



NATÁLIA DE OLIVEIRA SALLES

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE
PRÉ-TRATAMENTOS DA CASCA DE CAFÉ PARA
PRODUÇÃO DE BIOETANOL**

LAVRAS – MG

2020

NATÁLIA DE OLIVEIRA SALLES

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE PRÉ-TRATAMENTOS DA CASCA
DE CAFÉ PARA PRODUÇÃO DE BIOETANOL**

Monografia apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do Curso
de Engenharia Química, para a obtenção do
título de Bacharel.

Prof. Dr. Luciano Jacob Correa
Orientador

LAVRAS – MG

2020

NATÁLIA DE OLIVEIRA SALLES

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE PRÉ-TRATAMENTOS DA CASCA
DE CAFÉ PARA PRODUÇÃO DE BIOETANOL
EVALUATION OF DIFFERENT CONDITIONS OF PRE-TREATMENTS OF COFFEE
HUSK FOR BIOETHANOL PRODUCTION**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Engenharia Química, para a obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 07 de Agosto de 2020.

Prof. Dr. Gilson Campani Júnior UFLA
Prof. Dr. João Moreira Neto UFLA

Prof. Dr. Luciano Jacob Correa
Orientador

**LAVRAS – MG
2020**

Dedico este trabalho à minha família. Minha mãe Solange, meu pai Marco Antônio, minha irmã Taís e meu namorado Anderson, que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando em todas as decisões e que nunca mediram esforços para me ajudar.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado saúde e por me fortalecer ao longo de toda a graduação.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de cursar a graduação e por todo conhecimento adquirido em todos esses anos.

Ao Núcleo de Estudos em Engenharia de Bioprocessos por todo ensinamento e experiência, que fizeram despertar meu interesse nessa área.

A todos os professores, por terem dividido comigo todo o seu conhecimento, em especial ao professor Dr. Luciano Jacob Correa, meu orientador, pela paciência e pelo apoio.

À minha família, pelo amor, incentivo e apoio incondicional, principalmente nos momentos mais difíceis.

À minha segunda família de Lavras, a República Boazona, pela amizade, companheirismo e experiências incríveis vivenciadas ao longo desses anos.

Aos meus colegas e amigos, com os quais pude consolidar laços afetivos, compartilhando diversas experiências.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, meu mais sincero obrigado!

*Nenhum de nós sabe exatamente onde vai parar. Mas não precisamos saber para onde vamos,
nós só precisamos ir.*
Humberto Gessinger - Infinita Highway

RESUMO

A biomassa de origem lignocelulósica é a fonte mais abundante de material orgânico na Terra e é uma das fontes para produção de energia com maior potencial de crescimento nos próximos anos. O café destaca-se como um dos produtos de maior relevância no Brasil e, durante seu processamento, gera-se um subproduto, a casca, que geralmente é descartada como um resíduo. Para a utilização dessa biomassa, faz-se necessário que sejam realizados alguns procedimentos prévios para obtenção da glicose, como o pré-tratamento. Neste sentido, a proposta deste trabalho consiste na realização de experimentos para verificação, através da hidrólise enzimática, da melhor condição de pré-tratamento da casca de café, visando a produção de etanol de segunda geração. Para tal, utilizou-se dois tipos de pré-tratamentos, o físico e o químico. No pré-tratamento físico realizou-se a moagem e peneiramento para selecionar os grãos a serem utilizados. Foram três amostras diferentes, com *Mesh* 12, 20 e 32. As cascas de café utilizadas no pré-tratamento químico foram moídas e posteriormente secas. Em seguida, foi adicionada a solução aquosa de ácido sulfúrico a 1% (v/v). Por último, foram adicionadas diferentes concentrações da solução de hidróxido de sódio, com 0,5% e 1% (m/v). Todo o experimento foi realizado em duplicata. Para a realização da hidrólise utilizou-se o complexo enzimático *Cellic CTec2*, doado pela *Novozymes Latin America*. As soluções foram colocadas em uma incubadora *shaker*, por 48 horas a 50°C. Coletou-se amostras após 2, 4, 6, 8, 24 e 48 horas do início do experimento. Com o auxílio do espectrofotômetro, e utilizando 3,5-DNS, foi possível obter os valores de absorbância das amostras. Através da curva padrão da glicose, que relaciona absorbância versus glicose, foi possível obter os valores de glicose que foram produzidos durante a hidrólise. No pré-tratamento físico, a amostra de *Mesh* 12 foi a que obteve o melhor resultado, apresentando concentração da glicose de 11,97 g/l com 24 horas após início do experimento. Já no pré-tratamento químico, a solução contendo 1% NaOH foi a mais eficaz com uma concentração de 19,62 g/l.

Palavras-chave: Biomassa; Casca de Café; Pré-Tratamentos; Hidrólise; Produção de Etanol de Segunda Geração.

