

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE USO DO BAGAÇO DE LARANJA VISANDO A PRODUÇÃO DE ETANOL 2G

C. E. F. SILVA¹, G. N. S. B. GOIS², I. C. C. SILVA², L. M. O. SILVA², R. M. R. G. ALMEIDA^{1,2},
A. K. S. ABUD^{1,3}

¹ Universidade Federal de Alagoas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

² Universidade Federal de Alagoas, Curso Engenharia Química, Centro de Tecnologia

³ Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Tecnologia de Alimentos

E-mail para contato: eduardo.farias.ufal@gmail.com

RESUMO – O Brasil é o maior produtor mundial de laranjas, bem como grande potência na exportação de suco, gerando milhares de toneladas de bagaço. Como alternativa ao impacto causado pelo descarte deste resíduo, o trabalho avalia o pré-tratamento ácido do bagaço de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) visando à produção de etanol de segunda geração. Utilizou-se um planejamento experimental 2³, tendo como variáveis o tempo (15 a 120 min), a C_{ácido} (1 a 4% v/v) e a C_{biomassa} (1 a 9% m/v). A caracterização físico-química da farinha, obtida por secagem à 50°C e moagem em peneira de 30 mesh, indicou alto teor de carboidratos e fibras. No pré-tratamento, as variáveis analisadas apresentaram sacarificação na fração líquida entre 30 e 60%, influenciadas pela concentração de biomassa e tempo, rendimento mássico entre 30 e 40%, com significância do tempo, e °Brix/g biomassa, influenciada pela concentração de biomassa e ácido. Percebeu-se, em alguns casos, que a severidade do pré-tratamento foi desnecessária e comprometeu a quantidade de açúcares, sugerindo a condução do processo por 15 min a 120°C e 1atm, com menores concentrações de ácido e de biomassa.

1. INTRODUÇÃO

Desde a década de 80 o Brasil detém mais de 50% do volume mundial de suco de laranja, exportando aproximadamente 85% do que é produzido, o que totaliza 98% de participação no mercado mundial (Neves *et al.*, 2010).

Como consequência da alta produção, há uma significativa geração de subprodutos, compostos de cascas, sementes e polpas, que equivalem a 50% do peso da fruta, com uma umidade próxima a 82%, tendo como principal destino a complementação para ração animal (Rezzadori e Benedetti, 2009). Todavia, em função do alto conteúdo de água, possibilitando a degradação microbiana, geração de mau cheiro e contaminação do solo, pesquisas vem sendo realizadas na busca de novas alternativas de emprego destes resíduos.

Lennartsson *et al.* (2012) citam que as cascas de frutas cítricas são ricas em pectina, celulose e

hemicelulose, podendo ser empregadas como substrato de baixo custo na produção de etanol de segunda geração, ao mesmo tempo em que se reduzem os problemas com a sua disposição. Rezzadori e Benedetti (2009) citado por Marinelli *et al.* (2012) apresentam que a casca da laranja contém 16,9% de açúcares solúveis e, como polissacarídeos insolúveis da parede celular, 9,21% de celulose, 10,5% de hemicelulose e 42,5% de pectina, comprovando grande potencial de transformação desta biomassa em produtos de alto valor agregado, obtidos através da hidrólise química ou enzimática e posterior conversão biológica.

O uso de biomassa como fonte de energia vem crescendo em função das mudanças climáticas e da elevação das cotações do petróleo, tendo o Brasil posição privilegiada em função das culturas agrícolas de grande extensão, maior biodiversidade do planeta, intensa radiação solar, água em abundância, diversidade de clima e pioneirismo na produção de biocombustíveis (Santos *et al.*, 2011).

Anualmente, no Brasil, são geradas cerca de 350 milhões de toneladas de resíduos lignocelulósicos, cujo bioprocessamento desperta grande interesse econômico e social (Pereira Jr., 2007). As tecnologias para a obtenção de bioetanol de segunda geração, produzido a partir destes materiais, envolvem a hidrólise dos polissacarídeos da biomassa em açúcares fermentáveis e sua posterior fermentação, sendo uma alternativa energética promissora para atender à demanda mundial. No processo de conversão da biomassa lignocelulósica à etanol são necessárias 5 operações unitárias. (1) Redução do tamanho da biomassa para aumentar a área superficial e uniformidade; (2) pré-tratamento para romper estrutura da lignina e da hemicelulose, reduzindo a cristalinidade da celulose e aumentando a porosidade da biomassa; (3) hidrólise enzimática para converter açúcares poliméricos em açúcares monoméricos; (4) fermentação para produzir etanol a partir dos açúcares monoméricos. (5) recuperação do etanol por destilação ou outra tecnologia de separação (García-Cubero *et al.*, 2011).

