UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

PRODUÇÃO DE HIDROLISADOS E FIBRAS A PARTIR DE RESÍDUO DA INDUSTRIALIZAÇÃO DA MANDIOCA SUBMETIDO A PRÉ-TRATAMENTO HIDROTÉRMICO

IRENE MIUKI SAITO

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Energia na Agricultura).

BOTUCATU–SP
Abril – 2005

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

PRODUÇÃO DE HIDROLISADOS E FIBRAS A PARTIR DE RESÍDUO DA INDUSTRIALIZAÇÃO DA MANDIOCA SUBMETIDO A PRÉ-TRATAMENTO HIDROTÉRMICO

IRENE MIUKI SAITO

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Cabello

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Energia na Agricultura).

BOTUCATU–SP
Abril – 2005

Dedico aos meus pais Ishio Saito e Seiko Kaminaga Saito " *in memoriam"* e a meus irmãos Mitio, Hisamu e Átsuco

Agradeço a **Deus** pela oportunidade de conhecer mais de suas maravilhas através desta pesquisa realizada.

AGRADECIMENTOS

Os meus sinceros agradecimentos à todas as pessoas que, de alguma forma, colaboraram para a realização deste trabalho, e em especial:

- Ao Prof. Dr. Cláudio Cabello, pela orientação, amizade, estímulo e sobretudo pela confiança guiando-me pelos caminhos da pesquisa científica, representando um papel fundamental na minha formação intelectual;
- À toda minha família que sempre me incentivaram aos estudos e principalmente na realização deste trabalho;
- À Faculdade de Ciências Agronômicas – UNESP – Campus de Botucatu, e em especial ao curso de Pós-Graduação em Energia na Agricultura, que acreditando na minha pessoa, permitiram a realização deste curso de Doutorado;
- À equipe do C entro de Raízes e Amidos Tropicais (CERAT), pela amizade e companheirismo de trabalho;
- Ao Prof. Dr. Romualdo Shigueo Fukushima da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) – Universidade de São Paulo (USP) – Pirassununga, pelo auxílio na caracterização da fração fibra;
- A Fecularia Lótus Indústria e Comércio Ltda., pela doação do farelo utilizado neste trabalho;
- Aos amigos de pós-graduação, pelo apoio, incentivo e amizade que me dedicaram;
- A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro concedido, o qual permitiu a realização do Curso de Doutorado;
- A todas as pessoas que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE FIGURAS	XI
RESUMO	01
SUMMARY	03
1. INTRODUÇÃO	06
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA REVISÃO	10
2.1 Mandioca	11
2.2 Processamento da mandioca	12
2.3 Farelo de mandioca	15
2.4 Amido	17
2.5 Lignocelulose	19
2.6 Celulose	21
2.7 Hemicelulose	22
2.8 Lignina	24
2.9 Fibras	26
2.9.1 Fibras dietéticas	26
2.9.2 Fibra na nutrição de ruminantes	27
2.10 Pré-tratamento	29
2.10.1 Pré-tratamento hidrotérmico	30
2.10.2 Pré-tratamento pelo método *" steam-explosion"*	32
2.11 Hidrólise	35
2.11.1 Hidrólise enzimática	36
2.11.2 Hidrólise ácida	38
2.12 Fermentação	40
2.13 Álcool etílico	42
3. MATERIAIS E MÉTODOS	44
3.1 Organização e planejamento experimental	44
3.1.1 Primeiro prospectivo	45

3.1.2 Segundo prospectivo..... 46
3.1.3 Ajuste final..... 48
3.2 Analises estatísticas..... 48
3.3 Reator..... 49
3.4 Farelo de mandioca..... 50
3.4.1 Origem..... 50
3.4.2 Caracterização físico-químico do farelo..... 50
3.4.3 Determinação da concentração de amido no farelo..... 50
3.5 Ensaios no reator piloto de hidrólise..... 51
3.6 Determinação físico-químico nos produtos hidrolisados..... 52
3.6.1 Determinação de açúcares..... 52
3.6.2 Determinação da concentração de furfural e hidróximetilfurfural..... 52
3.6.3 Determinação do pH..... 53
3.6.4 Determinação do coeficiente de severidade..... 53
3.6.5 Determinação dos sólidos insolúveis (BRIX)..... 53
3.6.6 Determinação da concentração de carbonos orgânicos totais..... 53
3.6.7 Determinação da fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido.. 54
3.6.8 Determinação de lignina via permanganato de potássio..... 54
3.6.9 Determinação de celulose..... 55
3.6.10 Determinação de hemicelulose..... 56
3.6.11 Determinação de compostos fenólicos..... 56
3.6.12 Análises microscópicas..... 57
3.6.13 Rendimento do processo de hidrólise..... 57
3.7 Equipamentos e metodologia para realização do teste de parâmetros..... 57
3.7.1 Processo de hidrólise..... 57
3.7.2 Tratamento do hidrolisado para o processo fermentativo..... 59
3.7.3 Ensaio de fermentação alcoólica..... 59
3.7.4 Determinação de álcool etílico e ácidos orgânicos..... 60
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES..... 61

4.1 Tratamento do material lignocelulósico..... 62
4.1.1 Características físicas e químicas do material..... 62
4.1.2 Resultados dos ensaios do primeiro prospectivo..... 63
4.1.2.1 Rendimento do processo em função da massa de resíduo e o coeficiente de severidade..... 64
4.1.2.2 Rendimento do processo em função da agitação no reator e o coeficiente de severidade..... 66
4.1.2.3 Rendimento do processo em função da concentração do catalisador e o coeficiente de severidade..... 68
4.1.2.4 Rendimento do processo em função da temperatura e o coeficiente de severidade..... 69
4.1.3 Resultados do segundo prospectivo..... 71
4.1.3.1 Rendimento do processo em função da concentração do catalisador e o coeficiente de severidade..... 72
4.1.4 Características dos liquores obtidos nos processos de hidrólise..... 75
4.2 Teste dos parâmetros..... 76
4.2.1 Análise e seleção de parâmetros..... 76
4.2.2 Ensaios para teste dos parâmetros..... 77
4.2.3 Teste de fermentabilidade 79
4.3 Avaliação da fração fibras após o processo..... 80
4.4 Microscopia..... 81
5. CONCLUSÕES..... 83
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 85

LISTA DE TABELAS

Tabela Página

1 Composição em glicídios de vários resíduos lignocelulósicos (%) 24

2 Proporção dos diversos produtos da fermentação alcoólica, em g/100g de glicose metabolizada, de acordo com várias fontes e para diferentes eficiências fermentativas 41

3 Valores reais das variáveis independentes e níveis de variação para produção de hidrolisado com planejamento fatorial 2^{5-1} 45

4 Matriz experimental do planejamento fatorial 2^{5-1}..... 46

5 Valores reais das variáveis independentes e níveis de variação para produção de hidrolisado com planejamento fatorial 2^4..... 47

6 Matriz experimental do planejamento fatorial 2^4 47

7 Valores reais das variáveis independentes e níveis de variação para produção de hidrolisado com planejamento experimental 2^3 48

8 Valores codificados dos níveis das variáveis do planejamento fatorial 2^3 48

9 Resultados das análises centesimais do farelo de mandioca 62

10 Valores médios das variáveis independentes observadas nos ensaios realizados em duplicata..... 63
11 ANOVA em função da concentração do farelo de mendioca em relação ao coeficiente de severidade 65
12 ANOVA para agitação no reator em relação ao coeficiente de severidade 67
13 ANOVA para concentração ácida em relação ao coeficiente de severidade..... 69
14 ANOVA da temperatura em função do coeficiente de severidade 71
15 Valores médios das variáveis dependentes observados nos ensaios realizados em duplicata 72
16 ANOVA para a concentração ácida em relação ao coeficiente de severidade..... 74
17 Resultados observados nos ensaios realizados no planejamento fatorial 2^3 74
18 Valores aplicados ao processo de tratamento hidrotérmico para testes dos parâmetros 78

19 Resultados dos ensaios utilizando os parâmetros indicados pelo desenvolvimento experimental 78
20 Valores médios da concentração de glicose, furfurais, hidróximetilfurfural, compostos fenólicos verificados no hidrolisado e do coeficiente de severidade e rendimento dos processos 79
21 Valores de tempo de fermentação, concentração inicial e final de açúcares redutores totais (ART), concentração de etanol e fator de conversão 79
22 Concentrações de etanol, metanol, glicerol, glicose e ácido acético em amostra de vinho fermentado de hidrolisado de farelos de mandioca 80
23 Resultados quantitativos obtidos da fibra após tratamento hidrotérmico 81

LISTA DE FIGURAS

Figura **Página**

1 Balanço de massa utilizando dados observados numa agroindústria extratora de fécula de mandioca 14
2 Microscopia da fibra do farelo *" in natura"* 16
3 Camadas da parede celular 20
4 Estrutura da Celulose 22
5 Microfibrilas de celulose 23
6 Precursores da lignina 25
7 Hidrólise ácida de biomassa lignocelulósica 40
8 Vista do reator no suporte 49
9 Reator aberto com agitador modelo âncora 49
10 Reator de hidrólise com capacidade de 150 litros 58
11 Gráfico da superfície de resposta para rendimento do processo em função da concentração do material lignocelulósico e coeficiente de severidade 64

12 Gráfico da planta de contorno para rendimento do processo em função da concentração de material lignocelulósico e coeficiente de severidade 65
13 Gráfico da superfície de resposta para rendimento do processo em função da agitação e coeficiente de severidade 66
14 Gráfico da planta de contorno para o rendimento do processo em função da agitação no reator e o coeficiente de severidade 67
15 Gráfico da superfície de resposta para o rendimento do processo em função da concentração do catalisador e o coeficiente de severidade 68
16 Gráfico da planta de contorno para o rendimento do processo em função da concentração do catalisador e o coeficiente de severidade 68
17 Gráfico da superfície de resposta para o rendimento do processo em função da temperatura e o coeficiente de severidade 70

18 Gráfico da planta de contorno para o rendimento do processo em função da temperatura e o coeficiente de severidade 70
19 Gráfico da superfície de resposta para o rendimento do processo em função da concentração do catalisador e o coeficiente de severidade 73
20 Gráfico da planta de contorno para o rendimento do processo em função da concentração do catalisador e o coeficiente de severidade 73
21 Reta de regressão do coeficiente de severidade e a concentração de fenólicos, e valores de rendimento do processo 77
22 Microscopia da fibra do farelo de mandioca *" in natura"* 85
23 Microscopia da fibra produzida após tratamento hidrotérmico 85

RESUMO

Recentemente há uma crescente busca de maior utilização de resíduos agroindustriais visando recuperar substâncias e/ou materiais e deste modo aumentar a eficiência econômica dos processos de produção. Diversos processos são desenvolvidos para utilização desses materiais convergindo em compostos químicos e produtos finos. A aplicação de resíduos agroindustriais em bioprocessos é uma alternativa observada na forma de substratos, e uma ajuda para solucionar o problema da poluição nos processos de agroindustrialização. O farelo de mandioca é um resíduo sólido produzido nas agroindústrias que extraem o seu amido (fecularias) que contém alto teor de amido (60 a 70% em peso seco) que é descartado e causa problemas ao meio ambiente. A recuperação do amido residual por tratamento físico ou biológico do material que tem sido objeto de pesquisas visando a melhoria dos processos, com o objetivo de agregar valor à matéria prima consumida. A produção de fécula de mandioca gera cerca de 930 Kg de farelo com aproximadamente 85% de umidade para cada 1000 Kg de raiz processada apresentando uma concentração de amido residual de 60 a 75% em massa seca.

A fim de se obter um melhor aproveitamento do amido residuário existente no farelo de mandioca, o presente trabalho desenvolveu uma metodologia adequada para produção de hidrolisado, rico em glicose originário de tratamento hidrotérmico com fluido subcrítico.

O tratamento do farelo residuário originário de uma agroindústria com umidade de 85% foi realizado em reator agitado em bateladas de 2,0 Kg, utilizando como catalisador o ácido sulfúrico a temperatura de 140 a 170°C.

Os melhores resultados foram obtidos para as seguintes condições de tratamento: tempo de processo 35 minutos; temperatura de 140°C; concentração do catalisador de 2,5 % (m/s); umidade de 90,5% e rotação de 50 rpm. As respostas foram : concentração de glicose no hidrolisado de 7,3%; concentração de 100mg/L de compostos fenólicos e rendimento de recuperação do amido residuário de 102,9%. Foram realizadas análises qualitativas que indicaram ausência de amido nos fragmentos dos residuários remanescentes.

Através das melhores condições de trabalho terem sido estabelecidas foi realizada um processo em maior escada (15 vezes) produzindo hidrolisado com concentração de glicose de 6,9%.

Após o processo reacional, o hidrolisado já filtrado e separado dos resíduos lignocelulósicos remanescentes foi inoculado com leveduras etanólicas e os resultados indicaram que a concentração de fenólicos (0,06%) não inativam o catalisador biológico e a fermentação ocorreu com a produção de 2,9% de etanol com fator de conversão de 0,46.

Foram realizados nas fibras residuárias, análises das concentrações de fibra detergente neutro e ácido, tem sido encontradas concentrações de 84,7.

PRODUCTION OF HYDROLYSATES AND FIBRES FROM THE RESIDUE OF THE CASSAVA INDUSTRIALIZATION SUBMITTED TO HYDROTHERMAL PRETREATMENT

Botucatu, 2005. 97 p.

Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura) Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: IRENE MIUKI SAITO

Adviser: CLÁUDIO CABELLO

SUMMARY

Recently there has been an increase search for a large utilization of agro-industrial residues based on recovering substances and/or materials to increase the economical efficiency of the production. Several processes were developed for production fine chemicals compounds and other products. The application of agro-industrial residues on bioprocesses is an alternative observed in the substract form, and also a help to solve the

pollution problem on the processes of agro-industrialization. The cassava waste is a solid residue produced in agro-industry that extracts its starch which has a high starch content which is wasted and causes environmental problems.

The recovery of these residual starch by physical or biological treatment of the material require research aiming the optimization of the chosen processes, as well as for aggregating value to the consumed raw material.

The cassava starch production generates about 930 Kg of solid waste with approximately 85% of moisture to each 1000 Kg of processed root, presenting a concentration of starch residue from 60 to 70% on a dry weight.

In order to obtain a better use of the residual starch present on the cassava waste, in the present work an optimized methodology for hydrolysate production, was developed with production of a glucose rich solution from a hydrotermic treatment with subcritical fluid.

The residual waste treatment originated from an agro-industry with 85% of moisture was performed in a stirred reactor with agitator in amounts of 2 Kg using sulphuric acid as a catalyst at temperatures between 140 and 170°C.

The optimum results were obtained to the following treatment conditions: time process 33 min; temperature at 140°C; catalyst concentration of 2.5% (on a dry basis); moisture of 90.5% and stirring at 45 rpm. The answers were: glucose concentration on the hydrolysate of 7.3% concentration of 100 mg/L from phenolic compounds and a yield of 102,9% on the recuperation of residual starch. Qualitative analyses were made and showed the absence of starch on the remaining residual fragments.

Through the best conditions of work to have been established was carried through a process in bigger stairs (15 times) producing hydrolysate with 6,9% glucose concentration.

After the reaction process, the hydrolysate was filtered and separated from the remaining lignocellulosic residues, and it was inoculated with ethanolic yest and the results indicated a concentration of phenolics (0,06%) which did not deactivate the biological catalyst and fermentation occurred with 2.9% ethanol production with coversion of factor 0.46.

Analyses on the concentration of neutral detergent fibre and acid detergent fibre were carried out on the residual fibres, and showed concentrations of 84.7%.

Keywords: cassava waste, hydrolysate, hydrotermal pretreatment, fibre, residue.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos tempos há uma crescente busca de maior utilização de resíduos agroindustriais, como por exemplo: bagaço de cana de açúcar, farelo de mandioca, polpa de tomate, etc. Diversos processos são desenvolvidos para utilização desses materiais transformando-os em compostos químicos e produtos com alto valor agregado como álcool, enzimas, ácidos orgânicos, aminoácidos, etc. A utilização de resíduos agroindustriais em bioprocessos é uma racional alternativa para produção de substratos, e uma ajuda para solucionar o problema da poluição. (PANDEY et al., 2000)

A globalização das economias determinou mudanças no comportamento geral das empresas, que precisam revisar seus processos tecnológicos de produção, a qualidade de seus produtos e se lançar na procura de novos mercados. As fecularias de mandioca também foram afetadas pelas mudanças de economia e enfrentam atualmente mercados muito competitivos que as obrigam a um gerenciamento de produção dinâmico. Desta forma, o aproveitamento dos resíduos gerados como forma de tornar mais eficiente o processo de produção de fécula, tem despertado interesses dos industriais. (LEONEL et al., 2000)

A descoberta de novos tratamentos dos materiais lignocelulósicos é vista com bons olhos do ponto de vista econômico, considerando a sua utilização como substrato em processos para produção de etanol. (KRISHNA et al., 2001)

O uso de resíduos agroindustriais para geração de energia e na química intermediária é de interesse econômico, ecológico e estratégico. A biomassa para indústria química e energética é uma alternativa para o petróleo e pode diminuir a poluição do meio ambiente. (PRIMO-YÚFERA et al., 1995)

O uso específico da cana de açúcar, milho e outros produtos agrícolas para obtenção de álcool pode causar uma possível problemática no suprimento alimentício pelo crescimento da população mundial, entretanto a expansão no uso de resíduos agroindustriais é visto como uma alternativa a esta situação. (PRIMO-YÚFERA et al., 1995)

Muitos métodos tecnológicos de conversão dos produtos da biomassa lignocelulósica foram desenvolvidos e propostos como, por exemplo, tratamento biológico (com enzimas) e tratamento físico-químico (em água quente). Reações hidrotermais em recipientes com água quente pressurizada, produz uma eficiente separação dos carboidratos, hemiceluloses e celuloses existentes nas lignoceluloses das plantas por meio de reações de hidrólise. O açúcar é esperado como produto e, aldeídos e ácidos orgânicos são obtidos colateralmente com a reação hidrotérmica. (MOCHIDZUKI et al., 2003)

Vários processos hidrolíticos são utilizados, sendo que a resistência do material lignocelulósico a estes tratamentos são um problema importante. Vários processos de hidrólise para raspas de madeira e resíduos lignocelulósicos usam baixa concentração de ácido para catálise e alta pressão e temperatura utilizando autoclaves. (PRIMO-YUFERA et al., 1995)

O farelo de mandioca, resíduo sólido produzido nas fecularias, contém um alto teor de amido, em torno de 60% em peso seco, e a sua recuperação por tratamento físico ou biológico são opções que têm demandado pesquisas para otimização destes processos.

O amido residual do farelo apresenta-se encapsulado nos amiloplastos e também ligados à parede celular, de modo que o tratamento enzimático convencional com amilases, não é capaz de remover estes últimos. A aplicação de um tratamento hidrotérmico aparece como uma solução para a hidrólise dos amidos como também de parte do conteúdo de

ligninas e hemiceluloses. A celulose e remanescentes do tratamento hidrotérmico conjugado ao enzimático, origina uma fibra alimentar, com baixo teor de calorias de grande interesse para aplicação em alimentação dietética podendo ser utilizada tanto para a alimentação humana como para animal.

A produção de fécula de mandioca resulta em torno de 10 a 15% de resíduos originários da raiz. Na Tailândia as indústrias processam cerca de 10 milhões de toneladas de mandioca gerando 1 milhão de toneladas de resíduo anualmente. Este resíduo tem sido utilizado como ração animal após sua secagem ou como fertilizante agrícola. Essa utilização tem se mostrado ineficiente e dispendiosa. Uma alternativa viável seria a redução do impacto ao meio ambiente através da valorização do farelo em outra forma de amido ou açúcar. Um maior desenvolvimento de métodos físicos e biotecnológicos é necessário para o uso desse resíduo. (SRIROTH et al., 2000)

A hidrólise de materiais lignocelulósicos pode ser feita usando ácido ou a vapor. Hidrólise a vapor pode ser usada sob forma de alta pressão com ou sem decomposição rápida (explosão). A explosão é o processo no qual a biomassa é tratada com alta pressão sob condição específica e subseqüente extinção da pressão atmosférica por expansão adiabática do material contida no reator. Este método oferece vantagens, uma delas é o eficiente fracionamento de três componentes do resíduo da lignocelulose.

O potencial de utilização dos resíduos gerados nas etapas de processamento das raízes de mandioca, as soluções passíveis de transferência para o setor industrial e agrícola apresentadas são ainda muito pouco incorporadas ao processo produtivo. Evidencia-se a necessidade de trabalhos de ajustes das alternativas existentes às condições locais, não só como forma de reduzir os impactos negativos ao ambiente, mas, sobretudo, como uma opção para aumentar a eficiência da cadeia por meio da redução de custos ou do aumento de receita. Há também, a necessidade de buscar novas soluções. São poucas (apenas algumas de grande porte) agroindústrias que fazem o tratamento dos resíduos, visando a certificação (ISO 14000) e a transformação do resíduo sólido em matéria-prima para a formulação de ração animal e/ou utilização na mineração (flotação de minerais). (CARDOSO et al., 2001).

O processo de extração da fécula de mandioca gera o farelo, um resíduo composto de 2% do material fibroso e parte do amido que não foi extraído. De elevado

poder de absorção de água, a cada tonelada de raiz processada, são gerados cerca de 930 kg deste farelo com aproximadamente 85% de umidade. Abaixando o teor de umidade a 10%, apresenta 15% de fibras e 75% de amido residual. Se considerarmos que as fecularia no Brasil processam entre 200 a 600 toneladas de mandioca por dia, este farelo representa um elevado custo na sua remoção e destinação, devido aos volumes mássicos e carga de matéria orgânica que contém. (CEREDA, 1996)

O tratamento hidrotérmico utilizando água à temperaturas de 170 a 220°C tem sido aplicado para pré-tratamento de material lignocelulósico para tornar mais efetiva a ação enzimática para a conversão de celulose a glicose. Durante a hidrólise, entretanto, produzem-se compostos tóxicos derivados de furfurais (2-furaldeído e 5-hidróximetil-2-furaldeído), compostos fenólicos degradados e ácidos orgânicos. Quando materiais de hemiceluloses são submetidos a tratamento quente com pressão e temperatura por um período de tempo, o rendimento de frações solúveis em água como açúcares derivados da hemicelulose, a xilose e as frações não solúveis são formadas pela lignina e celulose. (WOICIECHOWSKI et al., 1999)

Este trabalho teve como objetivo definir os parâmetros operacionais adequados em um processo hidrotérmico com fluido subcrítico para recuperação de amidos residuários existentes em farelos de mandioca. Buscou-se definir as melhores condições de temperatura, tempo de processo, concentração de substrato, catalisadores e agitação que eficazmente removesse os amidos e não produzisse degradações nos produtos hidrolisados, tais como em processo fermentativo para produção de etanol em alta escala.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de mandioca com 23,1 milhões de toneladas em 2002, com rendimento médio de 13,7 toneladas de raízes por hectare, sendo que a maior parte destina-se ao consumo na forma de farinha de mandioca "in natura". Dentre os principais estados produtores, destacam-se: Pará (17,81%), Bahia (17,67%), Paraná (14,82%), Rio Grande do Sul (5,52%) e Maranhão (4,95%), que, em conjunto, são responsáveis por 60,77% da produção do país. Na distribuição da produção pelas diferentes regiões fisiográficas brasileiras, safra 2002, a região Nordeste destaca-se com uma participação de 35,77% da produção, porém com rendimento médio de apenas 10,7 t/ha. Quanto às demais regiões, as participações na produção nacional são: Norte (26,20%), Sul (22,85%), Sudeste (8,97%) e Centro-Oeste (6,20%).(IBGE, 2003)

As regiões Norte e Nordeste destacam-se como principais consumidoras, sendo a produção essencialmente utilizada na dieta humana, na forma de farinha. Nas regiões Sul e Sudeste, em que os rendimentos médios são de 19,3 t/ha e 16,6 t/ha respectivamente, a maior parte da produção é orientada para a indústria, principalmente nos estados do Paraná, São Paulo, Minas Gerais e Santa Catarina. É importante destacar o crescimento da atividade no estado do Mato Grosso do Sul, pois nele, comparando-se os anos

de 2000 e 2001, a produção apresentou um incremento de mais de 50%.(CONAB, 2001 e FAO, 2003)

A fécula e seus derivados têm sido utilizados em produtos amiláceos para a alimentação humana ou como insumos em diversos ramos industriais, tais como o de alimentos embutidos, de embalagens, de colas, de mineração, têxtil e farmacêutica.

