

PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO PROVENIENTE DO BAGAÇO DE PENDÚCULOS DO CAJU¹

EZENILDO EMANUEL DE LIMA², FLÁVIO LUIZ HONORATO DA SILVA^{3*}, LÍBIA DE SOUSA CONRADO OLIVEIRA⁴, ADRIANO SANT'ANA SILVA⁴, JOSÉ MARIANO DA SILVA NETO⁴

RESUMO - 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 a pré-tratamentos físicos e/ou químicos, tais como: pré-hidrólise ácida; alcalina; explosão de vapor; explosão com CO₂; tratamento com água quente; pré-tratamento com micro-ondas; entre outros antes do processo de hidrólise para produção de etanol. Objetivou-se com este trabalho estudar a pré-hidrólise e hidrólise ácida do bagaço do pedúnculo do caju (*Anarcadium occidentale* L.) e a remoção dos compostos tóxicos do licor hidrolisado usando a lignina residual como adsorvente e fermentação alcoólica dos licores para a produção de bioetanol de segunda geração. O bagaço de caju, com base na sua caracterização química e físico-química, apresentou fonte promissora visando a obtenção de bioetanol. O processo de pré-hidrólise se mostrou eficaz na remoção da hemicelulose, principalmente na extração da arabinose, sendo a temperatura a variável de maior influência no processo. 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. No estudo da fermentação alcoólica dos licores hidrolisados a levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresentou o rendimento e a eficiência do processo de obtenção de etanol celulósico máximos obtidos 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.

ETHANOL PRODUCTION OF THE SECOND GENERATION FROM CASHEW APPLE BAGASSE

ABSTRACT - The use of cashew apple bagasse for bioethanol production aimed at taking advantage of a regional culture that has about 85% of waste. Due to the complex structure of the material, it is necessary to submit it to physical pretreatments and/or chemicals such as acid prehydrolysis, alkali, steam explosion, CO₂ explosion, hot water treatment, pretreatment with microwave, among others, before hydrolysis process for ethanol production. The aim of this paper was to study the prehydrolysis and acid hydrolysis in the cashew bagasse peduncle (*Anarcadium occidentale* L.), and the removal of toxic compounds from the hydrolyzate liquor using the residual lignin as adsorbent and alcoholic fermentation of liquors for the production of the second generation bioethanol. The cashew bagasse, based on its chemical characterization and physical chemistry, presented itself as a promising source in order to produce bioethanol. The prehydrolysis, is effective in the removal of hemicelluloses mainly in the extraction of arabinose, the temperature being the major variable influencing the process. For the acid hydrolysis done with the following hydrolysis conditions: temperature at 200 °C, acid concentration equal to 6% and ratio of 1:6 has presented the combination of the highest concentration of sugars with a minimum concentration of toxic compounds. During the study of the alcoholic fermentation of liquors with hydrolyzed yeast *Saccharomyces cerevisiae*, presented 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 87.1% hydrolyzed liquor with the addition of cashew apple juice.

Keywords: Bioethanol. Hydrolysis. Adsorption. Fermentation. Agroindustrial residue.

*Autor para correspondência

¹Recebido para publicação em 14/05/2013; aceito em 29/01/2015.

Trabalho de tese do primeiro autor.

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, *Campus Afogados da Ingazeira* - Sitio Campinhos S/N, CEP: 56800-000, Afogados da Ingazeira (PE), Brasil, ezenildo@bol.com.br.

³Departamento de Engenharia Química, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, *Campus Universitário*, CEP: 58051-900, João Pessoa – Paraíba, Brasil, flavioluizh@yahoo.com.br.

⁴Unidade Acadêmica de Engenharia Química, Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, *Campus I*- Av. Aprígio Veloso, 882, CEP: 58429-140, Campina Grande (PB), Brasil, libiaconrado@yahoo.com.br, adriano_santana@yahoo.com.br, neto-silva@hotmail.com.

INTRODUÇÃO

No novo cenário mundial, as atenções voltadas para o etanol não estão mais restritas ao etanol combustível, mas também ao álcool etílico de alta pureza, que serve de insumo para diversos setores da indústria de transformação. Recentemente a alcoolquímica, segmento da indústria química que utiliza o álcool etílico como insumo para fabricação de diversos produtos químicos (BASTOS, 2007), cresceu fortemente no Brasil e no mundo, reforçando ainda mais a necessidade de explorar novas rotas para a obtenção de etanol.

