



ESTUDO DA REMOÇÃO DE INIBIDORES NO LICOR PRÉ-HIDROLISADO DO BAGAÇO DO PEDÚNCULO DO CAJU PARA PRODUÇÃO BIOTECNOLÓGICA

F. C. S. Lima¹, F. L. H. da Silva²; J. P. Gomes³; M. B. Muniz³

1- Departamento de Engenharia Processos – Instituto Federal de Pernambuco – Campus Belo Jardim

Av. Aprígio Veloso, 882, PB – CEP: 58.429-140 – Campina Grande – PB – Brasil

Telefone: (55-83) 3726-1519 – Fax: (55) 83 99336368 – Email: flavia.c.7@hotmail.com

2- Departamento de Engenharia Química – Centro de Tecnologia – Universidade Federal da Paraíba

Campus Universitário I, CEP: 58051-900 João Pessoa – PB – Brasil

Telefone: (55 83) 3216-7119 - Fax: (55) 83 3216-7179 – Email: flavioluizh@yahoo.com.br

3- Departamento de Engenharia Agrícola – Centro de Tecnologia – Universidade Federal de Campina Grande

Campus Universitário I, CEP: 58051-900 Campina Grande – PB – Brasil

Telefone: (55 83) 2101-1519 - Fax: (55) 83 2101-1273 – Email: josivanda@gmail.com

RESUMO: No processo de fermentação biotecnológica é fundamental se reduzir os compostos que inibem o metabolismo microbiano, de maneira que se obtenha uma boa atividade fermentativa. Estes compostos são derivados da degradação parcial da lignina e açúcares, durante a pré-hidrólise ácida de resíduos lignocelulósicos. A inibição da fermentação é causada pela concentração desses compostos no meio fermentativo, mesmo em baixas concentrações, devido à interação sinérgica entre eles. Neste trabalho, o principal objetivo foi avaliar o estudo sobre a remoção dos inibidores da fermentação do licor pré-hidrolisado de bagaço do pedúnculo do caju com a utilização de adsorventes (vermiculita, bentonita, cal e lignina residual), visando sua destoxificação. Definir o melhor adsorvente a ser empregado e verificar segundo a matriz de planejamento fatorial do tipo 2³, a influência da massa do adsorvente, pH e tempo de contato sobre as reduções das concentrações de HMF e furfural, para posterior utilização na produção biotecnológica de xilitol.

PALAVRAS-CHAVE: adsorventes; pré-hidrolise; pedúnculo de caju.

ABSTRACT: In biotechnological fermentation, process is critical to reduce compounds that inhibit microbial metabolism, to obtain a good fermentation activity. These compounds are derived from the partial degradation of lignin and sugars during the acid prehydrolysis of lignocellulosic wastes. Inhibition fermentation caused by the concentration of these compounds in the fermentation even at low concentrations, due to the synergistic interaction between them. In this paper, the main purpose was to evaluate the study on removal fermentation inhibitors of prehydrolyzed hemicellulosic liquor from cashew apple bagasse with the use of adsorbents (vermiculite, bentonite, lime and residual lignin), for their detoxification. Setting the best adsorbent to be used and verifying matrix according to factorial design 2³, the influence of mass, pH and contact time on the parameters HMF and furfural, for later use in biotechnological production of xylitol.

KEYWORDS: adsorbents; prehydrolysis; cashew apple.



1. INTRODUÇÃO

Os resíduos agroindustriais lignocelulósicos são constituídos por compostos orgânicos que podem ser empregados em bioprocessos, em virtude destes materiais representarem uma abundante fonte de açúcares. As características específicas das técnicas para o uso destes materiais estão relacionadas com sua constituição, composta em maior quantidade de açúcares contidos nas frações celulósica (glicose) e hemicelulósica (xilose, arabinose, glicose, manose e galactose) sendo considerada uma alternativa promissora, atraindo pesquisas que possam utilizá-las como substratos na produção de xilitol por via fermentativa.