ABSTRACT

Biomass of lignocellulosic origin is the most abundant source of organic material on Earth and is one of the sources for energy production with the greatest growth potential in the coming years. Coffee stands out as one of the most relevant products in Brazil and, during its processing, a by-product is generated, the husk, which is generally discarded as a waste. For the use of this biomass, it is necessary to carry out some previous procedures to obtain glucose, such as pre-treatment. In this sense, the purpose of this work consists of carrying out experiments to verify, through enzymatic hydrolysis, the best pre-treatment condition of the coffee husk, aiming at the production of second-generation ethanol. For this purpose, two types of pre-treatments were used, the physical and the chemical one. In the physical pre-treatment, grinding and screening were carried out to select the grains to be used. There were three different samples, with Mesh 12, 20 and 32. The coffee husks used in the chemical pretreatment were ground and subsequently dried. Then, the 1 % (v/v) aqueous sulfuric acid solution was added. Finally, different concentrations of the sodium hydroxide solution, with 0.5 % and 1 % (w/v), were added. The entire experiment was carried out in duplicate. For the hydrolysis, the Cellic CTec2 enzyme complex, donated by Novozymes Latin America, was used. The solutions were placed in a shaker incubator for 48 hours at 50°C. Samples were collected 2, 4, 6, 8, 24 and 48 hours after the beginning of the experiment. With the aid of the spectrophotometer, and using 3.5-DNS, it was possible to obtain the absorbance values of the samples. Through the standard glucose curve, which relates absorbance versus glucose, it was possible to obtain the glucose values that were produced during hydrolysis. In the physical pre-treatment, the Mesh 12 sample was the one that obtained the best result, presenting a glucose concentration of 11.97 g/l 24 hours after the beginning of the experiment. In the chemical pre-treatment, the solution containing 1% NaOH was the most effective with a concentration of 19.62 g/l.

Keywords: Biomass; Coffee Husk; Pre-Treatments; Hydrolysis; Second Generation Ethanol Production.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – Evolução da composição da oferta interna de energia por fonte	12
Figura 2.1 – Fluxograma geral para produção de etanol de segunda geração	15
Figura 2.2 – Matriz Energética de Transportes (% e tep)	15
Figura 2.3 – Estrutura biomassa lignocelulósica	17
Figura 2.4 – Área total de plantio de café arábica e conilon	20
Figura 2.5 – Área de plantio dos principais estados produtores de café	20
Figura 2.6 – Biomassa lignocelulósica antes e depois do pré-tratamento	22
Figura 2.7 – Tipos de pré-tratamento	23
Figura 2.8 – Representação de um peneiramento em escala de laboratório	25
Figura 2.9 – Distribuição de frequência	27
Figura 2.10 – Distribuição cumulativa	28
Figura 2.11 – Energia de ativação da reação na ausência e presença de catalisador	29
Figura 2.12 – Diferentes processos de hidrólise enzimática e fermentação	32
Figura 3.1 – Agitador de peneiras eletromagnético	35
Figura 3.2 – Incubadora <i>shaker</i> com as amostras	37
Figura 4.1 – Distribuição de frequência do material peneirado	41
Figura 4.2 – Distribuição cumulativa do material peneirado	41
Figura 4.3 – Diâmetro do material <i>versus</i> umidade no pré-tratamento físico	42
Figura 4.4 – Concentração de NaOH <i>versus</i> umidade no pré-tratamento químico	43
Figura 4.5 – Curva padrão da glicose	44
Figura 4.6 – Relação tempo (h) <i>versus</i> concentração de glicose (g/l) no pré-tratamento físico	46
Figura 4.7 – Relação tempo (h) <i>versus</i> concentração de glicose (g/l) no pré-tratamento químico	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Relação entre <i>Mesh</i> e Diâmetro	26
Tabela 3.1 – Concentrações da glicose e das respectivas absorbâncias	39
Tabela 4.1 – Massa da casca de café retida após análise granulométrica	40
Tabela 4.2 – Dados obtidos na análise granulométrica	40
Tabela 4.3 – Resultados da umidade em base úmida nas cascas de café para ambos pré- tratamentos	42
Tabela 4.4 – Valores da massa biomassa úmida, do volume de água na amostra e do volume de água destilada calculados	43
Tabela 4.5 – Valores das absorbâncias para o pré-tratamento físico	44
Tabela 4.6 – Valores das absorbâncias para o pré-tratamento químico	44
Tabela 4.7 – Valores das concentrações de glicose em g/l para o pré-tratamento físico . .	45
Tabela 4.8 – Valores das concentrações de glicose em g/l para o pré-tratamento químico	45

NOMENCLATURA

D_i	Diâmetro da partícula	[μ]
\mathcal{H}	Umidade em base úmida	[-]
M	Massa total de partículas	[g]
m_A	Massa de água na amostra	[g]
m_i	Massa retida na peneira i	[g]
m_S	Massa de biomassa seca na amostra	[g]
m_T	Massa total da amostra (Biomassa úmida)	[g]
$V_{\text{água destilada}}$	Volume de água destilada utilizada no experimento	[ml]
V_{H_2O}	Volume de água na amostra	[ml]
x_i	Fração de massa retida na peneira i	[-]
X_i	Fração acumulada retida na peneira i	[-]
[<i>Glicose</i>]	Concentração de glicose	[g/l]

