



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITARIO DE PALMAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA**

**HIDRÓLISE ÁCIDA DA FARINHA DA CASCA DE PEQUI (*Caryocar brasiliense*)  
VISANDO À PRODUÇÃO DE BIOETANOL**

**Aluno: Diana Lopes da Silva**

**Orientador: Profº Drº. Abraham Damian Giraldo Zuñiga**

**PALMAS – TO  
2013**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITARIO DE PALMAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA**

**HIDRÓLISE ÁCIDA DA FARINHA DA CASCA DE PEQUI (*Caryocar brasiliense*)  
VISANDO À PRODUÇÃO DE BIOETANOL**

**Aluno: Diana Lopes da Silva**

**Orientador: Profº Drº. Abraham Damian Giraldo Zuñiga**

**Dissertação apresentada à Universidade  
Federal do Tocantins como parte dos  
requisitos para obtenção do Título de  
Mestre em Agroenergia**

**PALMAS – TO  
2013**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITARIO DE PALMAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROENERGIA

**HIDRÓLISE ÁCIDA DA FARINHA DA CASCA DE PEQUI (*Caryocar brasiliense*)**

**ALUNO: Diana Lopes da Silva**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

Dr. ABRAHAM DAMIAN GIRALDO ZUÑIGA (Presidente)

Dr<sup>a</sup> Solange Cristina Carreiro (Examinadora Interna - UFT)

Dr. Aroldo Arévalo Pinedo (Examinador Externo - UFT)

**Data da Defesa: 24/09/2013**

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas PGA para o formato da Dissertação foram contempladas

Dr. ABRAHAM DAMIAN GIRALDO ZUÑIGA (Presidente)

*Dedico este trabalho à minha família e, em especial, à minha filha Vitória, que sempre iluminam o meu caminho e me dão forças para seguir em frente.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado sabedoria e paciência para superar todos os obstáculos encontrados durante este caminho e chegar, enfim, a este momento.

Ao meu orientador, Prof<sup>o</sup> Abraham, por mais uma vez ter me acolhido, orientado e incentivado, dando a oportunidade de adquirir novos conhecimentos.

À minha família, em especial meus pais e o Vanderley, que sempre me incentivaram e tentaram me ajudar em tudo que fosse possível.

À minha filha Vitória, que apesar de tão pequena soube compreender e aceitar todas as vezes que a mamãe não podia brincar porque tinha que estudar.

Ao Jhonatha, por ter compartilhado comigo grande parte desta jornada, aceitando a ausência e os momentos de angústia.

Aos amigos e colegas do mestrado pela companhia, amizade e sugestões no desenvolvimento deste trabalho, em especial, à Luana, Fernanda, Jonas, Rafael e Ilamar.

À amiga Vanessa Oster, que de todas as formas possíveis me ajudou para a conclusão deste trabalho, sempre com idéias, conforto, palavras de incentivo e ânimo e até mesmo broncas. Além da grande companhia durante todo este tempo.

À Jovenita, Carla e Mariana pela ajuda no laboratório.

Àos colegas de trabalho da UFT, em nome de Thiago de Cesaro, que tiveram compreensão e flexibilidade durante todo o tempo do curso e desenvolvimento deste trabalho.

Às amigas Jucimária e Millena pelos conselhos e conforto.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o fim de mais esta etapa da minha vida, o meu muito obrigada!

## LISTA DE FIGURAS

3.1	Matriz Energética Brasileira 2011. ....	6
3.2	Consumo de energia nos transportes brasileiros. ....	7
3.3	Estrutura de um material lignocelulósico. ....	11
4.1	Mesocarpo interno, externo e exocarpo do pequi. ....	22
4.2	Desidratador misto do tipo eólico solar/convencional. ....	23
4.3	Curva padrão de glicose. ....	26
5.1	Farinha da casca de pequi. ....	30
5.2	Diagrama de Pareto – Temperatura 121°C. ....	33
5.3	Superfície de resposta da concentração de AR da hidrólise realizada a 106°C em função da concentração de ácido e do tempo de hidrólise. . . .....	34
5.4	Superfície de resposta da concentração de AR da hidrólise realizada a 111°C em função da concentração de ácido e do tempo de hidrólise. . . .....	35
5.5	Superfície de resposta da concentração de AR da hidrólise realizada a 116°C em função da concentração de ácido e do tempo de hidrólise. . . .....	35
5.6	Superfície de resposta da concentração de AR da hidrólise realizada a 121°C em função da concentração de ácido e do tempo de hidrólise. . .	36

## LISTA DE TABELAS

4.1	Pontos utilizados para a construção da curva padrão de glicose. .	25
4.2	Planejamento experimental da hidrólise ácida da farinha da casca de pequi utilizando as variáveis tempo e concentração de ácido sulfúrico nas temperaturas de 106°C, 111 °C, 116 °C e 121 °C. . .	27
5.1	Caracterização da farinha da casca de pequi. . . . .	30
5.2	Matriz das variáveis independentes e da média da variável resposta para os ensaios realizados à temperatura de 106°C. 111°C, 116°C e 121°C. . . . .	32
5.3	ANOVA para os ensaios realizados a 106°C – Experimento inteiramente casualizado. . . . .	38
5.4	Médias dos Tratamentos à temperatura 106°C. . . . .	39
5.5	ANOVA para os ensaios realizados a 106°C – Experimento inteiramente casualizado. . . . .	39
5.6	Médias dos Tratamentos à temperatura 111°C. . . . .	40
5.7	ANOVA para os ensaios realizados a 116°C – Experimento inteiramente casualizado. . . . .	41
5.8	Médias dos Tratamentos à temperatura 116°C. . . . .	41
5.9	ANOVA para os ensaios realizados a 121°C – Experimento inteiramente casualizado. . . . .	42
5.10	Médias dos Tratamentos à temperatura 121°C. . . . .	42

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

ANP -	Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis
ANOVA -	Análise de Variância
ANVISA -	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AR -	Açúcar Redutor
ART -	Açúcar Redutor total
BEN -	Balanço Energético Nacional
BNDES -	Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social
CV -	Coeficiente de variação
DNS -	Ácido dinitrossalicílico
FV -	Fonte de Variação
GL -	Graus de liberdade
IAL -	Instituto Adolfo Lutz
IBGE -	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LAPSDEA -	Laboratório de Separação de Biomoléculas e Desidratação de Alimentos

MAPA -	Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NREL -	National Renewable Energy Laboratorys
ODAC -	Oil Depletion Analysis Center
P.A. -	Pró-análise / grau analítico
pH -	Potencial Hidrogeniônico
pK <sub>a</sub> -	Cologaritmo da constante de acidez
Proálcool	Programa Nacional do álcool
QM -	Quadrado médio
SHF -	Separate Hydrolysis and Fermentation
SQ -	Soma dos quadrados

## RESUMO

Com o aumento da população mundial e do número de países que se tornaram industrializados, o consumo de energia tem aumentado também. Com este crescimento contínuo da demanda por energia, há uma clara tendência de esgotamento de recursos, já que a principal fonte para a produção de combustíveis é de origem fóssil, não renovável. Neste contexto, a busca por fontes renováveis de energia e de alternativas ao uso do petróleo está mobilizando setores acadêmicos, industriais, sociais e governamentais. A curto prazo, a biomassa apresenta-se como único recurso adequado de energia primária renovável que pode fornecer combustíveis alternativos, como o etanol de segunda geração. O bioma Cerrado apresenta várias matérias-primas que podem ser utilizadas para este fim. O pequi (*Caryocar brasiliense*), é um fruto típico do cerrado brasileiro que floresce entre os meses de junho e setembro e produz frutos de setembro a fevereiro. A casca do pequi é composta pelo exocarpo e pelo mesocarpo externo, uma camada mais espessa e carnosa e que apresenta alto teor de carboidratos. Esta é considerada um resíduo, pois não é aproveitada na alimentação humana. Devido às essas características, a utilização da casca de pequi torna-se uma alternativa para a produção de energia. Desta forma, este trabalho teve como objetivo a hidrólise ácida da farinha da casca de pequi. Para a obtenção da farinha da casca do pequi foram utilizados frutos provenientes do município de Palmas-TO e sua caracterização físico-química efetuada. Para a hidrólise com ácido diluído foram estudadas as variáveis tempo (30,45,60 e 90min) e concentração de ácido sulfúrico (1, 2,3,4 e 5%v/v) em quatro temperaturas (106°C, 111°C, 116°C e 121°C), com três repetições. Dentre os tratamentos testados, o que apresentou melhor rendimento foi o realizado a 121°C, com uma concentração de ácido sulfúrico de 5% v/v e um tempo de hidrólise de 90 min, obtendo-se uma concentração de 7,34 mg/ml de açúcar redutor (AR), o que representa um aumento de quase 9 vezes de AR em relação ao teor inicial contido na farinha da casca de pequi.

## ABSTRACT

With the increase in world population and the number of countries that became industrialized, energy consumption has increased too. With this continued growth in demand for energy, there is a clear trend of resource depletion, as the main source for the production of fossil fuels are non-renewable. In this context, the search for renewable energy and alternatives to petroleum is mobilizing the academic, industrial, governmental and social. In the short term, biomass presents itself as the only appropriate use of renewable energy source that can provide alternative fuels, such as second-generation ethanol. The Cerrado presents various raw materials that can be used for this purpose. Pequi (*Caryocar brasiliense*), is a typical fruit of the Brazilian cerrado that blooms between June and September and produces fruit from September to February. The peel Pequi is made by exocarp and outer mesocarp by a thicker layer and fleshy and has a high carbohydrate content. It is considered a waste, because it is not utilized for human consumption. Due to these characteristics, the use of peel becomes Pequi an alternative to energy production. Thus, this study aimed to acid hydrolysis flour peel Pequi. To obtain the flour peel Pequi were used fruits from the city of Palmas -TO and its physicochemical characterization performed. For hydrolysis with dilute acid were studied variables of time (30,45,60, and 90 min) and concentration of sulfuric acid (1, 2, 3, 4 and 5%v/v) at four temperatures (106°C, 111°C, 116°C and 121°C) with three replicates. Among the treatments tested, which showed the best results was performed at 121°C and a sulfuric acid concentration of 5% v/v hydrolysis time of 90 min to yield a concentration of 7,34 mg / ml sugar reducing (AR), representing an increase of almost 9 times of AR in relation to the initial content contained in the peel flour pequi.

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO. ....	1
2.	OBJETIVOS. ....	4
2.1	Objetivo geral. ....	4
2.2	Objetivos específicos. ....	4
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. ....	5
3.1	Cenário energético. ....	5
3.2	Etanol. ....	7
3.2.1	<i>Etanol lignocelulósico. ....</i>	9
3.3	Biomassa lignocelulósica. ....	10
3.4	Biomassas alternativas. ....	13
3.4.1	<i>Pequi. ....</i>	14
<b>3.4.1.1</b>	<b><i>Casca do pequi. ....</i></b>	<b>14</b>
3.5	Hidrólise. ....	15
3.5.1	<i>Hidrólise enzimática. ....</i>	16
3.5.2	<i>Hidrólise ácida. ....</i>	18
4.	MATERIAIS E MÉTODOS. ....	22
4.1	Obtenção e armazenamento da matéria-prima. ....	22
4.2	Obtenção da farinha. ....	22

4.3	Caracterização físico-química da farinha da casca de pequi. . .	23
4.3.1	<i>Umidade</i> . . . . .	23
4.3.2	<i>Cinzas</i> . . . . .	23
4.3.3	<i>Lipídeos</i> . . . . .	23
4.3.4	<i>pH</i> . . . . .	24
4.3.5	<i>Acidez total titulável</i> . . . . .	24
4.3.6	<i>Carboidratos</i> . . . . .	24
4.3.7	<i>Açúcares redutores solúveis</i> . . . . .	24
4.4	Curva padrão de glicose. . . . .	25
4.5	Remoção de extrativos. . . . .	26
4.6	Hidrólise. . . . .	26
4.7	Concentração de açúcares redutores totais (ART). . . . .	28
4.8	Análise estatística. . . . .	29
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES. . . . .	30
5.1	Obtenção da farinha da casca de pequi. . . . .	30
5.2	Caracterização físico-química da farinha da casca de pequi. . .	30
5.3	Hidrólise da farinha da casca de pequi. . . . .	32
5.3.1	<i>Análise da superfície de resposta</i> . . . . .	34
5.3.2	<i>Análise de Variância – ANOVA</i> . . . . .	38
6.	CONCLUSÕES. . . . .	43

## 1. INTRODUÇÃO

Uma das preocupações da sociedade é com o suprimento de energia nas próximas décadas, já que o mundo ainda é dependente dos combustíveis de origem fóssil, não renovável, sendo o petróleo a principal fonte de energia utilizada (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Assim, alterações no suprimento ou no uso do petróleo teriam consequências econômicas, políticas e sociais importantes para a maior parte dos países do mundo (SILVA, 2010b).

O aumento do preço do petróleo, as perspectivas de esgotamento das reservas, o risco da dependência do petróleo fornecido por países politicamente instáveis e a questão ambiental intensificaram o interesse pelas fontes alternativas de energia (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Com 45% de sua matriz energética sendo proveniente de fontes renováveis, o Brasil tem a matriz energética mais renovável do mundo industrializado, contando com recursos hídricos, biomassa, etanol, energia solar e eólica, etc. (BRASIL, 2013a). Neste contexto, a busca por fontes renováveis de energia e de alternativas ao uso do petróleo está mobilizando internacionalmente setores acadêmicos, industriais, sociais e governamentais com ênfase no desenvolvimento de processos biotecnológicos de menor impacto ambiental

(SILVA, 2010b). A curto prazo, a biomassa apresenta-se como único recurso adequado de energia primária renovável que pode fornecer combustíveis alternativos para uso no transporte, como o etanol de segunda geração ou biodiesel (ALVIRA, 2010).