Um pré-tratamento adequado é aquele que produz fibras reativas, preserva a utilidade da fração hemicelulósica e não libera compostos que inibam significativamente a fermentação (Lynd, 1996). Eles podem ser físicos, químicos, biológicos ou de fracionamento por solvente (Sousa *et al.*, 2009), sendo os pré-tratamentos químicos os que têm recebido maior atenção (Fan *et al.*, 1982). O seu objetivo é remover ou modificar a estrutura da lignina e das hemiceluloses, facilitando o ataque enzimático e a degradação da celulose. Na hidrólise ácida da biomassa produz-se, principalmente, uma mistura de oligossacarídeos, monossacarídeos, produtos de decomposição, ácidos orgânicos, lignina e outras substâncias, entre elas resíduos poluentes e produtos que inibem a fermentação posterior. Por isso, a sacarificação enzimática tem sido objeto da maior parte dos estudos. No entanto, no estágio de desenvolvimento atual, o processo ainda é economicamente inviável, o que justifica o interesse pelo estudo das variáveis que afetam o processo (Rabelo, 2007).

Esse trabalho avaliou características da fração líquida e sólida após pré-tratamento do bagaço de laranja com ácido sulfúrico diluído, tais como rendimento mássico, percentagem de sacarificação na fração líquida e relação de sólidos solúveis/g biomassa. As condições do pré-tratamento foram otimizadas através da metodologia de superfície de resposta (RSM), metodologia que engloba um grupo de técnicas utilizadas para estudar a relação entre uma ou mais respostas medidas e variáveis de entrada, podendo ser utilizada em problemas que têm ingredientes e/ou condições de processamento

como variáveis (Arteaga *et al.*, 1994).

2. METODOLOGIA

O resíduo, após a extração do suco/polpa na unidade produtora, foi coletado e sanitizado com hipoclorito de sódio a 100 ppm por 15 min, sendo posteriormente submetido à secagem em estufa de circulação forçada de ar, a 50°C até peso constante, triturado em moinho de facas tipo Wylle, em peneira de 30 mesh e acondicionado em frascos plásticos herméticos à temperatura ambiente.

Foram realizadas análises dos teores de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e açúcares, seguindo-se as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005) e AOAC (2002). A percentagem total de carboidratos foi feita por diferença das análises de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas. Da amostra seca e desengordurada, foi realizada a análise de fibras, segundo método de Henneberg citado por Winton e Winton (1958), constando fundamentalmente de uma digestão em meio ácido, seguida por uma digestão em meio alcalino. O teor de pectina foi determinado com base na neutralização das cargas dos resíduos de ácido galacturônico livre pelos íons cálcio, provocando a geleificação da pectina e sua precipitação (Carvalho *et al.*, 2002).

Para a determinação de açúcares redutores totais (ART) foi utilizado o método colorimétrico do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), descrito por Miller (1959), realizando-se tratamento em H₂SO₄ 1,5 M, em banho fervente por 30 min, com agitação ocasional para hidrolisar os polissacarídeos e outros açúcares não redutores.

Para a etapa de pré-tratamento, as condições ambientais foram 121°C e 1 atm, monitoradas em autoclave. A eficiência de hidrólise em ART (açúcares redutores totais) foi calculada pela Equação 1.

$$Eficiência (\%) = 100 \frac{C_{ART}}{C_{biomassa}} \quad (1)$$

Os experimentos foram baseados no planejamento fatorial simples, com repetição no ponto central, sendo codificado em 3 níveis para cada variável, -1, 0 e +1. As quantidades referentes às variáveis codificadas são apresentadas na Tabela 1 e, para análise dos resultados, foi utilizado o software Statistica 7.0, do qual foram obtidos os gráficos de Pareto para cada variável dependente.

