ao pH, açúcares (glicose, xilose e arabinose), sólidos solúveis totais (°Brix), teor de etanol, ácido acético, rendimento do produto ($Y_{P/S}$), e eficiência do processo fermentativo (E_f).

3.8.1 Rendimento do produto $Y_{p/s}$

Os valores de rendimento teórico do produto (etanol), obtido do substrato (glicose ou glicose + frutose) obtido no processo de fermentação ácida, foram calculados de acordo com a Equação 3.2.

$$Y_{p/s} = \frac{P_f - P_0}{AT_0 - AT_f} \times 100 \tag{3.2}$$

Sendo:

P_f - concentração de etanol no tempo final de fermentação (mg /L)

P_0 - concentração de etanol no início do processo fermentativo (mg /L)

AT_0 - concentração de açúcares redutores totais, expressa em mg de glicose, no início da fermentação (mg /L)

AT_f - concentração de açúcares redutores totais, expressa em mg de glicose no tempo final de fermentação (mg /L). Definiu-se como tempo final de fermentação- t_f o tempo correspondente à máxima concentração de etanol no caldo fermentado (h).

3.8.2 Eficiência do processo fermentativo (E_f)

Os valores de rendimento em produto foram comparados ao rendimento teórico máximo obtido nas fermentações alcoólicas, igual a 51,11% (SCHELL et al., 2007), para se obter a eficiência do processo, conforme Equação 3.3.

$$E_f = \frac{Y_{p/s}}{0,511} \times 100 \quad 3.3$$

3.9 Estimativas da produção de etanol a partir do bagaço do pedúnculo de caju

Para determinação das estimativas da produção de etanol a partir do bagaço do pedúnculo de caju, para os três tipos de licores (tratamentos), utilizados nas fermentações alcoólicas pela linhagem de levedura que apresentou melhor desempenho de produção: fermentado do licor proveniente da hidrólise ácida (LH), fermentado do licor após o processo de adsorção (LHA) e o fermentado do licor proveniente da hidrólise ácida com a adição de suco de caju (LHS). Foi obtido através de um balanço de massa estequiométrico, utilizando a massa de bagaço envolvida no processo, a quantidade de glicose extraída e o teor de etanol obtido no processo fermentativo, comparando através do rendimento teórico do produto (etanol) e da eficiência do processo fermentativo. Sendo considerada, a massa molecular monômero de celulose igual a 168,16 g/mol e a massa molecular de glicose de 180,16 g/mol.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados experimentais da caracterização física, química e físico-química do bagaço do caju úmido (BCU), seco (BCS) e seco submetido a pré-tratamento ácido (BCSA). Em seguida têm-se os seguintes estudos: Cinéticas de reação de pré-hidrólise e hidrólise no reator, estudo da pré-hidrólise acida, estudo da hidrólise acida, adsorção dos inibidores do licor hidrolisado por lignina residual, estudo cinético da fermentação do hidrolisado em três tratamentos e estimativas da produção de etanol a partir do bagaço do pedúnculo de caju.

4.1 Caracterização do bagaço do caju úmido (BCU) e seco (BCS)

4.1.1 Caracterização química e físico-química do bagaço do caju úmido e seco

Na Tabela 4.1 tem-se os resultados obtidos para umidade, pH, sólidos solúveis totais, açúcares redutores, celulose, lignina, hemicelulose, extrativos e cinzas do BCU e BCS.

Tabela 4.1 - Caracterização química e físico-química do bagaço do caju úmido (BCU) e seco (BCS) a 55 °C

Parâmetros analisados	BCU	BCS
Umidade (%)	74,10 ± 0,70	8,87 ± 0,67
pH	5,43 ± 0,01	6,69 ± 0,01
Sólidos solúveis totais (°Brix)	11,23 ± 0,12	0,0
Açúcares redutores (%)	10,68 ± 0,21	0,31 ± 0,05
Glicose (%)	3,37 ± 0,20	0,11 ± 0,08
Frutose (%)	7,31 ± 0,22	0,20 ± 0,02
Açúcares redutores totais (%)	10,95 ± 0,21	0,30 ± 0,05
Sacarose (%)	0,27 ± 0,21	0,0
Acidez total titulável (% ácido cítrico)	0,50 ± 0,01	0,83 ± 0,01
Cinzas (%)	0,31 ± 0,07	2,86 ± 0,31
Celulose (%)	6,62 ± 0,09	25,60 ± 1,12
Hemicelulose (%)	3,22 ± 0,15	15,10 ± 0,89
Lignina total (%)	6,12 ± 1,01	23,70 ± 1,43
Fibras em detergente neutro – FDN (%)	ND*	64,40 ± 1,02
Fibras em detergente ácido – FDA (%)	ND*	49,30 ± 1,02
Extrativos (%)	4,63 ± 0,94	18,54 ± 1,72

* Não Determinado

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4.1, observa-se que a análise de umidade para o BCU, apresentou valor semelhante ao encontrado por Pinho et al. (2011), 75,74 %, para as amostras de bagaço de caju úmido, no estudo do aproveitamento do resíduo do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.) para alimentação humana. Porém, inferior

ao encontrado por Mesquita et al. (2003), de 77% no pedúnculo de caju integral usando para o processo de desidratação osmótica.

Para o BCS o valor da umidade ficou superior aos reportados por Pinho et al. (2011), com valor de 6,80% em pedúnculo desidratado a 60 °C, como subprodutos da indústria do suco de caju, e por Uchôa (2007) em análise de resíduo de pedúnculo de caju desidratado em estufa a vácuo a 65 °C que encontrou 6,99% de umidade.

O valor do pH no BCU foi superior ao obtido por Machado (2009) com o valor de 4,25, no estudo da secagem do pedúnculo do caju em sistemas convencional e solar por Souza Filho (1999) que foi de 4,32, verificando o aspecto da avaliação físico-química e aproveitamento industrial de diferentes clones de caju, e por Matias et al.(2005) que foi de 3,31 no uso da fibra de caju para alimentação. Para o BCS o valor do pH foi superior ao verificado por Machado (2009) que foi de 4,06 no pedúnculo de caju seco em estufa a 55 °C. , essa diferenças pode ser decorrente do grau de maturação dos frutos, safra, solos e ou espécies.

Os sólidos solúveis totais encontrados por Guerrero et al. (2008) foi de 16,46 °Brix, valor este superior ao do BCU utilizado nesta pesquisa, enquanto que Souza Filho (1999) e Brandão et al. (2003) encontraram valores inferiores, ou seja, de 10,6 e 9,8 °Brix, respectivamente. Porém, próximos aos reportados por Marques et al. (2007) 11,67 °Brix e Machado et al. (2008a) 11,74 °Brix para o pedúnculo de caju *in natura*.

O valor dos açúcares redutores do BCU encontrado neste estudo foi superior aos obtidos por Brandão et al. (2003) de 8,1% e por Souza Filho (1999) de 9,15% para o pedúnculo de caju *in natura*, porém próximo ao reportado por Machado et al. (2008b) que foi de 11,74% e por Marques et al. (2007) 10,17%.

Na análise de acidez total titulável para o pedúnculo de caju *In natura*, os autores Brandão et al. (2003), e Ferreira et al. (2004) encontraram, acidez total de 0,47 e 0,50% respectivamente, valores estes próximo ao desta pesquisa para BCU. Para o BCS o valor foi inferior ao descrito por Matias et al. (2005) que obtiveram valor de 2,68% para resíduo desidratado a 85 °C em estufa.

Para a análise de cinzas da amostra BCU, apresentou valor próximo ao reportado por Pinho et al. (2011), que foi de 0,26%, para o pedúnculo de caju *in natura*, e para o BCS o valor de cinza encontrado foi superior ao relatado por Lima et al. (2004) que foi de 2,35% e

ao encontrado por Uchoa (2007) que foi de 1,78% para resíduo do pedúnculo de caju e caju *in natura*, respectivamente.

A amostra BCS apresentou um incremento nos teores de seus componentes, exceto nos açúcares redutores e nos sólidos solúveis totais em relação ao BCU, e tal resultado se deve a perda de água durante o processo de secagem, tendo como consequência a concentração dos nutrientes em BCS. Quanto aos açúcares redutores e sólidos solúveis totais, o menor valor observado para BCS em relação ao BCU, deve-se a lavagem realizada no bagaço do caju antes de ser seco. A lavagem promove a lixiviação destes componentes para o meio externo, reduzindo assim seus valores.

Por meio da análise cromatográfica pode-se verificar os açúcares presentes e determinar a porcentagem destes presentes na amostra do BCU. Constatou-se em BCU 10,68% de açúcares redutores (AR), sendo 7,31% de frutose e 3,37% de glicose, além de 0,27% de sacarose. Estes valores são semelhantes ao reportados por Menezes (1995) ao estudar a fisiologia e tecnologia pós-colheita do pedúnculo do caju, que obteve 7,0% de glicose e 3,9% de frutose, porém em termo de sacarose o valor inferior ao reportado por Lima (2004) que apresentou valor de 0,48% para o mesmo produto.

Na Figura 4.1 encontram-se os aspectos dos resíduos dos bagaços do caju úmido (BCU) e seco (BCS), respectivamente.

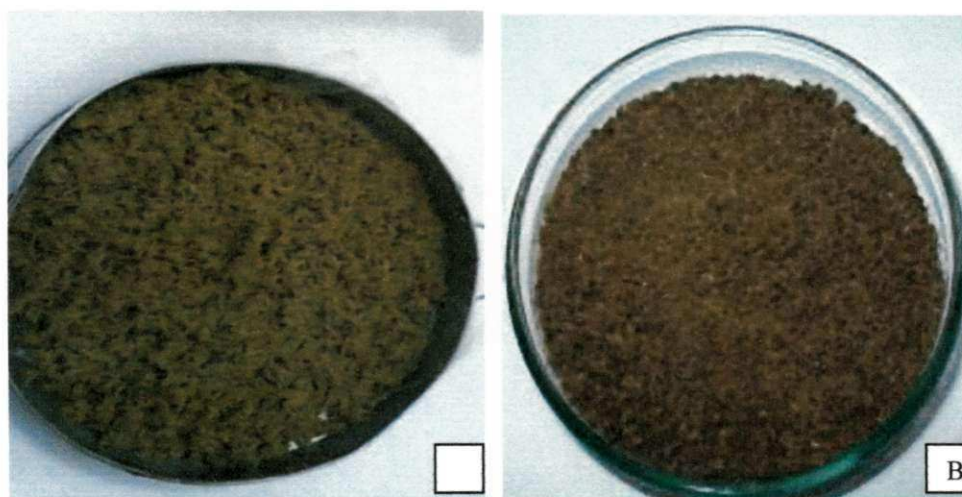


Figura 4.1 - Resíduos do pedúnculo do caju úmido (A) e seco (B).

Verifica-se que os valores de celulose, hemicelulose e lignina encontrados para o bagaço do caju seco (BCS) foram superiores aos encontrados por Torres Neto (2010) ao estudar a hidrólise ácida da palma forrageira seca a 55 °C em estufa de circulação de ar, onde

foi reportado 20,39% de celulose, 4,77% de lignina e 5,93% de hemicelulose. Em termos de celulose o bagaço do pedúnculo de caju (BCS), apresentou valor próximo ao reportado por Ribeiro (2008) que foi de 26,94% para o resíduo do pedúnculo do caju seco, que também verificou em outros resíduos agrícolas tais como a casca de maracujá e melão 25,21 e 30,42% de celulose respectivamente.

Os resultados de celulose, hemicelulose e lignina, expresso em termos de fibras em detergente neutro (FDN) e fibras em detergente ácido (FDA) obtidos neste estudo que foi de 64,4% de FDN e 49,30% de FDA, ficaram baixos em comparação com o trabalho realizado com resíduo de pedúnculo de caju desidratado, por Ferreira et al. (2007), com 72,2% de FDN e 56,5% de FDA, porém superiores quando comparados com Pinho et al. (2011) no aproveitamento do resíduo do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.) para alimentação humana que foi de 54,07% de FDN e 24,73% de FDA, essa diferenças podem ser devido as variedades dos frutos, safra, época, tipo de solo e clima.

Foi verificado que o teor de extrativos no BCS, cerca de 18,54%, foi superior ao de outros materiais lignocelulósicos, tais como bagaço de cana-de-açúcar 9,38% (CANILHA et al., 2010), cladódios da palma forrageira 7,29% (Prado, 2010), casca de arroz 6,1 %, palha de trigo 9,8%, (SILVA, 1997) e palha de cana de açúcar *in natura* que foi de 5,9% (SILVA, 2009). No entanto inferior a palha de milho 28,53% (SALAZAR et al., 2005). O elevado teor de extrativos observado no BCS pode ser associado ao teor de taninos, óleos essenciais, pectinas, resinas, proteínas, fenólicos e açúcares simples presentes no material. Os extrativos são compostos intermediários do metabolismo do vegetal, estes proporcionam reserva energética e proteção ao vegetal contra o ataque de microrganismos e insetos, porém têm um efeito inibitório nos processos de conversão de biomassa (FENGEL e WEGENER, 1989).

4.1.2 Análise granulométrica do bagaço pedúnculo do caju seco

Constam na Figura 4.2 os resultados da distribuição granulométrica do bagaço do pedúnculo de caju seco (BCS) em estufa de circulação de ar, observa-se, de acordo com os dados apresentados que 92,13% das partículas da massa do bagaço possuem tamanho entre 14 e 35 mesh, o que corresponde a valores de diâmetro entre 1,42 e 0,51 mm, e os finos (< 0,125 mm) representam 0,18% da amostra.

Estudos realizados sobre granulometria por Sousa et al. (2010) e Botella et al. (2007), com resíduo seco da casca e albedo do maracujá amarelo, para a produção de pectinases e xilanases, foram constatados que 49% das partículas possuem tamanho entre 24 e 35 mesh.

Santos (2007), estudando a produção de pectinases por fermentação em estado sólido utilizando pedúnculo de caju como substrato, com os mesmos equipamentos e procedimentos deste estudo, observou nos resíduos secos que a granulometria apresentava cerca de 70% de partículas com Tyler de 20-35 o que corresponde a dimensões entre 0,42- 0,84 mm, os quais são inferiores ao reportado neste trabalho.

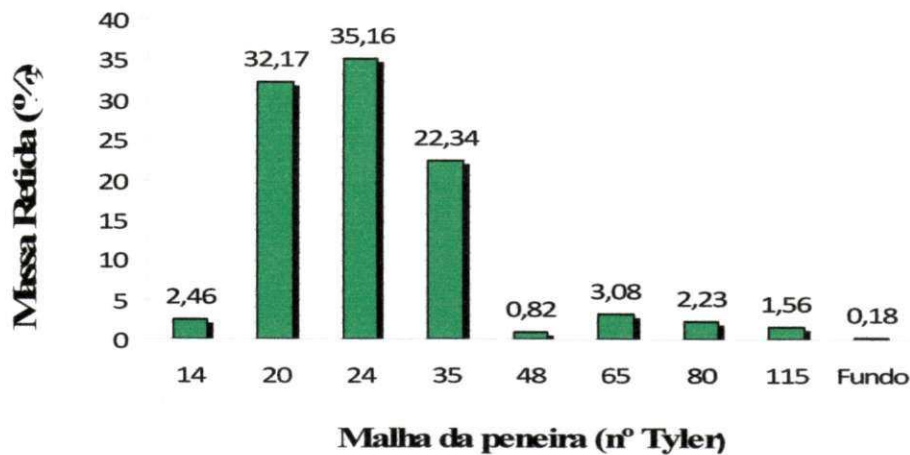


Figura 4.2 - Análise da distribuição granulométrica do bagaço de caju.

O propósito da análise granulométrica é definir que granulometria do bagaço do pedúnculo de caju será usada nos processos de pré-hidrolise e hidrolise.

Em escala industrial, pré-tratamentos físicos como moagem e irradiação se tornam inviáveis pelo seu alto custo (SUN; CHENG, 2002). No entanto a moagem permite o aumento da susceptibilidade da celulose à hidrolise pela redução de tamanho das partículas do material e redução do grau de cristalinidade do lignocelulósico (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). Para aumentar o rendimento e a eficiência dos processos de hidrolise e fermentação alcoólica, e baixar os custos de produção, a escolha de uma granulometria que favoreça tais fatores são de grande importância econômica, uma vez que quanto menor o tamanho das partículas maior o custo para serem obtidas (ALVIRA et al., 2010).

Foi o bagaço obtido na peneira de malha 48 mesh selecionado para os estudos da pré-hidrólise e hidrólise ácida, porque apresentou maior relação entre concentração de açúcares fermentescíveis (hexoses) e concentração de pentoses, as quais são consideradas propulso da inibição das leveduras na fermentação alcoólica e afetar rendimentos do etanol, devendo assim ser removidos ou suavizados (LEE *et al.*, 1996; Palmqvist e Hahn-Hagerdal, 2000). Tal estudo para verificação da influência do tamanho da partícula na liberação dos açúcares fermentescíveis, nos processos de pré-hidrólise e hidrólise ácida, foi obtido em estudos

preliminares deste trabalho (Efeito da granulometria no processo de hidrólise), apresentado no apêndice II.

4.1.3 Caracterização do bagaço do caju após o pré-tratamento ácido

A caracterização do bagaço do caju seco obtido após pré-tratamento ácido (BCSA), visa analisar sua composição com relação ao conteúdo de material extraído no pré-tratamento ácido, e posterior comparação com o bagaço hidrolisado. A Tabela 4.2 apresenta os valores encontrados para umidade, pH, sólidos solúveis totais, celulose, hemicelulose e lignina total.

Tabela 4.2 - Caracterização físico-química do bagaço em base seca, após o pré-tratamento ácido

Parâmetros	Bagaço pré-tratado
Umidade (%)	14,51
pH	1,77
Sólidos Solúveis totais (° Brix)	0,10
Celulose (%)	52,84
Lignina total (%)	32,21
Hemicelulose (%)	11,30

A composição dos constituintes químicos do material obtido após o pré-tratamento ácido demonstra um aumento no teor de celulose de 25,60% para 52,84%, e uma redução no teor de hemicelulose, de 15,10% para 11,30%, que está associada à retirada de pentoses (xilose e arabinose) do bagaço de caju.

Houve também um aumento no teor da lignina de 23,70 para 32,21%, comportamento similar aos reportados por Fugita (2010), quando no estudo do desempenho de leveduras que metabolizam xilose para produção de etanol em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana, nas condições de razão de 1:5, concentração de ácido 1%, temperatura de 150 °C e tempo de 30 min., com valores elevando-se de 9,36 para 13,90% e por Christofolletti (2010), no estudo dos efeitos de etapas de pré-tratamento na hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar com valores aumentando de 21,92 para 23,95%, no caso de fibra pré-hidrolizada. Este fato pode ser atribuído, considerando-se que essa macromolécula confere resistência mecânica às paredes celulares, quando comparadas com a hemicelulose (RABELO et al., 2008).

A comparação entre a composição química, expressa em base seca do bagaço do caju seco obtido após pré-tratamento ácido, com outros resíduos lignocelulósicos agroindustriais utilizados para a bioconversão a bioetanol, avaliados na literatura, encontra-se na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 - Comparação entre a composição química do bagaço do caju pré-tratado utilizada neste trabalho com outros resíduos lignocelulósicos pré-tratados descritas na literatura para a mesma finalidade

Resíduo Lignocelulósico	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Referência
Bagaço de caju	52,84	11,30	32,21	Este trabalho
Bagaço da cana-de-açúcar	58,64	6,86	22,96	Christofoletti (2010)
Pseudocaule de bananeira	55,80	12,0	27,10	Silva (2009a)
Palha de cana-de-açúcar	51,90	17,0	29,00	Silva (2009b)

Conforme pode ser observado na Tabela 4.3, o bagaço do caju comparado aos outros resíduos descritos na literatura é um resíduo bastante promissor para bioconversão a produtos de alto valor agregado. Quando se compara a composição do bagaço de caju utilizado neste trabalho com os descritos na literatura (Tabela 4.3), pode-se observar que a quantidade de celulose foi semelhante aos demais produtos. Já para lignina total, observa-se maior variação, verificando-se a maior diferença de aproximadamente 9%, entre o bagaço do presente estudo e o bagaço de cana-de-açúcar. As diferenças entre a quantidade dos componentes dos materiais lignocelulósicos avaliados estão associadas à origem dos mesmos, tendo como consequência as diferenças nos constituintes dos materiais.

4.2 Cinéticas de reação de pré-hidrólise e hidrólise no reator

As pesquisas anteriores têm empregado freqüentemente reatores de batelada em investigações de cinéticas de hidrólise ácida de materiais lignocelulósicos. Baseado na cinética de uma simples reação em cadeia: celulose → glicose → produtos de degradação, os perfis calculados refletem o fato que o rendimento máximo de açúcar aumenta com a temperatura para uma dada concentração de ácido. Portanto, é aceito que uma investigação da formação dos produtos obtidos durante o tempo de reação de pré-hidrólise e hidrólise no reator, provendo um meio mais sensível para estudar a cinética de reação do que a taxa de perda de massa com a liberação de açúcares na solução ácida (licor) (LIN et al., 1992).

4.2.1 Cinéticas de reação de pré-hidrólise no reator

Um estudo cinético foi realizado para determinar os fatores que afetam a velocidade de reação da pré-hidrólise do bagaço do pedúnculo de caju. Este material foi pré-hidrolisado em solução aquosa de ácido sulfúrico com diferentes concentrações, razão sólido-líquido e temperaturas distintas.

A Figura 4.3 apresenta a cinética da pré-hidrólise, obtida com uma solução de 3% de H_2SO_4 , razão de massa/ácido de 1:10 e temperatura de 105 °C, a qual indica uma elevação nos valores dos açúcares extraídos até o tempo de 90 minutos e posterior redução na concentração destes após este tempo.

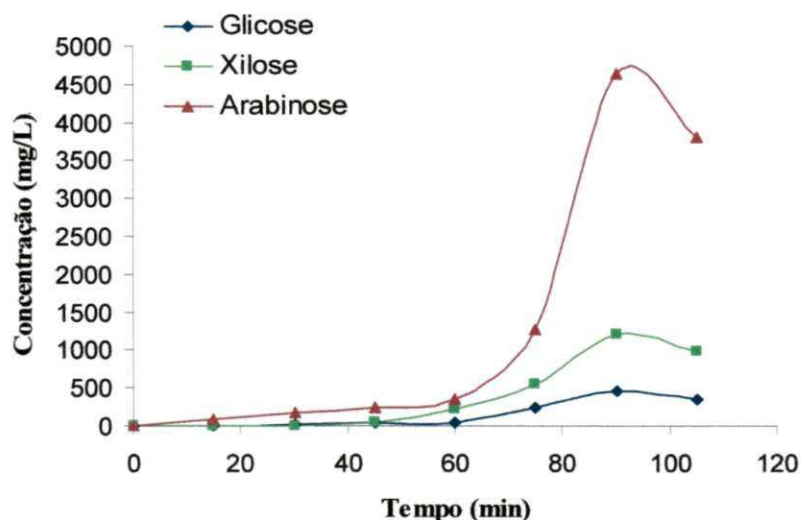


Figura 4.3 – Perfis das concentrações dos açúcares extraídos no processo de pré-hidrólise em função do tempo, na temperatura de 105 °C.

Observa-se na Figura 4.4 uma tendência na elevação dos congêneres (inibidores), ácido acético, hidroximetilfurfural (HMF) e furfural, obtidos no processo de pré-hidrólise em função do tempo, e que este aumento ocorre com maiores velocidades após os 75 minutos de reação no reator e que a partir dos 90 minutos observa-se uma redução dos açúcares (Figura 4.3), mas os congêneres continuaram aumentando, e no tempo de 105 min os compostos ácido acético, hidroximetilfurfural (HMF) e furfural obtiveram acréscimos de concentração de 98,84; 52,17 e 15,65% respectivamente, enquanto que os açúcares glicose, xilose e arabinose tiveram uma redução de suas concentrações no licor de 23,77; 17,61 e 18,13% respectivamente, para o tempo de 90 minutos.

Na Figura 4.4 as concentrações dos congêneres: ácido acético, hidroximetilfurfural (HMF) e furfural, obtidos no processo de pré-hidrólise em função do tempo, encontram-se apresentados.

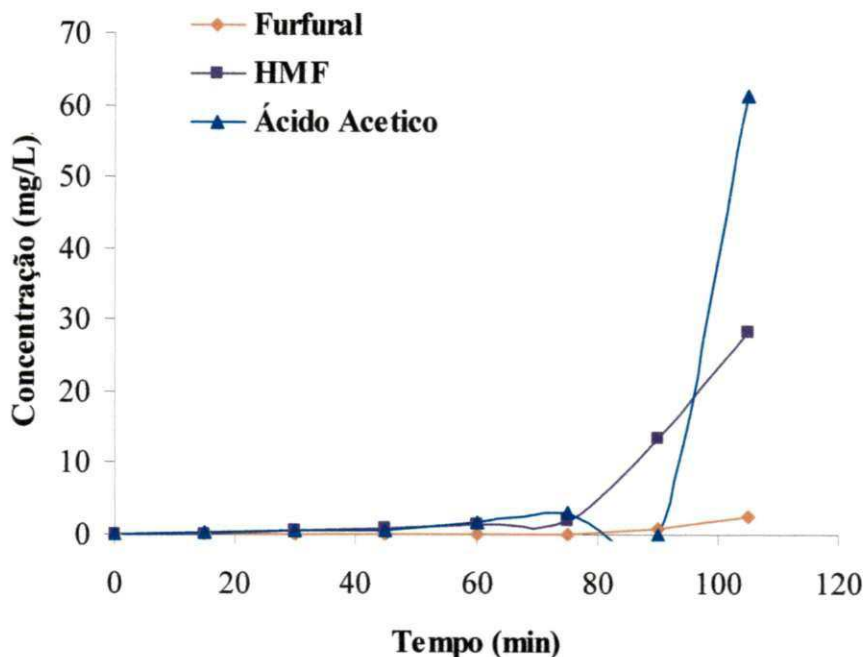


Figura 4.4 - Perfis das concentrações dos congêneres: ácido acético, hidroximetilfurfural (HMF) e furfural, extraídos no processo de pré-hidrólise em função do tempo na temperatura de 105 °C.

Com base nos valores de açúcares e congêneres extraídos do bagaço do pedúnculo de caju definiu-se que o período de tempo estabelecido na pré-hidrólise no reator compreenderá entre 75 e 105 minutos, sendo fixado o tempo de 90 minutos, pois após este tempo ocorre a redução dos açúcares com aumento dos inibidores no licor.

4.2.2 Cinéticas de reação de hidrólise no reator

O estudo cinético foi realizado para determinar a faixa de tempo que melhor representa a reação de hidrólise do bagaço do pedúnculo de caju para a obtenção dos açúcares fermentescíveis para produção de etanol. Este material foi hidrolisado em solução aquosa de ácido sulfúrico nas concentrações, razão sólido-líquido, em temperaturas distintas.

Nas Figuras 4.5, 4.6 e 4.7 encontram-se os gráficos que relacionam a concentração dos açúcares e congêneres obtidos no processo de hidrólise em função do tempo para uma solução de H_2SO_4 a 4 % com razão de massa/ácido de 1:10 e temperaturas de 140, 160 e 180 °C, respectivamente.

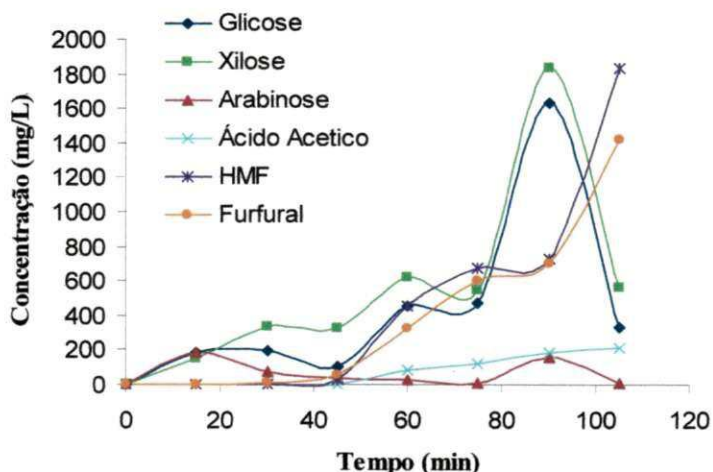


Figura 4.5 – Perfis das concentrações dos açúcares e congêneres extraídos no processo de hidrólise a temperatura de 140 °C em função do tempo.

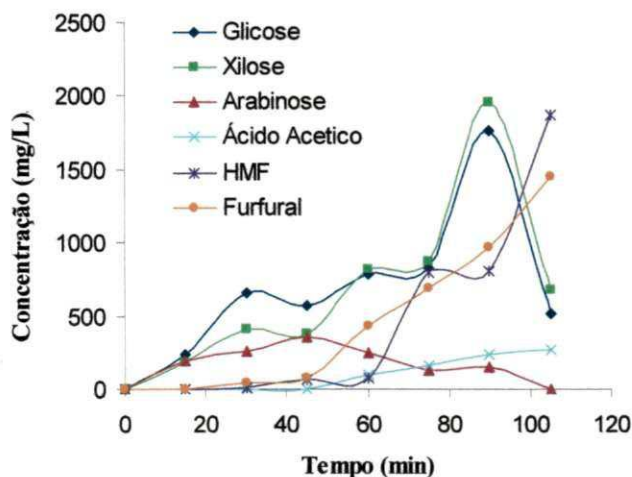


Figura 4.6 - Perfis das concentrações dos açúcares e congêneres extraídos no processo de hidrólise a temperatura de 160 °C em função do tempo.

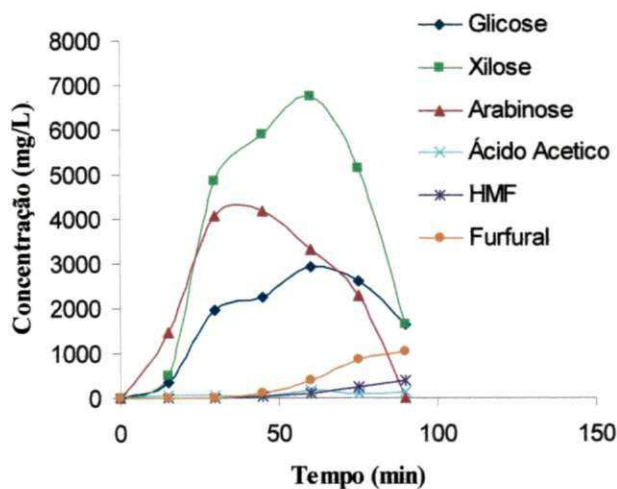


Figura 4.7 - Perfis das concentrações dos açúcares e congêneres extraídos no processo de hidrólise a temperatura de 180 °C em função do tempo.