O etanol é também conhecido como álcool etílico, álcool de biomassa, bioetanol ou simplesmente álcool. É produzido a partir de biomassas que contenham açúcares, amido ou material celulósico (PAVLAK, 2007). O uso do etanol, seja em mistura com a gasolina ou puro, produz menores taxas de emissões de gases poluentes devido a sua composição (BNDES, 2008). A tecnologia automotiva atual está suficientemente desenvolvida para que motores de veículos movidos somente a etanol hidratado tenham desempenho e durabilidade similar aos motores de veículos movidos à gasolina (BNDES, 2008).

O Brasil é um dos principais produtores mundiais de cana-de-açúcar e etanol, sendo referência na tecnologia de produção desses produtos. Com o surgimento dos carros bicombustíveis, o etanol voltou a ter um lugar de destaque no mercado energético do país e do mundo (OLIVEIRA 2006; VASCONCELOS, 2011). Um dos desafios do Brasil neste momento é aumentar a oferta de etanol e buscar novas tecnologias e fontes de obtenção do álcool (CURVELO-SANTANA *et al.*, 2010).

Para evitar a expansão desenfreada das áreas de cultivo de cana-de-açúcar, principal fonte de obtenção de etanol no Brasil, têm-se desenvolvido processos que utilizam biomassas lignocelulósicas residuais para a produção de etanol de segunda geração. Várias pesquisas sobre a conversão bioquímica da biomassa lignocelulósica têm sido realizadas, porém, ainda há muitos obstáculos técnicos e econômicos dificultando o seu desenvolvimento (PRADO, 2010).

Os resíduos de biomassa lignocelulósica são constituídos principalmente de carboidratos polimerizados, dos quais a celulose é o mais abundante. No entanto, para que estes carboidratos polimerizados, provenientes de resíduos de biomassa lignocelulósicos, sejam aproveitados pelos microrganismos nos processos fermentativos, eles devem ser previamente hidrolisados, já que na sua forma macromolecular não são fermentescíveis (FURLAN, *et al.*; 2008).

A produção de etanol de segunda geração utiliza processos químicos, com o uso de ácidos, ou processos biotecnológicos, com o uso de enzimas, para a

quebra das moléculas de celulose e produção de açúcares fermentescíveis para então, por fim, produzir o etanol por meio de processos fermentativos convencionais (BASTOS, 2007). A biomassa lignocelulósica tem se destacado na busca por fontes alternativas de energia por ser uma matéria-prima abundante, além de renovável (REYES, 1998).

No estudo de materiais que serão utilizados como matérias-primas energéticas, são necessários abordagens acerca de aspectos climáticos, agrônômicos e econômicos de cada espécie (PRADO, 2010).

O bioma Cerrado é um dos maiores produtores de frutas nativas do Brasil, e o interesse internacional nessas frutas tem sido crescente. Porém, a exploração do Cerrado tem sido extrativista e até mesmo predatória, sendo indispensável uma avaliação do real potencial e as possibilidades de uso das frutas nativas nesse bioma, tais como o pinhão manso, babaçu, pequi, buriti, cagaita, mangaba, baru, etc. (SOARES JUNIOR, 2010). O processamento e aproveitamento integral dos frutos do cerrado poderia tornar-se uma opção para o desenvolvimento sustentável da região do cerrado (SOARES JUNIOR, 2010).

O pequi (*Caryocar brasiliense*) é um fruto típico do cerrado brasileiro, composto por aproximadamente 76% de casca e 24% de caroço (mesocarpo interno, putâmen e amêndoa) (VASCONCELOS et al., 2011).

A casca do pequi é constituída pelo exocarpo, uma camada fina e verde acinzentada, e pelo mesocarpo externo, uma camada mais espessa e carnosa de cor branco-amarelada, o qual é considerada um resíduo, pois não é aproveitada na alimentação humana e, apesar do seu alto teor de fibras, micronutrientes e atividade antioxidante (VASCONCELOS et al., 2011). Barbosa e Amante (2002) elaboraram e caracterizaram a farinha da casca de pequi e encontraram um teor de proteína de 5,76%; 1,54% de lipídeos; 50,94% de carboidratos totais e 39,97% de fibras alimentares. Devido a essas características, a utilização da casca de pequi torna-se uma alternativa para o aproveitamento deste resíduo tanto para o enriquecimento nutricional de alimentos (VASCONCELOS et al., 2011), quanto para a produção de energia, devido ao seu alto teor de carboidratos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar a influência dos parâmetros da hidrólise ácida diluída da farinha da casca de pequi visando o melhor rendimento de açúcares para a produção de bioetanol.

### 2.2 Objetivos específicos

- Produzir farinha da casca de pequi utilizando um desidratador misto, do tipo eólico solar/convencional
- Caracterizar a farinha da casca de pequi através de análises físico-químicas.
- Avaliar a influência da temperatura, tempo e concentração de ácido no rendimento de açúcares redutores na hidrólise.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Cenário energético

Com o aumento da população mundial e do número de países que se tornaram industrializados, o consumo de energia tem aumentado, também, ao longo do século passado. (CHENG, 2002). Com este crescimento contínuo da demanda por energia, há uma clara tendência de esgotamento de recursos energéticos (BASHA et. al, 2009).

Uma das preocupações da sociedade é com o suprimento de energia nas próximas décadas, já que o mundo ainda é dependente dos combustíveis de origem fóssil, não renovável, sendo o petróleo a principal fonte de energia utilizada (OLIVEIRA *et al.*, 2009). O petróleo é responsável pelo fornecimento de um terço da energia primária consumida no planeta. Assim, alterações no suprimento ou no uso do petróleo teriam consequências econômicas, políticas e sociais importantes para a maior parte dos países do mundo (SILVA, 2010b). Avaliações mais pessimistas afirmam que chegaremos a um esgotamento das reservas de petróleo em torno de 41 anos (ODAC, 2007).

Na década de 70, quando houve a crise do petróleo, o Brasil tinha uma grande dependência em relação à importação desse insumo energético. Essa dependência motivou o governo brasileiro a criar o Proálcool, Programa Nacional do álcool, para incentivar a produção e desenvolvimento de energia alternativa. O Proálcool foi criado em 1975 para estimular a produção de álcool combustível com o objetivo de atender as necessidades do mercado interno e externo (GURGEL, 2010).

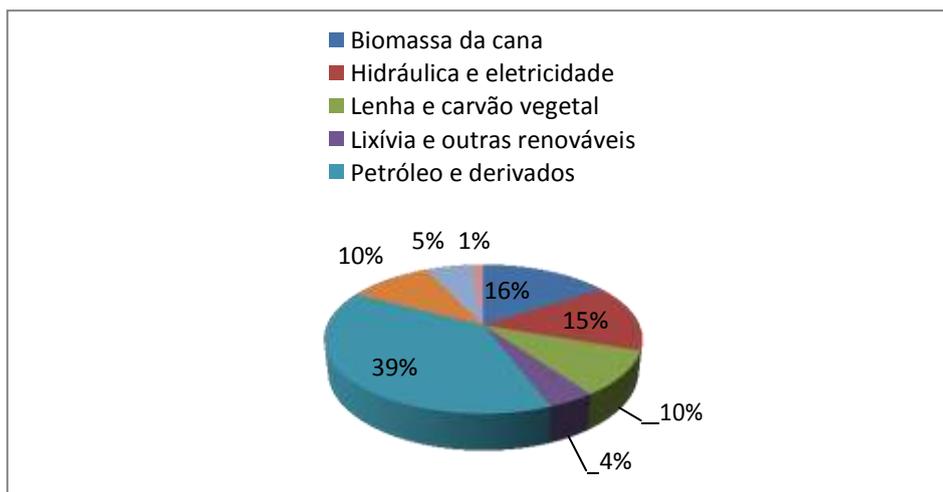
Com a elevação do preço do petróleo, o governo brasileiro estimulou a produção de álcool combustível a partir da cana-de-açúcar, que substituiria a gasolina ou seria usado como aditivo à mesma, para a redução da importação de petróleo. A mudança para a produção de álcool foi economicamente vantajosa, também, porque neste período o preço do açúcar estava decaindo no mercado internacional, tornando conveniente a mudança da produção de açúcar para álcool (GURGEL, 2010). Houve uma tendência crescente e irreversível no

aumento do preço do petróleo e, a longo prazo, a diminuição do seu uso (SILVA, 2010a).

A combustão de combustíveis fósseis juntamente com o desmatamento tem gerado gases poluentes que se acumulam na atmosfera, em especial o CO<sub>2</sub>, responsáveis pelo efeito estufa, que causa mudanças climáticas. Essa atual situação ambiental exige que a sociedade mude os seus padrões de industrialização e consumo, para que haja uma redução da emissão de gases de efeito estufa (SILVA, 2010b). Com o aumento do preço do petróleo, as perspectivas de esgotamento das reservas, o risco da dependência do petróleo fornecido por países politicamente instáveis e a questão ambiental intensificaram o interesse pelas fontes alternativas de energia (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

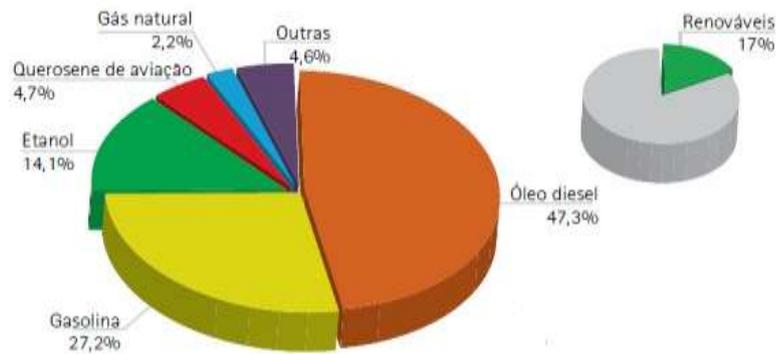
A matriz energética mundial possui 13% de seus recursos provenientes de fontes renováveis entre países industrializados e 6% quando consideramos países em desenvolvimento (BRASIL, 2013a).

Com 45% de sua matriz energética sendo proveniente de fontes renováveis, o Brasil tem a matriz energética mais renovável do mundo industrializado, contando com recursos hídricos, biomassa, etanol, energia solar e eólica, etc. (BRASIL, 2013a), como apresentado na Figura 3.1. Na Figura 3.2 temos o consumo de energia nos transportes brasileiros, onde podemos ressaltar que apenas 17% dos combustíveis usados são de origem renovável (BEN, 2012).



**Figura 3.1** – Matriz Energética Brasileira 2011

**Fonte:** Balanço energético Nacional, 2012 (BEN, 2012) (adaptado).



**Figura 3.2**– Consumo de energia nos transportes brasileiros  
**Fonte:** BEN, 2012

Neste contexto, a busca por fontes renováveis de energia e de alternativas ao uso do petróleo está mobilizando internacionalmente e, de forma ímpar, setores acadêmicos, industriais, sociais e governamentais com ênfase no desenvolvimento de processos biotecnológicos de menor impacto ambiental (SILVA, 2010b). A curto prazo, a biomassa apresenta-se como único recurso adequado de energia primária renovável que pode fornecer combustíveis alternativos para uso no transporte, como o etanol de segunda geração ou biodiesel (ALVIRA, 2010).

### 3.2 Etanol

O etanol é também conhecido como álcool etílico, álcool de biomassa, bioetanol ou simplesmente álcool, é produzido a partir de biomassas que contenham açúcares, amido ou material celulósico (PAVLAK, 2007).

Tendo como fórmula molecular  $C_2H_6O$ , o etanol pode ser utilizado como combustível de duas maneiras: em misturas de gasolina e etanol anidro ou como etanol puro, geralmente hidratado (BNDES, 2008).

Sendo um combustível, o etanol libera calor ao se queimar, porém, apresenta algumas diferenças importantes quando comparado ao combustíveis de origem fóssil. A principal diferença é o seu elevado teor de oxigênio, que representa 35% em massa do etanol, permitindo assim uma combustão mais limpa. O uso do etanol, seja em mistura com a gasolina ou puro, produz menores taxas de emissões de gases poluentes devido a sua composição (BNDES, 2008).

De acordo com resolução da Agência Nacional do Petróleo, gás natural e biocombustíveis – ANP, o teor máximo de água no etanol anidro é de 0,4%volume e no etanol hidratado de 4,9%volume (ANP, 2013b).

A tecnologia automotiva atual está suficientemente desenvolvida para que motores de veículos movidos somente a etanol hidratado tenham desempenho e durabilidade similar aos motores de veículos movidos à gasolina (BNDES, 2008).

O Brasil é um dos principais produtores mundiais de cana-de-açúcar e etanol, sendo referência na tecnologia de produção desses produtos. A história da produção de cana-de-açúcar em nosso país é antiga, mas somente em 1931 o governo solicitou a adição de 5% de etanol anidro à gasolina (BERNARDO NETO, 2009). Inclusive, na atualidade, ele é usado entre 18% e 25% em mistura com a gasolina (ANP, 2013a).

Com o surgimento dos carros bicombustíveis, o etanol voltou a ter um lugar de destaque no mercado energético do país e do mundo (OLIVEIRA 2006; VASCONCELOS, 2006). Um dos desafios do Brasil neste momento é aumentar a oferta de etanol e buscar novas tecnologias e fontes de obtenção do álcool (CURVELO-SANTANA *et al.*, 2010).

