



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



MIRELLE MÁRCIO SANTOS CABRAL

**APROVEITAMENTO DA CASCA DO COCO VERDE PARA A PRODUÇÃO
DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO**

Maceió - AL
2015

MIRELLE MÁRCIO SANTOS CABRAL

Aproveitamento da casca do coco verde para a produção de etanol de segunda geração

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Maria Rosas Garcia Almeida

Co-Orientadora: Profa. Dra. Ana Karla de Souza Abud

Maceió - AL

2015

Catlogação na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário Responsável: Valter dos Santos Andrade

C117a Cabral, Mirelle Márcio Santos.
Aproveitamento da casca do coco verde para produção de etanol de segunda
geração / Mirelle Marcio Santos Cabral. – 2015.
74 f. : il.

Orientadora: Renata Maria Rosas Garcia Almeida.

Coorientadora: Ana Karla de Souza Abud.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de
Alagoas. Centro de Tecnologia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Química. Maceió, 2015.

Bibliografia: f. 66-74.

1. Hidrolise. 2. Coco verde. 3. Material lignocelulósico. 4. Pré-tratamento.
5. Etanol 2G. I. Título.

CDU: 66.094.941

Mirelle Márcio Santos Cabral

**APROVEITAMENTO DA CASCA DO COCO VERDE PARA A PRODUÇÃO
DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO**

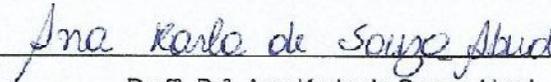
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Alagoas, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química.

Aprovada em: Maceió, 24 de Fevereiro de 2015.

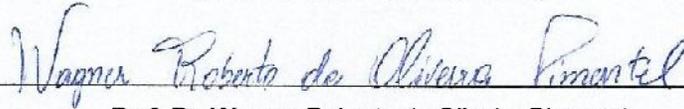
BANCA EXAMINADORA



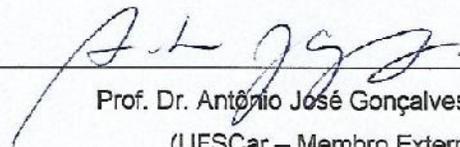
Prof.^a. Dr.^a. Renata Maria Rosas Garcia Almeida
(PPGEQ/UFAL - Orientadora)



Prof.^a. Dr.^a. Ana Karla de Souza Abud
(PPGEQ/UFAL - Coorientadora)



Prof. Dr. Wagner Roberto de Oliveira Pimentel
(PPGEQ/UFAL)



Prof. Dr. Antônio José Gonçalves da Cruz
(UFSCar – Membro Externo)

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me deu força e sabedoria para nunca desistir nos momentos difíceis, sempre mantendo a fé.

Aos meus pais, Marcelo e Edeusa, e minhas irmãs, Márcia e Marcella, que sempre me apoiaram e nunca me deixaram nada faltar para que eu pudesse alcançar meus objetivos.

A minha esposa Wagner Juliana que, com muito amor e paciência, sempre esteve ao meu lado, além de me proporcionar o momento mais feliz de minha vida, o nascimento de nossa filha Mirella.

À professora Dra. Renata Rosas, por mais uma orientação, sempre disposta a ajudar com muita sabedoria e bom humor.

À professora Dra. Ana Karla Abud, pela co-orientação e grandes ensinamentos, os quais foram a base para o desenvolvimento deste trabalho.

A todos que fazem parte do LTBA e LEEQ, pela grande ajuda e companheirismo.

Ao Laboratório de Engenharia Bioquímica na Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), pelas análises realizadas, em função da parceria do projeto Casadinho.

RESUMO

O aumento do consumo da água de coco leva a uma maior geração de resíduos, os quais vêm merecendo atenção de pesquisadores para o aproveitamento desta biomassa. Devido a suas características, a fibra da casca do coco verde se apresenta como mais uma alternativa para o desenvolvimento e produção do etanol 2G, além de ser uma opção de aproveitamento deste resíduo agroindustrial. Atualmente, a hidrólise enzimática é vista como uma das rotas mais atrativas para converter celulose em glicose. Porém, devido à natureza recalcitrante das variedades de biomassa, a hidrólise enzimática se torna ineficiente, fazendo-se necessário o pré-tratamento deste material lignocelulósico. O trabalho estuda dois tipos de pré-tratamento químico, ácido e alcalino, na fibra da casca do coco verde a fim de avaliar a quantidade de açúcares liberados na fração líquida da solução para a obtenção de etanol de segunda geração. Os ensaios foram realizados em autoclave a 121°C e 1atm, variando-se a concentração do reagente (0, 5 e 10%), ácido sulfúrico e hidróxido de sódio, e o tempo de reação (20, 40 e 60 min). A maior liberação de açúcares redutores ocorreu no pré-tratamento alcalino, com 5% e 40 min, apresentando concentração média de 44,72 g/100 g de fibra não tratada. No teste de capacidade fermentativa com o caldo pré-tratado, foram utilizados dois tipos de leveduras, a *Saccharomyces cerevisiae* e a *Pichia stipitis*, onde se observou êxito na fermentação nos experimentos com 0 e 5% de ácido sulfúrico, ambos inoculados com a levedura *Pichia stipitis*. A hidrólise enzimática foi realizada com a fração sólida do material pré-tratado, utilizando a enzima comercial Accellerase 1500, com 1 % de carga de sólidos. Os resultados de hidrólise, juntamente com a caracterização química da biomassa pré-tratada, confirmaram o pré-tratamento alcalino como a melhor condição de trabalho. O melhor resultado obtido foi conversão enzimática de 87% e rendimento global de 22,34 g/100g de fibra *in natura*. A fermentação do hidrolisado foi promovida usando leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, durante o período de 9 horas, a qual apresentou concentração de etanol e rendimento fermentativo, em média, 5,90 g/L e 90,42%, respectivamente. O estudo de viabilidade de produção constatou que é possível produzir 39 litros de etanol para cada tonelada da casca do coco verde.

Palavras-chave: Coco verde. Material lignocelulósico. Pré-tratamento. Hidrólise

ABSTRACT

The increase of coconut water consume has led to a greater amount of residues which in turns is calling researchers attention on how to reuse them. Due to the features, the green coconut fiber shows itself as one more alternative to the development and production of ethanol 2G, as well as being a good option for the reuse of this agro industrial residue. Currently, the enzymatic hydrolyze is seen as one of the most attractive option to convert cellulose in glucose. However, because of the recalcitrant nature of the varieties of biomass existing, the enzymatic hydrolyze becomes inefficient, demanding a pretreatment of the lignocellulose material. This paper shows a study focusing on two different chemical pretreatments with the green coconut fiber, the first using acid and the second using alkaline; aiming to evaluate the sugar amount consequently liberated in the liquid fraction of the solution used to obtain ethanol of second generation. The tests were made in autoclave at 121°C and 1 atm, varying the concentration of the reagent (from 0.5 to 10%), sulfuric acid and hydroxide of sodium, and the time reaction (20, 40 and 60 minutes). The greater sugar amount liberation occurred during the alkaline pretreatment at 5% and 40 minutes, showing an average concentration of 44.72 g/100g of non-treated fiber. In the test of fermentation capacity with the pretreated juice, two yeasts were used, *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia stipitis*, in which was observed success in the fermentation process whose experiments were developed by using 0 and 5% of sulfuric acid, both inoculated with the yeast *Pichia stipitis*. The hydrolysis results, together with the chemical analysis of the pretreated biomass have confirmed the alkaline pretreatment as the best working condition. The best result obtained was an enzymatic conversion of 87% and an overall yield of 22.34 g/ 100g of fresh fiber. The fermentation of the hydrolyzed one was promoted using *Saccharomyces cerevisiae* during the period of 9 hours, which showed a concentration of ethanol and an fermentative yield, on average, 5,90 g/L e 90,42%, respectively. The feasibility production study found that it is possible to produce 39 liters of ethanol for each ton of residue of green coconut husk.

Key-words: Green coconut. Lignocellulose residue. Pretreatment. Hydrolyze

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Ilustração da estrutura do coco.	16
Figura 2: Potencialidades agroindustriais do coco em estágio de maturação completa.	17
Figura 3: Produção de coco no Brasil de 2005 até 2014.	19
Figura 4: Representação esquemática da molécula de celulose.	22
Figura 5: Representação esquemática da molécula de hemicelulose.	22
Figura 6: Representação esquemática da molécula de lignina.	23
Figura 7: Constituição estrutural de uma fibra vegetal.	23
Figura 8: Mudanças de cajueiro anão cultivadas em substrato de coco verde.	25
Figura 9: Placa acústica em fibra de coco.	26
Figura 10: Produção brasileira de etanol nos últimos cinco anos.	28
Figura 11: Partes constituintes dos materiais lignocelulósicos.	28
Figura 12: Representação esquemática da produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica.	30
Figura 13: Alterações estruturais do complexo celulose-hemicelulose-lignina determinadas pelo pré-tratamento.	30
Figura 14: Produtos obtidos por desidratação de monossacarídeos.	33
Figura 15: Representação esquemática de um sistema celulolítico.	35
Figura 16: Reação de redução do ácido dinitrossalicílico pelo açúcar redutor em meio alcalino a ácido 3-amino-5-nitrossalicílico formando ácido aldônico.	41
Figura 17: Amostras de fibra da casca do coco submetidas aos pré-tratamentos ácido e alcalino.	43
Figura 18: Fluxograma do processo de aproveitamento da fibra da casca do coco verde para produção de etanol 2G.	44
Figura 19: Valores médios da perda de massa dos pré-tratamentos ácido e alcalino.	51
Figura 20: Degradação dos componentes químicos da fibra da casca do coco verde após pré-tratamento.	52

Figura 21: Gráficos de Pareto para os pré-tratamentos ácido e alcalino.....	54
Figura 22: Perfil das superfícies dos pré-tratamentos ácido e alcalino.....	54
Figura 23: Teste de metabolização dos carboidratos da fração líquida pré-tratada, usando apenas água como reagente, com utilização das leveduras <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SAC) e <i>Pichia stipitis</i> NRL Y-7124(PIC).	56
Figura 24: Teste de metabolização dos carboidratos da fração líquida pré-tratada, usando solução de 5% de ácido sulfúrico, com utilização das leveduras <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (SAC) e <i>Pichia stipitis</i> NRL Y-7124 (PIC).....	56
Figura 25: Variação do teor de sólidos solúveis e concentração celular o ensaio 1.....	59
Figura 26: Variação do brix e concentração celular durante o processo fermentativo do ensaio 2.	60
Figura 27: Curva de peso seco para cada ensaio de fermentação.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Área plantada e produção de coqueiro nas regiões do Brasil em 2012.	18
Tabela 2: Valores médios das principais propriedades físico-químicas da casca do coco verde.	21
Tabela 3: Faixa de valores estudados no planejamento 2 ² do pré-tratamento com ácido e alcalino.	42
Tabela 4: Propriedades físico-químicas encontradas na fibra da casca do coco verde <i>in natura</i>	49
Tabela 5: Fatores de conversão para celulose e hemicelulose.	49
Tabela 6: Composição química da fibra da casca do coco verde.	50
Tabela 7: Resultados do planejamento experimental para o pré-tratamento ácido.	51
Tabela 8: Resultados do planejamento experimental para o pré-tratamento alcalino.	51
Tabela 9: Composição química da fibra da casca do coco verde após pré-tratamento.	52
Tabela 10: Coeficientes de regressão e erros padrão do planejamento fatorial.	55
Tabela 11: Resultados da hidrólise enzimática da biomassa pré-tratada com reagente ácido.	57
Tabela 12: Resultados da hidrólise enzimática da biomassa pré-tratada com reagente alcalino.	57
Tabela 13: Principais parâmetros de início e final do processo fermentativo.	61
Tabela 14: Potencialidade da utilização da fibra da casca do coco para a produção de etanol.	62

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	Geral.....	14
2.2	Específicos.....	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1	O coqueiro e o coco	15
3.2	Coco maduro	16
3.3	Coco verde.....	17
3.4	Produção de coco no Brasil, no Nordeste e no Estado de Alagoas	18
3.5	Geração de resíduos proveniente do coco verde	20
3.6	Fibra do coco	21
3.7	Aproveitamento da casca do coco verde.....	24
3.7.1	Produção de briquetes	24
3.7.2	Substrato agrícola	25
3.7.3	Produção de enzimas.....	26
3.7.4	Isolamento acústico.....	26
3.7.5	Indústria automobilística	27
3.7.6	Construção civil.....	27
3.8	Produção de etanol.....	27
3.8.1	Pré-tratamento de materiais lignocelulósicos.....	30
3.8.2	Hidrólise de materiais lignocelulósicos	33
3.8.3	Fermentação etanólica.....	35
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
4.1	Matéria-prima	37
4.2	Microrganismo	37
4.3	Caracterização da fibra da casca do coco verde in natura e pré-tratada.....	37
4.3.1	Extrativos	37

4.3.2 Hidrólise com ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄).....	38
4.3.3 Determinação da lignina insolúvel na fração líquida.....	38
4.3.4 Determinação de lignina solúvel na fração líquida.....	38
4.3.5 Determinação de carboidratos, ácidos orgânicos, furfural e hidroximetilfurfural na fração líquida	39
4.3.6 Determinação de hidroximetilfurfural e de furfural	39
4.3.7 Cinzas.....	40
4.4 Metodologias analíticas.....	40
4.4.1 Umidade	40
4.4.2 Acidez	40
4.4.3 pH.....	41
4.4.4 Sólidos solúveis totais (°Brix)	41
4.4.5 Açúcares redutores (AR) e açúcares redutores totais (ART).....	41
4.5 Pré-tratamento da fibra da casca do coco verde	42
4.6 Destoxificação	44
4.7 Capacidade fermentativa da fração líquida do pré-tratamento.....	44
4.8 Hidrólise enzimática	45
4.9 Fermentação do hidrolisado	46
4.9.1 Preparo do inóculo	46
4.9.2 Ensaio de fermentação etanólica.....	46
4.10 Parâmetros da fermentação	47
4.11 Estudo da potenciabilidade da produção de etanol.....	48
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.1 Caracterização química da fibra da casca do coco verde.....	49
5.2 Pré-tratamento químico.....	50
5.3 Capacidade fermentativa da fração líquida do pré-tratamento.....	56
5.4 Hidrólise Enzimática.....	57
5.5 Fermentação do hidrolisado	59

5.6	Avaliação da potencialidade da produção de etanol.....	62
6	CONCLUSÕES	64
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	65
	REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

A cultura do coco se destaca em muitos países não só pelos aspectos econômicos, mas também pelos sociais e ambientais. A gama de produtos que pode ser explorada com esta frutífera a torna reconhecida como importante recurso vegetal para a humanidade (MARTINS e LUCIANO JÚNIOR, 2011).

Nos últimos anos, a intensificação de áreas de cultivo e de produção foi percebida em várias partes do mundo. No Brasil, a situação não é diferente, onde o avanço da cultura ocorre não só pela evolução em patamares produtivos, que condicionam ao país lugar de destaque entre os maiores produtores mundiais, mas, também, pela expansão da área cultivada em regiões não tradicionais de cultivo (MARTINS e LUCIANO JÚNIOR, 2011).

A produção e consumo de coco verde no Brasil vem a cada ano crescendo consideravelmente, principalmente pelo comércio de água de coco, o qual evoluiu em consequência da aplicação de tecnologias de processamento e conservação da água do coco verde, viabilizando o mercado deste produto e otimizando seu aproveitamento (BRÍGIDA, 2006).

O expressivo aumento do consumo de água de coco, considerada um isotônico natural, provoca graves problemas de geração de lixo nas grandes cidades. A água de coco representa entre 20% e 25% do peso total do fruto e a casca pode demorar até oito anos para se decompor. Um copo de 250 mL de água de coco gera mais de um quilo de resíduo (ARAGÃO et al., 2002).

As alterações climáticas atribuídas ao aquecimento global decorrente da queima dos combustíveis fósseis, associadas à insegurança energética refletida pelas dificuldades crescentes na produção do petróleo, têm motivado uma corrida sem precedentes pela produção de energia e de combustíveis a partir de fontes renováveis (NYCO et al., 2010).

A conversão de biomassa lignocelulósica em etanol envolve, basicamente, quatro etapas: pré-tratamento, hidrólise dos polissacarídeos contidos no material em açúcares, fermentação destes açúcares a etanol e destilação para recuperação do etanol. O pré-tratamento é uma importante etapa do processo de conversão da celulose, sendo necessário para alterar a estrutura da biomassa, tornando as moléculas de celulose mais acessíveis às enzimas que convertem os polímeros em açúcares fermentescíveis (MOSIER et al., 2005).

Um processo baseado na hidrólise enzimática e na fermentação é considerado, hoje, como a opção mais promissora para a conversão dos carboidratos de materiais

lignocelulósicos em etanol, de forma energeticamente eficiente, resultando em elevados rendimentos e baixos custos de produção (GALBE e ZACCHI, 2002).

Diante dessa conjuntura, este trabalho visa avaliar o comportamento desta biomassa como matéria-prima para produção de etanol de segunda geração, agregando valor à cadeia produtiva do coco e contribuindo para diminuição de impactos ambientais nas grandes cidades.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o potencial da casca de coco verde como matéria-prima na produção de etanol de segunda geração.

2.2 Específicos

São objetivos esperados deste trabalho:

- Realizar a caracterização da casca de coco verde;
- Avaliar dois processos de pré-tratamento para quebra das fibras lignocelulósicas do coco;
- Realizar o processo de hidrólise enzimática da fibra pré-processada, visando a quebra da celulose em açúcares redutores;
- Realizar o processo de fermentação etanólica do hidrolisado, por meio da levedura comercial *Sacharomyces cerevisiae*.
- Avaliar a capacidade fermentativa da fração líquida resultante do pré-tratamento, utilizando as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e a *Pichia stipitis*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O coqueiro e o coco

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) é uma das frutíferas mais disseminadas naturalmente em todo planeta, sendo encontrada em praticamente todos os continentes, principalmente na Ásia, África, América Latina e região do Pacífico. É uma cultura tropical que se estende ao longo da faixa costeira, entre os trópicos de Câncer e de Capricórnio, cultivada em aproximadamente 11,6 milhões de hectares, em 86 países (SIQUEIRA et al., 2002).

Quanto à origem do coqueiro, Purseglove (1972) citado por Schuilng; Harries (1994), sugere que o coqueiro foi introduzido na ilha de Madagascar nos primeiros séculos depois de Cristo e, a partir daí, atingido a costa do continente leste da África, sendo levado para o oeste africano após a descoberta do Cabo da Boa Esperança e, por conseguinte, para as Américas e toda área tropical da terra.

O coqueiro não existia, no Brasil, quando da sua descoberta pelos portugueses em 1500. As primeiras referências aparecem no “Tratado Descritivo do Brasil”, escrito por Gabriel Soares de Souza, em 1587, que diz: “As palmeiras que dão os cocos se dão bem na Bahia, melhor que na Índia, porque metendo um coco debaixo da terra, a palmeira que dele nasce dá coco em cinco e seis anos, e na Índia não dão, estas plantas, frutos em vinte anos” (BONDAR, 1955 citado por SIQUEIRA, 2002).

O coqueiro chegou ao Brasil por volta do ano de 1553, pelo Estado da Bahia, a bordo de embarcações portuguesas oriundas das ilhas de Cabo Verde. Por ser uma planta tropical, encontrou condições propícias para seu desenvolvimento no país e se espalhou pelas regiões Norte e Nordeste e, mais recentemente, na Sudeste (PEREIRA, 2012).