Atualmente, o governo federal e a iniciativa privada vêm incentivando a produção de combustíveis provenientes de fontes renováveis, as quais podem ser óleos vegetais, materiais lignocelulósicos, entre outros. Dentre os mais variados tipos de biocombustíveis o etanol proveniente dos materiais lignocelulósicos tem encontrado ampla aceitação por serem de fontes renováveis, reduzirem o descarte de resíduos agroindustriais no meio ambiente e por agregarem valor a materiais de baixo, o que pode resultar em uma nova fonte de renda para os produtores rurais.

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 (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010). O cultivo dessa cultura é uma atividade de grande importância socioeconômica para a região Nordeste do Brasil, responsável por 98% da exploração econômica do cajueiro, principalmente nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí, os quais 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 ocorre devido a reduzida estabilidade pós-colheita associada à pequena capacidade de absorção da indústria e curto período de safra (PAIVA; GARRUTTI; SILVA NETO, 2000). A elaboração e consumo de produtos obtidos a partir do bagaço de caju proporcionam uma alternativa de aproveitamento, além da possibilidade de diversificação da produção Agroindustrial.

O bioetanol ou álcool celulose são os novos conceitos do etanol, que corresponde à produção utilizando como matérias-primas a biomassa lignocelulósica, provenientes de resíduos da agroindústria e culturas vegetais (BASTOS, 2007). Na produção do álcool as celuloses são empregadas em três etapas de operação, quais sejam: a) Pré-tratamento para separar celulose e lignina; b) Hidrólise ácida ou enzimática, para transformação da celulose em glicose; c)

Fermentação alcoólica por leveduras.

Para a 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).

Lima e colaboradores (2013) ao estudarem a hidrólise ácida do bagaço do sisal a 160°C, concentração de ácido sulfúrico de 3% (m/v) e relação bagaço:solução de 1:10 e posterior fermentação alcoólica obtiveram elevada conversão da glicose gerada na hidrólise do bagaço, com cerca de 98%.

O objetivo deste trabalho foi estudar as cinéticas das hidrólises ácidas e fermentação da matéria-prima lignocelulósica bagaço do pedúnculo do caju (*Anarcadium occidentale* L.) para a produção dos licores hidrolisados visando posterior fermentação alcoólica (fermentação submersa).

MATERIAL E MÉTODOS

Matéria-prima

A matéria prima utilizada neste estudo foi o bagaço do pedúnculo do caju, adquirido da indústria de produção de sucos FRUTNAT, Campina Grande (PB). O bagaço do pedúnculo do caju foi seco (BCS) a temperatura de 55°C, depois moído com o auxílio de moinho de facas e peneirado em peneira 48 mesh para reduzir a granulometria, sendo envasado a vácuo em sacos plásticos com aproximadamente 500 g e armazenado em caixa de isopor para posterior uso.

Caracterização do bagaço

O bagaço do caju seco (BCS) foi caracterizado quanto aos açúcares redutores, sólidos solúveis totais (°Brix), acidez total titulável, cinzas, pH, fibra detergente neutro (FDN) e fibra detergente ácida (FDA) (BRASIL, 2005), lignina (MILAGRES; PRADE, 1994), celulose hemicelulose e extrativos (SLUITER et al., 2008).

Reação de hidrólise

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, sistema de automação de tempo, aquecimento e temperatura interna e externa. Previamente às reações de hidrólise o BCS foi pré-hidrolisado a 105 °C por 1 h com razão mássica de 1:10 e solução de ácido sulfúrico a 3% (v/v), condições estas previamente estabelecidas por testes experimentais.

Paralelamente, foram realizadas ainda as caracterizações do teor de xilose, arabinose, hidroximetilfurfural, furfural e ácido acético. Os níveis das variáveis (Tabela 1) foram definidos com base nos trabalhos de Cassales et al. (2011) e Gurgel et al. (2012), e para experimentos estabeleceu-se o tempo de 65 minutos, o qual foi definido mediante teste preliminares.

Métodos estatísticos

Para a reação de hidrólise ácida do BCS fora utilizado o bagaço de caju seco pré-hidrolisado, aplicando-se um planejamento experimental fatorial com 3 pontos centrais, totalizando 11 ensaios, a fim de

verificar os efeitos da temperatura de reação, concentração do ácido sulfúrico e razão água:solução de ácido sobre o teor de glicose no licor pré-tratado com ácido.

Tabela 1. Níveis codificados e reais das variáveis utilizadas na reação de hidrólise do BCS.