O etanol é o mais adequado substituto para combustíveis derivados do petróleo (PAVLAK, 2007). E o Brasil por muitas décadas já vem utilizando este combustível em larga escala, seja puro ou em mistura à gasolina, colocando o país em uma posição extremamente favorável em relação às emissões de CO<sub>2</sub> na atmosfera (SILVA, 2010b).

Outra atratividade do etanol combustível em relação à gasolina é a comparação dos seus preços médios de venda com os preços médios de venda dos combustíveis de origem fóssil. Em veículos com tecnologia *flex fuel* (bicombustíveis), o etanol é utilizado em geral até um limite de 70% do preço da gasolina (SILVA, 2010b).

A estimativa da produção de etanol da safra 2013/2014 deve chegar a 25,77 bilhões de litros; 2,13 bilhões de litros a mais do que a safra 2011/2012 (23,64 bilhões de litros de etanol) (MAPA, 2013).

Quanto ao consumo de etanol combustível, o Brasil consumiu no ano de 2010 cerca de 7 milhões de litros de etanol anidro e 16 milhões de litros de etanol hidratado, totalizando 23 milhões de litros de etanol combustível (BRASIL, 2013b).

### 3.2.1 Etanol lignocelulósico

O etanol combustível pode ser obtido a partir de diversas matérias-primas. Neste contexto, é essencial a valorização da obtenção de etanol a partir de fontes alternativas (PAVLAK, 2007).

A produção de etanol no Brasil provém principalmente da cana-de-açúcar, porém, para aumentar a produção desse combustível a partir da cana-de-açúcar, será necessária a expansão das áreas de cultivo, melhoria nas tecnologias de produção e/ou a combinação desses dois fatores (PRADO, 2010).

Para evitar a expansão desenfreada das áreas de cultivo, têm-se desenvolvido processos que utilizam biomassas lignocelulósicas residuais, geradas em abundância nos setores agrícolas e florestais, para a produção de etanol de segunda geração. Estimativas norte-americanas mostram que em 2022 serão produzidos 60 bilhões de litros de biocombustíveis celulósicos (SILVA, 2010b).

A cana-de-açúcar e os grãos fazem parte de dois grupos de matérias-primas que atualmente são utilizados como os principais insumos para a produção de etanol (TAHERZADEH & KARIMI, 2007). No entanto, com o desenvolvimento de processos biotecnológicos, um terceiro grupo de matérias-primas vêm surgindo. Os materiais lignocelulósicos estão contidos neste grupo (SILVA, 2010a).

A demanda por alimentos tem aumentado, assim como a demanda por energia. Considerando a demanda por alimentos prioridade, as matérias-primas incluídas nos dois primeiros grupos se tornariam, no futuro, caras e pouco competitivas quando comparadas com os materiais lignocelulósicos (PRADO, 2010).

Várias pesquisas sobre a conversão bioquímica da biomassa lignocelulósica têm sido realizadas, como por exemplo, Silva (2007), que realizou estudo sobre a produção de etanol a partir do hidrolisado da palha de arroz; Aguiar Filho (2008) fez uma análise enzimática de fungos lignocelulíticos do bagaço da cana-de-açúcar; Giordano *et al* (2011) selecionou fatores significativos na hidrólise química e enzimática de resíduos lignocelulósicos e, Baracho (2009), que fez um estudo sobre a hidrólise ácida da palma forrageira; porém, ainda há

muitos obstáculos técnicos e econômicos dificultando o desenvolvimento dessa conversão bioquímica (PRADO, 2010).

### 3.3 Biomassa lignocelulósica

Os resíduos lignocelulósicos podem ser aproveitados na produção de adubos orgânicos, ração animal, proteínas e glicose e tem sido apresentado como uma alternativa de fonte renovável na produção de biocombustíveis (GOMES, 1983 e OLIVEIRA *et al.*, 2009). A biomassa lignocelulósica tem se destacado na busca por fontes alternativas de energia por ser uma matéria-prima abundante, além de renovável (REYES, 1998).

A sociedade humana inegavelmente é uma grande produtora de resíduos (TAHERZADEH & KARIMI, 2008), gerando-os em enormes quantidades. Além dos resíduos, são gerados também subprodutos a partir de processos de fabricação nas indústrias, serviços e indústrias agrícolas. Conseqüentemente, a gestão dos resíduos sólidos tornou-se uma das principais preocupações ambientais do mundo (CHIN, 2011).

O acúmulo de resíduos resulta em graves problemas ambientais, problemas de saúde e perigos para a segurança, e a prevenção para estes problemas é a recuperação e reciclagem de resíduos, visando um desenvolvimento sustentável (TAHERZADEH & KARIMI, 2008).

Resíduos de biomassa lignocelulósica podem ser considerados produtos secundários se houver algum meio tecnológico adequado para convertê-los em produtos de alta utilização e demanda (CHIN, 2011).

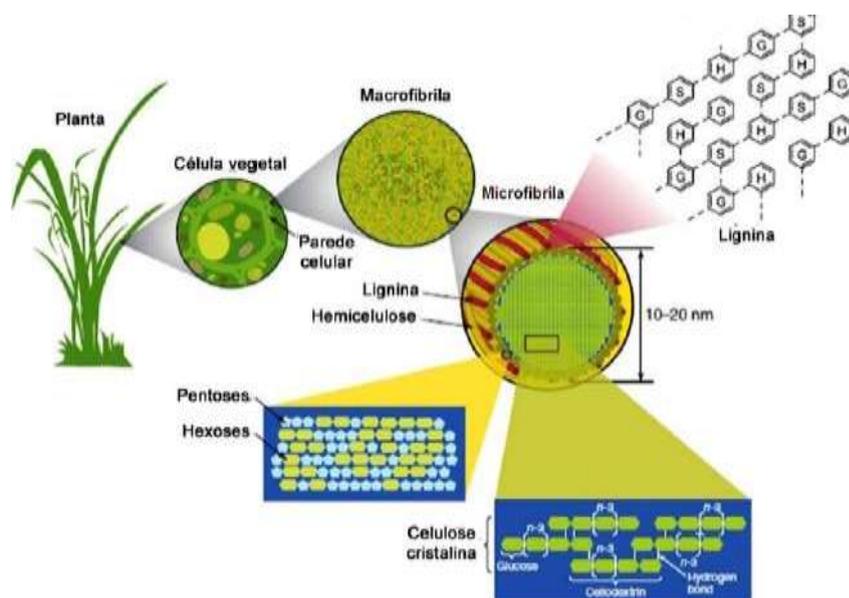
Os resíduos de biomassa lignocelulósica são constituídos principalmente de carboidratos polimerizados, dos quais a celulose é o mais abundante, constituindo cerca de dois terços de toda matéria orgânica existente no planeta (ZHAO *et al.*, 2007).

No entanto, para que estes carboidratos polimerizados sejam aproveitados pelos microrganismos nos processos fermentativos, eles devem ser previamente hidrolisados, já que na sua forma macromolecular não são diretamente fermentescíveis (FURLAN, *et al.*; 2008).

De acordo com Chin (2011), 90% da matéria seca da biomassa lignocelulósica é composta por celulose, hemicelulose e lignina. O restante consiste em extrativos e cinzas.

A Figura 3.3 apresenta a estrutura de uma célula vegetal, a parede celular e uma microfibrila e seus componentes, celulose, hemicelulose e lignina. A celulose é o componente mais abundante das paredes celulares das plantas, seguido pela hemicelulose, que une as fibras celulósicas em microfibrilas e as interliga com a lignina, criando uma rede complexa. Finalmente, a lignina pode ser considerada como a “cola” celular provendo o tecido resistente da planta (GURGEL, 2010).

A celulose ou  $\beta$ -1-4-glucano é um polissacarídeo linear de polímeros de glicose composto por unidades de celobiose. As cadeias de celulose são envolvidas por ligações de hidrogênio, chamada de “microfibrila elementar”. Estas fibras estão ligadas umas às outras por hemiceluloses, polímeros amorfos de diferentes açúcares, bem como outros polímeros, como a pectina. As microfibrilas são frequentemente associadas, na forma de feixes ou macrofibrilas. Esta estrutura especial e complicada torna a celulose resistente a tratamentos químicos e biológicos (DELMER, 2008).



**Figura 3.3 – Estrutura de um material lignocelulósico**  
**Fonte:** GURGEL, 2010

Os açúcares dominantes na hemicelulose são a manose em madeiras macias e xilose nas madeiras duras e resíduos agrícolas. Além disso, estes heteropolímeros contêm galactose, glicose, arabinose, e pequenas quantidades de ácido glucurônico, ácido glucurônico de metila e o ácido galacturônico. Em contraste com a celulose, que é cristalina e forte, hemiceluloses tem uma forma aleatória, amorfa, e estrutura ramificada com pouca resistência à hidrólise, e são mais facilmente hidrolisadas por ácidos (TAHERZADEH & KARIMI, 2008).

A lignina é uma molécula muito complexa, construída de unidades de fenilpropano ligadas numa estrutura tridimensional, que é especialmente difícil de biodegradar. A lignina é o mais recalcitrante componente da parede celular da planta e, quanto maior a proporção de lignina maior a resistência à degradação química e enzimática. Geralmente, as madeiras macias contêm mais lignina do que as madeiras duras e a maior parte dos resíduos agrícolas. A lignina é uma das desvantagens da utilização de materiais lignocelulósicos em fermentação, pois faz com que esse tipo de material seja resistente à degradação química e biológica (TAHERZADEH & KARIMI, 2008).

A conversão biológica de diferentes matérias-primas lignocelulósicas, como resíduos florestais e agrícolas, ou culturas lignocelulósicos dedicados à produção de etanol oferecem inúmeros benefícios, mas seu desenvolvimento ainda é dificultado por obstáculos técnicos e econômicos (ALVIRA, 2010).

Durante o processamento do etanol de segunda geração, a etapa de fermentação alcóolica do licor hidrolisado da matéria-prima lignocelulósica é, atualmente, a etapa mais crítica do processo, pois durante a hidrólise há a formação de compostos inibidores da ação da levedura, agente de produção do etanol. O teor de inibidores no licor depende da natureza da matéria-prima utilizada e das condições de hidrólise (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

A produção de etanol de segunda geração utiliza processos químicos, com o uso de ácidos, ou processos biotecnológicos, com o uso de enzimas, para a quebra das moléculas de celulose e produção de açúcares fermentescíveis para então, por fim, produzir o etanol por meio de processos fermentativos convencionais (BASTOS, 2007).

Uma das vantagens do desenvolvimento desta tecnologia é em relação à utilização de novas matérias-primas, e por consequência a descentralização da

produção de etanol no país, devido à introdução de novas culturas onde o plantio da cana-de-açúcar é inviável além do aumento da produção de etanol por área plantada, já que o bagaço da cana-de-açúcar também poderá ser aproveitado (BARACHO, 2009).

Nos materiais lignocelulósicos há compostos (extrativos) que não fazem parte dos elementos estruturais da planta. Os extrativos interagem com reagentes utilizados nos processos de hidrólise e deslignificação da biomassa, bem como na quantificação da lignina presente na mesma, levando a resultados errôneos na caracterização do material. Para a remoção destes extrativos normalmente realiza-se a extração através de solventes tais como: éter, acetona, benzeno, etanol, diclorometano e/ou a mistura destes. Ácidos graxos, ácidos resinosos, ceras, taninos e pigmentos coloridos, são as substâncias mais importantes extraíveis por solventes (PRADO, 2010).

### 3.4 Biomassas alternativas

No estudo de materiais que serão utilizados como matérias-primas energéticas, são necessários abordagens acerca de aspectos climáticos, agrônômicos e econômicos de cada espécie (PRADO, 2010).

O bioma Cerrado é um dos maiores produtores de frutas nativas do Brasil, e o interesse internacional nessas frutas tem sido crescente. Porém, a exploração do Cerrado tem sido extrativista e até mesmo predatória, sendo indispensável uma avaliação do real potencial e as possibilidades de uso das frutas nativas nesse bioma, tais como o pinhão manso, babaçu, pequi, buriti, cagaita, mangaba, baru, etc. (SOARES JUNIOR, 2010)

Várias áreas não são adequadas para o cultivo da cana-de-açúcar, necessitando de irrigação para viabilizar a produção, ficando limitada a produção de etanol nessas áreas já que a demanda por água para outros fins não agrícolas tenderá a aumentar no futuro. Apesar da demanda crescente por biocombustíveis em todo mundo, o cultivo da cana-de-açúcar nessas áreas será restrito por causa dessa limitação hídrica (PRADO, 2010). Daí a necessidade de se estabelecer o uso de matérias-primas alternativas, que sejam adaptadas à região de produção do biocombustível.

O processamento e aproveitamento integral dos frutos do cerrado poderia tornar-se uma opção para o desenvolvimento sustentável da região do cerrado (SOARES JUNIOR, 2010).

#### 3.4.1 *Pequi*

O pequi (*Caryocar brasiliense*), é um fruto típico do cerrado brasileiro que floresce entre os meses de junho e setembro e produz frutos de setembro a fevereiro. É conhecido popularmente por vários nomes, como: piqui, pequiá, amêndoa de espinho, grão de cavalo e amêndoa do Brasil (VASCONCELOS et al., 2011).

Seu nome tem origem no tupi, “pyqui”, em que “py” significa casca e “qui” a espinho (SANTOS et al., 2004), devido ao caroço do fruto ser revestido por finos espinhos.

##### **3.4.1.1 Casca do pequi**

A casca do pequi é composta pelo exocarpo, uma camada fina e verde acinzentada, e pelo mesocarpo externo, uma camada mais espessa e carnosa de cor branco-amarelada. É considerada um resíduo, pois não é aproveitada na alimentação humana e, apesar do seu alto teor de fibras, micronutrientes e atividade antioxidante, é descartada (VASCONCELOS et al., 2011).