As perspectivas, principalmente para o setor produtor de fécula, são amparadas por indicadores favoráveis, tais como: 1) a alta produtividade do setor agrícola, notadamente nos estados do Paraná (21,7 t/ha), São Paulo (21,4 t/ha) e Mato Grosso do Sul (21,4 t/ha), que, em 2002, alcançaram os maiores valores nacionais, podendo chegar até 50 t/há em áreas específicas, 2) o rendimento no teor de amido que se situa, na média, em torno de 25%, alcançando até 32%. Esses índices de rendimento não são alcançados, por exemplo, pelos grandes produtores de fécula do mundo. A Tailândia tem produtividade média de 16 t/ha e um rendimento médio de amido em torno de 25%. (CONAB, 2001 e FAO, 2003)

As oportunidades para o setor da mandioca em nível mundial, mostram que o aparecimento de novas indústrias; o crescimento das indústrias já existentes, as quais podem usar produtos derivados da mandioca, e as possibilidades de substituir importações explicam as expectativas otimistas de crescimento da demanda do setor para os próximos anos. (PHILLIPS, 1999)

As agroindústrias que extraem a fécula das raízes da mandioca, são denominadas fecularias, instaladas predominantemente nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Mato Grosso do Sul, sendo São Paulo o estado mais industrializado é o maior consumidor de féculas nos setores de alimentos, papeleiro e químico.

2.1 Mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta cranz)* é uma raíz que tem sido considerado uma importante fonte de alimento para a grande população em países da Ásia, África e América Latina. É conhecida como cassava, aipim, castelinha, macaxeira, mandioca, yuca e manioc. (PANDEY et al., 2000).

É reconhecidamente uma raiz amilácea, onde o amido se encontra juntamente com os outros carboidratos de diferentes pesos moleculares, incluindo desde

açúcares simples até glicosídeos e material celulósico. Apesar da pouca contribuição dos outros componentes, tais como proteínas, lipídios, vitaminas e sais minerais, eles devem ser considerados devido a importância da raiz como matéria-prima com elevado teor de umidade, oferecendo condições composicionais tanto na estocagem quanto durante o processamento. (WHISTLER et al., 1965)

O cultivo desta raiz é feito principalmente em países tropicais sendo o Brasil o segundo maior produtor mundial. Parte desta produção é transformada em farinha ou usada diretamente na alimentação e outra parte é processada para obtenção de fécula.

Duas características agronômicas do cultivo da mandioca são importantes para explicar a dispersão geográfica de sua produção: a capacidade para usar eficientemente o recurso água e ter grande adaptação a solos de baixa fertilidade, nos quais alguns cultivos não conseguem produzir, e, quando produzem o fazem de forma bastante precária.

A capacidade dessa cultura para usar água eficientemente permite sua exploração em zonas de estação seca prolongada, como o Nordeste do Brasil e a África. Além disso, a sua adaptação aos solos de baixa fertilidade permite a conversão eficiente de energia solar (que é abundante nos trópicos) em carboidratos, sem competir com outras culturas que demandam uma quantidade maior de nutrientes do solo.

Outra característica agronômica reside na possibilidade de as raízes serem armazenadas no próprio solo, por um período razoável, sem perdas significativas de qualidade e rendimento; se bem menejada, a cultura pode até aumentar o rendimento. Em outras palavras, a relativa versatilidade de ser colhida com diferentes idades permite aos produtores melhor aproveitar as oportunidades de mercado e, em função da demanda, fazer ajustes alternativos dentro das unidades de produção. (SAMPAIO et al., 1994)

2.2 Processamento da mandioca

As unidades de processamento da mandioca para produção de polvilho azedo e doce as fecularias produzem um material sólido identificado por bagaço ou polpa residual, o qual tem sido sub aproveitado na alimentação de animais. A problemática ambiental decorrente dessa atividade agroindustrial despertou a atenção de pesquisadores da

comunidade científica brasileira, os quais passaram a sugerir propostas mais rentáveis de aproveitamento desse descarte, como a produção de xarope de glicose, de etanol e de produto alimentício fibroso para alimentação humana. (RAUPP et al., 2002)

A extração da fécula é essencialmente um processo físico de separação onde as raízes num primeiro passo são lavadas e descascadas, sendo a seguir trituradas em pequenos pedaços as quais são moídas para romper as paredes das células vegetais e liberar o amido contido. Nesta operação são utilizadas cevadeiras que a reduzem à polpa com granulometria de entre 550 a 350 μm (JACQUEY, 1999) e deste modo a massa é bombeada para peneiras rotativas que extraem o amido liberado, lixiviando com água através de telas com malha de 50 μm. Este "leite de amido" é a seguir lavado novamente com água e separado em centrífugas que o disponibilizam para concentração e secagem final em secadores tipo "*flash dryer*". A partir dos dados observados por Lebourg, (1996), montou-se um balanço de massa bastante aproximado de operação de uma fecularia média que processa 250 toneladas de raízes/dia. No diagrama da Figura1 é possível verificar os resíduos do processo: fração cascas, farelo e águas residuárias.

Dentro das restrições de ordem ambiental, além do tratamento dos resíduos, é levado em consideração que a cadeia da mandioca se caracteriza por processos tecnológicos de uso intensivo de água. É necessário o desenvolvimento de processos poupadores desse recurso. Há empresas que já estão reutilizando parte da água usada na retirada do amido, para auxiliar no processo de pré-lavagem das raízes. Esse procedimento, além de redução do impacto ambiental e de ganho direto, devido à queda nos custos de produção, pode significar um diferencial competitivo na busca por padrões de produção perfeitamente ajustados aos novos parâmetros internacionais de qualidade total.

O resíduo líquido é despejado em tanques de evaporação e/ou fertirrigação; o resíduo cascas lançado ao solo e utilizado como fertilizante e o farelo úmido é doado, lançado ao solo. Podendo ainda ser utilizado como ração para gado.

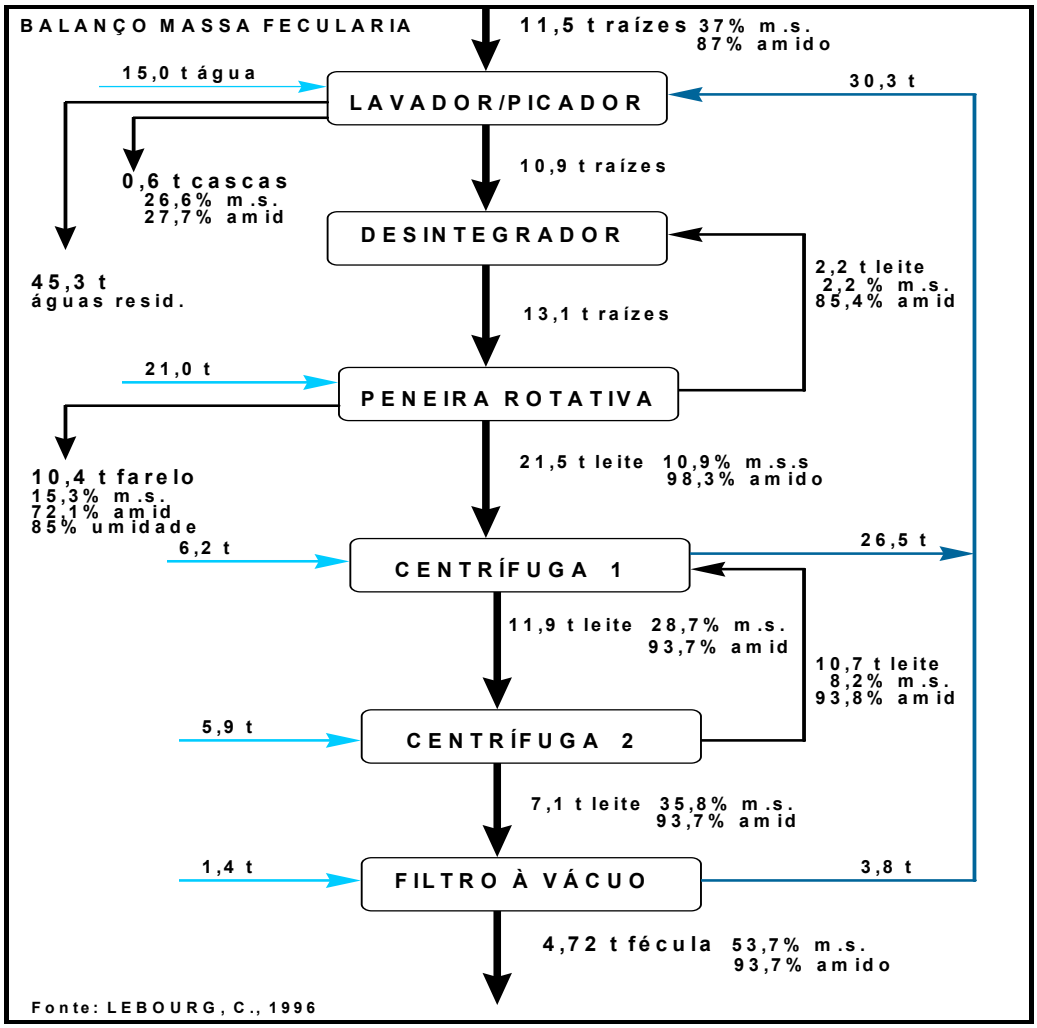


Figura 1: Balanço de massa utilizando dados observados numa agroindústria extratora de fécula de mandioca.

A película (casca) e a massa (farelo), que são ricas em fibras e ainda carregam parte do amido, não podem apenas se restringir aos tipos de aproveitamento tradicionais, ou seja, alimentação animal e adubação. Pesquisas que visem reduzir o impacto dos resíduos no custo final do processo, são fundamentais incluir ações que comtemplem novos usos. Os resíduos, dentro desse novo contexto, deveriam ser vistos e remunerados como subprodutos, caso contrário, o valor do produto final (fécula) na propriedade agrícola, convertido em termos de matéria-prima, será bastante elevado, quando comparado com o milho concorrente direto. No caso do milho, uma tonelada de amido gera semelhante volume de subprodutos com valor comercial, O que reduz o impacto do preço da matéria-prima no custo total do produto principal.

A questão dos resíduos tem que ser considerada como prioritária. Na Europa, por exemplo, além dos subsídios, isso tem influenciado na alteração da fonte de matéria-prima para o processamento do amido. Os subprodutos gerados no processamento de milho e trigo, na forma de glúten, farelo, fibra e germe são altamente valorizados. Os subprodutos da mandioca são de baixa qualidade e valor. Além disso, os resíduos líquidos do processamento da mandioca requerem custos adicionais no processo de reciclagem. (HENRY, 1999)

A fécula de mandioca e seus amidos modificados estão competindo com o amido de milho, principalmente em relação ao preço. No mercado dos derivados de amido destaca-se o crescimento da parcela ocupada pelo xarope de glicose produzido a partir da fécula. Esse produto é um insumo largamente utilizado na indústria alimentícia, notadamente nas indústrias de doces e bebidas. Sabe-se que é o setor alimentício onde estão os principais demandantes de amido de fécula. (SILVA et al., 2000)

No mercado alimentício, mais especificamente no segmento da indústria de embutidos, a fécula natural representa vantagens, comparativamente a outros amidos, principalmente na produção de salsichas embaladas a vácuo (*cry-o-vac*), produto que também vem apresentando expansão da demanda, em decorrência das mudanças nos hábitos alimentares. A fécula modificada é também muito utilizada como espessante. (SILVA et al., 2000)

2.3 Farelo de mandioca

O farelo de mandioca é um resíduo sólido gerado na etapa de separação da fécula da mandioca. A composição média do farelo de diferentes fecularias brasileiras após secagem é: 10% de umidade, 15% de fibras e 75% de amido, apresentando pH 5,5. (LEONEL et al., 2000)

Nos últimos anos há um aumento na tendência de utilização de resíduos agroindustriais como farelo de mandioca, bagaço de cana de açúcar, polpa de beterraba, etc., por exemplo em bioprocessos produzindo substratos alternativos e resolvendo os problemas de poluição. (PANDEY et al., 2000)

O farelo de mandioca, rico em matéria orgânica, basicamente formado de amido (observado pela Figura 2 onde os grânulos representam o amido) pode ser o substrato ideal para o processo tecnológico com o objetivo de transformá-lo num produto de valor comercial. O farelo pode ser fermentado diretamente em estado sólido ou uma fermentação após tratamento formando o hidrolisado.

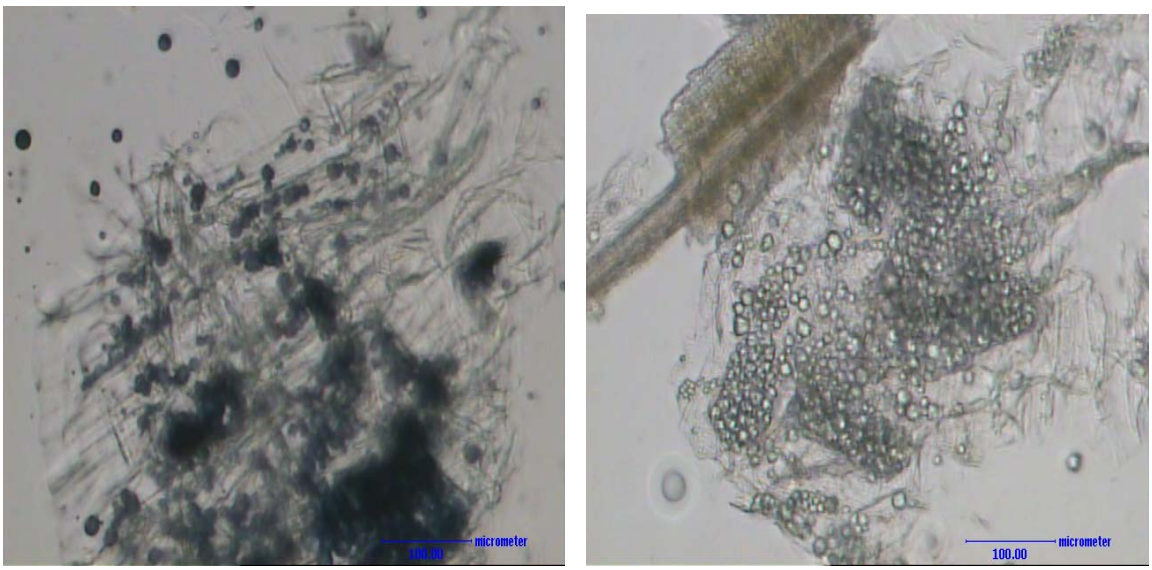


Figura 2: Microscopia da fibra do farelo " in natura".

O tratamento do farelo formando o hidrolisado envolve a conversão do amido em açúcares redutores (principalmente a glicose). (WOICIECHOWSKI et al., 2002)

O resíduo sólido das fecularias (farelo) pode constituir matéria-prima para elaboração de uma farinha (com granulometria e teor de amido devidamente especificados para satisfazer aos padrões do processo industrial) que atenderia perfeitamente ao mercado de mineração. Em igualdades de preço com os produtos concorrentes (derivados de milho), os derivados de mandioca são preferidos. A título de exemplo, só uma grande empresa do setor de mineração, no Brasil, consome algo em torno de 3.200 t/mes de produtos amiláceos (fubá de milho ou farelo de mandioca). (CEREDA, 2001)

2.4 Amido

O amido é a principal substância de reserva das plantas superiores, fornecendo de 70 a 80% das calorias consumidas pelo homem. Os depósitos permanentes do amido nas plantas ocorrem nos órgãos de reserva, que é o caso de grãos em cereais (milho, arroz) e de tubérculos e raízes (batata e mandioca).

O amido (independente de sua origem) é tradicionalmente empregado nas indústrias alimentícia, metalúrgica, de mineração, de construção, cosmética, farmacêutica, de papel e papelão, têxtil, etc. O amido de mandioca, devido a proporção entre amilose/amilopectina, pelas características de ligações glicosídicas e da estrutura granular, apresenta propriedades singulares que o torna preferido em diversos processamentos alimentares e usos industriais (CEREDA, 1989).

As principais fontes de amido comercial no mundo são o milho, o arroz, trigo e a mandioca. Seu uso, nos últimos anos vem crescendo o interesse em amidos naturais que possam ser utilizados pela indústria alimentícia. (LEONEL et al., 2002)

O amido é um polissacarídeo de reserva energética da célula vegetal. É formado por moléculas de glicose ligadas entre si através de numerosas ligações α (1,4) e poucas ligações α (1,6), ou "pontos de ramificação" da cadeia. A molécula sem pontos de ramificação é denominada amilose de forma linear e hélice em solução aquosa**,** enquanto aquela que se apresenta com ramificações recebe o nome de amilopectina. Encontra-se armazenado em grandes proporções em raízes tuberosas como a mandioca, caules, tubérculos, como a batata inglesa, e em certas sementes como o milho. A hidrólise total do amido forma moléculas de glicose, enquanto a hidrólise parcial produz moléculas de maltose.

Amilose e amilopectina, ligadas por ligações de hidrogênio, entre amilose-amilose, amilopectina-amilopectina ou amilose-amilopectina, formam a ultraestrutura do grânulo em uma ordem cristalográfica definida a partir do hilo (BOBIO & BOBIO, 1989).

O amido constitui-se em grânulos compactados de amilose e amilopectina. O teor de amilose difere segundo as variedades de mandioca, porém pode estar entre 15,35 e 30,00 % (VELIKAYA et al., 1971).

As formas dos grânulos, arredondada, cupuliforme, convexa, bi-côncava, sacciforme, e outras, são características do amido de mandioca, e assim como de outras espécies vegetais, são empregadas para a identificação da presença de determinados amidos em alimentos em geral (AMANTE,1986).

Na indústria têxtil, diferentes tipos de amido são utilizados, em função do preço, tipo de fio, máquinas e qualidade final desejada. Os amidos nativos e as dextrinas são os mais usados. A fécula de mandioca, assim como a de batata, é a preferida para ser usada no processo porque tem a vantagem de ser mais transparente que o amido do milho. A fécula, além de mais transparente, tem alta viscosidade e confere alta adesão aos fios. (CEREDA, 2001)

Um importante mercado para o amido está no setor de papel e papelão, com um potencial de 170 mil toneladas. Isso significa uma demanda de matéria-prima equivalente de 700 mil toneladas de raízes, supondo que a fécula atenderia todo esse mercado, abrindo espaço para a fécula de mandioca, que tem vantagens em algumas etapas do processo.

Uma das grandes áreas de uso do amido, na fabricação do papel, tem sido a parte úmida (*wet end*) do processo de produção. Estima-se que o tamanho de tal mercado, no âmbito mundial, deva ser de 230 a 250 milhões de dólares ou 253 mil toneladas, e uma expectativa de crescimento anual de pelo menos 10%. A razão para esse crescimento, é o novo processo de fabricação, ou seja, a técnica de fabricação alcalina em uso na Europa há mais de 30 anos e recentemente adotada na grande maioria das indústrias no mundo, inclusive no Brasil. O aumento na demanda de amido na indústria papeleira tem sido também estimulado pelo crescente uso da matéria-prima reciclada (CEREDA, 2001)

No mercado de colas e adesivos, em geral, a fécula é preferida por gerar produtos mais viscosos e fáceis de manipular. É fluida, estável e de pH neutro e pode ser facilmente preparada e combinada com diversas resinas e emulsões sintéticas.

A produção de álcool, principalmente para fins alimentícios (bebidas), farmacológicos e laboratoriais, também se apresenta como uma alternativa de mercado para a mandioca. (FONSECA, 1996)

A crescente valorização das características funcionais existentes nos amidos nativos reflete o interesse da sociedade mundial por produtos mais naturais e com processo de produção que cause o mínimo impacto ambiental, uma vez que se reduz o uso de produtos químicos. Dificilmente novos reagentes químicos ou derivados serão aprovados, principalmente para uso alimentar e também que os níveis de tratamento nos amidos existentes vão permanecer estacionários. Na Europa, o uso de amidos modificados é limitado a 5% do

peso seco do alimento elaborado. Esses amidos são considerados aditivos alimentares e devem ser declarados nos rótulos, ao contrário dos amidos nativos, para os quais não há limites de uso, e que permitem identificar os alimentos como naturais. (CEREDA, 2001)

Esta preferência pela fécula se dá pelas suas propriedades físico-químicas, pois a baixa temperatura de gomificação a faz ideal para uso como agente ligante em embutidos de carne. É ideal para o preparo de recheios de tortas, de alimentos infantis e congelados, para produção de "*wafers*", de copos de sorvetes, de sorvetes, etc. As características da fécula de mandioca são, em parte, reproduzidas pelos amidos de cereais geneticamente modificados. Portanto, em mercados onde haja restrição ao consumo de produtos oriundos de organismos geneticamente modificados, a fécula pode se tornar uma alternativa viável. Isso também é válido para os nichos de mercado em que são estabelecidas as regras diferenciadas para a importação de amido nativo e de amido modificado (HENRY, 1999)

Outra vantagem da fécula em relação aos outros amidos resulta da presença de menor teor de substâncias acompanhantes, tais como proteína e matéria graxa, que a torna tecnicamente mais adequada para ser utilizada como matéria-prima na fabricação de glicose. Por possuir aroma delicado, sabor suave e por produzir pastas claras quando cozida, é também conveniente para ser prontamente utilizada como *filler*, ou agente de corpo, tanto em indústria farmacêuticas quanto em indústrias de cosméticos. O maior pico de viscosidade e a grande resistência à retrogradação, determinada pela proporção amilose/amilopectina, são características que conferem à fécula boa estabilidade nas fases alternadas de congelamento e descongelamento, permitindo sua ampla utilização no preparo de alimentos (SRIROTH et al., 2000)

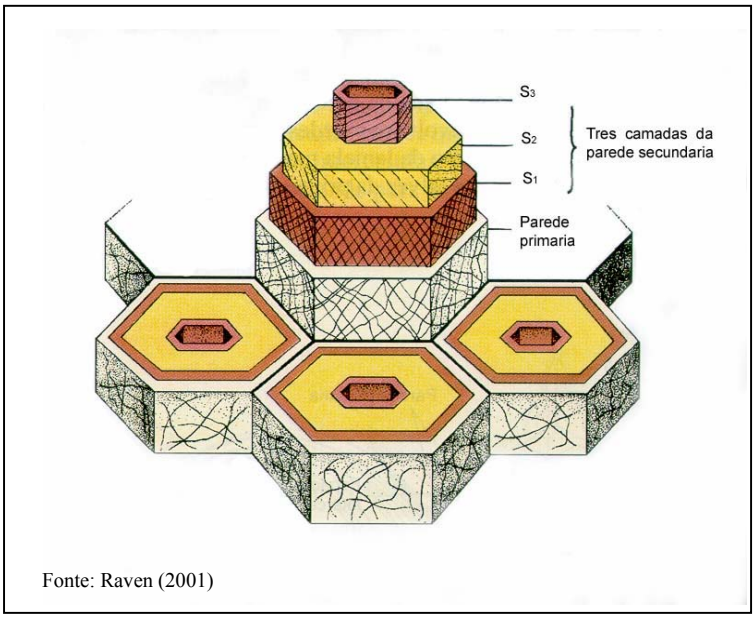
2.5 Lignocelulose

A lignocelulose representa mais de 90% do peso seco de uma célula vegetal, sendo composta pelos polímeros celulose, hemicelulose e lignina, unidos fortemente entre si por forças não covalentes e ligações covalentes. Nas paredes celulares de tecidos

vasculares de plantas terrestres superiores, as fibrilas de celulose estão localizadas em uma matriz amorfa de lignina e hemicelulose. A quantidade de cada um dos polímeros varia com a espécie e a idade da planta, bem como entre as partes de uma planta. Em média, a lignocelulose consiste de 45% de celulose, 30% de hemicelulose e 25% de lignina (GLAZER E NIKAIDO, 1995)

As lignoceluloses são os compostos orgânicos mais abundantes na biosfera abrangendo aproximadamente 50% da biomassa no mundo, o qual é estimado uma produção anual em 10 a 50 x 10^9 toneladas. Elas existem nos processos residuais da agricultura, florestas, frutas e vegetais.

São polímeros organizados e com ligações covalentes e ponte de hidrogênio acompanhadas diretamente na combinação com ligações de forças Van der Waals. Sua parede se divide em três camadas (Figura 3). (OVEREND, 1987)



Fonte: Raven (2001)

Figura 3: Camadas da parede celular

Sua atenção é considerada como uma alternativa de recurso de energia pelo fato da sua grande quantidade disponível. Os maiores usos da liognocelulose são em polpas e indústrias de papéis, produzindo álcool combustível e analítico, proteína para comida e usando meios tecnológicos de alimentação. A corrente atividade industrial da fermentação

da lignocelulose na biomassa é limitada pelo custo de transporte que dificulta a bioconversão econômica desses materiais em produtos de maior importância. O acúmulo de residuais na biomassa aumenta a cada ano causando deterioração do meio ambiente e perda de recursos. Esse aumento é uma contribuição significante para o problema da reciclagem e conservação da biomassa.