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	Motivação	12
1.2	Objetivos	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1	Biocombustível	14
2.2	Biomassa lignocelulósica	16
2.2.1	Celulose	17
2.2.2	Hemicelulose	18
2.2.3	Lignina	18
2.3	Café	19
2.4	Secagem	21
2.5	Pré-tratamento de materiais lignocelulósicos	21
2.5.1	Pré-tratamento químico	23
2.5.2	Pré-tratamento físico	24
2.5.2.1	Moagem	24
2.5.2.2	Peneiramento	24
2.5.2.3	Análise Granulométrica	26
2.6	Umidade	28
2.7	Enzima	29
2.8	Hidrólise	30
2.9	Fermentação	31
2.10	Curva Padrão da Glicose	32
3	METODOLOGIA	34
3.1	Materiais	34
3.2	Pré-tratamento químico	34
3.3	Pré-tratamento físico	34
3.3.1	Análise Granulométrica	34
3.4	Hidrólise enzimática da casca de café	35
3.5	Análise da absorbância	37
3.6	Determinação da concentração de glicose	38
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	40

5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
	REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

1.1 Motivação

A geração de energia é fundamental para o crescimento econômico de qualquer país. Embora esse crescimento seja necessário, ele vem acompanhado de alguns aspectos negativos, como a possibilidade do esgotamento dos recursos utilizados para a produção de energia e o impacto ao meio ambiente produzido por essa atividade. Portanto, faz-se necessário que essas fontes energéticas sejam cada vez mais limpas e que em todo processo de produção e distribuição evite-se ao máximo o desperdício e a má utilização de recursos. Logo, fica evidente a importância de que o aumento da produção energética aconteça ao mesmo passo que a minimização dos impactos ambientais que essa gera.

O petróleo, que é uma fonte não renovável e fóssil, é a principal fonte de energia atualmente. Diante da assinatura do Protocolo de Quioto, que definiu metas de redução de emissões, o suprimento de energia através de fontes renováveis tornou-se uma das maiores preocupações, buscando-se cada vez mais por fontes alternativas de energia (MMA, 2020).

Segundo dados de 2019 do Ministério de Minas e Energia (MME), a matriz energética brasileira é composta por 47% de fontes renováveis. O mesmo dado para o ano anterior foi de 45,3%. Estima-se que em 2029 a utilização de energias renováveis na matriz energética brasileira, atinja o patamar de 48% (MME, 2020). Com o intuito de aumentar ainda mais a utilização de fontes renováveis na produção de combustíveis, tem-se investido a fabricação do etanol de segunda geração, que utiliza a biomassa como matéria prima. Na Figura 1.1 é possível observar a estimativa da evolução da oferta interna de energia por fonte.

Figura 1.1 – Evolução da composição da oferta interna de energia por fonte



Fonte: Adaptada de (MME, 2020).

A biomassa de origem lignocelulósica é a fonte mais abundante de material orgânico na Terra. Ela é proveniente de florestas, cultivo agrícola e florestal, colheita, resíduos florestais e industriais e celulose e papel reciclado. Com essa abordagem, o uso da biomassa lignocelulósica como combustível representa um método sustentável e ambientalmente amigável de exploração de energia (ABRIL; ABRIL, 2009).

Segundo a Agência Nacional de Energia Elétrica (ANEEL), a biomassa é uma das fontes para produção de energia com maior potencial de crescimento nos próximos anos. A partir dela é possível obter energia elétrica, biodiesel e etanol, substituindo assim o uso de fontes não renováveis. Qualquer matéria-prima orgânica passível de ser transformada em energia pode ser classificada como biomassa (ANEEL, 2008).

O café destaca-se como um dos produtos de maior relevância no Brasil, sendo o estado de Minas Gerais, o maior produtor de café do país com aproximadamente 55% da produção total (EMBRAPA, 2020). Esse grande volume na produção, acaba gerando muitos resíduos, que na maioria das vezes são descartados sem seu devido aproveitamento.

Durante o processamento do café é gerado um subproduto, a casca, que geralmente é descartada como um resíduo. Devido a sua composição estrutural e o volume de resíduo gerado, torna-se uma potencial biomassa para fabricação de etanol de segunda geração. Para a utilização dessa biomassa faz-se necessário a realização de alguns procedimentos prévios para obtenção da glicose, como o pré-tratamento para romper a matriz lignocelulósica e a hidrólise enzimática.

Estudos estão sendo feitos para a utilização desses pré-tratamentos em escala industrial. Além disso, tem-se pesquisado a viabilidade da utilização de microrganismos para a potencialização da fermentação de açúcares e posterior obtenção de bioetanol (RIÑANO et al., 2010).

1.2 Objetivos

Neste sentido, o presente trabalho está inserido no âmbito do aproveitamento de resíduos lignocelulósicos da agroindústria cafeeira. A proposta deste estudo consiste na realização de experimentos para verificação, através da hidrólise enzimática, da melhor condição de pré-tratamento da casca de café, visando a produção de etanol de segunda geração.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Biocombustível

Segundo dados de 2016 da Empresa de Pesquisa Energética (EPE), a matriz energética mundial ainda é fortemente suprida por fontes não renováveis, com um total de 86% da matriz, sendo 31,9% de petróleo e derivados, 27,1% de carvão e 22,1% de gás natural (EPE, 2016).