Tabela 1 - Matriz do planejamento com repetições no ponto central

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Tempo (min)	-1 (15)	1 (120)	-1 (15)	1 (120)	-1 (15)	1 (120)	-1 (15)	1 (120)	0 (67,5)	0 (67,5)	0 (67,5)
C ácido (mL/100 mL)	-1 (1)	-1 (1)	-1 (1)	-1 (1)	1 (5)	1 (5)	1 (5)	1 (5)	0 (3)	0 (3)	0 (3)
C biomassa (g/100 mL)	-1 (1)	-1 (1)	1 (9)	1 (9)	-1 (1)	-1 (1)	1 (9)	1 (9)	0 (5)	0 (5)	0 (5)

A metodologia de superfície de resposta foi utilizada para verificar a melhor eficiência de

sacarificação e a percentagem de açúcares solúveis extraídos no pré-tratamento. Além da sacarificação foi determinado o rendimento mássico, ou seja, a fração sólida restante após a separação da fase líquida, e a relação de sólidos solúveis (°Brix)/g biomassa, que reflete o quanto de material solúvel foi obtido na fração líquida em função da quantidade de biomassa usada.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A secagem do resíduo durou em torno de 18 horas, com uma perda de umidade em torno 85%. A caracterização físico-química, mostrada na Tabela 2, indicou um elevado teor de carboidratos, levando-se a supor uma significativa conversão a etanol. O teor de carboidratos, aliado ao percentual de fibra bruta, reflete um pedaço da fração lignocelulósica dessa biomassa. Retore *et al.* (2010), avaliando a composição da polpa de citrus, encontraram valores de 7,65, 21,08 e 4,92% de hemicelulose, celulose e lignina, respectivamente, 7,93% de proteína bruta, 8,57% de cinzas e 3,44% de lipídeos.

Tabela 2 – Caracterização físico-química do bagaço de laranja desidratado e moído.

Fibra (%)	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteína (%)	Lipídeos (%)	Carboidratos (%)	Pectina (%)
12,23±2,95	10,05±0,10	3,46±0,07	3,38±0,69	1,74±0,28	69,14	12,03±0,55

Cortez et al. (2010) citam que o pré-tratamento em ácido sulfúrico diluído hidrolisa grande parte da fração hemicelulósica para o meio, o qual, dependendo das concentrações de ácido empregadas, também libera celulose, em maior ou menor grau, além de outros componentes, como a pectina e proteínas hidrossolúveis.

A liberação de açúcares, constatada na fração líquida após o pré-tratamento, esteve entre 27 e 62%, mostrando a forte influência das variáveis analisadas no processo de sacarificação (Figura 1). Com isso, percebe-se que, além da fração hemicelulósica e pectica, uma porção de outro carboidrato, provavelmente celulose, também foi liberada no processo.

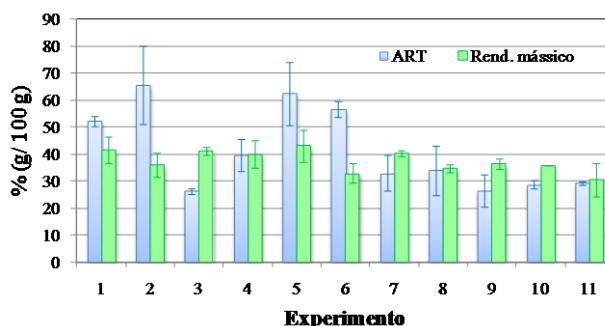


Figura 1 – Sacarificação dos açúcares e rendimento mássico após pré-tratamento.

O rendimento mássico, também ilustrado na Figura 1, variou entre 30 e 40%, não sendo uma faixa tão significativa quanto à obtida pelos açúcares. Entre os ensaios avaliados, o de maior liberação

de açúcares para a fração líquida e rendimento mássico foi o experimento 5, ou seja, menor tempo de pré-tratamento (15 min), menor concentração de biomassa (1 g/100 mL) e maior concentração de ácido (5 mL/100 mL).

A deradação dos açúcares pode ser influenciada pela presença do ácido, altas temperaturas e tempo de exposição prolongado, também gerando compostos inibidores do posterior processo de fermentação, dentre os quais hidroximetilfurfural (HMF) e furfural (Mosier *et al.*, 2005).