Os resíduos de lignocelulose podem gerar fonte de energia através da produção de etanol. Entretanto progressos consideráveis existem na tecnologia para a conversão da biomassa lignocelulósica em etanol, produzindo redução de custo. (BALLESTEROS et al., 2002)

2.6 Celulose

Do ponto de vista químico, o xilema é um tecido composto por vários polímeros orgânicos. Polímeros são moléculas feitas de muitas subunidades repetidas ou monômeros. A parede celular do xilema tem como estrutura básica a celulose, molécula linear de açúcar ou um polissacarídeo composto por monômeros de glicose. Estes polímeros de celulose compõem cerca de 40-45% do peso seco da maioria das madeiras.

A natureza estrutural da molécula de celulose (Figura 4), constituídas de unidades D-glicose unidas por ligações tipo β-1,4 altamente ordenadas, confere características estruturais a celulose, tornando difícil a sua separação do complexo lignolelulósico e perticularmente ao processo de hidrólise deste polímero. A resistência da celulose a processos de hidrólise é devido muito mais a sua estrutura cristalina do que a existência de ligações tipo β-1,4 glicosídica. As pontes de hidrogênio conferem as cadeias de celulose uma estrutura altamente ordenada e rígida. Algumas regiões menos ordenadas (amorfas) são mais sensíveis à hidrólise, formando microcristais que podem ser adicionados a alimentos, aumentando o volume, sem no entanto contribuir para o número de calorias. (BOBBIO & BOBBIO, 1989)

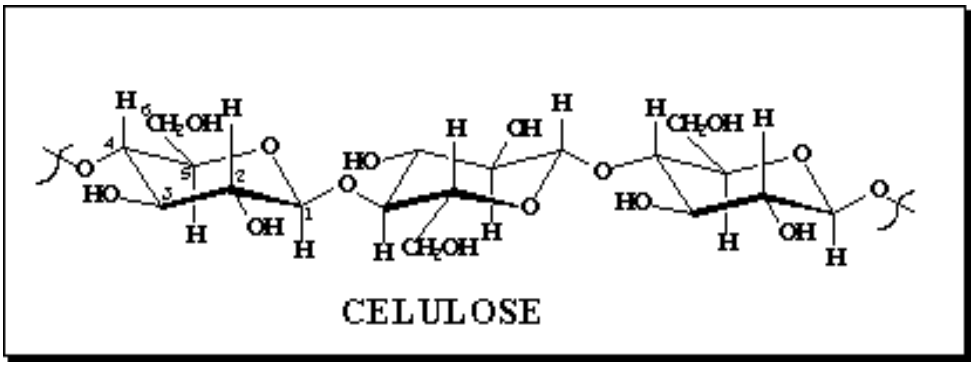


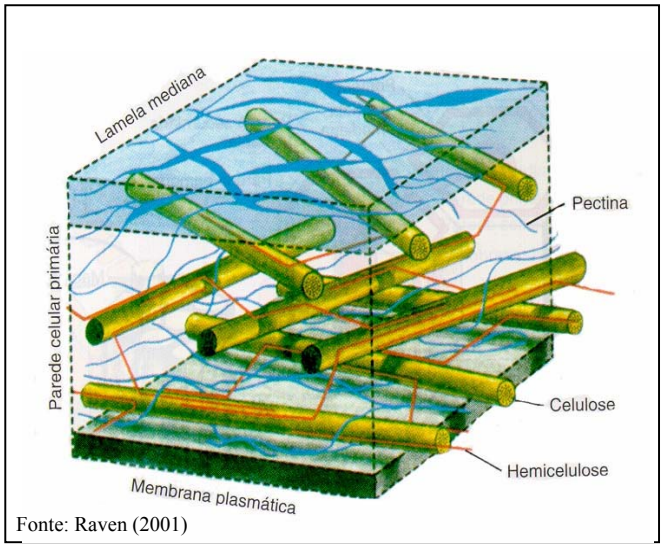
Figura 4 – Estrutura da Celulose

2.7 Hemicelulose

Além da celulose, está presente na madeira a hemicelulose, formada por muitas combinações de pentoses (xilose e arabinose). Difere em alguns aspectos da celulose (principalmente em conformação, grau de polimerização e peso molecular), mas são de alguma forma similares.

A estrutura microscópica da maioria das células vegetais é formada por uma parede celular rígida composta basicamente de celulose, e um carboidrato com propriedades físico-químicas tais como plasticidade, elasticidade, resistência a tensão e decomposição por microorganismos, higrofilia, transparência, etc. Esta parede é fina e elástica nas células vegetais mais jovens (parede primária). Nas células adultas esta parede sofre um espessamento, que pode formar, internamente à parede primária, uma parede secundária, composta de lignina, hemicelulose e suberina. A parede celular é formada por uma trama de fibrilas de celulose (Figura 5).

Cada uma das fibrilas que compõe a trama de celulose, é formada pela agregação de mais ou menos 250 microfibrilas. Cada microfibrila é formada por um pequeno número de feixes de molécula de celulose (fibrilas elementares), sendo que cada molécula de celulose é formada por mais de mil resíduos de glicose, os quais se interligam por pontes de hidrogênio. Em alguns pontos das fibrilas elementares as moléculas de celulose estão dispostas de maneira desordenada, em outros elas se dispõem ordenadamente, formando as micelas de estrutura cristalina. Entre as fibrilas, microfibrilas e fibrilas elementares, ocorrem outros componentes da parede celular como a hemicelulose, lignina, etc.



Fonte: Raven (2001)

Figura 5: Microfibrilas de celulose

A hemicelulose de natureza heteropolissacarídea, pode ser extraída quase que integralmente do complexo lignocelulósico através de processo envolvendo utilização de tratamento hidrotérmico que pode ser seguido ou não de rápida descompressão e deste modo desarranjando a estrutura física do material e facilitando a extração de um liquor composto principalmente de xilose com pequeno grau de polimerização (< 10) e portanto de fácil hidrolisação.

As hemiceluloses são macromoléculas, nas quais participam pelo menos dois tipos de unidades de açúcares, apresentando peso molecular muito menor do que a celulose, com 100 a 200 moléculas de monômeros polimerizadas. De acordo com o material lignocelulósicos, as hemiceluloses podem ser classificadas como: xilanas, mananas, arabinoxilanas, arabinogalactanas e arabinanas. Em madeiras duras e em uma gama de resíduos agroindustriais, o componente hemicelulósico apresenta alto conteúdo em xilanas, que são constituídas basicamente por unidades xilano-piranosídicas unidas por ligações β-1,4 com ramificações variáveis de outros monossacarídeos. (PEREIRA JR., 1999)

Tabela 1 Composição em glicídios de vários resíduos lignocelulósicos (%)

RESÍDUO	GLICOSE	XILOSE	ARABINOSE	MANOSE	GALACTOSE
Sabugo de milho	39,0	14,8	3,2	0,3	3,2
Palha de trigo	36,6	19,2	2,4	0,8	2,4
Palha de arroz	41,0	14,8	4,5	1,8	0,4
Bagaço de cana	38,1	23,3	2,5	-	1,1
Semente de algodão	20,0	13,0	2,0	8,0	-

Fonte: PEREIRA Jr (1999)

Outros componentes existentes neste tipo de matéria prima são as substâncias pécticas que são heteropolissacarídeos ramificados com alto peso molecular da ordem de 30.000 a 300.000, que consistem de uma cadeia principal de ácido D-galacturônico com ligações glicosídica α-1,4, intercalados por resíduos de L-raminose com ligações α-1,2 parcialmente esterificadas com metanol. (ROMBOUTS et al., 1980)

A hemicelulose de natureza heteropolissacarídea, pode ser extraída quase que integralmente do complexo lignocelulósico através de processos envolvendo utilização de tratamento térmico e presença de ácido inorgânico como catalisador em pequenas concentrações. (LARSSON, et al., 1999)

2.8 Lignina

A lignina é um complexo polímero fenólico e um dos componentes da parede celular dos vegetais, ao lado dos carboidratos estruturais celulose e hemicelulose, não sendo digerida pelas enzimas dos animais mamíferos. (VAN SOEST, 1994)

A lignina é um dos componentes da parede celular mais associada a queda da digestibilidade dos nutrientes, associada a elevada concentração da mesma à medida que a planta amadurece; isto tem levado a presumir que a lignina é o principal fator causador do baixo valor nutritivo das plantas forrageiras maduras (JUNG et. al., 1986). Algumas das razões para explicar a natureza da lignina são: a) sua estrutura compacta e insolubilidade na água; b) o arcabouço rígido devido as várias ligações covalentes entre os átomos de carbono e

as ligações do tipo éter; c) diferentemente de outros polímeros naturais, a lignina possui diversas formas de conexões inter-monoméricas.

Embora o teor da lignina de uma planta esteja altamente relacionada com a digestibilidade, mudanças quantitativas na concentração de lignina tomadas isoladamente não conseguem explicar o decréscimo da digestibilidade. Considera-se que à medida em que as plantas amadurecem, o tipo e/ou qualidade da lignina sendo depositada na parede celular pode modificar-se gradualmente examinadas cromatograficamente em lignina de gramíneas jovens e maduras (FUKUSHIMA, 1996)

Superadas pela celulose como o mais abundante composto orgânico na Terra, as ligninas são polímeros formados pela união covalente de três tipos de monômeros: álcoois *p*-cumarílico, guaiacílico e sinapílico (Figura 6). A distribuição e proporção destes monômeros obedecem à origem filogênica de cada vegetal. Estas ligações do tipo éter, resistem a vários agentes hidrolíticos, inclusive a vários sistemas enzimáticos. A quantidade relativa de cada monômero difere significativamente, dependendo de onde provém a lignina (angiospermas, gimnospesmas). Há uma grande variação na composição monomérica de ligninas de diferentes espécies, órgãos, tecidos e até mesmo de frações da parede celular. Por exemplo, as madeiras duras possuem núcleos guacílicos e serigílicos na lignina, enquanto que as madeiras mais moles são quase que exclusivamente formadas de núcleos guaiacílicos (FUKUSHIMA et al,. 2003 e ZIEGLER et al., 2004)

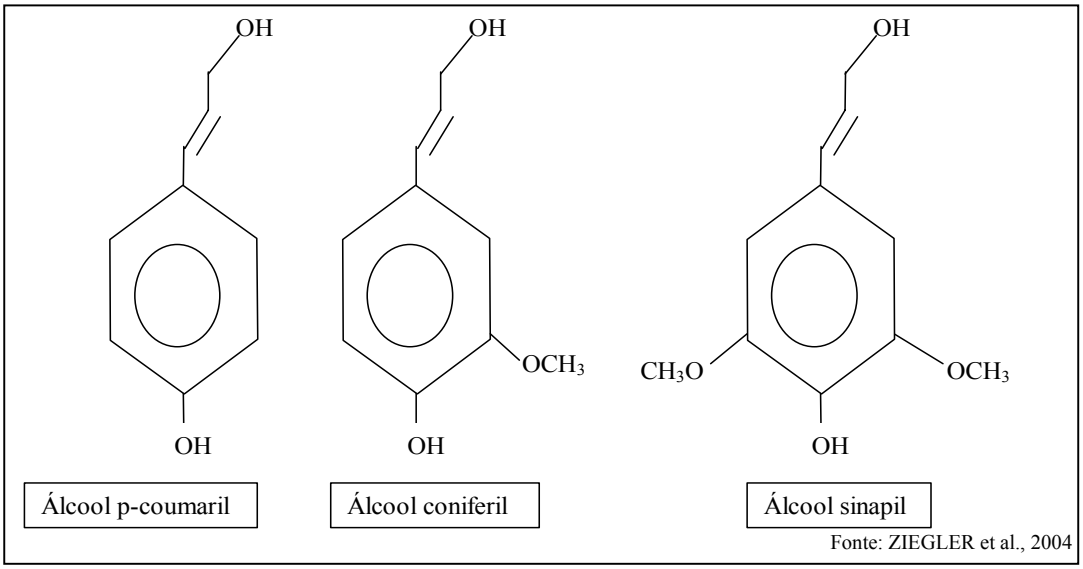


Figura 6: Precursores da lignina

A principal importância da lignins é a resistência à compressão e a rigidez que ela confere à parede celular embora conferindo flexibilidade; resistente ao ataque da maior parte dos microorganismos, o processo anaeróbico não tende a atacar todo o anel aromático. A quebra aeróbica da lignina é lenta e pode levar muitos dias. Com a adição de lignina às paredes celulares, foi possível o desenvolvimento de sistemas ramificados capazes de suportar as grandes superfícies fotossintetizantes. Outra função da lignina é também impermeabilizar a parede celular, facilitando o transporte de água para cima nas células condutoras do xilema (RAVEN et al., 1992).

A lignina é biossintetizada nas plantas vasculares em um complexo encadeado de reações, começando pelo CO_2 e H_2O, e originando os ácidos shikímico, prosseguindo via aminoácido aromático L-fenilalanina. A fenilalanina amônialiase, é uma enzima regulatória do metabolismo fenólico nas células vegetais, que converte a fenilalanina no ácido trans-cinâmico (CAMM et. al., 1973).

A concentração de lignina na célula primária e secundária é estimada em 70 a 90% do total de lignina presente.

2.9 Fibras

2.9.1 Fibras dietéticas

A definição básica de fibras dietéticas aceita pelos cientistas em toda parte do mundo determinada a partir de 1976 é que fibras dietéticas são compostos de células remanescentes de plantas resistentes a hidrólise de enzimas na alimentação humana e polissacarídeos indigestíveis (celulose, hemicelulose, oligossacarídeos, pectinas, gomas, graxas) e ligninas. (PROSKY, 1999)

Até recentemente, por volta de 1980, fibra dietética e seus componentes eram consideradas substâncias não digeríveis que serviam somente para estabilização dos vegetais, mas desde então, uma atenção especial é dada às fibras dietéticas, devida ao efeito fisiológico benéfico na alimentação animal e humana.

O termo químico dado para a definição para fibra dietética era a soma de ligninas e polissacarídeos que não possuem amido, sendo os componentes de maior importância a celulose, hemicelulose, ligninas e pectinas. (NAWIRSKA et al., 2005)

Atualmente a definição de fibras dietéticas é: ligninas e polissacarídeos que não contêm amido, resistentes a hidrólise e a ação enzimática existentes no intestino delgado. (KNUDSEN, 2001)

Reconhecido por numerosos autores a fibra dietética consiste principalmente em frações de fibras solúveis e insolúveis (REHMAN, 2004) de grande importância para o consumo humano (SANGNARK et al., 2003)

Os efeitos fisiológicos são descritos a partir das propriedades funcionais e físico-química da fibra dietética, agindo diferentemente durante a transição do trato gastrointestinal, dependendo da composição química que o alimento passou. (FIGUEROLA et al., 2005)

As fibras dietéticas estão sendo bastante estudadas por seu efeito na diminuição de risco em doenças cardiovasculares, doenças gastrointestinais, câncer de cólon, glicemia e obesidade. Recentes descobertas demonstram que as fibras derivadas de frutas e vegetais podem promover efeitos fisiológicos benéficos que incluem um decréscimo significante na concentração do colesterol no sangue. A importância das fibras dietéticas na dieta humana direciona a busca por novas fontes de fibras direcionando seu uso como ingrediente alimentar. (CHAU et al., 2004 and. SANGNARK , 2004).

A eficiência benéfica das fibras dietéticas está associada ao consumo de produtos ricos em fibras e conseqüentemente encorajada por cientistas para busca de novas fontes de fibra para ingredientes alimentares. (YOON et al., 2004). O consumo diário humanoes fibras variam entre 30 a 45 gramas por dia. (SANGNARK, 2003)

2.9.2 Fibra na nutrição de ruminantes

A fibra apresenta a fração de carboidratos dos alimentos de digestão lenta ou indigestível e dependendo de sua concentração e digestibilidade, impõe limitações sobre o consumo de matéria seca e energia. Por outro lado, a saúde dos ruminantes também

depende diretamente de concentrações mínimas de fibra na ração que permitam manter a atividade de mastigação e a motilidade do rúmen. (NUSSIO et al., 2000)

De acordo com Eastridge (1997) a extensa fermentação no rúmen resulta em um abundante suprimento de nutrientes para o ruminante facilitando a utilização de uma variedade de alimentos, sendo a função mais crítica a digestão dos componentes fibrosos das plantas.

A quantidade de fibra nas dietas para ruminantes foi analisada primeiramente pelo método de fibra bruta (FB) aprovado pelo A. O. A. C. em 1962. Van Soest (1991) por sua vez desenvolveu o sistema de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA). As diferenças nas proporções e nas configurações intermoleculares dos compostos da fibra fazem com que nenhuma das fibras (FB, FDN ou FDA) tenha propriedade nutricional constantes. (MARTENS 1997) Este mesmo autor propôs a classificação dos carboidratos em fibrosos (hemicelulose, celulose e lignina) e não fibrosos (amidos, açúcares e pectinas). A pectina é rapidamente digerida no rúmen e não tem valor fibroso algum.

As diferenças no total e nas propriedades físicas da fibra podem afetar a utilização da dieta e o desempenho animal. Quando muita fibra é incluída na ração, a densidade energética é baixa, a ingestão é reduzida e a produtividade diminui. Quando pouca fibra é incluída, uma variedade de sintomas pode ocorrer, variando desde uma alteração de fermentação no rúmen até uma severa acidose resultando em morte. (MARTENS, 1997)

Allen (1997) descreve fibra fisicamente efetiva como a fração do alimento que estimula a atividade de mastigação. A mastigação por sua vez estimula a secreção de saliva, os tamponantes na saliva (bicarbonato e fosfato) neutralizam os ácidos produzidos pela fermentação da matéria orgânica no rúmen. O balanço entre os ácidos produzidos na fermentação e a secreção de tamponantes é o maior determinante do pH ruminal, e este por sua vez em baixos valores pode reduzir o consumo de matéria seca, digestibilidade de fibra e produção microbiana.

De acordo com Eastridge (1997) a produção de saliva está relacionada com o tempo de mastigação, que é uma função do consumo de forragem e tamanho de partícula e que o "*mat*" (tapete formado de fibra não digerida presente no rumem) que serve como um separador do tamanho de partículas, resultando no alojamento das partículas que

necessitam ser mais digeridas e conclui que a consistência do "*mat*" ruminal pode afetar a digestibilidade e a passagem da fase sólida do alimento.

2.10 Pré-tratamento

O pré-tratamento antes da hidrólise enzimática é necessário para aumentar a velocidade de reação e rendimento. A abertura da estrutura da lignocelulose e a degradação microbiana requerem uma energia expansiva no processo. (BALLESTEROS et al., 2002). Também usada para tratamento de materiais lignocelulósicos para melhorar o efeito enzimático convertendo a celulose em glicose. (WEIL et al., 1997).

O pré-tratamento envolvendo ácido ou base acoplada com elevada temperatura e métodos mais suaves como "steam" ou amônia líquida são estudadas eficientemente para hidrólise. A água quente (220°C) e o método químico são os preferidos para o tratamento total das hemiceluloses e hidrólise parcial das ligninas. (SREENATH et al., 1999) O pré-tratamento sob condições de alta severidade na hidrólise é uma maneira em que o ataque enzimático seja mais acessível a celulose.(SÖDERSTRÖM et al., 2003)

Taherzadeh (1999) descreve alguns inibidores para *Saccharomyces cerevisie*, levedura utilizada para fermentação etanólica. A alta concentração (por volta de 10g/L) de inibidores como ácido acético, furural e hidroximetilfurfural, decresce o rendimento na produção de etanol. O efeito do ácido acético depende de sua concentração máxima que é de 5g/L, já em baixa concentração 1g/L não possui grande influência na fermentação do produto. O composto formado pela degradação da hexose e da pentose, furfural e hidróximetilfurfural, inibem a levedura quando estão em concentração de 4g/L.

Durante o pré-tratamento as pentoses e as hexoses formadas pela hidrólise da celulose e hemicelulose podem favorecer a formação de: furfural, 5-hidroximetilfurfural (HMF), ácido levúrico e ácido fórmico como outras substâncias , sendo os três principais grupos de compostos inibidores formados no pré-tratamento são: ácidos alifáticos, derivados de furanos e fenólicos. Quanto maior for a condição de severidade durante o pré-tratamento maior a degradação dos açúcares. (SÖDERSTRÖM et al., 2003).

O efeito do pré-tratamento em materiais lignocelulósicos são estudados ao longo do tempo. A proposta do tratamento é remover a lignina e hemicelulose,

reduzir a cristalinidade celulósica e aumentar a porosidade do material. Pré-tratamento reúne os seguintes requisitos: 1) melhora a formação de açúcares ou a habilidade de formar subseqüentes açúcares por hidrólise enzimática; 2) evita a degradação dos carboidratos; 3) evita a formação de subprodutos inibidores da subseqüente hidrólise processo de fermentação e 4) o pré-tratamento em materiais lignocelulósicos é usado em processos biológicos, químico, físico, físico-químico por efeito de preço. (SUN & CHENG, 2002)

2.10.1 Pré-tratamento hidrotérmico

O processo físico ou pré-tratamento hidrotérmico de lignocelulose consiste na modificação estrutural do material como a palha, cascas e o bagaço, utilizando água e temperaturas elevadas. Os tipos de pré-tratamento poderiam ser escolhidos conforme a modificação química polimérica a ser obtida, podendo ser classificados como: vapor; aquoso e tratamento organosolvólise. Todos estes processos antecedem o processo termomecânico desenvolvido para polpa e papel ou indústria de serragem. A seqüência na aplicação tecnológica da termoquímica é fracionar o substrato em suas maiores frações poliméricas: celulose, hemicelulose e lignina e variando suas modificações. (OVEREND & CHORNET, 1987)

O tratamento hidrotérmico utilizando água à temperaturas de 170 a 220°C, tem sido aplicado para pré-tratamento de material lignocelulósico para tornar mais efetiva a ação enzimática para a conversão de celulose em glicose. Diferentemente da técnica do *"steam exploded*", que expande rapidamente estruturas celulósicas, neste tratamento hidrotérmico, o retorno à pressão ambiente se faz sem mudança de fase, o que garante menores degradações dos compostos solúveis existentes no hidrolisado.

A hidrólise no processo hidrotérmico é mais intensa do que a hidrólise no processo enzimático sugerindo que esta tecnologia seja usada para tratamento de grande quantidade de materiais originárias da biomassa vegetal. Entretanto no processo hidrotérmico é relativamente difícil a otimização de sua pressão no processo de tratamento com água quente porque a reação hidrotérmica tem baixa seletividade. A ordem do desenvolvimento desse método otimizou a eficiência favorecendo o entendimento do mecanismo de reação e a cinética necessária para a condição hidrotermal. (MOCHIDZUKI et al., 2002)

Sreenath et al. (1999) desenvolveram um trabalho através de pré-tratamento em fibras de alfafa (*Medicago sativa*) para obtenção de hidrolisado otimizando o tratamento enzimático, e posterior fermentação para produção de etanol. A alfafa é um dos produtos mais utilizados para alimentação de ruminantes, porém limitada por conter materiais não digeríveis como celulose, hemicelulose, lignina e pouca pectina; por esta razão, há o interesse de transformar estes compostos não digeríveis pelo animal em produtos comercializáveis.

O trigo é o cereal produzido em grande quantidade na Europa e nos Estados Unidos. Seu resíduo, o farelo de trigo, produzido após retirada da farinha, vem sendo de grande interesse para produção de etanol podendo ser substituto do combustível no setor de transporte e Palmarola-Adrados et. al. (2005) investigam o aproveitamento de farelo de trigo através da relação dos resultados de pré-tratamento ácido seguida de hidrólise enzimática e hidrólise enzimática direta sem pré-tratamento; havendo a necessidade de observar as condições de temperatura, tempo de residência e concentração ácida para pré-tratamento combinado de hidrólise enzimática dando condições para fermentabilidade para produção de etanol. Obtiveram como conclusão que o pré-tratamento libera mais pentoses e um significante aumento na hidrólise da celulose e o rendimento de 80% na produção de açúcares conforme o método. Os tipos de açúcares produzidos foram: 13g de arabinose; 2,8g de xilose e 16,7g de glicose.

Com um residuo semelhante, palha de trigo Curreli et. al. (2002) recuperam xilose cristalina através do pré-tratamento realizada em duas fases; sendo o primeiro pré-tratamento para hidrolisar a hemicelulose sendo tratado com ácido sulfúrico a 2% de concentração numa temperatura de 90°C com o tempo de 2 a 24 horas de incubação obtendo o melhor tempo acima de 12 horas; o segundo pré-tratamento utilizaram para remover a lignina hidróxido de sódio a 1% contendo peróxido de hidrogênio a 0,3% com tempo de reação de 6 a 24 horas e, por fim o liquor obtido é submetido a uma hidrólise enzimática para produção de glicose e xilose.