São observados nas Figuras 4.5, 4.6 e 4.7, ao longo da cinética de hidrólise ácida, que a evolução dos congêneres (inibidores) e redução dos açúcares inicia no tempo de 90 ± 15 min, 90 ± 15 min, 60 ± 15 min, para as temperaturas de 140, 160 e 180 °C, respectivamente. Nota-se que existe um aumento dos congêneres ácido acético, hidroximetilfurfural (HMF) e furfural, obtidos no processo de hidrólise em função do tempo, e que este aumento ocorre com maiores velocidade após os 60 minutos de reação no reator e que a partir de 90 minutos este aumento torna-se mais acentuado, verifica-se que ocorre redução dos açúcares principalmente a partir de 90 min.

Encontram-se nas Figuras 4.8, 4.9 e 4.10 a comparação da concentração dos açúcares glicose, xilose e arabinose obtidos no processo de hidrólise em função do tempo para a concentração da solução de H_2SO_4 a 4%, com razão de massa/ácido de 1:10 e temperaturas de 140, 160 e 180 °C, respectivamente.

Analisando as referidas figuras, verifica-se que o aumento da temperatura exerce maior efeito sobre a extração dos açúcares xilose, arabinose e glicose respectivamente. Contudo o tempo mostrou-se um parâmetro significativo. Neureiter et al. (2002), estudando a hidrólise ácida de bagaço de cana, encontraram como parâmetros significativos a concentração do ácido, a temperatura e o tempo.

Pessoa Jr. et al. (1997), estudando também a hidrólise ácida de hemicelulose a partir do bagaço de cana como função da temperatura, tempo de reação e concentração do ácido sulfúrico, encontraram como melhor extração de 83,3% de xilose em 140 °C por 20 minutos com 100 mg ac/g ms (relação ácido / matéria seca de bagaço).

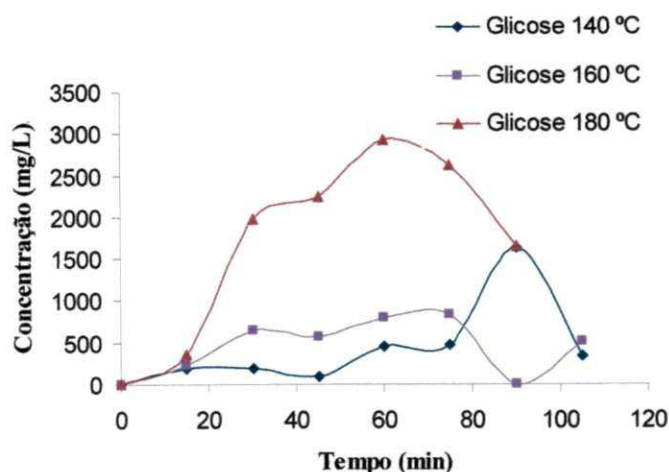


Figura 4.8 - Perfis das concentrações de glicose extraída no processo de hidrólise em função do tempo nas temperaturas de 140, 160 e 180 °C.

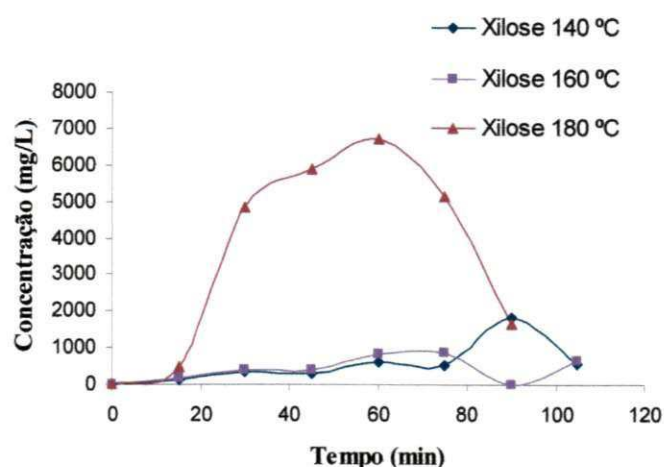


Figura 4.9 - Perfis das concentrações de xilose extraído no processo de hidrólise em função do tempo nas temperaturas de 140, 160 e 180 °C.

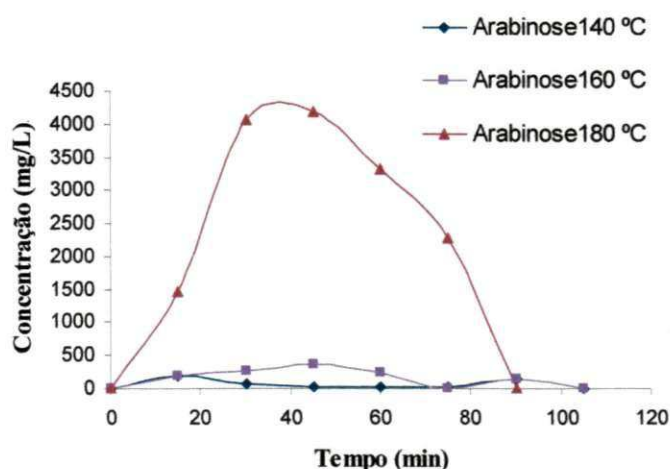


Figura 4.10 - Perfis das concentrações de arabinose extraído no processo de hidrólise em função do tempo nas temperaturas de 140, 160 e 180 °C.

Nas Figuras 4.11, 4.12 e 4.13 são apresentados os perfis que relacionam as concentrações dos congêneres: ácido acético, hidroximetilfurfural (HMF) e furfural, extraídos no processo de hidrólise em função do tempo para a concentração de H_2SO_4 4%, com razão de massa/ácido de 8:1 e temperaturas de 140, 160 e 180 °C, respectivamente.

Observa-se ainda que os congêneres (ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural) aumentam com a elevação da temperatura e do tempo. Estes compostos por sua vez são considerados tóxicos à levedura, no processo fermentativo, principalmente em função de suas concentrações no meio (FELIPE et al., 1997; ALVES et al., 1998; SENE et al., 2001; GURGEL, 2010).

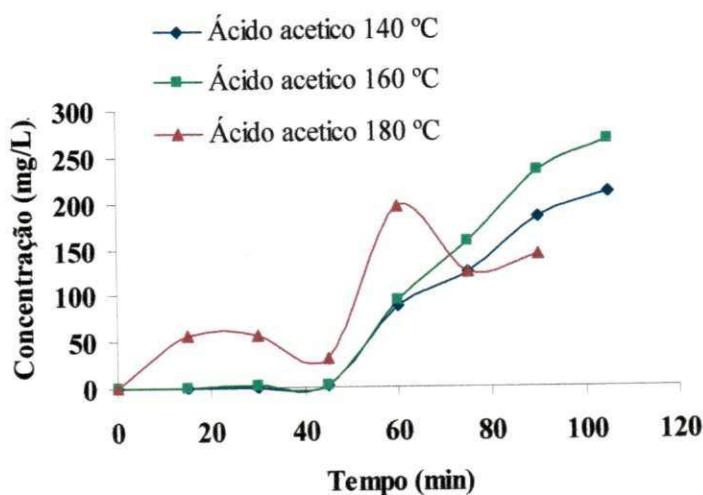


Figura 4.11 - Concentração de ácido Acético extraídos no processo de hidrólise em função do tempo nas temperaturas de 140, 160 e 180 °C.

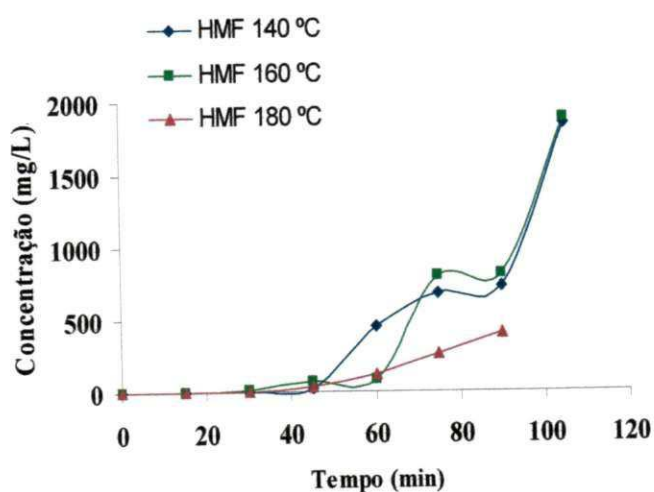


Figura 4.12 - Concentração de hidroximetilfurfural (HMF) extraídos no processo de hidrólise em função do tempo nas temperaturas de 140, 160 e 180 °C.

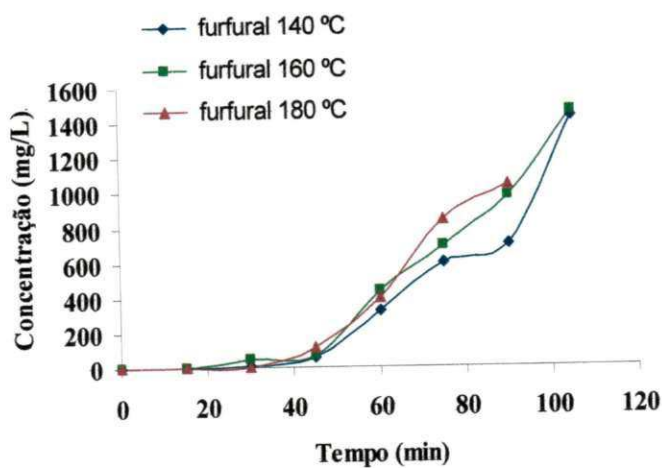


Figura 4.13 - Concentração de furfural, extraídos no processo de hidrólise em função do tempo nas temperaturas de 140, 160 e 180 °C.

Nota-se maior concentração do furfural seguido de hidroximetilfurfural e ácido acético, semelhante ao encontrado em hidrolisados de outros resíduos como cavacos de eucalipto (FELIPE et al., 1996), bagaço de cana-de-açúcar (RODRIGUES et al., 2001) e palha de trigo (CANILHA et al., 2003). Com base nos valores de açúcares e congêneres obtidos do bagaço do pedúnculo de caju definiu-se que o período de tempo estabelecido na hidrólise no reator compreenderá entre 60 e 75 min, sendo fixado o tempo de 60 min, pois após este tempo observa-se a redução dos açúcares com aumento acentuado dos inibidores no licor.

4.3 Estudo da influência das variáveis independentes sobre a pré-hidrólise ácida

Neste estudo, utilizou-se a metodologia de planejamento fatorial tendo como objetivo encontrar as influências das variáveis independentes estudadas sobre o processo de pré-hidrólise ácida no tempo de reação de 90 min.

Na Tabela 4.8 os resultados obtidos a partir do planejamento experimental 2^3 do processo de pré-hidrólise ácida encontram-se apresentados.

No experimento 4 da Tabela 4.4, nota-se, que são os níveis que maximizam a soma de xilose e arabinose, apresentando valor de 10655,36 mg/L, entretanto, é perceptível que também houve uma parcela significativa de glicose retirada no pré-tratamento, cerca de 1906,09 mg/L. Michel (2007) ao estudar a hidrólise ácida da casca de soja, observou obtidos de 6140 e 5150 mg/L de arabinose e xilose, respectivamente e esses valores são próximos aos obtidos neste estudo.

Os valores obtidos no experimento 13, apresentou a maiores extrações de arabinose, este valor é próximo ao reportado por Baracho et al. (2009), cerca de 7848,16 mg/L, ao estudarem o processo de hidrólise ácida utilizando-se da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) nas condições de concentração de ácido sulfúrico 5%, temperatura de 120 °C e razão massa/ácido de 1:8.

Cassales (2010), Canilha et al. (2005) e Canettieri et al. (2002), ao estudarem a hidrólise ácida de casca de soja, palha de trigo e cavacos de eucalipto, respectivamente, reportam que seus hidrolisados apresentam maiores teores de xilose, com menores de arabinose. Tal comportamento indica que cada material lignocelulósico se comporta de forma distinta na extração das pentoses, este fato pode ser decorrente dos materiais por possuírem morfologias diferentes.

Tabela 4.4 – Matriz de planejamento experimental com as variáveis de entrada e de saída obtidos no processo de pré-hidrólise do bagaço de caju para o tempo de 90 min

Experimento n°	Conc. (%)	Razão (m/v)	Temp. (°C)	Glicose (mg/L)	Xilose (mg/L)	Arabinose (mg/L)	Pentoses (X+A) (mg/L)
1	1	8	90	397,16	493,54	329,92	823,46
2	1	8	120	406,37	845,84	4066,94	4912,78
3	5	8	90	172,89	608,07	4037,86	4645,93
4	5	8	120	1906,09	4758,5	5896,86	10655,36
5	1	12	90	102,12	108,13	177,44	285,57
6	1	12	120	135,41	666,57	2453,49	3120,06
7	5	12	90	95,19	343,27	2337,12	2680,39
8	5	12	120	1238,75	2921,51	4000,7	6922,21
9	3	10	80	2,44	92,35	915,6	1007,95
10	3	10	130	1416,95	3466,7	4482,11	7948,81
11	0	10	105	3,85	36,16	6,68	42,84
12	6	10	105	643,22	1896,75	4379,07	6275,82
13	3	6	105	751,13	1822,09	7741,65	9563,74
14	3	14	105	240,2	707,09	3188,78	3895,87
15	3	10	105	154,9	577,5	3970,88	4548,38
16	3	10	105	129,19	478,25	3694,67	4172,92
17	3	10	105	160,62	723,58	4266,45	4990,03
18	3	10	105	191,63	752,8	4254,98	5007,78
19	3	10	105	219,69	950,95	4770,59	5721,54

A análise dos efeitos das variáveis independentes sobre o percentual de pentoses e glicose, representadas pelo diagrama de Pareto, encontra-se apresentada, respectivamente, nas Figuras 4.14 e 4.15.

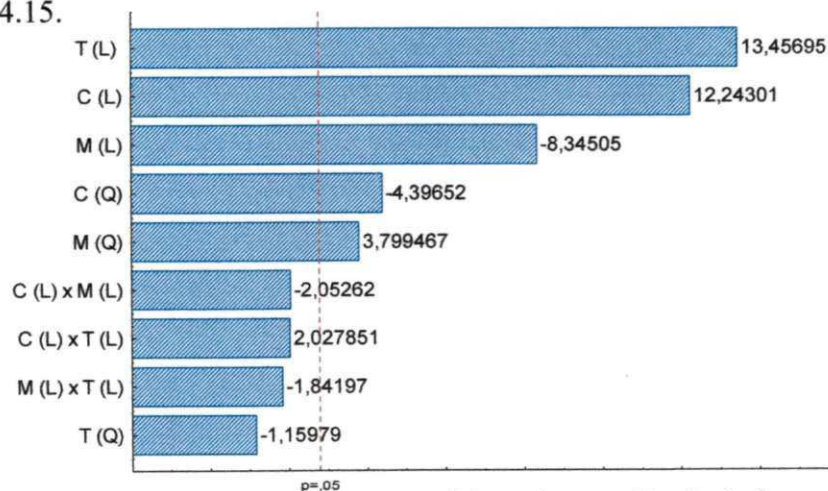


Figura 4.14 – Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a pentoses (xilose + arabinose), na pré-hidrólise ácida.

Os resultados constantes na Figura 4.14 indicam, em ordem decrescente, que as variáveis temperatura linear (T), concentração do ácido sulfúrico linear (C), razão massa/ácido linear (M), concentração do ácido sulfúrico quadrático (C) e razão massa/ácido quadrática (M) são significativas ao nível de 95% de confiança. A maior influência sobre o processo foi da variável temperatura, indicando que ao se elevar a temperatura de 80 para 130 °C, a quantidade de pentose será elevada.

Observando o efeito das variáveis independentes sobre a glicose na pré-hidrólise ácida (Figura 4.15), verifica-se que, também, a temperatura foi a variável de maior influência.

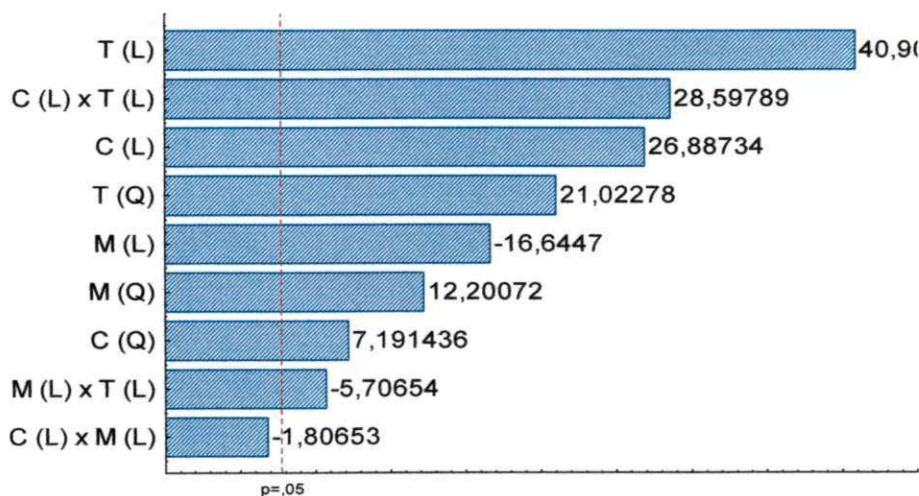


Figura 4.15 – Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a glicose na pré-hidrólise ácida.

Para as respostas de glicose, xilose, arabinose e a soma de arabinose e xilose, que são as pentoses, o modelo de 1ª ordem não representa com precisão o comportamento dos dados experimentais, uma vez que os coeficientes de determinação (R^2) dos modelos da regressão linear foram inferiores a 85,0%, para as respostas glicose, xilose, arabinose e pentoses (xilose e arabinose).

Com a análise destes resultados um modelo, de regressão não linear dos dados experimentais, de 2ª ordem foi utilizado para representar o comportamento dos resultados experimentais, portanto, os modelos para concentração (mg/L) de glicose (G) e pentoses (P) na pré-hidrólise ácida do bagaço do pedúnculo de caju encontram-se apresentados, respectivamente, nas Equações 4.1 e 4.2.

$$G = 196,75 + 266,47.C + 81,56.C^2 - 145,81.M + 85,66.M^2 + 389,27.T + 203,05.T^2 + 354,28.C.T. - 70,69.M.T \quad (4.1)$$

$$P (A + X) = 4894,14 + 4928,92. C - 825,58. C^2 - 1210,32. M + 441,66. M^2 + 2120,40. T \quad (4.2)$$

Os coeficientes apresentados nas regressões são estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança e T, C e M, representam à temperatura, concentração do ácido e razão massa seca do bagaço/ácido, respectivamente.

Os coeficientes de determinação (R^2) dos modelos da regressão foram 98,13 e 98,51% para as respostas glicose e pentoses (xilose e arabinose) respectivamente. Observando-se as equações 4.1 e 4.2, pode-se verificar que, nos dois modelos, a média, concentração, temperatura e razão apresentaram coeficientes estatisticamente significativos. E que as interações não foram estatisticamente significativas nas pentoses, e que na glicose as interações de temperatura com concentração de ácido e temperatura com razão massa seca do bagaço/ácido foram estatisticamente significativas.

Como este planejamento fatorial teve a finalidade de verificar a influência das variáveis temperatura, concentração de ácido e razão no pré-tratamento do bagaço do caju, buscando maximizar a concentração de pentoses no licor tratado (será estudo de utilização como matéria-prima na produção de xilitol e etanol, usando leveduras, em estudo posterior) e mínima quantidade de glicose, reduzindo desta forma as pentoses e aumentando a glicose no bagaço residual, para, em etapas posteriores neste trabalho, hidrolisar este sólido para quebra da celulose em glicose e posterior fermentação alcoólica do licor hidrolisado, apenas as respostas soma de pentoses e glicose foram analisadas estatisticamente para estudo.

Visando avaliar a adequação destes modelos aos resultados experimentais obtidos realizou-se uma análise de variância (ANOVA), as quais se encontram apresentadas nas Tabelas 4.5 e 4.6, para os modelos resposta das pentoses (arabinose + xilose) e glicose, com intervalo de confiança de 95%.

Tabela 4.5 - ANOVA para as respostas das pentoses (arabinose + xilose) na pré- hidrólise

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	Teste F_{calc}	F_{tab} (9,9)	F_{calc} / F_{tab}	R^2
Regressão	150592183	9	16732465	68,232	3,179	21,463	98,6
Resíduo	2207035	9	245226,1				
Falta de ajuste	860807	5	172161,5	0,5115	6,256	0,0817	
Erro Puro	1346227	4	336556,8				
Total	152799217	18					

Através dos dados da Tabela 4.5, verifica-se que o modelo é estatisticamente significativo, ao nível de 95% de confiança, uma vez que a razão de F_{calc} / F_{tab} é igual a 21,463, e segundo Rodrigues & Iemma (2009) uma regressão, mesmo estatisticamente significativa

conforme teste F, pode não ser útil para realizar previsões de dados experimentais, por cobrir uma faixa de variação pequena dos fatores estudados. Então foi sugerido por Box et al. (1978) que para que uma regressão seja preditiva e estatisticamente significativa, o valor de F_{cal} deve ser superior, no mínimo, ao valor de F_{tab} , cerca de 4 a 5 vezes. Portanto, conforme análise dos resultados constantes na Tabela 4.5, verificou-se que a razão entre F_{cal} e F_{tab} foi 21 vezes superior e a razão da falta de ajuste inferior a 1, satisfazendo assim esse critério. Logo, o modelo de pentoses é significativo e preditivo.

A Tabela 4.6 apresenta a ANOVA da resposta da glicose, com intervalo de confiança de 95%, e verifica-se através dos dados que o modelo é estatisticamente significativo, pois a razão de F_{cal}/F_{tab} é igual a 17,029. Verifica-se ainda que a falta de ajuste foi significativo, porém, com base nos valores da razão F_{cal}/F_{tab} e no valor de R^2 pode-se afirmar que é estatisticamente significativo sem ser preditivo, ou seja, o modelo pode ser utilizado para fins de estudo de tendência.

Tabela 4.6 - ANOVA para as respostas da glicose na pré- hidrólise

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	Teste F_{calc}	F_{tab} (9,9)	F_{cal}/F_{tab}	R^2
Regressão	5118851	9	568761,2	54,1371	3,179	17,029	98,13
Resíduo	94553	9	10505,93				
Falta de ajuste	89642	5	17928,45	14,6023	6,256	2,334	
Erro Puro	4911	4	1227,783				
Total	5213405	18					

A Figura 4.16 apresenta a superfície de resposta da influência da razão e da concentração sobre as pentoses (arabinose e xilose) no licor pré-hidrolisado fixando-se a temperatura em 120 °C.

Observando-se a Figura 4.16, pode-se verificar que o maior valor das pentoses fica em, 12000 mg/L, operando-se o pré-tratamento na temperatura no nível +1 (120 °C) e razão no nível menor (-1), 1:8, com concentração de ácido de 5%, confirmando o maior valor observado na Tabela 4.4 (Experimento 4), que são os níveis que maximizam a soma de xilose e arabinose, apresentando valor de 10655,36 mg/L.

Por esses motivos é mais viável o experimento 13, que houve uma obtenção de 9563,74 mg/L de pentoses e apenas 751,13 mg/L de glicose, tal experimento realizado com as seguintes condições: temperatura de 105 °C, concentração de ácido igual a 3% e razão de 1:6.

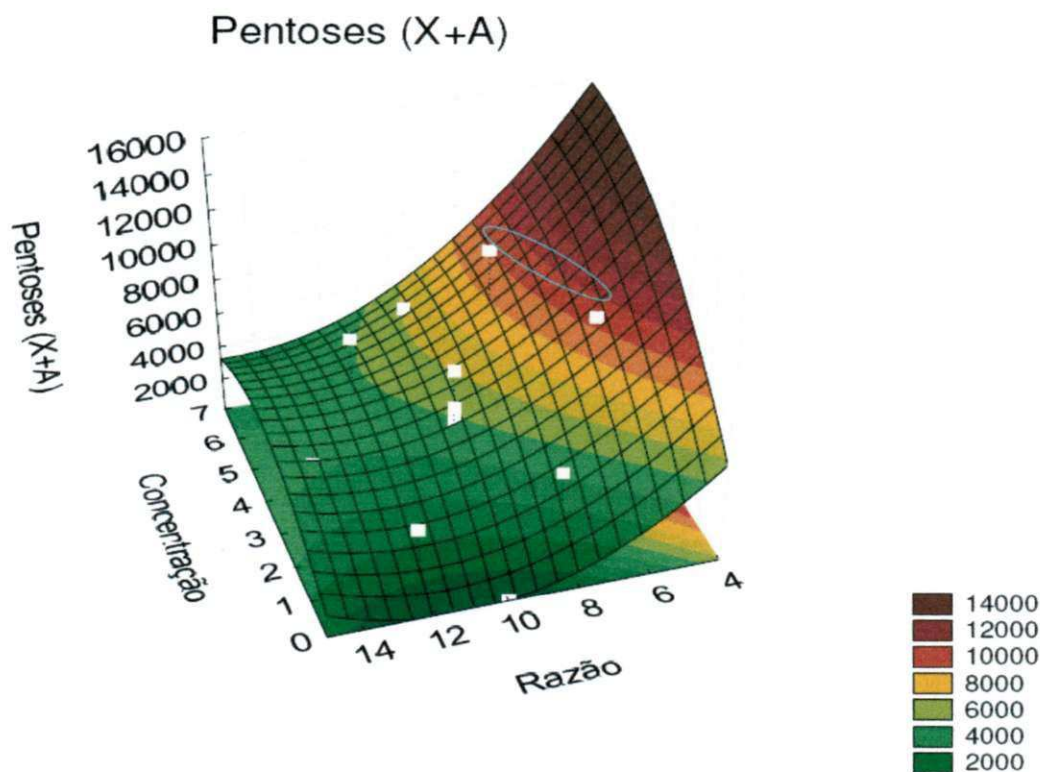


Figura 4.16 - Influência da razão e da concentração (%) sobre as pentoses (arabinose e xilose) em mg/L, no licor pré-hidrolisado fixando-se a temperatura no nível superior.

O bagaço resultante desse pré-tratamento foi analisado para comparação com o BCS. A Tabela 4.7 apresenta os valores encontrados para celulose, hemicelulose, lignina total e cinzas, com seus respectivos percentuais de elevação da concentração (C) e seus valores percentuais de redução (R).

Tabela 4.7 - Caracterização físico-química dos componentes majoritários do bagaço após o pré-tratamento ácido

Parâmetros	Bagaço pré-tratado	% C e %R
Celulose (%)	52,84	101 C
Lignina (%)	32,21	35 C
Hemicelulose (%)	11,30	25 R
Cinzas (%)	4,37	65,44 C

A composição dos constituintes químicos do material obtido após pré-tratamento de separação de hemicelulose demonstra um aumento no teor de celulose, o teor partiu de 25,6% (Tabela 4.1) para 52,84%, esse aumento pode estar associado a remoção de hemicelulose durante o pré-tratamento. Também houve aumento na lignina total, partiu de 23,7% para 32,21%. Entendendo-se que uma estrutura amorfa seja mais susceptível a impregnação de

reagentes ou mesmo ser mais facilmente disposto ao ataque no meio reacional, o pré-hidrólise em meio aquoso apresentou maior seletividade na remoção das hemiceluloses (amorfos) da biomassa comparado à celulose altamente cristalina (FENGEL e WEGENER, 1989).

O processo de pré-hidrólise apresentou redução de 25,16% para a fração hemicelulósica. Porém, conforme já citado por Fugita (2010), a complexa estrutura do vegetal apresentando interfaces entre constituintes, como lignina-hemicelulose e celulose-hemicelulose levam a remoção, em menores teores, de constituintes interligados na ordem de 20 e 5%, respectivamente. Desta forma, à pré-hidrólise nas condições empregadas remove preferencialmente as hemiceluloses da biomassa do bagaço de caju, contudo, verifica-se que neste pré-tratamento, pode ser associado a um outro processo para a remoção da lignina, antes do processo de hidrólise, para aumentar a eficiência na fermentação alcoólica.

4.4 Estudo da influência das variáveis independentes sobre a hidrólise ácida

Foi realizado um planejamento fatorial 2^3 , com três repetições no ponto central, com o objetivo de identificar os fatores que influenciam nas concentrações finais dos açúcares (glicose, xilose e arabinose), furaldeídos (furfural e HMF) e ácido acético, obtidas após a hidrólise ácida. Desse modo, foram analisados os licores resultantes do tratamento quanto à composição de açúcares, furaldeídos e ácido acético.

No experimento 6 da Tabela 4.8, nota-se, que são os níveis que maximizam a obtenção de glicose na hidrólise, apresentando valor de 6406,24 mg/L, entretanto, é perceptível que também houve uma parcela significativa de xilose obtida no tratamento, cerca de 4916 mg L⁻¹. No entanto este tratamento não apresentou extração de arabinose e ácido acético, porém ocorreu obtenção de HMF e furfural cerca de 433 e 142 mg/L, respectivamente, destes congêneres, supostos inibidores no processo fermentativo.

Canettieri et al. (2004), Canilha et al. (2010), Cassales (2010), ao estudarem a hidrólise ácida de matéria lignocelulósica de cavacos de eucalipto, palha de trigo e casca de soja, respectivamente, reportam que seus hidrolisados apresentam maiores teores de xilose, com menores de arabinose. Tal comportamento é semelhante ao material lignocelulósico em estudo. Isso pode ser explicado pelo fato que na obtenção ocorrida na pré-hidrolise as pentoses em sua maioria foram a arabinose, portanto na hidrólise pela própria morfologia

remanescente prevaleceria o teor de xilose, a qual foi liberada no processo seguinte, a hidrólise, ou seja, a pentose arabinose é mais susceptível ao pré-tratamento ácido que a xilose.

Na Tabela 4.8 os resultados obtidos a partir do planejamento experimental do processo de hidrólise ácida encontram-se apresentados.

Tabela 4.8 – Matriz de planejamento experimental com as variáveis de entrada e de saída obtidos no processo de hidrólise do bagaço de caju

Exp (n°)	Ácido (%)	Razão (m/v)	Temp. (°C)	Glicose (mg/L)	Xilose (mg/L)	Arabinose (mg/L)	HMF (mg/L)	Furfural (mg/L)	Ác. Acético (mg/L)
1	2	1:6	160	1200,13	5240,36	0	14,7	25,7	501
2	6	1:6	160	1309,01	3096,04	0	42,84	106,09	162
3	2	1:10	160	1053,03	4468,77	0	14,88	28,2	9,59
4	6	1:10	160	1434,3	4313,52	0	41,52	142,04	10,51
5	2	1:6	200	1334,04	956,25	0	662,44	280,36	149
6	6	1:6	200	6406,24	4916,29	0	433,11	142,95	0
7	2	1:10	200	1052,74	77,95	91,39	432,67	238,34	44
8	6	1:10	200	3963,65	1126,03	0	261,34	131,87	57
9	4	1:8	180	2515,86	4671,95	0	189,21	406,58	44
10	4	1:8	180	2246,61	5026,63	0	130,54	301,77	41
11	4	1:8	180	2373,75	4667,79	0	137,14	360,88	50

Comparando os resultados deste trabalho com materiais lignocelulósicos estudados por outros autores, verificou-se que em um dos estudos realizados sobre hidrolisado de casca de arroz, Saha et al. (2008), obtiveram rendimentos de 29 e 40 mg de glicose/g de casca de arroz, empregando processos de hidrólise ácida diluída de casca de arroz com relação sólido/líquido (15% m/v) e tempo diferente da utilizada neste trabalho, que foi de 15 minutos, concentração ácido sulfúrico de 1,0% (v/v) em 140 e 160 °C respectivamente. Quanto à liberação de xilose, neste trabalho, o tratamento 1 sendo 160 °C e H₂SO₄ 2,0% e razão de 1:6 foi o mais eficiente na liberação desta pentose. Nos processos de hidrólise ácida diluída, a fração hemicelulósica é mais facilmente despolimerizada em temperaturas mais baixas do que as empregadas em processos de liberação da fração celulósica (KARIMI et al., 2006; TAHERZADEH e KARIMI, 2007). A utilização de temperaturas mais brandas durante a hidrólise ácida diluída impede a degradação dos monossacarídeos (glicose e xilose), melhorando o rendimento da hidrólise e também evitando os problemas associados com a inibição da fermentação dos açúcares a etanol (SANCHEZ e CARDONA, 2008).