As interações entre as variáveis independentes do planejamento e os efeitos linear (L) e quadrático (Q) são ilustradas nos gráficos de pareto, apresentados na Figura 3. Os coeficientes de regressão e correlação, bem como os erros padrão dos planejamentos experimentais, teste t e p-valor, considerando-se 5% de significância, são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 – Coeficientes de regressão e erros padrão do planejamento fatorial.

Tratamento	Variáveis	Efeito	R ²	Erro padrão	t (3)	p-valor
ART	Média *	28,1267	0,99533	1,086049	25,8982	0,000126
	Tempo (min) (L) *	5,4200		1,330133	4,0748	0,026680
	Tempo (min) (Q) *	36,2067		2,547010	14,2154	0,000754
	C _{ácido} (%) (L)	0,5750		1,330133	0,4323	0,694721
	C _{biomassa} (%) (L) *	-26,0600		1,330133	-19,5920	0,000291
	1 L x 2 L *	-7,8050		1,330133	-5,8678	0,009872
	1 L x 3 L	1,7200		1,330133	1,2931	0,286550
	2 L x 3 L	-0,1350		1,330133	-0,1015	0,925562
Rendimento mássico	Média *	34,25688	0,87397	1,489465	22,99945	0,000180
	Tempo (min) (L)	-5,57320		1,824215	-3,05512	0,055205
	Tempo (min) (Q)	8,95786		3,493106	2,56444	0,082893
	C _{ácido} (%) (L)	-1,90189		1,824215	-1,04258	0,373767
	C _{biomassa} (%) (L)	0,71476		1,824215	0,39182	0,721367
	1 L x 2 L	-2,36686		1,824215	-1,29747	0,285230
	1 L x 3 L	2,25998		1,824215	1,23888	0,303486
	2 L x 3 L	-1,20418		1,824215	-0,66011	0,556339
° Brix/ g biomassa	Média *	1,71988	0,9965	0,139198	12,3557	0,001142
	Tempo (min) (L) *	0,57037		0,170482	3,3456	0,044202
	Tempo (min) (Q) *	2,04538		0,326447	6,2656	0,008206
	C _{ácido} (%) (L) *	2,89927		0,170482	17,0064	0,000443
	C _{biomassa} (%) (L) *	-3,29990		0,170482	-19,3564	0,000301
	1 L x 2 L	0,22302		0,170482	1,3082	0,282020
	1 L x 3 L	0,06010		0,170482	0,3525	0,747751
	2 L x 3 L *	-2,00333		0,170482	-11,7510	0,001324

* fatores estatisticamente significativos (95% confiança) 1 – Tempo (min) 2 – C_{ácido} (%) 3 – C_{biomassa} (%)

A Figura 2 apresenta o perfil da liberação dos sólidos solúveis para a fração líquida devido à hidrólise ou quebra do material pelo aquecimento em meio ácido. Percebeu-se que, independente da temperatura, baixa concentração de biomassa e alta concentração de ácido geraram quantidades elevadas de substâncias dissolvidas em relação à biomassa utilizada em cada experimento.

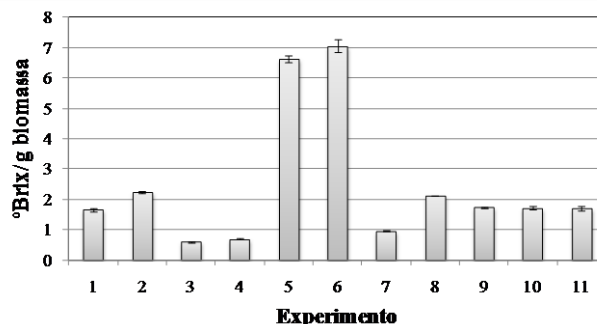


Figura 2 – Sólidos solúveis na fração líquida obtidos após cada pré-tratamento.

A Figura 3 indica que uma menor concentração de biomassa e maior tempo de processo utilizados no pré-tratamento permitem maior liberação de açúcares e de sólidos dissolvidos para a fração líquida. Para o rendimento mássico, nenhuma variável teve, ao nível de 95% de confiabilidade, influência significativa, mas houve uma tendência de o menor tempo de processamento influenciar estatisticamente o aumento do mesmo. Quanto às interações, as mesmas permitiram maiores coeficientes de correlação. Para o aumento de açúcares na fase líquida, a interação entre o tempo e a concentração de ácido têm efeito negativo, o mesmo encontrado para as concentrações de ácido e biomassa na liberação de sólidos dissolvidos na fração líquida.