Todo ano, a atmosfera terrestre recebe cerca de 15 bilhões de toneladas de gás carbônico (CO₂) e os combustíveis fósseis, que atualmente são utilizados para suprir a demanda energética, são os grandes contribuintes dessas emissões. Além disso, existem incertezas quanto a disponibilidade dessas fontes não renováveis. Por esses motivos, a demanda por combustíveis renováveis tem crescido nos últimos anos (SANTOS, 2017).

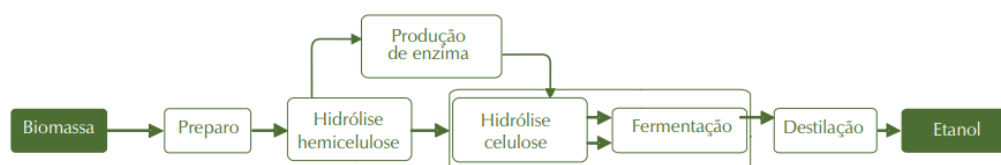
De acordo com a Legislação Brasileira (Lei nº 9.478/97, art. 6º, inciso XXIV), “biocombustível é uma substância derivada de biomassa renovável, tal como biodiesel, etanol e outras substâncias estabelecidas em regulamento da Agência Nacional do Petróleo (ANP), que pode ser empregada diretamente ou mediante alterações em motores a combustão interna ou para outro tipo de geração de energia, podendo substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil” (BRASIL, 1997).

O etanol, ou álcool etílico, é uma substância com fórmula molecular C₂H₆O, que pode ser utilizada como combustível em motores de combustão interna com ignição por centelha. O bioetanol é produzido a partir de qualquer biomassa que contenha quantidades significativas de carboidratos, principalmente amido ou açúcares (BNDES, 2008).

Os biocombustíveis estão ligados diretamente aos objetivos da sustentabilidade. Quando se utiliza etanol de cana-de-açúcar, os gases causadores do efeito estufa são reduzidos em até 90%, comparado com o uso da gasolina (FARINA; RODRIGUES; SOUSA, 2013). Observa-se também redução desses gases quando a matéria prima do etanol é o milho (20%-50%), a beterraba (30%-50%) e o trigo (30%-60%) (KOHLHEPP, 2010).

As etapas para produção do etanol de segunda geração são, basicamente, pré-tratamento da biomassa, hidrólise, concentração, fermentação, separação, purificação e tratamento de efluentes (MONTES, 2017). A Figura 2.1 a seguir apresenta um fluxograma para a produção de bioetanol.

Figura 2.1 – Fluxograma geral para produção de etanol de segunda geração



Fonte: Adaptada de (BNDES, 2008).

Segundo dados do MME, em 2018, a oferta total de bioenergia foi de 89,6 Mtep (Mega tonelada equivalente de petróleo), que corresponde a 31,1% da matriz energética brasileira. Os produtos da cana, com 50,1 Mtep, corresponderam a 55,9% da bioenergia e 17,4% da matriz. Outras bioenergias (lixívia, biogás, resíduos de madeira, resíduos da agroindústria e biodiesel), com 15,4 Mtep, responderam por 17,2% da bioenergia e por 5,3% da matriz. O Brasil é um dos países com maior presença de bioenergia na matriz de transportes, e em 2018, a participação de etanol e biodiesel na matriz ficou em 23,1% (MME, 2019b). Na Figura 2.2 é possível observar as principais fontes da matriz energética de transportes.

Figura 2.2 – Matriz Energética de Transportes (% e tep)

Fonte	Brasil		OCDE		Outros (*)		Mundo	
	1973	2018	1973	2018	1973	2018	1973	2018
Derivados de petróleo	98,7	74,3	95,7	92,7	83,2	88,4	94,4	91,6
Gás Natural	0,0	2,3	2,4	2,1	0,4	7,1	1,6	3,7
Carvão Mineral	0,01	0,0	1,1	0,00	13,5	0,2	3,0	0,1
Eletricidade	0,3	0,2	0,7	0,8	2,8	2,6	0,9	1,3
Bioenergia	1,0	23,1	0,0	4,4	0,08	1,6	0,06	3,3
Total (%)	100	100	100	0	100	100	100	100
Total - Mtep	19	84	695	1.278	183	1.071	1.081	2.829
% do mundo (**)	1,8	3,0	64,3	45,2	16,9	37,9		

(*) Exclusive Brasil e países da OCDE. (**) Bunker, incluído apenas no mundo, completa 100%.

Fonte: Adaptada de (MME, 2019b).

RenovaBio é a Política Nacional de Biocombustíveis, instituída pela Lei nº 13.576/2017, com os seguintes objetivos: “fornecer uma importante contribuição para o cumprimento dos compromissos determinados pelo Brasil no âmbito do Acordo de Paris; promover a adequada expansão dos biocombustíveis na matriz energética, com ênfase na regularidade do abastecimento de combustíveis; e assegurar previsibilidade para o mercado de combustíveis, induzindo ganhos de eficiência energética e de redução de emissões de gases causadores do efeito estufa na produção, comercialização e uso de biocombustíveis” (MME, 2019a).