Segundo Vilela (2010), existem três variedades de coqueiro exploradas no Brasil:

- Coqueiro gigante: planta de porte alto, atingindo cerca de 35 metros de altura, cuja finalidade principal é o fornecimento de polpa (copra) para a indústria de derivados de coco (coco ralado e leite de coco). Inicia sua produção a partir de seis anos e meio, tendo produção média de 70 frutos/planta/ano;
- Coqueiro anão: planta de porte baixo, atingindo cerca de 12 metros de altura, o qual é utilizado para atendimento do consumo de água-de-coco (*in natura* ou envasada). Começa a produzir com dois anos e meio, apresenta produtividade de 120 frutos/planta/ano e pode alcançar 250 frutos em sistemas irrigados;
- Coqueiro híbrido: plantas de porte intermediário, atingindo cerca de 20 metros de altura, com dupla finalidade de fornecimento de coco, ou seja, tanto para a

indústria quanto para o consumo da água. Sua produtividade alcança de 120 a 150 frutos/planta/ano, com início de produção quatro anos pós-plantio. Tem participação pouco expressiva na produção.

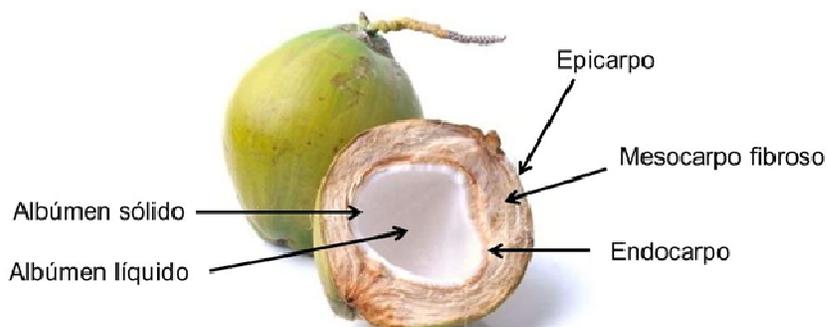
De acordo com Aragão et al. (2002), as variedades gigante, anão e híbrido são cultivadas em 70%, 20% e 10% da área plantada, respectivamente.

O Brasil é o único país produtor onde o coco é tratado como uma fruta e não como uma oleaginosa, com uma vasta aplicação do fruto *in natura* e seus derivados, bem como insumo industrial, na forma de condimentos, especiarias e outras formas de utilização (ARAGÃO et al., 2002).

Com relação à estrutura do coco (Figura 1), Ferreira et. al (1998) descreve as principais partes do coco da seguinte forma:

- Epicarpo (epiderme lisa): camada externa do fruto.
- Mesocarpo: parte mais desenvolvida do coco, constituída de fibras.
- Endocarpo (camada pétreo que envolve a parte comestível): estrutura que forma a casca dura em torno da semente.
- Semente: toda estrutura que serve para reproduzir um vegetal.
- Albúmen (endosperma): tecido contendo substâncias nutritivas na semente. O albúmen líquido é a água de coco, enquanto que o albúmen sólido é a polpa, também chamada de copra.

Figura 1: Ilustração da estrutura do coco.



Fonte: Ferreira et al., 1998

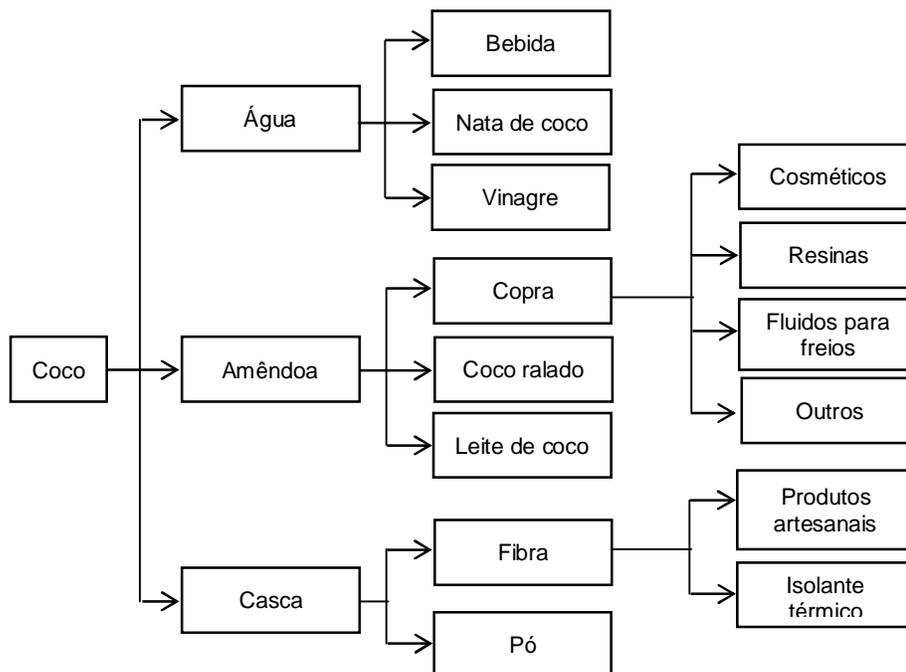
3.2 Coco maduro

O coco maduro, também chamado de coco seco, é o fruto na fase completa de maturação, ou seja, o albúmen sólido se apresenta na forma rígida e no seu peso máximo. Isso

acontece entre o 11º e o 12º mês de idade, quando os frutos apresentam cor castanha, manchas verdes e pardas irregulares e peso inferior ao coco verde (ARAGÃO, 2007).

Podem-se obter inúmeros derivados do coco seco, principalmente na agroindústria alimentícia, como é mostrado na Figura 2. A parte mais valiosa é a amêndoa, a qual fornece os produtos de maior valor agregado, enquanto a água geralmente é descartada, pois apresenta sabor amargo e baixa qualidade nutricional (ASSIS et al., 2000).

Figura 2: Potencialidades agroindustriais do coco em estágio de maturação completa.



Fonte: Adaptado de Nunes, 2002.

3.3 Coco verde

Coco verde é o fruto do coqueiro que é colhido ainda em estágio de maturação, ou seja, entre o 6º e 7º mês após seu brotamento. A colheita do coco neste período proporciona volume máximo de água na cavidade do fruto e melhor qualidade, encontrando-se dissolvidos a maioria dos sais minerais e albumina, além do elevado conteúdo de sólidos solúveis (ASSIS et al., 2000). Por estas características, sabor apazível e grande valor nutricional, sua produção é destinada para o comércio da água de coco.

De acordo com Brígida (2006), apesar da produção do coco maduro ser muito superior, nos últimos anos o coco verde vem se destacando pelo aumento do consumo de água de coco em todo país. Entre os fatores que podem ratificar essa significativa alavancada estão a inclusão de hábitos saudáveis no comportamento da população brasileira e a evolução da

tecnologia de envasamento e conservação deste produto, viabilizando o comércio e otimizando seu aproveitamento.

3.4 Produção de coco no Brasil, no Nordeste e no Estado de Alagoas

A partir de dados apresentados por Martins e Júnior (2011), o Brasil, nos últimos anos, vem se destacando no cenário mundial da cultura do coco. Em 1990, o país ocupava a 10ª posição no ranking mundial, com uma produção ao redor dos 477 mil toneladas de coco. Em 2010, o país subiu para a 4ª posição, com uma produção aproximada de 2,8 milhões de toneladas, em uma área colhida de 287 mil ha de coqueiros. Em se falando de América do Sul, há um destaque ainda mais ilustre, ocupando o Brasil a 1ª colocação na produção deste fruto, sendo responsável por mais de 80% da produção desta região.

De acordo com a Associação Brasileira de Produtores de Coco (ABRASCOCO), no beneficiamento da produção brasileira (CUENCA et al., 2002):

- 35% da produção se destinam às agroindústrias, onde 99% deste total são constituídos de coco maduro voltados à indústria de coco ralado e de leite de coco;
- 35% da produção se destinam aos mercados Sudeste-Sul, onde 90% são de frutos verdes;
- 30% ficam no mercado nordestino, dos quais 80% são cocos maduros.

Baseado nos dados acima, pode-se afirmar que a produção de coco maduro representa 62% do total, restando 38% de coco verde.

Apesar do cultivo do coqueiro estar sendo estimulado e introduzido em várias regiões do país, as maiores plantações e produções se concentram na faixa litorânea, especialmente no Nordeste e parte da região Norte, favorecidas pelas condições de tropicalidade climática, detendo aproximadamente 75% da produção de coco brasileiro, como pode ser visto na Tabela 1. Devido à mínima produção, as regiões Sul e Centro-oeste não são consideradas nesses dados.

Tabela 1: Área plantada e produção de coqueiro nas regiões do Brasil em 2014.

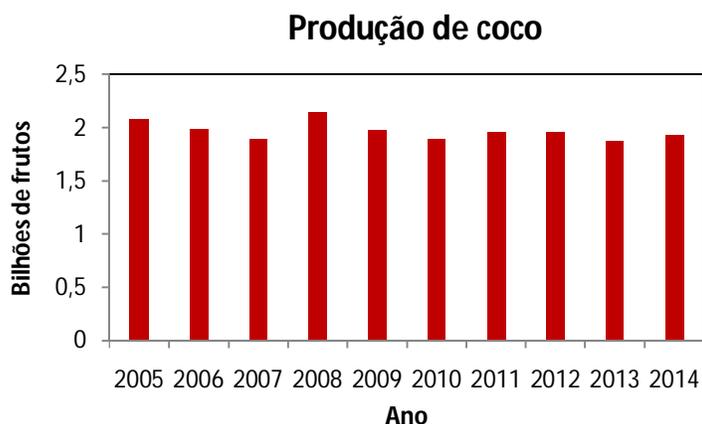
Regiões do Brasil	Área plantada (ha)	Produção (mil frutos)
Nordeste	215.163	1.345.962
Norte	23.975	252.406
Sudeste	18.276	315.714
Total/Brasil	257.414	1.954.354

Fonte: IBGE, 2014.

No final da década de 90 e início da década de 2000 ocorreu grande aumento na produção brasileira de coco. Este fato é explicado pelo desenvolvimento da cultura na região Sudeste, principalmente pelo estado do Espírito Santo. Para se ter uma idéia, a participação desta região na produção da safra de 1991 foi de apenas 1,3%, enquanto que em 2001 este percentual passou para 15,8% (IBGE, 2013). Entretanto, nos últimos dez anos, a produção brasileira de coco teve uma breve estagnada, com beneficiamento médio próximo de dois bilhões de frutos anuais, como pode ser observado na Figura 3.

Segundo Cuenca et al. (2002), a região Sudeste evoluiu devido aos altos índices de rendimento obtidos em áreas de expansão da cultura, onde foram utilizados sistemas de produção intensivos e alto grau de tecnologia, além das melhores condições de mercado em relação à região Nordeste, tais como maior quantidade de consumidores, maior renda per capita e melhor possibilidade de estabelecimento de indústrias processadoras.

Figura 3: Produção de coco no Brasil de 2005 até 2014.



Fonte: IBGE, 2013 e IBGE, 2014.

O Estado da Bahia é o maior produtor do país, com produção superior a 500 milhões de frutos, representando 38,5% da produção nordestina e quase 30% de toda produção nacional (IBGE, 2014).

O Estado de Alagoas ocupa a 10ª posição na produção de coco no país, sendo beneficiados mais de 50 milhões de frutos no ano de 2014 (IBGE, 2014). Os municípios alagoanos que se destacam nesta produção são: Coruripe, Piaçabuçu, Marechal Deodoro, São Sebastião e Maragogi.

3.5 Geração de resíduos proveniente do coco verde

Em consequência do processo de obtenção da água de coco, a casca do coco aparece como resíduo, não tendo aplicação para a agroindústria em questão. Em virtude do crescimento no consumo de água de coco no Brasil, são geradas milhares de toneladas diariamente de casca, acarretando sérios problemas ambientais.

As cascas de coco verde geradas por este agronegócio representam de 80% a 85% do peso bruto do fruto e cerca de 70% de todo lixo gerado nas praias brasileiras. Este material tem sido correntemente destinado aos aterros e vazadouros, sendo, como toda matéria orgânica, potenciais emissores de gases estufa (metano) e, ainda, contribuindo para que a vida útil desses depósitos seja diminuída, proliferando focos de vetores transmissores de doenças, mau cheiro e possíveis contaminações do solo e corpos d'água, além da inevitável destruição da paisagem urbana (ROSA et al., 2001).

Segundo D'Almeida (2000), o aterro sanitário é uma forma para a deposição final de resíduos sólidos gerados pela atividade humana. Nele são dispostos resíduos domiciliares, comerciais, de serviços de saúde, da indústria de construção ou dejetos sólidos retirados do esgoto. Estas áreas devem ser impermeabilizadas para evitar o vazamento de chorume (contaminação do solo e águas superficiais e subterrâneas), o qual deve ser tratado antes de ser lançado no meio ambiente, para captar os gases liberados, evitando a contaminação do ar, devendo os resíduos sólidos serem cobertos com material inerte a fim de impedir que ele fique exposto e atraia animais nocivos à saúde humana, como insetos e roedores.

Lixão (ou vazadouro) é uma forma inadequada de disposição final de resíduos sólidos, que se caracteriza pela simples descarga do lixo sobre o solo, sem medidas de proteção ao meio ambiente ou à saúde pública, sendo o mesmo que descarga de resíduos a céu aberto (IPT, 1995). Nestes locais não existe nenhum controle quanto aos tipos de resíduos depositados e quanto ao local de disposição dos mesmos. Nesses casos, resíduos domiciliares e comerciais de baixa periculosidade são depositados juntamente com os industriais e hospitalares, de alto poder poluidor. Nos vazadouros pode haver outros problemas associados, como, por exemplo, a presença de animais (inclusive a criação de porcos), de catadores (que, na maioria dos casos, residem no local), além de riscos de incêndios causados pelos gases gerados pela decomposição dos resíduos e de escorregamentos, quando da formação de pilhas muito íngremes, sem critérios técnicos (IPT, 1995).

O desenvolvimento de alternativas de aproveitamento da casca de coco verde possibilita a redução da disposição inadequada de resíduos sólidos e proporciona uma nova opção de rendimento junto aos locais de produção (MATTOS et al., 2011).

3.6 Fibra do coco

A casca do coco verde, assim como a do coco maduro, é constituída por uma fração de fibras e outra denominada de pó, que é material de enchimento dos espaços entre as fibras.

O pó, originado da trituração da casca do coco, é um material biodegradável, renovável e muito leve, apresentando-se uma excelente matéria-prima para fabricação de substratos. Destaca-se como melhorador das características físicas e biológicas do meio de cultivo das mais diversas espécies vegetais, constituindo em um excelente estimulador de enraizamento de plantas (NUNES, 2007).

As fibras de coco são materiais lignocelulósicos obtidos do mesocarpo dos frutos e se caracterizam pela dureza e durabilidade atribuída ao alto teor de lignina, quando comparadas com outras fibras naturais (SILVA et al., 2006).

As fibras vegetais são formadas por diversos componentes químicos, constituídos a base de hidrogênio (H) e carbono (C), sendo os principais a celulose, a hemicelulose e a lignina, sendo a composição química variada ligeiramente, de acordo com a região de cultivo, tipo de solo e condições climáticas (SILVA, 2003). A Tabela 2 mostra as principais características das fibras vegetais da casca de coco verde, na qual apresenta como fator importante à elevada quantidade de lignina, a qual chegar a 45% da composição desta biomassa.

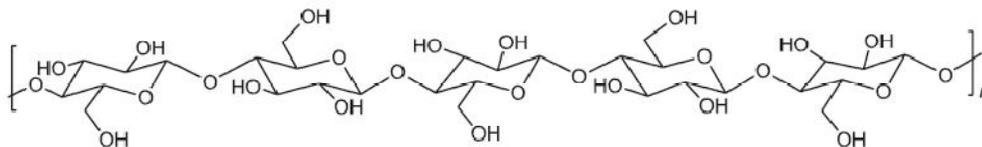
Tabela 2: Valores médios das principais propriedades físico-químicas da casca do coco verde.

Propriedades	Valores médios
pH	5,4
Condutividade elétrica (dS/m)	1,8
Relação C/N	132
Densidade (g/L)	70
Porosidade total (%)	95,6
Retenção de água (mL/L)	538
Água facilmente assimilável (%)	19,8
Lignina (%)	35 a 45
Celulose (%)	23 a 43
Hemicelulose (%)	3 a 12

Fonte: Aragão, 2007.

A celulose (Figura 4) é um polissacarídeo formado por monômeros de D-glicopirranose, que formam longas cadeias lineares com alto grau de polimerização (formação de polímeros), sendo o principal componente de todas as fibras vegetais, pois confere à mesma resistência mecânica (SILVA, 2003).

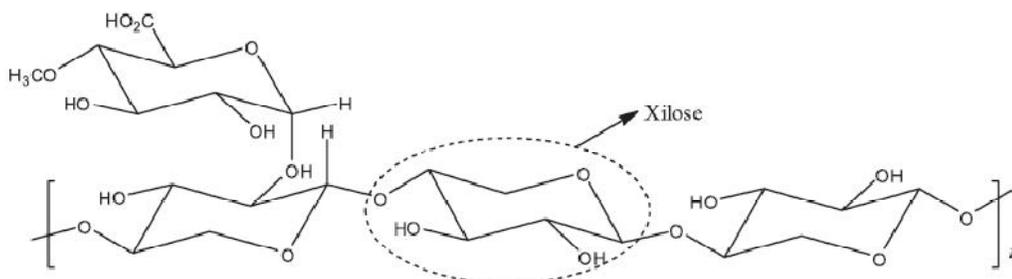
Figura 4: Representação esquemática da molécula de celulose.



Fonte: Santos, 2012.

A hemicelulose (Figura 5) é um polissacarídeo ramificado, que podem ser formados por um único tipo de monossacarídeos (denominados homopolissacarídeos) ou por dois ou mais tipos diferentes (chamados de heteropolissacarídeos). São moléculas muito menores que a celulose, formadas, principalmente, por manômeros de xilose, arabinose, galactose, manose e ramnose (SOUZA e NEVES, 2009).

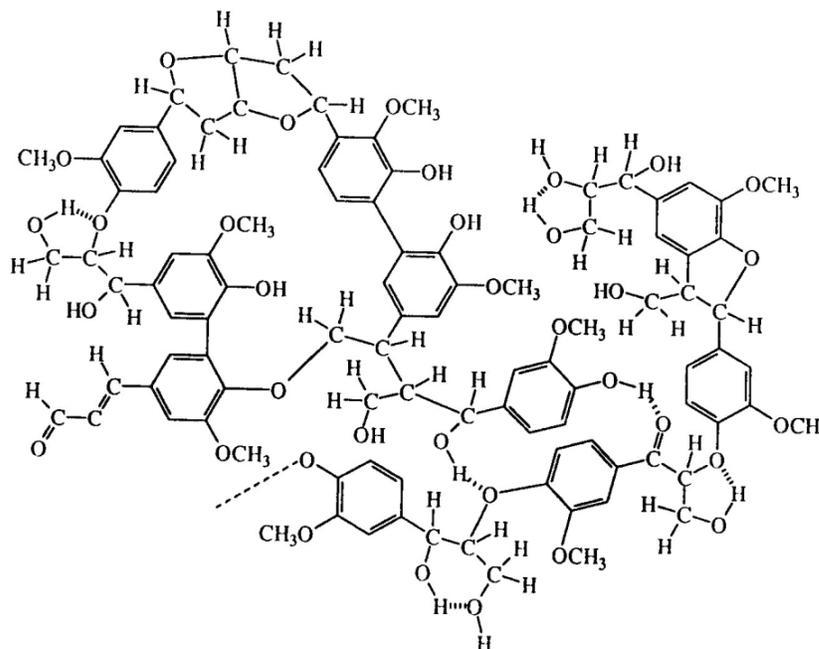
Figura 5: Representação esquemática da molécula de hemicelulose.