A combinação de tempo e temperatura é chamada de coeficiente de severidade que permite comparações de diferentes processos e parâmetros de rendimentos de frações catalisados por ácido. É usado em indústrias de polpa e papel desde 1957, o qual a

delignificação é tratada em reação de primeira ordem (baseado na perda da massa) tendo Arrhenius a relação dependente da temperatura. (CHUM et al., 1990)

O pré-tratamento utilizado por Weil et. al. (1997) foi através de aquecimento em água da fibra de milho à temperatura entre 220 a 260°C seguido de hidrólise enzimática; o tempo utilizado para a reação foi de 50 a 60 minutos e uma rotação de 115 rpm, conseguiram em seu trabalho um rendimento de 33 a 84 % de conversão da celulose para a glicose.

Aguilar et. al. (2002) produzem xilitol através de tratamento de materiais lignocelulósicos de baixo custo como, por exemplo, bagaço de cana de açúcar utilizando uma temperatura de 100 a 128°C e concentração ácida de 2 a 6%. A produção de xilitol é de grande interesse, pois sua vantagem sobre a glicose ou sacarose está em ser anticarcinogênico e possuir baixo valor calórico.

A mandioca é uma das mais importantes fontes de alimento na Nigéria, sendo composta em sua maior parte por amido e rica em celulose e hemicelulose. O amido é consumido para alimento na forma de "*gari*" e, a celulose, hemicelulose e lignina são descartadas. AGU et. al. (1997) combinaram pré-tratamento hidrotérmico com hidrólise ácida de resíduo peneirado de mandioca para produção de etanol. O efeito da combinação deste tratamento é investigado com diferentes concentrações de ácido sulfúrico em uma temperatura de 120°C com tempo de reação de 30 minutos; obteveram como resultado um rendimento de 60%, tendo como melhor concentração ácida de 0,3M, ou seja a concentração mínima requerida para o processo. Quanto maior a concentração ácida, maior o aparecimento de inibidores e açúcares similares como a xilose a qual não é metabolizada pela *Saccharomyces cerevisiae* diminuindo a produção de etanol.

2.10.2 Pré-tratamento pelo método "*steam-explosion*"

"*Steam-explosion*" é o método mais comum para tratamento de materiais lignocelulósicos. Neste método a biomassa é tratada com alta pressão saturada e esta pressão é rapidamente reduzida, os quais o material sofre uma decomposição "explosiva". O "*steam-explosion*" é tipicamente iniciada em temperatura de 160°C correspondendo a uma

pressão de 0,69 Mpa em segundos antes do material explodir em pressão atmosférica. O processo causa degradação da hemicelulose e lignina pela alta temperatura, aumentando o potencial da hidrólise celulósica. Noventa por cento de eficiência da hidrólise enzimática realizada a 24 horas para o pré-tratamento por "*steam-explosion*" comparando com 15% da hidrólise sem tratamento. Os fatores do pré-tratamento por "*stean-explosion*" são tempo de residência, temperatura, tamanho do material e umidade. A otimização da hemicelulose hidrolisada e solubilizada pode ser realizada por alta temperatura e pequeno tempo de residência (270°C, 1 min.) ou pequena temperatura e um longo tempo de residência (190°C, 10 min.). Recentemente estudos indicam que a menor temperatura e alto tempo de residência são mais favoráveis. (SUN et al., 2002)

O conceito da técnica de "*steam-explosion*" é criar o desfibramento do material com acesso a celulose ou açúcares fermentáveis que podem ser colocado em duas patentes registrada no "U.S. *patent office*" no ano de 1927 (BABCOCK, 1932). No estudo do tratamento com água quente (220°C por 2 min.), excluindo o tratamento químico, é o mais preferido pré-tratamento para a total solubilização da hemicelulose e parcial hidrólise da lignina. (SREENATH et al., 1999)

A autohidrólise por "*steam explosion*" tem gerado uma aceitação pelo custo sendo um método utilizado em pré-tratamento de lignocelulose da biomassa. A mais importante variação usada no pré-trtatamento por "*steam explosion*" são o tempo, temperatura e o tamanho das partículas. Geralmente quando o tamanho das partículas é grande o problema resulta no superaquecimento (associando a formação de inibidores) fazendo com que a auto hidrólise seja incompleta, conseqüentemente a prioridade do pré-tratamento por "*steam explosion*" é que o tamanho das partículas sejam reduzidas sem precisarem de uma significante energia. (BALLESTEROS et al., 2002)

Utilizando o método "*steam explosion*" e hidrólise enzimática em *Brassica carinata*, um grupo de herbácea existente em grande quantidade no Mediterrâneo e na Europa, Ballesteros et. al. (2002) obtêm aproximadamente 80% de rendimento ao extrair açúcares na forma de hidrolisado. Utilizou diferentes tamanhos de partículas e concluiu que para alta recuperação de celulose as partículas devem ser de 8 a 12 mm, com pré-tratamento de temperatura de 190°C para rendimento de 70% e 210°C para um rendimento de 99%, com

tempo de reação de 4 a 8 minutos; sendo o material posteriormente tratado com as enzimas Celulast 1,5 L e β-glucosidase (Novozyme 188) ambos fornecido pela Novo Nordisk.

Brownell & Saddler, 1987, realizou o tratamento de material lignocelulósico, sem a rápida descompressão e verificaram que este método é tão eficiente quanto o outro de descompressão rápida, ou seja, esta última operação pode ser dispensada. Isto representa uma simplificação de operação e menor custo de implantação deste processo de recuperação desses tipos de resíduos.

A proposta de um tratamento hidrotérmico, combinando as vantagens e desvantagens deste outro tipo de tratamento, propõe-se a pré-tratar o material lignocelulósico, mantendo o material submerso em água quente, sem efetuar a etapa de descompressão rápida e simultaneamente mantendo o pH entre 5,0 e 7,0, para minimizar e evitar a degradação dos açúcares originados da hidrólise dos materiais existentes. Observação de tempos de residência versus a temperatura, que implica na pressão do sistema, levam em conta também a configuração do equipamento, pois pequenas variações a ordem de, por exemplo, 5%, implicam em acréscimo de 20 a 30% nos valores de pressão, e conseqüentemente nas características de construção e segurança dos reatores.

Sun et al. (2004) utilizam o tratamento de "*steam explosion*" em palha de trigo para aproveitamento de celulose, hemicelulose, lignina e outros materiais lignocelulósico. O tratamento é feito com temperatura em torno de 200 a 240°C para os tempos de 30 segundos a 20 minutos, promovendo a rápida explosão do material em açúcares e compostos fenólicos solúveis em água. A celulose e hemicelulose resultam em produtos de maior susceptibilidade para a hidrólise enzimática.

Negro et al. (2003) utilizaram o processo de "*steam explosion*" em *Pinus pinaster*, um material lignocelulósico, sendo um resíduo produzido na agricultura constituindo uma fonte de energia através da fermentação etanólica de hidrolisado produzido através do pré-tratamento e posterior fermentação.

Kaar et al. (1995) otimizaram o método "*steam explosion*" para condições de menor temperatura como 188°C no tempo de residência de 0,5 a 44 minutos em bagaço de cana de açúcar, vantagens observadas na economia obtendo eficiência e maior produção de pentose (através da hemicelulose) e glicose (da celulose).

Laser et al. (2002) fizeram comparações entre tratamento a água quente e pré-tratamento tipo "*steam explosion*" em bagaço de cana de açúcar para bioconversão etanólica. O tratamento a água quente com simultânea fermentação produz um rendimento de 80% não produzindo hidrolisados com inibidores de fermentação da glicose; já o pré-tratamento "*steam explosion*" inclui reatividade das fibras produzindo açúcares derivados da celulose e hemicelulose podendo superar a 90% de rendimento, porém o seu hidrolisado possui inibidores que influenciam na fermentação da glicose .

Através de lascas de *Pinus taeda* Woiciechowski et al.(1999), utilizam o método de "*steam explosion*", produzindo hidrolisado de hemicelulose que consiste principalmente em xilose, glicose, manose, arabinose, galactose e traços de outros açúcares que posteriormente é fermentado com o microorganismo *Rhizopus oryzae* obtendo como produto final o ácido lático. O método ofereceu uma rápida decomposição e consiste em um eficiente fracionamento de materiais lignocelulósicos aumentando a sua bioconversão.

2.11 Hidrólise

São diversos os caminhos para hidrólise da hemicelulose. Os métodos mais comuns são: hidrólise química e hidrólise enzimática. Outro método, por exemplo, a irradiação gama é estudado, porém não muito usado por não ser economicamente viável. (KAETSU et al., 1987)

Esses diferentes tipos de tecnologias são empregados para quebrar o polissacarídeo de materiais lignocelulósicos em celulose e hemicelulose fracionando-os em monômeros de açúcar. (KÁDÀR et. al., 2004)

A hidrólise química e enzimática em lignoceluloses são estudadas extensivamente por décadas. A oportunidade de se obter açúcar fermentado renovando fontes parece ser um caminho atrativo. A obtenção de açúcar da lignocelulose de produtos residuais de indústrias agrícolas, é conveniente porque contém uma grande quantidade de lignina. (CURRELI et al., 2002)

Alguns trabalhos publicados confirmam a toxicidade dos compostos fenólicos derivados da lignina. Palmqvist & Hahn-Hagerdal (2000) relataram que a remoção

de compostos fenólicos em substrato de hidrolisado hemicelulósicos, reduziu consideravelmente a inibição durante processo de fermentação. Larsson et al (1998) observaram ser o hidrolisado hemicelulósico de madeira consideravelmente mais inibidor do que um meio de fermentação contendo correspondentes concentrações de ácidos alifáticos, furfural e 5-hidroximetilfurfural.

Lohmeier-Vogel et al. (1998) observaram o efeito individual e combinado de furfural, 5-HMF e ácido acético durante a fermentação de xilose por *Pichia stipits e Pachysolen tannophilus*. Foi observado para *Pachysolen tannophilus* que quando o meio continha furfural (0,3 g/L), 5-HMF (0,9 g/L) e ácido acético (10,9 g/L), sendo estas concnetrações similares as encontradas no hidrolisado hemicelulósico de madeira, obteve-se da concentração inicial de xilose (20 g/L) apenas 3% convertida para etanol, 15% para xilitol e o restante para a formação de biomassa CO_2. Individualmente o comportamento foi diferente para cada microorganismo.

Segundo Larsson et al. (1999) o ácido fórmico, que é obtido da desintegração do furfural quando a hidrólise ocorre sob condições ácidas e temperaturas elevadas, possui maior potencial inibidor sobre a atividade fermentativa de *Saccharomyces cerevisiae* que os ácidos acético e levulínico. Relatam também que ácido fórmico em concentração de 0,48 mM causa redução de 15 a 22% no rendimento em etanol, quando comparado com outras fermentações contendo concentrações equimolares dos ácidos levulínico e acético no meio de fermentação.

2.11.1 – Hidrólise enzimática

O material lignocelulósico é uma fonte renovável de grande abundância no mundo, podendo ser a celulose hidrolisada por enzimas e posteriormente usado para produção de etanol.

Estudos sugerem o processo de fermentação como fonte de produção de carbono. O comércio do processo de hidrólise enzimática é próspero, porém de alto custo quando aplicada em larga escala, sendo necessário o pré-tratamento aumentando ainda mais o custo da produção (LIMING & XUELING, 2004).

Sriroth et. al. (2000) utilizaram as enzimas α-amilase (Termamyl 120) e pectinase (Pectinex Ultra SP-L) da Novo Nordisk em farelo de mandioca produzido na Tailândia.

A maioria dos processos de extração da fécula de mandioca são incompletos, pois não separam outras substâncias que estão presentes nas raízes, principalmente proteínas e matérias graxas. Estas impurezas irão afetar o processo de produção de hidrolisados e são um importante fator no custo final do produto.

A hidrólise completa de uma suspensão de amido, resulta em uma solução formada unicamente por moléculas de D-glucose, que se define como tendo Dextrose Equivalente (DE) igual a 100. Quando a hidrólise não é total, a solução obtida apresenta uma composição de carboidratos variável, que depende fortemente do tratamento a que foi submetida. Neste caso o DE é utilizado comumente como medida do grau de hidrólise da suspensão.

O processo enzimático é mais recente e foi incrementado devido à produção de enzimas α-amilases termoresistentes (*Bacileus licheniformis*) que podem liquefazer o amido eficazmente em temperatura elevada e deste modo produzir hidrolisados com pouco tempo de processo e valores de até 95 DE.

A utilização de enzimas amilolíticas e substituição de ácidos, permitiu que o processo de hidrólise pudesse ser controlado (CABELLO, 1995) e atender especificações de aplicação principalmente na indústria de alimentos.

O hidrolisado enzimático produzido por tratamento de celulose e hemicelulose tem também se expandido em substratos para produção de produtos químicos proveitosos (polifenóis, ácidos orgânicos) e solventes (acetona e butanol). (KANG et al., 2003)

Hidrólises enzimáticas são vantajosas porque as enzimas catalíticas são específicas para a reação, conseqüentemente, não produzem subprodutos proporcionando assim um rendimento de 100% do teórico, porém é necessário o pré-tratamento para que haja a reação e um bom rendimento. (BALLESTEROS et al., 2002)

2.11.2 – Hidrólise ácida

Estudos de hidrólise ácida são feitos em vários tipos de restos da biomassa, como a palha de trigo, o resíduo de padaria, serragem e resto de grãos. Estes resíduos contêm predominantemente amido, celulose, hemicelulose, ou combinações destes carboidratos. (CHOI et al., 1996)

A hidrólise ácida é um método simples e rápido. (LARSSON et al., 1999). O uso desse método em materiais celulósicos como o bagaço, oferecem enorme benefício na produção de etanol combustível após sua fermentação.

Cuzens & MILLER. (1997) utilizam a hidrólise ácida como processo econômico na conversão de celulose em etanol combustível. Observou em seu trabalho várias vantagens como a redução no gasto de energia em torno de 8%; facilidade em manusear e eficiência no uso; produz economia em reagentes; a propriedade do açúcar produzindo uma eficiente fermentação.

Ácidos concentrados como ácido sulfúrico e ácido clorídrico são usados para tratamento de materiais lignocelulósicos. Apesar dos ácidos serem agentes fortes para a hidrólise celulósica, ácidos concentrados são tóxicos, corrosivos e perigosos, requerem reatores que são resistentes a corrosão. O ácido concentrado pode ser recuperado depois da hidrólise sendo um processo economicamente possível. (SUN et al., 2002)

Recentemente o uso do processo com hidrólise ácida desenvolvem-se condições e alcançam altas conversões de rendimento de xilanas e xiloses, onde é necessário para alcançar um processo econômico favorável. (SUN et al., 2002)

Woiciechowski et al. (2002) estuda a hidrólise ácida e enzimática do farelo de mandioca relacionando a eficiência de recuperação de açúcar com o custo operacional. Para o cálculo do gasto de energia foram considerados os calores necessários para aquecer o material e o calor necessário para manter a temperatura do reator em cada etapa do processo. Os custos com produtos químicos foram considerados, e também o tempo de reação, que mostrou ser um ponto muito importante na definição da viabilidade do processo. As condições de trabalho foram o ácido clorídrico nas concentrações de 0,5; 1,0 e 1,5%; temperatura de 100, 120 e 130°C e tempo de reação de 5, 10 e 15 minutos. Sendo a melhor condição de temperatura 120°C, tempo de reação de 10 minutos e concentração ácida de 1%.

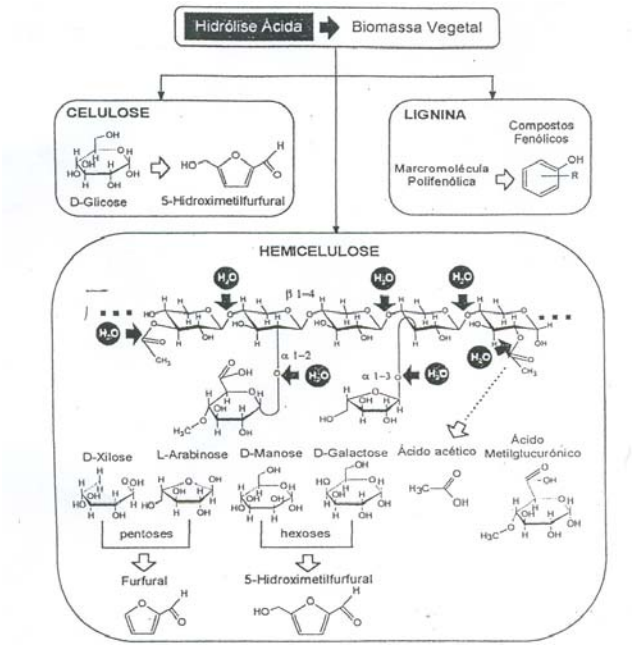
No tratamento ácido foram utilizados a enzima α-amilase da Termamil 120L e amiloglucosidade (AMG 200L, ambos fornecidos pela Novo Nordiski.

A conclusão foi de um rendimento de 94,5% no tratamento ácido e um rendimento de 97,3% para o tratamento com ação enzimática, porém em relação ao tempo, uma batelada da hidrólise ácida gasta 10 minutos, mais o tempo para aquecer e resfriar o reator, e uma batelada da hidrólise enzimática precisa de 25 horas e 20 minutos, mais o tempo para aquecer e resfriar o reator.

Um dos maiores problemas associados na hidrólise ácida da lignocelulose é a pobre fermentabilidade do hidrolisado. A lignocelulose hidrolisada e a concentração de açúcares no hidrolisado são produtos dependentes da hidrólise. Açúcares podem ser degradados em furfurais e hidroximetilfurfural formando pentoses e hexoses. O hidroximetilfurfural pode ser degradado formando ácidos orgânicos e acetatos não desejáveis no hidrolisado. (LARSSON, 1999). Esses inibidores no hidrolisado: ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural dificultam a fermentabilidade quando estão em concentração por volta de 10g/L. (TAHERZADEH, 1999)

A controlabilidade do processo de hidrólise, objetiva não só minimizar custos operacionais, mas principalmente reduzir as concentrações de compostos tóxicos nos hidrolisados hemicelulósicos ou até eliminá-los. Diferentes tratamentos vem sendo empregados para a melhoria da fermentabilidade destes hidrolisados hemicelulósicos. (NILVEBRANT et al., 2001; PALMQVIST et al., 2000)

A figura 8 apresenta um esquema de hidrólise de material lignocelulósico.



Fonte: Marton et al., 2003

Figura 8: Hidrólise ácida de biomassa lignocelulósica: liberação de açúcares e formação de compostos tóxicos.

2.12 Fermentação

Na produção industrial de álcool e aguardentes, o microorganismo mais usado é a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Nas grandes indústrias produtoras de etanol são usadas leveduras de panificação, prensadas e secas ou leveduras selecionadas, com tolerância a altos teores de etanol e com boa velocidade de fermentação. (BELLUCO,2001)

As leveduras são organismos eucariotos e suas estruturas correspondem basicamente àquelas de outras células eucarióticas. As células são esféricas, elípticas ou cilíndricas, variando grandemente em suas dimensões. A reprodução ocorre por gemação, esporulação ou fissão, sendo mais comum a gemação ou brotamento. (LIMA et al., 2001)

Segundo Ribeiro et al. (1987), as células de leveduras apresentam necessidades nutricionais durante o processo fermentativo, as quais influenciam diretamente na multiplicação e no crescimento celular e também na eficiência da transformação de açúcar

em álcool. As leveduras são capazes de assimilar, mono, di e trissacarídeos e como são aeróbio facultativas, os produtos finais da metabolização dos açúcares irão depender das condições ambientais em que ela se encontra. Uma fração do açúcar, é transformado em biomassa, CO_2 e H_2O em aerobiose, a maior parte é convertida em etanol e CO_2 em anaerobiose (fermentação alcoólica). Juntamente com o etanol e CO_2 , o metabolismo anaeróbio permite a formação e excreção de glicerol, ácidos orgânicos (succínico, acético, pirúvico e outros), álcoois superiores, aceltaldeídos, acetoína, etc e simultaneamente ocorre o crescimento das leveduras. Estima-se, que 5% do açúcar metabolizado pela levedura seja desviado para gerar tais produtos secundários da fermentação.

Na Tabela 2 outros produtos da fermentação alcoólica, foram metabolizadas em 100g de glicose, por vários autores e fontes distintas para diferentes eficiências fermentativas.

Tabela 2 – Proporção dos diversos produtos da fermentação alcoólica, em g/100g de glicose metabolizada, de acordo com várias fontes e para diferentes eficiências fermentativas.

Produto da fermentação	**Pasteur 95%**	**Jackman, 1987 90 –95%**	**Basso et al. 1996 85-92%**
Etanol	48,5	45,0-49,0	43,0-47,0
Gás carbônico	46,4	43,0-47,0	41,0-45,0
Glicerol	3,3	2,0-5,0	3,0-6,0
Ácido succínico	0,6	0,5-1,5	0,3-1,2
Ácido acético	-	0,0-1,4	0,1-0,7
Óleo fúsel	-	0,2-0,6	-
Butilenoglicol	-	0,2-0,6	-
Biomassa (massa seca)	1,2	0,7-1,7	1,0-2,0

Fonte: (Lima et al., 2001)

A fermentação alcóolica de açúcares fermentescíveis na presença de leveduras obedece à ordem seqüencial de reações metabólicas da via de Embden - Meyerhof - Parnas (LIMA et al., 2001).

O fenômeno como um todo pode ser representado pela equação de Gay - Lussac, que serve de base para cálculos de eficiência:

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2\,CO_2$$

O balanço de massa teórico, indica que 1 mol de glicose é convertida a 2 moles de etanol e 2 moles de gás carbônico, que em termos mássicos seria:

$$180g \rightarrow 92g + 88g$$

Com um rendimento teórico de 51,1% sobre a massa da glicose.

2.13 Álcool etílico

O consumo de energia aumenta a cada século juntamente com a população e a alta industrialização. O óleo é um dos recursos de maior demanda no mundo, porém, suas reservas estão em decline. Por causa disso a economia de muitos países dependentes do óleo combustível possui grande interesse em explorar energias alternativas. O etanol como alternativa de energia através da fermentação de açúcares vem sendo investigados. A produção de etanol de milho vem sendo usada desde 1980 misturada a 10% do volume de álcool e o restante com gasolina. Entretanto o custo na produção de etanol é relativamente alto comparando com o combustível fóssil. Um potencial de baixo custo para produção de etanol é utilizar materiais lignocelulósicos, no qual se incluem os resíduos de trigo e mandioca. (SUN et. al., 2002)

A produção de álcool etílico proveniente de materiais lignocelulósicos tem recebido maior atenção dos pesquisadores por dois motivos: primeiro pela abundância e segundo pelo seu imenso potencial para conversão em açúcar e posteriormente em combustível. (KRISHNA et al., 2000)

Desde a raspa da madeira até produtos agrícolas, os materiais lignocelulósicos são substratos atrativos para o processo de fermentação e produção de etanol. A estrutura da madeira é baseada principalmente por três componentes que são celulose, hemicelulose e lignina. O hidrolisado de hemicelulose é composto principalmente de xilose e

manose; e o hidrolisado da celulose tem como principal composto a glicose. (WOICIECHOWSKI et. al., 1999)

Durante décadas um grande empenho no processo de produção de etanol combustível tem sido feito para otimizar a utilização de materiais lignocelulósicos, os quais possibilita economicamente competir com a gasolina. Um dos processos alternativos é o uso da hidrólise com seqüente fermentação etanólica, isto é, a aplicação simultânea da sacarificação e fermentação para a conversão da lignocelulose em álcool, resultando para o mundo um processo de grande valor em relação ao custo/benefício. (RÉCZEY et al., 2004).

Ballesteros et al. (2003) observam em seu trabalho que por volta de 100 milhões de toneladas de resíduos de materiais lignocelulósicos do grupo das herbáceas são descartadas como resíduos anualmente na Europa. A criação de um uso para este material para produção de etanol é de grande interesse para a economia.

Agu et. al. (1997), investigam tratamentos combinados para minimizar economicamente a produção de álcool de resíduos de mandioca, material existente em alta demanda na Nigéria.

Na China o governo vê o etanol proveniente da mandioca como fonte de energia alternativa e também principalmente como fonte segura, renovável e não poluente. A mandioca é um produto de grande abundância. O país importa 25% de petróleo para a demanda interna e calcula-se que em 2015 serão necessário mais de 50%, por isso o governo promove o desenvolvimento da produção de etanol de mandioca como a fonte energética do país. (ZHANG et. al., 2003)

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Organização e planejamento experimental

A realização dos estudos foi através de ensaios agrupados por números seqüenciais que conforme produziam resultados, foram direcionando os ajustes a serem aplicados às variáveis independentes da etapa seguinte dos trabalhos. Assim foram agrupados e nomeados como primeiro prospectivo os ensaios de 1 a 20, de segundo prospectivo ensaios 21 a 36 e ajuste final aos ensaios 37 a 44.