2.2 Biomassa lignocelulósica

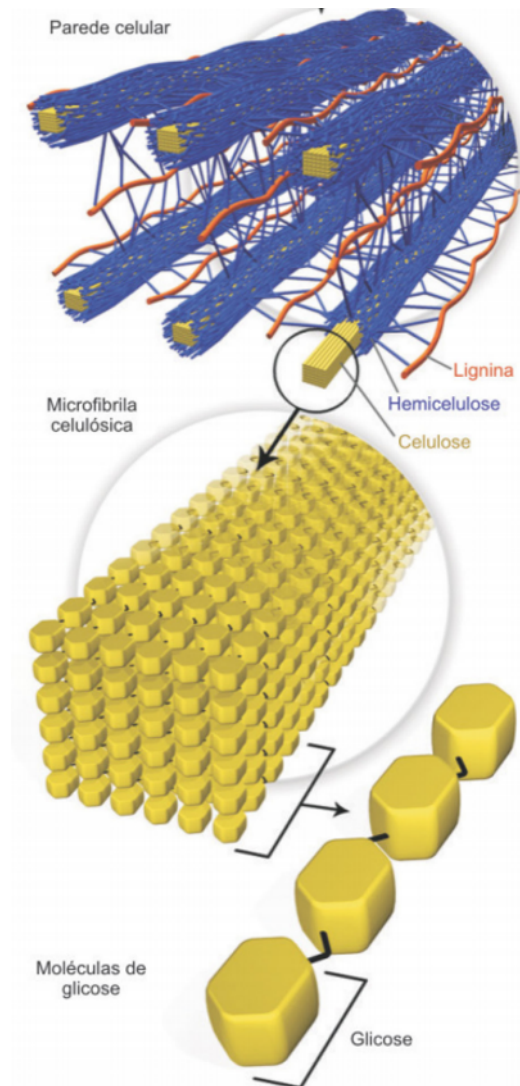
De acordo com a ANEEL, “qualquer matéria orgânica que possa ser transformada em energia mecânica, térmica ou elétrica é classificada como biomassa. De acordo com a sua origem, pode ser: florestal (madeira, principalmente), agrícola (soja, arroz e cana-de-açúcar, entre outras) e rejeitos urbanos e industriais (sólidos ou líquidos, como o lixo). Os derivados obtidos dependem tanto da matéria-prima utilizada (cujo potencial energético varia de tipo para tipo) quanto da tecnologia de processamento para obtenção dos energéticos” (ANEEL, 2008).

A biomassa é considerada uma das principais alternativas para a diversificação da matriz energética, diminuindo assim, a utilização de combustíveis fósseis. A partir dela é possível a obtenção tanto de energia elétrica, como de biocombustíveis. A produção de ambos, em larga escala, está relacionada à biomassa agrícola e à utilização de tecnologias eficientes. Neste cenário, a agricultura familiar pode desempenhar papel importante nas cadeias de energias renováveis.

A composição química da biomassa lignocelulósica, geralmente contém de 35 a 50% de celulose, 20 a 35% de hemicelulose e 10 a 25% de lignina, além de uma pequena quantidade de cinzas e extrativos (FERREIRA, 2016). A complexidade das interações desses três constituintes principais na parede celular é o grande desafio tecnológico para a recuperação e fermentação dos carboidratos (SANTOS, 2017).

Na Figura 2.3, pode-se observar que, a lignina envolve as hemiceluloses e celulose, juntando assim os componentes e formando uma barreira física para o ataque de elementos exteriores, enquanto a hemicelulose interliga a lignina e a celulose através da rede fibrosa constituída por ela (SILVA, 2019). A partir da análise dessa estrutura é possível o entendimento da necessidade dos pré-tratamentos utilizados para romper a biomassa lignocelulósica.

Figura 2.3 – Estrutura biomassa lignocelulósica



Fonte: Adaptada de (SANTOS et al., 2012).

2.2.1 Celulose

A celulose é um polímero linear de unidades de glicose ligadas por ligações β -1,4 glicosídicas, formando celobiose, um dissacarídeo, que é repetido várias vezes em sua cadeia (CANILHA et al., 2012).

A celulose é um dos principais componentes da parede celular, fornecendo resistência mecânica e estabilidade química para as plantas (FERREIRA, 2016). Além disso, é a matéria orgânica mais abundante da Terra, consistindo em até 50% da biomassa (MONTES, 2017).

Para que haja conversão da sua cadeia em monômeros de glicose, e devido a sua complexa estrutura, é necessária uma etapa de hidrólise para degradação da celulose (SANTOS,

2017), no qual normalmente são necessários pré-tratamentos ácidos ou uso de enzimas específicas (SILVA, 2019).

Devido às ligações de hidrogênio presentes nesta estrutura, há formação de regiões mais fortemente arranjadas que apresentam mais coesão no empacotamento das cadeias (SILVA, 2012).

2.2.2 Hemicelulose

As hemiceluloses, ou polioses, estão associadas à celulose na parede da célula vegetal e são compostas por diferentes unidades de açúcares formando cadeias ramificadas (RABELO, 2007). São heteropolissacarídeos complexos compostos por D-glucose, D-galactose, D-manose, D-xilose, L-arabinose, ácido D-glucurônico e ácido 4-O-metil-glucurônico. Sua estrutura apresenta ramificações que interagem facilmente com a celulose, dando estabilidade e flexibilidade ao agregado (SANTOS et al., 2012).