O pequi é composto por aproximadamente 76% de casca e 24% de caroço (mesocarpo interno, putâmen e amêndoa) (VASCONCELOS et al., 2011).

Considerando que a extração de frutos de pequi no Brasil no ano de 2011 foi de aproximadamente 7,047 toneladas e, destas, 3 toneladas somente no estado do Tocantins (IBGE, 2011), estima-se que foram geradas em torno de 5,355 toneladas de casca de pequi no país e 2,28 toneladas no estado do Tocantins.

A casca, quando macerada produz tanino e uma tintura castanho escura que é utilizada artesanalmente em tingimentos (RIBEIRO et al., 1982). Tem sido empregada também na alimentação de bovinos, devido ao seu alto teor de fibras alimentares (SANO, ALMEIDA, 1998).

Barbosa & Amante (2002) elaboraram e caracterizaram a farinha da casca de pequi e encontraram um teor de proteína de 5,76%; 1,54% de lipídeos; 50,94% de carboidratos totais e 39,97% de fibras alimentares.

Devido às essas características, a utilização da casca de pequi torna-se uma alternativa para o aproveitamento deste resíduo tanto para o enriquecimento nutricional de alimentos (VASCONCELOS et al., 2011), quanto para a produção de energia, devido ao seu alto teor de carboidratos.

### 3.5 Hidrólise

A produção de etanol através da hidrólise e fermentação de materiais lignocelulósicos vem sendo estudada e desenvolvida desde o século XIX, porém, nos últimos anos, têm-se intensificado este desenvolvimento, para a melhor utilização desses biocombustíveis. Obtendo êxito neste processo, o etanol lignocelulósico poderá ser produzido em quase todas as regiões do mundo e aproveitará quantidades significativas de resíduos orgânicos provenientes de diversas fontes (SILVA, 2010a).

O processo de produção do etanol de segunda geração (celulósico) envolve na sua produção as etapas de hidrólise dos polissacarídeos e a fermentação. Para a realização da hidrólise, são necessárias tecnologias complexas que envolvem várias fases, podendo utilizar rotas ácidas, enzimáticas ou a combinação das duas (SILVA, 2010b).

Os carboidratos presentes nos materiais lignocelulósicos (polissacarídeos) são indiretamente fermentescíveis e devem ser convertidos em diretamente fermentescíveis. Por isso, é necessário um processo para separar a lignina e a hemicelulose da celulose, reduzindo a cristalinidade da mesma e aumentando a porosidade dos materiais. Este processo é chamado de sacarificação e pode ser feito por rota química ou enzimática (FURLAN, et al.; 2008).

Neste processo, podem ser empregadas diversas configurações porém, a forma mais tradicional é a realização das etapas de hidrólise e fermentação separadamente, também chamada de *SHF* (da sigla em inglês “*Separate Hydrolysis and Fermentation*”) (TEODORO et al. 2011).

A etapa de hidrólise do material lignocelulósico ainda é um processo tecnicamente problemático porque a digestibilidade da celulose é dificultada por fatores estruturais e de composição da matéria-prima (TEODORO *et al.* 2011). Outro desafio presente na produção de etanol de segunda geração é a fermentação das pentoses. Enquanto a fermentação das hexoses (açúcares de 6 carbonos) acontece rotineiramente, a tecnologia de fermentação das pentoses (açúcares de 5 carbonos) em escala industrial ainda não está totalmente desenvolvida.

A *Saccharomyces cerevisiae*, que é o microrganismo comumente utilizado na produção de álcool a partir da sacarose, é muito pouco eficiente na fermentação de pentoses. Uma perspectiva para o melhor desenvolvimento da fermentação na produção de etanol de segunda geração é a utilização de outras espécies de microrganismos, que sejam melhor adaptados às pentoses (SILVA, 2010a).

### 3.5.1 Hidrólise enzimática

As enzimas são utilizadas como catalisadores na hidrólise do amido para produção de etanol há várias décadas. No entanto, na produção de etanol de segunda geração o uso de enzimas para hidrolisar a celulose se torna complexo já que a celulose é protegida por outros polímeros resistentes ao ataque das enzimas. A quebra desses polímeros é a maior dificuldade no processo da hidrólise (SILVA, 2010a).

Na produção de etanol, as enzimas mais utilizadas são as  $\alpha$  e  $\beta$ -amilases e as celulasas, que provém de diversas fontes (CURVELO-SANTANA *et al.*, 2010). Na hidrólise de biomassa lignocelulósica são utilizadas enzimas que são genericamente chamadas de celulasas, que geram, no fim do processo de hidrólise, os açúcares redutores, incluindo a glicose (BERNARDO NETO, 2009).

É uma reação heterogênea catalisada pelas celulasas, sendo distinguida por um substrato insolúvel (celulose) e um catalisador solúvel (enzimas). A completa hidrólise da celulose requer a ação combinada de múltiplas enzimas (celulasas) com diferentes especificidades ao substrato (SILVA, 2010a).

A hidrólise enzimática apresenta algumas vantagens sobre a hidrólise ácida por ser mais seletiva, não gerar produtos indesejáveis e gastar pouca energia, (CURVELO-SANTANA *et al*, 2010) ao utilizar condições mais brandas no processo, tais como pH 4,8 e temperaturas de 45°C a 50°C, o que reduz o custo do processo, bem como o custo de manutenção, quando comparado com a hidrólise ácida (BERNARDO NETO, 2009).

Porém, verificamos também algumas desvantagens sobre a hidrólise enzimática, como a necessidade de controlar muitos parâmetros, maior tempo requerido para a reação e altas concentrações de enzimas para atingir conversões altas de celulose (FRADE, 2011).

Toda reação química catalisada por enzimas será afetada de acordo com a variação da temperatura, sendo este um parâmetro a ser monitorado. Quando a temperatura aumenta, a velocidade de reação inicialmente aumenta, em virtude da energia cinética aumentada entre as moléculas e o substrato. Porém, devido à sua natureza protéica, em temperaturas excessivas, ocorre a desnaturação térmica da enzima, acarretando a diminuição de sua concentração efetiva, fazendo com que a velocidade da reação também diminua (FRADE, 2011).

Além disso, como as enzimas são proteínas, as mudanças no pH afetarão profundamente o caráter iônico dos grupos carboxila e amina na superfície da molécula, influenciando bastante a natureza catalítica devendo este também ser controlado e monitorado (FRADE, 2011).

Industrialmente o uso de celulasas ainda é proibitivo devido ao seu alto custo (OGEDA; PETRI, 2010). O custo das celulasas comerciais encarecem muito o processo global (SILVA, 2010b). De modo geral, a catálise enzimática deve combinar eficiência e baixo custo. Uma maneira de fazer o processo enzimático economicamente viável é imobilizar enzimas sobre substratos sólidos, de tal forma que as propriedades catalíticas sejam mantidas, além de serem reutilizadas muitas vezes. O grande desafio é que ao imobilizar a enzima, esta mantenha sua estrutura nativa (OGEDA; PETRI, 2010).

### 3.5.2 Hidrólise ácida

A utilização da hidrólise ácida na produção de etanol de segunda geração visa à solubilidade da hemicelulose e lignina para expor a celulose à conversão através de componentes ácidos. Dentre os reagentes ácidos mais utilizados estão os ácidos sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), clorídrico (HCl) e nítrico ( $HNO_3$ ) (SILVA, 2010a).

Este processo pode utilizar soluções ácidas concentradas ou diluídas gerando hexoses, principalmente glicose, galactose e manose; e pentoses, principalmente xilose e arabinose (BERNARDO NETO, 2009).

A hidrólise da celulose catalisada por ácido é uma reação complexa e heterogênea, envolvendo fatores físicos e químicos seguindo o mecanismo de clivagem das ligações glicosídicas  $\beta$ - 1,4. Durante a hidrólise ácida, a xilose é rapidamente degradada a furfural e outros coprodutos de condensação, os quais são inibitórios a microrganismos (SILVA, 2010a).

Apesar de sua complexidade, o principal fator na hidrólise não é a cinética da reação, mas a dificuldade dos catalisadores em atingir a molécula de celulose devido a forte ligação existente entre a celulose, hemicelulose e a lignina (SILVA, 2010b).

Há algumas desvantagens na utilização da hidrólise ácida, como a necessidade de neutralização antes da fermentação para não ocorrer inibição da atividade microbiana, o risco de operação com produtos perigosos, o custo da instalação de materiais que suportem as condições agressivas das soluções ácidas (BERNARDO NETO, 2009), o reagente utilizado na hidrólise ácida pode atacar os açúcares formados, sendo estes degradados, reduzindo o rendimento da reação (SILVA, 2010a).

Além disso, a celulose é constituída de regiões amorfas e cristalinas e os requeridos processos de hidrólise ácida que rompem a celulose nessas duas regiões. Para a conversão da celulose das regiões amorfas são necessárias condições relativamente brandas, mas para as regiões cristalinas são necessários processos mais severos. Isto consiste no maior problema da utilização da hidrólise ácida, pois a celulose amorfa é rapidamente hidrolisada a glicose e essa a produtos de degradação, enquanto que a celulose cristalina leva mais tempo

para ser convertida. O desenvolvimento de processos seletivos se faz necessário, a fim de aumentar o rendimento de glicose (GURGEL, 2010).

Pode-se caracterizar o meio hidrolisante pelo tipo de ácido utilizado, concentração e força do ácido, temperatura, pressão e tempo do processo. Os ácidos são caracterizados pelos seus valores de força ácida ( $pK_a$ ) e pH. A relação geralmente observada entre os parâmetros adicionais (temperatura e pressão) é que um aumento da temperatura e da pressão aumenta a velocidade de hidrólise, dependendo das características do ácido em questão (GURGEL, 2010).

Os processos de hidrólise de celulose podem ser divididos em duas categorias: os processos com o uso de ácido diluído e os com ácido concentrado.

A hidrólise com ácido diluído (concentração do ácido menor ou igual a 5%) é, provavelmente, o método mais utilizado entre aqueles que utilizam produtos químicos. Ela pode ser usada tanto como um pré-tratamento do material lignocelulósico para a hidrólise enzimática, ou como o método real de se hidrolisar em açúcares fermentescíveis (TAHERZADEH & KARIMI, 2008). Este processo é o mais antigo de conversão de celulose para etanol, sendo a primeira planta comercial de 1898 (BERNARDO NETO, 2009).

Desde a década de 40 vários pesquisadores tem desenvolvido novos processos baseados em hidrólise ácida diluída (GURGEL 2010). A vantagem desse método é o fato de utilizar ácido bem diluído, reduzindo custos com materiais e equipamentos (BERNARDO NETO, 2009), e a quantidade de ácido utilizada é geralmente tão pequena que a recuperação do mesmo não se faz necessária (GURGEL 2010).

A hidrólise ácida diluída requer altas temperaturas e pressões e seu uso em processos contínuos é facilitado por ter tempos de reação de segundos a minutos. Já a hidrólise ácida concentrada é realizada em condições mais brandas e com tempos de reação mais longos (SILVA, 2010b).

O processo com utilização de ácido diluído foi desenvolvido com êxito para o pré-tratamento de materiais lignocelulósicos. O pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído pode conseguir elevadas taxas de reação e melhorar significativamente a hidrólise da celulose (CHENG, 2002).

O ácido sulfúrico diluído (0,5 a 1,5% e temperatura acima de 160°C) é o insumo mais utilizado para plantas industriais devido a seus bons resultados,

como o alto rendimento de recuperação de açúcares (75 a 90%) (BERNARDO NETO, 2009).

Em temperatura moderada, a sacarificação direta tem baixos rendimentos, por causa da decomposição dos açúcares. Altas temperaturas em tratamentos com ácido diluído são favoráveis para a hidrólise da celulose (CHENG, 2002).

Processos de hidrólise ácida diluída recentemente desenvolvidos usam condições menos severas e atingem altos rendimentos de conversão de xilana à xilose. Atingir esse alto rendimento de conversão é favorável para a economia global do processo, pois a xilana representa até um terço do total de carboidratos nos muitos materiais lignocelulósicos (CHENG, 2002).

Este processo tem se apresentado como o mais favorável para processos industriais e sua aplicação estudada em uma ampla gama de biomassa lignocelulósica. Pode ser realizado em temperaturas mais altas, como 180°C, por exemplo, durante um curto período de tempo, ou a temperaturas mais baixas, como 120°C, com um tempo maior de retenção (30 - 90 min) (ALVIRA, 2010).

Porém, dependendo da temperatura empregada no processo de hidrólise, há a degradação de açúcares e compostos aromáticos da degradação da lignina são detectados, afetando o metabolismo dos microrganismos na etapa de fermentação. Mesmo com a formação destes compostos, a hidrólise ácida diluída gera menos produtos de degradação do que tratamentos com ácidos concentrados (ALVIRA, 2010).

O processo com ácido concentrado pode apresentar rendimentos de glicose maiores em baixas temperaturas quando comparado ao ácido diluído. Entretanto, o custo do ácido é relativamente alto (GURGEL 2010), e este deve ser recuperado após a hidrólise para tornar o processo economicamente viável (CHENG, 2002).

O desenvolvimento de tecnologias na etapa de separação da solução ácida contendo açúcares com a capacidade de recuperar o ácido tem permitido a renovação do interesse no processo de hidrólise ácida concentrada. Contudo, esse desenvolvimento tem sido difícil pois a recuperação do ácido é um processo lento e de alto custo (GURGEL 2010).