Após a definição dos melhores parâmetros para a realização do processo de extração de carboidratos do farelo de mandioca, observados através dos resultados do último grupo de ensaios, qual seja, ajuste final, os valores foram aplicados a processos realizados num outro equipamento reator, aumentando a escala por um fator de 15 vezes. Foram realizados dois ensaios com a mesma matéria prima e com os hidrolisados obtidos foram realizados testes de fermentabilidade com leveduras alcoólicas para observar efeitos tóxicos e/ou inibidores originados por esta fonte de carbono.

3.1.1 Primeiro prospectivo

Foi realizado um experimento através de um modelo fatorial incompleto de 2^{5-1} com 3 replicatas no ponto central (20 ensaios) com o objetivo de avaliar as melhores condições de trabalho com o reator em relação as variáveis dependentes quais sejam: coeficiente de severidade; concentração de glicose; concentração de sacarídeos; concentração de 5-hidroximetilfurfural; concentração de furfural; concentração de compostos fenólicos, e rendimento do processo de extração. As variáveis independentes foram: temperatura; tempo de processo; concentração do catalisador; concentração da massa seca; brix; e, velocidade de agitação.

Os valores reais de cada nível das variáveis independentes estão especificados conforme mostra a Tabela 5. As condições experimentais com os valores codificados dos níveis utilizados em cada ensaio são mostradas na Tabela 6.

Os ensaios foram feitos em duplicata obtendo-se os resultados do primeiro prospectivo de acordo a Tabela 3 e 4.

Tabela 3. Valores reais das variáveis independentes e níveis de variação para produção de hidrolisado com planejamento fatorial 2^{5-1} .

Variáveis independentes	**Unidades**	**Código**	**Níveis**		
			-	**0**	**+**
Temperatura	°C	TEMPER	120	145	170
Tempo de processo	min.	t	10	20	30
Catalisador	%	Ácido	2	4	6
Concentração	p/p	MS	6	8	10
Agitação	rpm	Ag	30	65	100

Tabela 4. Matriz experimental do planejamento fatorial 2^{5-1}

Ensaio	TEMPER	t	Ácido	MS	Ag
01	-	-	-	-	+
02	+	-	-	-	-
03	-	+	-	-	-
04	+	+	-	-	+
05	-	-	+	-	-
06	+	-	+	-	+
07	-	+	+	-	-
08	+	+	+	-	-
09	-	-	-	+	-
10	+	-	-	+	+
11	-	+	-	+	+
12	+	+	-	+	-
13	-	-	+	+	+
14	+	-	+	+	-
15	-	+	+	+	-
16	+	+	+	+	+
17	-	-	-	-	-
18	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0

3.1.2 Segundo prospectivo

Baseado na análise do grupo do prospectivo foi realizado um segundo experimento através de um modelo fatorial completo de 2^4 (16 ensaios) com o objetivo de determinar as melhores condições operacionais a serem aplicadas ao reator. A variável independente concentração do substrato (MS) foi retirada e foi fixada uma concentração de massa seca de farelo em 9,5%. Os valores reais de cada nível das variáveis independentes estão especificados conforme a Tabela 5. Os valores codificados dos níveis utilizados em cada ensaio são mostrados na Tabela 6. Os ensaios foram realizados em duplicatas e os resultados estão mostrados na Tabela 7.

Tabela 5: . Valores reais das variáveis independentes e níveis de variação para produção de hidrolisado com planejamento fatorial 2^4 .

Variáveis independentes	Unidades	Código	Níveis -	+
Temperatura	°C	TEMPER	140	170
Tempo de processo	min.	t	25	35
Catalisador	%	Ácido	2,5	5,5
Agitação	rpm	Ag	25	50

Tabela 6: Matriz experimental do planejamento fatorial 2^4

Ensaio	TEMPER	t	Ácido	Ag
21	-	-	-	-
22	-	-	-	+
23	-	+	+	-
24	-	+	+	+
25	+	-	-	-
26	+	-	-	+
27	+	+	+	-
28	+	+	+	+
29	-	-	+	+
30	-	+	-	+
31	-	-	+	-
32	-	+	-	-
33	+	-	+	+
34	+	+	-	+
35	+	-	+	-
36	+	+	-	-

3.1.3 Ajuste final

Um último grupo de ensaios foi realizado num modelo fatorial completo de 2^3 (8 ensaios) utilizando outros valores nos níveis superior e inferior. A variável independente Agitação (Ag) foi retirada e foi fixada em 50 rpm. Os valores reais de cada nível das variáveis independentes estão especificadas na Tabela 7 e codificados na Tabela 8.

Tabela 7. Valores reais das variáveis independentes e níveis de variação para produção de hidrolisado com planejamento fatorial 2^3 .

Variáveis independentes	**Unidades**	**Código**	**Níveis**	
			-	**+**
Temperatura	°C	TEMPER	140	170
Tempo de processo	min.	t	25	35
Catalisador	%	Ácido	2,5	5,5

Tabela 8: Valores codificados dos níveis das variáveis de planejamento fatorial 2^3.

ENSAIO	**TEMPER**	**t**	**Ácido**
37	-	-	-
38	-	-	+
39	+	-	-
40	+	-	+
41	-	+	-
42	-	+	+
43	+	+	-
44	+	+	+

3.2 Análises estatísticas

Os dados em cada um dos grupos de ensaios foram realizados estatisticamente para a avaliação dos efeitos do tratamento aplicado no rendimento do processo. O método foi análise fatorial por superfície de resposta e planta de contorno produzidos pelo programa computacional denominado STATÍSTICA versão 5.0. Foram realizadas análise de variância ANOVA para verificar no nível de significância de 95% o ajuste do modelo de regressão em relação aos dados experimentais através do teste final. Foi utilizado o programa computacional denominado ORIGIN versão 7.0.

3.3 Reator

Os ensaios foram realizados num reator com capacidade de resistir a pressões de até 22 kgf /cm^2 e temperaturas de 220°C. Fabricado em aço inox 304 pela R A. B. RANAZZI e Cia. Ltda (Figuras 8 e 9), possui trocador de calor embutido na parede externa que é isolada com lã de vidro. Internamente possui acabamento do tipo espelhado com fundo arredondado com válvula esférica de escoamento central de ¾". É dotado de pás de agitação do tipo âncora acionada por motor elétrico de ½ CV com controle eletrônico de velocidade. A capacidade do vaso reator é de 6,9 litros e pode ser alimentado através da abertura total da tampa ou parcial por válvula esférica de ¾". O aquecimento é produzido por resistências elétricas fixadas externamente ao casco do reator encapsuladas por uma segunda cobertura de isolante térmico para minimizar perdas de calor e proteção operacional. A potência total é de 6000W comandadas por controlador eletrônico cuja sonda de temperatura tipo PT-100 está em contato com o material em agitação dentro do reator.

O reator possui uma tampa de inox acoplado a um selo mecânico de vedação com resfriamento por circulação de água, um manômetro e a válvula de alimentação.

Figura 8: Vista do reator no suporte

Figura 9: Reator aberto com agitador tipo âncora

3.4 Farelo de mandioca

3.4.1 Origem

O resíduo foi coletado na Fecularia Lótus Indústria e Comércio Ltda. ao final do processo de extração da fécula de um mesmo lote de matéria prima. Foi embalado em saco de PVC em porções de aproximadamente 2,0 kg e estocado em congelador a –20°C. A cada ensaio realizado, uma porção era descongelada por um período de 12 horas e a seguir utilizado.

3.4.2 Caracterização físico químico do farelo

O farelo foi caracterizado de acordo com a metodologia da AOAC, 1990 quanto ao teor de umidade, concentração de matéria graxa, proteínas, fibras totais, fibras detergente ácida (FDA), fibras detergente neutro (FDN) (VAN SOEST, 1991), teor de cinzas, pH e concentração de açúcares solúveis (SOMOGY, 1945)

3.4.3 Determinação da concentração de amido no farelo

Uma amostra do farelo foi primeiramente seco em temperatura de 55°C e posteriormente moído e peneirado em malha 0,25 mm. Foi tomada uma amostra de 300 mg é novamente seco em estufa a 105°C até peso constante e em seguida foi colocada em erlenmeyer de 250 mL.

Adicionou-se 42 mL de água destilada e 1 mL de solução comercial de α-amilase que foi previamente preparada com a diluição em água destilada deionizada com igual volume de solução de enzima α-amilase Termamyl 120L da Novo Nordisk, que possui 120 KNU (unidade enzimática estabelecida pelo fabricante). Após homogeinização o erlenmeyer foi colocado no banho maria com agitação suave e sob temperatura de 90°C durante 20 minutos.

Ao frasco foram adicionados 5 mL de solução de enzima amiloglucosidase que foi previamente preparada com a diluição de 10 mg em 1 mL de água destilada e deionizada com 5 mL de solução de enzima AMG 400 da Novo Nordisk. Cada mL

desta solução possui 400 AGU (unidade ezimática estabelecida pelo fabricante) e colocados em banho maria sob agitação por mais 55 minutos.

A amostra foi retirada, resfriada em temperatura ambiente e transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 250 mL sendo completado com água destilada.

Transferiu-se uma alíquota de 5 mL da solução diluída para um balão volumétrico de 100 mL adicionando aproximadamente 50 mL de água e neutralizando com solução de hidróxido de sódio 2N até pH 7 e posteriormente completando seu volume com água destilada. A seguir filtrou-se com papel de filtro quantitativo, recebendo o filtrado em um bécker de 100 mL.

Do material filtrado foi feita a dosagem de açúcar redutor (AR) conforme método de Somogy e Nelson.

$$\%\,amido\left(base\,úmida\right) = \frac{\%\,AR - \%\,de\,solúveis\,totais}{peso\,da\,amostra}$$

3.5 Ensaios no reator piloto de hidrólise

O reator foi carregado com uma massa de farelo descongelado de 2,0 kg a cada ensaio e adicionado o catalisador ácido na quantidade indicada para o ensaio conforme indicação especificada no planejamento experimental. Após o fechamento, foi ajustado a velocidade de agitação no sistema de controle e acionados as chaves de controle do aquecimento. Após atingir a temperatura ajustada, mantinha-se o tempo de hidrólise selecionado, e após o término deste período, o sistema de aquecimento foi desligado para iniciar o resfriamento. Quando a temperatura atingiu 100°C, abriu-se o sistema de resfriamento do reator e aos 50°C, iniciou-se o seu esvaziamento.

A amostra foi retirada do reator à temperatura de 50°C e o hidrolisado foi separado das fibras por filtração em tela de inox de 1 mm. O bolo filtrado foi novamente filtrado em funil de Büchner à vácuo e o material levado para secagem em estufa a 50°C e posteriormente estocado em ambiente seco. O hidrolisado filtrado foi estocado em geladeira a + 5°C.

3.6 Determinações físico-químicas nos produtos hidrolisados

3.6.1 Determinação de açúcares

As concentrações dos açúcares glicose, xilose e manose presentes nos hidrolisados obtidos após cada ensaio no reator, foram determinadas em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HP série 1100), empregando-se as seguintes condições: guarda coluna cromatográfica BIO RAD n° 125-0131; coluna BIO RAD AMINEX HPX-87P (300 x 7,8 mm); temperatura da coluna 80°C; detector de índice de refração (IR); eluente água destilada ionizada em coluna de troca iônica, filtrada em filtro de polietileno 0,45μm de poro e em seguida desgaseificada em banho de ultra-som; fluxo do eluente de 0,6mL/min.; volume da amostra injetada 20μL. As amostras foram filtradas em filtro de membrana (DURAPORE) em PVDF, 0,22μm de poro. A determinação da concentração dos açúcares foram calculadas em relação às análises de soluções padrões destes açúcares previamente realizadas.

3.6.2 Determinação da concentração de furfural e hidroximetilfurfural

As concentrações de furfural e hidroximetilfurfural solúveis em água foram determinadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência (HP série 1100), empregando-se as seguintes condições: guarda coluna da BIO RAD n° 125-0131; coluna cromatográfica BIO RAD AMINEX HPX-87H (300 x 7,8 mm); temperatura da coluna 65°C; detector de índice de refração (IR); solução de, eluente ácido sulfúrico à 0,006M filtrada em filtro de polietileno 0,45μm de poro em seguida desgaseificada em banho de ultra-som; fluxo do eluente de 0,8mL/min.; volume da amostra injetada 20μL. As amostras foram filtradas em filtro de membrana (DURAPORE) em PVDF, 0,22μm de poro.

3.6.3 Determinação do pH

O pH das amostras foram determinado em pH-metro Chemcadet modelo 5948-50, que também executa leituras de temperatura através de uma sonda apropriada (tipo Pt100) da Cole Parmer.

3.6.4 Cálculo do coeficiente de severidade

O coeficiente de severidade foi calculado segundo a Equação (I) considerando o tempo de residência, o pH e a temperatura durante a hidrólise segundo método utilizado por (LARSSON et al 1999).

Equação I

$$CS = \log Ro - pH$$

$$Ro = t.\exp\left[\frac{Tr - Tb}{14,75}\right]$$

Onde: CS = coeficiente de severidade

t = tempo de residência (min.)

Tr = temperatura de reação (°C)

Tb = temperatura de referência (100°C)

pH = é calculado após a reação com ácido sulfúrico

3.6.5 Determinação dos sólidos solúveis (BRIX)

As concentrações de sólidos insolúveis nas amostras de hidrolisados foram determinadas em refratômetro ATAGO, modelo N-1E. com faixa de leitura de 0-32% Brix.

3.6.6 Determinação da concentração de carbono orgânico total

Nas amostras diluídas obtidas nos diversos ensaios de hidrólise foram realizadas determinações da concentração de carbono orgânico total utilizando um espectrofotômetro gasoso de absorção no infravermelho marca Shimadzu modelo TOC 5000 A. Cada amostra foi previamente filtrada em membrana 0,22 μm para remoção de particulado insolúvel e foi tomado o valor médio de 03 (três) injeções de amostras consecutivas para determinar a concentração em ppm de carbono. Amostra padrão de biftalato de potássio

($C_6H_5O_4K$) equivalente a 1000 ppm de carbono foi injetada para efetuar ajustes na curva de calibração.

3.6.7 Determinação da fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido

Foram pesados 0,35 gramas de amostra do farelo especificado no item 3.4.1 e colocados em tubos de ensaio. Aos tubos de ensaio foram adicionados 35 mL de solução de detergente neutro (solução preparada com 30g de sulfato láurico sódio, 18,61 g de EDTA, 6,81 g de borato sódio hidratado e 4,56 g de fosfato ácido de sódio anidro para análise de FDN) ou solução de detergente ácido (20 g brometo de cetil trimetilamônio diluído em 1 litro de ácido sulfúrico a 1 N para análise de FDA). Os tubos foram colocados em banho maria a 100°C por 60 minutos, em seguida os conteúdos foram filtrados em cadinhos de vidro número 2 e lavados com água quente diversas vezes. Após lavagem final com acetona, os cadinhos contendo as fibras foram secos em estufa a 105°C por 8 horas, resfriados em dessecador e pesados. Após esta pesagem, os cadinhos contendo as fibras foram incinerados em mufla a 550°C por 4 horas, esfriados em dessecador e pesados. O resultado foi calculado conforme a Equação (II).

$$\%FDN\ ou\ \%FDA = \frac{100 \times (cadinho + fibra) - (cadinho + cinzas)}{peso\ \ da\ amostra} \qquad \text{(Equação II)}$$

3.6.8 Determinação de lignina via permanganato de potássio

Utilizando a amostra previamente usada na determinação de FDA, a amostra foi colocada em placa de petri contendo água destilada (2 cm de altura) e foi adicionada uma solução C (mistura de 50 g de permanganato de potássio diluído em 1 litro de água destilada) adicionando em seguida a solução tampão previamente preparado com 6 g de nitrato férrico hidratado; 15 g de nitrato de prata dissolvido em 100 mL de água destilada adicionado de 500 mL de ácido acético glacial; 5 g de acetato de potássio e 400mL de álcool

butílico terciário) sendo agitado por 15 minutos. O material é posteriormente filtrado e colocado a solução C (30 mL) por mais 90 minutos e filtrado novamente.

A seguir foi colocada a solução desmineralizante previamente preparada com 50g de ácido oxálico em 700 mL de etanol adicionado de 50mL de HCl 12N e 250mL de água destilada. Os cadinhos foram duas vezes lavados com etanol 80% e filtrados á vácuo e de maneira similar com acetona (30 a 40 mL). O material foi colocado para secagem à 100°C por uma noite esfriado em dessecador e pesado. O resultado foi calculado conforme Equação III.

$$lignina = \frac{(peso\,do\,cadinho + celulose + sílica) - (peso\,do\,cadinho + cinzas + sílica)}{peso\,da\,amostra} \times 100$$

(Equação III)

3.6.9 Determinação de celulose

As mesmas amostras utilizadas na análise de lignina foram incineradas por 2 horas a 500°C, esfriadas em dessecador e pesadas. O resultado foi calculado conforme Equação IV.

$$celulose = \frac{(peso\,do\,cadinho + celulose + sílica) - (peso\,do\,cadinho + cinzas + sílica)}{peso\,da\,amostra}$$

(Equação IV)

3.6.10 Determinação de hemicelulose

Segundo o método de determinação de FDN e FDA via permanganato de potássio de Van Soest e Wine (1968), a diferença entre a determinação das fibras FDN e

FDA resultam na quantidade de hemiceculose existente no material. A equação V é definida pela diferença.

$$\% \, hemicelulose = FDN - FDA \qquad \text{(Equação V)}$$

3.6.11 Determinação de compostos fenólicos

A quantidade de compostos fenólicos nas amostras de hidrolisado foi analisada pelo método Folin-Denis (AOAC, 1990). Para determinação da curva padrão foram medidos 100 mg de ácido tânicos e adicionado em um balão de 1000 mL, completando com água destilada. Foram pipetadas alíquotas de 0 a 1,0 mL, com diferenças de 0,1 mL, em tubos de ensaio contendo 7,5 mL de água destilada. Em cada tubo foram adicionados 0,5 mL de reagente de Folin-Denis preparado segundo a AOAC, 1990; 1,0 mL de solução saturada de carbonato de sódio e completado o volume para 10,0 mL com água destilada. Os tubos foram agitados por 30 minutos e a seguir determinados a absorbância em espectrofotômetro a 760 nm. Com estes valores foi possível construir uma curva padrão para quantificar as amostras analisadas.

As amostras de 0,1 mL de hidrolisados foram colocados em um tubo de ensaio, acrescentado de 8,4 mL de água destilada, 0,5 mL de reagente de Folin-Denis e 1,0 mL de solução saturada de carbonato de sódio. A seguir os tubos foram agitados por 30 minutos e determinada a absorbância em um comprimento de onda de 760 nm.

3.6.12 Análises microscópicas

As análises microscópicas das amostras dos resíduos remanescentes do processo hidrotérmico, foram realizados num microscópio óptico de marca Carl Zeiss,

modelo Axioskop 2 Plus de objetiva Ph1 Plan-Neofluar 10x / 0,30 ∞/ 0,17. O preparo das amostras foi pela deposição de um pequeno volume da amostra em uma lâmina de vidro, adicionado de 1 gota de água e recobrimento por uma lamínula de vidro de modo que a espessura fosse o mais reduzida possível.

3.6.13 Rendimento do processo de hidrólise

O rendimento do processo de hidrólise é definido como a porcentagem de amido que foi removido do farelo e transformado em glicose. Considerando a utilização de um fator de conversão de 90%, assumiu-se que " 100,0 g de amido produzem 100,0 g de glicose". A equação VI ficou definida como:

$$\mathrm{Re}nd(\%) = \frac{conc.\ gli\cos e\ no\ hidrolisado}{conc.\ amido\ no\ farelo} \times 100 \qquad \text{(Equação VI)}$$

3.7 Equipamentos e metodologia para realização do teste de parâmetros

3.7.1 Processo de hidrólise do farelo

A hidrólise foi realizada na planta piloto do Laboratório de Processos do CERAT/UNESP em um reator de aço inoxidável com capacidade total para 150 litros, equipado com sistema de agitação, controle de temperatura e aquecimento realizado pela jaqueta a vapor com pressão de 6 kg/cm^2 (Figura 10). O sistema de produção de vapor consistia de uma caldeira aquecida à gás e capacidade de 150 kg/vapor de água a 10 kg/cm^2. Foram utilizadas cargas de 30 kg de farelo e deste modo a escalabilidade foi de um fator positivo de 15 vezes em relação aos ensaios para definição dos parâmetros aplicáveis ao processo.

Foram efetuados dois ensaios utilizando farelo de diferentes origens e portanto com características diversas. Um deles foi exatamente o que utilizado na realização dos ensaios e descrito no item 3.5 e foi denominada Farelo 1. O outro foi coletado junto à Fecularia Haloteck-Fadel situada no município de Assis/SP em que foi determinado o teor de umidade e concentração de amido total segundo metodologia descrita no item 3.4.3, sendo denominada Farelo 2.

A hidrólise foi realizada utilizando os parâmetros definidos na Tabela 7 do tópico Resultados e Discussão.

Figura 10 – Reator de hidrólise com capacidade de 150 litros, dotado de sistema de agitação e camisa de aquecimento com vapor.

3.7.2 Tratamento do hidrolisado para processo fermentativo

O hidrolisado obtido foi submetido a um tratamento para torná-lo aproveitável em processo fermentativo utilizando levedura *Saccharoyices cerevisiae* para produção de etanol.

Após o tratamento de hidrólise, ao reator foi adicionado suspensão de óxido de cálcio (CaO_2) a 50% sob agitação contínua, até que o pH atingisse entre 7,0 e 7,3 unidades e permanecendo em reação pelo tempo de 1 hora. Em seguida o liquor foi filtrado em tecido de polipropileno com vazamento de 1 μm num filtro tipo prensa e teve seu volume medido. O bolo filtrado foi recolhido para avaliação de umidade e peso úmido total.

O líquor já filtrado e livre de particulados lignocelulósicos recebeu solução de ácido fosfórico P.A (H_3PO_4) concentrado até pH 5,5 e manteve em reação pelo tempo de 1 hora sob agitação contínua. Em seguida o líquor foi filtrado em filtro do tipo cartucho de fibra sintética com vazamento de 1 μm para remoção de sedimentados.

Amostras de 150 mL do líquor foram colocadas em 5 frascos erlenmeyer com capacidade de 250 mL e adicionada em cada frasco 3,0 gramas de extrato de levedura e 7,5 gramas de levedura prensada úmida. Após homogenização do conteúdo, os frascos foram colocados em câmara de agitação a 150 rpm e temperatura controlada de 30ºC por um período de 12 horas.

O término do processo foi determinado pelo consumo dos açúcares redutores até o limite de 0,5%, após o que o conteúdo de cada frasco foi centrifugado e o sobrenadante seguiu para análises descritas nos itens 3.6.1.

3.7.3 Ensaio de fermentação alcoólica

O hidrolisado preparado conforme item 3.5, foi utilizado como substrato no processo de fermentação alcoólica cuja formulação foi: 90 mL do hidrolisado, 10g de levedura úmida e 2g de extrato de levedura. O material homogenizado foi colocado em banho maria com agitação média e temperatura de 28°C. Após 12 horas o material foi filtrado e o vinho fermentado foi reservado para verificação da concentração de álcool etílico.

3.7.4 Determinação de álcool etílico e ácidos orgânicos

As concentrações de álcool etílico e ácidos orgânicos foram determinadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência (HP série 1100), empregando-se as seguintes condições: guarda coluna da BIO RAD n° 125-0131; coluna BIO RAD AMINEX HPX-87H (300 x 7,8 mm); temperatura da coluna 65°C; detector de índice de refração (IR); solução de ácido sulfúrico à 0,006M, eluente água destilada e filtrada em coluna de troca iônica e filtrada em filtro de polietileno 0,45µm de poro em seguida desgaseificada devidamente em banho de ultra-som; fluxo de 0,8mL/min.; volume da amostra injetada 20µL. As amostras após devidamente filtradas em filtro de membrana (DURAPORE) em PVDF, 0,22µm de poro, 13mm de diâmetro, hidrofílica, branca e lisa.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Numa primeira etapa dos trabalhos foram realizados ensaios para conhecer o comportamento do material lignocelulósico no reator piloto construído para as pesquisas. Uma primeira atividade foi com relação à umidade adequada do material que seria ensaiado, considerando as características de transferência de calor das paredes do reator para o material numa determinada de agitação. O escoamento do material no reator foi verificado no valor máximo de matéria seca a 10% em peso. Aguilar et al. (2002) ao realizar em estudos cinéticos para hidrólise ácida de bagaço de cana de açúcar, utilizaram a relação de 1g de bagaço seco em peso total de 10g de líquor. Mussato & ROBERTO (2001) também utiliza esta relação 1:10 (peso/volume) na hidrólise ácida de casca de arroz. Em ambos os reatores apresentavam características semelhantes ao utilizado nestes ensaios e foi apoiado nestes valores que foram realizados os ensaios.