Segundo Pinho (2011), dentre as diferentes biomassas que compõem os materiais lignocelulósicos o bagaço do pedúnculo do caju se destaca por ser um subproduto da indústria brasileira, com uma produção estimada em torno de 2 milhões de toneladas/ano e aproveitamento total de apenas 20%, havendo um desperdício de 80%. Deste modo, o bagaço do pedúnculo do caju é um abundante resíduo agroindustrial, que apresenta em sua composição, em média, 24,6% de celulose, 15,1% de hemicelulose e 24,6% de lignina (Silva Neto *et al.*, 2011).

Para que resíduos lignocelulósicos sejam bioconvertidos, é necessária a utilização de pré-tratamentos, que liberem os açúcares fermentescíveis existentes na composição destes materiais (Lima *et al.*, 2011).

No pré-tratamento ácido, este procedimento consiste na utilização de ácidos diluídos para que ocorra a hidrólise parcial da fração hemicelulósica mais susceptível ao tratamento ácido, Aguilar *et al.* (2002). Também chamado de pré-hidrólise é um processo que emprega condições menos severas, alcançando elevados rendimentos de conversão de xilanas à xilose, além de apresentar vantagens por ser menos corrosivo, tóxicos e perigosos se comparado ao emprego do ácido concentrado, Sun e Cheng (2002).

O licor hidrolisado obtido por tal reação contém açúcares constituintes, principalmente, da hemicelulose, como também é comum ocorrer a formação de compostos tóxicos ao processo de fermentação (ácido acético, HMF e furfural). Assim se faz necessário um tratamento adequado que minimizem estes efeitos, no licor resultante da

pré-hidrólise, que será matéria-prima no processo de fermentação para produção de xilitol.

Vários métodos de desintoxicação têm sido empregados e estudados, tais como: a neutralização, a adsorção com carvão ativo e o uso de resinas de troca iônica são os mais empregados, Rossel (2007); Camargo (2005). No entanto, a capacidade de adsorção de compostos varia com as condições de adsorção e com o tipo de adsorvente empregado. Assim, o principal objetivo deste trabalho foi avaliar o a remoção dos inibidores da fermentação do licor pré-hidrolisado hemicelulósico de bagaço do pedúnculo do caju (furfural e hidroximetilfurfural-HMF), utilizando-se de 4 adsorventes diferentes (vermiculita, bentonita, cal e lignina residual).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Engenharia Bioquímica no CCT/UFMG/PB. Foi utilizado o bagaço de caju *in natura*, adquirido da indústria de produção de sucos, FRUTNAT, localizada na cidade de Campina Grande/PB.

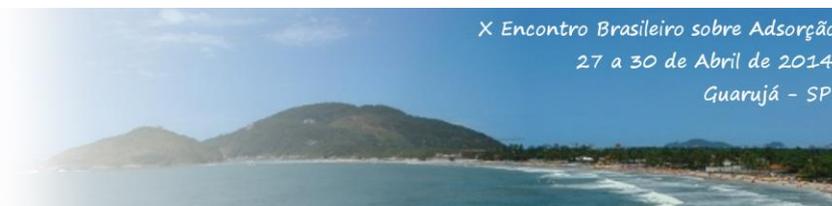
O bagaço foi lavado em água, até atingir ^oBrix próximo de 0. Em seguida, levado em bandejas para secagem em estufa com circulação de ar à temperatura de 55°C por 48 horas. Logo após foi moído em moinhos de facas, peneirado em peneiras de mesh 48 e armazenado em sacos de polipropileno.

2.1 Pré-Hidrólise ácida do bagaço do pedúnculo do caju

Para o pré-tratamento foi utilizado o resíduo de caju em base seca, o qual foi tratado com uma solução de ácido diluído (ácido sulfúrico pureza 95% marca VETEC/PA). O licor da pré-hidrólise foi obtido a 105 °C por 1 h em um reator pressurizado de aço inox com capacidade de 700 mL, utilizando uma razão mássica de 1:6 (100g da amostra/600g de H₂SO₄ a 3% v/v).

2.2 Concentração do pré-hidrolisado

O licor pré-hidrolisado foi submetido ao processo de concentração em um evaporador rotativo (Marca Quimis). A temperatura de trabalho do rota-evaporador foi de 70 ± 5 °C com a



finalidade de aumentar o teor de açúcares, principalmente a xilose. O pré-hidrolisado original foi concentrado pela redução de 1/2,5 (FC 2.5) de seu volume inicial.