Se não houver a recuperação do ácido, grandes quantidades de substâncias básicas devem ser usadas para neutralizar o ácido na solução contendo açúcares, incorporando custos adicionais ao processo (GURGEL 2010).

Além disso, o uso de ácido concentrado na produção de etanol é menos atraente devido à formação de compostos inibidores da fermentação, além dos problemas com corrosão de equipamentos e recuperação do ácido (ALVIRA, 2010).

A temperatura de operação mais baixa no tratamento com ácido concentrado (por exemplo, 40 °C) é uma clara vantagem em comparação com os processos de ácido diluído. No entanto, a concentração elevada de ácido (30-70%) no processo o torna perigoso e extremamente corrosivo. Portanto, este processo requer reatores não metálicos ou de ligas caras e específicas. O custo de manutenção e alto investimento reduzem o interesse comercial deste processo como uma opção comercial (TAHERZADEH & KARIMI, 2008).

Desenvolvimentos recentes ao longo destas linhas tem progredido ao ponto onde a tecnologia de hidrólise ácida tem tornando-se uma alternativa viável no processo de sacarificação de biomassa (GURGEL 2010).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Obtenção e armazenamento da matéria-prima

As cascas de pequi utilizadas neste trabalho foram obtidas a partir de frutos colhidos no município de Palmas-TO. A coleta foi realizada no período da safra de 2011, nos meses de outubro a dezembro.

Após coletados, os frutos foram encaminhados para o Laboratório de Separação de Biomoléculas e Desidratação de Alimentos (LAPSDEA) na Universidade Federal do Tocantins, Campus Palmas, onde foram lavados em água destilada e posteriormente congelados em freezer convencional a  $-18^{\circ}\text{C}$  até o processamento.

### 4.2 Obtenção da farinha.

Para a obtenção da farinha da casca (exocarpo e mesocarpo externo) do pequi (Figura 4.1) os frutos foram descongelados e cortados no sentido diametral, separando-se manualmente a casca do mesocarpo interno.



**Figura 4.1-** Mesocarpo interno, externo e exocarpo do pequi  
**Fonte:** LAPSDEA

Em seguida, as cascas foram cortadas em tiras de aproximadamente 2cm de largura e desidratadas utilizando um desidratador misto, do tipo eólico solar/convencional (Figura 4.2), que possui resistência a qual foi utilizada neste estudo. A secagem foi realizada por um período de 15 horas na temperatura de  $45^{\circ}\text{C}$ ; posteriormente as tiras foram trituradas em liquidificador industrial de aço

inox. O tempo de desidratação foi determinado a partir de testes realizados previamente em relação ao teor de umidade da farinha (umidade abaixo de 10%).



**Figura 4.2** – Desidratador misto, do tipo eólico solar/convencional

### 4.3 Caracterização físico-química da farinha

#### 4.3.1 Umidade

A umidade foi determinada por meio de secagem em estufa a 105°C até obter peso constante, utilizando-se inicialmente, 5g de amostra, conforme método proposto pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985).

#### 4.3.2 Cinzas

Para a determinação do teor de cinzas, pesou-se 5 g de amostra que foi incinerada em mufla a 550°C, posteriormente resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada, seguindo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985).

#### 4.3.3 Lipídeos

A determinação de lipídeos foi realizada em extração direta em *Soxhlet*, com 5g de amostra e utilizando éter etílico, 99,5% P.A., como solvente. A

extração teve duração de 8h. Após a extração, o éter etílico foi evaporado. O balão com o resíduo extraído transferido para uma estufa a 105°C, e foi mantida na estufa até obter peso constante (IAL, 1985).

#### *4.3.4 pH*

Foi utilizado 10g de amostra diluída em 100mL de água destilada. O conteúdo foi agitado até que as partículas ficassem uniformemente suspensas. O pH foi determinado com o uso de um pHmetro digital (Marconi, PA 200) previamente calibrado em acordo com o proposto por IAL, (1985).

#### *4.3.5 Acidez total titulável*

Pesou-se 5 g de amostra e transferiu-se para um Erlenmeyer de 125 mL com o auxílio de 50 mL de água. Posteriormente, foram adicionadas 4 gotas de solução de fenolftaleína e titulada com solução de hidróxido de sódio a 0,1M , até a obtenção de coloração rósea (IAL, 1985).

#### *4.3.6 Carboidratos*

A determinação dos carboidratos foi feita utilizando a metodologia proposta por Miller (1959), com uso do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS). Pesou-se 100 mg da amostra e realizou-se hidrólise, mantendo-a num banho de água em ebulição durante três horas com 5 ml de HCl 2,5 N e posteriormente resfriada à temperatura ambiente. O hidrolisado foi neutralizado com carbonato de sódio até pH 7,0. O volume foi completado para 100 mL e centrifugado a 2263xg por dez minutos. Para o método de DNS foram utilizados 100 microlitros do hidrolisado.

#### *4.3.7 Açúcares redutores solúveis*

Amostras de 0,5g foram pesadas, às quais foram adicionadas 10 mL de etanol 80%. Essas misturas foram homogeneizadas durante 2 min, com a finalidade de se extraírem os açúcares solúveis. Em seguida, as amostras foram

centrifugadas a 2263xg durante 10 min. O sobrenadante foi retirado e colocado em balão volumétrico, completou-se o volume para 10 mL com água destilada. Este extrato foi analisado quanto aos açúcares redutores pelo método de DNS (MILLER, 1959). Uma curva padrão de glicose foi utilizada para calcular a concentração conforme item 4.4.

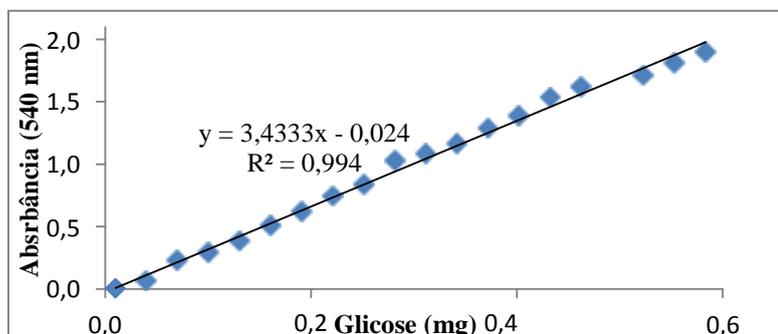
#### 4.4 Curva padrão de glicose

Para a construção da curva padrão de glicose, utilizou-se uma solução padrão de glicose na concentração de  $1\text{g.L}^{-1}$ . Em tubos de ensaio, preparou-se os pontos da curva apresentados na Tabela 4.1, com três repetições. Após misturar a solução padrão de glicose e a água destilada com suas devidas quantidades, adicionou-se 1 mL de solução de DNS em cada tubo e essa mistura foi homogeneizada durante 2 min, aquecida a  $100^{\circ}\text{C}$  em banho-maria durante 5 min, e sua absorbância foi lida em um espectrofotômetro (modelo WPA Biowave II Biochrom) no comprimento de onda de 540nm.

**Tabela 4.1** - Pontos utilizados para a construção da curva padrão de glicose

Ponto	Solução padrão de glicose ( $\mu\text{L}$ )	Água ( $\mu\text{L}$ )
Branco	0	1000
1	10	990
2	40	960
3	70	930
4	100	900
5	130	870
6	160	840
7	190	810
8	220	780
9	250	750
10	280	720
11	310	690
12	340	660
13	370	630
14	400	600
15	430	570
16	460	540
17	490	510
18	520	480
19	550	450
20	580	420

A partir dos pontos apresentados na Tabela 4.1, obteve-se a curva padrão de glicose, com sua respectiva equação da reta e o seu coeficiente de determinação ( $R^2$ ), apresentados na Figura 4.3.



**Figura 4.3** – Curva padrão de glicose

#### 4.5 Remoção de extrativos

A farinha utilizada nos ensaios de hidrólise, foi submetida a um processo para a retirada de extrativos (ácidos graxos, ácidos, ceras, taninos, pigmentos coloridos, etc.) que poderiam interferir nos resultados da hidrólise.

Essa remoção foi feita em um extrator de *Soxhlet*, em cartuchos feitos de papel filtro, contendo em média 20 gramas de farinha utilizando como solvente o etanol. O processo ocorreu a 78°C, que é a temperatura de ebulição do etanol, e cada extração teve duração de 6h (NREL, 2008b). Após a extração, o etanol foi evaporado. Os cartuchos que continham a farinha foram abertos e a farinha colocada em um recipiente e este foi transferido para estufa a 105°C, e mantido até obter peso constante (IAL, 1985).

#### 4.6 Hidrólise

Na hidrólise foram estudadas as variáveis tempo e concentração de ácido sulfúrico em quatro temperaturas: 106°C, 111°C, 116 °C e 121 °C. As mesmas foram escolhidas baseado na literatura.

Foram realizados ensaios com todas as combinações possíveis entre as variáveis, totalizando 100 tratamentos diferentes de hidrólise, utilizando um planejamento experimental do tipo fatorial conforme mostrado na Tabela 4.2. Todos os tratamentos foram feitos com três repetições.

**Tabela 4.2** - Planejamento experimental da hidrólise ácida da farinha da casca de pequi utilizando as variáveis tempo e concentração de ácido sulfúrico nas temperaturas de 106°C, 111 °C, 116 °C e 121 °C.

Ensaio	Tempo (min)	X <sub>1</sub>	Concentração de ácido (% v/v)	X <sub>2</sub>
1	30	-2	1	-2
2	30	-2	2	-1
3	30	-2	3	0
4	30	-2	4	1
5	30	-2	5	2
6	45	-1	1	-2
7	45	-1	2	-1
8	45	-1	3	0
9	45	-1	4	1
10	45	-1	5	2
11	60	0	1	-2
12	60	0	2	-1
13	60	0	3	0
14	60	0	4	1
15	60	0	5	2
16	75	1	1	-2
17	75	1	2	-1
18	75	1	3	0
19	75	1	4	1
20	75	1	5	2
21	90	2	1	-2
22	90	2	2	-1
23	90	2	3	0
24	90	2	4	1
25	90	2	5	2

X<sub>1</sub>: tempo da hidrólise (minutos);

X<sub>2</sub>: concentração de ácido sulfúrico (% v/v)

Para cada ensaio, foi utilizada 1,5 g de farinha de casca de pequi desengordurada e 15 mL de solução de ácido. Esta proporção entre a quantidade de farinha e solução ácida foi determinada a partir de pesquisas encontradas na literatura.

A farinha e a solução de ácido foram colocados em tubos de ensaio com tampas rosqueáveis. Os tubos seguiam para hidrólise na autoclave, modelo vertical CS Primatec, que é um equipamento que utiliza vapor sob pressão manométrica superior à atmosférica, onde ficaram em temperatura e tempo pré-estabelecidos, de acordo com o planejamento experimental (Tabela 4.2).

Após a hidrólise, esperava-se o resfriamento da solução até atingir temperatura ambiente, para facilitar o manuseio. Transcorrido o tempo de resfriamento, os frascos foram abertos e o seu conteúdo centrifugado.

Esta etapa foi realizada numa centrífuga Fanem Excelsa Baby I – 206, a 2055xg durante quinze minutos para retirar os resíduos do processo, e evitar possíveis interferências na análise. Após a centrifugação, transferiu-se o sobrenadante para tubos de ensaio para serem neutralizados até pH 7,0.

A neutralização foi necessária para a posterior análise de açúcares redutores totais. Os sobrenadantes foram neutralizados com solução de hidróxido de sódio (NaOH) a  $1,5 \text{ mol.L}^{-1}$ .

#### 4.7 Concentração de açúcares redutores totais (ART).

A análise de açúcares redutores (AR), foi realizada segundo a metodologia proposta por Miller (1959), com o uso do ácido 3,5-dinitrossalicílico, em triplicata. O espectrofotômetro utilizado foi do modelo WPA Biowave II Biochrom e a leitura da absorbância realizada no comprimento de onda de 540nm.

Os sobrenadantes dos hidrolisados foram diluídos anteriormente à análise de AR. Para as hidrólises realizadas à temperatura de  $106^{\circ}\text{C}$ , foram feitas diluições na proporção de 1:16; para a temperatura de  $111^{\circ}\text{C}$  diluições na proporção de 1:5; ensaios realizados à  $116^{\circ}\text{C}$ , 1:7,5 e, finalmente, hidrólises realizadas à  $121^{\circ}\text{C}$  foram feitas diluições na proporção de 1:10. As diluições foram necessárias para possibilitar a leitura da absorbância, já que, sem estas, a absorbância ultrapassaria o valor de 2,0, que é o limite máximo de leitura. Todas as proporções foram determinadas a partir de teste realizados anteriormente.

Uma curva padrão de glicose, descrita em 4.4, foi utilizada para calcular a concentração em mg/mL. Todas as diluições foram consideradas nos cálculos de concentração de açúcares redutores totais em todos os ensaios.

Para os tratamentos com melhores resultados, foi calculado o aumento da concentração de açúcares redutores (rendimento), com base nos resultados obtidos em  $\text{mg.mL}^{-1}$  através das Fórmulas 4.1 e 4.2:

---

Fórmula 4.1. Massa em mg de açúcares redutores contidos na farinha da casca de pequi

( ( ) )

---

Fórmula 4.2. Rendimento de açúcares redutores

#### 4.8 Análise estatística

Neste trabalho foi realizada a análise de variância (ANOVA), com o uso do *software* Assistat, versão 7.6 beta, e o método de superfície de resposta, *software* Statistica, que é uma ferramenta utilizada quando se deseja otimizar um processo em que a variável resposta (dependente) é influenciada por variáveis independentes.