Variáveis	Níveis reais e codificados		
	-1	0	+1
Concentração de H ₂ SO ₄	2	4	6
Razão	1:6	1:8	1:10
Temperatura	160	180	200

Para a análise dos resultados obtidos utilizou-se o programa computacional Statistica v.5.0 (STATSOFT, 1997). A partir da análise no referido programa foi possível obter o modelo matemático codificado (regressão linear dos dados experimentais), validação do modelo matemático por meio da análise de variância (ANOVA) e geração do gráfico de superfície de resposta. O modelo matemático foi avaliado quanto à significância de sua regressão ao nível de 95% de confiança (p<0,05).

O licor obtido na hidrólise ácida foi caracterizado quanto ao teor de glicose, xilose e arabinose, ácido acético, hidroximetilfurfural (HMF) e furfural (SLUITER et al., 2008). As análises foram realizadas em cromatógrafo líquido Varian com bomba modelo ProStar 210 (Varian), Injetor manual com loop de 20 µL, 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, e Tempo de análise: 60 minutos. E soluções padrões internos de açúcares: glicose; frutose; xilose; arabinose; e sacarose (Sigma 99,99% grau HPLC). Todas utilizadas na quantificação do teor de açúcares do licor.

Fermentação do hidrolisado

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 licor, o qual foi obtido do experimento que resultou na maior concentração de glicose e menor índice de congêneres. Como inóculo, utilizou-se levedura industrial *Saccharomyces cerevisiae* (FT858 GIASA-destilaria de produção de etanol via caldo de cana) na concentração de 10 g L⁻¹. A fermentação em si foi conduzida com licor puro (testemunha) e submetido a um processo de adsorção dos congêneres e diluição mediante adição da solução açucarada (suco de caju).

Todos os três licores hidrolisados foram corrigidos quanto aos seus teores de macronutrientes (N, P, K), micronutrientes (Mg, S, etc.) e pH (4,0), conforme metodologia de Cassales et al. (2011). Para a inoculação dos licores utilizou-se uma concentração de 10 g L⁻¹ das leveduras em base úmida.

Os produtos resultantes do processo de fermentação alcoólica foram analisados quanto ao teor de glicose, rendimento do produto (Y_{P/S}) (Eq. 1) e eficiência do processo fermentativo (E_f) (Eq. 2).

$$Y_{P/S} = \frac{(P_f - P_0)}{(AT_0 - AT_f)} \times 100$$

Eq. 1

Em que P_f- concentração de etanol no tempo final de fermentação (mg /L), P₀ - concentração de etanol no início do processo fermentativo (mg /L), AT₀ - concentração de açúcares redutores totais, expressa em g de glicose, no início da fermentação (mg /L) e AT_f - concentração de açúcares redutores totais, expressa em g de glicose no tempo final de fermentação (mg /L).

$$E_f = \frac{Y_{P/S}}{0,511} \times 100$$

Eq. 2

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 encontram-se os resultados obtidos para umidade, pH, sólidos solúveis totais, açúcares redutores, celulose, lignina, hemicelulose, extrativos e cinzas do bagaço do pedúnculo do caju (BCS).

A umidade para o BCS foi superior aos reportados por Ferreira et al. (2004), com valor de 6,80% em pedúnculo desidratado, como subprodutos da indústria do suco de caju, e Uchôa et al. (2008), em análise de resíduo de pedúnculo de caju desidratado em estufa a vácuo a 65 °C encontrando 6,99% de umidade. O valor do pH para o BCS foi inferior a Machado et al. (2010), de 4,06 no pedúnculo seco a 55 °C.

Na análise de acidez total, os autores Brandão et al. (2003) e Pinho et al. (2011) encontraram acidez total de 0,47 e 0,50%, respectivamente, valores estes abaixo ao desta pesquisa. Quanto aos açúcares redutores, totais e sólidos solúveis, o baixo valor observado para BCS se deve a lavagem realizada no bagaço do caju antes de ser seco, uma vez que ela promove a lixiviação destes componentes para o

meio externo, reduzindo seus valores.

Em termos de celulose, o bagaço do pedúnculo de caju apresentou valores semelhantes ao reportado por Ribeiro et al. (2009), que foi de 26,94%

seco, que também encontraram em outros resíduos agrícolas, como a casca de maracujá e melão com 25,21 e 30,42%, respectivamente.

Tabela 2. Caracterização físico-química do bagaço do caju seco a 55 °C.