2.3 Tratamento do pré-hidrolisado

Os ensaios conforme matriz de planejamento fatorial do tipo 2^3 , foram realizados para verificar a influência dos fatores (massa de lignina residual, pH e tempo de contato) sobre as variáveis respostas (concentrações no licor pré-hidrolisado: HMF e furfural), utilizando-se do licor obtido da pré-hidrólise ácida.

Os níveis dos fatores utilizados no planejamento são apresentados na (Tabela 1), em que (-1) e (+1) significam o menor e o maior nível, respectivamente e (0) significa o nível do ponto central; como também a matriz de planejamento fatorial do tipo 2^3 com duplicata no ponto central.

Os níveis reais apresentados na Tabela 1 foram definidos observando-se os estudos de Mussato e Roberto (2004) ao estudarem a otimização do tratamento do hidrolisado de palha de arroz com carvão ativo, visando avaliar o efeito de variáveis como pH, tempo de contato, agitação e temperatura, no processo de destoxificação do hidrolisado.

Para verificar a validação do modelo de regressão linear do planejamento fatorial utilizando-se do adsorvente lignina residual (Tabela 1), realizou-se a adsorção para a remoção de inibidores para facilitar a etapa seguinte de fermentação.

O licor foi então submetido ao processo de remoção (destoxificação) empregando como adsorventes: vermiculita, bentonita, cal e lignina residual. As condições operacionais foram: Massa de 0,65 g/100 mL de licor pré-tratado, em pH de 5,0, mantendo-se a mistura sob agitação a 150 rpm em um equipamento Shaker a 30 °C por 1 h e filtrado a vácuo para eliminação do precipitado conforme Nunes e Conrado (2011). Após definição do adsorvente mais eficiente no processo de destoxificação, foi realizada uma análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV);

Tabela 1. Matriz de planejamento fatorial do tipo 2^3 , com 2 repetições no ponto central, para a avaliação da massa do adsorvente, pH e tempo de contato sobre os inibidores da fermentação

Ensaio	Massa de lignina (g)	pH	Tempo de contato (min)
1	-1 (0,25)	-1(4)	-1(20)
2	+1 (0,65)	-1(4)	-1(20)
3	-1 (0,25)	+1(10)	-1(20)
4	+1 (0,65)	+1(10)	-1(20)
5	-1 (0,25)	-1(4)	+1(60)
6	+ (0,65)	-1(4)	+1(60)
7	-1 (0,25)	+1(10)	+1(60)
8	+1 (0,65)	+1(10)	+1(60)
9	0(0,45)	0(7)	0(40)
10	0 (0,45)	0(7)	0(40)

2.4 Métodos analíticos

O licor pré-hidrolisado foi caracterizado quanto às concentrações de HMF e furfural, através de HPLC equipado com uma bomba modelo ProStar 210 (Varian); Injetor manual com loop de 20 μ L; Detector de índice de refração modelo ProStar 356 (Varian) e UV/visível 284nm (aldeídos); Coluna analítica de aço inox Hi-Plex H (300mm x 7.7 mm; Varian), e as condições das operações foram as seguintes: Temperatura da coluna de 40°C; Fase móvel: água miliQ com vazão de 0.6 mL/min; Tempo de análise: 60 minutos para teores de aldeídos, respectivamente. Soluções padrões interno para HMF (Aldrich 99.98%) e furfural (Vetec 99.9 UV/HPLC) foram utilizadas na quantificação dos componentes do licor.

Neste planejamento experimental se estudaram a influência dos percentuais de remoção dos componentes tóxicos produzidos durante a pré-hidrólise, com as variáveis massa de lignina, pH e o tempo de contato. A partir desses resultados experimentais pôde-se traçar o perfil de adsorção da massa de lignina em função do pH e do tempo de contato para cada experimento.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 verificam-se os valores da resposta percentual de remoção dos compostos tóxicos estudados (HMF e furfural) para os níveis reais e codificados de acordo com a Tabela 1.