Apesar de algumas condições de hidrólise ser considerada severa, a concentração de ácido acético não ultrapassou 500 mg/L, sendo que para a maioria dos microrganismos 3000 mg/L é considerado tóxico (HELLE et al., 2003). Os inibidores mais importantes são os ácidos fracos, compostos fenólicos e furanos, como o furfural e hidroximetilfurfural (HMF), sendo estes dois últimos compostos formados pela desidratação das pentoses e hexoses, respectivamente (TAHERZADEH, 2000). Estes compostos podem ser gerados por altas concentrações de ácido, ou altas temperaturas de hidrólise. Este fenômeno pode ser observado na Tabela 4.8, nos tratamentos em que foram utilizados maiores temperaturas no planejamento experimental, ocorreu as maiores produções de HMF. Como consequência deste efeito foi possível verificar ainda nestes tratamentos que houve uma queda na concentração de glicose e xilose devido à decomposição destes açúcares em seus respectivos inibidores, exceto no experimento 06, que se apresenta como melhor na obtenção de glicose.

Considerando apenas a máxima liberação dos açúcares (glicose), o tratamento 6 com temperatura de 200 °C, H₂SO₄ a 6,0% e razão de 1:6 (60 min de reação), mostrou-se bastante eficiente dentre os demais tratamentos avaliados.

Todavia, o hidrolisado oriundo deste tratamento apresentou apenas 15,17% de eficiência entre teor de glicose obtido e máxima quantidade de glicose que poderia ser obtida do bagaço de caju em estudo. Este valor foi obtido considerando a extração média de glicose para bagaço seco de caju de 166,67 g /L de licor, e que 25,60% celulose (Tabela 4.1) desta massa será utilizada para produzir glicose 42,66 g de celulose/L de licor. Segundo Rossel (2006b) e Cortez (2010) em um processo de hidrólise em termos de insumos e rendimento na sacarificação o máximo de conversão de celulose para glicose é de 90%, no entanto devido à natureza sequencial da reação, o rendimento de glicose é limitado. Na prática, o rendimento máximo alcançável não excede 50-60% quando a reação é feita em batelada (ABASAEED, 1987). Com isso a massa passa a assumir 38,40 g de celulose/L de licor. Convertendo toda esta massa em glicose tem-se 42,66 g de glicose/L de licor, pois estequiometricamente tem-se para 1 g de glicose/0,9 g de celulose.

Assim, a produção média de glicose para bagaço do pedúnculo de caju de resíduo seco, nos processos de pré-hidrólise e hidrólise, podem ser extraídos no máximo aproximadamente 42,66 g de glicose por litro de licor, na razão 1:6, ou seja, 0,2559 g de glicose/g de bagaço. Somando-se os valores de glicose obtidos na pré-hidrólise e hidrólise tem-se 7,157 g/L. Calculando a razão do valor obtido pelos processos em função do valor

teoricamente encontrado tem-se 0,1677 g/g de celulose supostamente hidrolisada, ou seja, 16,77% de eficiência total do processo de pré-hidrolise.

O rendimento de glicose obtido neste trabalho é menor quando comparado com os valores reportados por Canettieri et al. (2004), Canilha et al. (2010) e Cassales (2010), contudo superiores aos valores reportados por Christofolletti (2010), no estudo do hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar nas condições reacionais: 200 °C, reação de 30 min empregando ácido sulfúrico 0,07%; que foi de 5,39%, por Canettieri (2004), no estudo de cinético da hidrólise ácida dos resíduos florestais de eucalipto, nas condições 160 °C, ácido sulfúrico a 0,5% reação de 40 min na razão 1:6, que foi de 1,6142g/L e por Hickert (2010), no estudo da hidrólise na casca de arroz, obtendo a liberação de 23 e 19 mg/L, onde empregaram temperatura e concentração de ácido de 150 °C e 3 mmol H₂SO₄/g SS; e 129 °C e 4,4 mmol H₂SO₄/g SS, respectivamente, em 40 minutos, com 38 mg/g de bagaço. Porém como as condições em estudo por todos os autores citados não são iguais, quando comparada com este trabalho, e que cada biomassa tem sua própria estrutura distinta (ROSSELL, 2006a), os dados apresentados sevem como parâmetros comparativos de obtenção de glicose nos processos.

Preconizando a aplicação da hidrólise ácida diluída em escala industrial, para que esse hidrolisado oriundo do experimento 6 possa ser utilizado em processos biotecnológicos (fermentação), pode-se utilizar uma etapa de destoxificação, porém um processo que evite o tal passo seria desejável para reduzir custos e a complexidade do processo de produção de etanol (VON SIVERS et al., 1994). Sendo assim, uma alternativa interessante seria empregar um processo de hidrólise ácida diluída, cujo hidrolisado apresente a combinação da maior concentração de açúcares com a mínima concentração de compostos tóxicos. Neste contexto a condição 200 °C, H₂SO₄ a 6% e razão 1:6, mostrou-se mais adequada, com uma eficiência de liberação de açúcares, e apenas 0,576 g/L de inibidores, concentração essa facilmente suportada pelas leveduras (PALMQVIST e HAHN-HÄGERDAL, 2000).

A análise dos efeitos das variáveis independentes sobre a concentração de glicose, xilose, furfural, hidroximetilfurfural (HMF) e ácido acético, representadas pelo diagrama de Pareto, encontram-se apresentadas, respectivamente, nas Figuras 4.17, 4.18, e 4.19.

Os resultados da Figura 4.17 indicam, em ordem decrescente, que as variáveis concentração do ácido sulfúrico (1), temperatura (3), interação concentração do ácido sulfúrico e temperatura (1 x 3), razão massa/ácido (2) e a interação razão massa/ácido e temperatura (2 x 3) foram significativas ao nível de 95% de confiança.

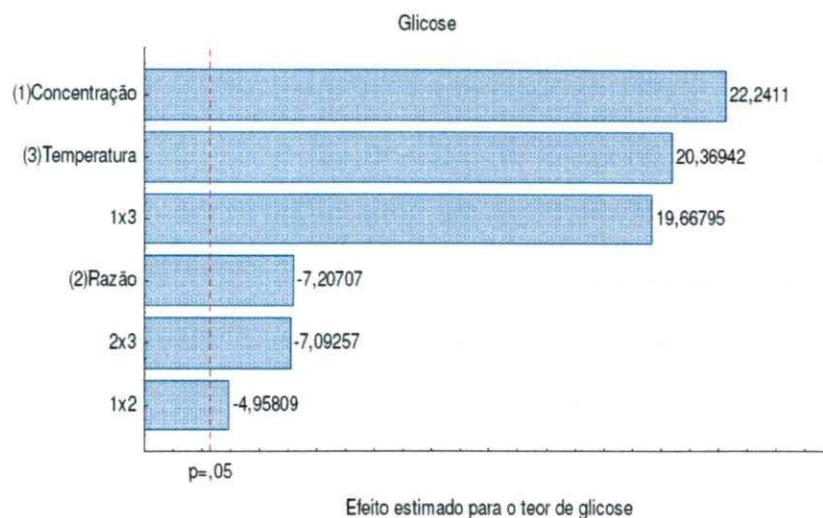


Figura 4.17 – Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a glicose, na hidrólise ácida do bagaço de caju.

O efeito positivo na variável concentração indica que ao se elevar a concentração de 2% para 6%, aumenta-se a resposta, da mesma forma foi observado para a temperatura. Porém ao se elevar a razão massa/ácido de 1:6 para 1:10 nas condições de 6% de ácido e temperatura de 200 °C, a concentração de glicose será reduzida. Estes comportamento para esses efeitos são reportados por vários autores, como: Rossel (2006b), Mielenz (2009), Walker (2010), Cortez (2010), no estudo de material lignocelulósico como bagaço de cana, palha de cana, cavacos de madeira e resíduos agroindustriais, para a produção de bioetanol.

Observando o efeito das variáveis independentes sobre a xilose na hidrólise ácida (Figura 4.18), verifica-se que a temperatura foi a variável de maior influência, mas com efeito negativo. Da mesma forma foi observado para a razão. A concentração do ácido apresentou efeito positivo, mas é a variável de menor influência.

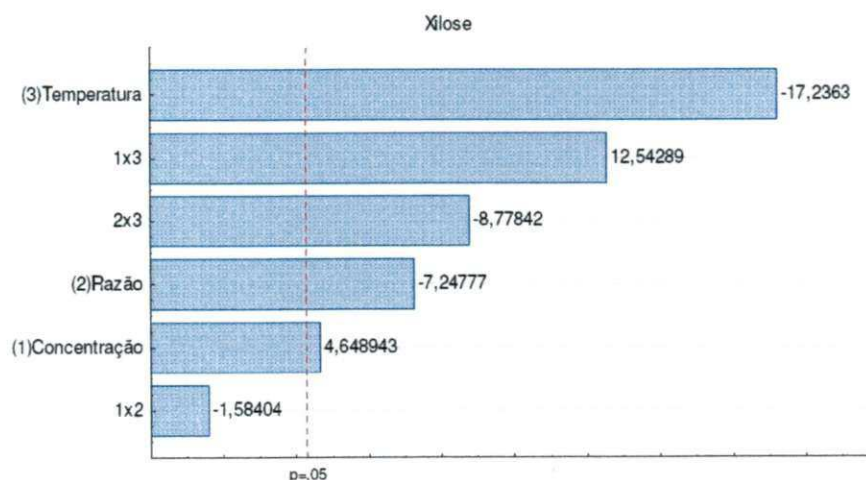


Figura 4.18 – Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a xilose, na hidrólise ácida do bagaço de caju.

Observando o efeito das variáveis independentes sobre os inibidores furfural (A), hidroximetilfurfural – HMF (B) e ácido acético (C) na hidrólise ácida (Figura 4.19), verifica-se que a temperatura foi a variável de maior influência na quantidade de hidroximetilfurfural –HMF (B) obtida. Para a resposta furfural, não houve efeitos significativos, ao nível de 95% de confiança. A variável de maior influência na quantidade de ácido acético (C) foi à razão massa/ácido, mas as demais variáveis também possuem efeitos significativos.

A hidrólise de celulose convencional baseada em ácido diluído tem o inconveniente dos açúcares serem decompostos a furfural e hidroximetilfurfural e estes também decompõem-se em ácidos fórmico, levulínico e acético sob condições severas suficientes para promover a hidrólise de celulose, ou seja, alta temperatura e baixo pH (CHANG et al., 2006).

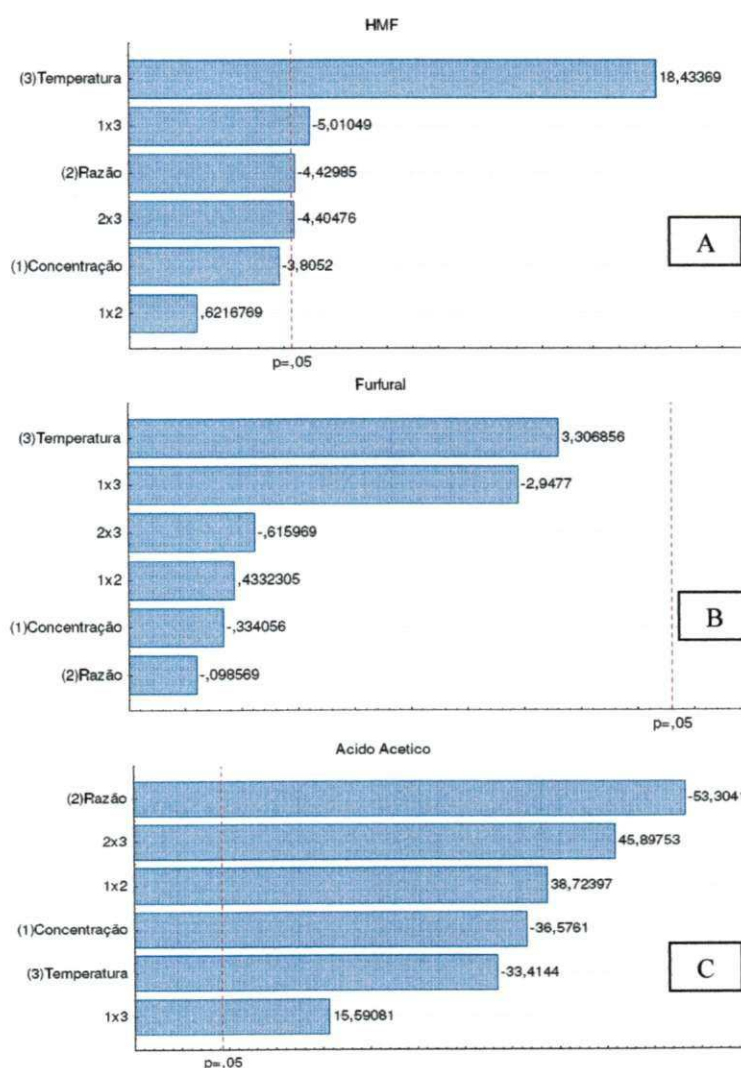


Figura 4.19 – Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a furfural (A), hidroximetilfurfural – HMF (B) e ácido acético (C) na hidrólise ácida do bagaço de caju.

Com a análise dos resultados de furfural (A), hidroximetilfurfural – HMF (B) e ácido acético (C) na hidrólise ácida do bagaço de caju, verifica-se que os mesmos não apresentam um comportamento ordenado, ou seja, não nota-se uma tendência de comportamento em relação a variação de temperatura, razão massa/ácido e concentração de ácido em sua formação.

Considerando que o objetivo do planejamento experimental é obter uma condição otimizada da hidrólise na extração dos açúcares para posterior fermentação do licor, os resultados reportados do comportamento dos dados experimentais, são para as respostas de açúcares glicose e xilose. Em baixas temperaturas a formação dos dissacarídeos é favorecida em detrimento a desidratação de glicose à HMF. Como a energia de ativação para a formação de 1,6-anidroglicose é superior a energia de ativação para a formação de HMF, Gurgel (2010), sugere fortemente que o caminho para a formação do HMF não passa pelo intermediário 1,6-anidroglicose e sim por uma isomerização da glicose a frutose seguida de desidratações consecutivas para formar o HMF como proposto por Conner et al. (1986) e Xiang et al. (2004).

Com a análise destes resultados um modelo de 1ª ordem foi utilizado para representar o comportamento dos dados experimentais, portanto, os modelos para concentrações (mg/L) de glicose e xilose na hidrólise ácida do bagaço do pedúnculo de caju encontram-se apresentados nas Equações 4.3 e 4.4

As Equações 4.3 e 4.4 apresentam os modelos da regressão dos dados experimentais do planejamento 2^3 , tendo 3 pontos centrais 11 experimentos, para as respostas de glicose (G) e xilose (X).

$$G = 2262,669 + 1059,158.C - 343,213.M + 970,025.T - 236,112.C.M + 936,620.C.T - 337,760.M.T \quad (4.3)$$

$$X = 3505,60 + 338,57C - 527,83.M - 1255,27.T + 913,46.C.T - 639,31.M.T \quad (4.4)$$

Os coeficientes apresentados nas regressões são estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança e T, C e M, representam temperatura, concentração do ácido e razão massa seca do bagaço/ácido, respectivamente.

Os coeficientes de determinação (R^2) dos modelos da regressão foram 96,87 e 72,31% para as respostas glicose e xilose respectivamente. Observando-se que as equações 4.3 e 4.4, pode-se verificar que, em todos os modelos, a média, concentração, temperatura e razão apresentaram coeficientes estatisticamente significativos. Por outro lado as interações também

foram estatisticamente significativas na glicose e xilose, sendo apenas a interação concentração e razão não significativa na xilose.

O planejamento fatorial teve a finalidade de verificar a influência das variáveis temperatura, concentração de ácido e razão no hidrolisado do bagaço do caju, buscando maximizar a concentração de glicose no licor tratado e mínima quantidade de pentoses, furfural, hidroximetilfurfural –HMF e ácido acético, reduzindo desta forma estas substâncias ditas inibidoras da fermentação no licor.

Visando avaliar a adequação destes modelos aos resultados experimentais obtidos realizou-se uma análise de variância (ANOVA), as quais se encontram apresentadas nas Tabelas 4.9 e 4.10, para os modelos resposta da glicose e xilose, e com intervalo de confiança de 95%.

Através dos dados da Tabela 4.9, verifica-se que o modelo é estatisticamente significativo, ao nível de 95% de confiança, pois a razão F_{cal}/F_{tab} é maior que 1.

Tabela 4.9 - ANOVA para as respostas da glicose na hidrólise

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	Teste F_{calc}	F_{tab} (9,9)	F_{cal}/F_{tab}	R^2
Regressão	25821168	6	4303528	20,68484	6,16	3,3579	96,87
Resíduo	832209	4	208052,3				
Falta de ajuste	795924	2	397962	21,93535	19,00	1,1544	
Erro Puro	36285	2	18142,5				
Total	26653377						

A Tabela 4.10 apresenta a ANOVA da resposta da xilose, com intervalo de confiança de 95%. Verifica-se que o modelo não é estatisticamente significativo, ao nível de 95% de confiança, pois a razão de F_{cal}/F_{tab} é igual a 0,28.

Tabela 4.10 - ANOVA para as respostas da xilose na hidrólise

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	Teste F_{calc}	F_{tab} (9,9)	F_{cal}/F_{tab}	R^2
Regressão	25803003	6	4300500	1,7411	6,16	0,2826	72,31
Resíduo	9879520	4	2469880				
Falta de ajuste	9794660	2	4897330	115,42	19,00	6,0747	
Erro Puro	84860	2	42430,23				
Total	35682523						

A Figura 4.20 apresenta a superfície de resposta da influência da temperatura e concentração sobre a glicose no licor hidrolisado fixando-se a razão massa/ácido no nível inferior (1:6).

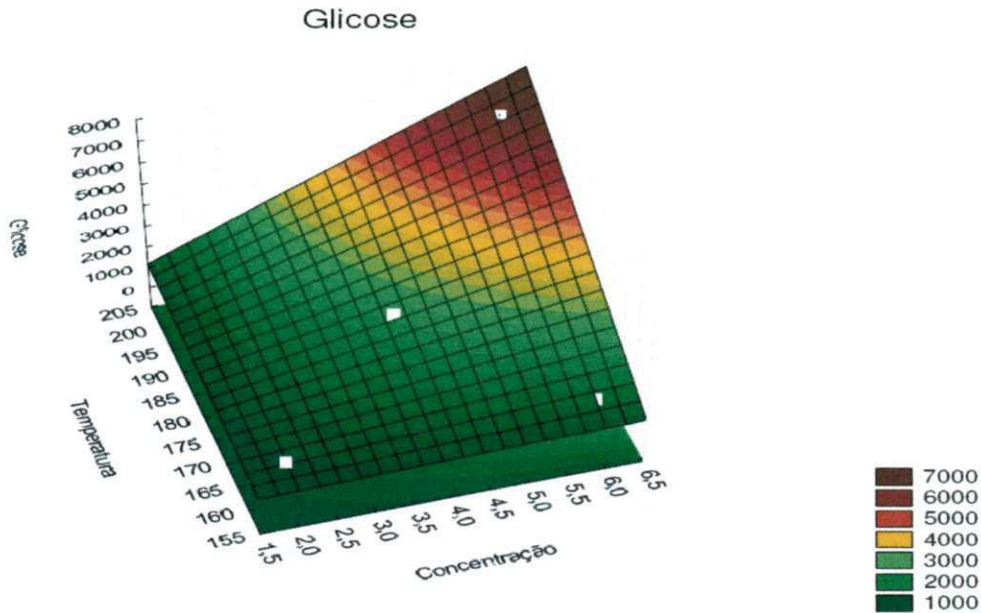


Figura 4.20 - Influência da temperatura (°C) e concentração (%) sobre a glicose no licor hidrolisado fixando-se a razão massa/ácido no nível inferior (1:6).

Pode-se verificar que o maior valor da glicose foi 6406 mg/L, operando-se o tratamento 6 na temperatura no nível +1 (200 °C) e razão no nível menor (-1), 1:6, com concentração de ácido de 6%, confirmando o maior valor observado na Tabela 4.11 (experimento 6), que são os níveis que maximizam a obtenção de glicose na hidrólise, por esses motivos é mais viável para ser utilizado como licor a ser desenvolvido para posterior uso no estudo de adsorção (destoxificação) e da fermentação.

O bagaço resultante desse tratamento foi analisado para comparação com o BCS. A Tabela 4.11 apresenta os valores encontrados para celulose, hemicelulose, lignina e cinzas, com seus respectivos percentuais de elevação da concentração (C) ou seus valores percentuais de redução (R).

Tabela 4.11 - Caracterização físico-química dos componentes majoritário do bagaço após a hidrólise ácida para o experimento 6, que apresentou os níveis que maximizam a extração de glicose

Parâmetros	Bagaço pós hidrólise	% C e %R
Celulose (%)	6,72	87,28 R
Lignina (%)	82,21	165,5 C
Hemicelulose (%)	0,34	96,99 R
Cinzas (%)	8,34	90,84 C

A composição dos constituintes químicos do material obtido após hidrólise demonstra um redução no teor de celulose, o teor partiu de 52,84% (Tabela 4.7) para 6,72%. Essa redução está associada a remoção dos açúcares durante o tratamento. Para a lignina houve aumento, partiu de 32,21 para 82,21%, entendendo-se que na hidrólise ocorreu eficiência de quebra da celulose em aproximadamente 87%, porém sua seletividade na formação de apenas glicose foi baixa como já citado.

Desta forma, à hidrólise nas condições empregadas, promove, preferencialmente, a formação de glicose da biomassa do bagaço de caju no licor hidrolisado. Contudo verifica-se que pode ser adicionado outro processo para a remoção dos congêneres furfural, hidroximetilfurfural (HMF) e ácido acético (destoxificação do licor), antes do processo de fermentação, para verificar o aumento da eficiência na fermentação alcoólica do licor em estudo.

4.5. Aplicação do processo de adsorção dos inibidores do licor hidrolisado do bagaço do pedúnculo de caju (destoxificação)

Neste estudo objetivou-se avaliar a atuação da lignina residual proveniente da hidrólise ácida utilizada no experimento 6 da sessão anterior, como adsorvente, no intuito de definir por meio de um planejamento experimental a máxima remoção de compostos tóxicos (furfural, hidroximetilfurfural e ácido acético) no licor hidrolisado do bagaço do pedúnculo do caju, para posterior uso do licor tratado para fermentação dos açúcares, na produção de etanol.

A escolha deste adsorvente foi resultado de testes preliminares com outros materiais, tais como: vermiculita, betonita, cal e zeólita – USY em estudo reportado por Lima et al. (2011a) no estudo de adsorção dos inibidores do licor pré-hidrolisado do bagaço de pedúnculo de caju, Apêndice 1, por proporcionar a remoção dos inibidores furfural e HMF do licor hidrolisado com mais eficiência.

Na Figura 4.21 encontra-se o aspecto do adsorvente empregado no processo de destoxificação.

Comparando a cor dos licores antes e após a destoxificação, verifica-se que ocorreu uma variação na cor, caracterizando mudança na composição do material, que poderá ser proveniente da remoção de componentes do licor, onde a análise cromatográfica indicou se ocorreu ou não a redução dos açúcares e congêneres em estudos, uma vez que, tais componentes influenciam no processo posterior de fermentação.

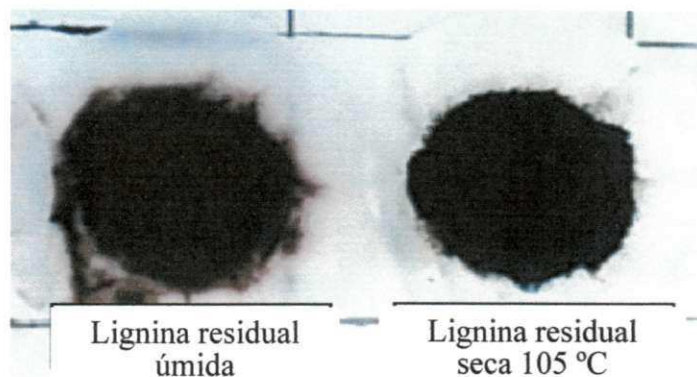


Figura 4.21 - Aspecto do adsorvente empregado no processo de destoxificação.

Na Figura 4.22 a variação da cor dos licores antes e após o processo de destoxificação encontra-se apresentados.

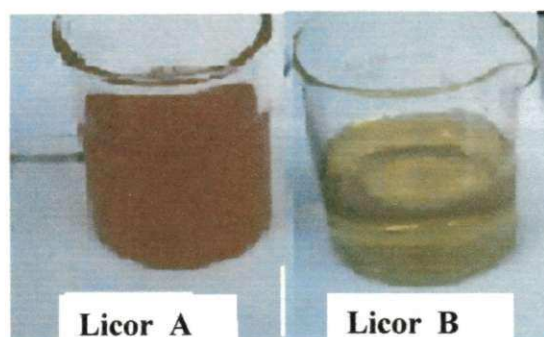


Figura 4.22 - Licor hidrolisado antes (A) e após (B) o processo de destoxificação.

Na Tabela 4.12 encontram-se apresentados os resultados obtidos na hidrólise do bagaço de caju proveniente do experimento 06 e que será utilizado como licor padrão para o estudo de adsorção, uma vez que este licor resultou em melhor extração de glicose do BCS, e conseqüentemente poderá obter um maior rendimento de álcool etílico no processo fermentativo.

Tabela 4.12 - Caracterização físico-química do licor hidrolisado por meio de cromatografia líquida de alta eficiência, para os açúcares e inibidores da fermentação, licor padrão para o estudo de adsorção

Amostra	Glicose (mg/L)	Xilose (mg/L)	Arabinose (mg/L)	HMF (mg/L)	Furfural (mg/L)	Ácido acético (mg/L)
1	5815,01	4398,12	0	447,11	153,27	0,98
2	6552,16	5077,77	0	443,04	150,04	0,82
3	6406,24	4916,29	0	433,1	142,95	0,76
MÉDIA	6257,80	4797,39	0,00	441,08	148,75	0,85
DESVIO	103,18	114,18	0,00	7,03	5,01	0,04
CV	1,65	2,38	0,00	1,59	3,37	4,97

Na Tabela 4.13 encontra-se apresentada a matriz de planejamento fatorial 2^3 com 3 pontos centrais e 6 axiais, totalizando 17, onde estão expressos os valores dos níveis decodificados dos fatores estudados nos experimentos, aplicado a um delineamento composto central rotacional (DCCR), com os resultados obtidos das concentrações de glicose, xilose, arabinose, HMF, furfural e ácido acético, após a destoxificação com a lignina residual.

Tabela. 4.13 - Concentração (mg/L) de açúcares e compostos tóxicos no licor hidrolisado de bagaço do pedúnculo de caju em função do processo de adsorção com lignina residual

Exp.	Massa Lignina residual (g)	pH	Tempo (min)	Glicose (mg/L)	Xilose (mg/L)	HMF (mg/L)	Furfural (mg/L)	Ácido acético (mg/L)
1	0,25	4	20	5658	4516	422	123	0,501
2	0,65	4	20	5686	4656	434	127	0,462
3	0,25	10	20	2085	1754	23	15	0,021
4	0,65	10	20	2058	1784	19	21	0,022
5	0,25	4	60	5085	4218	334	134	0,349
6	0,65	4	60	5530	4545	298	120	0,327
7	0,25	10	60	2830	1686	12	9	0,024
8	0,65	10	60	2050	1696	19	12	0,015
9	0,45	7	40	4736	3633	33	20	0,078
10	0,45	7	40	4821	3552	29	24	0,089
11	0,45	7	40	4746	3542	23,63	0,54	0,081
12	0,11	7	40	5095	4676	276	139	0,054
13	0,79	7	40	5543	3628	235	122	0,057
14	0,45	1,92	40	5432	4706	394	135	0,495
15	0,45	12,05	40	1382	995	3,67	1,55	0,003
16	0,45	7	6,36	4831	4323	59	25	0,072
17	0,45	7	73,64	4756	4432	88	28	0,088

Verifica-se que todos os experimentos resultaram na redução dos valores dos açúcares e congêneres do licor hidrolisado. Observa-se ainda que o experimento 04 apresentou a maior redução dos inibidores, com cerca de 96% para cada congêneres, enquanto para a redução de glicose foi a 3ª maior redução de 67,11%, o que torna tal experimento inviável. No entanto o experimento 10 reduziu apenas 22,96% em relação à glicose e cerca de 90% nos inibidores, o que dentre estes pode ser uma alternativa viável para o processo de adsorção, uma vez que é um produto alternativo de baixo custo além de ser um resíduo do processo de hidrólise e encontra-se dentro da faixa de adsorção dos açúcares quando comparado com outros estudos.

A redução média dos açúcares após o tratamento de adsorção foi inferior ao valor obtido por Carvalho et al. (2005) ao estudarem a avaliação do carvão ativo e resinas de troca iônica na purificação do hidrolisado do bagaço da cana.

Já Pivetta (2008) estudando a comparação de metodologias de destoxificação do hidrolisado do bagaço de cana para a produção de xilitol por via fermentativa, encontrou reduções em xilose de até 30,75% em açúcares e 94,16% em compostos fenólicos.

Na Tabela 4.14 encontram-se apresentada a matriz de planejamento com os valores dos níveis descodificados dos fatores estudados nos experimentos, com os resultados obtidos em porcentagem de redução da glicose, xilose, arabinose, HMF, furfural e ácido acético, utilizando-se do adsorvente lignina residual, no licor em estudo.