Componente	Valor
Teor de água	8,87
pH	6,69
SST (°Brix)	0,1
Açúcares redutores (%)	0,31
Acidez total titulável (%)	0,83
Cinzas (%)	2,86
Celulose (%)	25,6
Hemicelulose (%)	15,1
Lignina (%)	23,7
FDN (%)	64,4
FDA (%)	49,3
Extrativos (%)	18,54

Os resultados de celulose, hemicelulose e lignina expressos em termos de fibras de detergente neutro (FDN) e fibras de detergente ácido (FDA) obtidos foram de 64,4 % de FDN e 49,30 % de FDA, ou seja, baixos em comparação com o trabalho realizado com resíduo de pedúnculo de caju desidratado por Ferreira et al (2004), 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, com 54,07 % de FDN e 24,73 % de FDA.

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.

Caracterização do bagaço do caju após o pré-tratamento ácido

A composição dos constituintes químicos do material obtido após o pré-tratamento ácido demonstrou um aumento no teor de celulose de 24,6 % para 52,04 % e redução no teor de hemicelulose de 15,1 % para 11,30 % associada à retirada de pentoses (xilose e arabinose) do bagaço de caju.

Houve também um aumento no teor da lignina de 24,6 % para 32,21 %, comportamento similar aos reportados na literatura (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 minutos, com valores elevando-se de 9,36 para 13,90%, e Rabelo et al. (2008), 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-hidrolisada. Este fato pode ser atribuído considerando-se que essa macromolécula confere resistência mecânica às paredes celulares, quando comparadas com a hemicelulose (RABELO; MACIEL FILHO; COSTA, et al. 2008)

Estudo das influências das variáveis independentes sobre a hidrólise ácida

Foi realizado um planejamento fatorial 2³ com três repetições no ponto central (RODRIGUES; IEMMA, 2009) com o objetivo de identificar os fatores que influenciam na concentração final do açúcar glicose obtida após a hidrólise ácida. Desse modo, foi analisado os licores resultantes do tratamento quanto à composição de açúcares.

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

Comparando os resultados deste trabalho com outros materiais lignocelulósicos estudados verifica-se que em um dos estudos realizados sobre hidrolisado de casca de arroz Saha (2003) obteve 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 (15 minutos), concentração ácido sulfúrico de 1,0% (v/v) em

140°C e 160°C, respectivamente. 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, Emtiazi e Taherzadeh (2006) e 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 (SÁNCHEZ; COORDONA, 2008).

Tabela 3. Matriz de planejamento experimental fatorial com as variáveis de entrada e de saída obtidos no processo de hidrólise do bagaço de caju.

Ensaios	Ácido (%)	Razão m/v	Temp. °C	Glicose (mg/L)
1	2	1:6	160	1200,1
2	6	1:6	160	1309,0
3	2	1:10	160	1053,0
4	6	1:10	160	1434,3
5	2	1:6	200	1334,0
6	6	1:6	200	6406,2
7	2	1:10	200	1052,7
8	6	1:10	200	3963,6
9	4	1:8	180	2515,8
10	4	1:8	180	2246,6
11	4	1:8	180	2373,7

Apesar de algumas condições de hidrólise ser considerada severa, a concentração de ácido acético não ultrapassou 0,5 g/L, sendo que para a maioria dos microrganismos 3 g/L é considerado tóxico (HELLE et al., 2003).

Considerando a máxima liberação dos açúcares (glicose), o tratamento com temperatura de 200°C e 6,0 % de H₂SO₄ e razão de 1:6 massa/v (60 minutos de reação) se mostrou 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 3) desta massa será utilizada para produzir glicose 42,66 g de celulose/L de licor.

Segundo Rossel (2006) 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 a 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. 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 gramas 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 hi-

drólise 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 dos processos de pré-hidrólise.

O rendimento de glicose obtido neste trabalho é inferior comparado com os valores reportados pelos autores citados anteriormente, mas superiores aos valores reportados por Fugita (2010) no estudo da hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar nas condições reacionais, quais sejam: 200°C; e reação de 30 min. empregando ácido sulfúrico 0,07%, obtendo-se 5,39%. Cunha-Pereira et al. (2011), no estudo da hidrólise na casca de arroz e obtendo a liberação de 23 e 19 mg/L, 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 (ROSSEL, 2006), os dados apresentados servem como parâmetros comparativos de extração de glicose nos processos.

Preconizando a aplicação da hidrólise ácida diluída em escala industrial, para que esse hidrolisado oriundo do experimento 06 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). 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, 6% H₂SO₄ e razão 1:6 se mostrou mais adequada com uma eficiência de libe-

ração de açúcares e apenas 0,576g/L de inibidores, concentração essa facilmente suportada pelas leveduras (PALMQVIST; HAHN-HÄGERDAL, 2000).