As hemiceluloses são relativamente fáceis de hidrolisar, quando comparadas às celulosas, pois possuem uma estrutura amorfa e ramificada, além de uma menor massa molar. Além disso, são sensíveis a condições de pré-tratamentos severas, sendo, portanto, importante o controle de alguns parâmetros de reação para evitar formação de produtos inibitórios aos microrganismos (SILVA, 2019).

2.2.3 Lignina

A lignina é uma macromolécula amorfa e altamente ramificada. Possui complexa estrutura de caráter fenólico e desempenha papel importante para o suporte estrutural das plantas, formando uma estrutura rígida e hidrofóbica (SANTOS, 2017). Normalmente, são encontrados os álcoois p-cumaril, coniferil e sinapil (FERREIRA, 2016). É a segunda macromolécula orgânica mais abundante dentre os materiais lignocelulósicos (RABELO, 2007).

No processo de hidrólise enzimática, a lignina atua como uma barreira física para as enzimas. Por conta disso, acaba influenciando na quantidade de enzima requerida para a hidrólise, sendo considerada uma das grandes responsáveis pelos baixos valores de rendimento de recuperação de açúcares a partir dos materiais lignocelulósicos (SANTOS et al., 2017; SILVA, 2019).

2.3 Café

O café é o fruto da planta *Coffea*, da família *Rubiaceae*. Dentre as espécies, duas delas são as mais cultivadas no mundo e tem uma grande importância econômica. São elas: *Coffea arábica* e *Coffea canephora*.

A *Coffea arabica*, fornece o café arábica, de gosto suave, aromático, redondo e achocolatado, o único que pode ser vendido puro, sem nenhum *blend*. A *Coffea canephora*, variedade robusta, que produz o café conilon, é mais resistente às pragas e às intempéries, mas não oferece bebida tão qualificada, possuindo sabor adstringente e mais amargo. A diferença entre as duas espécies está no número de genes. A *Coffea arabica* é mais complexa, contém 44 cromossomos. É muito mais delicada, gosta de grandes altitudes e exige um clima ameno, com a temperatura entre 15°C e 22°C. A *Coffea canephora*, com 22 cromossomos, como as outras plantas, aceita temperaturas entre 24°C e 29°C (MARTINS, 2012).

O café é uma das bebidas mais consumidas em todo o mundo. No Brasil, ele ocupa o segundo lugar, atrás somente da água. Ele ocupa um lugar de destaque na história do desenvolvimento do país.

Segundo o Conselho dos Exportadores de Café no Brasil (CECAFÉ), o país é o maior produtor e exportador de café do mundo e cultiva duas espécies de café: o café arábica e o café robusta. As lavouras cafeeiras estão presentes em 15 Estados brasileiros: Acre, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rondônia e São Paulo (CECAFÉ, 2020b).

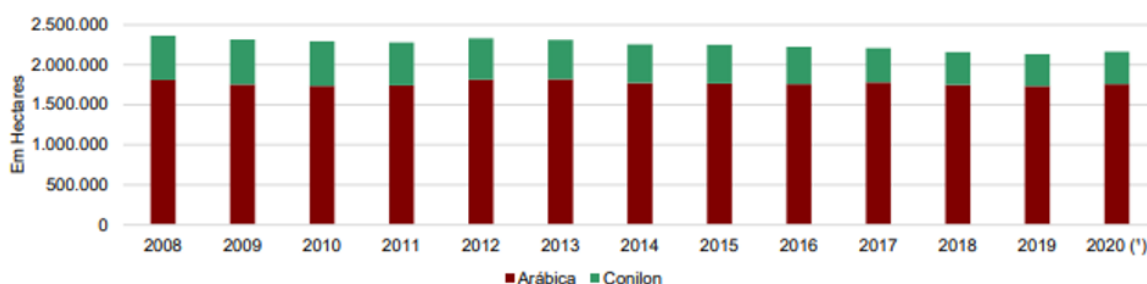
Segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em 2019 o país exportou café para 128 países, sendo 40,6 milhões de sacas de 60 kg comercializadas, gerando uma movimentação de US\$ 5,1 bilhões (MAPA, 2020).

Segundo o CECAFÉ, no primeiro quadrimestre de 2020, o Brasil atingiu um volume físico equivalente a 13,30 milhões de sacas de 60kg e receita cambial de US\$ 1,80 bilhão. Desse volume exportado, 10,96 milhões de sacas foram de café arábica, 1,01 milhão de sacas de café robusta, 1,32 milhão de sacas de solúvel e apenas 7,08 mil sacas de 60kg de café torrado e moído (CECAFÉ, 2020a).

De acordo com o primeiro levantamento de janeiro 2020 do acompanhamento da safra brasileira de café realizado pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a área plantada do café arábica no país para a safra de 2020 soma 1,75 milhão de hectares, ou seja 81,3% da área nacional utilizada para plantação do café. Minas Gerais concentra a maior

área com 1,22 milhão de hectares, correspondente, a 72,1% da área ocupada no país. Já para o café conilon, a área estimada é em torno de 404,3 mil hectares. O maior produtor desse café é o Espírito Santo com uma área de 265,2 mil hectares (CONAB, 2020). Na Figura 2.4, observa-se o a área plantada de ambas as espécies no Brasil em diferentes anos.