Fonte: Santos et al., 2012.

A lignina (Figura 6) é constituída por um polímero complexo de estrutura amorfa, com componentes aromáticos e alifáticos, o qual se associa à celulose e hemicelulose durante a formação da parede celular dos vegetais e tem como finalidade conferir rigidez à mesma. Sua concentração nas fibras influencia a estrutura, as propriedades, a morfologia, a flexibilidade e a taxa de hidrólise (PASSOS, 2005 citado por SILVEIRA, 2008).

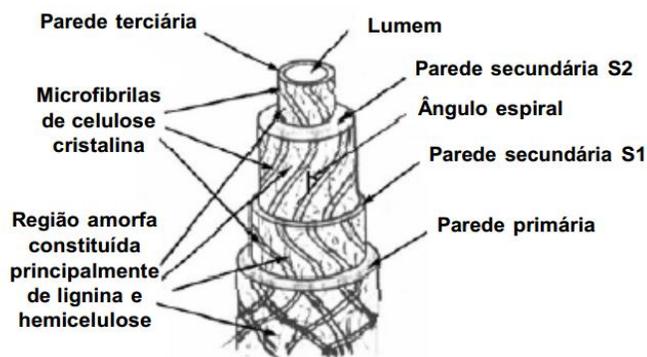
Figura 6: Representação esquemática da molécula de lignina.



Fonte: Fengel e Wegener, 1989.

Cada fibra vegetal, denominada de fibra técnica, é constituída de várias fibras elementares ligadas entre si por um material de cimentação, formado, principalmente, por lignina (FRANCO, 2010). A Figura 7 ilustra a constituição estrutural de uma fibra vegetal.

Figura 7: Constituição estrutural de uma fibra vegetal.



Fonte: Silva (2003).

Segundo Correa (2010), existem três tipos de fibras encontradas na casca do coco: fibra branca longa, fibra marrom longa e fibra marrom curta. A fibra branca é extraída da casca do coco verde, com 8 a 10 meses de idade; é mais fina, mais longa e mais macia do que a fibra marrom. A fibra marrom longa pode ser fina ou grossa. As fibras marrons são extraídas de

cocos maduros, com aproximadamente 12 meses de idade. Um terço do material fibroso é constituído de fibras longas e, dois terços, de fibras curtas.

De acordo com Aragão et al., (2002), a fibra marrom é formada pelo complexo de celulose (33 a 40%), lignina (41 a 46%), hemicelulose (0,15a 0,25%) e pectinas (2,75 a 4,0%). Já a fibra branca longa, encontrada no coco verde, têm suas propriedades físico-químicas apresentadas pela Tabela 2.

Segundo Nogueira et al. (1998), a grande quantidade de lignina e celulose e a pequena quantidade de hemicelulose proporcionam ao substrato da fibra de coco uma grande durabilidade.

3.7 Aproveitamento da casca do coco verde

No Brasil, a tecnologia de aproveitamento da casca de coco maduro já é conhecida e utilizada há algum tempo. Esta fibra é empregada pela indústria em aplicações diversas, tais como estofamento de veículos, colchões, tecidos, mantas geotêxteis, substrato agrícola, entre outros. As fibras de coco verde se apresentam como mais uma opção para este nicho do mercado e seu uso vem sendo atestado positivamente, com resultados equivalentes aos obtidos com a fibra do coco maduro (MATTOS et al., 2011).

De acordo com IBGE (2014) e apresentado na Figura 3, o Brasil produz, em média, 2 bilhões de frutos de coco, o que gera cerca de 850.000 toneladas de resíduos derivados do coco verde. Embora não exista estatística precisa sobre o quanto destes resíduos é reaproveitado, sabe-se que grande parte desse volume acumulado se destina aos lixões e aterros sanitários.

A fibra extraída da casca do coco verde apresenta inúmeras possibilidades de uso, pois é um material ecológico, facilmente reciclável, e pertence à família das fibras duras, o que lhe confere elevados índices de rigidez e dureza (SENHORAS, 2004).

A seguir, são apresentadas algumas alternativas, de comprovada eficácia, para aproveitamento da casca do coco verde.

3.7.1 Produção de briquetes

Segundo Silveira (2008), o aproveitamento das cascas de coco verde para produção de briquetes implica na redução dos impactos causados com a disposição destas cascas e ainda contribui para a preservação da vegetação nativa, devido à substituição da lenha por este produto.

Os briquetes são fabricados para atender os estabelecimentos e indústrias que possuam fornalhas, fornos, caldeiras e que utilizam lenha para gerar energia, substituindo com vantagem esta matéria-prima à medida que reduz custos, facilita o transporte, a manipulação e o armazenamento. Seu formato cilíndrico padronizado reúne uma alta densidade de resíduos prensada, sem a adição de produtos químicos ou aglutinantes, com alto poder calorífico. Os briquetes contribuem para o controle do desmatamento e da poluição, já que uma grande quantidade de resíduo que seria descartado pode ser aproveitada (FIEC, 2003).

3.7.2 Substrato agrícola

O termo substrato agrícola se aplica a todo material sólido, natural ou sintético, bem como residual ou, ainda, mineral ou orgânico, distinto do solo, que colocado em um recipiente em forma pura ou em mistura permite o desenvolvimento do sistema radicular, desempenhando, portanto, um papel de suporte para a planta (ABAD; NOGUERA, 1998).

O pó da casca do coco, tanto verde como maduro, mostrou-se favorável ao desenvolvimento de substratos para formação de mudas de cajueiro anão precoce (Figura 8), apresentando boas características, a exemplo da facilidade de retirada da muda do tubete e agregação das raízes ao substrato, podendo, assim, substituir o uso do solo hidromórfico, na proporção de 20% (CORREIA et al., 2003).

Figura 8: Mudanças de cajueiro anão cultivadas em substrato de coco verde.



Fonte: Correia et al., 2003.

Silva et al., (2010) mostrou que, com exceção dos substratos que contêm torta de mamona, todas as demais formulações a base de fibra de coco verde se mostraram superiores aos substratos comerciais para a produção de mudas de pimentão.

3.7.3 Produção de enzimas

Nas últimas décadas, tem sido observado um aumento na tendência do uso de fermentação semi-sólida para produção de algumas enzimas, em especial aquelas envolvidas na degradação de macromoléculas vegetais complexas. No campo da comercialização de enzimas, o Brasil é consumidor de produtos importados. Neste cenário, a casca do coco verde surge como uma matéria-prima estratégica para alavancar a produção de enzimas em todo país (OLIVEIRA, 2010).

De acordo com Oliveira (2010), o pó da casca do coco verde se revelou como um ótimo substrato indutor no processo de produção de celulases. A produção dessas enzimas a partir do pó da casca de coco pode representar, em nível industrial, um importante processo no aproveitamento de resíduos agroindustriais, com vasta aplicação na indústria alimentícia.

3.7.4 Isolamento acústico

Máquinas e equipamentos em empresas produzem ruídos que podem atingir níveis excessivos, podendo causar prejuízos à saúde de quem os ouve. O ruído, de forma mais formal, pode ser caracterizado como um fenômeno físico vibratório, com características indefinidas de variações de pressão (no caso ar) em função da frequência, isto é, para uma dada frequência podem existir, em forma aleatória, por meio do tempo, variações de diferentes pressões (IIDA, 2005).

A fibra de coco, misturada ao aglomerado de cortiça expandido, apresenta excelentes resultados na absorção de ondas de baixa frequência, dificilmente alcançados por outros materiais, oferecendo resistência e durabilidade, cumprindo com as necessidades técnicas exigidas pelo mercado. Além de ser um material versátil e indicado para isolamento térmico e acústico, utiliza uma matéria-prima natural e renovável (SENHORAS, 2004). A Figura 9 apresenta uma placa acústica em fibra de coco para uso em forros de alvenaria, enchimento de paredes, gesso, madeira, entre outras aplicações.

Figura 9: Placa acústica em fibra de coco.



Fonte: Allbiz, 2014

3.7.5 Indústria automobilística

A fibra de coco é utilizada na fabricação de peças como encostos de cabeça, para-sol interno, assentos e encostos de bancos, que equipam os veículos da marca Mercedes-Benz produzidos no Brasil (COSTA e GEBARA, 2001).

Tecnicamente, a fibra do coco maduro é melhor do que a espuma derivada do petróleo, pois a espuma condensa o vapor do corpo, enquanto o produto feito de coco e látex permite a aeração, evitando, assim, o incômodo do suor, uma vez que, num país tropical, os produtos com essa fibra oferecem mais conforto. Não obstante, a utilização do coco verde também se mostra economicamente viável na fabricação de produtos de látex com fibras, apesar de terem que passar por muitos outros processos, inclusive químicos, encarecendo o produto. Ao final do processo, têm um tempo de biodegradação muito menor que as fibras do coco maduro, o que garante uma maior rotação de venda no mercado (ROCHA; GHELIER Jr., 2000).

3.7.6 Construção civil

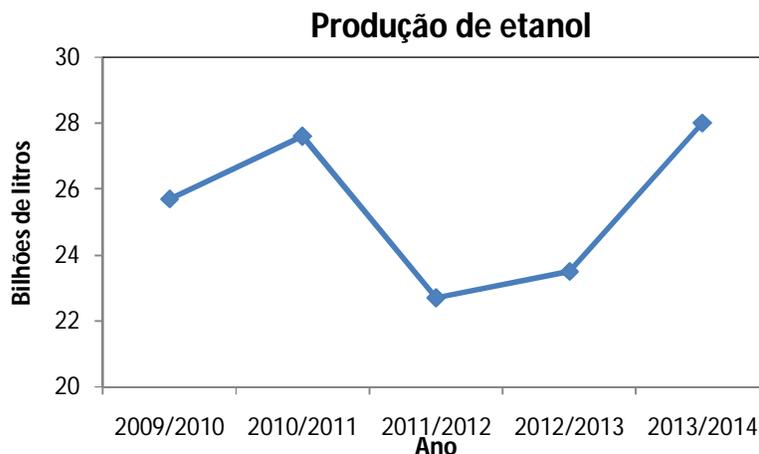
A fibra de coco verde tem um excelente potencial para uso na construção civil, quando usada em pranchas pré-moldadas, por suas características de resistência e durabilidade, ou na utilização do fibro-cimento. Neste caso, este resíduo deve ser usado com cimento especial, de baixo teor de alcalinidade, uma vez que a alcalinidade do cimento normal destrói as fibras, fazendo com que a parede apresente rachaduras e fraca resistência (PEREIRA, 2012).

No Brasil, a utilização da fibra de coco verde na construção civil pode criar possibilidades no avanço da questão habitacional, por intermédio da redução do uso e do custo de materiais, envolvendo a definição de matrizes que inter-relacionam aspectos políticos e socioeconômicos (ALVARENGA, 2012).

3.8 Produção de etanol

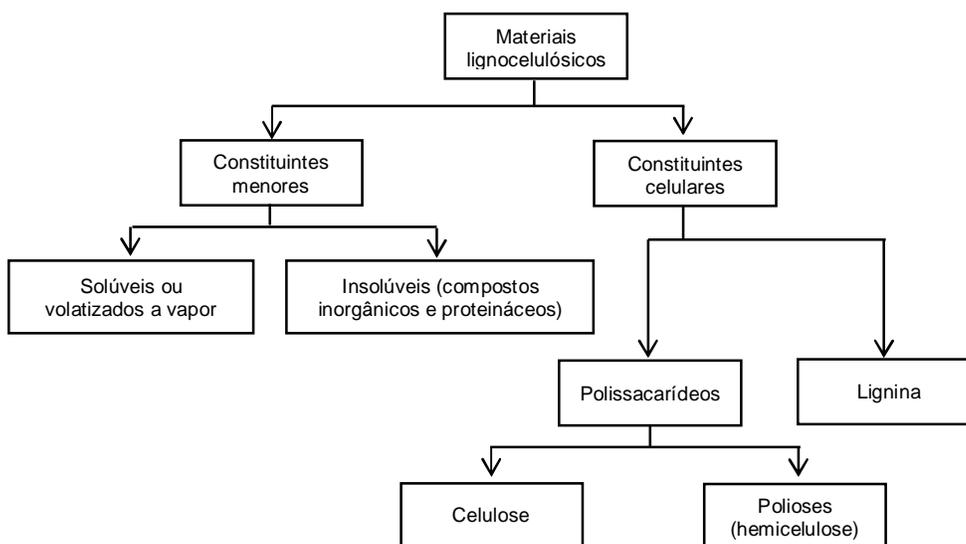
Etanol é o combustível produzido a partir de matérias-primas sacarinas ou amiláceas, a exemplo da cana-de-açúcar e do milho, respectivamente.

Atualmente, Estados Unidos e Brasil são os maiores produtores de etanol do mundo, com produção, em 2012, de 50,3 e 23,5 bilhões de litros, respectivamente (RFA, 2012), o que representa 89,4% de toda produção mundial. A Figura 10 mostra a produção brasileira de etanol nas últimas cinco safras.

Figura 10: Produção brasileira de etanol nos últimos cinco anos.

Fonte: DCAA, 2014

Materiais lignocelulósicos são substâncias constituídas basicamente por celulose, lignina, polioses (hemicelulose) e constituintes menores (orgânicos e inorgânicos), como mostra a Figura 11.

Figura 11: Partes constituintes dos materiais lignocelulósicos.

Fonte: Adaptado de Dekker e Mark, 1983 apud Gomez, 2010

Segundo Sarko (1997), os materiais lignocelulósicos são os compostos mais abundantes do planeta, correspondendo a 50% da biomassa terrestre, podendo ser encontrados em diferentes tipos de biomassa, como madeira, papel e casca de coco.

O etanol de segunda geração (2G), também conhecido como etanol celulósico, é definido como o combustível produzido a partir de materiais lignocelulósicos, caso dos resíduos agroindustriais como palha de trigo, bagaço de cana-de-açúcar e resíduo de milho, e de resíduos florestais, como pó de serraria. Essas matérias-primas são suficientemente abundantes e disponíveis ao redor do mundo, gerando emissões líquidas de gases do efeito estufa muito baixas e reduzindo, dessa forma, os impactos ambientais (GALBE; ZACCHI, 2010).

Nyko et al. (2010) citam que os principais aspectos a serem considerados para o desenvolvimento dos biocombustíveis de segunda geração são:

- Efeito estufa, onde as alterações climáticas atribuídas ao aquecimento global decorrente da queima dos combustíveis fósseis, associadas à insegurança energética refletida pelas dificuldades crescentes na produção do petróleo, têm motivado uma corrida sem precedentes pela produção de energia a partir de fontes renováveis.
- O esgotamento da rota atual, ainda que a produção de etanol de primeira geração, sobretudo no Brasil, tenha obtido avanços crescentes na produtividade agrícola e industrial. A atual tecnologia industrial de produção do etanol data dos anos 1980 e está próxima de seus limites teóricos.
- Produção de alimento, uma vez que a segunda geração de etanol será obtida do aproveitamento de resíduos, tendo como trunfo o fato de não competir com a produção de alimentos e não necessitar de mais áreas agricultáveis.

No Brasil, o desenvolvimento de combustíveis celulósicos segue com investimentos modestos, dependendo basicamente de iniciativas governamentais, como o Plano Conjunto BNDES-FINEP de Apoio à Inovação Tecnológica Industrial dos Setores Sucoenergético e Sucoquímico (PAISS), que disponibilizou R\$ 3,3 bilhões para este fim (BNDES, 2012). No ano de 2014, foi iniciada a produção da primeira usina comercial de etanol celulósico, localizada em Alagoas, cuja capacidade de produção é de 82 milhões de litros de etanol por ano (GAZETA DE ALAGOAS, 2014). Também em 2014, outra unidade industrial de produção de etanol 2G foi inaugurada, em Piracicaba/SP, na qual foram investidos 237 milhões de reais para produzir 40 milhões de litros/ano (EXAME, 2015).

A produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos compreende, basicamente, as etapas de pré-tratamento, hidrólise e fermentação, como esquematizada na Figura 12.

Figura 12: Representação esquemática da produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica.

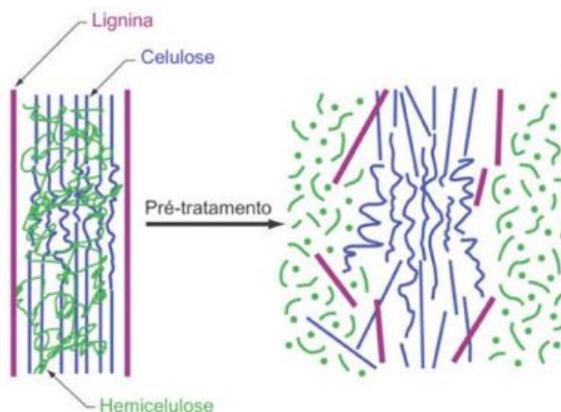


Fonte: Adaptado de Sheehan, 2001

3.8.1 Pré-tratamento de materiais lignocelulósicos

Para se chegar a altos rendimentos de glicose durante a hidrólise, a biomassa lignocelulósica precisa, primeiramente, ser pré-tratada. O pré-tratamento tem a finalidade de diminuir a cristalinidade da celulose, aumentar área superficial da biomassa, remover hemicelulose e destruir o laço formado pela lignina, como detalha a Figura 13.

Figura 13: Alterações estruturais do complexo celulose-hemicelulose-lignina determinadas pelo pré-tratamento.



Fonte: Santos et al., 2012

De acordo com Galbe; Zacchi (2007), um pré-tratamento efetivo deve apresentar as seguintes características:

- Resultar em uma elevada recuperação de todos os carboidratos;
- Resultar em uma elevada digestibilidade da celulose na hidrólise enzimática subsequente;
- Ter uma produção mínima de resíduos, onde o líquido resultante do pré-tratamento deve possibilitar a fermentação, sem necessidade de uma destoxificação;

- Resultar em grande concentração de sólidos, além de elevada concentração de açúcares liberados na fração líquida;
- Requerer baixa demanda de energia;
- Requerer baixo investimento e custo operacional.

Os vários métodos de pré-tratamento podem ser classificados como biológicos, físicos (moagem), químicos (ácido diluído e alcalino) ou uma combinação destes (hidrotermólise).

Segundo Baudel (2006), os métodos físicos convertem a biomassa em pós finos, incrementando a superfície específica da celulose, de modo que a hidrólise da mesma ocorre com relativa facilidade. A maior desvantagem associada a este método consiste no elevado consumo energético.

Os pré-tratamentos químicos são os mais utilizados, pois são os mais eficientes no aumento da digestibilidade da biomassa (FAN et al, 1982). De acordo com Hamelinck et al. (2005), o pré-tratamento químico visa a solubilidade da hemicelulose e da lignina, expondo a celulose à conversão por componentes ácidos ou alcalinos.

O pré-tratamento ácido é realizado embebendo o material em uma solução ácida diluída, seguida de um aquecimento a uma temperatura entre 140 e 200°C por certo período de tempo. O ácido sulfúrico, em concentrações geralmente abaixo de 4% em massa, tem sido de muito interesse nesses estudos, por ser barato e efetivo (GALBE; ZACCHI, 2010). O ácido sulfúrico possui algumas limitações importantes, incluindo a corrosão que exige materiais de construção caros. A formação dos produtos de degradação e liberação de inibidores na fermentação da biomassa são outras características do pré-tratamento ácido (RUEDA, 2010).