Em baixas temperaturas, a formação dos dissacarídeos é favorecida em detrimento da 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 et al., 2012), isso sugere fortemente que o caminho para a formação do HMF não passa pelo intermediário 1,6-anidroglicose, mas por uma isomerização da glicose a frutose seguida de desidratações consecutivas para formar o HMF como proposto por Conner et al. (1986) e Xiang, Lee e Torget (2004). 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 é apenas para a resposta para o açúcar glicose.

Com a análise destes resultados, um modelo de 1ª ordem foi utilizado para representar o compor-

tamento dos dados experimentais. Portanto, o modelo para concentração de glicose (mg/L) na hidrólise ácida do bagaço do pedúnculo de caju encontra-se apresentado na Equação 3.

A equação a seguir apresenta o modelo da regressão linear dos dados experimentais do planejamento 2³, tendo 3 pontos centrais e 11 ensaios para a resposta de glicose (G).

$$G = 2262,64 \pm 40,60 + 1059,16C \pm 47,61 - 343,21M \pm 47,61 + 970,01T \pm 47,61 - 236,11 CM \pm 47,61 + 936,61CT \pm 47,61 - 337,76MT \pm 47,61$$

Os coeficientes apresentados na regressão são estatisticamente significativos ao nível de 95% (p<0,05) de confiança e T, C e M representam temperatura, concentração do ácido e razão massa seca do bagaço/ácido, respectivamente.

Os coeficientes de determinação (R²) do modelo da regressão foi de 96,87%. Visando avaliar a adequação deste modelo aos resultados experimentais obtidos realizou-se uma análise de variância (ANOVA), a qual se encontra apresentada na Tabela 4, com intervalo de confiança de 95 %.

Tabela 4. ANOVA para as respostas da Glicose na hidrólise.

Fatores	Soma quadrática	Grau de liberdade	Quadrado médio	Teste F	p
Conc. Ácido (1)	8974602	1	8974602	494,8526	0,002015
Razão (2)	942359	1	942359	51,9609	0,018707
Temperatura (3)	7527394	1	7527394	415,0547	0,002401
Interação 1x2	445993	1	445993	24,5917	0,038341
Interação 1x3	7017944	1	7017944	386,9640	0,002574
Interação 2x3	912668	1	912668	50,3238	0,019298
Resíduo (erro)	832201	4	208050		
Falta de ajuste	795929	2	397964	21,9435	0,043585
Erro puro (repetições)	36272	2	18136		
Total	26653160	10			

Através dos dados da Tabela 4 é verificado que o modelo é estatisticamente significativo, ao nível de 95% de confiança, pois a razão F_{calculado}/F_{tabelado} é maior que 1 (RODRIGUES; IEMMA, 2009).

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

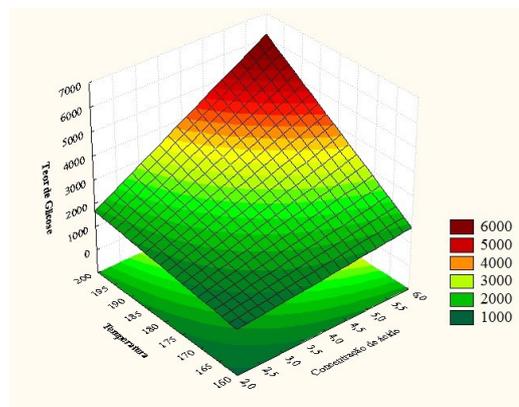
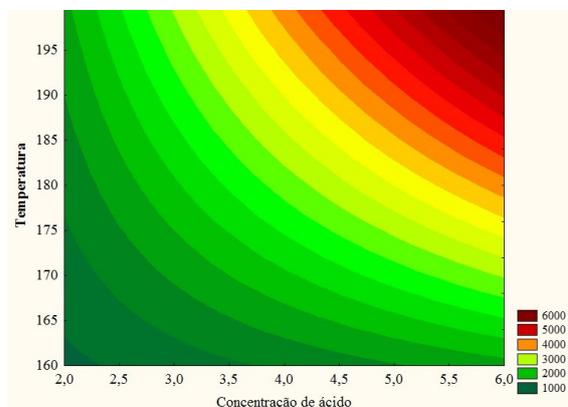


Figura 1. Influência da temperatura e concentração sobre a glicose no licor hidrolisado fixando-se a razão massa/ácido no nível inferior (-1).

Verifica-se que o maior valor da glicose, em 6406 mg/L, operando-se o tratamento 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 3 (experimento 06), que são os níveis que maximizam a extração de glicose na hidrólise, é mais viável para ser utilizado como licor a ser desenvolvido para posterior uso no estudo de adsorção (destoxificação) e da fermentação.