Considerando que o processo produzirá líquors contendo uma mistura de oligômeros de açúcares monossacarídeos (principalmente glicose), produtos de decomposição do açúcar (tais como furfural ou 5-hidrómetilfurfural) e ácido acético (do grupo acetil) houve necessidade de ajustar a sua controlabilidade devido as condições operacionais severas. As reações de condensação entre furfural, ligninas e/ou reações intermediárias podem

ocorrer sendo elas minimizadas pelo abrandamento no nível da temperatura, tempo e concentração do catalisador ácido.

4.1 Tratamento do material lignocelulósico

A matéria prima, farelo de mandioca, foi analisada seguindo metodologia indicada no item 3.6 do Material e Métodos e os resultados estão expostos na Tabela 4.

4.1.1 Características físicas e químicas do material

A matéria prima farelo apresenta características normais, análises realizadas forneceram os resultados especificados na Tabela 9.

Tabela 9: Resultados das análises centesimais do farelo de mandioca.

Análise	Resultado
Umidade (%)	85,15
Matéria seca (%)	14,85
Proteína	1,37
Amido (%)	63,0
Mat. graxa	0,30
Açúcares solúveis	6,88
Cinzas	2,54
Fibras totais	16,64
FDA	33,73
FDN	38,26
PH	5,7

4.1.2 Resultados dos ensaios do primeiro prospectivo

Após a realização dos ensaios no reator conforme especificado no item 3.3 de Materiais e Métodos, as análises permitiram a confecção da Tabela 10 onde a coluna REND. refere-se à conversão do amido existente no farelo em glicose.

Tabela 10. Valores médios das variáveis dependentes observados nos ensaios realizados em duplicata

Ensaio N	GLIC. (%)	XIL. (%)	MAN. (%)	FUR (%)	HMF (%)	FENOL (mg/mL)	CS	pH	BRIX (%)	REND (%)
01	0,01	-	-	-	-	-	0.49	1.40	7.0	0,2
02	1,12	-	0,36	-	0,02	0,10	5.68	1.57	8.0	26,4
03	0,01	-	-	-	-	-	1.05	1.38	5.2	0,2
04	3,85	-	0.44	-	0,1	0,28	6.87	1.27	6.8	90,9
05	0,2	-	0,2	-	-	-	1.57	0.59	5.8	4,7
06	5,63	-	0,46	-	0,15	0,17	6.76	0.58	7.0	132,9
07	0,6	-	0,2	-	-	-	2.15	0.58	6.0	14,2
08	3,87	-	0,23	0,04	0,86	0,21	7.95	0.65	6.5	91,4
09	0,01	-	-	-	-	-	0.64	1.09	8.0	0,2
10	4,38	-	-	0,08	0,01	0,23	5.83	1.17	10.5	62,0
11	0,01	-	-	-	-	-	1.2	1.18	9.2	0,2
12	5,92	-	-	0,01	0,16	0,29	7.03	1.23	10.8	83,8
13	1,77	-	-	-	-	-	1.59	0.42	9.5	25,1
14	9,4	-	-	0,03	0,38	0,30	6.78	0.43	12.0	133,1
15	2,89	-	-	-	-	0,03	2.16	0.37	9.8	40,9
16	4,8	-	-	0,01	0,18	0,47	7.97	0.20	10.5	67,9
17	0,01	-	-	-	0,03	-	0.49	0.90	4.0	0,2
18	5,24	-	-	-	-	0,05	4.35	0.31	8.0	92,7
19	5,34	-	-	-	-	0,05	4.35	0.32	8.0	94,6
20	6,0	-	-	-	-	0,06	4.35	0.29	8.0	106,2

Onde: N: número da amostra; GLIC.: % de glicose; XIL.: % de xilose; MAN.: % de manose; FUR.: % de furfural; HMF: % de 5-hidróximetilfurfural; FENOL: mg/mL de fenol; CS: coeficiente de severidade; pH; BRIX: % de sólidos solúveis; REND.: % de rendimento em relação a concentração de amido.

Para efeito de análise dos dados da Tabela 10, foram consideradas duas a duas as variáveis independentes e tendo para o rendimento como variável dependente, pois deste modo pode-se localizar a região com os melhores resultados para o processo.

4.1.2.1 Rendimento do processo em função da massa de resíduo e o coeficiente de severidade

Analisando os gráficos das figuras 11 e 12 observa-se que um maior nível de severidade do processo causa uma diminuição no rendimento da recuperação do amido na forma de glicose pois as condições de hidrólise provocam a degradação destes monossacarídeos a furfural e 5-hidróximetilfurfural conforme observado por Söderström et al.(2003).

O coeficiente de severidade é calculado segundo a equação exposta no item 3.6.4 do material e métodos. Os melhores valores de rendimento são aqueles situados em torno de 100%, sendo que as ocorrências de valores acima disto caracteriza aproximação estatística que fisicamente não tem significado.

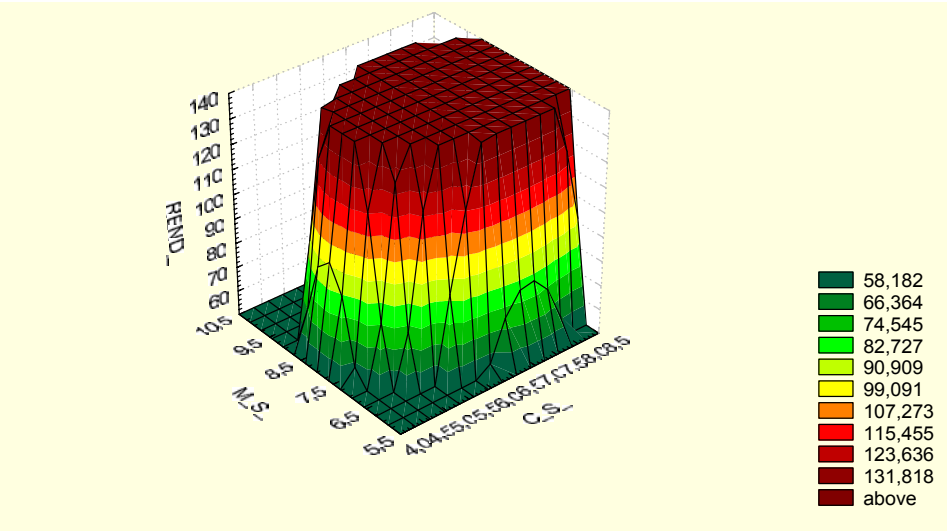


Figura 11: Gráfico da superfície de resposta para rendimento do processo em função da concentração do material lignocelulósico e coeficiente de severidade.

O gráfico da Figura 11 permite observar que a escolha de substrato com a massa seca em torno de 7,5 a 9% produziria bons rendimentos para os valores mais brandos do coeficiente de severidade.

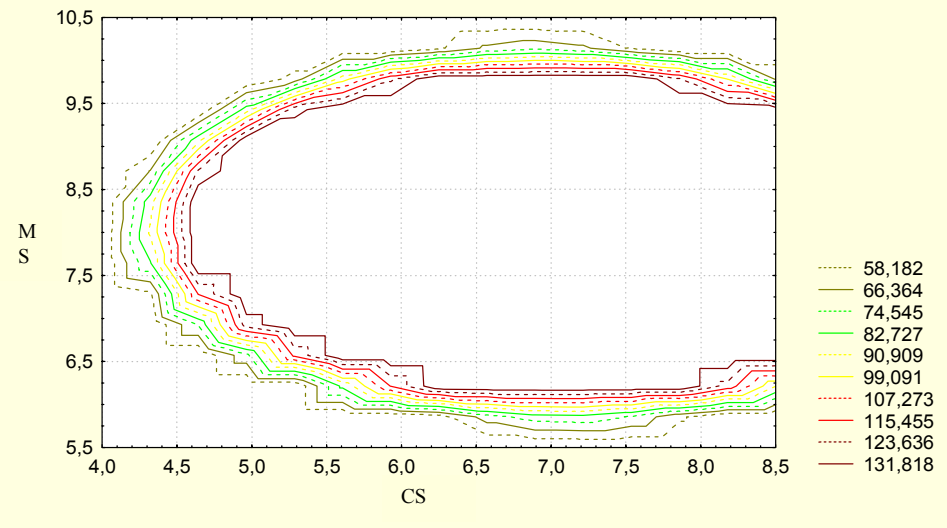


Figura 12: Gráfico da planta de contorno para rendimento do processo em função da concentração de material lignocelulósico e coeficiente de severidade.

A Tabela 11 fornece os valores da análise de variância (ANOVA) em função da concentração de farelo de mandioca em diferente coeficiente de severidade, onde pelo teste $F_{estatístico}$ = 3,4. $F_{tabelado}$, mostrando a validade do ajuste do modelo, qual seja as médias dos valores observados que são dependentes do tratamento aplicado.

Tabela 11: ANOVA em função da concentração do farelo de mandioca em relação ao coeficiente de severidade.

FONTE	**Grau Liberdade**	**Soma Quadrados**	**Média Quadrados**	**F estatístico**	**Variância R^2**
Regressão	2	28534,69493	14267,34746	17,34693	0,67114
Resíduo	17	13982,00849	822,47109		
Soma	19	42516,70342			
Valor $F_{tabelado}$ para nível significância de 95% F(2,6) = 5,14					

Segundo Neto et al. (1995) , quanto maior o valor de $F_{estatístico}$ quando comparado com o $F_{tabelado}$, melhor será o modelo, ou seja, melhor será o ajuste do modelo aos dados experimentais. Quanto à porcentagem de variância explicada (R^2), observam que quanto maior o valor aproximando-se de 1, melhor os valores observados serão explicados pelo modelo.

4.1.2.2 Rendimento do processo em função da agitação no reator e o coeficiente de severidade.

Analisando os gráficos das Figuras 13 e 14, o comportamento do rendimento do processo também apresenta dependência em relação às variáveis agitação e severidade do tratamento. A agitação promove uma rápida transferência de calor das paredes do reator que recebem o aquecimento para o meio reacional. A efetividade desta operação encontra limitações de pequeno porte ou seja, quando o coeficiente de severidade for superior a 6,0 a grandeza da agitação pode ocorrer numa faixa de 40 a 90 rpm que os resultados serão semelhantes. Isto porque o nível de temperatura elevado e/ou concentração do catalisador favorecem a ação da hidrólise, apoiado também no fato de ocorrer baixos valores de rendimento quando este coeficiente de severidade está abaixo de 4,0.

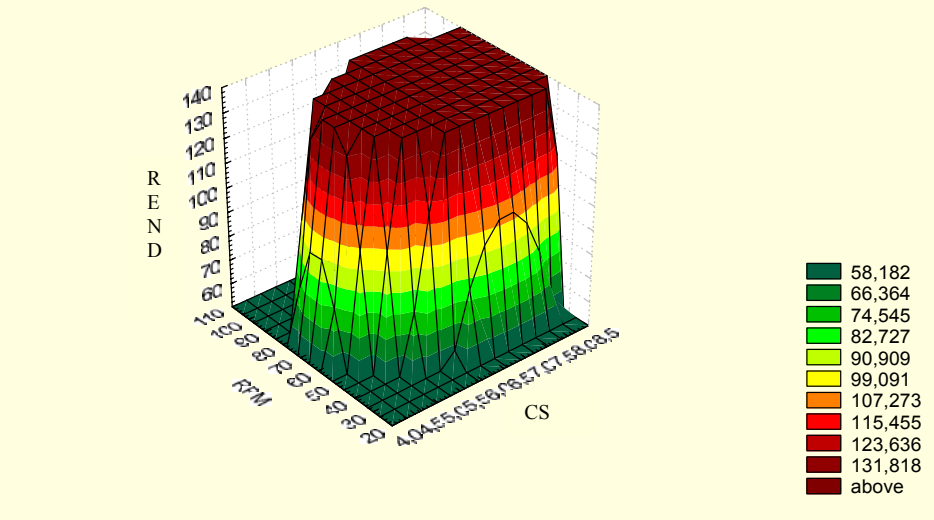


Figura 13: Gráfico da superfície de resposta para rendimento do processo em função da agitação e coeficiente de severidade.

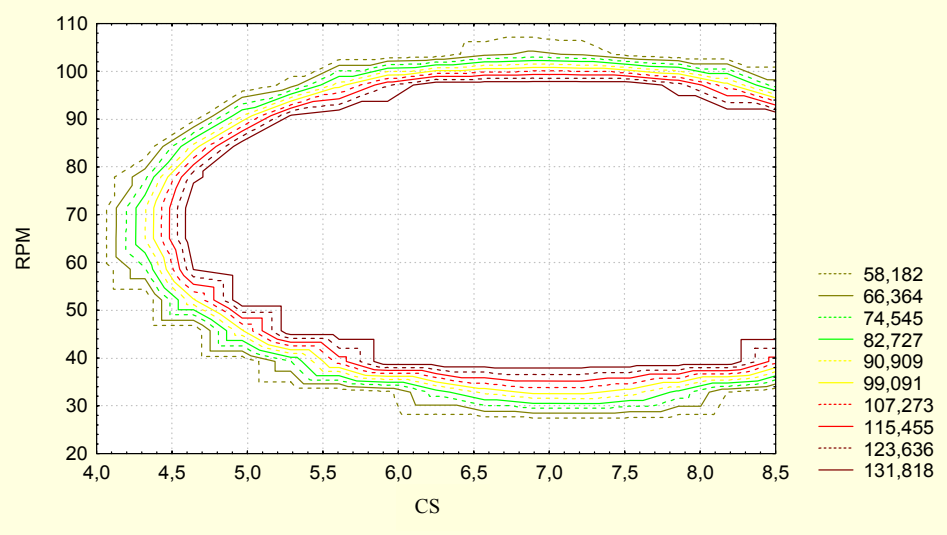


Figura 14: Gráfico da planta de contorna para o rendimento do processo em função da agitação no reator e o coeficiente de severidade.

Conforme Weil et. al. (1997) através de seu trabalho com fibra de milho à temperatura entre 220 a 260°C, utilizando para a reação 50 a 60 minutos e uma agitação de 115 rpm, conseguiram um rendimento de 33 a 84 % de conversão da celulose para glicose.

A Tabela 12 fornece os valores da análise de variância (ANOVA) para agitação no reator em relação ao coeficiente de severidade, onde pelo teste $F_{estatístico} = 3,8$. $F_{tabelado}$, mostrando a validade do ajuste do modelo.

Tabela 12: ANOVA para agitação no reator em relação ao coeficiente de severidade.

FONTE	**Grau Liberdade**	**Soma Quadrados**	**Média Quadrados**	**F estatístico**	**Variância R^2**
Regressão	2	28522,98375	14261,49188	17,3253	0,67087
Resíduo	17	13993,71967	823,15998		
Soma	19	42516,70342			
Valor $F_{tabelado}$ para nível significância de 95% F(2,6) = 5,14					

4.1.2.3 Rendimento do processo em função da concentração do catalisador e o coeficiente de severidade.

Semelhantemente ao comportamento verificado para ação da agitação, no gráfico das figuras 15 e 16, a concentração do catalisador produz baixos rendimentos na hidrólise do amido fixado no material lignocelulósico quando o coeficiente de severidade caminha para os valores abaixo de 4,0.

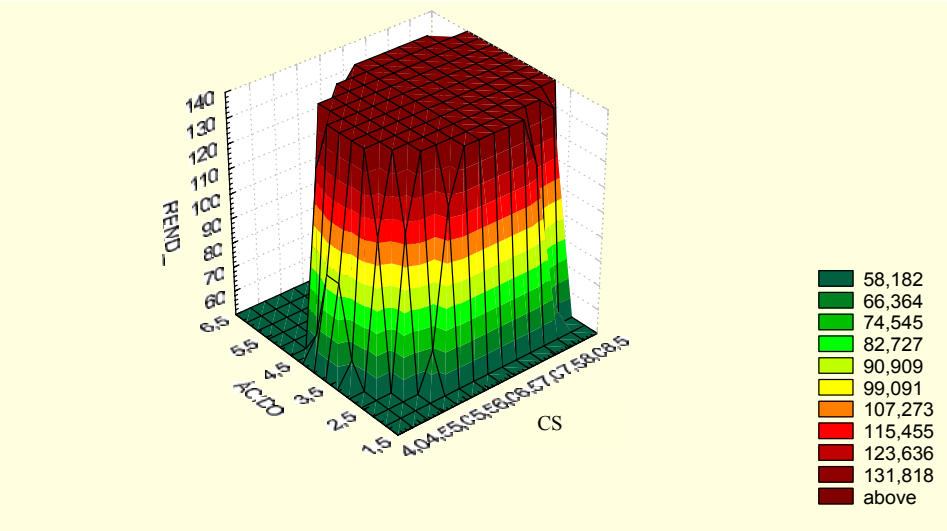


Figura 15: Gráfico da superfície de resposta para o rendimento do processo em função da concentração do catalisador e o coeficiente de severidade.

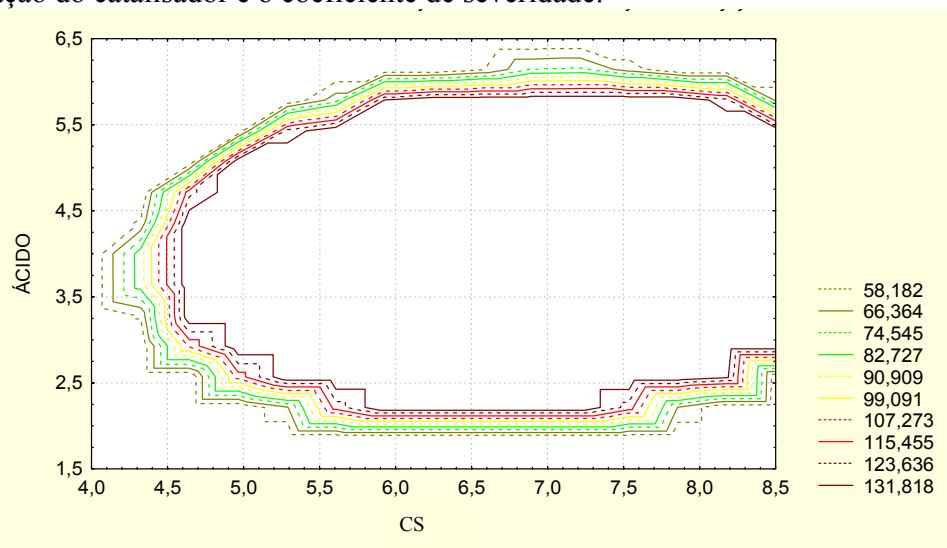


Figura 16: Gráfico da planta de contorno para o rendimento do processo em função da concentração do catalisador e o coeficiente de severidade.

Segundo Söderström (2003) durante o pré-tratamento as pentoses e as hexoses formadas pela hidrólise da celulose e hemicelulose podem favorecer a formação de: furfural, 5-hidróximetilfurfural (HMF), ácido levúrico e ácido fórmico como outras substâncias, sendo os três principais grupos de compostos inibidores formado no pré-tratamento são: ácidos alifáticos, derivados de furanos e fenólicos. Quanto maior for a condição de severidade durante o pré-tratamento maior a degradação dos açúcares.

A Tabela 13 fornece os valores da análise de variância (ANOVA) para a concentração ácida em relação ao coeficiente de severidade, onde pelo teste $F_{estatístico}$ = 3,8 . $F_{tabelado}$, mostrando a validade do ajuste do modelo.

Tabela 13: ANOVA para a concentração ácida em relação ao coeficiente de severidade.

FONTE	**Grau Liberdade**	**Soma Quadrados**	**Média Quadrados**	**F estatístico**	**Variância R^2**
Regressão	2	29544,13306	14772,06653	19,35816	0,69488
Resíduo	17	12972,57036	763,09237		
Soma	19	42516,70342			
Valor $F_{tabelado}$ para nível significância de 95% F(2,6) = 5,14					

4.1.2.4 Rendimento do processo em função da temperatura e o coeficiente de severidade.

O comportamento verificado para a temperatura, no gráfico das Figuras 17 e 18, são de baixos rendimentos na hidrólise do amido fixado no material lignocelulósico quando o coeficiente de severidade caminha para os valores abaixo de 4,0. Isto se explica pelo fato da pouca efetividade da ação do catalisador em relação à temperatura.

Observando a equação I do item 3.6.4 do material e métodos verifica-se a dependência do coeficiente de severidade em relação à temperatura e tempo reacional onde pequenas variações se traduzem em grandes efeitos.

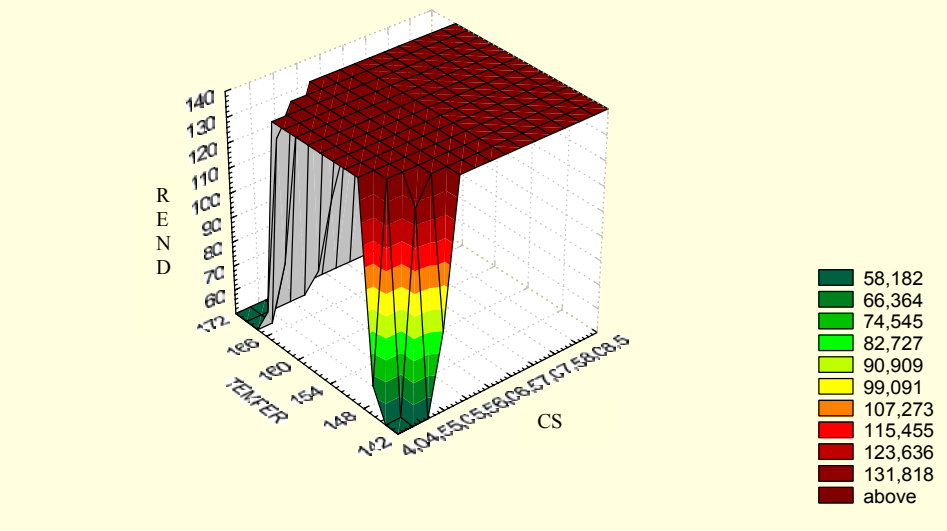


Figura 17: Gráfico da superfície de resposta para o rendimento do processo em função da temperatura e o coeficiente de severidade.

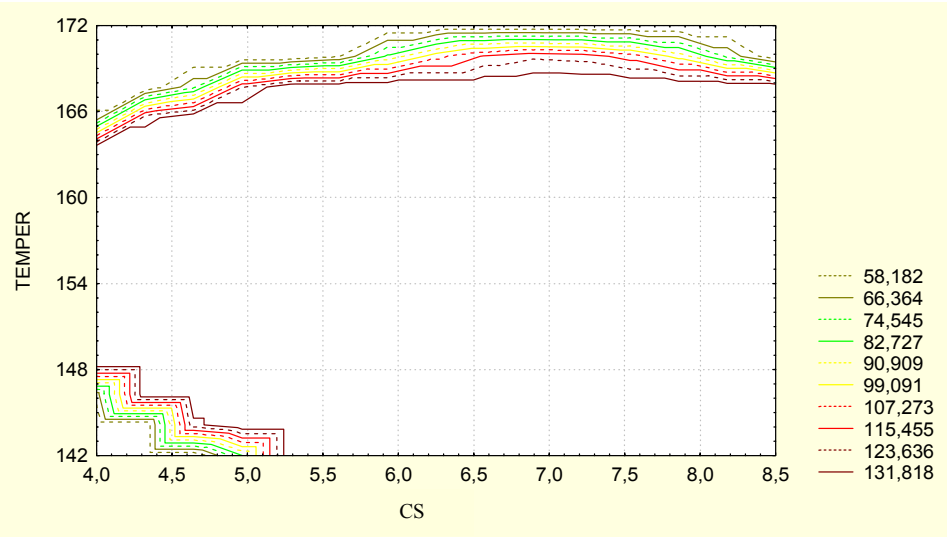


Figura 18. Gráfico da planta de contorno para o rendimento do processo em função da temperatura e o coeficiente de severidade.

A Tabela 14 fornece os valores da análise de variância (ANOVA) para a temperatura em função do coeficiente de severidade, onde pelo teste $F_{estatístico} = 3,4 \cdot F_{tabelado}$, mostrando a validade do ajuste do modelo.

Tabela 14: ANOVA da temperatura em função do coeficiente de severidade.