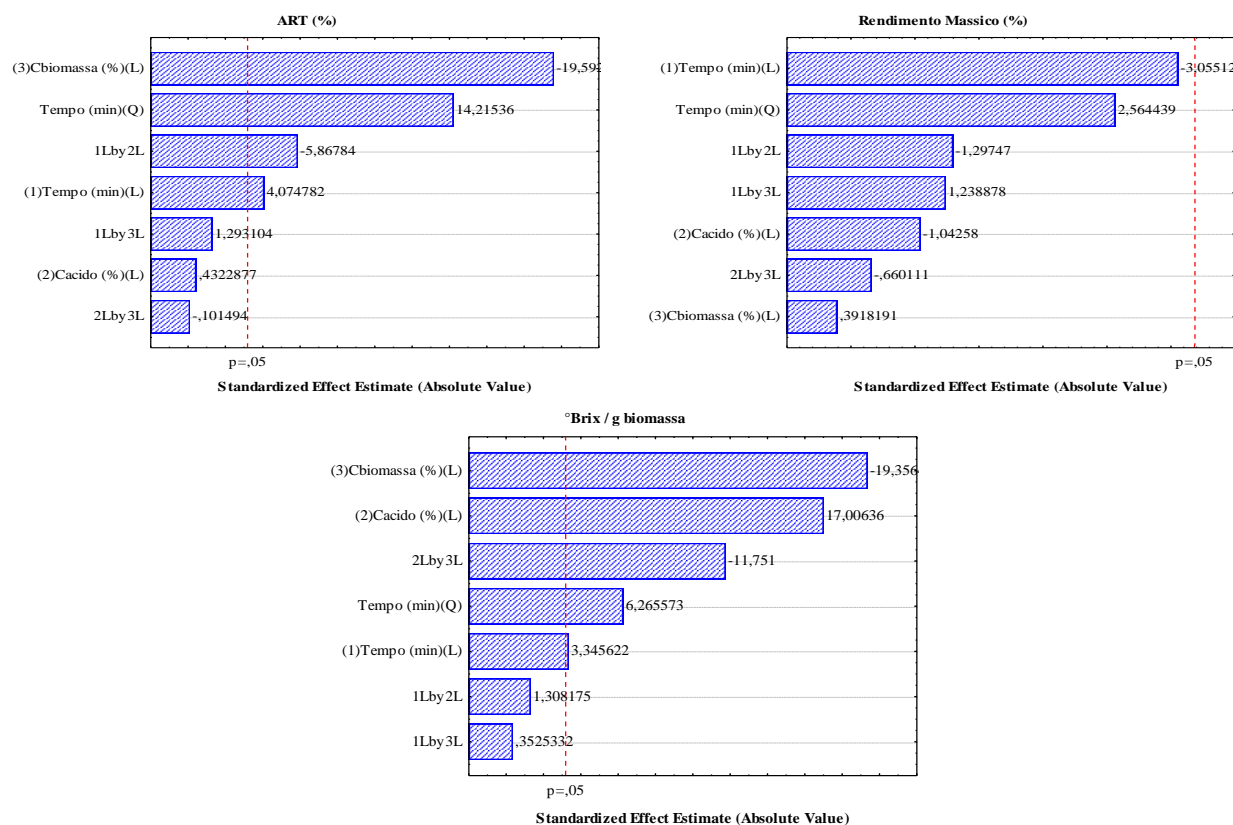


Figura 3 – Análise de Pareto com efeitos de interação, linear e quadrático.

Estudos complementares para avaliar a hidrólise enzimática da fração sólida e sua fermentescibilidade, bem como caracterização dos açúcares a partir de análise em HPLC ajudará a fornecer dados mais precisos de sacarificação e recuperação de açúcares.

No entanto, os resultados obtidos indicam que a melhor condição de processo seria a de maior rendimento máximo, ou seja, um pré-tratamento por 15 min, a 120°C e 1 atm, com baixas concentrações de biomassa e de ácido.