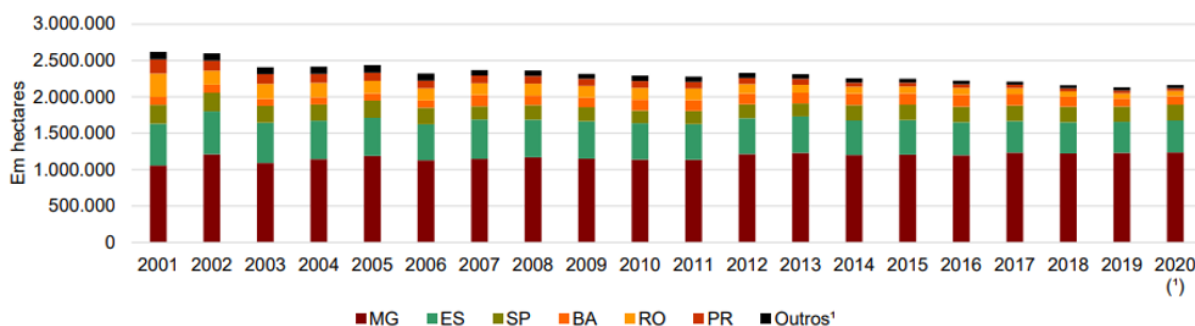
Figura 2.4 – Área total de plantio de café arábica e conilon



Fonte: Adaptada de (CONAB, 2020).

O café é o principal produto da pauta de exportações do agronegócio de Minas Gerais. Além disso tem sido o maior produtor do país a anos, como mostrado na Figura 2.5.

Figura 2.5 – Área de plantio dos principais estados produtores de café



Fonte: Adaptada de (CONAB, 2020).

As cascas de café e a polpa são os resíduos sólidos seco e úmido, respectivamente, obtidos depois do processamento dos grãos. Eles são os principais resíduos oriundos da atividade cafeeira. Existem muitos estudos visando o aproveitamento desses resíduos já que são ricos em material orgânico e nutrientes. Algumas das aplicações propostas incluem o uso direto como ração animal, fermentação em estado sólido e líquido, adsorção e produção de biocombustíveis. As cascas de café têm sido dispostas diretamente no meio ambiente, porém, além da poluição causada pela infiltração no solo, mau cheiro e proliferação de moscas, perdem-se recursos que elas poderiam oferecer (SANTOS, 2017).

Nas aplicações mais simples, como fertilizantes e alimentação de animais, apenas uma pequena fração desses resíduos é utilizada. Por conta disso, o foco atual é em aplicações desse

composto em bioprocessos. Os avanços na biotecnologia industrial oferecem melhores oportunidades para este reaproveitamento (MENEZES, 2012).

2.4 Secagem

Secagem é a operação unitária que tem por finalidade diminuir a umidade do produto a nível adequado à sua estocagem por um longo período, mantendo a sua qualidade.

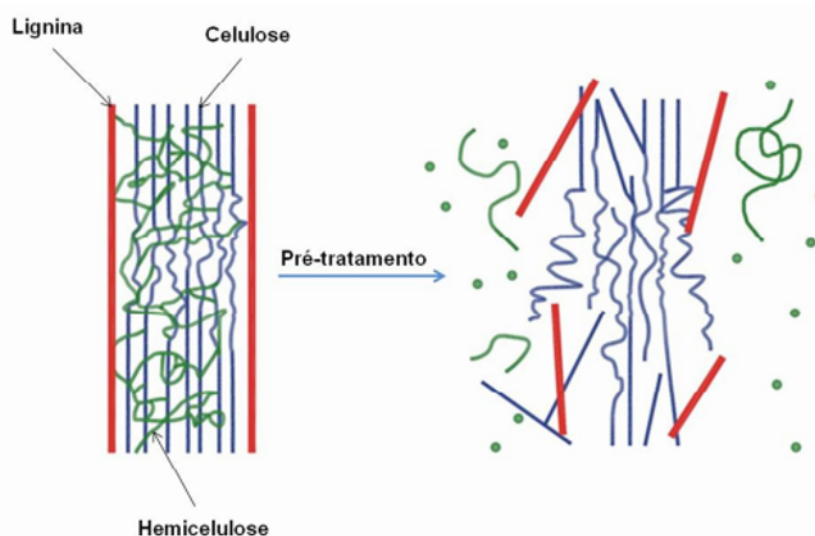
A secagem é uma das operações industriais mais usadas na prática, tanto para o acabamento final ou equilíbrio da umidade própria dos diversos materiais processados com o ar ambiente, como o caso das madeiras e de seus derivados, das borrachas, dos couros, dos plásticos, da celulose e seus derivados, etc., como para a sua melhor conservação, como é o caso dos cereais, dos alimentos e dos materiais perecíveis de uma maneira geral (COSTA, 2007).

A secagem de um sólido úmido, é feita mediante passagem de uma corrente de ar atmosférico aquecido pelo sólido úmido a uma temperatura e umidade fixas, por uma combinação de transferências de calor (para evaporar o líquido) e massa (para remover a umidade de dentro do sólido), reduz a quantidade de água presente no corpo sólido (FOUST et al., 1982).