Tabela 2. Percentual de remoção dos compostos tóxicos no licor pré-hidrolisado do bagaço do pedúnculo do caju

Ensaio	HMF	Furfural
1	22,22	94,34
2	98,89	92,45
3	83,33	5,66
4	33,33	66,04
5	72,22	98,11
6	98,89	92,45
7	77,78	98,11
8	66,67	20,75
9	92,00	83,02
10	94,44	84,91

Nota-se que o percentual de remoção dos compostos tóxicos variou de 22,22% (experimento 1) a 98,89% (experimento 2 e 6) para HMF e 5,66% (experimento 3) a 98,11% (experimento 5 e 7) para o furfural. Verifica-se também que os pontos centrais apresentaram pequena variação para as respostas indicando boa repetibilidade do processo. Observa-se que o processo de adsorção promoveu, praticamente, remoção total, 100% do HMF e furfural.

Os dados experimentais foram submetidos a uma análise de regressão linear dos dados experimentais; assim foi possível construir modelos empíricos que relacionassem a remoção dos açúcares e inibidores da fermentação com os parâmetros estudados.

Na Tabela 3 se encontram os modelos de regressão linear considerando-se apenas os parâmetros estatisticamente significativos a 95% de confiança e os respectivos coeficientes de determinação (R^2) e o teste F.

Tabela 3. Modelos de regressão linear para variável resposta percentual de remoção, utilizando-se do adsorvente lignina residual

Modelo de regressão	R^2	Teste F
$HMF = 73,98 + 9,73T_c - 20,56_{mLxpH} + 11,11_{mLxpHxTc}$	0,80	1,36
$Furfural = 73,50 - 23,34_{pH} + 6,37T_c - 17,69_{mLxTc} - 16,75_{mLxpHxTc}$	0,86	3,53

De acordo com as equações apresentadas na Tabela 3 constata-se que os modelos lineares são estatisticamente significativos para o HMF e furfural, por apresentarem a razão $F_{calculado}/F_{tabelado}$ maior que 1 (Teste F) (Rodrigues e Iemma, 2009). Verifica-se também que a variável pH exerceu influência significativa sobre o percentual de remoção do furfural quer seja de forma isolada ou por interações com outras variáveis.

O diagrama de Pareto apresenta graficamente os efeitos significativos ao nível de confiança de 95%, Figuras 1 e 2.

Observa-se, na Figura 1, que apenas as interações massa de lignina com pH e massa de lignina com pH e tempo de contato, foram significativas; as outras variáveis estudadas não apresentaram efeitos significativos sobre a resposta percentual de remoção para HMF.

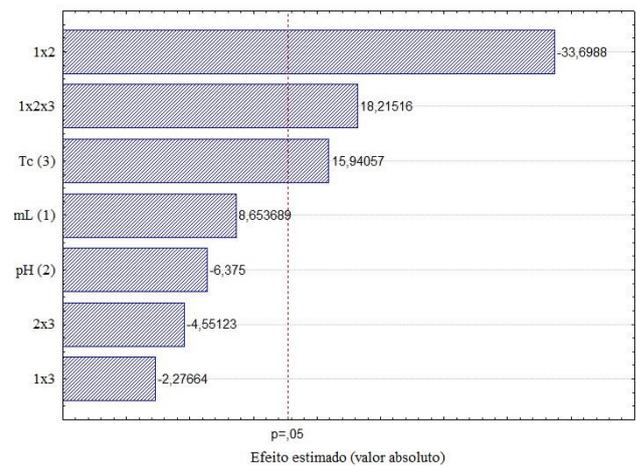


Figura 1. Diagrama de Pareto para percentual de remoção HMF

Verifica-se, na Figura 2, que o efeito principal pH, as interações, massa de lignina com tempo de contato e massa de lignina com pH e tempo de contato, foram significativos; as demais variáveis estudadas não apresentaram efeitos significativos sobre a resposta percentual de remoção para furfural.