A variável resposta foi a concentração de açúcares redutores nos tratamentos, e as variáveis independentes do processo foram a temperatura, concentração de ácido e tempo de hidrólise.

Foi feita a análise estatística superfície de resposta para verificar a influência das variáveis tempo de hidrólise, temperatura utilizada no processo e concentração do ácido sulfúrico e as interações destas variáveis durante o experimento. Com este tipo de análise podemos visualizar mais facilmente a influência de cada variável independente (tempo, temperatura e concentração do ácido) na variável resposta – dependente (concentração de açúcares redutores).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Obtenção da farinha

A farinha obtida a partir da casca de pequi, Figura 5.1, apresentou uma coloração marrom, odor adocicado agradável, granulometria de 16 mesh, sendo que algumas partículas atingiram até 80 mesh.



**Figura 5.1** – Farinha da casca de pequi

### 5.2 Caracterização físico-química da farinha.

Na Tabela 5.1, temos os valores médios encontrados para umidade, cinzas, lipídeos, pH e acidez total titulável para a farinha da casca de pequi.

**Tabela 5.1** – Caracterização da farinha da casca de pequi

Análise	Valores
Umidade	9,54%
Cinzas	3,87%
Lipídeos	1,49%
pH	4,18
Acidez total titulável	13,43 (meq NaOH/100g)
Carboidratos	66,7%
Açúcares redutores solúveis totais	0,82%

O valor médio de umidade em base úmida da farinha da casca de pequi foi de 9,54%, o que atende ao pré-requisito da NREL (2008b) em que as amostras que irão sofrer hidrólise ácida devem estar com umidade abaixo de 10% para que a umidade não interfira na concentração do ácido.

Vasconcelos, (2011), encontrou valor médio de teor de umidade da farinha de casca de pequi de 10,24%, estando de acordo com o padrão de umidade estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que para a farinha de trigo é de 14% (BRASIL, 2005).

A baixa umidade da farinha da casca de pequi faz com que tenha uma maior durabilidade e qualidade, já que reduz as velocidades de crescimento microbiano e das reações químicas (VASCONCELOS, 2011).

O teor de cinzas encontrado na farinha da casca de pequi foi de 3,87%, diferente do encontrado por Vasconcelos, (2011), que foi de 2,49% e Couto (2007), 2,54%.

As amostras com um teor de cinzas superior a 10% em peso podem não ser adequadas para o procedimento de hidrólise ácida, pois a amostra pode conter minerais que podem interferir na concentração do ácido e podem catalisar reações secundárias (NREL, 2008a).

O valor médio encontrado para lipídeos na farinha da casca do pequi foi de 1,49%, o que condiz com o valor de 1,54% encontrado por Barbosa e Amante (2002). Já Soares Junior (2010) encontrou o valor de 0,85% para a farinha do mesocarpo externo do pequi

O pH médio na farinha da casca de pequi foi de 4,18, enquanto Couto (2007) obteve um valor de 3,97, sendo estes valores próximos. Já para a acidez total titulável, foi achado o valor médio de 13,43 (meq NaOH/100g), superior ao encontrado por Couto (2007) de 9,31 (meq NaOH/100g). Os valores de pH e acidez total titulável podem influenciar na qualidade e durabilidade da farinha já que produtos mais ácidos são naturalmente mais estáveis à deterioração.

O teor de carboidratos encontrado para a farinha da casca de pequi foi de 66,7%, valor superior ao encontrado por Barbosa e Amante (2002), 50,94% de carboidratos e por Soares Junior (2010), 49,59%. No entanto, o resultado da análise de carboidratos realizada neste trabalho é inferior ao encontrado em estudos realizados por Vasconcelos (2011), 79,19% de carboidratos e pela Embrapa (2008), 91,03%. Para açúcares redutores solúveis, encontrou-se um valor de 0,82% na farinha da casca de pequi.

Os 18,4% restantes para a composição percentual da farinha da casca de pequi provavelmente sejam constituídos de proteínas e fibras, já que, Couto

(2007) encontrou valores para proteínas e fibra bruta de 3,83% e 12,81%, respectivamente, totalizando 16,64%. Já Soares Junior (2010) obteve, para a farinha da casca de pequi, um percentual de 5,59% para proteínas e 38,02% de fibras dietéticas, totalizando 43,61%.

### 5.3 Hidrólise da farinha da casca de pequi

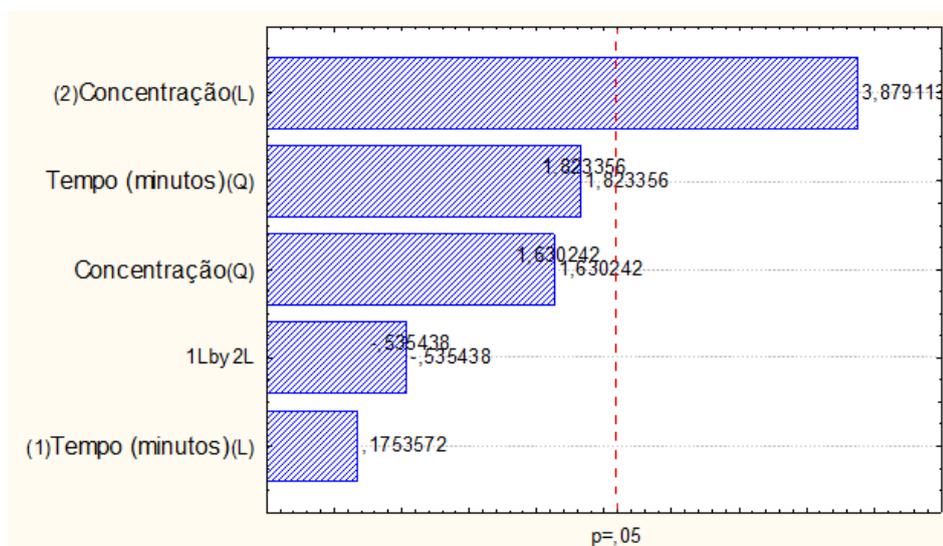
Na Tabela 5.2 podemos observar as concentrações de açúcares redutores obtidos da hidrólise com ácido diluído, a partir das médias das três repetições de todas as combinações realizadas de tempo e concentração de ácido para cada temperatura.

**Tabela 5.2** : Matriz das variáveis independentes e da média da variável resposta para os ensaios realizados à temperatura de 106°C, 111°C, 116°C e 121°C.

Ensaio	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Concentração de açúcares redutores(mg.mL <sup>-1</sup> )			
			106°C	111°C	116°C	121°C
1	-2	-2	0,57	0,34	3,20	6,04
2	-2	-1	0,63	0,32	4,27	5,13
3	-2	0	0,34	0,36	3,42	4,98
4	-2	+1	0,71	0,43	4,04	5,48
5	-2	+2	0,56	0,42	3,71	6,04
6	-1	-2	0,60	1,90	3,63	5,86
7	-1	-1	0,63	2,19	4,09	5,12
8	-1	0	0,38	2,48	3,72	5,12
9	-1	+1	0,66	2,81	4,98	5,27
10	-1	+2	0,61	3,42	4,24	5,26
11	0	-2	0,72	1,92	4,33	6,05
12	0	-1	0,73	2,50	3,74	5,47
13	0	0	0,41	2,51	3,80	5,90
14	0	+1	0,47	2,73	4,35	5,37
15	0	+2	0,37	2,03	4,43	6,26
16	+1	-2	0,77	2,07	4,05	6,06
17	+1	-1	1,03	2,55	4,75	5,91
18	+1	0	0,32	3,45	4,51	6,76
19	+1	+1	0,63	3,34	4,54	6,50
20	+1	+2	0,29	3,22	3,77	5,85
21	+2	-2	0,91	1,93	4,07	6,71
22	+2	-1	0,94	2,28	5,47	7,00
23	+2	0	0,30	2,25	5,06	7,00
24	+2	+1	0,60	2,56	5,06	5,35
25	+2	+2	0,31	2,88	5,86	7,34

Pelos resultados dos ensaios apresentados na Tabela 5.2, observamos que o aumento da temperatura de hidrólise teve uma influência bastante explícita no aumento da concentração de açúcares redutores. Quanto maior a temperatura, maior foi o rendimento da hidrólise em termos de concentração de A.R.

Apresenta-se a seguir, na Figura 5.1, o Diagrama de Pareto para melhor visualização dos efeitos das variáveis utilizadas neste experimento para a temperatura de 121°C, a que apresentou os melhores rendimentos de açúcares redutores, os quais mostram as interações existentes.



**Figura 5.2:** Diagrama de Pareto – Temperatura 121°C

De acordo com a observação da Figura 5.2, temos valores positivos para a concentração de ácido e o tempo de hidrólise, mostrando a sua significância no processo.

A concentração de ácido sulfúrico teve uma influência maior do que o tempo de hidrólise. O tempo de hidrólise apesar de ter sido significativo e mostrar-se crescente no processo, teve uma pequena interferência nos resultados de concentração de açúcares redutores.

A interação entre a concentração de ácido e tempo de hidrólise não foi significativa, mostrando que a influência da concentração de ácido independe do tempo de hidrólise à temperatura de 121°C.

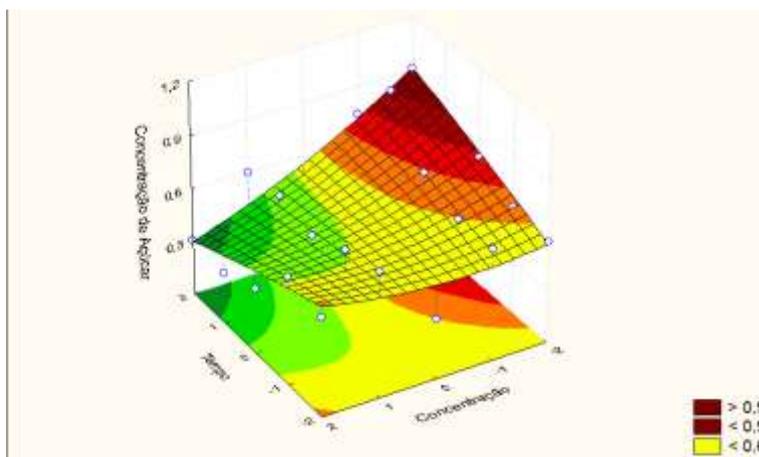
A maior influência da concentração de ácido sulfúrico pode ser explicada devido a um aumento constante no teor de compostos de degradação do açúcar conforme aumenta-se a severidade do tratamento. Segundo Banerji (2013), para

uma temperatura constante, o tempo de tratamento resulta apenas em um aumento marginal na liberação de açúcares e um aumento contínuo na formação de produtos da degradação de açúcares (BANERJI, 2013).

### 5.3.1. Análise da superfície de resposta

Nas figuras a seguir temos as superfícies de resposta para as temperaturas de 106°C, 111°C, 116°C e 121°C, tendo a região ótima de hidrólise para cada temperatura.

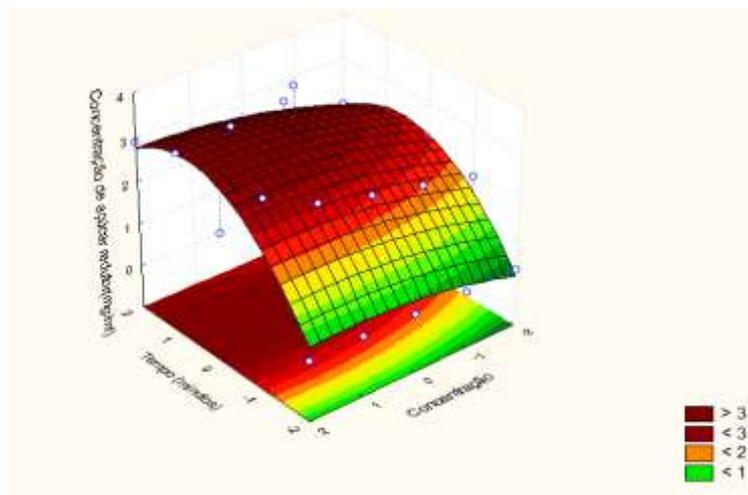
Na Figura 5.3 temos a superfície de resposta para os ensaios realizados à temperatura de 106°C.



**Figura 5.3** – Superfície de resposta da concentração de AR da hidrólise realizada a 106°C em função da concentração de ácido e do tempo de hidrólise.

Temos na Figura 5.2 a região ótima de concentração de AR à 106°C nos ensaios realizados com menores concentrações de ácido e maior tempo de hidrólise. Observamos que a maior concentração de açúcares reductores está de acordo com o expresso na Tabela 5.2, tendo uma concentração de AR de 1,03 mg AR/ml no ensaio 17.

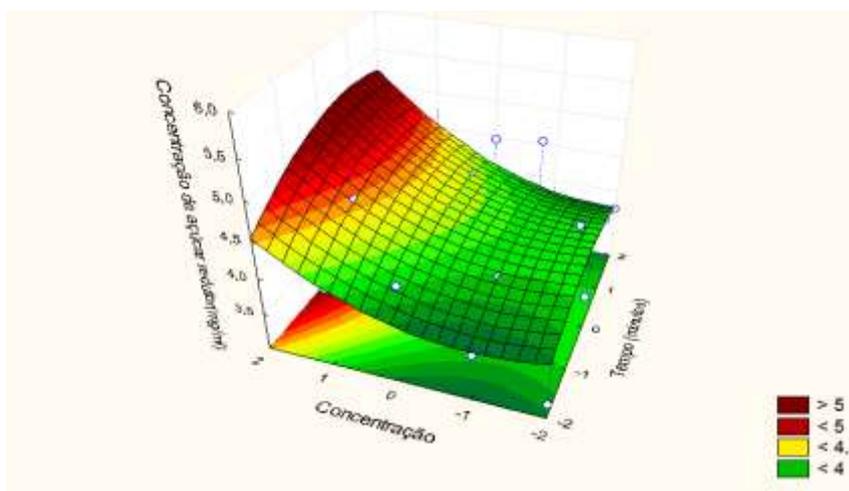
Na Figura 5.4 temos a superfície de resposta para os ensaios realizados à temperatura de 111°C



**Figura 5.4** – Superfície de resposta da concentração de AR da hidrólise realizada a 111°C em função da concentração de ácido e do tempo de hidrólise.