Cinética de consumo dos açúcares e de produção

de etanol

A cinética de consumo dos açúcares e de produção de etanol, por *S. cerevisiae*, para as três composições de licores (tratamento), estão apresentadas nas Figuras 2, 3 e 4.

Analisando as Figuras 2, 3 e 4 pode-se perceber que a levedura *S. cerevisiae* foi capaz de manter um nível relativamente constante de atividade de fermentação durante todo o curso do experimento. Fatores como o pH e o ⁰Brix mantiveram-se praticamente constantes ao longo do processo fermentativo.

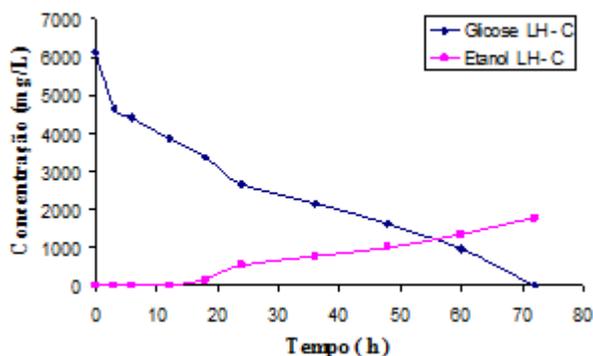


Figura 2. Cinética de consumo de glicose e produção de etanol no Licor Hidrolisado com adição de levedura *S. cerevisiae*.

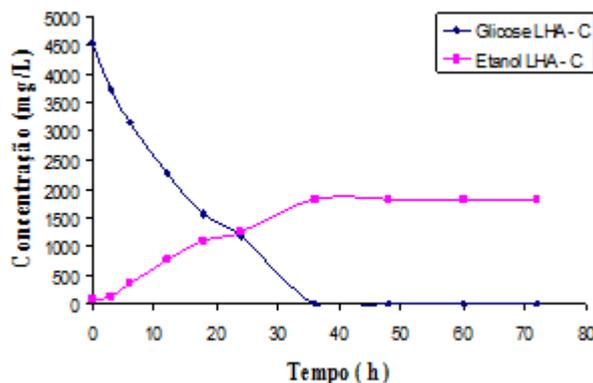


Figura 3. Cinética de consumo de glicose e produção de etanol no Licor Hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual com adição de levedura *S. cerevisiae*.

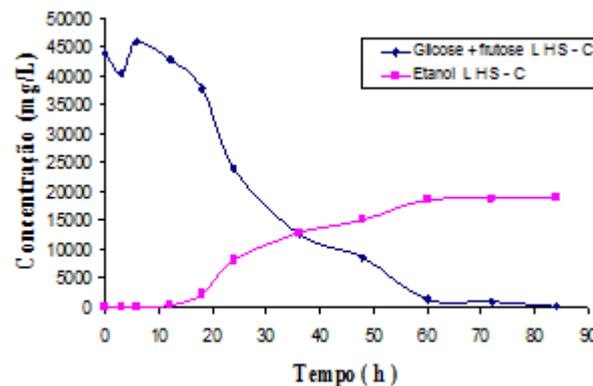


Figura 4. Cinética de consumo de glicose + frutose e produção de etanol no Licor Hidrolisado mais adição de suco de caju com inoculação de levedura *S. cerevisiae* comercial.

Observa-se que todos os perfis (Figuras 2, 3 e 4) 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 10 horas para se adaptarem ao meio, exceto os tratamentos Licor Hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual. (GURGEL, 2012). Torres Neto et al. (2006), estudando a elaboração de fermentado de caju, observaram em seus estudos uma fase de adaptação do microrganismo ao meio, com em torno de 10 horas de fermentação. No entanto, Bortolini, Sant'Anna e Torres (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.

Conforme mostrado nas Figuras 2, 3 e 4, foi possível verificar que a quantidade de etanol produzido foi de 1789 mg/L, 1821 mg/L e 22235 mg/L, respectivamente, para Licor Hidrolisado com adição de levedura *S. cerevisiae*, Licor Hidrolisado após processo de adsorção com lignina residual com adi-

ção de levedura *S. cerevisiae* e Licor Hidrolisado mais adição de suco de caju com adição de levedura *S. cerevisiae*.

Os produtos provenientes da degradação dos açúcares durante a hidrólise ácida são, principalmente, furfural e hidroximetilfurfural. 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.