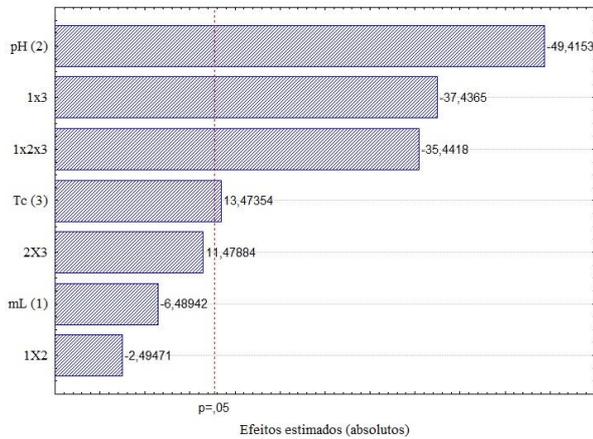


Figura 2. Diagrama de Pareto para percentual de remoção Furfural

Pode ser observado na Figura 3, o processo de adsorção com os diferentes adsorventes

utilizados na destoxificação, operando-se com as variáveis massa e tempo nos níveis do ensaio 6, e pH em 5,0, resultando na remoção dos compostos tóxicos. Para furfural e HMF, todos os tratamentos foram eficientes (acima de 98%) sendo que, dentre eles, a lignina residual (99,93%) apresentou maior eficiência. Verificando-se a comparação entre os resultados do ensaio 6 e os dados da Figura 3, para o adsorvente lignina residual, verifica-se uma diferença de aproximadamente 1,0% e 7% para os inibidores HMF e furfural, respectivamente. A única diferença entre o ensaio 6 e o observado na Tabela 3, foi o pH, que no ensaio 6, foi de 4,0 e na validação foi de 5,0.

Mas, se for utilizado o erro padrão no modelo das equações da Tabela 3, esta diferença está na faixa de variação do erro.

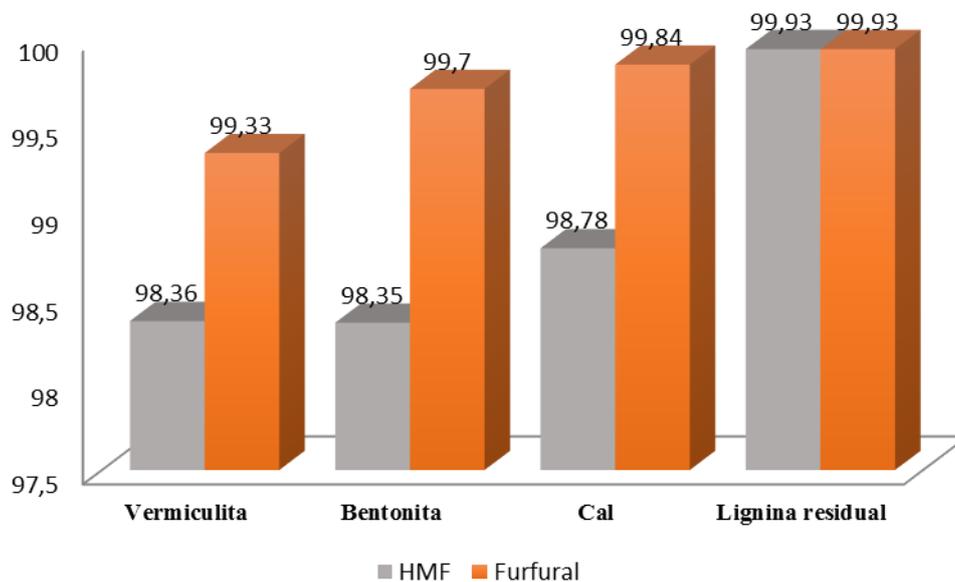


Figura 3. Percentual de remoção dos compostos tóxicos no licor pré-hidrolisado de bagaço do pedúnculo do caju, após o processo de destoxificação para os adsorventes vermiculita, bentonita, cal e lignina residual.



Na Figura 4 observa-se a estrutura física do adsorvente lignina residual.