Conforme fomos aumentando a concentração de ácido sulfúrico e o tempo de hidrólise, obtivemos uma região ótima de concentração de AR na superfície de resposta para a temperatura de 111°C, Figura 5.4. Temos como ponto ótimo o ponto central para concentração de ácido (3%) e 75min de hidrólise, o que está de acordo com o mostrado no ensaio 18 da Tabela 5.2. (concentração de 3,45 mg AR/ml).

O gráfico com a superfície de resposta dos ensaios realizados à temperatura de 116°C está na Figura 5.5.

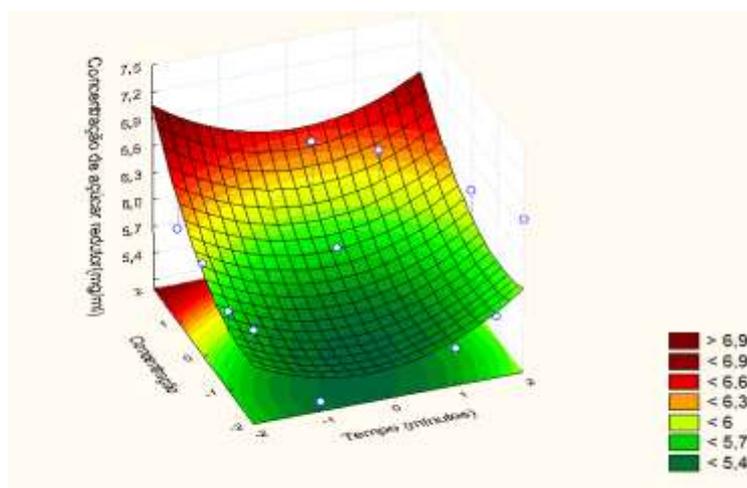


**Figura 5.5** – Superfície de resposta da concentração de AR da hidrólise realizada a 116°C em função da concentração de ácido e do tempo de hidrólise.

Assim como o verificado com os ensaios realizados à 111°C, Figura 5.4, observamos na Figura 5.5 que o aumento da concentração de ácido e tempo de

hidrólise resultou num aumento na concentração de AR, tendo sua região ótima nos experimentos com o maior tempo e concentração de ácido, tendo como ponto ótimo o ensaio com o maior percentual de ácido, 5%, e maior tempo de hidrólise, 90 min, com uma concentração de 5,86 mg AR/ml.

Como já citado anteriormente, obtivemos as maiores concentrações de açúcares redutores nas hidrólises realizadas à temperatura de 121°C. Apresentamos na Figura 5.6, a superfície de resposta para os experimentos realizados a esta temperatura.



**Figura 5.6** – Superfície de resposta da concentração de AR da hidrólise realizada a 121°C em função da concentração de ácido e do tempo de hidrólise.

Neste trabalho, constatou-se que o ensaio que apresentou um melhor rendimento entre todos os tratamentos, foi o realizado a 121°C, com uma concentração de ácido sulfúrico de 5% v/v com um tempo de hidrólise de 90 min, obtendo uma concentração de 7,34 mg/ml de açúcar redutor. Considerando-se o teor de açúcares redutores contido na farinha da casca de pequi, que é de 0,82%, essa concentração representa um aumento de 895,12% de AR.

Na superfície de resposta para a temperatura de 121°C tivemos regiões ótimas nos ensaios realizados com a concentração máxima de ácido sulfúrico utilizada neste estudo, 5%, no tempo mínimo, 30min (6,71 mg AR/ml) e no tempo máximo, 90min (7,34 mg AR/ml).

Este resultado só reforça o fato de que a temperatura e a concentração de ácido tem uma influência mais significativa na concentração de açúcares redutores do que o tempo de hidrólise.

Macedo (2011), estudou as condições de hidrólise ácida da torta resultante da extração do óleo do pequi a partir da polpa e amêndoa do fruto. Suas variáveis de estudo eram a concentração de ácido sulfúrico, temperatura e razão sólido-líquido, obtendo melhor resultado no ensaio feito a 121°C, concentração de 4% p/p de ácido sulfúrico e uma razão de sólido-líquido de 20%. Este ensaio teve uma concentração de 12,2 % de AR.

No ensaio deste tratamento nas seguintes condições: 121°C, concentração de 4% de ácido sulfúrico e tempo de hidrólise de 60 min, que é o que mais se aproxima das variáveis do melhor resultado de Macedo (2011) (121°C, concentração de 4% p/p de ácido sulfúrico e uma razão de sólido-líquido de 20%), obtivemos uma concentração de 6,76 mg/ml, que representa um aumento de 824,39% de AR.

O fator de maior relevância, e também maior significância, no experimento de Macedo (2011) foi o efeito da concentração de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Em estudo sobre a utilização de matérias-primas lignocelulósicas (palma forrageira) para a produção de etanol, Baracho (2009) teve um aumento acima 10500% no número de pentoses (xilose e arabinose) com ensaios na temperatura de 121°C e concentração de ácido sulfúrico de 8%.

Observa-se que o aumento da temperatura, bem como o aumento da concentração de ácido propicia um aumento no somatório das concentrações de xilose e arabinose.

Porém, constatou-se que com concentração de ácido acima de 5% ocorre o escurecimento do licor hidrolisado (BARACHO, 2009), sendo, provavelmente, devido à produção de inibidores da fermentação, produzidos com a quebra dos componentes constituintes do material lignocelulósico, sendo, estes, compostos indesejáveis à fermentação como compostos furânicos, fenólicos e ácido acético (FRAZER & MC CASKEY, 1989 *apud* BARACHO, 2009).

Levando em consideração esse escurecimento do licor hidrolisado, Barancho (2009) teve como condição mais adequada em seu experimento o ensaio à 121°C e com concentração de ácido a 5%.

Em trabalho realizado por Banerji (2013), no estudo da hidrólise ácida do bagaço de sorgo, a temperatura teve um efeito pronunciado no aumento da concentração de açúcares, sendo mais alta à temperatura de 121°C.

À temperatura fixa e tempo mais elevado de reação, obteve-se uma maior concentração de açúcares, em especial com concentrações mais baixas de ácido. A dadas temperaturas (100°C, 121°C, 140°C e 160°C) e tempo (30min, 60min e 90min), a liberação de açúcares inicialmente aumentou com o aumento da concentração de ácido até 3%. Além de 3% a taxa de aumento de concentração de açúcares foi muito pequena ou inexistente. As maiores concentrações de açúcares obtidas estavam entre 25,9 – 27,2 g.L<sup>-1</sup>, a 121°C, com concentração de ácido sulfúrico a 4%, nos tempos de 30, 60 e 90 minutos de reação (BANERJI 2013).

No presente trabalho, sobre as condições de hidrólise com ácido diluído da farinha da casca de pequi, considerando os tratamentos que utilizaram concentrações de ácido mais baixas, obteve-se o melhor resultado no tratamento com temperatura de 121°C e a 1% v/v de ácido sulfúrico, com tempo de reação de 30min, tendo uma concentração de 6,04 mg AR/ml de hidrolisado, correspondendo a um aumento de 736,58% de AR.

Betancur (2011) realizou estudo sobre a otimização do pré-tratamento de ácido diluído do bagaço da cana-de-açúcar, e encontrou seu melhor resultado para a liberação de açúcares a 121°C, razão sólido-líquido de 1:2,8 g.ml<sup>-1</sup>, com uma concentração de ácido sulfúrico a 1,09% v/v e 27 min de reação.

### 5.3.2 Análise de Variância – ANOVA

A significância estatística foi verificada pela análise de variância – ANOVA. Na Tabela 5.3 temos os dados da ANOVA para a temperatura de 106°C.

**Tabela 5.3-** ANOVA para os ensaios realizados a 106°C – Experimento inteiramente casualizado.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
<b>Tratamentos</b>	24	2.75149	0.11465	941.8205 **
<b>Resíduos</b>	50	0.00609	0.00012	
<b>Total</b>	74	2.75758		

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade (p <01).

De acordo com a análise de variância efetuada, tivemos um valor para F calculado maior que o F tabelado, existindo, portanto, pelo menos um contraste entre médias de tratamentos, estatisticamente diferente de 0 ao nível de 1% de

significância. Devido a essa existência, torna-se obrigatório a aplicação do teste de médias. Neste trabalho, utilizamos o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Os valores das médias são estatisticamente iguais entre si, porém pertencendo a tratamentos diferentes.

Na Tabela 5.4 abaixo demonstramos os valores para cada média de cada tratamento utilizado na temperatura de 106°C.

**Tabela 5.4-** Médias dos Tratamentos à temperatura 106°C

<b>Tratamento</b>	<b>Média</b>
1	0,57 l
2	0.63fg
3	034 lm
4	0.71 d
5	0.56 i
6	0.60 ghi
7	0,63 ef
8	0,38 jl
9	0,66 e
10	0,61fgh
11	0,72 d
12	0,73 d
13	0,41 j
14	0,47 mn
15	0,37 n
16	0,77 c
17	1,03 a
18	0,32 mn
19	0,63 fg
20	0,29 n
21	0,91 b
22	0,94 b
23	0,30n
24	0,60ghi
25	0,31 mn

CV% = 1.92

A seguir, na Tabela 5.5 temos a análise de variância feita para a temperatura de 111°C.

**Tabela 5.5 - ANOVA para os ensaios realizados a 106°C – Experimento inteiramente casualizado.**

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
<b>Tratamentos</b>	24	71.41533	2.97564	216.5601 **
<b>Resíduos</b>	50	0.68702	0.01374	
<b>Total</b>	74	72.10236		

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade (p <01).

Com base na análise de variância realizada, encontramos um valor para F calculado maior que o F tabelado, existindo portanto, pelo menos um contraste entre médias de tratamentos, estatisticamente diferente de 0 ao nível de 1% de significância. Tornou-se obrigatório, então, a aplicação do teste de médias, sendo utilizado o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Os valores das médias são estatisticamente iguais entre si, porém pertencendo a tratamentos diferentes. Apresentamos na Tabela 5.6 as médias encontradas para a temperatura de 111°C.

**Tabela 5.6 - Médias dos Tratamentos à temperatura 111°C**

<b>Tratamento</b>	<b>Média</b>
1	0,34 i
2	0,32 i
3	0,36 i
4	0,43 i
5	0,42 i
6	1,89 h
7	2,19 fgh
8	2,48 def
9	2,81 cd
10	3,42 a
11	1,92 gh
12	2,5 def
13	2,51 cdef
14	2,73 cd
15	2,03 gh
16	2,07 gh
17	2,55 cdef
18	3,45 a
19	3,34 a
20	3,22 ab
21	1,93 gh
22	2,28 efg
23	2,25 efgh
24	2,56 cde
25	2,88 bc

CV% = 5,54

Por sua vez, na Tabela 5.7 temos ANOVA realizada para a temperatura de 116°C

**Tabela 5.7-** ANOVA para os ensaios realizados a 116°C – Experimento inteiramente casualizado.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
<b>Tratamentos</b>	24	29.69682	1.23737	18.6596 **
<b>Resíduos</b>	50	3.31563	0.06631	
<b>Total</b>	74	33.01245		

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0.01$ ).

Na análise de variância obtida, encontramos um valor para F calculado maior que o F tabelado, existindo portanto, pelo menos um contraste entre médias de tratamentos, estatisticamente diferente de 0 ao nível de 1% de significância. Neste caso, tornou-se obrigatório a aplicação do teste de médias, sendo utilizado o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Os valores das médias são estatisticamente iguais entre si, porém pertencendo a tratamentos diferentes. Na Tabela 5.8 são mostradas as médias encontradas para a temperatura de 116°C.

**Tabela 5.8 -** Médias dos Tratamentos à temperatura 116°C

<b>Tratamento</b>	<b>Média</b>
1	3,2 j
2	3,63 hij
3	4,33 cdefgh
4	4,05 efghi
5	4,07 efghi
6	4,27 cdefgh
7	4,1 efghi
8	3,74 fghij
9	4,75 bcde
10	5,47 ab
11	3,42 ij
12	3,72 fghij
13	3,80 fghij
14	4,51 cdefg
15	5,06 abc
16	4,04 efghi
17	4,98 bcd
18	4,35 cdefgh
19	4,54 cdef
20	5,06 abc
21	3,71 ghij
22	4,24 defgh
23	4,43 cdefgh
24	3,77 fghij
25	5,86 a

CV% = 6,01

Por fim, na Tabela 5.9 temos a análise de variância efetuada para a temperatura de 121°C.

**Tabela 5.9** - ANOVA para os ensaios realizados a 121°C – Experimento inteiramente casualizado.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>
<b>Tratamentos</b>	24	32.32475	1.34686	99.1430 **
<b>Resíduos</b>	50	0.67925	0.01359	
<b>Total</b>	74	33.00400		

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < 0.01$ ).

De acordo com ANOVA efetuada, encontramos um valor para F calculado maior que o F tabelado, existindo portanto, pelo menos um contraste entre médias de tratamentos, estatisticamente diferente de 0 ao nível de 1% de significância. Por este motivo, torna-se obrigatório a aplicação do teste de médias, sendo realizado o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Os valores das médias são estatisticamente iguais entre si, porém pertencendo a tratamentos diferentes. Na Tabela 5.10 são mostradas as médias encontradas para a temperatura de 121°C.