FONTE	Grau Liberdade	Soma Quadrados	Média Quadrados	F estatístico	Variância R^2
Regressão	2	28675,48404	14337,74202	17,60984	0,67445
Resíduo	17	13841,21938	814,18938		
Soma	19	42516,70342			
Valor $F_{tabelado}$ para nível significância de 95% F(2,6) = 5,14					

Análises do material lignocelulósico a cada ciclo de operação (hidrólise) mostraram a presença de resto de material carbonizado aderido às paredes do reator na parte superior, indicando deficiente escoamento do fluido em relação ao sistema de agitação. Ensaios simples indicaram que a maior concentração de massa seca do material deveria ser de 9,5% para minimizar tal fenômeno. A temperatura de 120°C no ensaio anterior também não provocou uma eficiente remoção dos amidos indicado pelos menores valores de rendimento e quando foram aplicados os níveis superiores de temperatura, produzia "leves" efeitos colaterais indesejáveis. Neste intervalo em ensaio experimental indica qual seria o ponto mais otimizado para o processo.

Com relação ao catalisador, os ensaios indicaram que sua concentração pode ser em menor quantidade considerado de tempo e a agitação no processo.

4.1.3 Resultados do segundo prospectivo

Semelhantemente aos procedimentos adotados ao primeiro grupo de ensaios, os resultados também permitiram a confecção da Tabela 15 onde a coluna REND. refere-se à conversão do amido existente no farelo em glicose.

Tabela 15: Valores médios das variáveis independentes observados nos ensaios realizados em duplicata.

N	GLIC. (%)	XIL. (%)	MAN. (%)	FUR (%)	HMF (%)	FENOL (mg/mL)	CS	pH	BRIX (%)	REND (%)
21	0,83	-	0,31	-	-	-	3,33	0,8	10,0	14,0
22	1,0x8	-	0,37	-	-	-	3,33	0,8	9,8	18,2
23	9,28	-	1,51	-	0,04	0,17	4,57	0,14	10,4	156,9
24	8,63	-	-	-	0,05	0,14	4,57	0,14	10,2	145,8
25	7,96	-	1,46	0,01	0,21	0,30	6,63	0,8	10,5	134,7
26	10,40	-	-	0,02	0,40	0,31	6,63	0,8	11,4	172,2
27	9,82	-	-	-	1,60	0,37	8,06	0,14	10,6	162,6
28	5,09	-	-	-	1,51	0,62	8,06	0,14	10,0	86,1
29	8,44	-	-	-	0,01	0,15	4,27	0,14	10,0	142,7
30	1,86	-	-	-	0,01	-	3,63	0,8	9,0	31,4
31	9,15	-	-	-	0,03	0,17	4,27	0,14	11,0	154,7
32	1,02	-	1,65	-	-	-	3,63	0,8	10,8	17,2
33	6,67	-	-	0,03	0,47	0,29	7,57	0,14	12,0	112,8
34	8,76	-	-	0,03	0,67	0,60	7,12	0,8	11,4	148,1
35	6,43	-	-	0,06	1,46	0,71	7,57	0,14	11,0	108,7
36	7,61	-	-	0,02	0,34	0,55	7,12	0,8	12,6	128,7

Onde: N: número da amostra; GLIC.: % de glicose; MAN.: % de manose; XIL.: % de xilose; FUR.: % de furfural; HMF: % de 5-hidróximetilfurfural; FENOL: mg/ml de fenol; CS: coeficiente de severidade; pH; BRIX: % de sólidos solúveis; REND.: % de rendimento em relação a concentração de amido.

4.1.3.1 Rendimento do processo em função da concentração do catalisador e o coeficiente de severidade.

O comportamento verificado para ação ácida no segundo prospectivo foram que a concentração do catalisador produz baixos rendimentos na hidrólise do amido fixado no

material lignocelulósico quando: o coeficiente de severidade caminha para os valores abaixo de 7,0 e a concentração ácida está abaixo de 2,5 e acima de 5,5. Isto justifica que quando a concentração catalítica está abaixo de 2,5 o catalisador não é suficiente para sua reação com o amido fixado sendo necessário mais que 2,5% de catalisador. Já a concentração acima de 5,5 o rendimento é baixo pela solubilização de outros açúcares diferente da glicose, tais como xilose e manose confirmando os dados Sun et al. (2002).

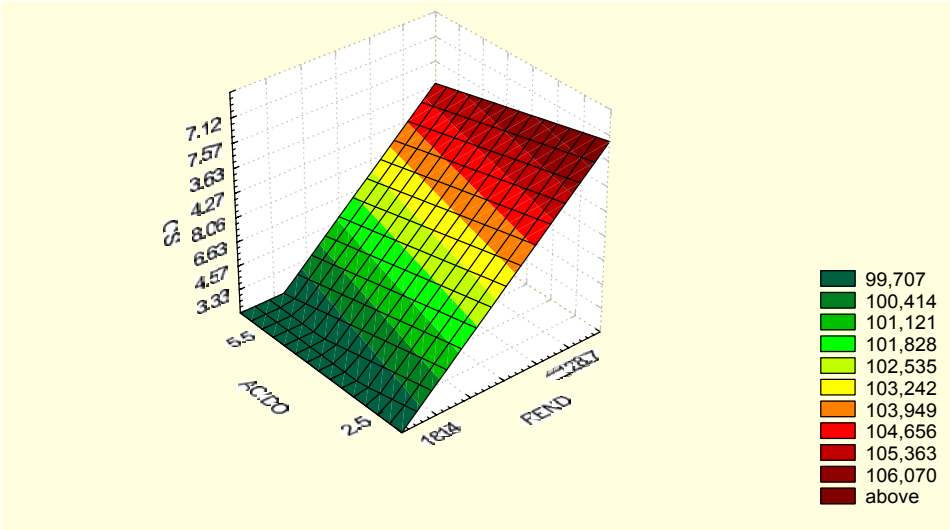


Figura 19: Gráfico da superfície de resposta para o rendimento do processo em função da concentração do catalisador e o coeficiente de severidade.

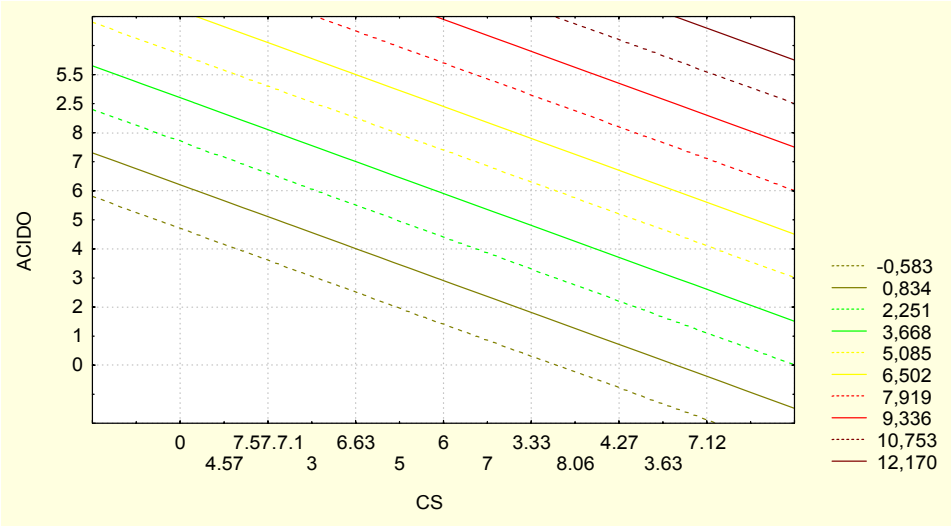


Figura 20: Gráfico da planta de contorno para o rendimento do processo em função da concentração do catalisador e o coeficiente de severidade.

A Tabela 16 fornece os valores da análise de variância (ANOVA) para a concentração ácida em relação ao coeficiente de severidade, onde pelo teste $F_{estatístico}$ = 0,8079 . $F_{tabelado}$, mostrando a validade do ajuste do modelo.

Tabela 16: ANOVA para a concentração ácida em relação ao coeficiente de severidade.

FONTE	Grau Liberdade	Soma Quadrados	Média Quadrados	F estatístico	Variância R^2
Regressão	2	18933,94568	9466,97284	7,54845	0,38983
Resíduo	13	29635,76432	2279,67418		
Soma	15	48569,71			
Valor $F_{tabelado}$ para nível significância de 95% F(2,6) = 5,14					

Analisando os resultados verifica-se que os rendimentos estão menos dispersos que em alguns ensaios, a concentração de 5-hidroximetilfurfural está elevada, indicando um coeficiente de severidade também elevado. O fator agitação está relacionado com a configuração física do equipamento e neste caso, fixou-se um valor de 50 rpm como sendo suficiente para promover a transferência/distribuição do calor do reator para o líquido em agitação.

Tabela 17: Resultados observados nos ensaios realizados em duplicata do planejamento fatorial 2^3

N	GLIC. (%)	MAN. (%)	XIL. (%)	FURF (%)	HMF (%)	FENOL (mg/mL)	CS	pH	BRIX (%)	REND (%)
37	0,45	-	-	-	-	-	3,33	0,8	12,0	6,46
38	0,78	-	-	-	-	-	3,63	0,8	10,4	11,17
39	7,47	-	-	-	0,25	0,30	6,42	0,8	12,0	105,80
40	7,86	-	-	-	0,50	0,36	6,96	0,8	12,2	111,43
41	7,26	-	-	-	-	0,10	4,27	0,14	11,4	102,94
42	7,74	-	-	-	0,04	0,15	4,57	0,14	12,0	109,74
43	7,26	-	-	-	1,08	0,63	7,36	0,14	12,6	102,90
44	7,68	-	-	-	1,10	0,46	7,90	0,14	12,0	108,89

Onde: N: número da amostra; GLIC.: % de glicose; MAN.: % de manose; FUR.: % de furfural; HMF: % de 5-hidróximetilfurfural; Fenol: mg/ml de fenol; C-S-: coeficiente de severidade; pH; BRIX: % de sólidos solúveis; REND-.: % de rendimento em relação a concentração de amido.

4.1.4 Características dos liquores obtidos nos processos de hidrólise.

Quanto mais severo for o processo, maior é a solubilização das hemiceluloses presentes no material lignocelulósico. Observando os valores dos compostos resultantes da aplicação dos tratamentos verifica-se a ausência de xilose que segundo Pereira (1999) é o segundo sacarídeo em concentração em diversos materiais semelhantes. Provavelmente os limites escolhidos para as variáveis dependentes, não causou a solubilização destes monossacarídeos e sim principalmente da glicose que foi originária dos resíduos amiláceos fixados aos materiais celulósicos que foram mais sensíveis ao processo.

A severidade do processo ao mesmo tempo que libera os amidos originários da degradação nas glicoses produzem em meio ao tratamento compostos fenólicos, principalmente 5-hidróximetilfurfural (HMF). A degradação de pentoses, como por exemplo xilose, origina os furfurais enquanto que os compostos fenólicos são solubilizados em função do tempo de contato com o catalisador ácido. Aguilar et al. (2002) observam valores de 5,83 g de furfural/L de líquor para experimento com 6% de H_2SO_4 à 128°C por um tempo de 300 min. quando hidrolisa bagaço de cana de açúcar.

Observando-se as Tabelas 10 e 17 verifica-se que ocorre a presença de compostos fenólicos simultâneo à presença de 5-hidróximetilfurfural o que indica que as degradações das glicoses ocorre simultaneamente a solubilização dos fenóis, e sempre, quando a temperatura foi de 170°C. Ocorreu também quando a concentração do catalisador foi de 4% e temperatura de 145°C em concentração de 8% (p/p).

Com relação à presença de monose no líquor, observa-se que para os valores de catalisador acima de 6% (p/p), não há ocorrência e provavelmente esta correlação seja devido à sensibilidade do monossacarídeo ao ácido sulfúrico em maiores concentrações.

O cálculo de rendimento considera a quantidade de amido efetivamente hidrolisado na forma de glicose em relação à concentração total verificada no material lignocelulósico antes do processo. Os gráficos das figuras 11 a 20 mostram estes valores em função de duas outras variáveis independentes.

Estes resultados indicam que alguns valores das variáveis podem ser modificados visando a maior recuperação possível de amido existente no material lignocelulósico e menor efeito colateral possível, quais sejam, a produção de furfurais, 5-

hidróximetilfurfural, manoses, o tempo de residência e níveis de temperatura. Foi proposto um novo conjunto de ensaios.

4.2 Teste dos parâmetros

4.2.1 Análise e seleção de parâmetros

Analisando os resultados dos ensaios de otimização verifica-se que ocorre a presença de hidroximetilfurfural e compostos fenólicos em maiores concentrações quando o tempo e temperatura de processo foram nos níveis mais elevados, ou seja, 35 minutos e 170ºC. Isto é conseqüência de degradação de ligninas e açúcares que afetam o rendimento do processo e podem repercurtir negativamente na utilização do hidrolisado em processos fermentativos conforme relata Larsson et al. (1999). Observam-se as menores concentrações destes compostos quando as condições do processo são mais brandas.

Com os valores dos coeficientes de severidades dos ensaios expostos na Tabela 17, buscou-se correlacionar com as concentrações de fenólicos e no gráfico da Figura 21 observa-se que existe uma correlação positiva, ou seja, ocorrem maiores concentrações de compostos fenólicos com o aumento da severidade do processo. No gráfico estão plotados também, os valores do rendimento e verifica-se que a partir do valor de 4,0 para o coeficiente de severidade, os rendimentos dos processos ficaram todos situados acima da linha do 100% de rendimento, qual seja, todo o amido do farelo é removido e solubilizado a açúcares redutores.

Para a escolha dos melhores parâmetros considerou-se a conjugação entre o menor coeficiente de severidade, menor concentração de fenólicos e rendimento do processo igual a 100%. Recorrendo à Tabela 17 observa-se que as condições utilizadas no Ensaio 41 atendem as requisições de menor temperatura e menor concentração de catalisador, e deste modo são indicadas para utilização em posteriores ensaios.

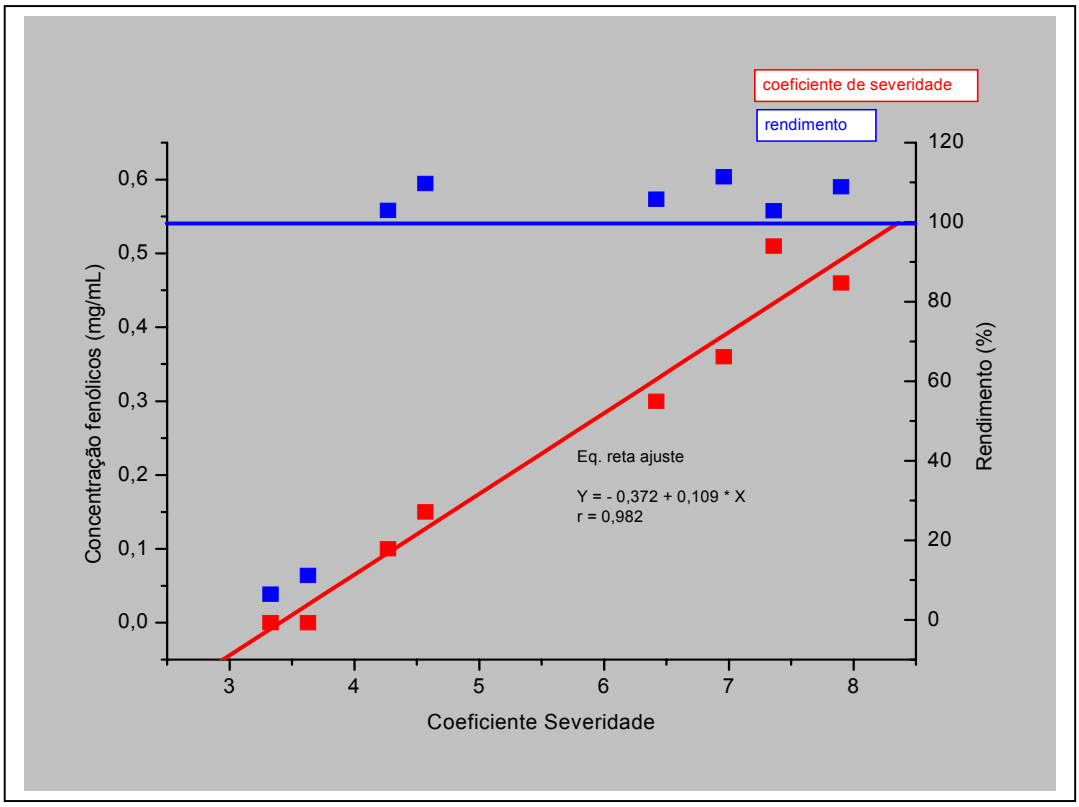


Figura 21 – Reta de regressão do coeficiente de severidade e a concentração de fenólicos, e valores de rendimento do processo.

4.2.2 Ensaios para teste dos parâmetros

Para confirmar as condições de ajuste fino estabelecidas para o melhor rendimento com baixa toxicidade do hidrolisado e menores custos com energia e catalisador, foram realizados ensaios em dois diferentes farelos denominados "teste dos parâmetros" em escala pré-piloto em equipamento especificado no item 3.7.1 do Material e Métodos, aos quais aplicaram-se as condições de tratamento determinadas pela metodologia de análise. Assim, para sua realização foram utilizadas as condições do Ensaio 41 expostas na Tabela 18.

Tabela 18 – Valores aplicados ao processo de tratamento hidrotérmico para teste dos parâmetros.

Temperatura (ºC)	Tempo total de processo (minuto)	Concentração do catalisador (%)	Concentração do substrato em m.s.(%)
140	35	2,5	9,5

Os valores e resultados dos dois ensaios podem ser observados na Tabela 19.

Tabela 19 – Resultados dos ensaios utilizando os parâmetros indicados pelo desenvolvimento experimental.

Etapa	Farelo 1	Farelo 2
Massa de farelo	30,0 kg	30,0 kg
umidade	90,5 %	90,5%
densidade	1,06 g/mL	1,06 g/mL
conc. Amido	6,3%	6,3%
Massa de catalisador	71,3 g	71,3 g
Parâmetros do processo		
temperatura	140ºC	140ºC
tempo residência	35 minutos	35 minutos
Condicionamento		
neutralizante CaO_2 a 45%	345 ml	230 mL
pH inicial	0,1	0,1
pH final	7,4	7,7
Filtração		
resíduo lignocelulósico		
massa	8,62 Kg	7,25 Kg
umidade	85,58	86,39
amido qualitativo	ausente	ausente
hidrolisado		
volume	20,3 L	20,800 L
Brix	8,3	7,0
ART	0,59	0,65

Os hidrolisados foram submetidos à análises e determinação de parâmetros decorrentes e são expostas na Tabela 20.

Tabela 20 – Valores médios da concentração de glicose, furfurais, hidroximetilfurfural, compostos fenólicos verificados no hidrolisado e do coeficiente de severidade e rendimento dos processos.

Ensaio	Glicose (%)	Furfurais (%)	5-HMF (%)	Compostos Fenólicos mg/ml	Rendimento Processo (%)	Coeficiente Severidade
Farelo 1	6,13	-	-	0,06	98%	4,5
Farelo 2	6,88	-	-	0,05	102%	4,5

Nota: valores com a mesma letra nas colunas não diferem entre si ao nível de significância de 5%.

Considerando a realização dos ensaios em reatores pré-piloto com sistemas operacionais diferentes do equipamento de processo anterior, observa-se que os resultados não diferiram entre si mostrando reprodutibilidade que sinalizam a sua escalabilidade para aplicações agroindustriais. Os valores observados para os dois materiais ensaiados em termos de rendimento do processo e do coeficiente de severidade, indicam que o tratamento aplicado foi suficiente para remoção e hidrólise dos amidos residuais existentes nos farelos. Este fato é confirmado pela ausência de outros compostos como furfurais e 5-HMF que surgem a partir de condições mais drásticas de processo. Não apresentam toxicidade em níveis que possam comprometer processos de fermentação posteriores.

O comportamento foi semelhante ao realizado em escala piloto e indica que a mudança de equipamentos de processo assim como a escalabilidade não afetaram a composição do hidrolisado e que os resultados obtidos foram os esperados.

4.2.3 Teste de fermentabilidade

Na Tabela 21 estão expressos os resultados dos ensaios realizados.

Tabela 21 – Valores de tempo de fermentação, concentração inicial e final de açúcares redutores totais (ART), concentração de etanol e fator de conversão.

Ensaio (hidrolisado)	Tempo (horas)	ART inicial (%)	ART final (%)	Etanol (%)	Fator conversão
Farelo 1	12	6,13	0,59	2,57	0,46
Farelo 2	12	6,88	0,65	2,89	0,46

Amostras do vinho fermentado produzido a partir dos dois farelos foram submetidas a análises cromatográficas para avaliação da concentração dos principais componentes conforme pode ser observado na Tabela 22.

Tabela 22 – Concentrações de etanol, metanol, glicerol, glicose e ácido acético em amostras de vinho fermentado de hidrolisado de farelos de mandioca.

Vinho Fermentado	Etanol (%)	Metanol (%)	Glicerol (%)	Glicose (%)	Ac.Acético (%)
Farelo 1	2,57	0,06	0,24	0,14	-
Farelo 2	2,89	0,03	0,18	0,08	-

4.3 Avaliação da fração fibras após o processo

As análises de FDA, FDN, lignina e celulose foram feitas pelo método desenvolvido por Van Soest (1967) possibilitando o uso das fibras para alimentação conforme a necessidade e critérios da indústria alimentícia que pode ser tanto como animal como para alimentação humana.

Através dos resultados foram observados que o tratamento hidrotérmico, à temperatura de 140 ou 170ºC e emprego de ácido sulfúrico como catalisador, foi eficiente. Esta eficiência foi traduzida pelos aumentos dos porcentuais de fibra residual nos farelos tratados - FDN: de 38,26 para 88,34%; FDA: de 33,74 para 88,00% e FT: de 16,64 para 68,65%, em relação aos teores originalmente presentes no farelo “in natura” (Tabela 23).

Os tempos de tratamento, na menor concentração de catalisador, tiveram pouco efeito nas concentrações das fibras residuais. Entretanto, na concentração de 5,5% de ácido sulfúrico e na temperatura de 140ºC, houve um pequeno acréscimo nos teores das fibras quando o tratamento prolongou-se por mais tempo. Efeito contrário foi detectado na temperatura de 170ºC, ou seja, o maior tempo de exposição ao tratamento produziu menores quantidades de FDN, FDA e FT.

O efeito mais evidente ficou, contudo, para a concentração de H_2SO_4, onde para as duas temperaturas e os dois tempos de tratamento estudados, a concentração de 5,5% foi mais eficiente que a concentração de 2,5% na quantidade de fibras residuais produzidas, sugerindo claramente o efeito da concentração sobre a eficiência hidrolítica do catalisador.

Os teores de lignina e celulose seguiram a mesma tendência observada para as fibras residuais, o que seria de se esperar. Da mesma maneira que observado para os teores de FDN, FDA e FT, caracteriza-se positivamente o efeito da concentração do catalisador sobre estas variáveis. O menor conteúdo de hemicelulose em todos os tratamentos em relação ao farelo "in natura" pode ser creditado à conversão em compostos furfurais.

Tabela 23. Resultados quantitativos obtidos da fibra antes e após tratamento.

TRATAMENTO				RESULTADO DAS FIBRAS							
N	**°C**	**CAT**	**t**	**FDN**	**FDA**	**FT**	**LI**	**CE**	**HE**	**MM**	**MS**
37	140	2,5	25	79,33	76,43	58,72	16,24	46,25	2,9	0,98	91,71
38	140	5,5	25	79,23	76,76	56,49	15,23	43,26	2,47	0,71	93,92
39	170	2,5	25	77,02	76,76	57,73	15,33	47,80	0,26	0,83	92,83
40	170	5,5	25	78,66	77,32	53,74	15,83	46,86	0,84	0,66	93,64
41	140	2,5	35	84,67	84,11	62,35	18,50	49,18	0,56	0,53	96,76
42	140	5,5	35	88,34	88,00	68,65	19,84	52,09	0,34	0,60	96,80
43	170	2,5	35	87,14	86,46	61,40	19,74	53,34	0,68	0,34	96,20
44	170	5,5	35	81,82	81,10	60,94	19,31	49,50	0,72	0,36	96,89
FN	-	-	-	38,26	33,73	16,64	8,70	16,71	4,53	2,54	98,47

Onde: N: número da amostra; °C: temperatura; CAT.: catalisador; t: tempo(min.); FDN: % fibra em detergente neutro; FDA: % fibra em detergente ácido; FT: fibras totais; LI: % lignina; CE: % celulose; HE: % hemicelulose; MM: % de matéria mineral e MS: % de matéria seca.

4.4 Microscopia

De acordo com o item 3.6.12 foi utilizada a microscopia para melhor visualização do farelo "in natura" e pós-tratamento.