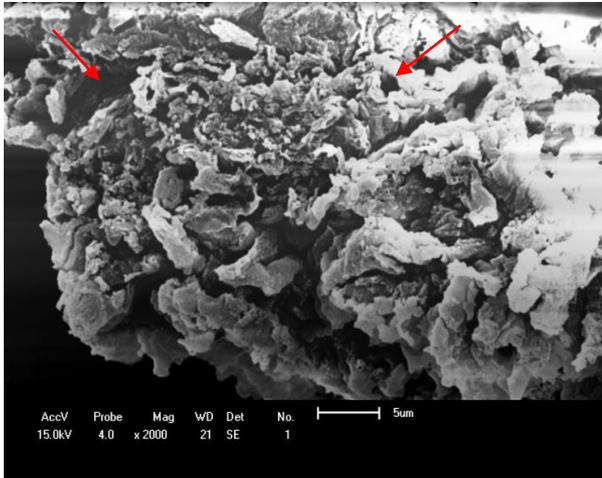


Figura 4. Imagem da microscopia eletrônica de varredura da lignina residual (2000x)

A micrografia da lignina residual, Figura 4, mostra um material com estrutura amorfa, heterogênea, porosa e uma camada opaca (provavelmente devido à alta concentração de massa molar) em suas bordas. Segundo Rabelo et al. (2011) essa textura porosa proporciona, juntamente com a propriedade hidrofóbica, elevada capacidade de adsorção justificando seu emprego para a destoxificação dos hidrolisados.

5. CONCLUSÃO

Para obter, no licor pré-hidrolisado, um maior percentual de remoção das concentrações de HMF e furfural, deve-se operar nas seguintes condições: pH em -1 (entre 4,0 e 5,0) e massa de adsorvente e tempo nos níveis +1, 0,65 g e 1 h, respectivamente. Os adsorventes estudados apresentaram excelentes eficiências na remoção dos inibidores furfural e HMF, sendo a lignina residual pouco superior na eficiência.

6. REFERÊNCIAS

AGUILAR, R.; RAMÍREZ, J. A.; GARROTE, G.; VÁZQUEZ, M. Kinetic study of the acid hydrolysis of sugar cane bagasse. *J. Food Eng.*, v. 5, n. 4, p. 309-318, 2002.

CAMARGO, P. D. Força verde: um novo campo para a indústria química. *Rev. Bras. Eng. Quim.*, p. 18-21, 2005.

COUTINHO, P. L. A.; BOMTEMPO, J. V. Uso de roadmaps tecnológicos para favorecer o ambiente de inovação: uma proposta em matérias-primas renováveis. In: *SIMPOI*, 2010.

LIMA, F. C. S.; SILVA, F. L. H.; LIMA, E. E.; SILVA NETO, J. M.; SILVA, A. S. Estudo de adsorção dos inibidores do licor pré-hidrolisado do bagaço do pedúnculo de caju. In: XVIII Simpósio Nacional de Bioprocessos – SINAFERM, v. CD. p. 1-6, 2011.

MUSSATTO, S. I.; VAZ, A. C. S.; ROBERTO, I. C. Efeito da concentração inicial de xilose na produção de xilitol a partir de hidrolisado de bagaço de malte. In: VIII Encontro Latino-Americano de Iniciação Científica São José dos Campos/SP. *Anais de resumos / CD-ROM de trabalhos completos*, p. 527-530, 2004.

NUNES, B. R. P.; CONRADO, L. S. Remoção de furfural e HMF utilizando argila vermiculita como Adsorvente In: Simpósio Nacional de Bioprocessos – SINAFERM, Caxias do Sul – UCS, *Anais de resumos / CD-Rom.*, p. 1-6, 2011.

RABELO, S. C.; AMEZQUITA FONSECA, N. A.; ANDRADE, R. R.; MACIEL FILHO, R.; COSTA, A. C. Ethanol production from enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse pretreated with lime and alkaline hydrogen peroxide. *Biom. & Bioen.*, p. 2600-2607, 2011.

ROSSELL, C. E. V. III Workshop tecnológico sobre hidrolise para produção de etanol. UNICAMP. Campinas-SP. 2007. Disponível em: <<http://www.inovacao.unicamp.br/etanol/reporthidrolise%20Rossell%20Apresenta%E7%E3o.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2013.

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