Os processos alcalinos de pré-tratamento geralmente utilizam condições moderadas de operação, em termos de temperatura e pressão, em comparação aos sistemas ácidos. O principal efeito do pré-tratamento consiste na remoção da lignina da biomassa, promovendo maior reatividade da fibra (BAUDEL, 2006). Galbe; Zacchi (2010) relatam que o pré-tratamento alcalino rompe as ligações entre a lignina e os carboidratos e quebra a estrutura da lignina, tornando os carboidratos mais acessíveis ao ataque enzimático. O álcali (geralmente soda ou cal) tende a causar um inchamento (“*swelling*”) da biomassa, de modo que a cristalinidade da celulose decresce, enquanto ocorre um incremento da superfície específica de contato e da porosidade da mesma (BAUDEL, 2006).

Os pré-tratamentos combinados são métodos que interagem um efeito físico com um efeito químico, como é o caso do pré-tratamento a vapor com adição de um catalisador (ácido ou alcalino), hidrotermólise e explosão de fibras com amônia (Afex) (GALBE; ZACCHI, 2010).

O pré-tratamento a vapor é um dos principais métodos utilizados para hidrólises de materiais lignocelulósicos. Este método atua química e fisicamente na transformação da lignocelulose, tendo as reações químicas como parâmetro dominante. Nesse processo, a biomassa é tratada com vapor saturado a alta pressão e temperatura (160 a 240°C) por até 20 minutos. Em seguida, a pressão é aliviada, ocasionando uma mudança brusca na temperatura, com finalidade de causar a ruptura nas ligações da lignina, hemicelulose e celulose. Pode-se adicionar SO₂ para aumentar o efeito do tratamento, com recuperação de hemicelulose (TENGBORD et al., 2001).

A hidrotermólise (*hot water*), também conhecida como solvólise ou tratamento hidrotérmico, é semelhante ao tratamento por vapor, mas é conduzida em água quente a uma temperatura inferior e em menor conteúdo de matéria seca. Isso resulta na solubilização de açúcares diluídos na forma de oligômeros. Com uma maior injeção de água, a solubilização é maior que a explosão a vapor, tendo a desvantagem o grande consumo de água em que são produzidos os hidrolisados (OSVALDO NETO, 2010).

O método de explosão de fibras com amônia (AFEX) consiste na versão alcalina do processo de pré-tratamento com vapor. Neste caso, os materiais lignocelulósicos são submetidos à ação da amônia líquida (até 2 kg de amônia são utilizados por kg de massa seca) em altas temperaturas (160 a 180°C), sob uma pressão de 9 a 17 bar, por um período de 10 a 20 minutos. Em seguida, a pressão é rapidamente reduzida (SUN; CHENG, 2002).

De acordo com Moiser et al. (2005), o método AFEX apresenta como desvantagens o custo do processo, devido ao preço da amônia, a qual deve ser recuperada para sua viabilidade econômica, e a diminuição dos rendimentos das etapas posteriores, devido à degradação dos açúcares produzidos neste processo.

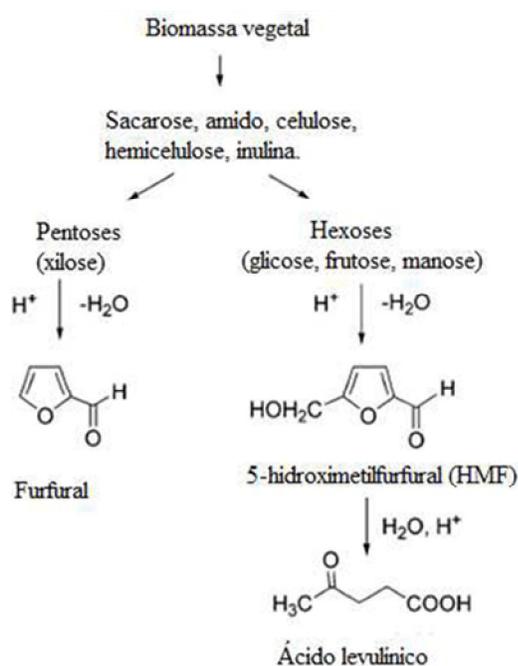
Os hidrolisados lignocelulósicos podem ser utilizados como meio de fermentação para obter xilitol, etanol e outros produtos úteis. No entanto, os subprodutos da degradação do açúcar e da lignina afetam negativamente a eficiência da fermentação, porque alguns deles são tóxicos para os microrganismos fermentativos e inibem seu metabolismo (MUSSATO; ROBERTO, 2004).

Pré-tratamentos ácidos, em condições severas de concentração e temperatura, são exemplos de processos que provocam a produção de inibidores. Em altas temperaturas e pressões, glicose e xilose podem ser degradadas em furfural e hidroximetilfurfural, respectivamente. Quando esses inibidores são degradados, ocorre formação de ácido levulínico (Figura 14) (PALMQVIST; HAHNI, 2000).

De acordo com Cruz et al. (2000), outro fator importante nos processos de hidrólise é o tempo de reação, onde um tempo superior a 60 minutos diminui a concentração de xilose devido à degradação.

Roberto et al. (1991), estudando a produção de etanol pela levedura *Pichia stipitis*, observaram que as concentração de furfural inferior a 0,5 g/L teve um efeito positivo sobre as células de crescimento, enquanto que nas concentrações acima de 2 g/L provocaram inibição quase que completa das células.

Figura 14: Produtos obtidos por desidratação de monossacarídeos.



Fonte: Corma et al., 2007

Mussato; Roberto (2004) relatam a importância da otimização do processo de hidrólise da biomassa visando minimizar a formação de inibidores. Eles ainda descrevem que, quando o material hidrolisado apresenta baixas concentrações de inibidores, a destoxificação é mais fácil e o processo fermentativo se torna mais barato.

3.8.2 Hidrólise de materiais lignocelulósicos

O processo de hidrólise, também chamado de sacarificação, consiste na de quebra da estrutura cristalina dos polissacarídeos, resultando em uma solução açucarada, a qual passará pelo processo de fermentação para obtenção do bioetanol. A hidrólise pode ser realizada por ação de ácidos ou enzimas (GALBE; ZACCHI, 2009).

Na hidrólise ácida existem, basicamente, dois processos, o de ácidos concentrados e o de ácidos diluídos.

Os processos de hidrólise com ácido diluído são operados em temperaturas elevadas, produzindo soluções de açúcar em concentração de 10 a 12% e rendimentos limitados entre 50 e 60%. Embora rendimentos superiores sejam prováveis para reações com tempos reduzidos a temperaturas mais altas, há uma barreira de ordem operacional que é a falta de equipamentos de transferência de calor para aquecimento e resfriamento muito rápidos (DUARTE, 1989).

Na hidrólise com ácido concentrado, utilizam-se ácidos fortes como ácido sulfúrico, clorídrico ou fosfórico em temperaturas baixas, menores que 100°C. Nesta operação, a celulose e hemicelulose são quebradas e os monossacarídeos liberados da hemicelulose são expostos ao meio reacional, o que leva à degradação desses açúcares (SZENGYEL, 2000).

Segundo Ramirez (2010), a reação de conversão da celulose em glicose é demonstrada através da Equação 1:



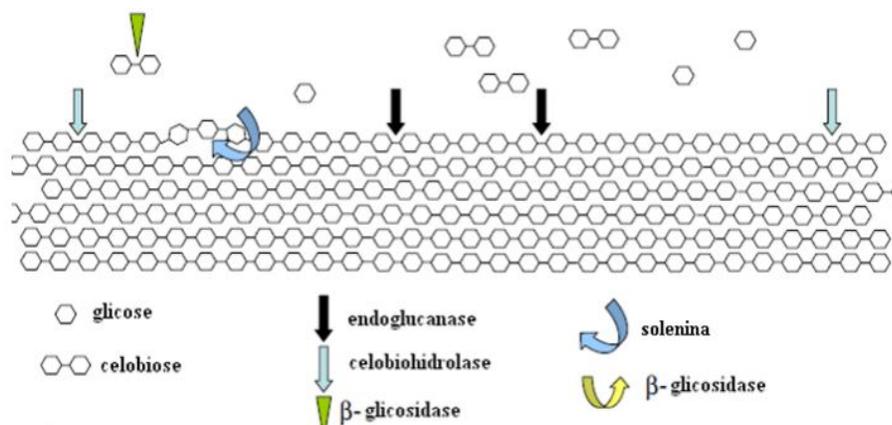
De acordo com Fan et al. (1982) e Saeman (1945), o rendimento em glicose da hidrólise ácida, realizada em diversas matérias-primas biomássicas, é sempre menor que 70%. Por outro lado, Ramirez (2010) citado por Wyman et al. (2005) afirma que a hidrólise enzimática pode produzir glicose com rendimentos acima de 95%.

Um processo baseado na hidrólise enzimática e na fermentação é considerado, hoje, como a opção mais promissora para conversão dos carboidratos de materiais lignocelulósicos em etanol, de forma energeticamente eficiente, resultando em elevados rendimentos e baixos custos de produção (WOOLEY et al., 1999).

A hidrólise enzimática da celulose é realizada por enzimas altamente específicas, chamadas de celulasas (BEGUIN; AUBERT, 1994). Segundo Ramirez (2010), a celulase é constituída de uma mistura de várias endoglucanases e celobiohidrolases, que atacam a área amorfa da celulose e clivam unidades de celobiose em ambas as pontas da cadeia da celulose, respectivamente. Elas são suplementadas com β -glicosidases, que quebram a celobiose em duas moléculas de glicose, como ilustra o esquema da Figura 15.

As enzimas são inibidas pelo produto final, isto é, muitas celulasas são inibidas pela celobiose e a β -glicosidase, a qual é inibida pela glicose, de tal forma que o acúmulo desses produtos afeta negativamente a hidrólise da celulose (MENDELS; REESE, 1963).

Figura 15: Representação esquemática de um sistema celulolítico.



Fonte: Adaptado de Aro et al. (2005).

3.8.3 Fermentação etanólica

A fermentação etanólica consiste na ação de microrganismos, denominados leveduras, sobre açúcares fermentescíveis contidos em uma solução. É um processo biológico no qual a energia fornecida por reações de oxidação parcial pode ser utilizada para o crescimento de leveduras e a oxidação parcial anaeróbia da hexose, na produção de etanol e CO₂ (LIMA; MARCONDES, 2002).

Na fermentação alcoólica de hexoses, por ação de leveduras, os principais produtos obtidos, em proporções equimolares, são o etanol e o dióxido de carbono. Esse mecanismo foi quantificado pela primeira vez por Gay-Lussac, onde 100 kg de glicose rendem 51,1 kg de etanol e 48,9 kg de dióxido de carbono. O rendimento teórico de 51,1% em massa é conhecido como coeficiente de Gay-Lussac e é o dado básico na eficiência de conversão (JACKMAN, 1991). A reação é apresentada na Equação 2.



A levedura mais comumente utilizada para fermentação do etanol é a *Saccharomyces cerevisiae*, também chamada levedura de panificação. Esta levedura fermenta apenas hexoses, isto é, glicose, manose e, em determinadas condições, a galactose, mas não é capaz de fermentar pentoses, caso da xilose e arabinose, que são os principais constituintes da maioria das hemiceluloses (GALBE; ZACCHI, 2010).

A fermentação de hidrolisados lignocelulósicos a etanol requer a presença de microrganismos que fermentem tanto as hexoses quanto pentoses, na presença de compostos inibitórios, incluindo ácidos fracos, furaldeídos e fenóis (MARGEOT et al., 2009).

Dentre as principais espécies que fermentam xilose, pode-se citar *Pachysolen tannophilus* (CHENG et al., 2008), *Kluyveromyces marxianus* (MARGARITIS; BAJPAI, 1982), *Pichia stipitis* (AGBOGBO et al., 2006), *Candida guilliermondii* (FELIPE et al., 1995), *Candida shehatae* (CHANDEL et al., 2007), *Candida blankii*, *Candida tenuis*, *Brettanomyces naardenensis*, *Pichia segobiensis*, *Kluyveromyces cellobivorus*, *Debaryomyces nepalensis*, *Debaryomyces polimorpha* e *Schizosaccharomyces pombe* (WALKER, 1998).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios e análises realizados neste trabalho foram efetuados no Laboratório de Tecnologia de Bebidas e Alimentos (LTBA) e no Laboratório de Ensino em Engenharia Química (LEEQ), ambos na Universidade Federal de Alagoas (UFAL), bem como em parceria com o Laboratório de Engenharia Bioquímica na Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

4.1 Matéria-prima

A fibra da casca do coco utilizada neste trabalho foi obtida de vendedores de água de coco na própria Universidade Federal de Alagoas, os quais descartam este resíduo após a coleta da água.

As cascas de coco foram dilaceradas, manualmente, em tamanhos menores, sanitizadas em hipoclorito de sódio 100 ppm por 15 min e submetidas à secagem (50°C) até peso constante. Em seguida, foram trituradas em forrageira elétrica e, posteriormente, em liquidificador, sendo separadas em pó e fibra após passagem por peneira.

4.2 Microrganismo

No processo fermentativo foram utilizadas as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* comercial (fermento Fermix), vendida na forma de fermento em pó seco e a *Pichia stipitis* NRL Y-7124, gentilmente cedida pela Embrapa Agroenergia.

4.3 Caracterização da fibra da casca do coco verde *in natura* e pré-tratada

A fibra da casca do coco *in natura* foi caracterizada de acordo com procedimento descrito por Gouveia et al. (2009). O objetivo deste procedimento foi obter a composição química da fibra da casca do coco verde quanto aos teores de celulose, hemicelulose e lignina. Todas as amostras (*in natura* e pré-tratada) foram caracterizadas realizando-se uma hidrólise ácida. Antes da caracterização, determinou-se a quantidade de extrativos.

4.3.1 Extrativos

Em um sistema de extração Soxhlet (Diogolab) foi colocado um cartucho com 4 g (massa seca) de fibra da casca de coco verde (*in natura*). Adicionou-se, em um balão de fundo redondo, 190 mL de etanol 95%. Ajustou-se a manta para fornecer um ciclo mínimo de 6 sifões por hora. Refluxou-se por 12 horas. O líquido contendo os extrativos foi colocado em

rotaevaporador até se obter um líquido viscoso. Retirou-se este líquido utilizando um pouco de etanol. Colocou-o em uma placa de Petri previamente tarada e deixou-a na capela ligada até se obter massa constante. Finalizado este procedimento, a massa de extrativos da fibra casca do coco verde *in natura* foi obtida.

4.3.2 Hidrólise com ácido sulfúrico (H₂SO₄)

Amostras de 1g de fibra da casca do coco verde, devidamente moída em liquidificador industrial, foram transferidas para béqueres de 100 mL, as quais sofreram tratamento com 10 mL de H₂SO₄ à 72% (v/v), sob vigorosa agitação, em um banho termostaticado (Nova Ética) a 45°C por 8 min. As amostras, transferidas para Erlenmeyers de 500 mL, com inserção de 275 mL de água destilada, foram autoclavadas por 30 min a 120°C. Após a descompressão da autoclave, os frascos foram retirados e resfriados à temperatura ambiente, sendo a fração sólida separada da fração líquida por filtração em papel de filtro qualitativo. A fração líquida foi transferida para balão volumétrico de 500 mL, o qual teve o seu volume posteriormente completado com água destilada. A solução foi armazenada para análises posteriores de carboidratos, ácidos orgânicos, furfural, hidroximetilfurfural (HMF) e lignina solúvel.

4.3.3 Determinação da lignina insolúvel na fração líquida

O material retido no papel de filtro foi lavado com 1500 mL de água destilada, transferido para pesa-filtros para secagem em estufa a 100°C até massa constante. A percentagem de lignina insolúvel foi calculada em relação à massa de amostra seca conforme a Equação 3.

$$\%L_{Ki} = \frac{M_K - M_C}{M_A} \times 100 \quad (3)$$

onde: L_{Ki} : Lignina Klason insolúvel

M_K : massa de lignina insolúvel seca

M_C : massa de cinzas

M_A : massa da amostra seca

4.3.4 Determinação de lignina solúvel na fração líquida

A quantidade de lignina solúvel foi determinada pela medida de absorbância a 280 nm em espectrofotômetro. O cálculo da lignina solúvel foi determinado conforme a Equação 4.

$$C_{lig} = 4,87 \cdot 10^{-2} \cdot (A_T - A_{pd}) - 3,279 \cdot 10^{-4} \quad (4)$$

onde: C_{lig} : concentração de lignina solúvel, em g/L

A_T : absorvância (280 nm) da solução de lignina junto com os produtos de degradação

$A_{pd} = c_1\varepsilon_1 + c_2\varepsilon_2$ = absorvância, em 280 nm, dos produtos de decomposição dos açúcares (furfural e HMF), cujas concentrações c_1 e c_2 foram determinadas previamente por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) e as absorvâncias, ε_1 e ε_2 , valem, respectivamente, 146,85 e 114,00 L/g.cm

4.3.5 Determinação de carboidratos, ácidos orgânicos, furfural e hidroximetilfurfural na fração líquida

Para a construção das curvas de calibração dos carboidratos, foram injetadas no cromatógrafo líquido soluções contendo celobiose, glicose, xilose e arabinose. A construção das curvas de calibração dos ácidos orgânicos foi realizada através da injeção de soluções contendo ácido acético e ácido fórmico.

As análises foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu sob as seguintes condições:

- Coluna Aminex HPX 87H (300 x 7,8 mm, Bio-Rad)
- Fase móvel: H_2SO_4 0,005 mol/ L
- Vazão de 0,6 mL/min
- Temperatura do forno: 45 °C

4.3.6 Determinação de hidroximetilfurfural e de furfural

Para determinar as concentrações de hidroximetilfurfural (HMF) e furfural foram realizadas análises cromatográficas (CLAE) em cromatógrafo Shimadzu. Construíram-se curvas de calibração de furfural e hidroximetilfurfural injetando soluções padrões destes dois compostos. As amostras dos hidrolisados foram filtradas em membrana de 0,45 μ m e analisadas (Gouveia *et al.*, 2009). As condições experimentais foram:

- Coluna C-18 (Waters, 3,9 x 300 mm)
- Fase móvel solução de acetonitrila/água 1:8 com 1% de solução de ácido acético
- Vazão de 0,8 mL/min
- Temperatura do forno: 25°C
- Detector UV/VIS (SPD-10A) a 274 nm

4.3.7 Cinzas

Após a determinação da lignina insolúvel em meio ácido, a mesma, juntamente com o papel de filtro, foi transferida para um cadinho de porcelana, previamente tarado. A amostra foi calcinada lentamente até 300°C e mais 2 h a 800°C, em uma mufla. Para determinação das cinzas totais foi coletado 2 g da fibra da casca do coco verde para ser incinerado com o mesmo procedimento anterior. O teor de cinzas foi encontrado a partir da Equação 5.

$$Cinzas(\%) = \frac{Massa\ final}{Massa\ inicial} \cdot 100 \quad (5)$$

4.4 Metodologias analíticas

4.4.1 Umidade

A umidade da fibra da casca de coco verde foi determinada de acordo com o método de aquecimento direto. Este método se baseia na quantificação de massa, devido à perda de água por evaporação, que é determinado por secagem direta em estufa a 105°C.