Observou-se nitidamente a existência de amido no farelo de mandioca "in natura" representado por regiões escurecidas devido a reações com Lugol conforme mostra a Figura 22. Após o tratamento, estas regiões escurecidas são ausentes à reação com Lugol conforme pode ser observado na Figura 23. Isto mostra a eficiência do tratamento em relação ao aproveitamento do amido residual.

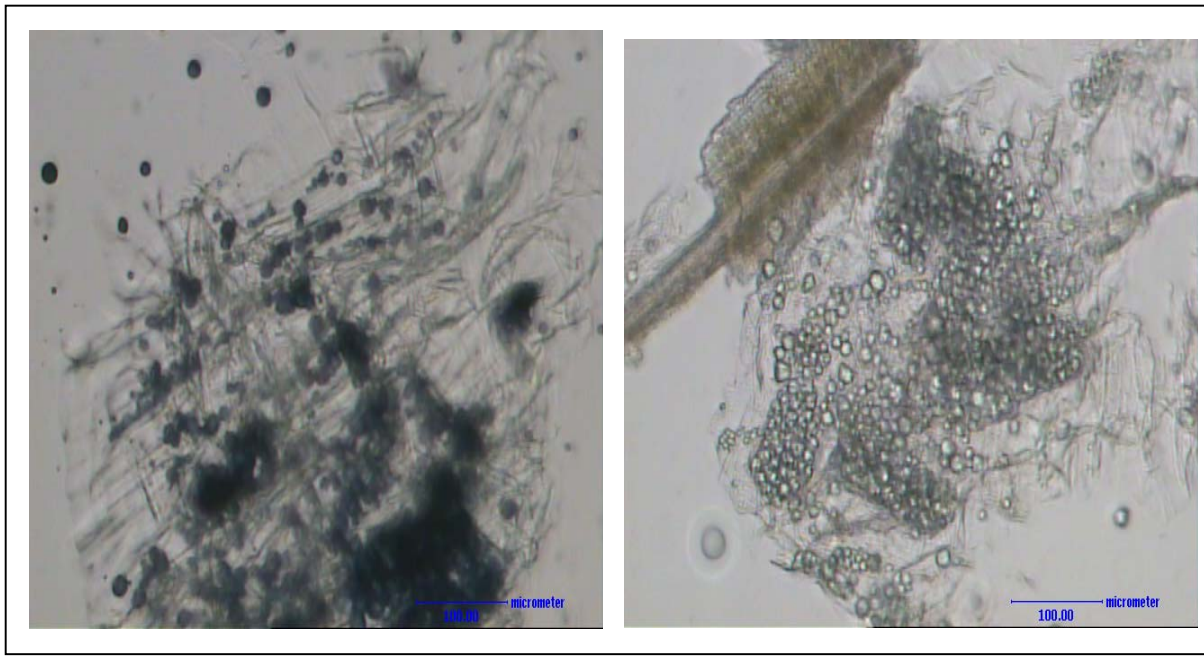


Figura 22: Microscopia da fibra do farelo de mandioca "in natura".

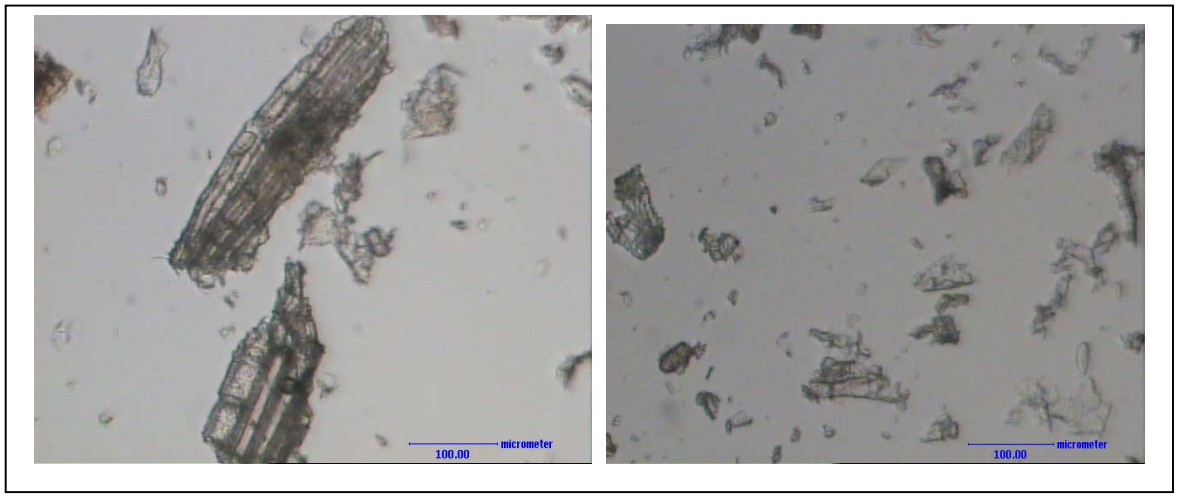


Figura 23: Microscopia da fibra produzida após tratamento hidrotérmico.

5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados encontrados neste trabalho, pode-se concluir que:

- O processo de tratamento hidrotérmico utilizando catalisador ácido é eficaz na remoção de 100% do amido fixado nos resíduos (farelo) da industrialização da mandioca;
- Os melhores parâmetros de operação para produção de hidrolisado foram: temperatura: 140°C; tempo total: 35 minutos; concentração do catalisador em relação à matéria seca: 2,5% e, concentração do substrato em relação à matéria seca: 9,5%. A remoção do amido foi total;
- O processo de produção do hidrolisado apresentou o mesmo comportamento quando foram efetuados ensaios com escalabilidade de 15 vezes;
- Ensaios de fermentabilidade com os hidrolisados mostraram ausência de inibidores e produziram um fator de conversão dos açúcares redutores totais a etanol de 0,46;

- Os ensaios verificaram um aumento significativo na concentração de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) e fibras totais nos resíduos lignocelulósicos após o tratamento hidrotérmico, indicando aplicação específica deste material.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, R.; RAMÍREZ, J.A.;GARROTE, G.; VÁSQUEZ, M. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 55, p. 309-318, 2002.

AGU, R. C.; AMADIFE, A. E.; UDE, C. M.; ONYIA, A.; OGU, E. O.; OKAFOR, M.; EZEJIOFOR, E. Combined heat treatment and acid hydrolysis of cassava grate waste (CGW) biomass for ethanol production. **Pergamon Waste Managenent**, v. 17, n. 1, p. 91-96, 1997.

ALLEN, M. S. Relationship between fermentation and acid production in the rumen and requirement for physically effective fiber. **Journal of Dairy Science,** New Delhi, v. 80, p. 1447-1462, 1997.

ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 15. ed. Washington, 1990. 1298p.

BALLESTEROS, I.; OLIVA, J. M.; NEGRO, M. J.; MANZANARES, P.; BALLESTEROS, M. Enzymic hydrolysis of steam exploded herbaceous agricultural waste (*Brassica carinata)* at different particule sizes. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 38, p. 187-192, 2002.

BALLESTEROS, M.; OLIVA, J.M.; NEGRO, M.J.; MANZANARES, P.; BALLESTEROS, I. Ethanol from lignocellulosic materials by a simultaneous saccharification and fermentation process (SFS) with *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 6, p.15-23, 2003.

BARROS-NETO, B.; SCARMINO, I. S.; BRUNS, R. E. Planejamento e otimização de experimentos. Campinas: UNICAMP, 1995, p. 229.

BELLUCO, A. E. S. **Alterações fisiológicas e de composição em *Saccharomyces cerevisie* sob condições não proliferantes.** 2001. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/USP. Piracicaba, 2001.

BLAZER, A. N.; NIKAIDO, H. Fundamentals of Applied Microbiology. **Microbial Biotechnology**, New York: W.H. Freeman and Company, p. 325-339, 1995.

BOBBIO, F.O , BOBBIO, P.A **Introdução à química de alimentos**. 2ª ed. São Paulo: Editora Varela Ltda, 1989. p.11-70

BOCCHINI, D.A. **Estudo de Parámetros Fermentativos para Produção de Xilanase**.. 2000. 104f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual "Júlio de Mesquita", Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.

CABELLO, C. **Identificação de parâmetros para monitoramento de processo contínuo de hidrólise enzimática, na produção de glicose a partir da fécula de mandioca.** 1995. 208f. Tese (Doutorado em Agronomia/ Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1995.

CAMM, E. L.; Phenylalamine ammonia lyase. **Phytochemistry,** v. 12, n. 5, p. 961-973, 1973.

CARDOSO, C. E. L.; VIEIRA, R. C. M. T.; LIMA FILHO, J. R.; LOPES, M. R. Eficiência econômica e fatores que afetam a competitividade da cadeia agroindustrial da mandioca. In: **Cadeias produtivas no Brasil: análise de competitividade**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, Secretaria de Administração Estratégica, 2001. p. 468.

CEREDA, M. P. Alternativas de uso industrial para fécula de mandioca. **Revista Brasileira de Mandioca**, v. 8, n. 1, p. 63-71, 1989.

CEREDA, M. P. Película de fécula de mandioca na conservação de frutas e hortaliças. **Faxjornal,** n. 33, p. 2, 1996.

CEREDA, M. P. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargill, Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, 1, 2001. p. 221.

CHAU, C.F.; HUANG, Y.L.; LIN, C.Y. Investigation of the cholesterol-lowering action of insoluble fibre derived from the peel of *Citrus sinensis* L.cv. Liucheng. **Food Chemistry,** St-Martens-Latem, v. 87, p. 361-366, 2004.

CHUM, H. L.; JOHNSON, D. K.; BLACK, S. K.; OVEREND, R. P. Pretreatment-Catalyst Effects and the Combined Severity Parameter. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, London, v. 24/25, p. 1-14, 1990.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Publicações**. Disponível em: http://www.conab.gov.br/publicacoes/mopm.cfm acesso em: 12 abr. 2001.

CURRELI, N.; AGELLI, M.; PISU, B.; RESCIGNO, A.; SANJUST, E.; RINALDI, A. Complete and efficient enzymic hydrolysis of pretreated wheat straw. **Process Biochemistry**, Oxford, v.37, p. 937-941, 2002.

CUZENS, J.C.; MILLER, J.R. Acid Hydrolysis of bagasse for ethanol production. **Renewable Energy,** Schenectady, v. 10, p. 285-290, 1997.

EASTRIDGE, L. M. Fibra para vacas leiteras. In: **SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL,** 9, 1996, Piracicaba. **Anais** SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 33-50.

FAO. **Economic**. Disponível em: <http://apps.fao.org/cgi-bin/nph-db.pl> Acesso em: 12 apr. 2003.

FAO. **Yuca**. Perspectivas alimentares, n.4, p. 1-6, oct.2001.

FAO. **La economia mundial de la yuca**. Roma: FAO, p. 60, 2000.

FIGUEROLA, F.; HURTADO, M. L.; ESTÉVEZ, A. M.; CHIFFELLE, I.; ASENJO,. F. Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. **Food Chemistry**, Amsterdam, v.91, p.395-401, 2005.

FONSECA, F. L. M. Transformação da mandioca em álcool. **Faxjornal**, França, n. 29, p. 2, 1996.

FUKUSHIMA, R. S. Extração da lignina através do brometo de acetila e seu emprego objetivando avaliação quantitativa da lignina de plantas. In: XXXIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1996, Viçosa. **Anais** XXXIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. MG: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1996. p. 318-320.

FUKUSHIMA, S. R.; HATFIELD, R. D. Espectros de duas formas de lignina obtidos por ressonância magnética nuclear. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** v. 38, n. 4, p. 505-511, 2003

HENRY, G. Cassava starch: case study: Europe. **Global cassava market study**: business opportunities for the use of cassava. Dtp Studies Inc./IDRC/IFAD. Ontario, 1999. p.184.

INSTITUO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> Acesso em: 26 maio 2003.

JUNG, H. G.; VOGEL, K. P. Influence of lignin on digestibility of forage cell wall material. **Journal of Animal Science,** Champaig, v. 62, p. 1703-1712, 1986.

KAAR, W.E.; GUTIERREZ, C.V.; KINOSHITA, C.M. Steam explosion of sugarcane bagasse as a pretreatment for conversion to ethanol. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 14, p. 277-287, 1998.

KÁDÁR, Z.; SZENGYEL, Z.; RÉCZEY, K. Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of industrial wastes for the production of ethanol. **Industrial Crops and Products,** Amsterdam, v. 20, p. 103-110, 2004.

KAETSU,I.; KAMAKURA, M. Immobilization of enzyme and antibody by low energy electron beam polymerization**. International Journal of Radiation Application and Instrumentation**. Part C. Radiation Physics and Chenistry. V. 30, Issue 4, p. 263-270, 1987.

KANG, S.W.; PARK, Y. S.; LEE, J. S.; HONG, S. I.; KIM, S. W. Production of cellulases end hemicellulases by *Aspergillus niger* KK2 from lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v.7, p.22-25, 2003.

KRISHNA, S. H.; REDDY, T. J.; CHOWDARY, G. V. Simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulosic wastes to ethanol using a thermotolerant yeast. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 77, p. 193-196, 2001.

KNUDSEN, K.E.B. The nutritional significance of "dietary fibre"analysis. **Animal Feed Science and Technology,** Amsterdam, v. 90, p. 3-20, 2001.

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

LASER, M. A comparison of liquid hot and steam pretreaments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol. **Bioresouce Technology,** Amsterdam, v. 81, p. 33-44, 2002.

LEBOURG, C.; Brasamide et la fécule: une historie d`amour. Botucatu: Centro de Raízes Tropicais – Universidade Estadual Paulista, 1996. 59p.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Avaliação da concentração de pectinase no processo de hidrólise-sacarificação do farelo de mandioca para obtenção de etanol. **Ciência e Tecnologia de Alimento**, Campinas, v. 20, n. 2, May/Aug. 2000.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Physicochemical characterization of some starchy tubers. **Ciência e Tecnologia de Alimento**, Campinas, v. 22 n 1, Campinas Jan./Apr. 2002.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIN, H. V. Produção de etanol. In:- **Biotecnologia.** São Paulo: E. Blucher, 2001, v. 3, p. 1-43.

LIMING, X.; XUELING, S. High-yield cellulase production by *Trichoderma reesei* ZU-02 on corn cob residue. **Bioresouce Technology**, Amsterdam, v. 91, p. 259-262, 2004.

LOHMEIER-VOGEL, E. M.; SOPHER, C. R.; LEE, H. Intracellular acidification as a mechanism for the inhibition by acid hydrolysis-derivedinhibitors of xylose fermentation by yeasts. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology,** v. 20, p. 75-81, 1998.

MARTON, J.M.; FELIPE, M.G.A.; MANCILHJA,I.M.; SILVA, J.B.A.; SILVA, T.F.M. Influência da reciclagem de carvões ativos sobre a remoção de inibidores da fermentação de *D-xilose* em xilitol a partir de hidrolisado de bagaço de cana. In: 14º Simpósio Nacional de Fermentações, **Anais** 14º Simpósio Nacional de Fermentações. Florianópolis: 2003. CD-ROM.

MATHEWS, A.P.; CHOI, C.H. Two-step acid hydrolysis process kinetics in the saccharification of low-grade biomass: 1. Experimental studies on the formation and degradation of sugars. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 58, p. 101-106, 1997.

MERTENS, D. R. reating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Journal of Dairy Science,** Savoy, v. 80, p. 1463-1481, 1997.

MOCHIDZUKI, K.; SAKODA, A; SUZUKI, M. Liquid-phase thermogravimetric measurement of reaction kinetics of the conversion of biomass wastes in pressurized hot water: a kinetic study. **Advances in Environmental Research**, v. 7, p. 421-428, 2003.

MUSSATO, S. I.; ROBERTO, I. C. Hydrolysate detoxification with activated charcoal for xylitol production by *Candida guilliermondii*. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 23, p. 1681-1684, 2001.

NAWIRSKA, A.; KWASNIEWSKA, M. Dietary fibre fractions from fruit and vegetable processing waste. **Food Chemistry**, St-Martens-Latem, v. 91, p. 221-225, 2005.

NEGRO, M. J.; MANZANARES, P.; OLIVA, J. M.; BALLESTEROS, I.; BALLESTEROS, M. Changes in various physical/chemical parameters of *Pinus pinaster* wood after steam explosion pretreatment. **Biomass and Bioenergy,** Oxford, v. 25, p. 301-308, 2003.

NELSON, N. A.; A photometria adaptation on of the Somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biology Chemistry,** v. 53, p. 373-380, 1994.

NILVEBRANT, N.;REIMANN, A.; LARSSON, L.J. Detoxification on lignocellulose hydrolysates with ion-exchange resin. **Applied Biochemistry and Biotechnology,** Totowa, v. 91-93, p. 35-49, 2001.

NUSSIO, L. G.; LIMA, M. L. M.; MATTOS, W. R. S. Caracterização e importância da fibra na alimentação de ruminantes. In SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO DE BOVINOS LEITEROS. 2000, Carambeí. **Resumo:** Trabalhos. Carambeí: Fundação ABC, 2000.

OVEREND, R.P., CHORNET, E. Fractionation of lignocellulosics by steam aqueous pretreatments. **Phil. Trans. R. Soc. Lond,** v. 321, p. 523-536, 1987.

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

PALMQVIST, E.; HAHN-HÄGERDAL,B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. **Bioresource Technology,** Amsterdam, v. 74, p. 17-24, 2000.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V. T.; VANDENBERGHE, L. P. S.; MOHAN, R. Biotechnological potential of agro-industrial residues. II: cassava bagasse. **Bioresouce Technology***,* Amsterdam, v. 74, p. 81-87, 2000.

PEREIRA JR, N. Biotecnologia de Hemicelulose. In: Enzitec 1999 – IV Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática. 1999, Rio de Janeiro. **Anais do Enzitec 99** - IV Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática, v. 1, p. 1-5, 1999.

PHILLIPS, T. P. Cassava flour: global opportunities. **Global cassava market study***:* business opportunities for the use of cassava*.* Dtp Studies Inc./IDRC/IFAD. Ontario, p.184, 1999.

PIRES, T.C.R. **Identificação e Caracterização de Enzimas Amilolíticas de Mandioquinha-salsa (*Arracacia xanthorrhiza Bancroft)*,** 2002. 98p,. Tese (mestrado) Universidade Estadual Paulista , São Paulo, 2002.

PRIMO-YÚFERA, E.; GIL-TORTOSA, C. I.; GARCÍA-BREIJO, F. J. Hydrolysis of corn-cob lignocellulosic residue from pentose preparation. **Bioresource Technology***,* Amsterdam, v. 52, p. 1-4, 1995.

PROSKY, Leon. What is fiber? Current controversies.**Trends in Food Science & Technology** v. 10, p.271-275, 1999.

RAUPP, D. S.; MARQUES, S. H. P.; ROSA, D. A.; CALDI, C. M.; CREMASCO, A C. V.; BANZATTO, D. A. Arraste via fecal de nutrients da ingestão produzido por bagaço de mandioca hidrolisado. **Sci. Agri. (Piracicaba, Brz.),** v. 59 n 2, p. 1-14, Piracicaba, 2002.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; CURTIS, H. **Biologia Vegetal**. Editora Guanabara Dois. S.A., 1976. 987 p.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; ELCHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**, ed. 6, Editora Koogan, 2001. 928 p.

RÉCZEY, K.; KÁDÁR, Z.; SZENGYEL, Z. Simultaneous saccharification end fermentation (SSF) of industrial waste for the production of ethanol. **Industrial Crops and Products**, v. 20, p. 103-110, 2004.

REHMAN, Zia-ur, SHAH, W.H. Domestic processing effects on some insoluble dietary fibre components of various food legumes. **Food Chemistry,** St-Martens-Latem, v. 87, p. 613-617, 2004.

RIBEIRO, F. J.; LOPES, J. J. C.; FERRARI, S. E. Complementação de nitrogênio de forma contínua no processo de fermentação alcoólica. **Brasil Açucareiro,** v. 105, n. 1, p. 26-30, 1987.

SAMPAIO, A.O.; FERREIRA FILHO, J.; ALMEIDA, P. A. Cultivo consorciado de mandioca para alimentação animal. **Revista Brasileira de Mandioca***,* v. 13, n. 1, p. 89-99, 1994.

SANGNARK, A.; NOOMHORM, A.; Chemical, fhysical and baking properties of dietary fiber prepared from rice straw. **Food Reserch International** v. 37, p. 66-74, 2004.

SANGNARK, A.; NOOMHORM, A.; Effect of particle sizes on funcyional properties of dietary fibre prepared from sugarcane bagasse. **Food chemistry,** St-Martens-Latem, v. 80, p. 221-229, 2003.

SILVA, J. R.; VEGRO, C. L. R.; ASSUMPÇÃO, R.; PONTARELLI, C. T. G. A agroindústria de farinha de mandioca nos estados de São Paulo e do Paraná. **Informações Econômicas**. V. 26, n. 3, p. 69-83, 2000

SÖDERSTRÖM, J.; PILCHER, L.; GALBE, M.; ZACCHI, G. Two-step steam pretreatment of softwood by dilute H_2SO_4 impregnation for ethanol production. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 24, p. 475-486, 2003.

SREENATH, H. K.; KOEGEL, R. G.; MOLDES, A. B.; STRAUB, R. J. Enzymic saccharification of alfafa fiber after liquid hot pretreatment. **Process Biochemistry,** Oxford, v. 35, p. 33-41, 1999.

SRIROTH, K,; CHOLLAKUP, R.; CHOTINEERANAT, S.; PIYACHOMKWAN, K.; OATES, C. G. Processing of cassava waste for improved biomass utilization. **Bioresource Technology,** Amsterdam, v.71, p. 63-69, 2000.

SUN, X. F.; XU, F.; SUN, R. C.; WUANG, Y. X.; FOWLER, P.; BAIRD, M. S. Characteristics of degraded lignin obtained from steam exploded wheat straw. **Polymer Degradation and Stability**, Oxford, v. 86, p. 245-256, 2004.

SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 83, p. 1-11, 2002.

TAHERZADEH, M.J. Ethanol from lignocellulose: Physiological effects of inhibitors and fermentation strategies. Department of Chemical Reaction Engineering **Chalmers University of Technology,** Göteborg, Sweden, 1999.

VAN SOEST, P. J.; WINE, R. H.The determination of lignin and cellulose in acid-detergent fibre with permanganate. **Journal of the Association of Official Analytical Chemistry**, Washington, v. 52, p. 780, 1968.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, p. 476, 1994.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

VILPOUX, O. As indústrias de mandioca nos estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais. Botucatu, CERAT, UNESP, p. 83, 1998.

VILPOUX, O.; CEREDA, M. P.; DA SILVA, A. P.P. O mercado de amido no Brasil. Botucatu, CERAT, UNESP, p.53, 1996.

VILPOUX, O.; OSPINA, M. T. Cassava starch: case study: Brazil. **Global cassava market study**: business opportunities for the use of cassava. Dtp Studies Inc./IDRC/IFAD. Ontario, p.184, 1999.

WEIL, J. R.; SARYKAYA, A.; RAU, S.L.; GOETZ, J.; LADISCH, C. M.; BREWER, M.; HENDRICKSON, R.; LADISCH, M. R. Pretreatment of corn fiber by pressure cooking in water. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Totowa, v. 73, p. 1-17, 1997.

WOICIECHOWSKI, A. L.; SOCCOL, C. R.; RAMOS, L. P.; PANDEY A. Experimental design to enhance the production of L-(+)-lactic acid from steam-explodes wood hydrolysate using *Ryzopus oryzae* in a mixed-acid fermentation. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 45, p. 949-955,, 1999.

WOICIECHOWSKI, A. L.; NITSCHE, S.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Acid and enzymatic hydrolysis to recover reducing sugars from cassava bagasse: an economic study. **Braz. Arch. Biol. Technol**. v. 45 n 3, p. 400, Sept. 2002.

YOON, K. Y.; CHA, M.; SHIN, S. R.; KIM, K. S. Enzymatic production of a soluble-fibre hydrolyzate from carrot pomace and its sugar composition. **Food Chemistry**, St-Martens-Latem, v. 52, p. 185-194, 2004.

ZIEGLER, I. M.; HOLMGREN, A.; FORSLING, W.; LINDBERG, M.; RANHEIMER, M. Mechanism of the adsorption process of pinosylvin and some polyhydroxybenzenes onto the structure of lignin. **Vibrational Spectroscopy**, v. 36, p. 65-72, 2004.

ZHANG, C.; HAN, W.; JING, X.; PU, G.; WANG, C. Life cycle economic analysis of fuel ethanol derived from cassava in southwest China. **Renewable & Sustainable Energy Reviews,** Oxford, v. 7, p. 353-366, 2003.

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo