

**PRODUÇÃO DE BIOETANOL A PARTIR DO EMPREGO DE RESÍDUOS DE CERVEJARIA E CASCAS DE CACAU**Gabriel A. Garcia<sup>1</sup>, Frederico P. Lôbo<sup>1</sup>, Elizama A. de Oliveira<sup>2</sup>

1. Estudante do curso de Engenharia Química da Universidade Estadual de Santa Cruz/Bahia (UESC/BA)
2. Orientadora: Professora do Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas da Universidade Estadual de Santa Cruz (DCET/UESC)

**Resumo**

As atividades agrícolas e industriais relacionadas a produção de alimentos e bebidas geram naturalmente, uma grande quantidade de resíduos cuja composição de carboidratos é composta por celulose, hemicelulose, pectina, amido, mucilagem, etc. Esses resíduos podem ainda, por meio de hidrólise controlada (sacarificação) resultar em um meio rico de açúcares fermentescíveis que podem ser direcionados para novos processos. Este trabalho, teve por objetivo obter bioetanol partindo de um estudo prévio de análise das condições de hidrólise - termo-ácida e enzimática - de 10 g de uma mistura 1:1 (p:p) de dois resíduos agroindustriais (bagaço de malte e cascas de cacau), e, posteriormente, analisou-se a influência de cada biomassa na obtenção de açúcares fermentescíveis, variando sua proporção de 9:1 e 1:9 e assim, empregando o meio rico em açúcares redutores (AR, expressos em glicose) obtidos para produção de etanol. Utilizando as condições de tempo de autoclavagem (15 min), cargas enzimáticas (10 U/g), pH (4,0), temperatura (60 °C) e tempo de reação enzimática (30 min) previamente estabelecidos, neste trabalho foram investigados os fatores: volume de solução de HCl e sua concentração em uma matriz DCC 2<sup>2</sup> obtendo os valores de otimização para o volume de HCl (190 mL) na concentração de (0,5% v/v). Sob essas condições, foi possível obter uma concentração de açúcares redutores de 224,37 µmol/g, com 6,6 °Brix e uma redução de massa de 52,8%. Para proporção 9:1 (bagaço de malte:casca de cacau), obteve-se 201,67 µmol/g de açúcar redutor, com 6,2 °Brix e perda de peso após hidrólise de 36,88%. Já nas condições sem a presença de complexo enzimático, teve-se em média 22,47 µmol/g de AR com 3,1 °Brix e percentual de perda de massa de 46,82%. O meio sacarificado foi fermentado por *Saccharomyces cerevisiae* CA-11, e, para 150 mL de meio sacarificado nas melhores condições, após fermentado e destilado, foram obtidos em média 4,6 mL de bioetanol conferindo um aproveitamento de meio sacarificado de 3% (v/v), com redução de biomassa residual de em média 57%. Desta forma, este presente trabalho teve seu objetivo alcançado.

**Palavras-chave:** Hidrólise; Bioetanol; Resíduos agroindustriais

**Apoio financeiro:** CNPq- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

**Trabalho selecionado para a JNIC:** UESC.

**Introdução**

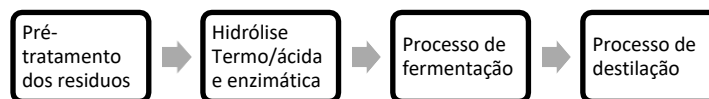
Um aumento crescente na produção de resíduos agroindustriais é recorrente no cenário industrial atual. A geração de resíduos está ligada ao desperdício, às perdas na produção e no consumo, e aos materiais que gerados ao longo da cadeia agroindustrial, não possuem valor econômico agregado. Nesse contexto, destaca-se a produção de resíduos sólidos lignocelulósicos e/ou amiláceos como cascas, aparas, sementes, etc. provenientes do beneficiamento de vegetais e suas partes. Mais especificamente, citamos as cascas de cacau como um dos primeiros resíduos formados na produção de chocolate e o bagaço de malte como o resíduo de maior quantidade formado na fabricação da cerveja.

Partindo disto, vários materiais têm sido propostos para a produção de bioetanol. Este presente trabalho oferece uma alternativa relacionada ao aproveitamento destes resíduos, a partir de métodos de hidrólise afim de se obter açúcares fermentescíveis, transformando-se em bioetanol.

## Metodologia

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Microbiologia Aplicada a Agroindústria- LABMA (UESC) e os resíduos bagaço de malte e casca de cacau foram obtidos de produtores da região entre Ilhéus-Itabuna (Bahia). A metodologia pode ser simplificada no Figura 1 apresentado abaixo:

**Figura 1-** Fluxograma da metodologia utilizada no trabalho.



- **Pré-tratamento dos resíduos:**

Estes resíduos foram obtidos e secos em estufa (Thoth) a 70 °C até peso constante. Após a secagem as cascas de cacau foram trituradas em moinho de facas (TRF 400, Trap) e reservados em recipientes separados, fechados e armazenando-os em temperatura ambiente.

- **Hidrólise termo/ácida e enzimática:**

As hidrólises foram realizadas em uma fração de 10 g, primeiramente na proporção 1:1 (p/p), sendo 5 g de casca de cacau e 5 g de bagaço de malte, sendo determinadas as melhores condições, avaliou-se também a influência de cada resíduo na obtenção de açúcares fermentescíveis e hidrólise de massa, variando nas proporções 9:1 e 1:9 (p/p), de bagaço de malte e casca de cacau, respectivamente. Analisou-se também os efeitos da concentração e volume de ácido clorídrico (HCl), com o auxílio de uma matriz do tipo Delineamento do Composto Central (DCC) 2<sup>2</sup>, variando o volume entre 150 mL – 190 mL, e a concentração de 0,0 % - 0,5 %, onde obteve-se como valor de otimização 190 mL de HCl, na concentração de 0,5 % (v/v).

Baseando-se em Ravidran et.al. (2018) e com posse dos dados obtidos na matriz DCC 2<sup>2</sup> para volume e concentração de HCl servindo de complemento para os parâmetros encontrados em Lôbo (2019). Realizou-se primeiramente hidrólise termo/ácida, adicionando 190 mL de HCl na concentração de 0,5% (v/v) misturando primeiramente aos resíduos na proporção de (1:1, p/p) e para avaliar os efeitos da proporção, também realizou-se a análise na proporção (9:1, p/p) e (1:9, p/p), seguindo para autoclavagem (121°C) por 15 minutos. Finalizado este tempo, os resíduos foram resfriados em banho de gelo até temperatura ambiente, seguindo para etapa subsequente de hidrólise enzimática.

A hidrólise enzimática foi realizada com dois complexos enzimáticos de  $\alpha$  e  $\beta$  amilase, sendo elas a Maltezyne HT (1) e a Star Max Super Beer (2). Primeiramente ajustou-se o pH para 4,0 com NaOH (40% p/v), a partir disso receberam uma carga enzimática de 10 U/g da solução enzimática (1), satisfazendo a proporção desejada de U<sub>1</sub> por g de resíduo em seguida será adicionada a solução enzimática (2) na mesma atividade de 10 U/g, satisfazendo a proporção de U<sub>2</sub> por g de resíduo, deixando-as reagir por 30 minutos e temperatura de 60°C. Essa etapa ocorre sob agitação fixa de (150 rpm) e os erlenmeyers foram tampados com papel alumínio, afim de que se evite evaporação para o meio. Feita a hidrólise, o erlenmeyer foi levado ao banho em ebulição por 10 minutos, inativando as enzimas. Resfriou-se até temperatura ambiente, realizando uma filtração a vácuo em papel de filtro para separação de resíduos sólidos sendo lavados 1-2 vezes com 10 mL de água destilada para remoção de compostos solúveis, o volume coletado da parte líquida ( $V_{hid}$ , mL) servirá para análise de açúcares redutores (AR,  $\mu\text{mol/g}$ ) que pode ser obtida com o uso da Equação 1, onde a partir da curva de glicose tem-se coeficiente angular (a) e a absorbância (abs) foi lida a 540 nm em espectrofotômetro (Bel, SP 92000 UV), os termos  $f_{DNS}$  e  $f_{DNS}$  são fatores de diluição caso seja necessário diluir a amostra,  $V_{hid}$  e m, são valores fixados, 150 mL e 10 g respectivamente. A parte insolúvel foi seca em estufa (70°C até peso constante) e pesado obtendo-se a ( $m_f$ , g) para determinação da redução da massa de resíduos com a hidrólise:  $[(R_{hid}) \times 100\%]$ , sendo a razão da massa final sobre a inicial, podendo ser obtida a partir da Equação 2.

$$AR \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{g}} \right) = (abs) \cdot (a) \cdot [(f_{DNS}) \cdot (f_{dil})] \cdot \frac{(V_{hid})}{(m)} \quad (01)$$

$$R_{hid}(\%) = \left( \frac{m_f}{m} \right) \cdot 100\% \quad (02)$$

- **Processo de Fermentação:**

Realizados os processos de hidrólise, faz-se a fermentação deste meio, com a adição de 0,5% (p/v) de levedura liofilizada do tipo *Saccharomyces Cerevisiae* CA-11, sendo levado a incubadora tipo Shacker por 30 minutos e com agitação constante de 100 rpm, com temperatura de 60°C por 18 horas. Quando finalizado o tempo de incubação o meio é filtrado, separando a parte insolúvel da parte solúvel, sendo interesse principal a parte solúvel para medida de °Brix principalmente.

- **Processo de Destilação:**

Esta etapa consiste na purificação do meio, afim de que se retirem compostos voláteis da sua composição, permanecendo apenas o etanol, que é o produto de interesse. Utilizou-se a técnica de destilação de bancada. O sistema opera com o material a ser destilado sendo colocado em um balão volumétrico sobre uma manta aquecedora ou bico de Bunsen, sabendo que cada fração contém uma faixa de temperatura para ebulição e conhecendo a do bioetanol que segundo Dias (2011) tem que ser mantida em torno de 81 - 85 °C, o material é aquecido e ao atingir a temperatura de ebulição segue em forma de vapor para o condensador onde é resfriado e transformado em líquido, seguindo para uma vidraria coletora (Becker, Proveta) onde poderá ser aferido o volume de álcool obtido.

## Resultados e Discussão

- **Análise dos efeitos da proporção de bagaço de malte e casca de cacau**

Para determinar qual resíduo contribui de maneira mais efetiva na obtenção de açúcares fermentescíveis, foi realizada a hidrólise termo-ácida e enzimática, variando as proporções entre o bagaço de malte e casca de cacau em 9:1 (p/p) e 1:9 (p/p). Os resultados em termo de açúcares redutores, °Brix e razão de massa hidrolisada é analisado na Tabela 1.

Tabela 1- Concentração de açúcares redutores ( $AR$ ), teor de sólidos solúveis (°Brix) e razão de hidrólise ( $R_{hid}$ ) para diferentes proporções de bagaço de malte (BM) e casca de cacau (CC).

BM:C	Respostas		
	$AR$ ( $\mu\text{mol/g}$ )	°Brix	$R_{hid}$ (% p/p)
1:9	172,12	4,0	45,18
9:1	<b>201,67</b>	<b>6,2</b>	<b>36,88</b>

Fonte: Autor.

Pode-se observar que quando se tem uma maior presença de bagaço de malte, tem-se uma maior quantidade de açúcares redutores com potencial para obtenção de bioetanol. A proporção de bagaço de malte 9:1 (p/p) obteve 85,35 % mais açúcares fermentescíveis em comparação com a maior proporção de casca de cacau 1:9 (p/p) casca de cacau, resultando em uma média de 201,67  $\mu\text{mol/g}$  de açúcares redutores, 6,2 °Brix e  $R_{hid}$  de 36,88 %. Esse resultado pode ser explicado segundo Silva (2018), que apresenta a estrutura lignocelulósica da casca do cacau em sua composição para algumas espécies, possuindo em torno de 25 % de lignina, enquanto no bagaço de malte a presença de lignina segundo Santos et.al. (2015), é em torno de 7 % variando de acordo como o grão é cultivado. Desta forma, existe a presença maior de celulose e hemicelulose no bagaço de malte, acarretando em uma hidrólise mais efetiva e obtendo assim um maior número de açúcares redutores. Outro fato que ocorre, é o impedimento da lignina no processo de hidrólise, visto que a mesma envolve a celulose e a hemicelulose, essa faz um papel de proteção e isso dificulta a ação das enzimas  $\alpha$  e  $\beta$ -amilase no processo de sacarificação, justificando assim, o percentual maior de açúcares redutores para o bagaço de malte.

- **Obtenção de Bioetanol**

Foram realizadas três destilações do meio sacarificado, nas melhores condições estabelecidas, podendo ser melhor analisado na tabela 2, abaixo:

Tabela 2- Valores obtidos da produção de bioetanol em cada destilação

Destilações	Volume de Bioetanol (mL)	$R_{hid}$ (% p/p)
1ª	4,0	55,8
2ª	5,3	56,8
3ª	4,6	58,4
<b>Média</b>	4,6	57

Fonte: Autor.

Para 150 mL de meio sacarificado, representando em torno de 3 % (v/v) etanol de segunda geração obtido. Resultado esse que pode parecer baixo a *priori*, porém, se considerado em proporções industriais, vêm a ser uma boa alternativa para o reaproveitamento desta biomassa residual, cabe destaque também a redução

da biomassa residual, com média de 57 %.

### Conclusões

A partir deste estudo, observou-se a potencialidade dos resíduos (casca de cacau e bagaço de malte) como substrato para obtenção de açúcares fermentescíveis com alto potencial para produção de bioetanol. Ao analisar os dados obtidos, chega-se à conclusão de que estes resíduos que são diariamente descartados de forma incorreta e subaproveitados em processos industriais, podem ser aproveitados na obtenção de produtos de alto valor agregado.

Comprova-se também, a alta taxa de conversibilidade dos processos de hidrólise, na sacarificação de compostos lignocelulósicos. Sendo uma alternativa viável para redução desta biomassa, visto que mais de 50% de substrato que seria descartado no meio ambiente - como tem sido feito no cenário industrial atual - seja reaproveitado.

### Referências bibliográficas

AGUIAR, C. M. **Hidrólise enzimática de resíduos lignocelulósicos utilizando celulasas produzidas pelo fungo *Aspergillus niger***. 2010. p. 106. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Unioeste, Toledo, 2010.

AGUIAR, R.R. **PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2017

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cadeia produtiva da agroenergia** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Política Agrícola, Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura; Buainain, A. M. e Batalha, M. O. (coordenadores), Brasília: IICA:MAPA/SPA, 112 p. 2007.

LÔBO, Frederico Pereira. **Sacarificação do bagaço do malte e casca de cacau para produção de cerveja**. 2019. TCC apresentado (Graduação- Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz. Ilhéus/BA. 2019.

PEREIRA, Jr. N.; COUTO, M. A. P. G.; SANTA ANNA, L. M. M. **Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and the context of biorefinery**. v. 2. 1ª Ed. Rio de Janeiro: Series on Biotechnology - UFRJ, 2008. p. 45.

PINHEIRO, I. R. ; Silva, R. **REAPROVEITAMENTO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS DA INDÚSTRIA CACAUEIRA**: Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química Universidade Federal do Espírito Santo: Blucher Proceedings, 2016. Mensal.

RAVIDRAN, R.; Jaiswal, S.; Abu-Ghannam, N.; Jaiswal, A.K. A comparative analysis of pretreatment strategies on the properties and hydrolysis of brewers' spent grain. *Bioresource Technology* 248 (2018) 272–279. doi:10.1016/j.biortech.2017.06.039.

SANTOS, Normandia de Jesus Brayner dos ; FRANÇA, Verônica; SANTOS, Mário Jorge Campos dos. **ASPECTOS AMBIENTAIS NO PROCESSO DE RECICLAGEM DE RESÍDUOS SÓLIDOS NO ÂMBITO DE UMA CERVEJARIA**; Programa de Pós-graduação em Ciência da Propriedade Intelectual, Universidade Federal de Sergipe, 2015.

SILVA, J.O.V.; Almeida, M.F.; Alvim-Ferraz, M.C.; Dias, J.M. Integrated production of biodiesel and bioethanol from sweet potato, *Renewable Energy*, Available on line since July 11th, 2017. doi:10.1016/j.renene.2017.07.052

SILVA, Mariane Daniella da. Produção de etanol de segunda geração por *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 26602 a partir da hidrólise ácida de sabugo de milho (*Zea mays* L.). 2018. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia e Ciência de Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Universidade Estadual Paulista- Unesp, São José do Rio Preto, 2018.

SILVA, N. L.C. Produção de bioetanol de segunda geração a partir de biomassa residual da indústria de celulose. Dissertação apresentada Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências (M.Sc). Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.