O procedimento foi realizado colocando-se na estufa a 105°C, por no mínimo 1 hora, uma cápsula de porcelana ou de metal previamente identificada. Transferiu-se para o dessecador por no mínimo 15 minutos e pesou-se em balança analítica. Coletaram-se 2 g de amostra neste recipiente previamente tarado e se transferiu para a estufa a 105°C por 3 horas. Após este período, o material foi resfriado em dessecador por 15 minutos e pesado. Estas operações de aquecimento e resfriamento foram repetidas até peso constante da amostra. O percentual de umidade foi obtido através da Equação 6.

$$Umidade(\%) = \frac{Massa\ úmida - Massa\ seca}{Massa\ úmida} \cdot 100 \quad (6)$$

4.4.2 Acidez

O método se baseou na titulação de neutralização de ácidos com solução padronizada de álcali (solução de NaOH 0,1 N) e com o uso de indicador fenolftaleína. A amostra foi preparada com a mistura de 2 g de fibra em 50 mL de água destilada, deixando-a sob agitação por 30 min, seguida de decantação por 10 min. A parte líquida foi retirada e titulada com solução de NaOH 0,1 N, adicionando-se a solução 2 a 3 gotas de fenolftaleína. O resultado foi obtido pela Equação 7.

$$Acidez(mL/100\ g) = \frac{V.N.f.100}{M} \quad (7)$$

onde:

V = volume gasto na titulação da solução de NaOH, em mL

N = normalidade da solução de NaOH

f = fator de correção da solução de NaOH

M = massa tomada de amostra, em g

4.4.3 pH

Para medição de pH foi utilizado pHmetro de bancada digital PHTER PHS-3B, com controle de temperatura e previamente ajustado nas soluções padrão pH 4,0 e pH 7,0.

4.4.4 Sólidos solúveis totais (°Brix)

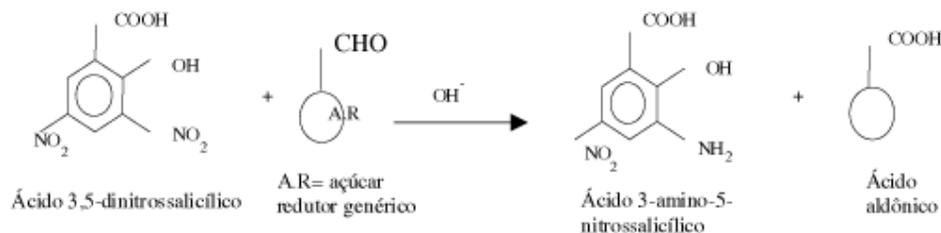
A determinação dos sólidos solúveis totais (°Brix) foi feita através de refratômetro digital portátil, marca HANNA HI 96801, com compensação automática de temperatura e faixa de medição de 0 a 85°Brix.

4.4.5 Açúcares redutores (AR) e açúcares redutores totais (ART)

As análises de AR e ART foram obtidas por espectrofotometria, através do método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS), proposto por Miller (1959).

A determinação de açúcares redutores pelo método do DNS se baseia na redução, em meio alcalino, do ácido 3,5-dinitrossalicílico (coloração amarela). O produto formado é estável, com coloração laranja-avermelhado (3-amino-5-nitrossalicílico) na proporção estequiométrica e máxima absorção da luz visível no comprimento de onda de 540 nm (RODRIGUES e SANTOS, 2011). Neste método ocorre a seguinte reação de oxidação ilustrada na Figura 16.

Figura 16: Reação de redução do ácido dinitrossalicílico pelo açúcar redutor em meio alcalino a ácido 3-amino-5-nitrossalicílico formando ácido aldônico.



Fonte: Silva et al., 2003

Para determinação da concentração de açúcares redutores (AR) foi preparada uma solução contendo 0,5 g de fibra de coco com 20 mL de água destilada. Após 20 minutos de agitação, ocorre a separação da fração líquida e sólida. Do líquido, coleta-se 0,25 mL para obtenção da leitura espectrofotométrica, através do método do DNS. O cálculo do AR foi realizado de acordo com a Equação 8.

$$AR(g/100\ g) = \frac{\text{Absorbância} \times \text{fator da curva}}{\text{Concentração da amostra}} \cdot 100 \quad (8)$$

Na determinação dos açúcares redutores totais (ART) foi coletado 1 mL da mesma solução utilizada para obter o AR (0,5 g de fibra + 20 mL de água destilada), sendo esta amostra hidrolisada com 5mL de H₂SO₄ (1,5 M) e neutralizada posteriormente, com NaOH (26%). Em seguida, ocorre a filtração e completa-se o volume para 20 mL. Coleta-se, então, 0,25 mL e se faz o procedimento para obtenção do ART idêntico ao do AR, com a diferença da inclusão do fator de diluição nos cálculos, como mostra a Equação 9.

$$ART(g/100\ g) = \frac{\text{Absorbância} \times \text{fator da curva} \times \text{diluição}}{\text{Concentração da amostra}} \cdot 100$$

(9)

4.5 Pré-tratamento da fibra da casca do coco verde

Dos diversos tipos de pré-tratamentos de eficácia comprovada na literatura em outros materiais lignocelulósicos, dentre eles o bagaço de cana-de-açúcar, este trabalho estudou dois tipos de pré-tratamento químico, o ácido e o alcalino, utilizando água, ácido sulfúrico (H₂SO₄) e hidróxido de sódio (NaOH) como reagentes.

Para cada reagente químico foi elaborado um planejamento experimental 2², com três repetições no ponto central. Os ensaios foram realizados em autoclave a 121°C e 1 atm, variando concentração do reagente e o tempo de reação, conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3: Faixa de valores estudados no planejamento 2² do pré-tratamento com ácido e alcalino.

Fatores	Níveis		
	-1	0	+1
Concentração (%)	0	5	10
Tempo (min)	20	40	60

Fonte: Autor, 2014

No processo de pré-tratamento, aproximadamente 5 g de amostra de fibra da casca do coco verde foram misturadas a 100 mL de solução (água, ácido sulfúrico ou hidróxido de sódio), em frascos Erlenmeyers de 500 mL (Figura 17), e autoclavadas a 121°C e 1 atm, de acordo com as condições do planejamento experimental apresentado na Tabela 3. Os resultados obtidos foram apresentados através da média aritmética e desvio padrão provenientes de três repetições de cada ensaio do planejamento experimental.

Figura 17: Amostras de fibra da casca do coco submetidas aos pré-tratamentos ácido e alcalino.



Fonte: Acervo do autor, 2014

Após o período de reação e despressurização da autoclave, ocorreu a separação das frações líquida e sólida por filtração. Do líquido, foram analisadas a quantidade de açúcares liberados, medido em ART (açúcares redutores totais) e o teste de capacidade fermentativa. A parte sólida foi lavada com água destilada à temperatura ambiente até que o líquido residual chegasse a pH neutro, sendo o resíduo, então, colocado para secagem em estufa à 50°C até massa constante. Este material será processado na hidrólise enzimática para quebra da celulose e, conseqüentemente, produzir monômeros de glicose, os quais serão fermentados. A Figura 18 mostra o fluxograma das etapas que englobam este trabalho.

Ao final de cada ensaio de pré-tratamento foi calculado o rendimento mássico, a partir Equação 10.

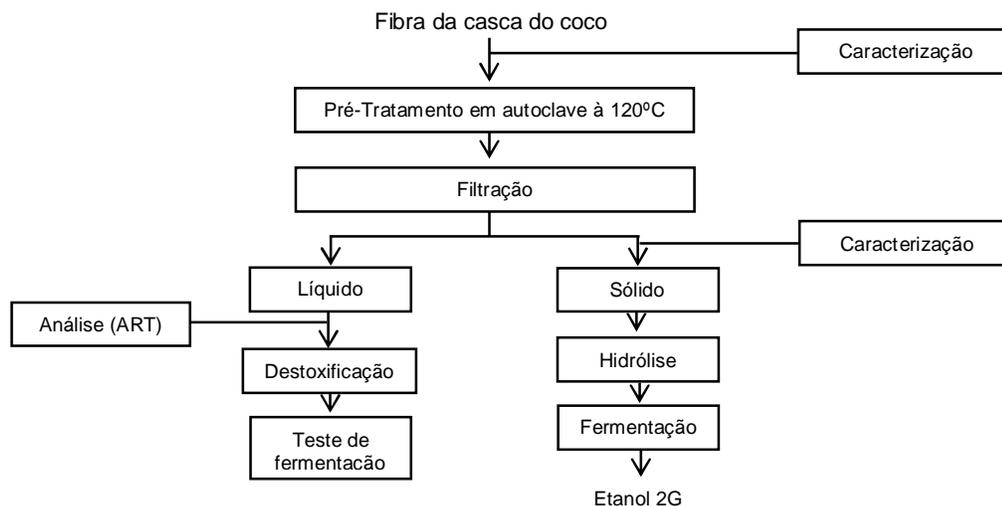
$$\text{Rendimento mássico (\%)} = \frac{m_{final}}{m_{inicial}} \times 100 \quad (10)$$

onde:

$m_{inicial}$ = massa inicial seca submetida ao pré-tratamento (g)

m_{final} = massa final seca após lavagem até a neutralidade (g).

Figura 18: Fluxograma do processo de aproveitamento da fibra da casca do coco verde para produção de etanol 2G.



Fonte: Autor, 2014

4.6 Destoxificação

Com o propósito de reduzir a concentração de substâncias tóxicas no processo fermentativo, empregou-se o procedimento de destoxificação da fração líquida resultante do pré-tratamento.

A destoxificação foi elaborada de acordo como descrito por Marton (2002) e citado por Fugita (2010). Nesta etapa, realizada em incubadora tipo *Shaker*, utilizou-se carvão ativo 1% (p/v) como agente adsorvente, durante 30 minutos e 50°C. Após este período, as amostras foram centrifugadas para separação do sobrenadante do precipitado.

Segundo Fugita (2010), para o sucesso do processo de destoxificação, é necessário o ajuste do pH do hidrolisado. Então, as amostras provenientes dos pré-tratamentos hidrotérmico e alcalino tiveram seu pH ajustado para 4,0, adicionando ácido fosfórico (H_3PO_4), enquanto que as do pré-tratamento ácido foram ajustadas para pH 7,0, pela adição de cal virgem (CaO), seguida de decaimento até pH 4,0, utilizando ácido fosfórico (H_3PO_4).

4.7 Capacidade fermentativa da fração líquida do pré-tratamento

Para estimar a capacidade fermentativa, o líquido resultante da destoxificação de cada ensaio de pré-tratamento foi submetido ao teste de metabolização dos carboidratos, principalmente xilose e glicose, pelas leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Pichia stipitis* NRL Y-7124, em tubos de ensaio contendo tubos de Durhan invertidos.

O procedimento fermentativo se iniciou com a suplementação do hidrolisado por sulfato de amônio (0,1 g/L) e fosfato de potássio (0,1 g/L). As leveduras foram suspensas em água destilada estéril de forma a se obter uma absorbância de 0,626 em 540 nm, o que representa concentração de células na ordem de 10^6 células/mL. Em cada tubo de ensaio, o material inoculado foi composto de 4,5 mL da amostra hidrolisada, 1 mL da solução de suplementação e 0,1 mL da solução de fermento. Para cada amostra, foram realizados dois ensaios de fermentação, um com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e outro com a *Pichia stipitis* NRL Y-7124.

4.8 Hidrólise enzimática

O processo de hidrólise enzimática foi realizado com a fração sólida do material pré-tratado de todos os ensaios descritos no planejamento experimental. Os ensaios ocorreram em incubadora *Shaker*, à 50°C e 150 rpm por 72h, utilizando para tal a enzima comercial Accellerase 1500, com 1 % de carga de sólidos (1 g de fibra de coco pré-tratada/100 mL de solução). A solução para hidrólise foi composta por 60 mL de tampão citrato a 50 mM e pH de 4,8, com 38 mL de água destilada e 2 mL da enzima.

Finalizada a hidrólise, foi promovida a separação das frações sólida e líquida, por filtração simples. Da parte líquida, foi coletada uma amostra para determinação da concentração de açúcares, medida em ART (seção 4.4.5), e direcionada para última etapa do trabalho, a fermentação etanólica. A fração sólida remanescente foi descartada.

A avaliação da hidrólise foi obtida através do cálculo da conversão enzimática (Equação 11), a qual expressa o percentual de monossacarídeos formados em relação à concentração do material sólido hidrolisado.

$$\text{Conversão enzimática (\%)} = \frac{ART_{\text{Hidrolisado}} (g/L)}{C_{\text{inicial}} (g/L)} \cdot 100 \quad (11)$$

onde C_{inicial} é a concentração de sólidos na hidrólise (10 g/L).

A partir da conversão enzimática e do rendimento mássico, foi obtido o rendimento global dos processos de pré-tratamento e hidrólise enzimática (Equação 12), o qual exprime a quantidade de açúcares formados no processo de hidrólise em relação à quantidade de fibra de coco verde *in natura* utilizada no pré-tratamento.

$$\text{Rendimento global} \left(\frac{\text{g ART}}{100 \text{ g fibra in natura}} \right) = \frac{(\text{Conversão enzimática}) \times (\text{Rendimento mássico})}{100} \quad (12)$$

4.9 Fermentação do hidrolisado

O líquido resultante da hidrólise enzimática, rico em monômeros de glicose, sofreu o processo de fermentação etanólica por ação das leveduras *Saccharomyces cerevisiae*.

4.9.1 Preparo do inóculo

O inóculo foi preparado utilizando o meio de cultura YPD (Yeast Peptone Dextrose), com a seguinte composição:

- 10 g/L de extrato de levedura
- 20 g/L de glicose
- 20g/L de peptona bacteriológica

Para a multiplicação da levedura foram preparados 100 mL da solução YPD (pH corrigido para 5,0), com introdução de 1 g de fermento, proporcionando uma concentração de inóculo de 10 g/L. O crescimento celular aconteceu em incubadora *Shaker* durante 18 horas, a 30°C e 100 rpm. Finalizado este período, o meio foi dividido em partes iguais: a primeira foi armazenada para obtenção da concentração celular, enquanto a outra parte foi centrifugada. Para garantir ausência de resíduos da solução YPD, o fermento foi ressuspenso com NaCl a 0,85% e centrifugado novamente. A massa obtida foi utilizada para inoculação do hidrolisado.

4.9.2 Ensaio de fermentação etanólica

Em frasco Erlenmeyer de 250 mL foi adicionada uma alíquota de 45 mL de hidrolisado com 5 mL de suplemento nutricional (solução de sulfato de amônio e fosfato de potássio a 1 g/L) e esterilizada a 110°C durante 15 minutos. Após resfriamento até temperatura ambiente, foi adicionado o inóculo, obtido de acordo com a seção anterior.

O processo fermentativo ocorreu em incubadora *Shaker* sob temperatura de 30°C e agitação de 100 rpm, onde a finalização do ensaio foi determinada através do acompanhamento periódico (a cada 1 hora) do consumo de açúcares, medido em sólidos solúveis totais (°Brix) e da concentração celular (X). O brix foi determinado através de refratômetro digital, enquanto que para a concentração celular foi realizada leitura de absorbância e posterior conversão em concentração celular (g/L), através da construção de uma curva padrão de massa seca, a qual relaciona a concentração de células, em g/L, com a leitura espectrofotométrica (absorbância) de variadas diluições do material fermentado..

A concentração de etanol, após finalização da fermentação, foi determinada pelo método espectrofotométrico (MIGLIARI, 2001 citado por SALIK; POVH, 1993), o qual se baseia na oxidação do etanol a ácido acético, através da reação com dicromato de potássio em meio ácido. A quantificação do etanol foi feita através da comparação com uma curva padrão construída com concentrações conhecidas de etanol.

4.10 Parâmetros da fermentação

A partir do acompanhamento cinético do processo fermentativo, foi possível obter os parâmetros a seguir.

- Fator de conversão de substrato em etanol (g de etanol /g de substrato):

$$Y_{E/S} = \frac{\Delta E}{\Delta S} \quad (13)$$

- Produtividade em etanol (g de etanol/L.h):

$$P_E = \frac{\Delta E}{\Delta t} \quad (14)$$

- Fator de conversão células em etanol (g de etanol /g de células):

$$Y_{E/X} = \frac{\Delta E}{\Delta X} \quad (15)$$

- Produtividade em células (g de células/L.h):

$$P_X = \frac{\Delta X}{\Delta t} \quad (16)$$

- Fator de conversão substrato em células (g de células/g de substrato):

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta X}{\Delta S} \quad (17)$$

A partir da equação de Gay-Lussac (Equação 2), pode-se afirmar que para cada 1 g de glicose é obtido no máximo 0,511 g de etanol. Logo, o rendimento em etanol foi calculado da seguinte forma:

$$\eta(\%) = \frac{Y_{E/S}}{0,511} \times 100 \quad (18)$$

4.11 Estudo da potenciabilidade da produção de etanol

A partir de dados mostrados na literatura e resultados obtidos, foi quantificado o etanol capaz de ser produzido a partir dos parâmetros estabelecidos neste trabalho, bem como estimar a viabilidade da fibra da casca do coco verde.

A quantidade de massa de ART (m_{ART}) é obtida através das Equação 19, a qual relaciona a quantidade de massa de fibra *in natura* (m_F) e o rendimento global de hidrólise (R_H). Já a massa de etanol é calculada pela Equação 20, onde η é o rendimento fermentativo.

$$m_{ART} = m_F \cdot R_H \quad (19)$$

$$m_{etanol} = m_{ART} \cdot \eta \cdot 0,511 \quad (20)$$

Considerando a densidade do etanol hidratado, à 25°C, de 0,789 g/mL, o volume de etanol é encontrado de acordo com a Equação 21.

$$V_{etanol} = \frac{m_{ETANOL}}{0,789} \quad (21)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização química da fibra da casca do coco verde

A princípio, foram determinadas algumas propriedades físico-químicas encontradas no material de estudo, como mostrada na Tabela 4.

Tabela 4: Propriedades físico-químicas encontradas na fibra da casca do coco verde *in natura*.

pH	Umidade (%)	Acidez (g/100 mL)	°Brix	AR(g/100 g)	ART (g/100 g)
4,2 ± 0,4	3,8 ± 0,2	6,3 ± 0,8	17 ± 1,4	8,1 ± 1,74	14,2 ± 2,02

Fonte: Autor, 2014

Algumas características importantes puderam ser observadas, como o baixo teor de umidade, o qual proporciona menos contaminações microbiológicas, e a quantidade significativas de açúcares, medidas em AR e ART, para a biomassa *in natura*.

Para obtenção da caracterização química completa, foram realizadas análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando a metodologia descrita por Golveia et al. (2009). Tais procedimentos foram efetivados em parceria com a Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR). Para determinar os teores de celulose e hemicelulose das amostras foram utilizados fatores de conversão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Fatores de conversão para celulose e hemicelulose.

Componente	Fator de conversão	
Celulose	Glicose	0,90
	Celobiose	0,95
	HMF	1,20
	Ácido Fórmico	3,90
Hemicelulose	Xilose	0,88
	Arabinose	0,95
	Ácido Acético	0,72
	Furfural	1,37

Fonte: Golveia et al., 2009.

A Tabela 6 apresenta os valores médios dos constituintes da fibra da casca do coco verde *in natura* convertidos em celulose e hemicelulose, bem como valores de lignina total, cinzas e extrativos. Os ensaios foram realizados em duplicata.

Tabela 6: Composição química da fibra da casca do coco verde.

Componente	Valor médio (%)
Celulose	24,70
Hemicelulose	12,26
Lignina	40,10
Cinzas	2,56
Total	82,25

Fonte: Autor, 2014.

De acordo com a Tabela 6, a quantidade de lignina na composição da fibra da casca do coco foi bastante elevada, com valor médio de 40,10%. Isto explica o alto grau de durabilidade e resistência deste material. Em comparação a outros materiais lignocelulósicos, esta biomassa apresenta quantidade de celulose representativa (24,70%), o que lhe oferece boas condições para sua utilização na produção de etanol de segunda geração. O bagaço de cana-de-açúcar, que hoje é o resíduo agroindustrial de maior estudo nesta área, apresenta 46,8% de celulose, 27,5% de hemicelulose e 26,2% de lignina na sua composição (CANILHA et al., 2007). Segundo Georges (2011), a palha da cana-de-açúcar possui cerca de 30% celulose, mostrando grande potencial para o aproveitamento energético e industrial. Para o milho, Santos (2014) obteve para o sabugo e a palha, 35,4% e 36,7% de celulose, respectivamente.

5.2 Pré-tratamento químico

A avaliação do pré-tratamento foi baseada na quantidade de açúcares liberados na fração líquida, medida em ART (g ART/100 g de fibra sem tratar), no rendimento mássico e na caracterização química da fração sólida. Para cada reagente foi realizado um planejamento experimental 2² com triplicata no ponto central (Tabelas 7 e 8), com o objetivo de identificar as melhores condições quando há variação na concentração de reagente e no tempo de reação.

De acordo com as Tabelas 7 e 8, observa-se que as condições que apresentaram maior quantidade de açúcares produzidos na fração líquida, tanto para o pré-tratamento ácido como o alcalino, foram as do ponto central, ou seja, 5% (p/v) do agente químico, durante o período de reação de 40 minutos, obtendo concentrações médias, respectivamente, de 34,67 e 44,72 g/100 g de fibra *in natura*.

Com relação aos resultados dos rendimentos mássicos, nota-se que a maior perda de massa aconteceu no pré-tratamento alcalino, alcançando valores superiores a 75%, os quais

apresentam valores superiores aos encontrados por Nascimento (2011), que obteve 60% de perda de massa, para o bagaço de cana-de-açúcar, utilizando 4% de concentração de NaOH. A Figura 19 compara os valores médios da perda de massa para os pré-tratamentos ácido e alcalino.

Tabela 7: Resultados do planejamento experimental para o pré-tratamento ácido.

Ensaio	Concentração H ₂ SO ₄ (%)	Tempo (min)	ART (g/100 g)	Rendimento mássico (%)
1	0	20	28,39 ± 1,34	62,20 ± 3,20
2	10	20	25,80 ± 1,86	49,63 ± 1,86
3	0	60	26,35 ± 0,38	62,79 ± 2,84
4	10	60	23,88 ± 2,55	49,75 ± 2,34
5	5	40	33,40 ± 1,05	50,35 ± 2,10
6	5	40	36,32 ± 3,29	49,65 ± 2,46
7	5	40	34,29 ± 1,71	50,15 ± 3,40

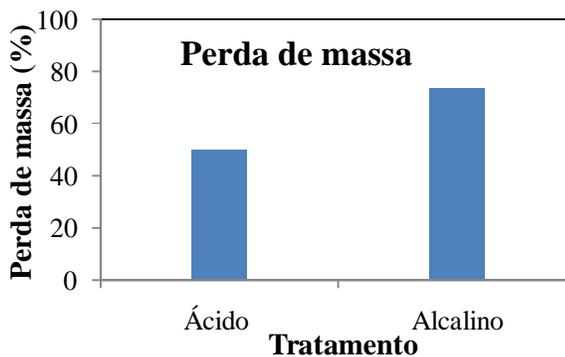
Fonte: Autor, 2014

Tabela 8: Resultados do planejamento experimental para o pré-tratamento alcalino.

Ensaio	Concentração NaOH (%)	Tempo (min)	ART (g/100 g)	Rendimento mássico (%)
1	0	20	28,39 ± 1,34	62,20 ± 3,20
2	10	20	36,08 ± 3,61	28,29 ± 2,90
3	0	60	26,35 ± 0,38	62,79 ± 2,84
4	10	60	32,44 ± 4,64	27,38 ± 1,50
5	5	40	45,10 ± 1,56	24,79 ± 1,70
6	5	40	45,86 ± 4,87	25,69 ± 2,56
7	5	40	43,21 ± 4,17	26,48 ± 2,24

Fonte; Autor, 2014

Figura 19: Valores médios da perda de massa dos pré-tratamentos ácido e alcalino.



Fonte: Autor, 2014

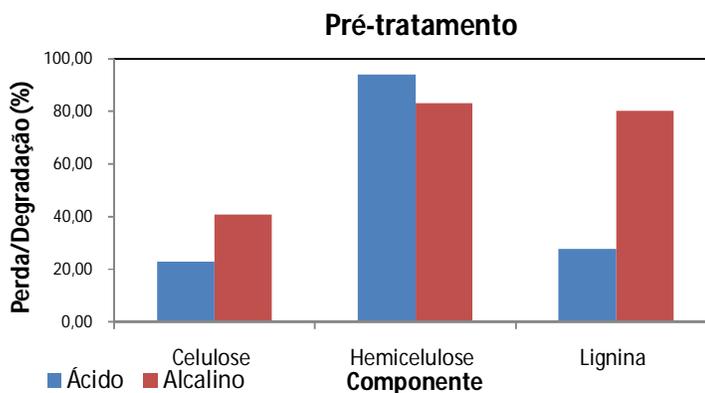
A caracterização da biomassa pré-tratada em meio ácido e alcalino (ambas na condição 5% de reagente e 40 min) é mostrada pela Tabela 9. Nela se observa a nova composição da massa lignocelulósica após ação do reagente químico. Na Figura 20 é apresentado o percentual de degradação dos principais componentes (celulose, hemicelulose e lignina) da biomassa, após o pré-tratamento.

Tabela 9: Composição química da fibra da casca do coco verde *in natura* e após pré-tratamento.

Componente	<i>In natura</i>	Pré-tratamento ácido	Pré-tratamento alcalino
Celulose (%)	24,70	38,09	55,17
Hemicelulose (%)	12,26	1,46	7,80
Lignina (%)	40,10	57,70	29,91
Cinzas (%)	2,56	2,12	0,89
Total	82,25	99,37	93,77

Fonte: Autor, 2014.

Figura 20: Remoção dos componentes químicos da fibra da casca do coco verde após pré-tratamento.



Fonte: Autor, 2014.

Como citado por Baudel (2006), o principal efeito do pré-tratamento alcalino consiste na remoção da lignina da biomassa, promovendo maior reatividade da fibra, o que pode ser comprovado pela Tabela 9.

No pré-tratamento alcalino ocorreu grande diminuição da composição de lignina, reduzindo a proporção de 40,10% no material *in natura* para 29,91% no pré-tratado, proporcionando o aumento na fração de celulose de 24,70 para 55,17%. Já com relação à hemicelulose, houve redução de 12,26% para 7,80%. Nascimento (2011), trabalhando com bagaço de cana-de-açúcar, conseguiu, na condição de 7% NaOH e 30 minutos na

deslignificação, reduzir a concentração de lignina para 5% na biomassa e obter teor de celulose em torno de 38%, garantindo um alto conteúdo acessível de celulose para degradação enzimática.

O pré-tratamento ácido, com maiores rendimentos mássicos, tem nesta biomassa não apenas celulose (38,09%) em grande quantidade, como é o caso da biomassa pré-tratada com reagente alcalino, mas também significativo percentual de lignina (57,70%), que pode vir a interferir no processo de hidrólise enzimática. Uma vantagem do pré-tratamento ácido é a solubilização da hemicelulose, que restou apenas 1,46% na composição do material pré-tratado. Entretanto, existe o risco de formação de produtos voláteis de degradação do carbono e estes, em muitos casos, diminuem a conversão a etanol (PALMQVIST e HAHNI, 2000).

O percentual de degradação é obtido realizando um balanço de massa dos materiais antes e depois do pré-tratamento. É possível visualizar que a degradação da celulose foi mais acentuada no pré-tratamento alcalino, apresentando quase o dobro de perda em relação ao pré-tratamento ácido. Apesar da significativa perda, a biomassa tratada com NaOH apresenta uma solubilização de lignina em torno de 80%, ao contrário do tratamento em meio ácido, que solubilizou apenas 28%. Como já esperado, a solubilização da hemicelulose em meio ácido foi mais efetiva do que em meio básico, apresentando valores de 94 e 80% de degradação, respectivamente.

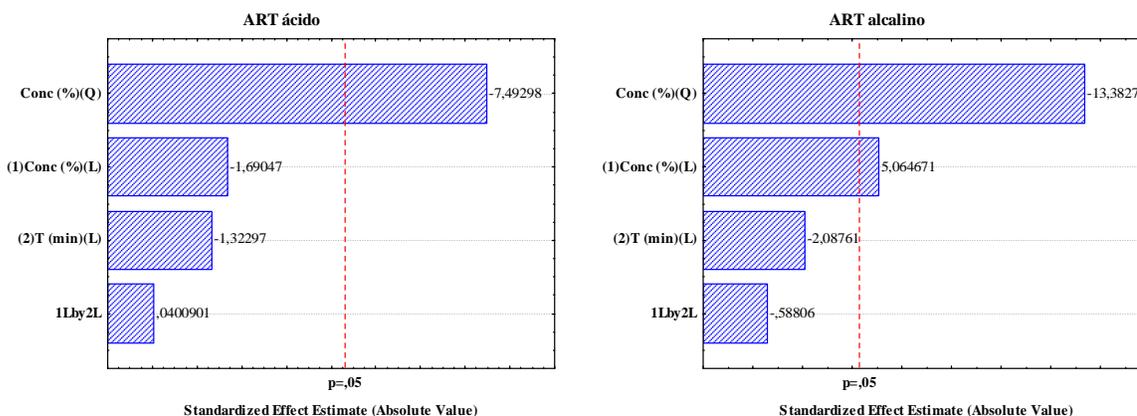
Santos (2014) obteve para a palha do milho remoção de 25,1% no teor de celulose, 70,66% de hemicelulose e 39,34% de lignina. Já para o sabugo do milho, houve degradação de 36,6% de celulose e solubilização de 67,8% e 28,6% de hemicelulose e lignina, respectivamente.

Câmara e Moraes (2012), utilizando peróxido de hidrogênio alcalino para o pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar, conseguiram remover 51,58%, 30,75% e 17,9% da lignina, hemicelulose e celulose presentes inicialmente, respectivamente, apresentando teores finais de 16,87% de lignina, 28,5% de hemicelulose e 48,9% de celulose.

A análise conjunta das Figuras 19 e 20, juntamente com a Tabela 9, permite afirmar que, mesmo com baixo rendimento mássico e maior degradação da cadeia celulósica, o pré-tratamento alcalino apresentou melhores resultados do que o ácido, principalmente pela elevada concentração de celulose na massa pré-tratada e alta solubilização de lignina. No entanto, antes de se excluir esta técnica como melhor forma de tratamento das fibras de coco, foram necessários estudos de hidrólise enzimática da biomassa pré-tratada, apresentadas na seção 5.4.

A análise estatística dos planejamentos fatoriais apresenta, nas Figuras 21 e 22, os gráficos de Pareto e as superfícies de resposta dos modelos que melhor se ajustaram aos resultados obtidos.

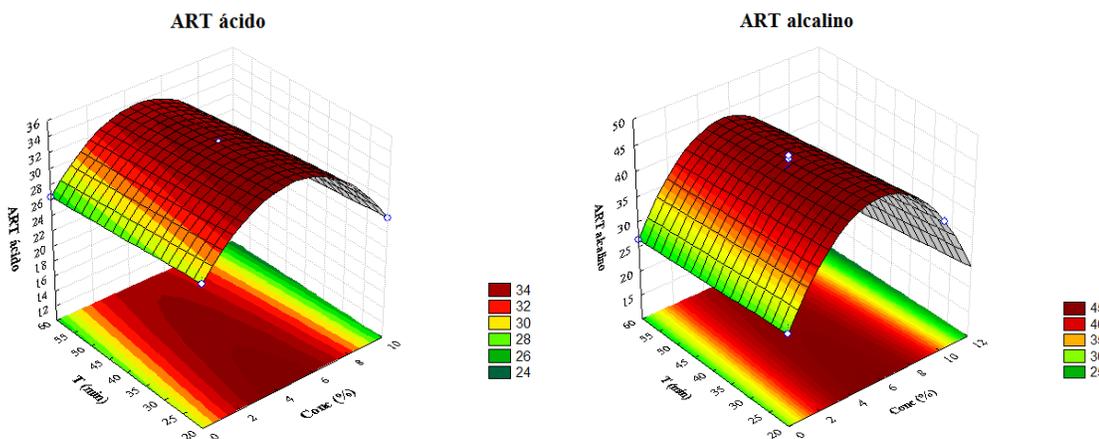
Figura 21: Gráficos de Pareto para os pré-tratamentos ácido e alcalino.



Fonte: Autor, 2014.

Para ambos pré-tratamentos, a variável significativa foi a concentração do reagente, em um efeito negativo e quadrático. Para o tratamento alcalino, o efeito linear e positivo da concentração também apresentou significância ao nível de 95% de confiabilidade. O tempo e a interação das variáveis analisadas não influenciaram significativamente o processo de sacarificação nos pré-tratamentos ácido e alcalino.

Figura 22: Perfil das superfícies dos pré-tratamentos ácido e alcalino.



Fonte: Autor, 2014.

Nas superfícies obtidas, percebe-se que a maior liberação de açúcares ocorreu na concentração média analisada, independentemente do tempo de pré-tratamento a 121°C. Os valores extremos de concentração e tempo, dentro da faixa estudada, influenciaram negativamente a liberação dos açúcares.

Os coeficientes de regressão e correlação, bem como os erros padrão dos planejamentos experimentais, considerando-se 5% de significância, são mostrados na Tabela 10.

Tabela 10: Coeficientes de regressão e erros padrão do planejamento fatorial.

Tratamento	Variáveis	Efeito	R ²	Erro padrão	t (2)	p-valor
ácido	Média *	29,41000		2,366379	12,42827	0,006412
	Conc. (%) (L) *	3,16100		0,566615	5,57875	0,030661
	Conc. (%) (Q) *	-0,34260	0,96813	0,045723	-7,49298	0,017349
	T (min) (L)	-0,05100		0,052914	-0,96383	0,436825
	Conc. xT	0,00030		0,007483	0,04009	0,971663
alcalino	Média *	29,41000		2,150988	13,6728	0,005307
	Conc. (%) (L) *	6,41100		0,515041	12,4476	0,006392
	Conc. (%) (Q) *	-0,55620	0,99054	0,041561	-13,3827	0,005537
	T (min) (L)	-0,05100		0,048098	-1,0603	0,400114
	Conc. xT	-0,00400		0,006802	-0,5881	0,616050

* fatores estatisticamente significativos (95% confiança)

Fonte: Autor, 2014.

Os resultados mostram bom ajuste do modelo, com correlações próximas a 1, e a influência significativa de alguma variável não avaliada neste estudo e da concentração do reagente.

Os modelos de segunda ordem que descrevem o comportamento do processo de sacarificação nos pré-tratamentos ácido e alcalino são apresentados nas Equações 22 e 23, respectivamente.

$$ART_{ácido}(g/100 g) = 29,410 + 3,161 \cdot Conc - 0,343 \cdot Conc^2 \quad (22)$$

$$ART_{alcalino}(g/100 g) = 29,410 + 6,411 \cdot Conc - 0,556 \cdot Conc^2 \quad (23)$$

5.3 Capacidade fermentativa da fração líquida do pré-tratamento

O teste de capacidade fermentativa foi avaliado através da formação de gás no interior dos tubos de Durhan, por 10 dias. Após este período, ficou evidenciado êxito na fermentação nos experimentos pré-tratados com 0 e 5% de ácido sulfúrico (Figuras 23 e 24), ambos inoculados com a levedura *Pichia stipitis* NRL Y-7124, levedura capaz de fermentar pentoses (xilose) e hexoses (glicose).

Figura 23: Teste de metabolização dos carboidratos da fração líquida pré-tratada, usando apenas água como reagente, com utilização das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* (SAC) e *Pichia stipitis* NRL Y-7124 (PIC).



Fonte: Acervo do autor, 2014

Os ensaios de fermentação mostraram que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* não conseguiu metabolizar nenhuma das amostras, evidenciado a forte presença de pentoses, inibidores e baixa concentração de glicose na fração líquida pré-tratada.

Figura 24: Teste de metabolização dos carboidratos da fração líquida pré-tratada, usando solução de 5% de ácido sulfúrico, com utilização das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* (SAC) e *Pichia stipitis* NRL Y-7124 (PIC).



Fonte: Acervo do autor, 2014

Tais resultados sugerem a presença da celulose ligada à biomassa pré-tratada, sendo, por isto, fundamental os estudos de hidrólise para avaliar qual o pré-tratamento mais efetivo para a produção de etanol 2G a partir da fibra de coco.

5.4 Hidrólise Enzimática

Os resultados obtidos no processo de hidrólise enzimática da fração sólida são apresentados através das Tabelas 11 e 12, as quais fornecem a concentração de açúcares, a conversão enzimática e o rendimento global de hidrólise (R_H).

Tabela 11: Resultados da hidrólise enzimática da biomassa pré-tratada com reagente ácido.

Concentração H_2SO_4 (%)	Tempo (min)	ART (g/L)	Conversão enzimática (%)	R_H (g/100 g <i>in natura</i>)
0	20	2,29± 0,12	22,93± 1,20	14,35± 0,76
10	20	2,27± 0,30	23,73± 3,00	11,28± 1,53
0	60	2,25± 0,08	23,54± 0,80	14,15± 0,56
10	60	2,56± 0,47	25,64± 4,70	12,76± 2,37
5	40	2,33± 0,17	23,31± 1,70	11,74± 0,88
5	40	2,31± 0,16	23,12± 1,60	11,48± 0,84
5	40	2,73± 0,17	27,39± 1,70	13,74± 0,88

Fonte: Autor, 2014.

Tabela 12: Resultados da hidrólise enzimática da biomassa pré-tratada com reagente alcalino.

Concentração $NaOH$ (%)	Tempo (min)	ART (g/L)	Conversão enzimática (%)	R_H (g/100 g <i>in natura</i>)
0	20	2,29 ± 0,12	22,93± 1,20	14,35± 0,76
10	20	6,70 ± 0,29	67,03±2,91	18,96±0,82
0	60	2,25 ± 0,08	23,54± 0,80	14,15± 0,56
10	60	6,76 ± 0,73	67,61±7,30	18,51± 2,00
5	40	8,64 ± 0,46	86,45± 4,67	21,43±1,16
5	40	8,84 ± 0,44	88,4±4,44	22,71±1,14
5	40	8,64 ± 0,34	86,4± 3,45	22,89± 0,90

Fonte: Autor, 2014.

De acordo com as Tabelas 11 e 12, observa-se que os resultados mais satisfatórios foram obtidos de material pré-tratado em meio alcalino, principalmente na condição de 5% ($NaOH$) e 40 minutos de reação, apresentando valores médios de ART, conversão enzimática

e rendimento global de 8,74 g/L, 87% e 22,34 g/100 g, respectivamente. Isto pode ser explicado pelo fato desta biomassa apresentar grande quantidade de celulose e reduzidas concentrações de hemicelulose e lignina, como mostrado na Tabela 9.

As maiores concentrações de ART encontradas neste trabalho (Tabela 12) se aproximam do valor encontrado por Santos (2012), que utilizou ácido sulfúrico diluído para o pré-tratamento do sabugo de milho, obtendo 8,70 g/L de ART na solução hidrolisada. Nascimento (2011), utilizando 10% de carga de sólidos, alcançou uma concentração de glicose de 55,5 g/L na sacarificação enzimática a partir do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado em meio alcalino (NaOH a 4%), o que proporcionou 77,10% de conversão, valor este inferior aos melhores resultados mostrados na Tabela 12, muito provavelmente pelo elevado percentual de sólidos usado na hidrólise.

A biomassa proveniente de pré-tratamento ácido possui em sua composição grande quantidade de lignina, o qual favorece a inibição dos agentes enzimáticos. A quantidade média de monômeros liberados foi muito pouca, chegando ao valor máximo de ART de 2,73g/L, na condição 5% (H_2SO_4) e 40 minutos. Os melhores resultados da conversão enzimática e rendimento global foram 27,39% e 13,74 g/100 g, respectivamente, também nesta mesma condição (Tabela 11). A conversão enzimática mostra a quantidade de açúcares liberados durante a sacarificação, em termos de ART, em relação à quantidade de biomassa a ser hidrolisada. Com isso, é possível quantificar o percentual de quebra da celulose para produção de monômeros de glicose.

Rueda (2010) utilizou ácido sulfúrico no pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar e verificou que, nos ensaios realizados, a máxima produção de glicose foi obtida a 100°C, 15 min e 0,5% (p/v) de H_2SO_4 , quando da utilização da deslignificação com 1% (p/v) de NaOH, por 1h e a 100°C. Atingiu-se um rendimento de, aproximadamente, 92% na hidrólise, usando concentrações de 15 FPU/g da enzima celulase.

Da mesma forma que neste trabalho, Silva (2014), utilizando casca de frutas (laranja, maracujá e graviola), demonstrou que a hidrólise enzimática é mais eficaz quando se utiliza a biomassa oriunda do pré-tratamento alcalino, em comparação ao pré-tratamento ácido, alcançando valores até de 35% de conversão.

O rendimento global de hidrólise relaciona a quantidade de açúcares produzidos na hidrólise enzimática em relação à quantidade de biomassa utilizada no início do tratamento, ou seja, o material *in natura*. Apesar do pré-tratamento alcalino apresentar elevada perda de massa, em torno de 75%, a hidrólise da biomassa proveniente desta técnica foi a que obteve

resultados mais significativos, produzindo em média 22,34 g de açúcares redutores totais para cada 100 g de fibra da casca do coco verde *in natura*.

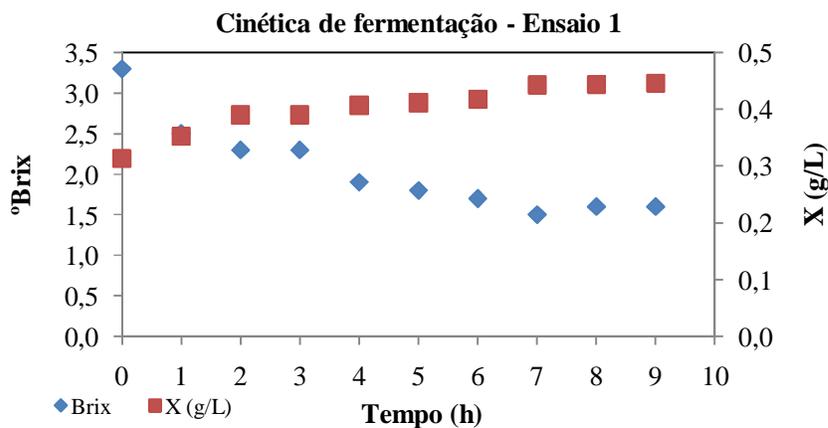
5.5 Fermentação do hidrolisado

A partir dos resultados encontrados nas etapas anteriores, ficou evidenciado que a melhor condição para efetivação da fermentação foi do material hidrolisado a partir do pré-tratamento alcalino a 5% de NaOH em 40 minutos.

Diante do exposto, foram realizados dois ensaios de fermentação etanólica, com duração de 9 horas cada, utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, onde o substrato utilizado foi obtido a partir de um novo pré-tratamento seguido de hidrólise enzimática, realizados em duplicata. O pré-tratamento ocorreu a 120°C, durante 40 minutos, utilizando NaOH a 5%. Já a hidrólise foi efetivada aumentando o percentual de sólidos para 3%, a fim de elevar a concentração de açúcares no líquido a ser fermentado.

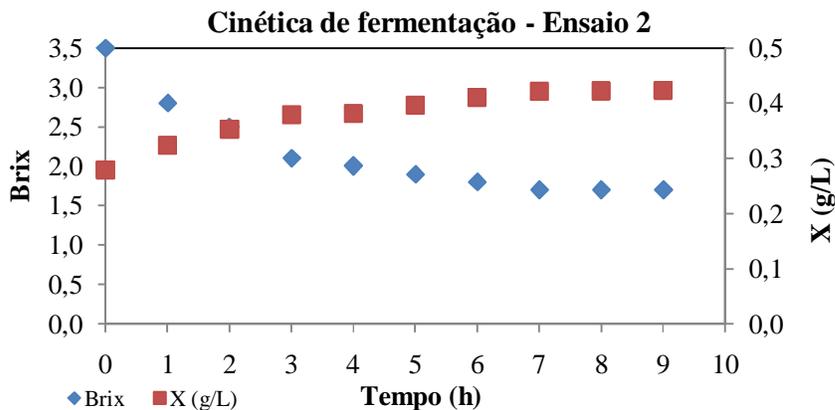
A cinética de fermentação foi obtida a partir do acompanhamento do consumo de sólidos totais, medido em °Brix, e do aumento da concentração celular (X), como pode ser visto nas Figuras 25 e 26.

Figura 25: Variação do teor de sólidos solúveis e concentração celular o ensaio 1.



Fonte: Autor, 2014

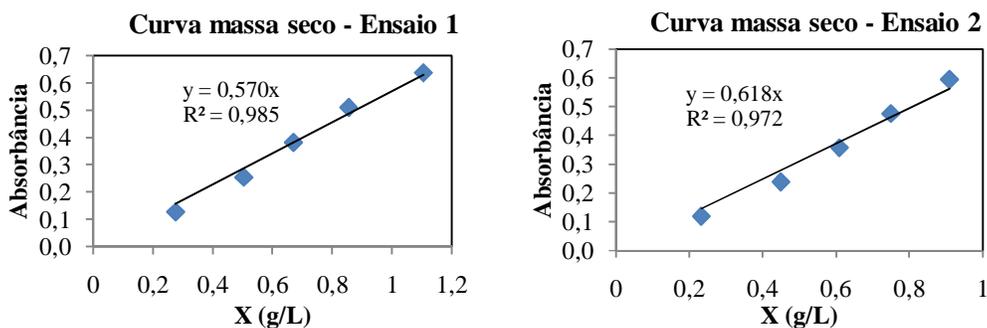
Figura 26: Variação do brix e concentração celular durante o processo fermentativo do ensaio 2.



Fonte: Autor, 2014

Como mostrado nas Figuras 25 e 26, os ensaios de fermentação apresentaram comportamento semelhante, ficando evidente o consumo de açúcares a partir da diminuição do teor de sólidos totais (°Brix) em mais de 50%. Obtiveram-se curvas de crescimento similares, apresentando bom crescimento já na primeira hora de fermentação. Nas duas situações, observa-se maior aceleração de crescimento no tempo de 2 horas, acontecendo um suave crescimento até 7 horas, onde a concentração celular estabiliza-se até o final dos experimentos. A concentração celular visualizada na cinética de fermentação é fornecida a partir da construção da curva de massa seco (Figura 27).

Figura 27: Curva de peso seco para cada ensaio de fermentação.



Fonte: Autor, 2014

Os dados de início e final do processo fermentativo, parâmetros fator de conversão substrato em células ($Y_{X/S}$), fator de conversão substrato em etanol ($Y_{E/S}$), fator de conversão células em etanol ($Y_{E/X}$), velocidade específica de crescimento celular (μ_x), produtividade em

etanol (P_E), produtividade em células (P_X) e eficiência de fermentação ($\eta(\%)$) são mostrados na Tabela 13, onde a concentração de substrato (S) refere-se ao ART.

Tabela 13: Principais parâmetros de início e final do processo fermentativo.

Parâmetro	Ensaio 1	Ensaio 2
Brix ₀ (g/100 g)	3,30	3,50
Brix _f (g/100 g)	1,60	1,70
S ₀ (g/L)	16,30	15,87
S _f (g/L)	3,10	3,57
X ₀ (g/L)	0,314	0,279
X _f (g/L)	0,447	0,420
E ₀ (g/L)	0,00	0,00
E _f (g/L)	6,21	5,58
μ_x (h ⁻¹)	0,038	0,044
ΔS (g/L)	13,20	12,30
ΔE (g/L)	6,21	5,58
Y _{E/S} (g/g)	0,470	0,454
P _E (g/L.h)	0,690	0,620
ΔX (g/L)	0,133	0,141
Y _{E/X} (g/g)	46,69	39,57
P _X (g/L.h)	0,015	0,016
Y _{X/S} (g/g)	0,010	0,011
η (%)	92,07	88,78

Fonte: Autor, 2014.

Os resultados apresentados evidenciam que o processo fermentativo ocorreu de forma satisfatória. Cerca de 80% da concentração do substrato (ART) presente no hidrolisado foi consumido pelas leveduras, restando, em média, apenas 3,40 g ART/L. A maior concentração de etanol produzido foi obtido no ensaio 1, a qual chegou a 6,21 g/L, proporcionando um rendimento fermentativo superior a 90%.

Silva (2011), utilizando amônia aquosa no pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar e realizando hidrólise enzimática, conseguiu 5,70 g/L de etanol com eficiência de fermentação de 83,20%. Também utilizando a técnica da hidrólise enzimática, Santos (2014) obteve eficiência de fermentação de 92,90 e 86,90% para a palha e o sabugo de milho, respectivamente, a partir de pré-tratamento ácido.

Para determinação da velocidade específica de crescimento celular (μ_x) foi necessária a construção do gráfico $\ln X$ em função do tempo onde, a partir da máxima inclinação da parte linear da curva de crescimento celular (fase exponencial), determina-se μ_x . Os resultados demonstraram que o ensaio 1 foi mais efetivo do que o 2. Este fato é explicado mesmo com crescimento celular superior do ensaio 2, que obteve μ_x de $0,044 \text{ h}^{-1}$ contra $0,038 \text{ h}^{-1}$ do ensaio 1. O ensaio 1 conseguiu consumir 7,3% a mais de açúcares no processo de fermentação, o que representou uma diferença de 11,2% nas concentrações etanólicas dos ensaios. Isto foi preponderante para que o ensaio 1 obtivesse rendimento fermentativo 3,29% superior frente ao ensaio 2.

O fator de conversão de substrato em etanol ($Y_{E/S}$) obtido nos ensaios realizados neste trabalho se mostra próximo dos valores encontrados por Pereira (2010), o qual alcançou $0,62 \text{ g/g}$ para fermentação do hidrolisado da casca de arroz, utilizando dois tipos de leveduras (*S. cerevisiae* e *S. arborariae*).

5.6 Avaliação da potencialidade da produção de etanol

Esta avaliação teve como base de cálculo 1000 kg (1 tonelada) de casca de coco verde (m_{casca}), na qual Nunes (2002) estima que, aproximadamente 30% (em massa) deste total seja fibra e 70% pó. Partindo deste princípio e utilizando dados das Tabelas 12 e 13, foram calculados os parâmetros de potencialidade teórica de produção de etanol a partir da fibra da casca do coco verde, como mostrado na Tabela 14.

Tabela 14: Potencialidade da utilização da fibra da casca do coco para a produção de etanol.

m_{casca} (kg)	m_F (kg)	R_H (g/100g)	m_{ART} (kg)	m_{etanol} (kg)	V_{etanol} (litros)
1000	300	22,34	67,02	30,82	39,05

Fonte: Autor, 2014.

Os resultados mostram que é possível obter 39 litros de etanol a partir de 1 (uma) tonelada de casca de coco verde, considerando uma eficiência de fermentação de 90%.

Para efeito de comparação, são encontrados valores bem superiores utilizando subprodutos da cana-de-açúcar, como o de Rabelo et al. (2011), que obteve 254 litros de etanol/tonelada de bagaço, valor este bem próximo ao apresentado por Santos et al. (2012), de 287 litros de etanol/tonelada de palha.

Silva (2014), utilizando resíduos de frutas, obteve rendimentos de 115 L de etanol/ton de resíduo de laranja, 68 L de etanol/ton de resíduo de graviola e 72 L de etanol/ton de resíduo de maracujá.

Entretanto, se no cálculo for considerado somente a massa de fibra, pode-se alcançar uma conversão de 130 litros de etanol/tonelada de fibra *in natura*, pois a maior parte da casca do coco verde é composta pelo pó.

O fator crucial que limitou o rendimento em etanol foi, sem dúvida, o baixo rendimento de hidrólise (22,34 g/100 g), fato este provocado pela elevada perda de massa no pré-tratamento alcalino, superior a 75%, como mostrado anteriormente pela Figura 19. Lembrando que o R_H foi obtido a partir da quantificação dos açúcares solubilizados, medido em ART, e não pelos componentes lignocelulósicos encontrados na biomassa.

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no estudo, conclui-se que:

- A caracterização química da fibra da casca do coco verde constatou elevada concentração de lignina, com valor médio de 40,10%, justificando o alto grau de durabilidade e resistência deste material.
- A maior quantidade de açúcar liberado nos pré-tratamentos ácido e alcalino foi na condição de 5% de concentração do reagente em 40 minutos, apresentando valores médios de 34, 67 e 44,72 g ART/100 g de fibra *in natura*, respectivamente.
- O modelo estatístico que melhor representou os planejamentos experimentais investigados foi o de segunda ordem, com a concentração como variável significativa. As superfícies de resposta indicaram como maior sacarificação a faixa média de concentração aplicada e os coeficientes de regressão e ajuste de modelo, que uma variável não estudada no trabalho tem uma influência altamente significativa.
- No teste de capacidade fermentativa da fração líquida do pré-tratamento ficou evidenciado que a fração líquida apresenta elevada concentração de pentoses, pois não houve sucesso no processo fermentativo utilizando a *Saccharomyces cerevisiae*.
- Após hidrólise enzimática, ficou constatada maior eficácia do pré-tratamento alcalino, apresentando conversão enzimática e rendimento global de 87% e 22,34 g ART/100 g de fibra *in natura*, respectivamente.
- Os ensaios de fermentação etanólica obtiveram consumo de cerca de 80% do substrato presente no hidrolisado, medido em ART. A concentração de etanol produzido e o rendimento fermentativo apresentaram, em média, 5,90 g/L e 90,42%, respectivamente.
- A partir dos dados obtidos e considerações baseadas na literatura, foi constatado que é possível produzir 39 litros de etanol para cada tonelada casca do coco verde.
- Os resultados apresentados neste trabalho credenciam a fibra da casca do coco verde como uma biomassa de grande potencial para aproveitamento visando à produção de etanol 2G, além de ser uma ótima alternativa de diminuição de geração de resíduos nas grandes cidades.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Apesar de resultados expressivos obtidos neste trabalho, fazem-se necessários novos estudos a fim de aumentar a viabilidade deste resíduo para produção de etanol, tais como:

- Realizar o processo de pré-tratamento utilizando concentrações reduzidas de NaOH ou até mesmo uma combinação com um reagente ácido, a fim de se obter maiores rendimentos mássicos e maior solubilização da hemicelulose e lignina, bem como atenuar a degradação da celulose.
- Avaliar metodologias de destoxificação e fermentação da fração líquida do pré-tratamento, a qual foi comprovada que possui grande quantidade de açúcares (hexoses e pentoses).
- Avaliar o processo de hidrólise enzimática com variadas concentrações de sólidos e períodos de reação.
- Avaliar a fermentação alcoólica do material hidrolisado com utilização de leveduras que metabolizem tanto hexoses como pentoses.

REFERÊNCIAS

- ABAD, M., NOGUERA, P. Substratos para el cultivo sinsuelo y fertirrigación. In: CADAHIA, C. (Coord.) Fertirrigación. **Cultivos Hortícolas y Ornamentales**. p.287-342. Madrid Mundi-Prensa, 1998.
- AGBOGBO, F.K.; COWARD-KELLY, G.; TORRY-SMITH, M. WENGER, K.S. Fermentation of glucose/xylose mixtures using *Pichia stipitis*. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 2333-2336, 2006.
- ALLBIZ. Produtos de consumo. **Portal Albiz**. Disponível em: <<http://sao-paulo.all.biz/placa-acstica-g74861>>. Acesso em: 03 jan. 2014.
- ALVARENGA, A. M. Coco: qual destino dar à casca. **A Lavoura**. ed. 690. Rio de Janeiro, 2012.
- ARAGÃO, W.M.; CRUZ, E.M.de O.; HELVÊCIO, J.S. Caracterização morfológica do fruto e química da água de coco em cultivares de coqueiro anão. **Embrapa**. Aracaju. 2002.
- ARAGÃO, W. M. Cultivares de coqueiros. In: FONTES, H. R.; FERREIRA, J. M. S.; SIQUEIRA, L. A. (Ed.). A cultura do coqueiro. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2007. Sistemas de Produção, 1. **Embrapa**. 2007.
- ARO, N.; PAKULA, T.; PENTTILA, M. Transcriptional regulation of plant cell wall degradation by filamentous fungi. **FEMS Microbiol. Rev.**, v. 29, p. 719–739, 2005.
- ASSIS, J. S.; RESENDE, J. M.; SILVA, F. O.; SANTOS, C. R.; NUNES, F. Técnicas para colheita e pós-colheita do coco verde. **Comunicado Técnico da Embrapa Semiárido**. Petrolina, nº95, p. 1-6, dez. 2000.
- BANCO NACIONAL DO DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL - BNDES. Plano Conjunto BNDES-Finep de Apoio à Inovação Tecnológica Industrial dos Setores Sucoenergético e Sucoquímico – PAISS, 2012. **Portal BNDS**. Disponível em: <http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/bndes/bndes_pt/Areas_de_Atualizacao/Inovacao/paiss/>. Acesso em: 07 jan. 2014.
- BAUDEL, H. M. Pré-tratamento e hidrólise. III Workshop tecnológico sobre Hidrólise para a produção de etanol. **Projeto Programa de Pesquisa em Políticas Públicas –Etanol**, São Paulo, dez. 2006.
- BEGUIN, P.; AUBERT, J. P. The biological degradation of cellulose. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 13, n. 1, p. 25-58, jan. 1994.
- BON, E. P. S.; FERRARA, M. A; CORVO, M. L. **Enzimas em biotecnologia: produção, aplicação e mercado**. Rio de Janeiro: Interciência. UFRJ: CAPES: FAPERJ: FTC Portugal, 506p, 2008.

BONDAR, G. A Cultura do Coqueiro no Brasil. Salvador, BA: **Tipografia Naval**. Salvador, 1955. 75 p.

BRÍGIDA, A. I. S. **Estudo da imobilização de lipase tipo B de *Candida antártica* utilizando fibra da casca de coco verde como suporte**. 2006. p.177. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

CÂMARA, M. M.; MORAES, F. F. **Avaliação do pré-tratamento de bagaço de cana por peróxido de hidrogênio alcalino: I. Rendimento mássico e composição química da biomassa**. In: Encontro de Produção Científica e tecnológica, 8., Paraná. Anais... Paraná: Campo Mourão, 2012.