Tabela. 4.14 - Porcentagem de redução de açúcares e compostos tóxicos no licor hidrolisado de bagaço do pedúnculo de caju em função do processo de adsorção com lignina residual

Exp.	Massa Lignina residual (g)	pH	Tempo (min)	Glicose (%)	Xilose (%)	HMF (%)	Furfural (%)	Ácido Acético (%)
1	0,25	4	20	9,58	5,87	4,33	17,31	41,29
2	0,65	4	20	9,14	2,95	1,61	14,62	45,84
3	0,25	10	20	66,68	63,44	94,79	83,87	97,54
4	0,65	10	20	67,11	62,81	95,69	99,64	97,42
5	0,25	4	60	18,74	12,08	24,28	9,92	59,09
6	0,65	4	60	11,63	5,26	32,44	19,33	61,66
7	0,25	10	60	54,78	64,86	97,28	93,95	97,19
8	0,65	10	60	67,24	64,65	95,69	86,55	98,24
9	0,45	7	40	24,32	24,27	92,52	91,93	90,86
10	0,45	7	40	22,96	25,96	93,43	89,92	89,57
11	0,45	7	40	24,16	26,17	94,64	85,88	90,56
12	0,11	7	40	18,58	2,53	37,43	6,55	93,67
13	0,79	7	40	11,42	24,38	46,72	17,98	93,35
14	0,45	1,92	40	13,20	1,91	10,67	9,24	41,97
15	0,45	12,05	40	77,92	79,26	99,17	98,96	99,64
16	0,45	7	6,36	22,80	9,89	86,62	83,19	91,56
17	0,45	7	73,64	24,00	7,62	80,05	81,18	89,68

A análise dos efeitos das variáveis independentes sobre a concentração de glicose e xilose representada pelo diagrama de Pareto, encontra-se apresentada, respectivamente, nas Figuras 4.23 e 4.24. Os resultados constantes na Figura 4.23 indicam, em ordem decrescente, que as variáveis pH (2) linear, pH (2) quadrática, interação linear pH e tempo, interação razão pH, tempo (3) quadrática e razão (1) quadrática, são significativas ao nível de 95% de confiança. O efeito negativo na variável pH indica que ao se elevar de 4% para 10%, a redução na resposta será reduzida, da mesma forma foi observado para a resposta de xilose, Figura 4.24.

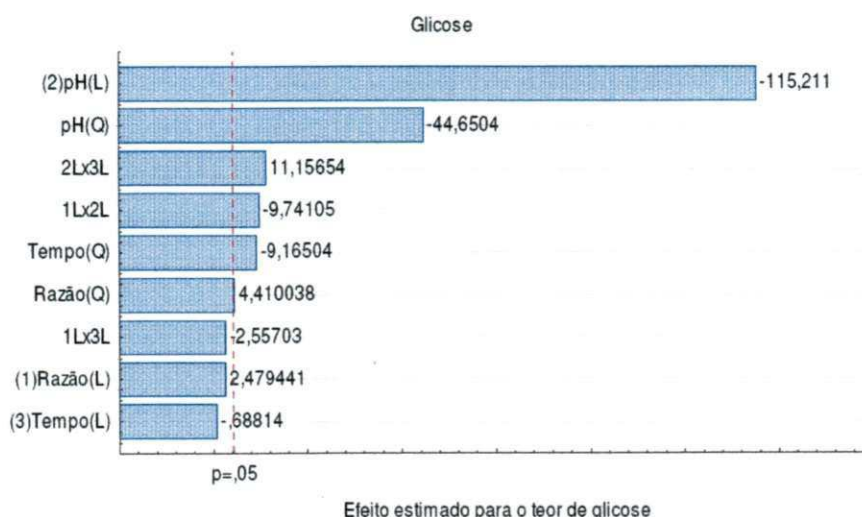


Figura 4.23 – Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a glicose, na hidrólise ácida do bagaço de caju.

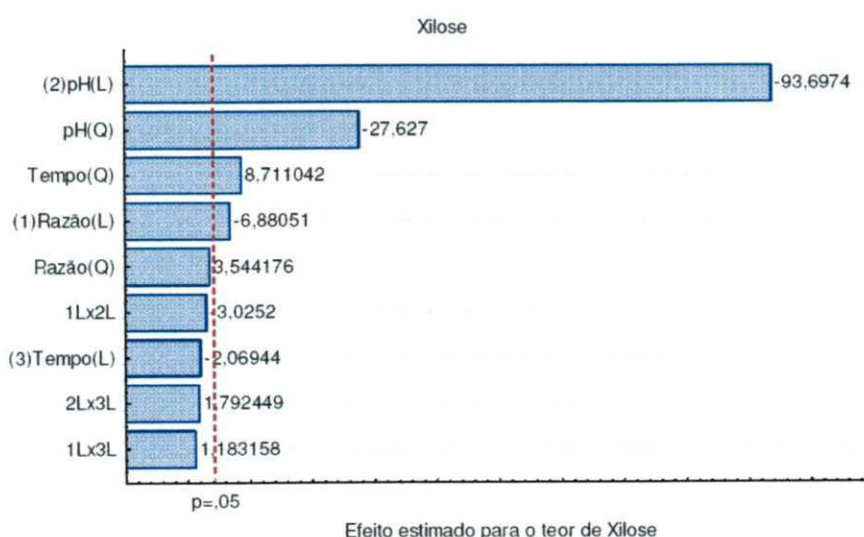


Figura 4.24 – Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a xilose, na hidrólise ácida do bagaço de caju.

A análise dos efeitos das variáveis independentes sobre a concentração de glicose e xilose representada pelo diagrama de Pareto, encontra-se apresentada na Figuras 4.24, que

indicam, em ordem decrescente, que as variáveis pH (2) linear, pH (2) quadrática, tempo (3) quadrática e razão (1) linear e razão (1) quadrática, que são significativas ao nível de 95% de confiança. O efeito negativo na variável pH indica que ao se elevar de 4% para 10%, a redução na resposta será reduzida.

Observando os efeitos das variáveis independentes sobre a concentração de hidroximetilfurfural (HMF), furfural e ácido acético, representadas pelos gráficos de Pareto, encontram-se apresentadas, respectivamente, nas Figuras 4.25, 4.26, e 4.27.

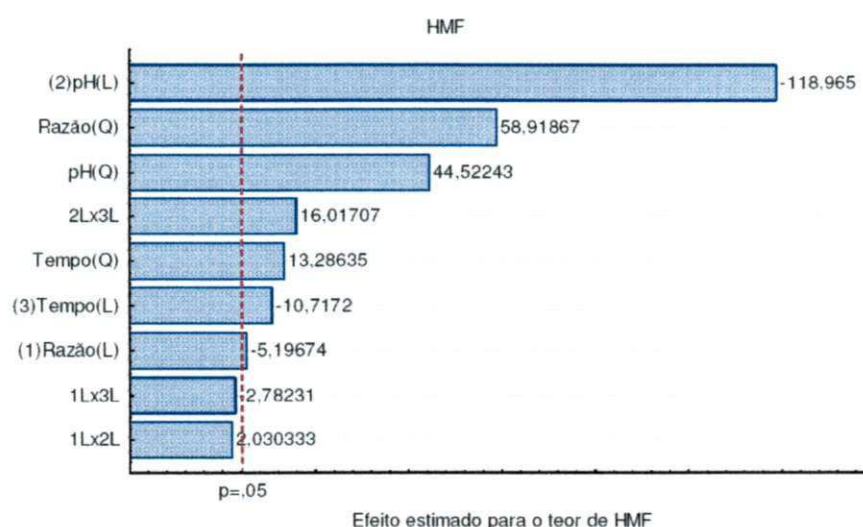


Figura 4.25 – Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre hidroximetilfurfural –HMF no estudo da adsorção do licor hidrolisado do bagaço de caju.

Os resultados apresentados na Figura 4.25 indicam, em ordem decrescente, que as variáveis pH (2) linear, razão (1) quadrática, pH quadrática, interação linear pH tempo (2 x 3), tempo (3) quadrática, tempo linear e razão linear, foram significativas ao nível de 95% de confiança.

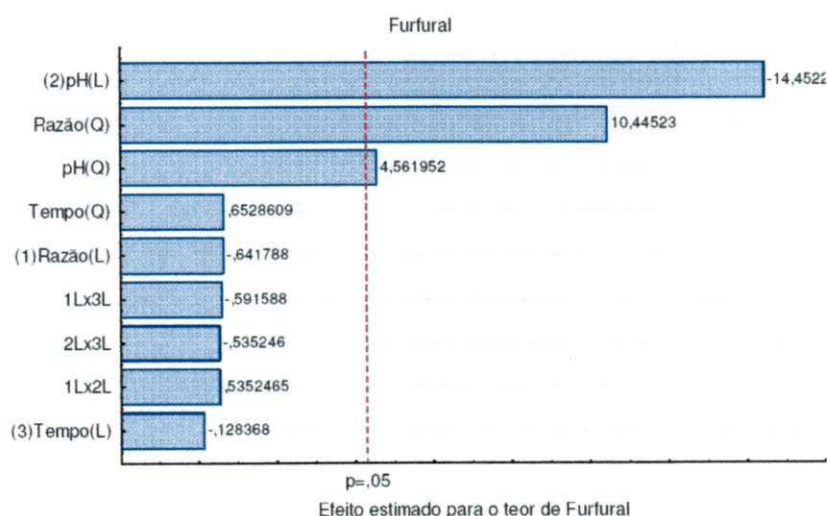


Figura 4.26 – Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre a furfural no estudo da adsorção do licor hidrolisado do bagaço de caju.

O efeito negativo na variável pH indica que ao se elevar de 4 para 10%, a redução na resposta é verificada, da mesma forma foi observado para a resposta de furfural e ácido acético Figuras 4.26 e 4.27, respectivamente.

Na Figura 4.26 analisando os efeitos das variáveis independentes sobre a concentração de hidroximetilfurfural (HMF), furfural e ácido acético, representadas pelos gráficos de Pareto, nota-se que as variáveis pH (2) linear, razão (1) quadrática e pH quadrática, foram as que apresentaram efeito significativo ao nível de 95% de confiança.

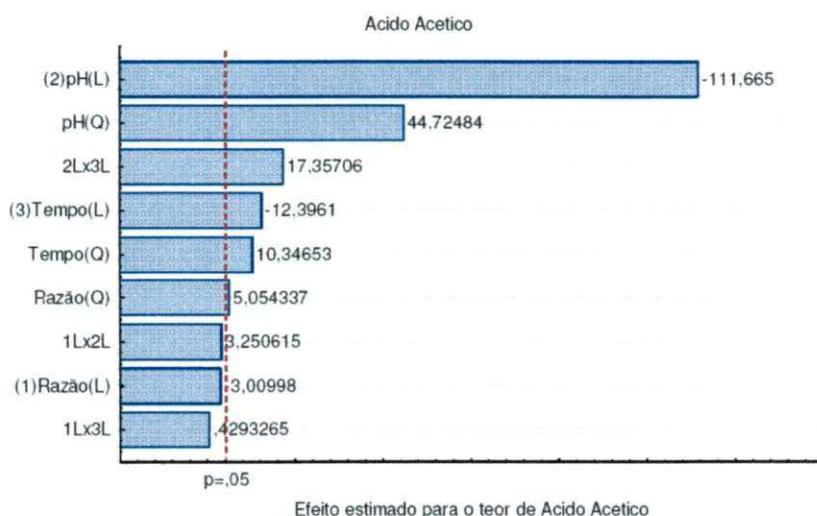


Figura 4.27 – Diagrama de Pareto para os efeitos das variáveis independentes sobre ácido acético no estudo da adsorção do licor hidrolisado do bagaço de caju.

Analisando os efeitos das variáveis independentes sobre a concentração de hidroximetilfurfural (HMF), furfural e ácido acético, representadas pelos gráficos de Pareto, apresentadas na Figura 4.27. Os resultados indicam, em ordem decrescente, que as variáveis pH (2) linear, pH quadrática, interação linear pH tempo (2 x 3), tempo linear (3), tempo quadrática e razão (1) quadrática, são significativas ao nível de 95% de confiança. O efeito negativo na variável pH indica que ao se elevar de 4 para 10%, a redução na resposta é verificada, da mesma forma foi observado para a resposta de furfural e ácido acético Figuras 4.26 e 4.27, respectivamente.

Percebe-se que o pH é a variável independente de maior influência no processo de adsorção para todas as respostas estudadas neste trabalho. Tal tendência também foi reportada por Marton et al. (2003) e Carvalho et al. (2005) na avaliação preliminar do tratamento do hidrolisado hemicelulósico de eucalipto e avaliação de carvões ativos e das condições de adsorção no tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana empregando planejamento de experimental, respectivamente.

Com a análise destes resultados um modelo de 2ª ordem foi utilizado para representar o comportamento da regressão não linear dos dados experimentais, portanto, os modelos para concentrações (mg/L) de glicose no estudo de adsorção do licor proveniente da hidrólise ácida do bagaço do pedúnculo de caju encontram-se apresentados nas Equações 4.5, 4.6, 4.7 e 4.8.

As Equações 4.5, 4.6, 4.7 e 4.8 apresentam os modelos da regressão dos dados experimentais para as respostas de glicose (G), hidroximetilfurfural (HMF), furfural (F) e ácido acético (A. Ac).

$$G = 4802,51 + 60,03.R(Q) - 1446,05.pH(L) - 614,95.pH(Q) - 127,03.T(Q) - 160,0.R(L).pH(L) + 183,25.pH(L).T(L) \quad (4.5)$$

$$HMF = 28,09 + 6,58.R(L) + 8,16.R(Q) - 152,11.pH(L) + 62,05.pH(Q) - 13,63.T(L) + 18,63.T(Q) + 26,62.pH(L).T(L) \quad (4.6)$$

$$F = 108,46.R(Q) - 68,82.pH(L) + 16,97.pH(Q) \quad (4.7)$$

$$\text{Á. Ac} = 0,0780 + 0,0084.R(Q) - 0,1739.pH(L) + 0,0764.pH(Q) - 0,0177.T(Q) + 0,0353.pH(L).T(L) \quad (4.8)$$

Os coeficientes apresentados nas regressões são estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança e R, pH e t, representam a razão de lignina no licor (g/mL), pH e tempo de permanência da lignina no licor, respectivamente.

Visando avaliar a adequação destes modelos aos resultados experimentais obtidos realizou-se uma análise de variância (ANOVA), a qual se encontra apresentada na Tabela 4.15, para o modelo resposta da glicose, com nível de confiança de 95%.

Tabela 4.15 - ANOVA para a resposta da glicose no estudo de adsorção no licor hidrolisado

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	Teste F_{calc}	F_{tab} (9,9)	$F_{cal} \setminus F_{tab}$	R^2
Regressão	33676872	9	3741875	12,6981	3,68	3,45	94,22
Resíduo	2062757	7	294679,6				
Falta de ajuste	2058440	5	411688,1	190,743	19,30	9,883	
Erro Puro	4317	2	2158,333				
Total	35739629	16					

Através dos dados da Tabela 4.15, verifica-se que o modelo é estatisticamente significativo, ao nível de 95% de confiança, pois a razão de F_{cal}/F_t é igual a 3,45.

Verifica-se através dos dados da Tabela 4.16 que o modelo é estatisticamente significativo, ao nível de 95% de confiança, para a resposta da HMF no estudo de adsorção no licor hidrolisado, pois a razão de F_{cal}/F_{tab} é igual a 5,00.

Tabela 4.16 - ANOVA para a resposta da HMF no estudo de adsorção no licor hidrolisado

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	Teste F_{calc}	F_{tab} (9,9)	F_{cal}/F_{tab}	R^2
Regressão	446384	9	49598,25	18,4314	3,68	5,00	95,95
Resíduo	18837	7	2690,954				
Falta de ajuste	18792	5	3758,493	170,024	19,30	8,809	
Erro Puro	44	2	22,10563				
Total	465221	16					

Analisando-se os dados da Tabela 4.17, verifica-se que o modelo é estatisticamente significativo, ao nível de 95% de confiança, para a resposta furfural, pois a razão de F_{cal}/F_{tab} é igual a 7,40.

Tabela 4.17 - ANOVA para a resposta da Furfural no estudo de adsorção no licor hidrolisado

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	Teste F_{calc}	F_{tab} (9,9)	F_{cal}/F_{tab}	R^2
Regressão	53641	9	5960,163	27,2468	3,68	7,40	97,22
Resíduo	1531	7	218,7469				
Falta de ajuste	1216	5	243,2414	1,54428	19,30	0,080	
Erro Puro	315	2	157,5105				
Total	55173	16					

Verifica-se ainda que a falta de ajuste não foi significativo, e o valor de suas razões F_{cal}/F_{tab} é 0,08, sendo o valor de R^2 97,22, pode-se afirmar que este modelo é preditivo, ou seja, o modelo pode ser utilizado para fins de estudo de previsões de comportamento na adsorção de furfural pela lignina residual.

Tabela 4.18 - ANOVA para a resposta da Ácido Acético no estudo de adsorção no licor hidrolisado

Fonte de Variação	Soma de Quadrado	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	Teste F_{calc}	F_{tab} (9,9)	F_{cal}/F_{tab}	R^2
Regressão	0,5010	9	0,055667	10,3920	3,68	2,82	93,03
Resíduo	0,0375	7	0,005357				
Falta de ajuste	0,0374	5	0,007486	225,278	19,30	11,672	
Erro Puro	0,0001	2	3,32E-05				
Total	0,5385	16					

Observando-se os dados da Tabela 4.18, nota-se que o modelo é estatisticamente significativo, ao nível de 95% de confiança, para a resposta ácido acético no estudo de adsorção no licor hidrolisado, pois a razão de F_{cal}/F_{tab} é igual a 2,82, mas apresenta falta de ajuste, pois o valor de sua razão F_{cal}/F_{tab} é 11,67.

Nas Figuras 4.28, 4.29 e 4.30 estão apresentadas as superfícies de resposta da influência do pH e tempo sobre a adsorção da glicose, HMF e furfural no licor hidrolisado fixando-se a razão massa de lignina/licor no nível inferior (0,25 g/100 mL de licor).

Observando-se a Figura 4.28, pode-se verificar que a região de maior adsorção da glicose está em pH 12, confirmando o maior valor observado na Tabela 4.14 (experimento 15), que são os níveis que maximizam a adsorção de glicose na lignina residual. Por esse motivo não é viável utilizar este valor de pH. O melhor valor para reduzir a adsorção de glicose no licor hidrolisado é operar em pH 4.

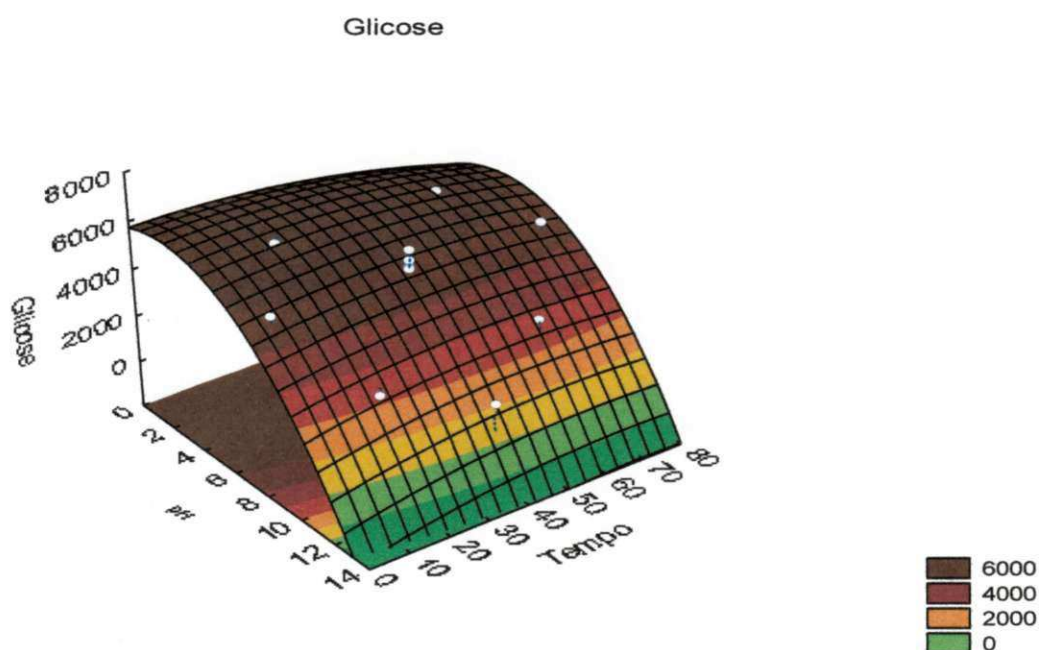


Figura 4.28 - Influências do pH e tempo (min) sobre a adsorção da glicose (mg/L) no licor hidrolisado fixando-se a razão massa de lignina/licor no nível inferior.

Analisando as Figuras 4.29 e 4.30 pode-se verificar que a maior adsorção do HMF e furfural em média encontra-se em pH 12 confirmando também o maior valor observado na Tabela 4.14 (experimento 15), que são os níveis que maximizam a adsorção desses congêneres pela lignina residual, por esses motivos seria viável utilizar esses parâmetros para adsorção dos inibidores da fermentação do licor a ser desenvolvido para posterior uso no estudo de adsorção e da fermentação. No entanto como há também uma alta adsorção de glicose, não consolida-se tais parâmetros como ideais.

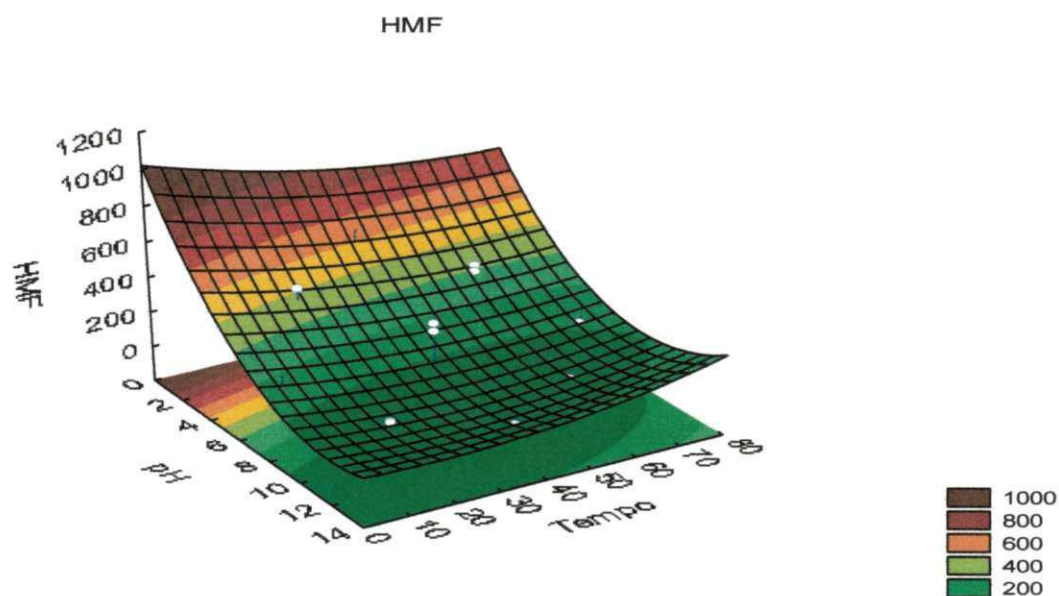


Figura 4.29 - Influências do pH e tempo (min) sobre a adsorção do HMF (mg/L) no licor hidrolisado fixando-se a razão massa de lignina/licor no nível inferior.

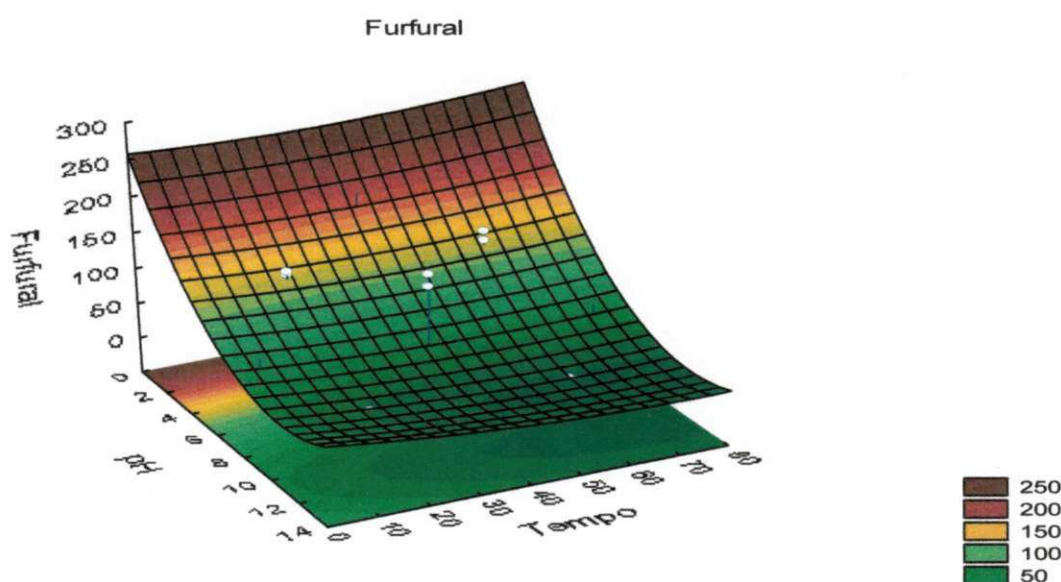


Figura 4.30 - Influências do pH e tempo (min) sobre a adsorção do furfural (mg/L) no licor hidrolisado fixando-se a razão massa de lignina/licor no nível inferior.

De maneira geral, a lignina residual apresentou um grande poder de adsorção dos inibidores estudados, mostrando que a modificação estrutural ocorrida no processo de elevação do pH melhora o desempenho adsorvente da lignina na remoção de tais compostos, tornando um processo eficiente, principalmente quando foi utilizada lignina residual em pH na faixa de 7, pois nesta faixa concomitantemente possui a maior remoção dos inibidores com uma reduzida adsorção dos açúcares, o que é o objetivo deste estudo, região apresentada na Figura 4.31.

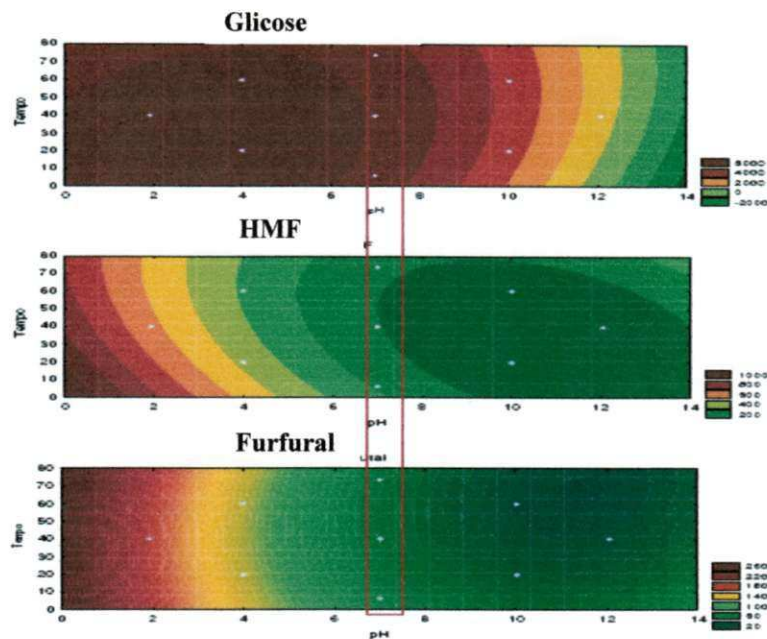


Figura 4.31 - Região de melhor relevância do pH e tempo sobre a adsorção da glicose, HMF e furfural no licor hidrolisado fixando-se a razão massa de lignina/licor no nível inferior que possui a maior remoção dos inibidores com a menor adsorção dos açúcares.

O experimento 10 com pH 7, concentração de 0,45 g/100mL de licor no tempo de 40 minutos, apresenta-se como o mais viável para uso de adsorção em licores para posterior fermentação (produção de etanol), uma vez que ocorreu uma redução de aproximadamente 91% para os inibidores da fermentação e cerca de 22% para o açúcar fermentescível (glicose).

4.6 Estudo cinético da fermentação dos hidrolisados

Nesta seção são apresentados os resultados dos processos fermentativos conduzidos em bioreatores conforme descrito no capítulo 3 (Materiais e Métodos). Seis condições foram ensaiadas do licor hidrolisado: processo LH-C utilizando licor hidrolisado com adição de levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae* (Fleischmann) empregada no processo de panificação, sendo a concentração celular baseada na massa úmida sem cultivo de manutenção; processo LH-I utilizando licor hidrolisado com adição de levedura Industrial *Saccharomyces cerevisiae* FT858 (indústria GIASA) empregada no processo de fermentação para produção de álcool etílico combustível, sendo a concentração celular baseada na massa úmida sem cultivo de manutenção; processo LHA-C utilizando licor hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual com adição de levedura comercial; processo LHA-I utilizando licor hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual com adição de levedura Industrial; processo LHS-C utilizando licor hidrolisado mais adição de suco de caju

com adição de levedura comercial e processo LHS-I utilizando Licor Hidrolisado mais adição de suco de caju com adição de levedura Industrial. A finalidade desses tratamentos diferentes visou analisar a influência do hidrolisado no processo fermentativo, principalmente relacionado ao efeito dos inibidores nas leveduras e no processo de adsorção na eficiência da produção de bioetanol.

Na Tabela 4.19 encontram-se apresentados os resultados obtidos na hidrólise do bagaço de caju proveniente do experimento 6 (200 °C, razão 1:6 e concentração de ácido de 6%) e que foi utilizado como licor padrão para as fermentações em estudo, uma vez que este licor resultou em melhor extração de glicose do BCS, e provavelmente poderá obter um maior rendimento de álcool etílico no processo fermentativo.

Tabela 4.19 - Caracterização físico-química do licor hidrolisado, por cromatografia líquida de alta eficiência, para os açúcares e inibidores da fermentação (concentrações expressas em mg/L)

Amostra	Glicose (mg/L)	Xilose (mg/L)	Arabinose (mg/L)	HMF (mg/L)	Furfural (mg/L)	Ácido acético (mg/L)
1	5993,21	4483,65	0	457,87	148,78	34,29
2	6353,16	4998,43	0	453,32	140,76	38,03
3	6346,24	5016,91	0	423,45	147,82	33,24
MÉDIA	6230,87	4833,00	0,00	444,88	145,79	35,19
Desvio	4,89	13,07	0,00	21,12	4,99	3,39
CV	0,08	0,27	0,00	4,75	3,42	9,63

Pela Tabela 4.19, verifica-se que a repetição (triplicada) apresentou boa reprodutibilidade dos dados, sendo a concentração da glicose no licor hidrolisado de 53,8% do total de compostos analisados.

Os inibidores da fermentação (HMF, furfural e ácido acético) apresentam concentrações no licor hidrolisado abaixo da concentração mínima que é tóxica ao microrganismo na fermentação, ou seja, de acordo com a literatura (PALMQVIST e HAHN-HÄGERDAL, 2000, SANCHEZ e BAUTISTA, 1988), concentrações inferiores de furfural, HMF e ácido acético no licor abaixo de 1 g/L, 1,5 g/L e 3 g/L, respectivamente, não são ofensivos ao microrganismo na fermentação alcoólica. Mas, os autores (LARSSON et al., 1999, FELIPE et al., 1995) afirmam que mesmo em concentrações baixas dos inibidores, é recomendado a detoxificação do licor antes do processo fermentativo, pois há efeitos sinérgicos dos inibidores que podem inibir a fermentação alcoólica.