**Tabela 5.10** - Médias dos Tratamentos à temperatura 121°C

<b>Tratamento</b>	<b>Média</b>
1	6.04 ef
2	5.86 f
3	6,05 ef
4	6,06 ef
5	6,71 bc
6	5,13 gh
7	5,12 gh
8	5,47 g
9	5,91 ef
10	7,0 ab
11	4,98 h
12	5,12 gh
13	5,90 ef
14	6,78 bc
15	7,0 ab
16	5,48 g
17	5,27 gh
18	5,37 g
19	6,50 cd
20	5,35 g
21	6,04 ef
22	5,26 gh
23	6,26 de
24	5,85 f
25	7,34 a

CV% = 1,97

## 6. CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos neste trabalho, pode-se observar que a farinha da casca de pequi possui um valor de umidade em torno de 9,54%, atendendo ao pré-requisito em que amostras que irão sofrer hidrólise ácida devem ter umidade abaixo de 10%.

Em relação aos carboidratos, a farinha da casca de pequi apresentou um teor elevado de carboidratos, 66,7%, mostrando-se uma boa fonte de açúcares para a produção de etanol.

Dentre os diferentes tratamentos utilizados na hidrólise ácida da farinha da casca de pequi, o que apresentou melhor rendimento foi o realizado a 121°C, com uma concentração de ácido sulfúrico de 5% v/v com um tempo de hidrólise de 90 min, obtendo uma concentração de 7,34 mg/ml de açúcar redutor. Considerando-se o teor de açúcares redutores iniciais contidos na farinha da casca de pequi, 0,82%, essa concentração representou um aumento de 895,12% de AR.

De acordo com o gráfico de superfície de resposta para a temperatura de 121°C, obteve-se regiões ótimas nos ensaios realizados com a concentração máxima de ácido sulfúrico utilizada neste estudo, 5%, no tempo mínimo, 30min (6,71 mg AR/ml) e no tempo máximo, 90min (7,34 mg AR/ml).

A interação entre a concentração de ácido e tempo de hidrólise não foi significativa, mostrando que a influência da concentração de ácido independe do tempo de hidrólise à temperatura de 121°C.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR FILHO, José Mário Mamede. **Análise enzimática de fungos lignocelulolíticos cultivados em vinhaça e bagaço de cana-de-açúcar**. 2008. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2008.

ALVIRA, P.; SANTOS, R. S.; BALLESTEROS, M.. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. **Bioresource Technology**, Madrid, Spain, n. , p.4851-4861, 29 dez. 2010.

ANP. Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis. Biocombustíveis. Disponível em: [http://nxt.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/resolucoes\\_anp/2011/fevereiro/ranp%207%20-%202011.xml](http://nxt.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2011/fevereiro/ranp%207%20-%202011.xml)> Acesso : abril de 2013.(a)

ANP. Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução anp nº 7, de 9.2.2011 - dou 10.2.2011 – retificada dou 14.4.2011 Disponível em: [http://nxt.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/resolucoes\\_anp/2011/fevereiro/ranp%207%20-%202011.xml](http://nxt.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2011/fevereiro/ranp%207%20-%202011.xml)> Acesso : janeiro de 2013. (b)

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 FÓRRAGEIRA E DA DESTILAÇÃO DO HIDROLISADO FERMENTADO. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2009 **Anais...** . Uberlândia-MG:

BARBOSA, R. C. M. V.; AMANTE, E. R. Caracterização físico-química da farinha de casca de pequi (*Caryocar brasiliensis*), Porto Alegre, RS, 2002. In: *Congresso brasileiro de ciência e tecnologia de alimentos*, 2002, Porto Alegre. Anais Porto Alegre: SBCTA, 2002. p. 1528-1531.

BASHA, S. A.; GOPAL, K.R.; JEBARAJ, S. A. Review on Biodiesel production, combustion, emissions and performance. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.13, p.1628-1634, 2009.

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

BANERJI, A.; BALAKRISHNAN, M.; KISHORE, V.v.n.. Low severity dilute-acid hydrolysis of sweet sorghum bagasse. **Applied Energy**, New Delhi, India, n. 104, p.197-206, 2013.

BEN - Balanço Energético Nacional 2012; Empresa de Pesquisa Energética – EPE, Ano base 2011: Resultados Preliminares Rio de Janeiro, 2012.

BERNARDO NETO, O. **Integração das principais tecnologia de obtenção de etanol através do processamento de celulose (2ª geração) nas atuais usinas de processamento de cana-de-açúcar (1ª geração)**. 2009. 137 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia, Departamento de Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

BETANCUR, G. J. V.; OLIVEIRA, F. P.; PEREIRA JUNIOR, N. Otimização do Pré-tratamento Ácido Diluído do Bagaço de Cana-de-Açúcar para a Produção de Etanol a partir do Hidrolisado Hemicelulósico por *Pichia stipitis*. In: XVIII SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 2011, **Anais...** . Caxias do Sul-RS:

BNDES – Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social. **Bioetanol de cana-de-açúcar: Energia para o desenvolvimento sustentável**. Rio de Janeiro - Rj: BNDES, 2008. 316 p.

BRASIL. Constituição (2005). Resolução RDC nº 263: Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos. Brasília, DF:, 2005.

BRASIL, **Matriz energética**. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/cop/panorama/o-que-o-brasil-esta-fazendo/matriz-energetica>. Acesso em maio de 2013a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Anuário estatístico de agroenergia 2012**: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Produção e Agroenergia. Brasília : 284p. MAPA/ACS, 2013b.

CHENG, Jiayang; SUN, Ye. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**, Raleigh, Usa, n. 83, p.1-11, 2002.

CHIN, K.I. et al. Production of glucose from oil palm trunk and sawdust of rubberwood and mixed hardwood. **Applied Energy**, Selangor, Malaysia, v. 88, n. , p.4222-4228, 08 jun. 2011.

COUTO, E.M., Utilização da farinha de casca de pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) na elaboração de pão de forma [dissertação de mestrado]. Lavras (MG): Universidade Federal de Lavras; 2007.

CURVELO-SANTANA, J.C.; EHRHARDT, D. D.; TAMBOURGI, Elias Basile. Otimização da produção de álcool de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, Brasil, v. 3, n. 30, p.613-617, jul-set. 2010.

DELMER, D.P.; Amor, Y. Cellulose biosynthesis. *Plant Cell* **1995**, 7, 987-1000. *Int. J. Mol. Sci.* **2008**.

EMBRAPA - Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, Aspectos agrônômicos e de qualidade do pequi / Maria Elisabeth Barros de Oliveira... [et al.] – Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical, 32 p., 2008.

FARIAS, D., et al. POTENCIAL AMIOLÍTICO DO GRÃO DE MILHO MALTADO NO PROCESSO DE SACARIFICAÇÃO DO MESMO CEREAL. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, Mg, v. 33, n. 3, p.855-862, 08 jun. 2009.

FRADE, V.M.F. **Estudo do aumento de escala do processo enzimático de hidrólise da celulose obtida a partir de resíduos lignocelulósicos do bagaço de cana (*Saccharum officinarum* L.)**. São Bernardo do Campo, 2011. 41 p.

FURLAN, V. J. M. et al. SACARIFICAÇÃO ÁCIDA DA PALHA E CASCA DE ARROZ. In: XVII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E X ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 10., 2008, Pelotas. **Anais...** .Pelotas.

GIORDANO, P.C.; BECCARIA, A.J.; GOICOECHEA, H.C. Significant factors selection in the chemical and enzymatic hydrolysis of lignocellulosic residues by a genetic algorithm analysis and comparison with the standard Plackett–Burman methodology. **Bioresource Technology**, Santa Fe, Argentina, p.10602-10610, 2011.

GOMES, C.R.J.H and PARK, Y.K. Conversion of Cane Bagasse to compost and its Chemical Characteristics. *J. Ferment. Technol*, 61<sup>o</sup> ed, p 329-332. 1983.

GURGEL, Leandro Vinícius Alves. **Hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar::** Estudo cinético de sacarificação de celulose para a produção de etanol. 2010. 315 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências, Departamento de Instituto de Química de São Carlos. Departamento de Físico-química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura**. v. 26. P. 55. Rio de Janeiro, 2011.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*, 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. p. 13.

MACEDO, A. L.; SANTOS, R. S.; PANTOJA, L.. PEQUI CAKE COMPOSITION, HYDROLYSIS AND FERMENTATION TO BIOETHANOL. **Brazilian Journal Of Chemical Engineering**, Natal, Brasil, v. 28, n. 01, p.09-15, jan-mar, 2011.

MAPA - Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2013). Notícias. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/noticias/2013/04/producao-de-cana-deve-ultrapassar-650-milhoes-de-toneladas>> Acesso : abril de 2013.

MILLER, L.G. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959

NREL, National Renewable Energy Laboratorys: *Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass*. Laboratory Analytical Procedure (LAP). NREL, Golden, CO, USA, 2008(a).

NREL, National Renewable Energy Laboratory, *Preparation of Samples for Compositional Analysis*: Laboratory Analytical Procedure (LAP). NREL, Golden, CO, USA, 2008(b).

ODAC – The Oil Depletion Analysis Center. (2007). Disponível em: [www.odac-info.org](http://www.odac-info.org). Acesso em janeiro de 2013.

OGEDA, T.L.; PETRI, D.F.S.. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSA. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 7, p.1549-1558, 20 jul. 2010.

OLIVEIRA, I. K.C.P. et al. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICO DO BAGAÇO DO SORGO SACARINO (*Sorghum bicolor*) PARA HIDRÓLISE ÁCIDA DO MATERIAL LIGNOCELULÓSICO. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 2009. **Anais...** . Uberlândia-MG.

OLIVEIRA, M. N. S. de et al. Estágio de maturação dos frutos e fatores relacionados aos aspectos nutritivos e de textura da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) **Revista Brasileira de Fruticultura** . 2006, vol.28, n.3, pp. 380-386.

OLIVEIRA, M.; VASCONCELOS, Y. Revolução no canavial. **Pesquisa FAPESP**, v. 122, p. 62-70, 2006.

PAVLAK, M. C. M. et al. Aproveitamento da farinha do mesocarpo do babaçu (*Orbignya martiana*) para obtenção de etanol. **Evidência**, Joaçaba, Brasil, v. 1, n. 7, p.7-24, jan-jun. 2007.

PRADO, A. G.; MENEZES, R. S. C.; ABREU, C. A. M. QUANTIFICAÇÃO DOS EXTRATIVOS, CELULOSE E LIGNINA DA PALMA MIÚDA (*Nopalea cochenillifera*). In: X JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 2010 **Anais...** . Recife

REYES, J.; PERALTA-ZAMORA, P.; DURÁN, N. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE CASCA DE ARROZ UTILIZANDO-SE CELULASES. EFEITO DE TRATAMENTOS QUÍMICOS E FOTOQUÍMICOS. **Química Nova**, Campinas, Brasil, v. 2, n. 21, p.140-143, 1998.

RIBEIRO, J. F.; GONÇALVES, M. I.; OLIVEIRA, P. E. A. M.; MELO, J. T. de. Aspectos fenológicos de espécies nativas do Cerrado. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 32., 1982. Teresina, **Anais...** Teresina: Sociedade Botânica do Brasil, 1982. p. 141-156.

SANO, S. M; ALMEIDA, S. P. **Cerrado**: ambiente e flora. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 556 p.

SANTOS, B.R. et. al. - Pequizeiro (*CARYOCAR BRASILIENSE* CAMB.): Uma espécie promissora do cerrado. Editora UFLA, 2004

SILVA, J.P.A. **Estudo da produção de etanol por *Pichia stipitis* empregando hidrolisado de palha de arroz.** 2007. 146 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia Industrial, Departamento de Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2007.

SILVA, O. G. **PRODUÇÃO DE ETANOL COM A UTILIZAÇÃO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR.** 2010. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Tecnologia De Biocombustíveis, Faculdade De Tecnologia De Araçatuba, Araçatuba, 2010(a).

SILVA, N. L. C. **PRODUÇÃO DE BIOETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO A PARTIR DE BIOMASSA RESIDUAL DA INDÚSTRIA DE CELULOSE.** 2010. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Departamento de Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010(b).

SOARES JÚNIOR, M.S. et al. Development and chemical characterization of flour obtained from the external mesocarp of "pequizeiro" fruit. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, Brasil, v. 30, n. 4, out-dez, 2010.

TAHERZADEH, M.J.; KARIMI, K. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. **BioResources** 2, 472–499, 2007.

TAHERZADEH, M.J.; KARIMI, K. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. **International Journal Of Molecular Sciences**, Sweden, v. 9, n. , p.1621-1651, 29 dez. 2008.

TEODORO, J. C. et al. Aproveitamento de Bagaço e Palha de Cana-de-Açúcar para Produção de Etanol Celulósico a partir de Fermentações em Batelada Alimentada. In: XVIII SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 2011. **Anais...** Caxias do Sul-RS

VASCONCELOS, I. P. ; Hernandes, T. ; Santos, J.F. ; HAMANO, P. S. . Composição centesimal de farinha de casca de pequi. In: XVII Encontro Nacional e III Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos, 2011, Cuiabá.

ZHAO, H.; KWAK, J. H.; ZHANG, Z. C.; BROWN, H. M.; AREY, B. W.; HOLLADAY, J. E. Studying cellulose fiber structure by SEM, XRD, NMR and acid hydrolysis. **Carbohydrate Polymers**, 2007, v. 68, p. 235.