4. CONCLUSÕES

O resíduo possui um alto teor de carboidratos. O pré-tratamento gerou altas taxas de sacarificação, influenciadas pela concentração da biomassa e tempo de aquecimento, além de rendimento mássico de 30 a 40% e quantidade de sólidos solúveis na fração líquida dependente, oposta e linearmente, das concentrações de biomassa e ácido, bem como do tempo de pré-tratamento. Estudos posteriores de hidrólise e fermentação da fração sólida deverão fornecer dados mais precisos sobre a melhor condição de estudo.

5. REFERÊNCIAS

- AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th ed., Gaithersburg: Ed. William Horwitz, 2002.
- ARTEAGA, G. E., LI-CHAN, E., VAZQUEZ-ARTEAGA, M. C., & NAKAI, S. Systematic experimental designs for product formula optimization. *Trends in Food Science and Technology*, v. 5, p. 243–254, 1994.
- CARVALHO, H. H.; JOMG, E. V.; BELLO, R. M. *Alimentos: Métodos físicos e químicos de análises*. 1 ed. Porto Alegre: Universidade/UFRGS, 2002. 180 p.
- CORTEZ, L. A. B. *Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade*. São Paulo: Blucher, 2010.
- FAN, L. T.; LEE, Y. H.; GHARPURAY, M. M., The nature of lignocellulosics and their pretreatments for enzymatic hydrolysis. *Advances in Biochemical Engineering*, v. 23, p. 157-187, 1982.
- GARCÍA-CUBERO, M. T.; BELLIDO, C.; BOLADO, S.; COCA, M.; LUCAS, S.; GONZÁLEZ-BENITO, G. Effect of inhibitors formed during wheat straw pretreatment on ethanol fermentation by *Pichia stipitis*. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 10868-10874, 2011.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Métodos físico-químicos para análises de alimentos*, 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005, 1018p.
- LEE, J. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *Journal of Biotechnology*, v. 56, p. 1-24, 1997.
- LENNARTSSON, PATRIK R; YLITERVO, PÄIVI; LARSSON, CHRISTER; EDEBO, LARS; TAHERZADEH, MOHAMMAD J. Growth tolerance of zygomycetes *Mucor indicus* in orange peel

hydrolysate without detoxification. *Process Biochemistry*, v. 47, n. 5, p. 836-842, 2012.

LYND, L. R. Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass: technology, economics, the environment, and policy. *Annual Review of Energy and the Environment*, v. 21, p. 403-465, 1996.

MARINELLI, P. S.; DORTA, C.; MILLER, F.; CALDEIRAO, L. Obtenção de açúcares fermentescíveis a partir da casca de laranja e bagaço de cana-de-açúcar. *Revista Analytica* (São Paulo), v. 10, p. 50, 2012.

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

NEVES, M. F. ; TROMBIN, V. G. ; MILAN, P. ; LOPES, F. F. ; PEREIRA, F. C. ; KALAKI, R. B. . *O retrato da citricultura brasileira*. 1. ed. Ribeirão Preto: , 2010. v. 1. 137p .

PEREIRA JR, N. *Produção de bioetanol de materiais lignocelulósicos: Tendências & Desafios* (IV Seminário de Pesquisa FTC). 2007.

RABELO, S. C., *Avaliação de desempenho do pré tratamento com peróxido de hidrogênio alcalino para a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2007.

RETORE, M.; SILVA, L. P.; TOLEDO, G.S.P; ARAUJO, I.G. Efeito da fibra de co-produtos agroindustriais e sua avaliação nutricional para coelhos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 62, n.5, p. 1232-1240, 2010.

REZZADORI, K.; BENEDETTI, S. Proposições para valorização de resíduos do processamento do suco de laranja. In: *International Workshop Advances in Cleaner Production*, mai. 2009, São Paulo.

SANTOS, M. F. R. F.; BORSCHIVER, S; COUTO, M. A. P. G. iniciativas para o uso da biomassa lignocelulósica em biorrefinarias: a plataforma sucroquímica no mundo e no Brasil. *Economia & Energia*, n. 82, jul/set 2011

SOUSA, L. C.; CHUNDAWAT, S. P. S.; BALAN, V.; Dale, B. E.; ‘Cradle-to-grave’ assessment of existing lignocelluloses pretreatment technologies. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 20, p. 339-347, 2009.

WINTON, A. L.; WINTON, K. B. *Analysis de Alimentos*. 2 ed. Barcelona: Hasa, 1958. 1205 p.