4.6.1 Cinética de consumo dos açúcares e de produção de etanol

A cinética de consumo dos açúcares e de produção de etanol, por *S. cerevisiae* comercial e *S. cerevisiae* industrial, para as três composições de licores (tratamento), estão apresentados nas Figuras 4.32, 4.33 e 4.34.

Observando a Tabela 4.20, pode-se perceber que o pH praticamente manteve-se constante ao longo do processo fermentativo com seu valor de $4,48 \pm 0,05$; no entanto os sólidos solúveis totais (°Brix) reduziu de 3,5 para 2,4 em média para os licores sem a adição do suco de caju, e com a adição do suco os tratamentos reduziram o °Brix de 6,7 a 3,1, conforme apresentados na Tabela 4.20

Tabela 4.20 – Resultados dos valores de pH e sólidos solúveis totais (°Brix), dos três licores para as duas linhagens de levedura durante o processo fermentativo

Tratamento tempo (h)	LH-C		LH-I		LHA-C		LHA-I		LHS-C		LHS-I	
	pH	°Brix	pH	°Brix	pH	°Brix	pH	°Brix	pH	°Brix	pH	°Brix
0	4,50	3,4	4,51	3,5	4,53	2,9	4,50	3,0	4,45	6,5	4,52	6,7
3	4,48	3,2	4,53	3,2	4,52	2,8	4,47	2,9	4,47	6,3	4,53	6,6
6	4,49	3,2	4,50	3,2	4,51	2,7	4,48	2,8	4,48	6,1	4,49	6,6
12	4,52	3,1	4,49	3,2	4,52	2,6	4,49	2,7	4,49	5,7	4,47	6,5
18	4,51	3,0	4,52	3,2	4,53	2,6	4,50	2,7	4,47	5,2	4,49	6,1
24	4,44	3,0	4,50	3,1	4,49	2,5	4,52	2,7	4,48	4,8	4,47	5,8
36	4,50	2,9	4,47	3,0	4,47	2,4	4,51	2,6	4,49	4,4	4,48	5,6
48	4,51	2,9	4,48	3,0	4,50	2,4	4,44	2,6	4,44	3,8	4,53	5,3
60	4,46	2,8	4,49	3	4,51	2,4	4,43	2,5	4,43	3,3	4,50	5,1
72	4,49	2,7	4,50	2,8	4,48	2,4	4,46	2,5	4,46	3,2	4,49	4,8
84	4,50	-	4,47	-	4,49	-	4,49	-	4,48	3,1	4,51	3,4

Analisando as Figuras 4.32, 4.33 e 4.34, pode-se perceber que as leveduras *S. cerevisiae* comercial (A), levedura *S. cerevisiae* industrial (B) foram capazes de manter um nível relativamente constante de atividade de fermentação durante todo o curso do experimento.

Observa-se ainda que para os dois tipos de leveduras, a linhagem de *S. cerevisiae* comercial apresentou eficiência fermentativa superior em qualquer dos processos fermentativos estudados, quando comparada com linhagem de *S. cerevisiae* industrial. Esse fato pode ser decorrente do grau de viabilidade de cada cepa, como também da quantidade de células inoculadas, uma vez que a quantidade utilizada se fez por meio de massa úmida e não de massa seca, implicando que a umidade da linhagem de *S. cerevisiae* comercial apresenta-se

com 58,05%, enquanto que linhagem de *S. cerevisiae* industrial apresentou 72,62% de umidade.

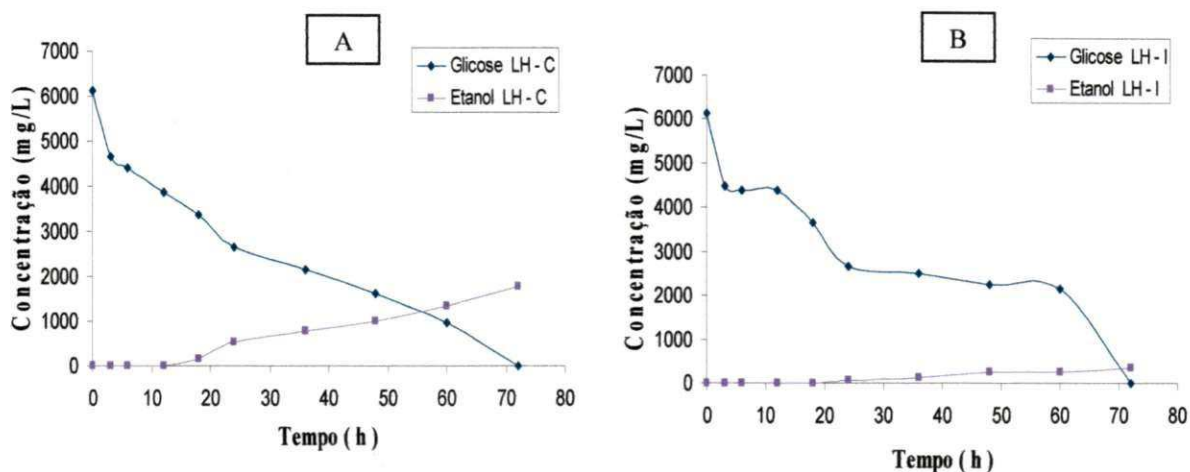


Figura 4.32. Cinética de consumo de glicose e produção de etanol no licor hidrolisado com adição de levedura *S. cerevisiae* comercial (A), levedura *S. cerevisiae* industrial (B).

Segundo Steckelberg et al. (2003), a viabilidade da levedura é, sem dúvida, um aspecto importante no controle da fermentação alcoólica. Quanto maior esse número, melhor será o desempenho do processo. Outros autores como Pavlak et al. (2011), Souza et al. (2005) e Urbano et al. (2007) estudando a linhagem *S. cerevisiae* comercial observaram que estas apresentaram maior eficiência no processo fermentativo quando comparadas com outras linhagens. Valores de eficiência inferiores, foram encontrados por Loss et al. (2006) ao estudarem a influência de três linhagens comerciais de *S. cerevisiae* na produção de aguardente de milho maltado.

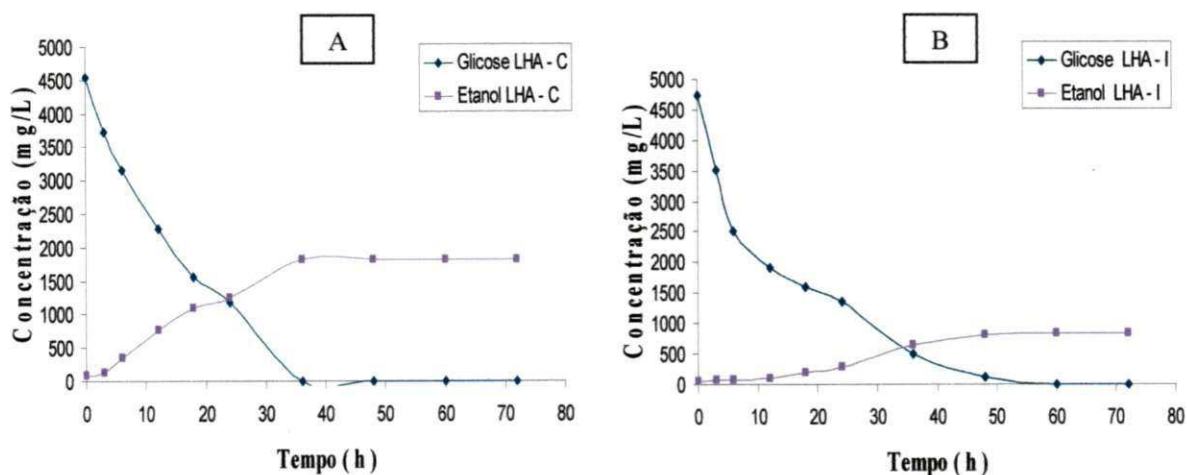


Figura 4.33. Cinética de consumo de glicose e produção de etanol no licor hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual com adição de levedura *S. cerevisiae* comercial (A), levedura *S. cerevisiae* industrial (B).

Baseando-se em todos os resultados obtidos para consumo de substrato (glicose) e formação de produto (etanol) em mg/L, em função do tempo de fermentação para cada amostra analisada, pode-se observar que todas apresentaram comportamentos semelhantes. Desta forma pode-se dizer que, em todos os casos avaliados, a formação do produto está associada à decomposição do substrato. Segundo Schmidell et al. (2001) esta configuração apresenta o caso em que o produto formado (metabólito primário) está diretamente ligado às reações do catabolismo ou decomposição do substrato.

Verifica-se que as leveduras levaram em torno de 12 h para iniciarem a produção de álcool, exceto as leveduras do tratamento do licor hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual com adição de levedura *S. cerevisiae* comercial (A) e licor hidrolisado com adição de levedura *S. cerevisiae* industrial (B), que levaram 3 e 24 h, respectivamente, para adaptação ao meio. Torres Neto et al. (2006) estudando a elaboração de fermentado de caju, observaram em seus estudos uma fase de adaptação do microrganismo ao meio, em torno de 10 horas de fermentação; no entanto, Bortolini et al. (2001) estudando a fermentação alcoólica do kiwi, também utilizando-se de levedura *S. cerevisiae*, observaram a adaptação celular entre 12 e 36 horas de fermentação.

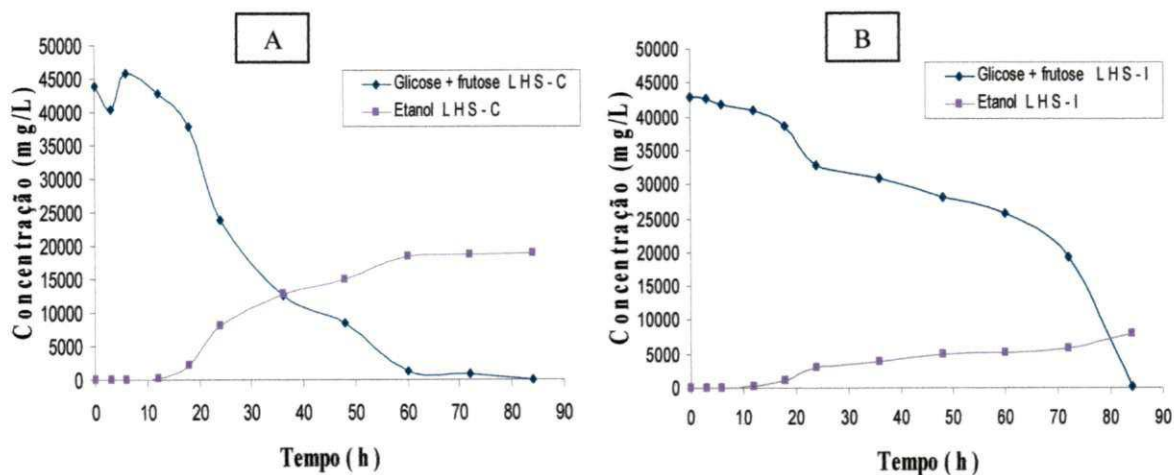


Figura 4.34. Cinética de consumo de glicose + frutose e produção de etanol no licor hidrolisado mais adição de suco de caju com inoculação de levedura *S. cerevisiae* comercial (A), levedura *S. cerevisiae* Industrial (B).

Conforme mostrado nas Figuras 4.32, 4.33 e 4.34, pode-se verificar que a quantidade de etanol produzido foi de 1789, 359, 1821, 833, 22235 e 7983 mg/L, respectivamente para licor hidrolisado com adição de levedura *S. cerevisiae* comercial (LH-C), levedura *S. cerevisiae* industrial (LH-I); licor hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual com adição de levedura *S. cerevisiae* comercial (LHA-C), levedura *S. cerevisiae* industrial (LH-I) e licor hidrolisado mais adição de suco de caju com adição de levedura *S. cerevisiae* comercial (LHS-C), levedura *S. cerevisiae* industrial (LHS-I).

Quando comparado os hidrolisados com e sem o processo de adsorção com lignina residual tem-se que a fermentação com o processo de adsorção apresenta o tempo de fermentação reduzido de 72 para 48 h, desta forma melhorando a fermentabilidade do processo, no entanto vale ressaltar que a adsorção além de reduzir as concentrações de inibidores da fermentação (furfural, hidroximetilfurfural e ácido acético) também adsorve (reduz) quantidade de açúcares, nos licores em estudo. A adsorção reduziu em cerca de 25% o teor de glicose, conforme apresentados na Figura 4.33, influenciando assim no rendimento da produção de etanol no processo como um todo.

Os produtos provenientes da degradação dos açúcares durante a hidrólise ácida são furfural e hidroximetilfurfural (PALMQVIST e HAHN-HÄGERDAL, 2000). As fermentações realizadas na presença de furfural, hidroximetilfurfural e ácido acético (licores sem tratamentos de adsorção) demonstraram que os referidos compostos inibem o crescimento celular em concentrações abaixo de 1,0, 1,5 e 3,0 g/L. respectivamente (SANCHEZ e BAUTISTA, 1988, FELIPE et al., 1995). Segundo Larsson et al. (1999), o ácido fórmico, que é o produto proveniente da degradação do furfural e do hidroximetilfurfural sob temperaturas elevadas, possui um maior potencial inibidor sobre a atividade fermentativa de *Saccharomyces cerevisiae* que o ácido acético e o levulínico.

Pode-se perceber que tais inibidores estão presentes nos licores, porém com concentrações baixas (444,88, 148,79, 35,19 mg/L de furfural, HMF e ácido acético respectivamente) o que pode ter retardado o tempo para a produção de álcool etílico pelas leveduras no licores, principalmente a levedura *S. cerevisiae* industrial que estava adaptada a outras condições de meios fermentativos (alta concentração de glicose e baixas concentrações de compostos inibidores).

4.6.2 Eficiência fermentativa

A partir da concentração inicial de glicose nas amostras dos licores no momento do inóculo da levedura, foi calculada a porcentagem de conversão (rendimento) destes açúcares no processo fermentativo. Observou-se a cinética de consumo de glicose e produção de etanol até que todos açúcares fermentescíveis fossem consumidos pelas leveduras *S. cerevisiae*.

As Figuras 4.35, 4.36 e 4.37 apresentam os perfis do rendimento fermentativo em função do tempo dos ensaios realizados nos três licores para as duas linhagens de leveduras em estudo.

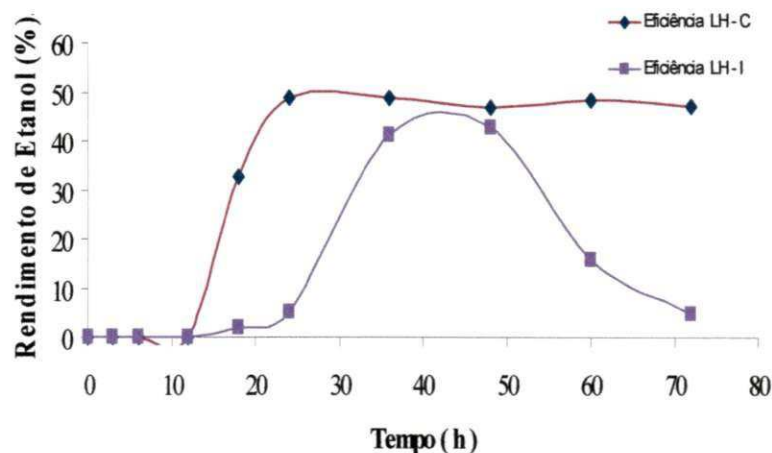


Figura 4.35- Rendimento de etanol em função do tempo de fermentação no Licor Hidrolisado com adição de levedura *S. cerevisiae* comercial (—◆—), levedura *S. cerevisiae* Industrial (—■—).

Através destes dados observa-se que os licores que estão com inóculo leveduras *S. cerevisiae* comercial apresentam um maior intervalo de rendimento em relação as leveduras *S. cerevisiae* Industrial, e que este intervalo começa após 12 h e segue até o final da fermentação, exceto para o licor que foi decorrente do processo de adsorção, onde o intervalo de rendimento ocorreu entre 6 a 36 h de fermentação (Figura 4.36).

Para os licores que foram inoculados com leveduras *S. cerevisiae* industrial, seus rendimentos ocorreram nos intervalos de 24 a 48 h no licor hidrolisado (LH-I), Figura 4.35, entre 6 a 36 horas no licor hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual (LHA-I), Figura 4.36 e entre 18 a 48 h no licor hidrolisado mais adição de suco de caju (LHS-I), Figura 4.37.

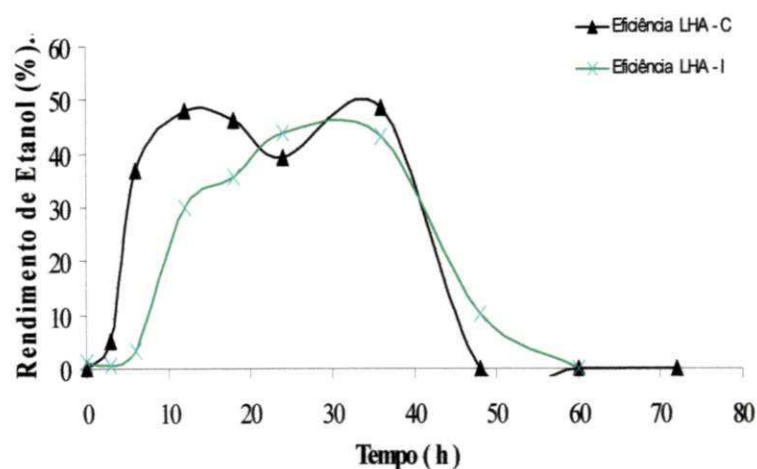


Figura 4.36- Rendimento de etanol em função do tempo de fermentação no Licor Hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual com adição de levedura *S. cerevisiae* comercial (—▲—), levedura *S. cerevisiae* Industrial (—▼—).

Analisando os resultados, tem-se que o período de rendimento máximo da fermentação ocorreu no licor hidrolisado mais adição de suco de caju com adição de levedura

S. cerevisiae comercial (LHS-C), no intervalo de fermentação entre 36 a 48 horas, que foi de 50,70% (Figura 4.37).

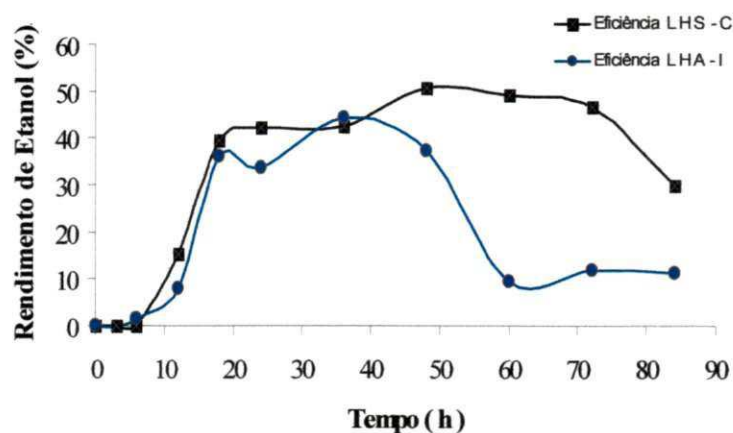


Figura 4.37- Rendimento de etanol em função do tempo de fermentação no Licor Hidrolisado mais adição de suco de caju com adição de levedura *S. cerevisiae* comercial (—■—), levedura *S. cerevisiae* Industrial (—●—).

Na Tabela 4.21 encontram-se apresentados os resultados dos rendimentos e eficiência da fermentação dos três tratamentos nos licores para as duas linhagens de leveduras em estudo, obtidos na hidrólise do bagaço de caju.

Tabela 4.21 – Resultada em percentual dos rendimentos e eficiência da fermentação dos três tratamentos nos licores para as duas linhagens de levedura no processo fermentativo

Licores	LH-C	LH-I	LHA-C	LHA-I	LHS-C	LHS-I
Rendimento teórico ($Y_{P/S}$) %	28,31	5,87	28,82	13,19	43,12	18,57
Eficiência %	55,40	11,49	56,40	25,82	84,38	36,33

Observa-se que o licor hidrolisado mais adição de suco de caju com adição de levedura *S. cerevisiae* comercial (LHS-C) apresentou o maior rendimento e eficiência no processo de fermentação para os licores em estudo, com o rendimento teórico de 43,12% (máximo 51,1%) e eficiência de 84,38%, enquanto que o licor hidrolisado com adição de levedura *S. cerevisiae* industrial (LHS-I) apresentou o menor rendimento e eficiência com 5,87 e 11,49% respectivamente.

Comparando os tratamentos estudados, observa-se que sempre com adição de levedura comercial, as eficiências foram superiores aos processos utilizando-se levedura industrial. Esse fato pode ser supostamente explicado em função da característica da levedura Industrial ser bastante eficiente em substratos com concentrações de açúcares acima de 150 g/L. Em baixas concentrações de glicose pode estar ocorrendo a respiração, pois este metabolismo apenas é possível na presença de oxigênio e em baixa concentração de açúcar, pois em

anaerobiose ou em altas concentrações de açúcar e aerobiose, a levedura preferencialmente fermenta (efeito cabtree).

Assim, em futuros trabalhos deve-se estudar o tratamento de concentração do licor hidrolisado *in natura* (10 vezes- passar de 6 para 60 g/L) mais adição de suco de caju, para facilitar a metabolização da levedura Industrial.

Serão apresentados dois cenários no tratamento por adsorção do licor hidrolisado antes da fermentação alcoólica. Para o primeiro cenário na Tabela 4.22 estão apresentados os resultados comparativos dos rendimentos e eficiências da fermentação do licor hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual (LHA), com adição dos dois tipos de leveduras *S. cerevisiae* comercial e industrial, considerando para efeito de cálculo a quantidade de glicose após a destoxificação, analisando com e sem a redução da glicose por meio da adsorção pelas leveduras.

Tabela 4.22 – Comparativo percentual dos rendimentos e eficiência da fermentação dos licores hidrolisados com e sem redução da glicose por meio da adsorção pelas leveduras

Licores	LHA-C sem	LHA-C com	LHA-I sem	LHA-I com
Rendimento (%)	40,06	28,82	17,57	13,19
Eficiência (%)	78,40	56,40	34,39	25,82

Nota-se que a eficiência diminuiu 22% (passando de 78,40 para 56,40%) para o licor hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual com adição de levedura *S. cerevisiae* comercial e para o licor hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual com adição de levedura *S. cerevisiae* industrial houve uma diminuição na eficiência de percentual de 8,57% (passou de 34,39 para 25,82%), considerando as perdas de glicose adsorvida no processo de tratamento de destoxificação.

A Tabela 4.23 apresenta os resultados para o segundo cenário, ou seja, quando se compara as eficiências das fermentações pelo tratamento de destoxificação, considerando a mesma concentração inicial de glicose do licor hidrolisado após tratamento por adsorção.

Tabela 4.23 – Resultados em percentual dos rendimentos e das eficiências das fermentações dos licores para as duas linhagens de levedura no processo sem destoxificação (licor hidrolisado *in natura*) e com tratamento de adsorção (destoxificação)

Licores	LH-C	LH-I	LHA-C	LHA-I
Rendimento teórico - $Y_{P/S}$ (%)	28,31	5,87	28,82	13,19
Eficiência (%)	55,40	11,49	56,40	25,82

Observa-se, em geral, que há aumento das eficiências quando se usa o licor hidrolisado tratado (destoxificação), ou seja, para a levedura comercial, há um ligeiro aumento de 55,40 para 56,40% (1% de diferença) e quando se usa a levedura Industrial há um maior aumento (de 11,49 para 25,82%), 14,33% de diferença. Isso mostra que o processo de adsorção faz com que o licor aumente a fermentabilidade no processo de fermentação alcoólica.

Analisando os resultados de rendimento e eficiência em bioetanol da fermentação dos licores em estudo em comparação a outros resíduos, pode-se verificar que ambos são promissores, principalmente para licor hidrolisado mais adição de suco de caju com adição de levedura *S. cerevisiae* comercial (LHS-C) cujos valores se aproximam daqueles obtidos com o caldo da cana-de-açúcar. A Tabela 4.24 apresenta essas comparações.

Tabela 4.24 – Valores de rendimento teórico em bioetanol, obtidos em fermentações com diferentes tipos de substratos

Fonte de carbono	$Y_{p/s}$	Referência
Bagaço de caju	0,43	Este trabalho, para o (LHS-C)
cana-de-açúcar	0,43	Ribeiro e Horii (1999)
bagaço de maçã	0,44	Nogueira et al. (2005)
farelo de trigo	0,38	Palmarola-Adrados et al. (2005)
cavacos de madeira	0,40	Sassner et al. (2006)
farelo de mandioca	0,39	Ferreira et al. (2006)
mel	0,41	Ilha et al. (2008)
cascas de banana	0,34	Schulz (2010)

Observando-se a Tabela 4.24, nota-se que o rendimento teórico deste trabalho é, semelhante aos da literatura para outros materiais lignocelulósicos.

Segundo Lima et al. (2001) valores de eficiência em torno de 90%, ou seja, de que $Y_{p/s}$ 0,46 são considerados ótimos para processos industriais. Segundo o mesmo autor, estudos sobre eficiências fermentativas de processos com substratos açucarados, demonstraram que o fator de conversão variou entre 0,43 a 0,47. Considerando que os ensaios, utilizando o hidrolisado, licor hidrolisado com adição de suco de caju com levedura *S. cerevisiae* comercial (LHS-C) apresentou o maior rendimento entre os tratamentos estudados (0,43), pode-se afirmar que foi uma boa eficiência.

4.7 Estimativas da produção de etanol a partir do bagaço do pedúnculo de caju

O processo de produção deste combustível a partir dos açúcares solúveis é considerado combustível de primeira geração (sem ataque da parede celular). Somando-se a isso, após a remoção dos açúcares solúveis fermentescíveis, ainda sobra uma biomassa sólida, que através dos processos (pré-hidrólise e hidrólise) podem ser convertidas em etanol de segunda geração. Com os dados da quantidade de glicose e eficiência fermentativa, a partir do bagaço do pedúnculo de caju, foram realizadas as estimativas para a produção de etanol celulósico na biomassa em estudo.

Considerando a produção média de álcool etílico para bagaço seco de caju 166,67 g /L de licor, e que 25,60% (celulose) desta massa será utilizada para produzir etanol 42,66 g de celulose/L de licor. Segundo Rossel (2006b) e Jardine et al. (2009) um processos de hidrólise em termos de insumos e rendimento na sacarificação (hidrólise) o máximo de conversão de celulose para glicose é de 90%, com isso a massa passa a assumir 38,40 g de celulose/L de licor. Convertendo toda esta massa em glicose tem-se 42,66 g de glicose/L de licor, pois estequiometricamente tem-se para 1 g de glicose / 0,9 g de celulose.

Assim, a produção média de etanol para bagaço de pedúnculo de caju de resíduo seco, pode-se conseguir aproximadamente 21,80 g de etanol celulósico por litro de licor, ou seja, 0,13 g de etanol/g de bagaço. Somando-se a isso o suco extraído na primeira lavagem, o rendimento máximo passaria a ser 32,10 g de etanol/L de licor.

Na Figura 4.38 é mostrado o balanço de massa para a produção de etanol celulósico a partir do processamento do bagaço do pedúnculo do caju seco para os três processos de fermentação pela levedura *S. cerevisiae* comercial, apresentando rendimentos e eficiências em todos os processos envolvidos na obtenção do álcool etílico em estudo.

Portanto, o rendimento e eficiência do processo de obtenção de etanol celulósico a partir do processamento do bagaço do pedúnculo do caju seco do presente estudo merece ser mais estudado, buscando otimizar o processo em estudo, para que, num futuro próximo, possa vir a ser promissor para a produção de etanol utilizando o licor hidrolisado com a adição da solução açucarada extraída na primeira lavagem (lavagem para retirada de sólidos solúveis totais), com concentração do licor hidrolisado antes da mistura com o suco de caju, para aumentar a concentração inicial de glicose, por evaporação (10 vezes) e ter um substrato com concentração inicial maior que 40 g/L de glicose no licores (LHS-C ou LHS-I).