Pode-se perceber que tais inibidores estão presentes nos licores, porém com concentrações baixas (441,08, 148,75, 35,19 mg/L de furfural, HMF e ácido acético respectivamente), o que pode ter retardado o tempo de adaptação das leveduras nos licores.

A partir da concentração inicial de açúcares nas amostras de licores no momento do inóculo da levedura foi calculada a porcentagem de conversão (rendimento) destes açúcares no processo fermentativo.

Na Tabela 5 encontram-se apresentados os resultados dos rendimentos e eficiência da fermentação dos três licores para as duas linhagens de leveduras em estudo, obtidos na hidrólise do bagaço de caju.

Tabela 5. Resultados em percentual dos rendimentos e da eficiência da fermentação (com os respectivos desvios padrões) dos três licores para todo o processo fermentativo.

Licores	LH	LA	L+S
% Rendimento teórico ($Y_{p/S}$)	28,31±0,26	28,82±0,27	43,12±0,35
% Eficiência	55,40±1,22	56,40±1,18	84,38±1,37

Observa-se que o Licor Hidrolisado mais adição de suco de caju com adição de levedura *S. cerevisiae* 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 %.

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 o Licor Hidrolisado mais adição de suco de caju com adição de levedura *S. cerevisiae*, cujos valores se aproximam daqueles obtidos com o caldo da cana-de-açúcar.

Nota-se que o rendimento teórico deste trabalho, que foi de 0,43, é, praticamente, semelhante aos da literatura para outros materiais lignocelulósicos, tais como: 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; GALBE; ZACCHI, 2006); e farelo de mandioca 0,39 (FERREIRA et al., 2006).

CONCLUSÕES

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. A produção média de etanol para bagaço de pedúnculo de caju de resíduo seco pode chegar a aproximadamente 21,80 g de etanol celulósico por litro de licor, ou seja, 0,13 g de etanol/g de bagaço. O rendimento e eficiência do processo de obtenção de etanol celulósico a partir do processamento do bagaço do pedúnculo do caju seco máximo 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.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao MCT/CNPq/CTBio pelo apoio financeiro através do Edital MCT/CNPq/CTAagro/CTBio nº 39/2007- Tecnologias de Van-

guarda para a Produção de Etanol e Biodiesel (Processo nº 552815/2007-1) e ao CNPq pelas bolsas de doutorado e Iniciação Científica.

REFERÊNCIAS

- 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**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1075-1080, 2004.
- BASTOS, V. D. **Etanol, alcoolquímica e biorrefinarias**. BNDES Setorial, n. 25, p. 5-38, 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**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 236-246, 2001.
- BRANDÃO, M. C. C. et al. Análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de pedúnculos de caju submetidos a desidratação osmótico-solar. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 34, n. 2, p. 139-145, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4. ed. Brasília: Instituto Adolfo Lutz, 2005. 1018 p.
- CASSALES, A. R. et al. Optimization of soybean hull acid hydrolysis and its characterization as a potential substrate for bioprocessing. **Biomass & Bioenergy**, Oxford, v. 35, n. 11, p. 4675-4683, 2011.
- CONNER, A. H. et al. Cellulose: structure, modification and hydrolysis. In: YOUNG, R. A.; ROWELL, R. M. (Ed.). **Structure, swelling and bonding of cellulose fibers**. New York: John Wiley, 1986, p. 281-296.
- CORTEZ, L. A. B. **Bioetanol de cana de açúcar P&D para produtividade e sustentabilidade**. São Paulo, SP: Editora Blucher, 2010, 954 p.
- CUNHA-PEREIRA, F. et al. Conversion of sugars present in rice hull hydrolysates into ethanol by *Spathaspora arborariae*, *Saccharomyces cerevisiae*, and their co-fermentations. **Bioresource Technology**, United Kingdom, v. 102, n. 5, p. 4218-4225, 2011.
- FERREIRA, A. C. H. et al. Valor nutritivo das silagens de capim-elefante com de diferentes níveis de subprodutos da indústria do suco de caju. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 1380-1385, 2004.
- FERREIRA, G. B. et al. Produção de álcool a partir da hidrólise do amido de mandioca por amilases do malte de milho. **Revista SODEBRAS**, 2006
- 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 em Microbiologia Agropecuária) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, SP, 2010.
- GURGEL, L.V. A.; et al. Characterization of depolymerized residues from extremely low acid hydrolysis (ELA) of sugarcane bagasse cellulose: Effects of degree of polymerization, crystallinity and crystallite size on thermal decomposition. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 36, n. 1, p. 560-571, 2012.
- HELLE, S. et al. 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**, New York, v. 33, n. 6, p. 786-792, 2003.
- 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 dez. 2010.
- 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**, New York, v. 40, n. 1, p. 138-144, 2006.
- LIMA, C. S. S. et al. Characterization of acid hydrolysis of sisal. **Applied Energy**, London, v. 102, n. 2, p 254-259, 2013.
- MACHADO, A. V. et al. Estudo cinético da secagem do pedúnculo de caju e um Secador convencional. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, Mossoró, v. 5, n. 1, p. 36 - 42, 2010.
- 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**, New York, v. 16, n. 7, p. 627-632, 1994.
- NOGUEIRA, A. et al. Avaliação da fermentação alcoólica do extrato de bagaço de maçã. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 187-