CANILHA, L. ; CARVALHO, W. ; ROCHA, G. J. M. ; ALMEIDA e SILVA, J.B.; GIULIETTI, M. . **Caracterização do bagaço de cana-de-açúcar in natura, extraído com etanol ou ciclohexano/etanol**. In: XLVII Congresso Brasileiro de Química (CBQ), 2007, Natal/RN. XLVII Congresso Brasileiro de Química, 2007. p. 1-3.

CARRIJO, O.A.; LIZ, R.S.; MAKISHIMA, N. Fibra da casca do coco verde como substrato agrícola. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 533-535, dezembro 2002.

CHANDEL, A. K.; RAJEEV, K.K.; SINGH, A.; KUHAD, R.C. Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production by *Candida shehatae* NCIM 3501. **Bioresource Technology**, v. 98, n.10, p. 1947-1950, 2007.

CHENG, K.K.; CAI, B.Y.; ZHANG, J.A.; LING, H.Z.; ZHOU, Y.J.; GE, J.P.; XU, J.M. Sugarcane bagasse hemicelulose hydrolysate for ethanol production by acid recovery process. **Biochemical Engineering Journal**. v.38, p.105-109, 2008.

CORREA, M. U. Árvore do conhecimento: coco. Agência Embrapa de Informação Tecnológica – AGEITEC. 2010. **Portal Ageitec**. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/coco/arvore/CONT000giw3qz5o02wx5ok05vadr1u5iye30.html>>. Acesso em: 31 dez. 2013.

CORREIA, D.; ROSA, M.F.; NORÕES, E.R.V.; ARAUJO, F.B.S. Uso do pó da casca de coco na formulação de substratos para formação de mudas enxertadas de cajueiro anão precoce. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 25, n. 3, p. 557-558, 2003.

COSTA, J. E.; GEBARA, J. J. A cadeia produtiva do coco em Sergipe. In: GERARDI, L. H. O. (org.) **Teoria, técnica, espaços e atividades: temas de geografia contemporânea**. Rio Claro: UNESP, 2001.

CORMA, Avelino; IBORRA, Sara; VELTY, Alexandra. Chemical Routes for the Transformation of Biomass into Chemicals, *Chem. Rev.*, v. 107, n. 6, p. 2411-2502, Januar. 2007.

CRUZ, J.M.; DOMINGUEZ, J.M.; DOMINGUEZ, H.; PARAJÓ, J.C. Preparation of fermentation media from agricultural wastes and their bioconversion into xylitol. 2000. **Food Biotechnology**, v. 14 (1 e 2), p. 79–97.

CUENCA, M. A. G.; RESENDE, J. M.; SAGGIN JÚNIOR, O. J. et al. Mercado brasileiro do coco: situação atual e perspectivas. In: ARAGÃO, W. M. Coco: póscolheita. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2002. p. 11 – 18.

D'ALMEIDA L. O. Lixo Municipal: Manual de Gerenciamento Integrado – 2.ed. Brasília: IPT/CEMPRE, 2002. – (Publicação IPT 2622). 392p.

DEKKER, M.; MARK. R. E. Handbook of physical and mechanical testing of paper and paperboard.v.1, p.459, 1983.

DEPARTAMENTO DA CANA-DE-AÇÚCAR E AGROENERGIA – DCAA. Produção Brasileira de Cana-de-açúcar, Açúcar e Etanol. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. nov. 2014.

DUARTE, H. C. **Hidrólise de bagaço de cana com ácido clorídrico concentrado**. 1989. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989.

EXAME. Raízen planeja investir R\$ 2,5 bi em etanol de 2ª geração. 2015. Portal exame.com. Disponível em: <<http://exame.abril.com.br/negocios/noticias/raizen-planeja-investir-r-2-5-bi-em-etanol-de-2a-geracao>>. Acesso em: 20 jan. 2015.

FAN, L. T.; GHARPURAY, M. M; LEE, Y. H. The nature of lignocellulosic and their pretreatments for enzymatic hydrolysis. **Advances in Biochemical Engineering**. v. 23, p. 157-187, 1982.

FELIPE, M. G. A., VIEIRA, D.C., VITOLO, M., SILVA, S.S., ROBERTO, I.C., Mancilha, I.M. Effect of acetic acid on xylose cultivation by *Candida guilliermondii*. **Journal of Basic Microbiology**, v. 35, n.3, p. 171–177, 1995.

FENGEL, D.; WEGENER, G. Wood. Chemistry: Ultrastructure: Reactions. Berlin. Walter de Gruyter. 1989.

FERREIRA, J. M. S.; WARWICK, D. R. N.; SIQUEIRA, L. A. A cultura do coqueiro no Brasil. 2ª ed. Brasília: **Embrapa-SPI**, 1998. 292p.

FEDERAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DO ESTADO DO CEARÁ – FIEC. Brique – alternativa rentável e ecológica. 2003. **Portal Fiec**. Disponível em: <<http://www.fiec.org.br/publicacoes/jornalfiec/edicoes/0603/default.asp?URL=8>>. Acesso em: 02 jan. 2014.

FRANCO, F. J. P. **Aproveitamento da fibra do epicarpo do coco babaçu em compósito com matrix epóxi**: estudo do efeito do tratamento da fibra. 2010. 77 p. Dissertação

(Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, Natal, 2010.

FUGITA, T. P. L. **Desempenho de leveduras que metabolizam xilose para produção de etanol em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana**. 2010. 60 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Jaboticabal, 2010.

GALBE, M.; ZACCHI, G. Pretratament of Lignocellulosic Materials for Efficient Bioethanol Production, **Adv. Biochem.Engin./Bioethanol** (chapter in a book), Springer Verlag Berlin Heidelberg, 2007. p 41-65.

GALBE, M.; ZACCHI, G. Produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos. In: CORTEZ, L. A. B. **Bioetanol de Cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade**. São Paulo: Blucher, 2010. Cap. 12, Parte 4, p. 697-716.

GALBE, M.; ZACCHI, G.A. Review of the production of ethanol from softwood. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 59: 618-628, 2002.

GAZETA DE ALAGOAS. Granbio inicia produção de etanol de segunda geração. 2014. **Portal gazetaweb**. Disponível em: <<http://gazetaweb.globo.com/gazetadealagoas/noticia.php?c=252654>>. Acesso em: 14dez. 2014.

GOUVEIA, E. R.; NASCIMENTO, R. T.; SOUTO-MAIOR, A. M. Validação de metodologia para a caracterização química do bagaço de cana de açúcar. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1500-1503, 2009.

GEORGES, F. **Caracterização da palha da cana-de-açúcar do Rio Grande do Sul e de seus produtos de pirólise**. 2011. 120 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de pós graduação em ciências dos materiais – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

GOMEZ, R. S. M. **Pré-tratamento e Hidrólise Enzimática do Bagaço de Cana-de-açúcar**. 2012. 130p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

HAMELINCK, C. N. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short, middle and long term. **Biomass and Bioenergy**, v. 28, p. 384-410, 2005.

IIDA, I. Ergonomia – Projeto e produção. 2. ed. revisada e ampliada, São Paulo: **Edgard Blücher**, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola – LSPA**. Rio de Janeiro: v.27 n.11 p.1-86. nov.2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA – IBGE. Banco de Dados Agregados. Brasília, DF: PAM – Produção Agrícola dos Municípios. **Portal IBGE**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1613&z=p&o=20>> Acesso em: 16 dez. 2013.

INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DO ESTADO DE SÃO PAULO (IPT). Lixo Municipal: manual de gerenciamento integrado. São Paulo: **IPT/CEMPRE**. 1995. 278p.

JACKMAN, E.A. Alcohol industrial. In: BU'LOCK, J.; KRISTIANSEN, B. **Biología Básica**. Zaragoza: Acríbia, 1991. 577p.

KONDO, T. **The relationship between intramolecular hydrogen bonds and certain physical properties of regioselectively substituted cellulose derivatives**. John Wiley & Sons, Inc. J Polym. Sci B: PolymPhys, 35: 717–723, 1997.

MACIEL, R. Métodos de avaliação de alimentos. p. 1-4. 2014. **Portal UFLA**. Disponível em: <http://www.dzo.ufla.br/Roberto/metodos_analise_alimentos.pdf>. Acesso em: 15 mar. de 2014.

MARGARITIS, A.; BAJPAI, P. Direct fermentation of D-xylose to ethanol by *Kluyveromyces fragilis* strains. **Applied and Environmental Microbiology**, v.44, n.5, p.1039-1041, 1982.

MARGEOT, A.; HAHN-HAGERDAL, B.; EDLUND, M.; SLADE, R.; MONOT, F. New improvements for lignocellulosic ethanol. **Current Opinion in Biotechnology**. v. 20, p. 372-380, 2009.

MARTINS, C. R.; LUCIANO JÚNIOR, J. A.; Evolução da produção de coco no Brasil e o comércio internacional - panorama 2010 – Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2011. 28 p. il.; color.

MARTON, J. M. **Avaliação dos diferentes carvões ativados e das condições de adsorção no tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana de açúcar para a obtenção biotecnológica de xilitol**. 2002. 105 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia Química de Lorena – Universidade de São Paulo, São Paulo, Lorena, 2002.

MATTOS, A. L. A.; ROSA, M. F.; CRISÓSTOMO, L. A.; BEZERRA, F. C.; CORREIA, D.; VERAS, L. G. C. Beneficiamento da casca do coco verde. **Embrapa – Agroindústria Tropical**, 2011.

MENDELS, M.; REESE, E. T. Inhibition of cellulases and β -glucosidases. In: REESE, E. T. (Ed.) **Advances in enzymatic hydrolysis of cellulose and related materials**. Pergamon Press, London, p. 115-157, 1963.

MIGLIARI, P.C. **Classificação das cepas de leveduras dominantes de processos fermentativos utilizando parâmetros fermentativos e taxonomia numérica**. 2001. 96 p.

Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia Química - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Campinas, 2001.

MOISER, N.; WYMAN, C.; DALE, P.; ELANDER, R.; LEE, Y.; HOLTZAPPLE, M.; LADISCH, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresources Technology**. v. 96, p. 673-686, 2005.

MUSSATO, S. I.; ROBERTO, I. C. Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolyzates for use in fermentative processes: a review. **Bioresources Technology**, v. 96, p. 1-10, 2004.

NASCIMENTO, V. M. **Pré-tratamento alcalino (NaOH) do bagaço de cana-de-açúcar para produção de etanol e obtenção de xilooligômeros**. 2011. 136 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

OSVALDO NETO, B.. **Integração das principais tecnologias de obtenção de etanol através do processamento de celulose (2º geração) nas atuais usinas de processamento de cana-de-açúcar (1º geração)**. 2010. 137p. Dissertação (Mestrado). Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

NOGUERA, P. ABAD, M., NOGUERA, V., PURCHADES, R., MAQUIERO, A. A coconutcoir waste, a new and viable ecologically frientypreat substitute. **Acta Horticulture**. p.279-286, 1998.

NUNES, M. U. C. Fibra e pó da casca do coco: produtos de grande importância para indústria e agricultura. In: ARAGÃO, W. M. (Org.). Coco. Pós-colheita. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 66 – 71, 2002.

NUNES, M. U. C. Tecnologia para a biodegradação de casca de coco seco e de outros resíduos do coqueiro. **Circular técnica n.46**. Aracaju: Embrapa, 2007.

NYKO, D.; GARCIA, J. L. F.; MILANEZ, A. Y.; DUNHAM, F. B. A corrida tecnológica pelos biocombustíveis de segunda geração: uma perspectiva comparada. **Biocombustíveis. BNDS Setorial** 32, p. 5-48, 2010.

OLIVEIRA, S. L. R.; **Aproveitamento da casca do coco verde (*Cocos nucifera L.*) para produção de celulases**. 2010. 81p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

PALMQVIST, E.; HAHNI, B. Fermentation of lignocellulosichydrolysates. II: Inhibitors and mechanisms of inhibition. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 25–33, 2000.

PASSOS, P. R.A. **Destinação sustentável de cascas de coco verde: Obtenção de telhas e chapas de partículas**. 186f. Tese. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2005.

PEREIRA, F. C. **Avaliação da capacidade de bioconversão de hexoses e pentoses em bioetanol *Spathaspora arborariae***. 2010. 119p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

PEREIRA, C. L. **Aproveitamento do resíduo do coco verde para a produção de compósitos destinados à construção rural**. 2012. 137p. Tese (Doutorado em Qualidade e Produtividade Animal) – Departamento de Zootecnia, Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2012.

PURSEGLOVE, J.W. 1972. **Tropical crops. Monocotyledons**. Longman Group, London, 607 pp.

RABELO, S. C.; CARRERE, H.; FILHO, R. M.; COSTA, A. C. Production of bioethanol, methane and heat from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. **Bioresource Technology**, 102:7887-7895, 2011.

RAMIREZ, R. Q. Hidrólise da biomassa lignocelulósica. In: CORTEZ, L. A. B. **Bioetanol de Cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade**. São Paulo: Blucher. Cap. 13, Parte 4, p. 717-731, 2010.

ROBERTO, I.C.; LACIS, L.C.; BARBOSA, M.F.S.; MANCILHA, I.M. Utilization of sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate by *Pichia stipitis*, for the production of ethanol. **Process Biochemistry**, v. 26, p. 15-21, 1991.

RFA. Renewable Fuels Association. World Fuel Ethanol Production, 2012. **Portal RFA**. Disponível em: <<http://ethanolrfa.org/pages/World-Fuel-Ethanol-Production>>. Acesso em: 06 jan. 2014.

ROCHA, E. C. & GHELER Jr., J. Aproveitamento de resíduos gerados na aglomeração de fibra de coco com látex natural. **Matéria Técnica SENAI**. Rio de Janeiro, 2000.

RODRIGUES, D. C. G. A.; SANTOS, T. T. **Manual de Práticas de Processos Bioquímicos**. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 40 p. Rio de Janeiro, ago. 2011.

ROSA, M. F.; ABREU, F. A. P.; FURTADO, A. A. L., BRÍGIDO, A. K. L.; NORÕES, E. R. V. Processo agroindustrial: obtenção de pó de casca de coco verde. **Comunicado Técnico 61**. Dezembro, 2001. Fortaleza, CE. 4p.

RUEDA, S. M. G. **Pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar**. 2010. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Químicos) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

SAEMAN, Jerome F. Kinetics of wood saccharification - hydrolysis of cellulose and decomposition of sugars in dilute acid at high temperature. **Ind. Eng. Chem.** v. 37, n. 1, p. 43-52. Jan. 1945.

SALIK, F.L.M.; POVH, N.P. Método eletrofotométrico para determinação de teores alcoólicos em misturas hidroalcoólicas. In: **Congresso Nacional da Stab**, 5, Águas de São Pedro, 1993. Anais, p.262-263, Piracicaba.

SANTOS, F. A.; QUEIRÓZ, J. H.; COLODETTE, J. L.; FERNANDES, S. A.; GUIMARÃES, V. M.; REZENDE, S.T. Potencial da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 5, p. 1004 – 1110, 2012.

SARKO. A. A celulose – How much do we know about its structure? In: Wood and cellulose: Industrial utilization. **Biotechnology**, Structure and Properties. John Wiley & Sons, New York, 1997.

SANTOS, M. S. R. **Estudo de pré - tratamentos de palha e sabugo de milho visando a produção de etanol 2G**. 2014. 75 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de pós graduação em engenharia química – Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, Maceió, 2014.

SCHUILING, M.; HARRIES, H.C. **The Coconut Palm in East Africa**. Principes, Miami, v.38, n.1, 1994.

SENHORAS, E. M. Oportunidades da cadeia agroindustrial do coco verde: do coco verde nada se perde, tudo se desfruta. 2004. **Portal Urutágua**. Disponível em: <http://www.urutagua.uem.br/005/22eco_senhoras.htm#_ftn1>. Acesso em: 02 jan. 2014.

SHEEHAN, J. The road to bioethanol. A strategic perspective of the U.S Department of Energy's National Ethanol Program. In: HIMMEL, M. E.; BAKER, J. O.; SAFFLER, J. N.; EDITORS. Glycosyl hydrolases for biomass conversion, **American Chemical Society**, Washington D.C. 2001. p 2-25.

SILVA, R. V. **Compósito de resina poliuretano derivada de óleo de mamona e fibras vegetais**. 2003. 130f. Tese. Universidade de São Paulo. São Carlos.

SILVA, R. N.; MONTEIRO, V. N.; ALCANFOR, J. D. X.; ASSIS, E. M.; ASQUIERI, E. R. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 3, p. 337-341, 2003.

SILVA, R. V.; SPINELLI, D.; BOSE FILHO, W. W.; CLARO NETO, S.; CHIERICE, G. O.; TARPANI, J. R. Fracture toughness of natural fibers/castor oil polyurethane composites. **Composites Science Technology**, **Barking**, v.66, n.10, p.1328-1335, 2006.

SILVA P. S.; SOUZA R. B.; TAKAMORI L. M.; SOUZA W. S.; SILVA G. P. P.; SOUSA J. M. M. Produção de mudas de pimentão em substratos de coco verde fertirrigadas com biofertilizante em sistema orgânico. 2010. **Horticultura Brasileira** 28: S2714-S2720.

SILVA, C. E. F. **Avaliação do potencial de uso de resíduos do processamento de frutas na produção de etanol 2G**. 2014. 101p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2014.

- SILVEIRA, **Aproveitamento das cascas de coco verde para produção de briquetes em Salvador-BA**. 2008. 163p. Dissertação (Mestrado em Gerenciamento e Tecnologias Ambientais no Processo Produtivo) – Escola Politécnica da Bahia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2008.
- SIQUEIRA, L. A.; ARAGÃO, W. M.; TUPINAMBÁ, E. A. A introdução do coqueiro no Brasil, importância histórica e agrônômica. Aracaju. **Documento 47**. Embrapa Tabuleiros Costeiros. 2002. 24p.
- SOUZA, K. A. F. D.; NEVES, V. A. Experimentos de Bioquímica. 2009. **Portal Bioquímica**. Disponível em <http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/introducao_carboidratos/polissacarideos.htm>. Acesso em: 30 dez. 2013.
- SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**, v. 3, p. 1-11, 2002. University, Sweden, 2000.
- SZNGYEL, Z. **Ethanol from wood cellulose enzyme production**. 2000. Tese de doutorado – Dept. of Chemical Engineering, Lund
- TENGBORG, C.; GALBE, M.; ZACCHI, G. Resuce inhibition of enzymatic hydrolysis of steam – pretreated softwood. **Enzyme and Microbial technology**, v. 28, p. 835-844, 2001.
- UM BYUNG-HWAN, M. NAZMUL KARIM, AND LINDA L. HENK. Effect of Sulfuric and Phosphoric Acid Pretreatments on Enzymatic Hydrolysis of Corn Stove. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 105–108, p.115-25,2003.
- VILELA, P. A água de coco e suas propriedades isotônicas impulsionam a produção de coco verde no país, inclusive no interior. Sebrae, Brasília, 2010. **Portal Sebrae**. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/customizado/sebrae/institucional/quem-somos/sebrae-um-agente-de-desenvolvimento>>. Acesso em: 26 dez. 2013.
- WALKER, G.M. **Yeast Physiology and Biotechnology**. England: John Wiley, p.157-158 e p.350,1998.
- WAYMAN, C.; DALE, B.; EALANDER, R.; HOLTZZAPPLE, M.; LADISCH, M.; LEE, Y. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. **Bioresources Technology**. v. 96. p. 1959-1966, 2005.
- WOOLEY, R.; RUTH, M.; GLASSNER, D.; SHEEHAN, J. Process Design and Costing of Bioethanol Technology: A Tool for Determining the Status and Direction of Research and Development. American Chemical Society and American Institute of Chemical Engineers. 1999. v. 15, p. 794-803.