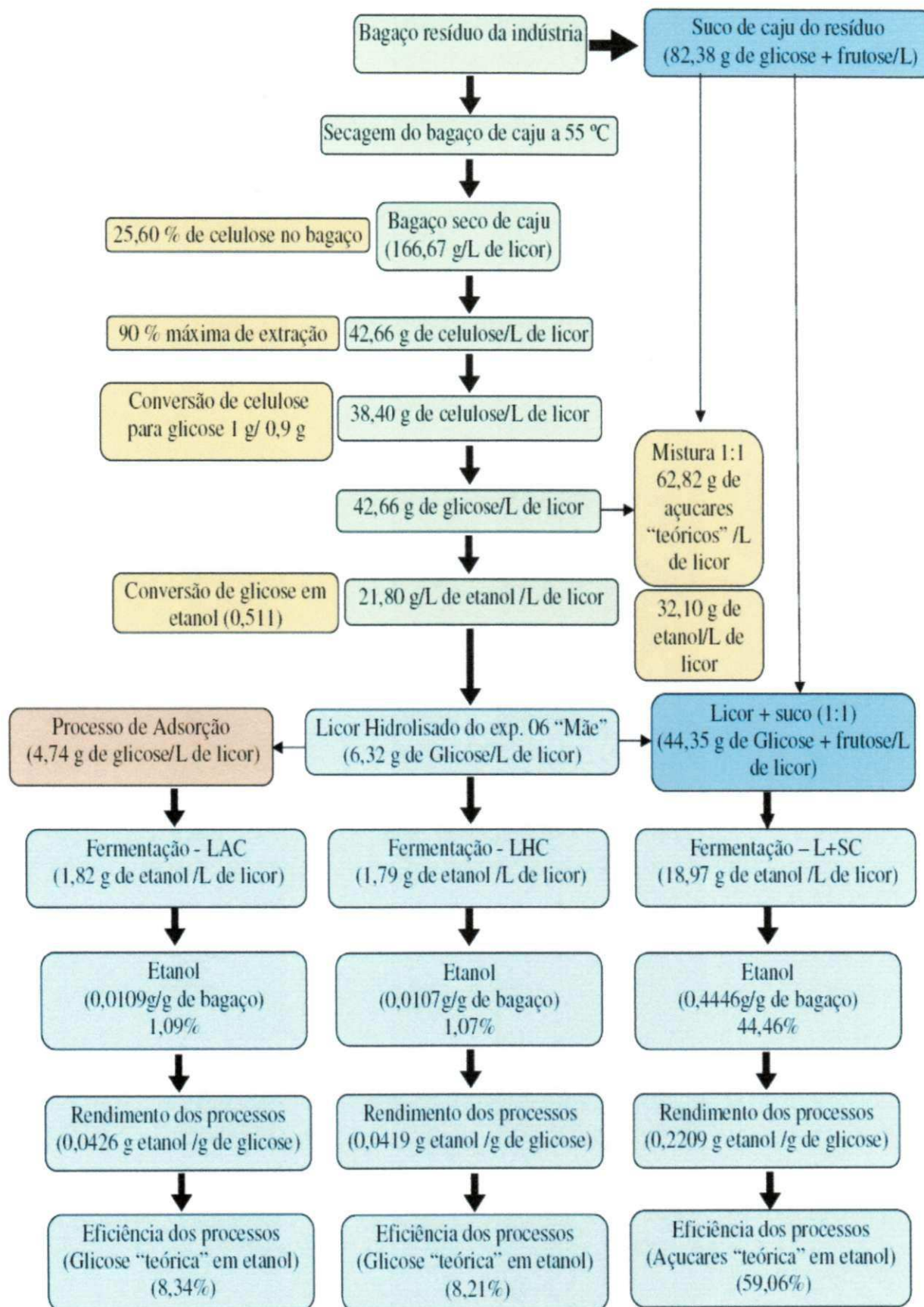


Figura 4.38 - Balanço de massa para a produção de etanol celulósico a partir do processamento do bagaço do pedúnculo do caju seco.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente estudo pode-se concluir que:

- O bagaço de caju, com base na sua caracterização química e físico-química, apresenta-se como uma fonte promissora de celulose, para a hidrólise ácida, visando a obtenção de bioetanol;
- Na identificação do melhor intervalo de tempo de reação de pré-hidrólise e hidrólise no reator, para maior obtenção e menor degradação dos açúcares do bagaço do pedúnculo de caju, foram considerados os mais viáveis o período de tempo estabelecido entre 75 a 105 min e 60 a 75 min respectivamente;
- O processo de pré-hidrólise ácido do bagaço de caju foi eficaz na remoção da hemicelulose; principalmente na extração da arabinose e a temperatura foi a variável de maior influência na extração das pentoses;
- O experimento da pré-hidrólise ácida com as seguintes condições: temperatura de 105 °C, concentração de ácido igual a 3% e razão de 1:6, onde houve uma remoção de 9563,74 mg/L de xilose e arabinose e apenas 751,13 mg/L de glicose, apresentou-se como mais viável para ser usado na etapa seguinte a hidrólise;
- No processo de hidrólise ácida do bagaço de caju, a concentração do ácido foi a variável de maior influência visando a extração da glicose e a temperatura sobre a degradação dos açúcares em furfural, hidroximetilfurfural – HMF e ácido acético;
- O experimento realizado na hidrólise ácida com as seguintes condições: temperatura de 200 °C, concentração de ácido igual a 6 % e razão de 1:6, apresenta a combinação da maior concentração de açúcares com a mínima concentração de compostos tóxicos;
- No estudo de adsorção (destoxificação) dos congêneres furfural, hidroximetilfurfural – HMF e ácido acético pela lignina residual do processo de hidrólise, teve o pH como a variável de maior influência visando a remoção desses compostos no licor;
- O experimentos com pH 7, concentração de 0,45 g/100mL de licor no tempo de 40 minutos, apresentou-se como o mais viável para uso de adsorção em licores para posterior fermentação (produção de etanol);

- Estudo cinético da fermentação alcoólica do licor hidrolisado para os dois tipos de leveduras, a linhagem de *S. cerevisiae* comercial apresentou melhor eficiência fermentativa em qualquer dos processos fermentativos estudados (3 tratamentos);
- Na fermentação utilizando o licor do processo de adsorção por lignina residual, o tempo de fermentação foi reduzido de 72 para 48 h, melhorando a fermentabilidade do processo;
- A produção média de etanol para bagaço de pedúnculo de caju de resíduo seco pode chegar à aproximadamente 21,80 g de etanol celulósico por litro de licor, ou seja, 0,13 g de etanol/g de bagaço. Se somado a isso, à solução açucarada do lixiviado da lavagem do bagaço extraído na primeira lavagem, o rendimento máximo passaria a ser 32,10 g de etanol/L de licor;
- O rendimento e eficiência do processo de obtenção de etanol celulósico a partir do processamento do bagaço do pedúnculo do caju seco máximos foi respectivamente de 0,445 g de etanol/g de bagaço e 87,1% para o licor hidrolisado com a adição do suco de caju.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Continuar o estudo da hidrólise ácida para maximização de eficiência do processo utilizando o bagaço do pedúnculo do caju seco;

Estudo da fermentação do licor da pré-hidrólise, rico em pentoses, para produção de xilitol e etanol utilizando-se de *Candida* e *Pichia*;

Estudar a dessorção dos inibidores para a obtenção e isolamento dos compostos furfural e hidroximetilfurfural provenientes da hidrólise ácida do bagaço de caju, por ser de interesse industrial e de valor comercial;

Estudar outros tratamentos do licor hidrolisado para o processo de fermentação alcoólica, como a concentração de glicose por evaporação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABASAEED, A. E. **Kinetic and process studies on free and solid acid catalyzed hydrolysis of biomass substrates**. 1987, 191f. Tese (Doutorado) - Universidade de Auburn, Alabama.

ADENE (Agencia para a Energia) & AREAC (Agência Regional de Energia e Ambiente do Centro). **Energias renováveis em meio urbano**. Boletim técnico, março de 2005.

AGOSTINI-COSTA, T.S.; JALES, K.A.; GARRUTI, D.S. Teores de ácido anacárdico em pedúnculos de cajueiro *Anacardium microcarpum* e em oito clones de *Anacardium occidentale* var. *nanum* disponíveis no Nordeste do Brasil. **Revista Ciência Rural**, v.34, n.4, p.1075-1080, 2004.

AGUILAR, R.; RAMÍREZ, J.A.; GARROTE, G.; VÁZQUEZ, M. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. **Journal of Food Engineering**, v.5, n.4, p.09-318, 2002.

AKSU, Z.; YENER, J. Investigation of the biosorption of phenol and monochlorinated phenols on the dried activated sludge. **Process Biochemistry**, v.33, n.6, p.649-655, 1998.

ALAIN A.V. **Biomass to Biofuels: Strategies for global industries**. Illinois, USA This edition first published Sloan Fellowship 2010.

ALLEN, S.G.; SCHULMAN, D.; LICHWA, J.; ANTAL, M.J.; LASER, M.; LYND, L.R. A comparison between hot liquid water and steam fractionation of corn fiber. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v.40, p.2934-2941, 2001.

ALVES, L.A.; FELIPE, M.G.A.; ALMEIDA e SILVA, J.B.; SILVA, S.S.; PRATA, A.M.R. Pretreatment of sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.70, p.89-98, 1998.

ALVIRA, P.; TOMÁS-PEJÓ, E.; BALLESTEROS, M.; NEGRO, M.J. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Biotechnology**, v. 101, p. 4851-4861, 2010.

AMORIM, V.A. **Fermentação alcoólica: Ciência e tecnologia**. Piracicaba: FERMENTEC. 2005, 434p.

ARANTES, V.; SADDLER, J.N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. **Biotechnology for Biofuels**, doi:10.1186/1754-6834-3-4, 2010. Disponível em www.biotechnologyforbiofuels.com/content/3/1/4.

AZEVEDO, M. M. R. **Valor nutritivo do pseudofruto de clones de cajueiro para ovinos**. 2011, 101f. Tese (Doutor em Ciência Animal) Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, Teresina, PIAUÍ.

BALAT, M.; BALAT, H.; ÖZ, C. Progress in bioethanol processing. **Progress in Energy and Combustion Science**, v.34, n.25, p.551-553, 2008.

BARACHO, T.H.A.; SILVA, F.L.H.; TORRES NETO, A.B. Utilização de matérias-primas lignocelulósicas para produção de álcool etílico: estudos da hidrólise ácida da palma forrageira e da destilação do hidrolisado fermentado. **Anais... In: VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**, 08, 2009 Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. 2009. CD-Rom.

BARBOSA, F.F.; TOKACH, M.D.; DEROCHEY, J.M.; GOODBAND, R.D.; NELSEN, J.L.; DRITZ, S.S. Variation in chemical composition of soybean hulls. **Swine Day**, p.158-165, 2008.

BARRE, P.; BLONDIN, B.; DEQUIN, S.; FEUILLAT, M.; SABLAYROLLES, J.M.; SALMON, J.M. La levadura de fermentación alcohólica. In: FLANZY, C. **Enología: fundamentos científicos e tecnológicos**. Madrid: Mundi-Prensa e AMV, p. 274-315, 2000.

BASTOS, V.D. **Etanol, alcoolquímica e biorrefinarias**. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 25, p.5-38, março, 2007.

BEVILAQUA, D. B. **Produção de ácido levulínico por meio de hidrólise ácida da casca de arroz**. 2010, 87f. Dissertação (Mestre em Química). Centro de Ciências Naturais e Exatas. Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2010.

BNDES - Banco Nacional do Desenvolvimento Econômico e Social; Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. **Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável**. Rio de Janeiro: BNDES, 316p, 2008.

- BOTARO, V.R.; CURVELO, A.A.D. Monodisperse lignin fractions as standards in size-exclusion analysis: comparison with polystyrene standards. **Journal of Chromatography A**, v.1216, n.18, p.3802-3806, 2009.
- BOTELLA, C.; DIAZ, A.; ORY, I.; WEBB, C.; BLANDINO, A. Xylanase and pectinase production by *Aspergillus awamori* on grape pomace in solid state fermentation. **Process Biochemistry**, v.42, n.1, p.98-101, 2007.
- BORTOLINI, F; SANT'ANNA, E.S.; TORRES, R.C. Comportamento das fermentações alcoólica e acética de sucos de kiwi (*Actinidia deliciosa*); Composição dos mostos e métodos de fermentação acética. **Ciências e Tecnologia dos Alimentos**, v.21, n.2, p.236-246, 2001.
- BOX, G.E.P.; HUNTER, W.G.; HUNTER, J.S. **Statistics for experiments: an introduction to design, data analysis and model building**, New York: Wiley e Sons Inc, 1978, 653p.
- BRANDÃO, M.C.C.; MAIA, G.A.; LIMA, D.P.; PARENTE, E.J. de S.; CAMPELLO, C.C.; NASSU, R.T.; FEITOSA, T.; SOUSA, P.H.M. Análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de pedúnculos de caju submetidos a desidratação osmótico-solar. **Revista Ciência Agronômica**, v.34, n.2, p.139-145, 2003.
- BRASIL. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. Ministério da Saúde, Instituto Adolfo Lutz, 4 ed. Brasília, 2005, 1018p.
- BUDNY, D.; SOTERO, P. The global dynamics of biofuels. **Brazil Institut Special Report**. Potential supply and demand for ethanol and biodiesel in the coming decade. n.3, 2007. Disponível em http://www.wilsoncenter.org/topics/pubs/Brazil_SR_e3.pdf.
- BUTT, H.J.; GRAF, K.; KAPPL, M. **Physics and chemistry of interfaces**. 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, 2006.
- CANETTIERI, E.V.; SILVA, J.B.A e CARVALHO Jr., J.A. Hidrólisis ácida de biomasa: Optimización de la extracción de xilosa a partir de residuos de *Eucalyptus grandis*. In: **Congreso internacional sobre azúcar y derivados de la caña – Diversificacación**, 8 Proceedings..., Habana, Cuba, 2004.
- CANETTIERI, E.V. **Obtenção dos parâmetros e estudo cinético da hidrólise ácida dos resíduos florestais de eucalipto**. 2004, 145f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, 2004.

CANETTI, E.V.; SILVA, J.A.B. e FELIPE, M.G.A. Obtenção biotecnológica de xilitol a partir de cavacos de eucalipto. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.38, n.3, p.323-331, 2002.

CANILHA, L.; SILVA, J.B.A.; FELIPE, M.G.A. e CARVALHO, W. Batch xylitol production from wheat straw hemicellulosic hydrolysate using *Candida guilliermondii* in a stirred tank reactor. **Biotechnology Letters**, v.25, p.1811-1814, 2003.

CANILHA, L.; CARVALHO, W.; FELIPE, M.G.A.; SILVA, J.B.A.; GIULIETTI, M. Ethanol production from Sugarcane Bagasse Hydrolysate Using *Pichia stipitis*. **Applied Biotechnology**, v.161, n.1-8, p.84-92, 2010.

CANILHA, L.; CARVALHO, W.; SILVA, J.B.A. Estratégia de preparação do inoculo para bioprodução de xilitol utilizando hidrolisado de palha de trigo. **Brazilian Journal of Food Technology**. Edição extra, p.117-120, 2005.

CANILHA, L.; SILVA, J.B.A. e SOLENZAL, A.I.N. Eucalyptus hydrolysate detoxification with activated charcoal adsorption or ion-exchange resins for xylitol production. **Process Biochemistry**, v.39, p.1909-1912, 2004.

CARLILE, M.J.; WATKINSON, S. C.; GOODAY, G. W. **The fungi**. 2.ed. London: Ed. Elsevier Academic Press, 2002. 588p.

CARRASCO, F. Thermo-mechano-chemical pretreatment of Wood in process development unit. **Wood Science and Technology**, v.26, p.413-426, 1992.

CARIOCA, J.O.B.; ARORA, H.L. **Recycling process for human food and feed from residues and resources**. Fortaleza: UFC/ Banco do Nordeste, 2000. 428p.

CARVALHO, G.B.M.; GINORIS, Y.P.; CANDIDO, E.L.; CANILHA, L.; CARVALHO, W. e SILVA, J.B.A. Estudo do hidrolisado de eucalipto em diferentes concentrações utilizando evaporação a vácuo para fins fermentativos. **Revista Analytica**, v.1, n.14, p.54-57, 2005.

CASSALES, A. R. **Otimização da hidrólise da casca de soja (*Glycine max*) e avaliação da capacidade de produção de xilitol e etanol por microrganismos sobre este hidrolisado**. 2010, 123f. Tese (Ciência e Tecnologia de Alimentos) Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre-RS, 2010

CHANG, C.; MA, X.J.; CEN, P.L. Kinetics of levulinic acid formation from glucose decomposition at high temperature. **Chinese Journal of Process Engineering**, v.14, n.5, p.708-712, 2006.

CHANG, V.S.; HOLTZAPPLE, M.T. Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.84, p.5-37, 2000.

CHEMICAL ENGINEERING. **The path to biorefineries**. Disponível em: <www.che.com>, p.7-30, abril de 2009.

CHRISTOFOLETTI, G.B. **Estudo dos efeitos de etapas de pré-tratamento na hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar**. 2010, 143f. Dissertação (Mestrado—Ciência e Engenharia de Materiais. – Escola de Engenharia de São Carlos, Instituto de Física de São Carlos, Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo.

CHENG, K.; CAI, B.; ZHANG, J.; LING, H.; ZHOU, Y.; GE, J.; XU, J. Sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for ethanol production by acid recovery process. **Biochemical Engineering Journal**, v.38, p.105-109, 2008.

CONNER, A.H.; WOOD, B.F.; HILL, C.G.; HARRIS, J.F. Cellulose: structure, modification and hydrolysis. In: YOUNG, R. A.; ROWELL, R. M. (Ed.). **Structure, swelling and bonding of cellulose fibers**. New York: John Wiley, p.281-296, 1986.

CORTEZ, D.V. **Influência dos produtos de degradação de lignina na bioconversão de xilose em xilitol por *Candida guilliermondii***. 2005. 100f. Dissertação (Mestrado) Faenquil, Lorena.

CORTEZ, L.A.B. **Bioetanol de cana de açúcar P&D para produtividade e sustentabilidade.**, Editora Blucher, São Paulo, 2010, 954p.

D'ALMEIDA, M.L.O. **Composição química de materiais lignocelulósicos. Celulose e papel – Tecnologia de fabricação da pasta celulósica**. São Paulo: Escola SENAI, v.2, 1998, p.26.

DELGENES, J.P.; MOLETTA, R.; NAVARRO, J.M. Effects of lignocellulose degradation products on ethanol fermentations of glucose and xilose by *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis*, *Pichia stipitis* and *Candida shehatae*. **Enzyme and Microbial Technology**, v.19, p.220-225, 1996.

DOMÍNGUEZ, J.M. **O efecto de los productos de degradación originados en la explosión por vapor de biomassa de chopo sobre *Kluyveromyces marxianus***. Tesis (Doutorado). Universidad Complutense, Madrid, 2003.

DUARTE, H.C. **Hidrólise do bagaço da cana com acido clorídrico concentrado**. 1989, 112 f. Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.

DUARTE, L.C.; CARVALHEIRO, F.; NEVES, I.; GÍRIO, F.M. Effects of aliphatic acids, furfural, and phenolic compounds on *Debaryomyces hansenii* CCM1 941. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v.121-124, p.413-425, 2005.

EMBRAPA. Informática Agropecuária. Considerações sobre o bioetanol lignocelulósico para subsidiar a elaboração de conteúdo da árvore do conhecimento agroenergia. **Documentos**, 95. ISSN 1677-9274. Novembro, 2009.

FARIA, F.S.E.D.V. **Influência de duas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* na elaboração de fermentados de caju (*Anacardium occidentale*, L.) em diferentes condições de fermentação**. 1994, 99f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE.

FELIPE, M.G.A.; MANCILHA, I.M.; VITOLO, M.; ROBERTO, I.C.; SILVA, S.S.; ROSA, S.A. Fermentation of eucalliptus hemicellulosic hydrolysate to xylitol by *Candida guilliermondii*. **Bioresource Technology**, v.56, p.281- 283, 1996.

FELIPE, M.G.A.; VIEIRA, D.C.; VITOLO, M.; SILVA, S.S. Environmental parameters affecting xylitol production from sugar cane bagasse hemicellulosic hydrolysate by *Candida guilliermondii*. **Journal of Basic Microbiology**, v.18, p. 251-254, 1997.

FELIPE, M.G.A.; VIEIRA, D.C.; VITOLO, M.; SILVA, S.S.; ROBERTO, I.C.; MANCILHA, I.M. Effect of acetic acid on xylose fermentation to xilitol by *Candida guilliermondii*. **Journal of Basic Microbiology**, v.35, n.3, p.171-177, 1995.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood chemistry, ultrastructure, reactions**. Berlin: Walter de Gruyter, 1989.

FERRAZ, A.; MENDONÇA, R.; COTRIM, A.R.; SILVA, F.T. **The use of white-rot decaying as a pretreatment for organosolv delignification of *Eucalyptus grandis* wood**.

Wokshop on Applications of Biotechnology in Bioenergy Systems, Anais.1994, Ottawa, Canadá.

FERREIRA, A.C.H.; NEIVA, J.N.M.; RODRIGUES, N.M.; CAMPOS, W.E.; BORGES, I. Características químicas e fermentativas do capim-elefante ensilado com níveis crescentes de subproduto da agroindústria do caju. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.4 p.723-731, 2007.

FERREIRA, A.C.H.; NEIVA, J.N.M.; RODRIGUES, N.M.; LÔBO, R.N.B.; VASCONCELOS, V.R. Valor nutritivo das silagens de capim-elefante com diferentes níveis de subprodutos da indústria do suco de caju. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1380-1385, 2004.

FERREIRA, G.B.; MELO, V.V.; LOPES, F.L.G.; SOUZA, R.R. ; SANTANA, J.C.C.; TAMBOUGI, E.B. Produção de álcool a partir da hidrólise do amido de mandioca por amilases do malte de milho. **Revista SODEBRAS**, 2006, (on-line).

FOELKEL, C. Casca da árvore do eucalipto. **Eucalyptus online book and newsletter**. Disponível em: <http://www.eucalyptus.com.br>. Acesso em: 17 março. 2012.

FUGITA, T.P.L. **Desempenho de leveduras que metabolizam xilose para produção de etanol em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana**. 2010, 60f. Dissertação (Mestrado - Microbiologia Agropecuária) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.Jaboticabal, SP.

FRANCO, B.M.D.G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**, 1ª ed. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

GALBE, M., ZACCHI, G. A. Review of the production of ethanol from softwood. **Applied Microbiology Biotechnology**, p.618-628, 2002.

GELLERSTEDT, G.; HENRIKSSON, G. **Lignins: Major sources, structure and properties**. In: BELGACEM, M.N.; GANDINI, A. (Ed.). Monomers, polymers and composites from renewable resources, 2008, p.201-224.

GURGEL, L.V.A. **Hidrólise ácida de bagaço da cana-de-açúcar: Estudo cinético de sacarificação de celulose para produção de etanol**. 2010, 315f. Tese (Doutorado em Ciências na área de Físico-Química), Instituto de Química de São Carlos-SP.

GRAVITIS, J. A biochemical approach to attributing value to biodiversity – The concept of the zero emissions biorefinery. In: World Congress on Zero Emissions in Windhoek, 4, 1998, Namibia. **Proceedings...** Namibia: UNU/UNESCO. 1998, p.1-18.

HÅKANSSON, H.; AHLGREN, P. Acid hydrolysis of some industrial pulps: Effect of hydrolysis conditions and raw material. **Cellulose**, v.12, n.2, p.177-183, 2005.

HENDRIKS, A.T.W.M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v.100, p.10-18, 2009.

HELLE, S.; CAMERON, D.; LAM, J.; WHITE, B.; DUFF, S. Effect of inhibitory compounds found in biomass hydrolysates on growth and xilose fermentation by a genetically engineered strain of *S. cerevisiae*. **Enzyme and Microbial Technology**, v.33, p.786-792, 2003.

HICKERT, L.R. **Otimização da hidrólise da casca de arroz (*Oryza sativa*) e avaliação da capacidade de bioconversão deste hidrolisado a etanol e xilitol por leveduras**. 2010, 105f. Dissertação (Mestre em Microbiologia Ambiental e Agrícola), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde.

HOLANDA, J.S.; OLIVEIRA, J.O.; FERREIRA, A.C. Enriquecimento protéico de pedúnculo do caju com emprego de levedura para alimentação animal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, n.5, p.787-789, 1998.

HSU, T.A., LADISCH, M.R., TSAO, G.T., 1980. Alcohol from cellulose. **Chemical Technology** 10 (5), 315–319.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Anuário estatístico do Brasil**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1618>>, Acesso em: 23/12/2010.

ILHA, E.C.; BERTOLDI, F.C.; REIS, V.D.A. ; SANT'ANNA, E. **Rendimento e eficiência da fermentação alcoólica na produção de hidromel**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 84, Corumbá: Embrapa Pantanal, 2008, 14p.

INOVAÇÃO UNICAMP. Brasil tem vantagem tecnológica em etanol, mas está em vias de perdê-la, diz Prêmio Nobel. Presidente da Embrapa concorda. In: **III Conferência de Ciência, Tecnologia e Inovação**, anais... 2008.

IRAMAHBOOB, J.; NADIM, F.; MONEMI, S. Optimizing acid-hydrolysis: A critical step for production of ethanol from mixed wood chips. **Biomass and Bioenergy**. p.401- 404, 2002.

JARDINE, J.G.; DISPATO, I.; PERES, M.R. **Considerações sobre o bioetanol lignocelulósico para subsidiar a elaboração de conteúdo da árvore do conhecimento agroenergia**. Documentos 95 Embrapa Informática Agropecuária, Campinas, SP 2009.

KAMM, B.; KAMM, M. Biorefinery – Systems. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, v.18, n.1, p.1-6, 2004.

KARIMI K.; EMTIAZI G.; TAHERZADEH M.J. Ethanol production from dilute-acid pretreated rice straw by simultaneous saccharification and fermentation with *Mucor indicus*, *Rhizopus oryzae*, and *Saccharomyces cerevisiae*. **Enzyme and Microbial Technology**, v.40, p.138-144, 2006.

KELLER, J.U. Theory of measurement of gas-adsorption equilibria by rotational oscillations. **Journal of International Adsorption Society**, v.1, p.283-290, 1995.

KHAN, T.A.; SINGH, V.V.; KUMAR, D. Removal of some basic dyes from artificial textile wastewater by adsorption on Akash Kinari coal. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v.63, p.355-364, 2004.

LATAYE, D.H.; MISHRA, I.M.; MALL, I.D. Pyridine sorption from aqueous solution by rice husk ash (RHA) and granular activated carbon (GAC): Parametric, kinetic, equilibrium and thermodynamic aspects. **Journal of Hazardous Materials**, v.154, p.858–870, 2008.

LAVARACK, B.P.; GRIFFIN, G.J.; RODMAN, D. The acid hydrolysis of sugarcane bagasse hemicellulose to produce xylose, arabinose, glucose and other products. **Biomass and Bioenergy**, v.23, n.5, p.367-380. 2002.

LASER, M.; SCHULMAN, D.; ALLEN, S.G.; LICHWA, J.; ANTAL Jr.; M.J.; LYND, L.R. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol. **Bioresource Technology**, v.81, p.33-44, 2002.

LARSSON, S.; PALMQVIST, E.; HÄGERDAL, B.H.; TENGBORG, C.; STENBERG, K.; ZACCHI, G.; NILVEBRANT, N.O. The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood. **Enzyme and Microbial Technology**, v.24, p.151-159, 1999.

LEE, H.; SOPHER, C.R.; YAU, K.Y.F. Induction of xylose reductase and xylitol dehydrogenase activities on mixed sugars in *Candida guilliermondii*. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v.66, p.375-379, 1996.

LIMA, A.C.; GARCÍA, N.H.P.; LIMA, J.R. Obtenção e caracterização dos principais produtos do caju. **Boletim do CEPPA**, v.22, n.1, p.133-144, 2004.

LIMA, E.E.; SILVA, F.L.H.; LIMA, F.C.S.; SILVA NETO, J.M. Avaliações de pré-tratamentos para deslignificação do bagaço do pedúnculo de caju, para posterior processo de sacarificação. **XVIII Simpósio Nacional de Bioprocessos**, cidade Caxias do Sul-RS, Brasil, 2011a.

LIMA, F.C.S.; SILVA, F.L.H.; LIMA, E.E. Estudo de adsorção dos inibidores do licor pré-hidrolisado do bagaço do pedúnculo de caju. **XVIII Simpósio Nacional de Bioprocessos**, cidade Caxias do Sul-RS, Brasil, 2011b.

LIMA, L.R.; MARCONDEZ, A.A. **Álcool carburante: Uma estratégia brasileira**. Curitiba, (ed.) UFPR, 2002, 248p.

LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia industrial: Processos fermentativos e enzimáticos**. P ed. v.3. São Paulo. Edgard Blucher Ltda, 2001, 593p.

LIN, C.H.; CONNER, A.H.; HILL, C.G. The heterogeneous character of the dilute acid-hydrolysis of crystalline cellulose. III. kinetic and X-ray data. **Journal of Applied Polymer Science**, v.45, n10, p.1811-1822, 1992.

LOSS, R.A.; MARGARITES, A.C.; FARIAS, D.; CAZAROTTO, S.; COLLA, L.M.; BERTOLIN, T. E. In: Mostra de Iniciação Científica da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, **16 Anais...** Brasil, 2006.

LORAIN, O.; THIEBAUD, P.; BADORC, E.; AURELLE, Y. Potential of F in wastewater treatment: soluble pollutant applications. **Water Research**, v.35, n.2, p.541-547, 2001.

MACHADO, A.V. **Estudo da secagem do pedúnculo do caju em sistemas convencional e solar: modelagem e simulação do processo**. 2009, 126f. Tese (Doutorado) Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química, Natal, Rio Grande do Norte.

MACHADO, A.V.; OLIVEIRA, E.L.; SANTOS, E.S.; OLIVEIRA, J.A. Influência da espessura com o tempo de secagem em sistemas solar de radiação direta e indireta. In: **Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Anais....CBCTA, v.3, p.44-51, 2008a.

MACHADO, A.V.; ARAÚJO, F.M.M.C. Avaliação bioquímica do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale*, L.). In: **Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Anais....CBCTA, v.3, p.88-92, 2008b.

MARQUES, L.F; DUARTE, M.E.M.; COSTA, T.L.; SOUSA, J.S. Efeito da concentração do xarope na desidratação osmótica e na caracterização físico-química do caju. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.7, n.2, p.147-152, 2007.

MARQUES, T.A.; SERRA, G.E. Estudo da reciclagem de células na produção biológica de etanol. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.4, p.532-553, 2004.

MARTÍN, C.; MARCET, M.; ALMAZÁN, O.; JONSSON, L.J. Adaptation of a recombinant xyloseutilizing *Saccharomyces cerevisiae* strain to a sugarcane bagasse hydrolysate with high content of fermentation inhibitors. **Bioresource Technology**, v.98, p.1767-1773, 2006.

MARTON, J.M.; FELIPE, M.G.A.; ALMEIDA; SILVA, J.B.; PESSOA JUNIOR, A. Avaliação de carvões ativos e das condições de adsorção no tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana empregando planejamento de experimentos. **Revista Analytica**, v2, n.3, p.45-53, 2003.

MARRA, W.D. **Adsorção de xilenos sobre zeólita y em leito interpretação de curvas breakthrough**. 1991, 121f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Engenharia Química- UFSCar, São Carlos-SP.

MATOS, G.S.; FELIPE, M.G.A.; SILVA, S.S. Formação de xilitol, etanol e glicerol por *Candida guilliermondii* FTI 20037 durante a fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. In: **Simpósio Nacional de Fermentações**, 14 anais...2003, CD ROM, 2003.

MATIAS, M.F.O.; OLIVEIRA, E.L.; GUEDES, E.G.; MAGALHÃES, M.M.A. Use of fibres obtained from the cashew (*Anacardium occidentale*, L) and guava (*Psidium guajava*) fruits for enrichment of food products. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, p.143-150, 2005.

McKAY. G.; McKEE. S.; WALTERS. H.R.J. Solid-liquid adsorption based external mass transfer, macropore and micropore Diffusion. **Engineering Science**, v.42, n.5, p.1145-1151, 1987.

McKAY, G.; EL GEUNDI, M.; NASSAR, M. Adsorption model for the R of acid dyes from effluent by bagase pith using a simplified I. **Adsorption Science & Technology**, v.15, n.10, p.737-752, 1997.

MENEZES, J.B.; ALVES, R.E. **Fisiologia e tecnologia pós colheita do pedúnculo do caju**. EMBRAPA-CNPAT, Documentos, 17. EMBRAPA/CNPAT, Fortaleza-CE, 1995, 20p.

MELO, W.C.; SILVA, D.B.S.; PEREIRA, N. Produção de etanol a partir de torta de mamona (*Ricinus communis L.*) e avaliação da letalidade, **Química Nova**, v.31, n.5, p.1104-1106, 2008.

MESQUITA, P.C.; MAIA, G.A.; SOUZA FILHO, M.S.M.; NASSAU, R.T. Estabilidade microbiológica, físico-química e sensorial de pedúnculos de caju (*Anacardium occidentale L.*) processados por métodos combinados. **Revista Ciência de Alimentos**, v.23, n.3, p. 366-369, 2003.

MERICO, A.; SULO, P.; PISKUR, J.; COMPAGNO, C. Fermentative lifestyle in yeasts belonging to the *Saccharomyces* complex FEBS. **Journal**, v.274, p.656-666, 2007.

MICHEL, A.C.S. **Produção biotecnológica de xilitol e etanol a partir de hidrolisado de casca de soja**. 2007, 75f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, BR-RS, 2007.

MIELENZ, J.R. **Oak ridge national laboratory, Oak Ridge, TN, USA biofuels methods and rotocols methods in molecular biology**. Edited by Humana Press, Springer New York Dordrecht Heidelberg London, 2009, 293p.