194, 2005.

PAIVA, F. F. de A.; GARRUTI, D. dos S.; SILVA NETO, R. M. da. **Aproveitamento Industrial do caju**. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT/SEBRAE/CE, 2000. 88 p.

PALMAROLA-ADRADOS, B et al. Ethanol production from non-starch carbohydrates of wheat bran. **Bioresource Technology**, United Kingdom, 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**, United Kingdom, v. 74, n. 1, p. 25-33, 2000.

PEREIRA JÚNIOR, N. **Biotechnologia de materiais lignocelulósicos para a produção química**. Rio de janeiro: EQ/UFRJ, 2006. (Prêmio Abiquim de Tecnologia)

PINHO, L. X. et al. Desidratação e aproveitamento de resíduo de pedúnculo de caju como adição de fibra na elaboração de hambúrguer. **Alimentação Nutrição**, São Paulo, v. 22, n. 4, p. 571-576, 2011.

RABELO, S. C.; MACIEL FILHO, R.; COSTA, A. C. Comparison between lime and alkaline hydrogen peroxide pretreatments of sugarcane bagasse for ethanol. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v. 144, n. 1-3, p. 87-100, 2008.

RIBEIRO, T. P. et al. Digestibilidade dos constituintes fibrosos de dietas contendo o co-produto de caju amonizado ou não com uréia. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 16, n. 2, p. 160-172, 2009.

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

ROSSEL, C. E. V. Conversion of lignocellulose biomass (bagasse and straw) from the sugar-alcohol industry into bioethanol. In: CARVALHO, E. P. et al. **Industrial Perspectives for Bioethanol**. São Paulo, UNIEMP, 2006, cap. 8, p. 123-142.

SAHA, B. C. Hemicellulose bioconversion. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Peoria, v. 30, n. 5, p. 279–291, 2003.

SÁNCHEZ, O. J.; CARDONA, C. A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. **Bioresource Technology**, United Kingdom, v. 99, n. 13, p. 5270–5295, 2008.

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**, New York, v. 39, n. 4, p. 756-762, 2006.

SCHMIDELL, W. et al. **Biotechnologia industrial: Engenharia bioquímica**. São Paulo, SP: Edgard Blucher Ltda, 2001. 541 p.

SLUITER, A. et al. **Laboratory analytical procedure: Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass**. Colorado: National Renewable Energy Laboratory, 2008. 18 p.

SOUZA, R. L. A. et al. Caracterização da poligalacturonase produzida por fermentação semi-sólida utilizando-se resíduo do maracujá como substrato. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 9, p. 987–992, 2010.

STATSOFT. **Statistica for Windows v. 5.0** (Data analysis software system). Tulsa, USA. 1997

TAHERZADEH M. J., KARIMI K. Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. **Bioresources Technology**, United Kingdom, v. 4, n. 4, p. 707–738, 2007.

TAHERZADEH, M. J. **Ethanol from lignocellulose: Physiological effects of inhibitors and fermentation strategies**. Göteborg, Sweden: Department of Chemical Reaction Engineering, Chalmers University of Technology, 2000. 20 p.

TORRES NETO, A. B. et al. Cinética e caracterização físico química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale L.*). **Química Nova**, Campinas, v. 29, n. 3, p. 489-492, 2006.

UCHOA, A. M. A. et al. Parâmetros Físico-Químicos, Teor de Fibra Bruta e Alimentar de Pós Alimentícios Obtidos de Resíduos de Frutas Tropicais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 58-65, 2008.

VON SIVERS, M. et al. Cost analysis of ethanol production from willow using recombinant *Escherichia coli*. **Biotechnology Progress**, New York, v. 10, n. 5, p. 555-560, 1994.

XIANG, Q.; LEE, Y. Y.; TORGET, R. W. Kinetics of glucose decomposition during dilute-acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, v. 113, n. 16, p. 1127-1138, 2004.