MILAGRES, A.M.F.; PRADE, R.A. Production of xylanases from *Penicillium janthinellum* and its use in the recovery of cellulosic textile fibers. **Enzyme and Microbial Technology**, v.16, p.627-632, 1994.

MILLETT, M.A.; MOORE, W.E.; SAEMAN, J.F. Preparation and properties of hydrocelluloses. **Industrial and Engineering Chemistry**, v.46, n.7, p.1493-1497, 1954.

MOJOVIC, L.; NIKOLIC, S.; RAKIN, M.; VUKASINOVIC, M. Production of bioethanol from corn meal hydrolyzates. **Fuel**, n.85, p.1750–1755, 2006.

MOK, W.S.L.; ANTAL, M.J.; VARHEGYI, G. Productive and parasitic pathways in dilute acid-catalyzed hydrolysis of cellulose. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v.31, n.1, p.94-100, 1992.

MOISIER, N.; WYMAN, C.; DALE, B.; ELANDER, R.; LEE, Y.Y.; HOLTZAPPLE, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, n.96, p.673-686, 2005.

MORAIS, S.A.L.; NASCIMENTO, E.A.; VELOSO, D.P. Determinação do grau de condensação e do número de grupos metoxila por unidade monomérica de Ligninas do *Eucalyptus grandis* por espectroscopia FTIR. **Química Nova**, v.17, p.5- 8, 1994.

MORENO-CASTILLA, C. Adsorption of organic molecules from aqueous solutions on carbon materials. **Carbon**, v.42, p.83–94, 2004.

MOURA, D. Castanha de caju - Proposta de preço mínimo - safra 2006/2007. Disponível em: http://www.conab.gov.br/conabweb/download/precos_minimos/proposta_de_precos_minimos_safra_2006_07_castanha_de_caju.pdf. Acesso em: 19/10/2009.

MURTAGH, J.E. **Report on the description of operating process tawda hydrolysis plant**. 11/1997. www.distill.com/woodhydrolysis/woodprocess.html. Acesso em: abril 2011.

MUSSATO, S.I; ROBERTO, I.C. Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolyzates for use in fermentative processes: a review. **Bioresource Technology**, v.93, p.1-10, 2004.

NAKATA, Y.; SUZUKI, M. Preparation and properties of SiO₂ from rice hulls. **Journal Ceramic Society of Japan International**, v.97, p.830-836, 1989.

NEGRO, M.J.; MANZANARES, P.; BALLESTEROS, I.; OLIVA, J.M.; CABAÑAS, A.; BALLESTEROS, M. Hydrothermal pretreatment conditions to enhance ethanol production from poplar biomass. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.105, p.87-100, 2003.

NEUREITER, M.; DANNER, H.; THOMASSER, C.; SAIDI, B.; BRAUN, R. Dilute acid hydrolysis of sugarcane bagasse at varying conditions. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.98-100, p.49-58, 2002.

NG, C.; LOSSO, J.N.; MARSHALL, W.E.; RAO, R.M. Freundlich adsorption isotherms of agricultural by-product-based powdered activated carbons in a geosmin-water system. **Bioresource Technology**, v.85, p.131-135, 2002.

NOGUEIRA, A.; SANTOS, L.D.; PAGANINI, C.; WOSIACKI, G. Avaliação da fermentação alcoólica do extrato de bagaço de maçã. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.26, n.2, p.187-194, 2005.

NREL - National Renewable Energy Laboratory. Determination of Sugars, byproducts, and degradation products in liquid fraction process samples **Laboratory Analytical Procedure (LAP)**, 2008.

OSTROWSKI, A.P.; VARGAS, F.; PIZZINATTO, L.E.; ARAÚJO, J.H.B. Obtenção de Álcool Etílico a Partir de Amido de Mandioca, **In: Amostra de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar – IMICTI**, 2006.

PAIVA, F.F.A.; GARRUTTI, D.S.; SILVA NETO, R.M. **Aproveitamento industrial do caju**. Fortaleza: Embrapa, 2000, 85p.

PAIVA, J.R.; BARROS, L.M. **Clones de cajueiro: Obtenção, características e perspectivas**. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT (Documentos, 82), 2004, 26p.

PALMAROLA-ADRADOS, B.; CHOTEBORSKÁ, P.; GALBE, M.; ZACCHI, G. Ethanol production from non-starch carbohydrates of wheat bran. **Bioresource Technology**, v.96, n.7, p.843–850, 2005.

PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates II: Inhibitors and mechanisms of inhibition. **Bioresource Technology**, v.74, p.25-33, 2000.

PAMPULHA, M.E.; LOUREIRO, D.M.C. Combined effect of acetic acid, pH, and ethanol on intracellular pH of fermenting yeast. **Applied Microbiology. Biotechnology**, v.31, p.547-550, 1989.

PARAJÓ, J.C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J.M. Biotechnological production of xylitol. Part 3: Operation in culture media made from lignocellulose hydrolysates. **Bioresource Technology**, v.66, p.25-40, 1998.

PAVLAK, M.C.M.; LIMA, T.L.A; CARREIRO S.C. Estudo da fermentação do hidrolisado de batata-doce utilizando diferentes linhagens de *saccharomyces cerevisiae*. **Química Nova**, v.34, n.1, p.82-86, 2011.

PEREIRA Jr., N. **Bioteq̃nologia de materiais lignocelulósicos para a produção química**. EQ/UFRJ, Prêmio Abiquim de Tecnologia 2006.

PEREIRA, M.C.T.; CORREA, H.C.T.; NIETSCH, S.; MOTA, W.F.; MARQUES, S.V. Caracterização físico-química de pedúnculos e castanhas de clones de cajueiro-anão precoce nas condições do norte de Minas Gerais. **Revista Bragantia**, v.64, n.2, p.169-175, 2005.

PERLACK, R.D.; WRIGHT, L.L.; TURHOLLOW, A.F.; GRAHAM, R.L.; STOKES, B.J.; ERBACH, D.C. **Biomass as feedstock for bioenergy and bioproducts industry: The technical feasibility of a Billion-Ton Annual Supply**. Oak Ridge National Laboratory. Oak Ridge/TN, 2005.

PESSOA Jr., A.; MANCILHA, I.M.; SATO, S. Acid hydrolysis of hemicellulose from sugarcane bagasse. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.14, n.3, p.291-297, 1997.

PERAZZO NETO, A. **Determinação de parâmetros para o enriquecimento protéico da algaroba (*Prosopis juliflora*) com *Aspergillus niger***. 1999, 130f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

PRADO, A.G.; MENEZES, R.S. C.; ABREU, C.A.M. Quantificação dos extrativos, celulose e lignina da palma miúda (*Nopalea cochenillifera*). In: **Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão** – UFRPE, 10 Anais.... Recife-PE. 2010.

PINHO, L.X.; AFONSO, M.R.A.; CARIOCA, J.O.B.; COSTA, J.M. C.; RYBKA, A.C.P. Desidratação e aproveitamento de resíduo de pedúnculo de caju como adição de fibra na elaboração de hambúrguer. **Alimentação Nutrição**, v.22, n.4, p.571-576, 2011.

PINTO, M.F.; FRANCO, B.D.G.M.; SHIMOKOMAKI, M. Controle de *Staphylococcus Aureus* em Charques (Jerked Beef) por Culturas Iniciadoras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, p.200-204, 1998.

PIVETTA, L.R.; ARRUDA, P.V.; FELIPE, M.G.A. Comparação de metodologias de destoxificação do hidrolisado de bagaço de cana para a produção de xilitol por via fermentativa. In: **Encontro Latino Americano de Iniciação Científica**, 12 Anais...2008.

RABELO, S.C.; FILHO, R.M.; COSTA, A.C. Comparison between lime and alkaline hydrogen peroxide pretreatments of sugarcane bagasse for ethanol. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v.144, p.87-100, 2008.

RAHMAN, S.H.A.; CHOUDHURY, J.P.; AHMAD, A.L.; KAMARUDDIN, A.H. Optimization studies on acid hydrolysis of oil palm empty fruit bunch fiber for production of xylose. **Bioresource Technology**, v.98, n.3, p.554-559, 2007.

RAMOS, L.P. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. **Química Nova**, v.26, n.6, p.863-871, 2003.

RIBEIRO, C.A.F.; HORII, J. Potencialidades de linhagens de levedura *Saccharomyces cerevisiae* para a fermentação do caldo de cana. **Scientia Agrícola**, v.56, n.2, Piracicaba, 1999.

RIBEIRO T.P. **Valor nutritivo de dietas para ovinos contendo coproduto de caju amonizado ou não com uréia**. 2008, 78f. Dissertação (Mestre em ciências agrárias e biológicas), Centro de ciências agrárias e biológicas – uva, Embrapa caprinos sobral, 2008.

RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A.F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. Casa do Pão Editora, Campinas-SP, 2009, 326p.

RODRIGUES, R.C.L.B.; FELIPE, M.G.A.; SILVA, J.B.A.; VITOLO, M.; GÓMEZ, P.V. The influence of pH, temperature and hydrolysate concentration on the removal of volatile and nonvolatile compounds from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate treated with activated charcoal before or after vacuum evaporation. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.18, n.3, p.299-311, 2001.

RODRIGUES J.D. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. UNICAMP, Botucatu-SP. Instituto de Biociências /UNICAMP, 1995, 101p.

RODRIGUEZ-CHONG, A.; RAMIREZ, J.A.; GARROTE, G.; VAZQUEZ, M. Hydrolysis of sugar cane bagasse using nitric acid: a kinetic assessment. **Journal of Food Engineering**, v.61, Issue 2, p.143-152, 2004.

ROWELL, R.M.; PETTERSEN, R.; HAN, J.S.; ROWELL, J.S.; TSHABALALA, M.A. Cell In: ROGER, M. ROWELL (Ed.). **Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites**. New York: Ed. Taylor and Francis Group, cap. 3: Wall Chemistry, p.234-248, 2005.

ROSSELL, C.E.V. **Conversion of lignocellulose biomass (bagasse and straw) from the sugar-alcohol industry into bioethanol**. Industrial Perspectives for Bioethanol. Ed. Telma Franco. Cap. 8, p.123-142, 2006a.

ROSSELL, C.E.V. **Saccharification of sugarcane bagasse for ethanol production using the. Organosolv process**. Sugar Industry / Zuckerindustrie 131, 2006b.

ROSSELL, C.E.V. Projeto programa de pesquisa em políticas públicas In: **Workshop Tecnológico sobre Hidrólise para Produção de Etanol**, 3 Anais...UNICAMP, 2007.

RUTHVEN, D.M.; **Principles of adsorption & adsorption process**, New York, Jonh Wiley & Sons, 1984.

RUTHVEN, D.M. Zeolites as selective adsorbentes - synthetic zeolites ant used widely as selective adsorbents in a range of large separation processes. **Chemical Engineering Progress**, v.84, n.2, p.42-50, 1988.

SAHA, B.C. Hemicellulose bioconversion. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.30, p.279–291, 2003.

SAITO, I.; CABELLO, C. **Produção de etanol a partir de hidrolisado obtido por tratamento hidrotérmico de farelo de mandioca**. Energia na Agricultura, Botucatu, SP, v.21, n.3, p.33-34, 2006.

SANCHEZ, B.; BAUTISTA, J. Effects of furfural and 5-hydroxymethylfurfural on the fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* and biomass production from *Cândida guilliermondii*. **Enzyme Microbial and Technology**, v.10, p.315-318, 1988.

SÁNCHEZ, O.J.; CARDONA, C.A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. **Bioresource Technology**, v.99, n.13, p.5270–5295, 2008.

SANTOS, F.; ENDER, L.; PALMA, M.B. Avaliação do processo de produção de xilanase por cultivo em estado sólido utilizando-se reator de coluna. **Anais: SINAFERM**, Recife-PE, 2005.

SANTOS, S.F.M.; **Estudo da produção de pectinases por fermentação em estado sólido utilizando pedúnculo de caju como substrato**. 2007, 130f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – UFRN, Natal – RN.

SALAZAR, R.F.S.; SILVA, G.L.P.; SILVA, M.L.C.P. Estudo da composição da palha de milho para posterior utilização como suporte na preparação de compósitos, **VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica** – COBEQ / Unicamp-SP, 2005.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; MORAIS S.A.L. Ligninas – Métodos de obtenção e caracterização química. **Revista Ciência Rural**, v.31, n.5, p.917-928, Santa Maria, 2001.

SASSNER, P.; GALBE, M.; ZACCHI, G. Bioethanol production based on simultaneous saccharification and fermentation of steam-pretreated Salix at high dry-matter content. **Enzyme and Microbial Technology**, v.39, p.756-762, 2006.

SCANDIFFIO, M.I.G. **Análise prospectiva do álcool combustível no Brasil- cenários 2004-2024**. 2005, 182f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Faculdade de Engenharia Medica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SCHEER, A.P.; MEIEN, O.F.V.; TOLEDO, E.C.V. de; MACIEL F. O., R.; WOLF MACIEL, M.R.A Adsorção de Misturas Líquidas e seu Tratamento por Métodos Numéricos. **Anais do III Encontro Brasileiro de Adsorção**, Recife - Pernambuco, p332, 2000.

SCHELL, D.J.; DOWE,N.; IBSEN, K.N.; RILEY, C.J.; RUTH, M.F.; LUMPKIN, R.E. Contaminant occurrence, identification and control in a pilot-scale corn fiber to ethanol conversion process. **Bioresource Technology**, v.98, p.2942–2948, 2007.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia industrial: Engenharia bioquímica**. 1ª ed. v. 2.. Edgard Blucher Ltda, São Paulo, 2001, 541p.

SCHUCHARDT, U.; RIBEIRO, M.L.A indústria petroquímica no próximo século: como substituir o petróleo como matéria-prima. **Química Nova**, v.24, n.2, p.247-251, 2001.

SCHULZ, M.A. **Produção de bioetanol a partir de rejeitos da bananicultura: polpa e cascas de banana**. 2010, 101f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos). Universidade da Região de Joinville, Santa Catarina-PR.

SEABRA, J.EA. **Análise de opções tecnológicas para uso integral da biomassa no setor de cana-de-açúcar e suas implicações**. 2008. Tese (Doutorado), Faculdade de Engenharia Mecânica Campinas, Universidade Estadual de Campinas-SP.

SENDELIUS, J. **Steam pretreatment optimization for sugarcane bagasse in bioethanol**. 2005, 189f. Thesis (Dissertação de Mestrado - Master of Science). Department of Chemical Engineering, Lund University, Sweden.

SENE, L.; FELIPE, M.G.A.; VITOLO, M.; SILVA, S.S.; MANCILHA, I.M. Preliminary kinetic characterization of xylose reductase and xylitol dehydrogenase extracted from *Candida guilliermondii* FTI 20037 cultivated in sugarcane bagasse hydrolysate for xylitol production. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v.91-93, p.671-680, 2001.

SILVA, F.L.H. **Modelagem, simulação e controle de fermentação alcoólica contínua extrativa**. 1998, 132f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Centro de Ciências Tecnologia, Universidade Estadual de Campinas - Unicamp. Campinas - SP,

SILVA, F.T. **Obtenção de insumos químicos a partir do aproveitamento integral do bagaço de cana**. 1995, 98f. Tese (Doutorado) - Centro de Ciências Tecnologia, Universidade Estadual de Campinas - Unicamp. Campinas - SP.

SILVA, P.J. **Estudo cinético da deslignificação etanol-água da casca de arroz. derivatização da casca e da polpa celulósica**. 1997, 107f. Tese (Doutorado) - Instituto de Física e Química de São Carlos – USP Departamento de Físico-Química, São Carlos-SP.

SILVA, R.; HARAGUCHI, S.K.; MUNIZ, E.C.; RUBIRA, A.F. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Química Nova**, v.32, n.3, p.661-671, 2009.

SILVA, V.F.N. **Estudos de pré-tratamento e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapas no processo de obtenção de etanol**. 2009, 116f. Dissertação (Mestre em Ciências). Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. Lorena, SP.

SOARES, J.B. **O caju: Aspectos tecnológicos**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 1986, 256p.

SOUZA, A.F.B.C.; SOUZA, F.R.; SILVEIRA, M.A.; **1º Congresso Científico**. Universidade Federal do Tocantins, Palmas, Brasil, 2005.

SOUZA, R.L.A. DE; OLIVEIRA, L.S.C; SILVA, F.L.H.; AMORIM, B.C. Caracterização da poligalacturonase produzida por fermentação semi-sólida utilizando-se resíduo do maracujá

como substrato. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.9, p.987–992, 2010.

SOUZA FILHO, M.S.M. **Aspectos da avaliação física, química, físico-química e aproveitamento industrial de diferentes clones de caju (*Anacardium occidentale*, L).** 1999, 196f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Ceará - UFC. Fortaleza-CE.

SOUZA, P.A.; MENEZES, J.B.; ANDRADE, J.C.; FREITAS, D.F.; MENDONÇA, V.S. Caracterização química de pedúnculos de caju ‘CCP-76’ em diferentes estádios de desenvolvimento. In: XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2002, Belém. **Resumos**. Belém: SBCTA, 2002. p.158.

STATISTICA for Windows, Sistema operacional 6.0. **Stat Soft** 1999, Inc, Tulsa, USA Disponível em: < <http://www.statsoft.com> > Acesso em: jan., 2006.

STECKELBERG, C.; SARTORATO, A.; ANDRIETTA, S. R. Influência do perfil de ácidos graxos sobre a tolerância ao etanol em diferentes cepas de leveduras de uso industrial. In: **Simpósio Nacional de Fermentação - SINAFERM, 14 anais....** Florianópolis, Brasil, v.1, 2003.

STAMBUK B.U., ELEUTHERIO E.C.A., FLOREZ-PARDO L.M., SOUTO-MAIOR A., BOM E.P.S. Brazilian potencial for biomass ethanol: Challenge of using hexose and pentose co-fermenting yeast strains. **Journal of Scientific & Industrial Research**, v.67, p.918-926. 2008.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**, v. 83, p. 1-11, 2002.

SUSU, A.A. Mathematical modelling of fixed-bed adsorption of aromatics and sulphur compounds in kerosene deodorisation. **Chemical Engineering and Processing**, v.39, n.3, p. 485-497, 2000.

TAHERZADEH, M.J. **Ethanol from lignocellulose**: Physiological effects of inhibitors and fermentation strategies. Department of Chemical Reaction Engineering, Chalmers University of Technology, Göteborg, Sweden, 2000, 20 p.

TAHERZADEH M.J., KARIMI K. Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. **Bioresources Technology**, v.4, p.707–738, 2007.

TAPPI – Technical Association of the Pulp and Paper Industry. **Official Test Methods (OM)**, Provisional Test Methods (PM) and Useful Test Methods (UM). Atlanta: One Dunwoody Park, 2010.

TAMANINI, C.; HAULY, M.C.O. Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.25, n.4, p.315-330, 2004.

TAMANINI C. OLIVEIRA, A.S.; FELIPE, M.G.A.; CANETTERI, B.A.; CANDIDO, E.J.; RAULY, M.C.O. Avaliação da casca de aveia para produção biotecnológica de Xilitol, **Acta Scientiarum. Technology**, Maringá, v.26, n.2, p.117-125, 2004.

TECHNOLOGY REVIEW. **Redesigning life to make ethanol**. Technology Review – an MIT Enterprise. Disponível em: www.technologyreview.com/printer_friendly_article.aspx?id=17052>.2006.

TIAN, S., ZHOU, G., YAN F., YU, Y., YANG, X. Yeast strains for ethanol production from lignocellulosic hydrolysates during in situ detoxification. **Biotechnology Advances**, v.27, n.5, p.656-660, 2009.

TOLAN, J.S. **Iogen's demonstration process for producing ethanol from cellulose biomass**. Biorefineries-Industrial Processes and Products. Ed. B. Kamm, P.R. Gruber e M. Kamm. V.1, Cap. 9, p193-207, 2006.

TORRES NETO, A.B. **Estudo da pré-hidrólise ácida da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill)**. 2010, 47f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande-PB.

TORRES NETO, A.B.; SILVA, M.E.; SILVA, W.B.; SWARNAKAR, R.; SILVA, F.L.H. Cinética e caracterização físico química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.). **Química Nova**, v.29, n.3, p.489-492, 2006.

URBANO, L.H.; SUMAN, P.A.; LEONEL, M.; **Anais do XII Congresso Brasileiro de Mandioca**, Paranaíba, Brasil, 2007.

UCHOA, A.M.A. **Adição de pós alimentícios obtidos de resíduos de frutos tropicais na formulação de biscoitos**. 2007, 91f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

VÁSQUEZ, M.P.; DA SILVA, J.N.C.; SOUZA Jr., M.B.; PEREIRA Jr., N. Enzymatic

hydrolysis optimization to ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.137-140, n.1-12, p.141-153, 2007.

Von SIVERS M., ZACCHI G., OLSSON L., HAHN-HAGERDAL B. Cost analysis of ethanol production from willow using recombinant *Escherichia coli*. **Biotechnology Progress**, v.10, n.5, p.555-560, 1994.

WALKER, G.M. **Bioethanol: Science and technology of fuel alcohol**, ISBN 978-87-7681-681-0, 2010. 1ª ed. v. único. Editora Ventus Publishing ApS, 114p.

WOLBORSKA, A; PUSTELNIK, P. A Simplified Method for determination of the Break-Through Time of an Adsorbent Layer. **Water Research**, v.30, n.11, p.2643-2650, 1996.

KAMM, B.; KAMM, M. Biorefinery – systems. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, v.18, n.1, p.1-6, 2004.

WYMAN, C.E.; DALE, B.E.; ELANDER, R.T.; HOLTZAPPLE, M.; LADISCH, M.R.; LEE, Y.Y. Comparative sugar recovery data from laboratory scale application of leading pretreatment technologies to corn stover. **Bioresource Technology**, New York, n.96, p. 2026-2032, 2005.

WYMAN, C.E. Potential synergies and challenges in refining cellulosic biomass to fuels, chemicals, and power. **Biotechnology Progress**, v.19, n.2, p.254–262, 2003.

XIANG, Q.; LEE, Y.Y.; TORGET, R.W. Kinetics of glucose decomposition during dilute-acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.113, n.16, p.1127-1138, 2004.

6. APÊNDICE

APÊNDICE I



Estudo de adsorção dos inibidores do licor pré-hidrolisado do bagaço do pedúnculo de caju

Lima¹ F.C.S.; Silva², F.L.H; Lima³ E.E; Silva Neto^{*4}, J.M; Silva,A.S¹

¹ Doutorando do PPGEQ/UFMG ² Professor da UAEQ/UFMG ³ Doutorando do PPGEQ/UFMG – Professor do IFPE Campus Afogados da Ingazeira ⁴ Aluno da UAEQ/UFMG
Unidade Acadêmica de Engenharia Química - Universidade Federal de Campina Grande
Rua Aprígio Veloso, 882 58429-140 – Campina Grande – PB
e-mail: flavioluizh@yahoo.com.br

RESUMO

De forma sustentável a cultura do cajueiro apresenta grande potencial para o desenvolvimento tecnológico de fontes alternativas de energia, a partir de seus resíduos industriais do processamento do caju agregando valor ao produto. O aproveitamento de resíduos lignocelulósicos em processos fermentativos tem sido objeto de pesquisas em virtude do impacto ambiental causado pela grande quantidade de materiais liberados. A pré-hidrólise é uma etapa precursora de fracionamento dos constituintes químicos, com o objetivo de remover a fração hemicelulósica (xilose, arabinose e outros açúcares) favorecendo a abertura física da estrutura celular. Alguns componentes tóxicos provenientes da degradação destes açúcares são liberados nesta etapa, tais como, o furfural e hidroximetilfurfural. O licor obtido no pré-tratamento foi caracterizado e posteriormente submetido a vários processos de adsorção, visando obter um hidrolisado com teor reduzido de compostos tóxicos inibidores. Dentro desse enfoque, a pesquisa busca investigar alternativas de adsorventes que eliminem estes inibidores da fermentação.

Palavras-chave: pré-hidrolise ácida, adsorventes, componentes tóxicos.

INTRODUÇÃO

Os materiais lignocelulósicos representam a maior fonte de carbono e, portanto, energia renovável da terra. Porém, grandes quantidades de resíduos lignocelulósicos são acumulados decorrentes da produção agrícola como cascas, bagaços e palhas, gerando problemas ambientais devido a decomposição descontrolada e de custo econômico devido ao não aproveitamento do mesmo. De acordo com Saha (2003), estes materiais são constituídos

por três componentes principais: celulose (30-50%) seguida pela hemicelulose (20-35%) e lignina (10-25%). Dentre os materiais lignocelulósicos utilizados para obtenção de hidrolisados hemicelulósicos, o bagaço do pedúnculo do caju destaca-se por ser um subproduto da indústria brasileira, com produção estimada em torno de 2 milhões de toneladas/ano e aproveitamento total de apenas 20%, ou seja, 80% é desperdiçada Pinho (2009). Para que resíduos lignocelulósicos sejam bioconvertidos, é necessária a utilização de pré-tratamentos mediante hidrólise ácida ou enzimática, que liberem os açúcares fermentescíveis existentes na composição destes materiais. Este procedimento também chamado de pré-hidrolise, consiste na hidrólise da fração hemicelulósica,



que é mais susceptível ao tratamento ácido, sendo que as frações de celulose e lignina permanecem inalteradas (Aguilar et al., 2002). Neste pré-tratamento os ácidos utilizados como catalisadores nos processo liberam prótons que atuam nas ligações glicosídicas entre os monômeros de açúcar nas cadeias poliméricas. O rompimento destas ligações libera uma série de compostos como pentoses (xilose e arabinose) e hexoses (manose, galactose e outros) constituintes da hemicelulose, Aguilar et al. (2002), como também são liberados produtos indesejáveis para o processo fermentativo tais como furfural, provenientes da degradação de pentoses e 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) oriundo da degradação de hexoses (Palmqvist; Hahn-Hägerdal, 2000). O teor destes inibidores no licor, após o pré-tratamento depende da natureza do material lignocelulósico empregado. Os hidrolisados procedentes de materiais que contém uma percentagem comparativamente maior de hemicelulose apresentam maior concentração de furfural e ácido acético.

Diversos tratamentos físico-químicos têm sido empregados com o objetivo de minimizar o efeito tóxico dos hidrolisados sobre a fermentação tanto por transformação dos inibidores em compostos inativos quanto pela sua remoção (Parajó; Domínguez; Domínguez, 1998a). Dentre os diversos tratamentos utilizados para minimizar a concentração dos inibidores, a neutralização, a adsorção com carvão ativo e o uso de resinas de troca iônica são os mais empregados (Morita; Silva; Maugeri, 2003). De acordo com Marton (2005), a adsorção em carvão vegetal ativado é um dos métodos mais econômicos e eficientes consentindo numa boa remoção de ácido acético e compostos fenólicos, enquanto as resinas de troca iônica ainda propiciam boa eficiência de remoção destes compostos, porém, são mais caras que o carvão. Silva (2006) observou a eficácia do emprego de polímeros vegetais na remoção de compostos tóxicos para o hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, porém, menos eficiente em relação aos tratamentos com carvão e resina. Ainda segundo o mesmo autor, os resultados revelaram que estes três métodos de destoxificação avaliados proporcionaram também a perda de açúcares no hidrolisado de bagaço de cana, o que é indesejável. Assim um tratamento adequado para remoção destes inibidores contribuirá para favorecer o processo de fermentação dos hidrolisados durante o processo de obtenção de xilitol por via biotecnológica (Felipe, 2004).

Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar comparativamente a atuação de diversos materiais utilizados como adsorventes, sobre a remoção de compostos tóxicos (furfural e hidroximetilfurfural) do licor pré-hidrolisado do bagaço do pedúnculo do caju.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Engenharia Bioquímica da Unidade Acadêmica de Engenharia Química no Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Federal de Campina Grande – PB. Foi utilizado o bagaço de caju *in natura*, adquirido da indústria de produção de sucos, FRUTNAT, localizada na cidade de Campina Grande, Paraíba.

O bagaço foi lavado em água corrente, até atingir ^oBrix próximo de 0. Após a lavagem o bagaço foi levado em bandejas para secagem em estufa com circulação de ar à temperatura de 55°C por 48 horas. Logo após foi moído em moinhos de facas para reduzir o tamanho e peneirado em peneiras de mesh 40 e armazenado em sacos de polipropileno para posterior uso.

Pré-hidrólise ácida do bagaço do pedúnculo do caju

O hidrolisado foi obtido a 105 °C por 1 h em um reator pressurizado de aço inox com capacidade de 700 mL, utilizando uma razão mássica de 1:10 (60g da amostra/600g de H₂SO₄ a 3%v/v).

Caracterização do hidrolisado neutralizado

Os teores de açúcares e aldeídos (HMF e Furfural) foram determinados através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) equipado com uma bomba modelo ProStar 210 (Varian); Injetor manual com loop de 20µL; Detector de índice de refração modelo ProStar 356 (Varian) e UV/visível 284nm (aldeídos); Coluna



analítica de aço inox Hi-Plex H (300mm x 7,7 mm; Varian), e as condições das operações foram as seguintes: Temperatura da coluna de 40°C; Fase móvel: água miliQ com vazão de 0,6 mL/min; Tempo de análise: 15 e 60 minutos para teores de açúcares e aldeídos respectivamente. Soluções padrões interno de açúcares: glicose, xilose, arabinose e sacarose (Sigma 99,99% grau HPLC), congêneres 5-hidroximetilfurfural –HMF (Aldrich 99,98%) e furfural (Vetec 99,9 UV/HPLC) foram utilizadas na quantificação dos componentes do licor.

Destoxificação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço do pedúnculo de caju

O licor obtido da pré- hidrólise ácida, teve seu pH inicial (0,98) elevado para pH final 5,0, com adição de NaOH 17,5%. O hidrolisado foi então submetido ao processo de adsorção empregando como adsorventes: vermiculita, betonita, MCM-41 (Mobil Composition of Mater), cal e lignina (Figura 1), os quais já vêm sendo reportados em outros estudos (Russel, 2006; Pivetta, 2008). As condições operacionais: razão 1:100, mantendo-se a mistura sob agitação de 150 rpm a 30°C por 1 hora e filtrado a vácuo para eliminação do precipitado. Após cada ensaio dos tratamentos as amostras foram coletadas (Figura 2.) para análise de açúcares e inibidores da fermentação (congêneres).

A Figura 1 mostra o aspecto dos adsorventes empregados no processo de destoxificação.

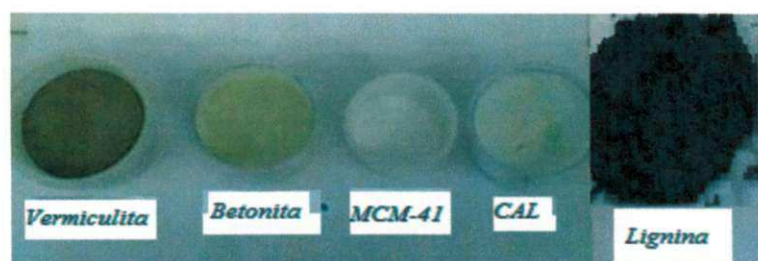


Figura 1. Adsorventes empregados no processo de destoxificação.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Figura 2 mostra o aspecto do licor pré-hidrolisado após o processo de destoxificação.

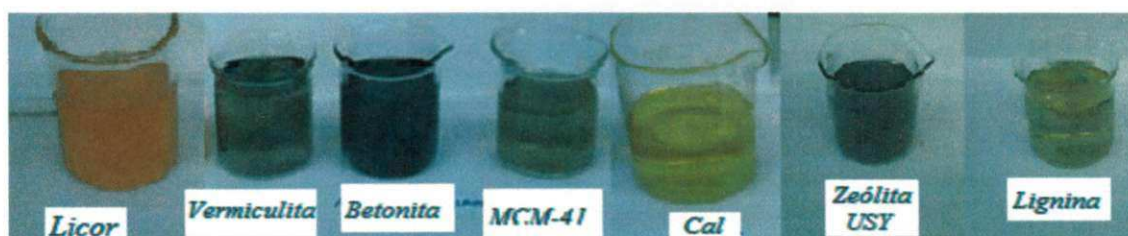


Figura 2. Licor pré-hidrolisado após o processo de destoxificação.

Comparando a cor dos licores antes e após a destoxificação, verifica-se que ocorreu uma variação na cor, caracterizando mudança na estrutura do material, que poderá ser proveniente da remoção de componentes do licor, onde a análise cromatográfica irá indicar se ocorreu ou não redução dos açúcares e congêneres em estudos. Pois, tais componentes influenciam no processo seqüente de fermentação.

Na Tabela 1 encontram-se os valores de concentração de glicose, xilose, arabinose, HMF e Furfural após a destoxificação.



Tabela.1 Concentração (mg/L) de açúcares e compostos tóxicos no licor pré- hidrolisado de bagaço do pedúnculo de caju em função dos processos de destoxificação

TRATAMENTOS	GLICOSE (mg/L)	XILOSE (mg/L)	ARABINOSE(mg/L)	HMF (mg/L)	Furfural (mg/L)
Licor P-Hdr Mãe	211,19	562,68	2.857,06	2,7056	27,8432
Vermiculita	86,89	419,65	2.011,76	0,0445	0,1854
Betonita	79,54	397,54	2.025,27	0,0446	0,0836
MCM-41	162,01	612,97	2.779,94	0,0216	0,0508
Cal	85,41	322,04	1.680,07	0,0329	0,0444
Zeólita - USY	213,52	744,71	3.208,92	0,0142	0,007
Lignina	109,54	541,63	2.728,31	0,0019	0,0195

Verifica-se nesta tabela que todos os tratamentos resultaram na redução dos valores de açúcares, exceto o tratamento com zeólita que manteve os teores de açúcares em relação ao licor mãe. Estes valores reportados na tabela acima estão dentro dos erros experimentais de da cromatografia.

Observa-se que dentre os tratamentos houve uma redução média de 50% da concentração de glicose, sendo que a MCM-41 reduziu apenas 23,39% em relação à hexose e 2,70% nas pentoses. Por se tratar de um material de alto custo de produção, provavelmente, não é viável seu uso no sistema de adsorção, uma vez que existem alternativas de baixo custo que podem ser utilizados. Como a lignina é um resíduo da agroindústria de baixo custo e encontra-se dentro da faixa de adsorção dos açúcares quando comparados com os demais em estudos, torna-se dentre os materiais o mais viável para uso de adsorção em licores para posterior fermentação.

A redução média de açúcares após tratamento de adsorção foram inferiores aos valores obtidos por Carvalho et al. (2008) ao estudar a avaliação do carvão ativo e resinas de troca iônica na purificação do hidrolisado do bagaço da cana. Já Pivetta (2008) estudando a comparação de metodologias de destoxificação do hidrolisado de bagaço de cana para a produção de xilitol por via fermentativa, encontrou reduções em xilose de até 30,75% em açúcares e 94,16 em compostos fenólicos.

Na Tabela 2 apresentam-se os valores de percentual de redução para glicose, xilose, arabinose, HMF e Furfural após o processo de destoxificação.

Tabela 2. Redução (%) de açúcares e compostos tóxicos no licor pré- hidrolisado de bagaço do pedúnculo de caju após o processo de destoxificação.

TRATAMENTOS	GLICOSE (%)	XILOSE (%)	ARABINOSE(%)	HMF %	Furfural %
Vermiculita	58,86	25,42	29,59	98,36	99,33
Betonita	62,34	29,35	29,11	98,35	99,70
MCM-41	23,29	-8,94	2,70	99,20	99,82
Cal	59,56	42,77	41,19	98,78	99,84
Zeólita - USY	-1,10	-32,35	-12,32	99,48	99,97
Lignina	48,13	3,74	4,51	99,93	99,93

De acordo com os resultados, Tabela 2, os diferentes procedimentos de destoxificação resultaram na remoção de compostos tóxicos. Para os fenólicos todos os tratamentos foram eficientes (99%), sendo que dentre eles a lignina e a zeólita apresentam maiores eficiências que chegam a 99,93 a 99,97% respectivamente. Também foi constatada a perda dos açúcares para os dois métodos empregados, sendo a maior (48,13%).

Desta forma, como a remoção destes açúcares não é desejada na produção fermentativa de xilitol e ou etanol, estudos futuros deverão se realizados para melhoramento e otimização das condições operacionais de adsorção.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados tanto a utilização de lignina, quanto a de zeólitas propiciaram a remoção dos inibidores furfural e HMF do licor hidrolisado com relativa baixa de redução de açúcares, contudo, verificou-se perda de glicose. Observa-se também que dentre os tratamentos houve uma redução média de 50%,



sendo que a MCM-41 reduziu apenas 23,39% em relação às hexoses e 2,70% nas pentoses, entretanto por se tratar de um material de alto custo de produção, provavelmente, não é viável seu uso no sistema de adsorção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, R.; Ramírez, J. A.; Garrote, G.; Vázquez, M. (2002), Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. *Journal of Food Engineering*, v. 5, n. 4, p. 309-318.
- Carvalho, R. G.; Marton, J. M.; Felipe, M. G. A (2008). Avaliação do carvão ativo e resinas de trocas iônica na purificação do hidrolisado do bagaço da cana *VIII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba*.
- Felipe, M.G.A. (2004), Biotechnological Production of Xylitol from Lignocellulosic Materials. Lignocellulose Biodegradation, *American Chemical Society*, p.300-315.
- Morita, T. A.; Silva, S. S.; Maugeri, (2003), F. Estudo de Processo Integrado de Produção de Xilitol por Fermentação *Anais do XVII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Recife*.
- Marton, J.M. Avaliação da performance de carvão ativo e resinas de troca iônica no desenvolvimento de um sistema de tratamento que minimize a toxicidade do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana à obtenção de xilitol. (2005), 131p. *Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena*.
- Palmqvist, E.; Hahn-Hägerdal, B. (2000), Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. *Bioresource Technology, Essex*, v.74, p.17- 24.
- Parajó, J. C.; Domínguez, H.; Domínguez, J. M. (1998) Biotechnological production of xylitol. Part 2: operation in culture media made with commercial sugars. *Bioresource Technology, Essex*, v.65, p.203-212.
- Pinho, Livia Xerez (2009).Aproveitamento do resíduo do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale L.*) para alimentação humana *Dissertação - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias. Depto. de Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2009.*, 85 f.
- Pivetta, L. R.; Arruda, P. V.; Felipe, M. G. A.(2008).Comparação de metodologias de destoxificação do hidrolisado de bagaço de cana para a produção de xilitol por via fermentativa, *VIII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba*.
- Saha, B.C. (2003).Hemicellulose bioconversion. *J. Ind. Microbiol. Biotechnology*. n° 30, p.279–291.
- Silva, T.F.M.; Nazima, K.S.; Arruda, P.V.; Felipe, M.G.A. (2006), Xylitol production by *Candida guilliermondii* from sugarcane bagasse hydrolysate treated with polymer of vegetable origin. In: VI Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages. *Book of Abstracts*, p.153.

Agradecimentos

Ao CNPq pelas bolsas de Doutorado e Iniciação Científica.



APÊNDICE II



COBEQ2012
XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE
ENGENHARIA QUÍMICA

09 a 12 de setembro de 2012
Búzios, RJ

ESTUDO DO EFEITO DA GRANULOMETRIA NA HIDROLISE SOBRE AÇUCARE PARA OBTENÇÃO DE LICORES COM MAIOR CONCENTRAÇÃO DE HEXOSES

E. E. LIMA¹, F. L. H. SILVA², F. C. S. LIMA³, A.S. SILVA³ e J. J. CAIÇARA⁴

¹ Professor do IFPE - Afogados da Ingazeira/Aluno de Doutorando do PPGEQ/UFCG

² Professor da UAEQ/UFPB - Universidade Federal da Paraíba

³ Doutorando do PPGEQ/UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

⁴ Técnico de LaboratorioUAE/UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

O aproveitamento de resíduos lignocelulósicos em processos fermentativos, tem sido objeto de pesquisa por serem de baixo custo no processo de hidrólise para produção de etanol, tal processo tem como um dos objetivos obter um fracionamento dos constituintes (glicose, xilose, arabinose e outros açúcares) favorecendo a abertura física da estrutura celular. Alguns componentes tóxicos provenientes da degradação destes açúcares são liberados nesta etapa, tais como, o furfural, hidroximetilfurfural-HMF e ácido acético. Verificar o efeito da granulometria sobre tais açúcares para obtenção de licores com maior concentração de hexoses e menor concentração de pentoses, as quais são consideradas propulso da inibição das leveduras na fermentação alcoólica, esta etapa do processo pode aumentar a conversão e eficiência dos açúcares fermentescíveis em álcool, além de apresentar um baixo consumo energético. Com objetivo de avaliar o efeito da granulometria sobre o bagaço de caju peneirado nas malhas de 20, 24, 35, 48, 65, 80 e 115 mesh e hidrolisado (1h, 160 °C, 3% H_2SO_4) em um reator de aço inox de pressão autógena. No processo de hidrólise para malha 65 mesh foram encontrados os maiores valores de extração de glicose e que a hidrólise do bagaço obtido na malha 80 mesh apresenta os maiores valores de pentoses. Porém com base nos valores obtidos o bagaço da peneira de malha 48 mesh foi selecionado para hidrólise do licor e posterior fermentação alcoólica.

The screenshot shows the COBEQ 2012 user interface. The main content area displays a table titled 'Sistema de Submissão' (Submission System) with columns for 'Código' (Code), 'Título' (Title), and 'Status' (Status). The table lists two submissions:

Código	Título	Status
R2696	ESTUDO DO EFEITO DA GRANULOMETRIA NA HIDROLISE SOBRE AÇUCARES PARA OBTENÇÃO DE LICORES COM MENOR CONCENTRAÇÃO DE HEXOSES.	Aprovado
R2737	QUÍMICA DE REAÇÃO NA HIDROLISE ACIDA DO BAGAÇO DO PEDÚNCULO DE CAJU PARA LIBERAÇÃO DE AÇUCARES COM MENOR OBTENÇÃO DE INIBIDORES DA FERMENTAÇÃO EM UM REATOR DE INOX	Aprovado

The interface also includes a navigation menu on the left with options like 'palestras', 'trabalhos completos', and 'boaspráticas'. The top of the page features the COBEQ 2012 logo and the dates '09/09/2012 a 12/09/2012 - Búzios, RJ'.



ESTUDO DO EFEITO DA GRANULOMETRIA NA HIDROLISE SOBRE AÇUCARE PARA OBTENÇÃO DE LICORES COM MAIOR CONCENTRAÇÃO DE HEXOSES

E. E. LIMA¹, F. L. H. SILVA², F. C. S. LIMA³, A.S. SILVA³ e J. J. CAIÇARA⁴

¹ Professor do IFPE - Afogados da Ingazeira/Aluno de Doutorando do PPGEQ/UFCG

² Professor da UAEQ/UEPB - Universidade Federal da Paraíba

³ Doutorando do PPGEQ/UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

⁴ Técnico de Laboratório UAE/UEPB – Universidade Federal de Campina Grande

O aproveitamento de resíduos lignocelulósicos em processos fermentativos, tem sido objeto de pesquisa por serem de baixo custo no processo de hidrólise para produção de etanol, tal processo tem como um dos objetivos obter um fracionamento dos constituintes (glicose, xilose, arabinose e outros açúcares) favorecendo a abertura física da estrutura celular. Alguns componentes tóxicos provenientes da degradação destes açúcares são liberados nesta etapa, tais como, o furfural, hidroximetilfurfural-HMF e ácido acético. Verificar o efeito da granulometria sobre tais açúcares para obtenção de licores com maior concentração de hexoses e menor concentração de pentoses, as quais são consideradas propulsores da inibição das leveduras na fermentação alcoólica, esta etapa do processo pode aumentar a conversão e eficiência dos açúcares fermentescíveis em álcool, além de apresentar um baixo consumo energético. Com objetivo de avaliar o efeito da granulometria sobre o bagaço de caju peneirado nas malhas de 20, 24, 35, 48, 65, 80 e 115 mesh e hidrolisado (1h, 160 °C, 3% H₂SO₄) em um reator de aço inox de pressão autógena. No processo de hidrólise para malha 65 mesh foram encontrados os maiores valores de extração de glicose e que a hidrólise do bagaço obtido na malha 80 mesh apresenta os maiores valores de pentoses. Porém com base nos valores obtidos o bagaço da peneira de malha 48 mesh foi selecionado para hidrólise do licor e posterior fermentação alcoólica.

1. INTRODUÇÃO

Diversos processos são desenvolvidos para utilização desses materiais transformando-os em compostos químicos e produtos com alto valor agregado como álcool, enzimas, ácidos orgânicos, etc. A utilização de resíduos agroindustriais em bioprocessos é uma alternativa racional para produção de substratos e uma contribuição para solucionar o problema localizado de poluição. Esses resíduos podem ser decompostos facilmente por hidrólise ácida em suas frações: celulose, hemicelulose e lignina.

O bagaço do pedúnculo do caju é um resíduo lignocelulósico que é constituído, principalmente, de carboidratos não diretamente fermentescíveis, com concentrações baixas de açúcares diretamente fermentescíveis como glicose, que a levedura metaboliza bioquimicamente em etanol com facilidade. A estrutura complexa e compacta faz necessário submeter à biomassa a pré-tratamentos físicos e/ou químicos antes da sua hidrólise para produção de etanol. O pré-tratamento visa à remoção da lignina e da hemicelulose, reduzir a cristalinidade da celulose e aumentar a porosidade dos materiais, de maneira a tornar a celulose susceptível à hidrólise. Independentemente do processo de hidrólise empregado (quer ele seja ácido ou enzimático), uma etapa de pré-tratamento é imprescindível.

Em escala industrial, pré-tratamentos físicos como moagem e irradiação se tornam inviáveis pelo seu alto custo (SUN; CHENG, 2002). No entanto a moagem permite o aumento da susceptibilidade da celulose à hidrólise pela redução de tamanho das partículas do material e redução do grau de cristalinidade do lignocelulósico (HENDRIKS; ZEEMAN, 2009). Para aumentar o rendimento e a eficiência dos processos de hidrólise e fermentação alcoólica, e baixar os custos de produção, a escolha de uma granulometria que favoreça tais fatores são de grande importância econômica, uma vez que quanto menor o tamanho das partículas maior o custo para serem obtidas (ALVIRA et al., 2010).



09 a 12 de setembro de 2012
Búzios, RJ

Após o pré-tratamento é realizado uma hidrólise ácida que tem como objetivo reduzir as macromoléculas de celulose e de hemicelulose através da adição de ácidos, normalmente ácido sulfúrico ou ácido clorídrico, ao resíduo para a obtenção de açúcares diretamente fermentescíveis. Nesse processo grande parte da hemicelulose é removida. Por outro lado, a remoção da lignina ocorre de maneira bastante limitada. Esse trabalho apresenta os resultados do efeito da granulometria sobre os açúcares para obtenção de licores com maior concentração de hexoses e menor concentração de pentoses, para posterior fermentação alcoólica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

A matéria-prima utilizada neste estudo foi o bagaço do pedúnculo do caju úmido, das variedades vermelha e amarela, a qual foi adquirida como um resíduo da produção de polpa de frutas da indústria FRUTNAT, localizada na cidade de Campina Grande, Paraíba. Foi secos a 55 °C em estufa com circulação de ar.

2.2 Caracterização do Bagaço do Caju: Análises Físico-Químicas

Amostras do bagaço de caju pré-hidrolisado foram coletadas para ser feita a sua caracterização, que consistiu em analisar umidade, pH, sólidos solúveis, celulose e lignina. A tabela 1 apresenta as referências das metodologias utilizadas para a caracterização físico-química.

Parâmetros Analisados	Metodologia
Umidade	BRASIL,2005
pH	BRASIL,2005
Sólido Solúveis	BRASIL,2005
Açúcares redutores	NREL/TP510 (NREL, 2008)
Celulose	TAPPI, 2010
Lignina	TAPPI, 2010

Tabela 1: Metodologias Utilizadas na Caracterização do Bagaço do Caju

2.3 A granulometria

foi determinada de acordo com a metodologia do fabricante do conjunto de peneiras, Pavinteste, usado no presente trabalho. Esse conjunto consiste de peneiras, com malhas de 20, 24, 35, 48, 65, 80 e 115 mesh. Após pesagem das peneiras vazias e empilhamento das mesmas no agitador, foram colocados 100 g do resíduo na peneira superior. O conjunto de peneiras foi agitado por 20 minutos na frequência 80 do agitador. O material retido em cada peneira teve sua massa determinada. Os resultados foram expressos como frações percentuais da massa de resíduo inicialmente utilizada para a análise.

2.4 Efeito da granulometria no processo de pré-hidrólise e hidrólise

Foi utilizada amostra do bagaço do pedúnculo do caju seco (BCS), peneirados em malhas de 20, 24, 35, 48, 65, 80 e 115 mesh, para avaliar o efeito do tamanho das partículas do bagaço nas reações de pré-hidrólise e hidrólise no reator. As condições do desenvolvimento das reações foram massa de bagaço 30 e 15 g; concentração de H₂SO₄ 3% e 3%; razão de massa/ácido de 1:10 e 1:8; e temperaturas de 105 e 160 °C



respectivamente, utilizando um reator de aço inox de pressão autógena, com capacidade de 750 mL, com sistema de automação de tempo, aquecimento e temperatura interna e externa. Após 65 minutos de reação no reator, o material foi esfriado e filtrado, o licor levado para análise das concentrações dos açúcares glicose, xilose e arabinose e o resíduo extraídos no processo de pré-hidrólise foi seco a 55 °C e posteriormente levado para o processo de hidrólise.

A fração líquida obtida foi analisada por cromatografia líquida, utilizando-se do HPLC. Os dados do cromatógrafo e as condições das operações foram as seguintes: Cromatógrafo Líquido equipado com uma bomba modelo ProStar 210 (Varian); Injetor manual com loop de 20µL; Detector de índice de refração modelo ProStar 356 (Varian); Coluna analítica de aço inox Hi-Plex H (300mm x 7,7 mm; Varian); Temperatura da coluna de 40°C; Fase móvel: água miliQ com vazão de 0,6 ml/min; Tempo de análise: 15 minutos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Caracterização do Bagaço do Caju

A caracterização do bagaço do caju resultante do pré-tratamento visa analisar sua composição com relação ao conteúdo de nutrientes e para posterior comparação com o bagaço hidrolisado. A Tabela 2 apresenta os valores encontrados para umidade, pH, sólidos solúveis, Açúcares redutores, celulose, Hemicelulose e lignina.

Tabela 4.1 - Caracterização química e físico-química do bagaço do caju úmido (BCU) e seco (BCS) a 55 °C

Parâmetros analisados	BCU	BCS
Umidade (%)	74,10 ± 0,70	8,87 ± 0,67
pH	5,43 ± 0,01	6,69 ± 0,01
Sólidos solúveis totais (°Brix)	11,23 ± 0,12	0,0
Açúcares redutores (%)	10,68 ± 0,21	0,31 ± 0,05
Celulose (%)	6,62 ± 0,09	25,60 ± 1,12
Hemicelulose (%)	3,22 ± 0,15	15,10 ± 0,89
Lignina total (%)	6,12 ± 1,01	23,70 ± 1,43

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4.1, observa-se que a análise de umidade para o BCU, apresentou valor semelhante ao encontrado por Pinho et al. (2011), 75,74 %, para as amostras de bagaço de caju úmido, no estudo do aproveitamento do resíduo do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.) para alimentação humana. Porém, inferior ao encontrado por Mesquita et al. (2003), de 77% no pedúnculo de caju integral usando para o processo de desidratação osmótica.

3.2. Análise granulométrica do bagaço seco

Constam na Figura 1 os resultados da análise granulométrica do bagaço do pedúnculo de caju seco (BCS) em estufa de circulação de ar; observa-se, de acordo com os dados apresentados que 92,13 % das partículas da massa do bagaço possuem tamanho entre 14 e 35 mesh, o que corresponde a valores de diâmetro entre 0,42 e 0,71 mm, e os finos (< 0,125 mm) representam 0,18 % da amostra.

Estudos realizados sobre granulometria por Sousa (2010) e Botella et al. (2007), com resíduo seco da casca e albedo do maracujá amarelo, para a produção de pectinases e xilanases, foram constatados que 49 % das partículas possuem tamanho entre 24 e 35 mesh.



COBEQ2012
XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE
ENGENHARIA QUÍMICA

09 a 12 de setembro de 2012
Búzios, RJ

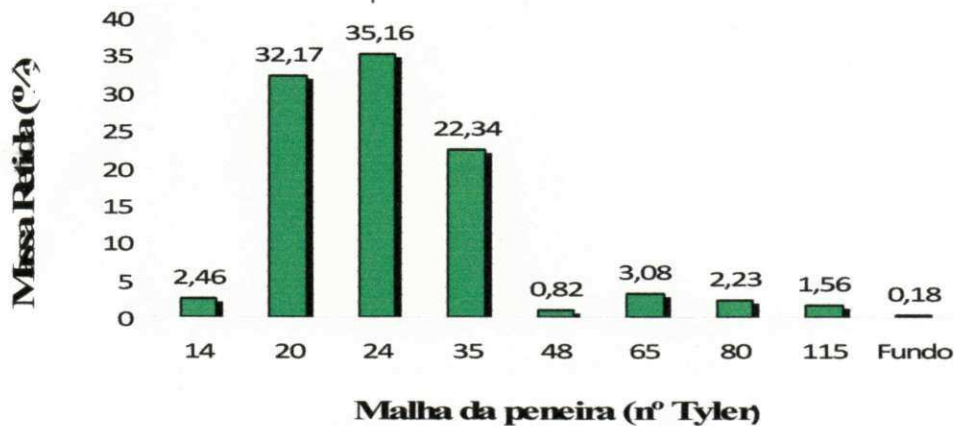


Figura 1 - Análise granulométrica do bagaço de caju

Santos (2007), estudando a produção de pectinases por fermentação em estado sólido utilizando pedúnculo de caju como substrato, observou nos resíduos secos que a granulometria apresentava cerca de 70 % de partículas com Tyler de 20-35 o que corresponde a dimensões entre 0,42- 0,84 mm, os quais são inferiores ao reportado neste trabalho, no entanto, observa-se uma tendência do material apresentar diâmetro das partículas entre 0,297 e 0,84 mm.

3.3 Efeito da granulometria no processo de hidrólise

Encontram-se apresentados na Figura 2 os resultados do efeito da granulometria sobre a glicose, xilose e arabinose, no processo de hidrólise do BCS a 160°C, na malha 65 mesh foram encontrados os maiores valores de extração de glicose e que a hidrólise do bagaço de caju obtido na malha 80 mesh apresenta os maiores valores de pentoses (xilose e arabinose).

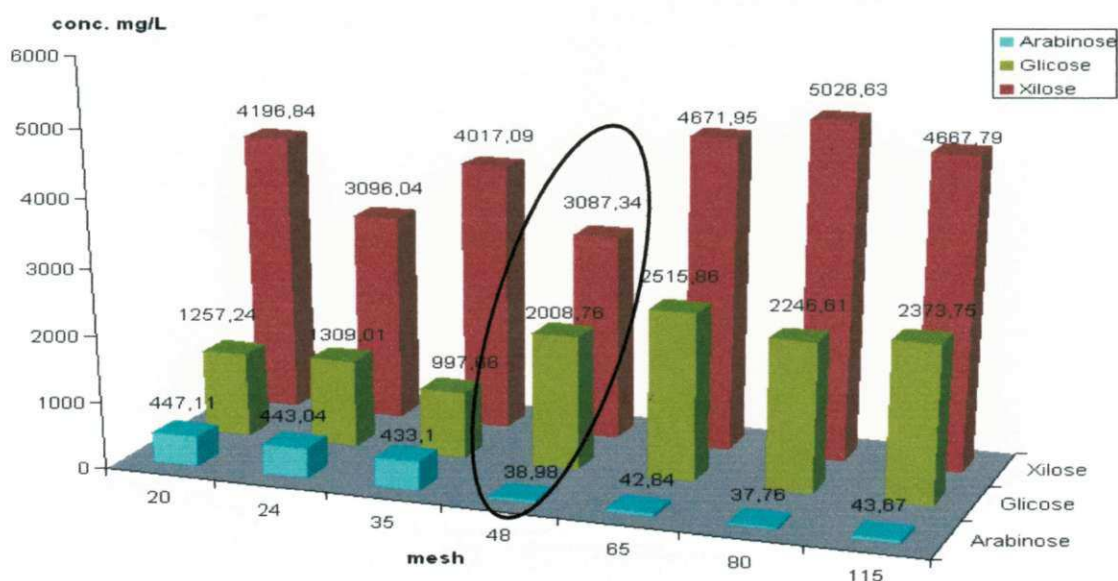


Figura 2 - Efeito da granulometria sobre a glicose, xilose e arabinose, no processo de hidrólise do bagaço de caju a temperatura de 160°C.



Por outro lado, ao se analisar a hidrólise do BCS obtido na malha 48, pode-se constatar os menores valores de pentoses e que a glicose é aproximadamente 20% menor em relação ao maior obtido na extração, que é para o bagaço hidrolisado proveniente da malha 65 mesh.

O licor obtido após a hidrólise da celulose é usado para a fermentação etanólica, utilizando-se a levedura *S. cerevisiae* que converte as hexoses em etanol Rabelo (2008). Segundo Rodrigues *et al.* (2001), a hidrólise ácida é eficiente, com até 90% de recuperação de açúcares fermentescíveis, podendo gerar alguns produtos inibidores da fermentação (compostos fenólicos, ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural), e podem inibir o processo de fermentação, devido ao efeito de repressão catabólica (Lee *et al.*, 1996), e afetar rendimentos do etanol, devendo assim ser removidos ou suavizados Palmqvist e Hahn-Hagerdal (2000).

Com base nisso, BCS selecionado para os estudos da pré-hidrólise e hidrólise, que tem por objetivo a obtenção de maior concentração de açúcares fermentescíveis (hexoses) e menor concentração de pentoses, as quais são consideradas propulso da inibição das leveduras na fermentação alcoólica, foi o bagaço obtido na peneira de malha 48 mesh.

4. CONCLUSÕES

Em função dos resultados apresentados, pode-se concluir que para aumentar o rendimento e a eficiência dos processos de hidrólise e fermentação alcoólica, e baixar os custos de produção, o bagaço obtido na peneira de malha 48 mesh apresentou maior relação entre concentração de açúcares fermentescíveis (hexoses) e concentração de pentoses.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVIRA, P.; TOMÁS-PEJÓ, E.; BALLESTEROS, M.; NEGRO, M.J. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Biotechnology*, v. 101, p. 4851-4861, 2010.

BOTELLA, C.; DIAZ, A.; ORY, I.; WEBB, C.; BLANDINO, A. Xylanase and pectinase production by *Aspergillus awamori* on grape pomace in solid state fermentation. *Process Biochemistry*, v.42, n.1, p.98-101, 2007.

BRASIL,(2005), Métodos Físico-Químicos para Análises de Alimentos/Ministério da Saúde, Instituto Adolfo Lutz.

HENDRIKS, A.T.W.M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, v.100, p.10-18, 2009.

LEE, H.; SOPHER, C.R.; YAU, K.Y.F. Induction of xylose reductase and xylitol dehydrogenase activities on mixed sugars in *Candida guilliermondii*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v.66, p.375-379, 1996.

MESQUITA, P.C.; MAIA, G.A.; SOUZA FILHO, M.S.M.; NASSAU, R.T. Estabilidade microbiológica, físico-química e sensorial de pedúnculos de caju (*Anacardium occidentale* L.)

processados por métodos combinados. *Revista Ciência de Alimentos*, v.23, n.3, p. 366-369, 2003.

NREL-National Renewable Energy laboratory; (2008). Determination of Sugars, Byproducts, and Degradation Products in Liquid Fraction Process Samples Laboratory *Analytical Procedure (LAP)*.

PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates II: Inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology*, v.74, p.25-33, 2000.

PINHO, L.X.; AFONSO, M.R.A.; CARIOCA, J.O.B.; COSTA, J.M. C.; RYBKA, A.C.P. Desidratação e aproveitamento de resíduo de pedúnculo de caju como adição de fibra na elaboração de hambúrguer. *Alimentação Nutrição*, v.22, n.4, p.571-576, 2011.

RABELO, S.C.; FILHO, R.M.; COSTA, A.C. Comparison between lime and alkaline hydrogen peroxide pretreatments of sugarcane bagasse for ethanol. *Applied Biochemistry Biotechnology*, v.144, p.87-100, 2008.

RODRIGUES, R.C.L.B.; FELIPE, M.G.A.; SILVA, J.B.A.; VITOLO, M.; GÓMEZ, P.V. The influence of pH, temperature and hydrolysate concentration on the removal of volatile and nonvolatile compounds from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate treated with activated charcoal before or after vacuum evaporation. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v.18, n.3, p.299-311, 2001.

SANTOS, S.F.M.; Estudo da produção de pectinases por fermentação em estado sólido utilizando pedúnculo de caju como substrato. 2007, 130f. *Tese* (Doutorado em Engenharia Química) – UFRN, Natal – RN

SOUZA, R.L.A. DE; OLIVEIRA, L.S.C; SILVA, F.L.H.; AMORIM, B.C. Caracterização da poligalacturonase produzida por fermentação semi-sólida utilizando-se resíduo do maracujá como substrato. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.14, n.9, p.987-992, 2010.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, v. 83, p. 1-11, 2002.

TAPPI – Technical Association of the Pulp and Paper Industry (2010), *Official Test Methods (OM)*, Provisional Test Methods (PM) and Useful Test Methods (UM) Atlanta: One Dunwoody Park.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao MCT/CNPq/ CTBio pelo apoio financeiro através do Edital MCT/CNPq/CTAagro/CTBio nº 39/2007- Tecnologias de Vanguarda para a Produção de Etanol e Biodiesel (Processo nº 552815/2007-1). Ao CNPq pelas bolsas de doutorado.