2.5 Pré-tratamento de materiais lignocelulósicos

A biotecnologia tem como desafio o desenvolvimento de métodos que permitam a produção de açúcares e biocombustíveis a partir de compostos que contenham celulose. A biomassa pode ser convertida em etanol por meio de dois processos principais. O primeiro é a hidrólise da celulose para produção de açúcares fermentescíveis. E o segundo processo é a produção do etanol a partir da fermentação desses açúcares. Porém a presença de lignina e hemiceluloses dificulta esses processos, portanto faz-se necessária a etapa de pré-tratamento dessa biomassa (SANTOS, 2017). Na Figura 2.6, é possível observar o rompimento da lignina e hemicelulose, que ocorre na biomassa lignocelulósica, com a utilização pré-tratamento.

Figura 2.6 – Biomassa lignocelulósica antes e depois do pré-tratamento



Fonte: Adaptada de (ALVES, 2011).

Digestibilidade é a capacidade de hidrolisar a biomassa lignocelulósica para a formação de glicose. O pré-tratamento aumenta a digestibilidade, ou seja, o grau de hidrólise do material tratado superou o do material in natura (MONTES, 2017). De acordo com (RABELO, 2007), os pré-tratamentos químicos são melhores quando comparado ao pré-tratamento físico, já que este é relativamente ineficiente no aumento da digestibilidade da biomassa.

Do ponto de vista econômico, a etapa de pré-tratamento é essencial no processo de bioconversão. Esse processo deve atender os seguintes requisitos: produzir fibras reativas, separar as pentoses sem degradação, não gerar compostos que inibam a fermentação, redução drástica do tamanho das partículas e seja simples e eficaz com baixa umidade (ABRIL; ABRIL, 2009).

Os materiais lignocelulósicos possuem diferentes características físico-químicas, por conta disso é necessário que na etapa de pré-tratamento sejam adotadas tecnologias com base nas propriedades da biomassa de cada matéria-prima (MENEZES, 2012).

Com o intuito de maximizar a produção de açúcares fermentáveis para uma maior conversão em bioetanol, evitar a degradação ou perda de carboidratos e minimizar a formação de inibidores, vários métodos de pré-tratamento têm sido pesquisados. Dentre eles vale ressaltar a hidrólise ácida, reagentes alcalinos, explosão a vapor, oxidação úmida, amônia líquida, água quente, moagem e pré-tratamento biológico (SILVA, 2012). Alguns desses métodos estão na Figura 2.7.

Figura 2.7 – Tipos de pré-tratamento



Fonte: Adaptada de (FERREIRA, 2016).

2.5.1 Pré-tratamento químico

O pré-tratamento químico utiliza ácidos e bases para remover a lignina e hemicelulose, sem degradar a cadeia celulósica, deixando assim, a celulose mais acessível. Há uma diminuição do grau de polimerização e cristalinidade da celulose associada com o inchaço da amostra, aumentando assim a porosidade do material (RABELO, 2007).

Alguns exemplos incluem ácidos diluídos, álcalis, solventes orgânicos, sais metálicos, sulfito, líquidos iônicos, explosão supercrítica de dióxido de carbono e processos oxidativos empregando ozônio, peróxido de hidrogênio ou oxidação úmida (SANTOS, 2017).

Pré-tratamentos alcalinos são um dos mais utilizados em materiais lignocelulósicos. Quando comparado com os outros pré-tratamentos, o pré-tratamento alcalino utiliza baixas temperaturas e pressões. Hidróxidos de sódio, potássio, cálcio e amônio são adequados para este tipo de pré-tratamento. NaOH provoca inchaço, aumento da superfície interna da celulose e redução do grau de polimerização, o que provoca o rompimento da lignina. Porém como desvantagem apresenta um alto custo e dificuldade de recuperação dos reagentes (MENEZES, 2012). O principal efeito do pré-tratamento com NaOH é a remoção de lignina da biomassa (NASCIMENTO, 2011).

Em geral, o pré-tratamento alcalino é mais eficaz em madeira, culturas herbáceas e resíduos agrícolas com baixa lignina (CANILHA et al., 2012).

2.5.2 Pré-tratamento físico

O pré-tratamento físico consiste na fragmentação da biomassa através da pulverização, trituração ou moagem. O processo de moagem reduz o tamanho da fibra, o que causa um aumento no desempenho da enzima pelo aumento da área superficial (ALVES, 2011).

Neste tipo de pré-tratamento há menor risco em relação ao impacto ambiental do que nos processos químicos (MENEZES, 2012). O método de moagem de bolas é um dos mais empregados. Este método pode ser considerado favorável ao meio ambiente já que não requer adição de produtos químicos. Porém, uma desvantagem são os altos custos de energia devido à alta potência requerida pelas máquinas (CANILHA et al., 2012).

Alguns exemplos incluem o pré-tratamento mecânico, pré-tratamento de extrusão, pirólise, pré-tratamento usando irradiação de micro-ondas e irradiação por ultrassom (SANTOS, 2017).

2.5.2.1 Moagem

A moagem é uma operação unitária na qual o tamanho de um sólido é reduzido ao serem aplicadas forças de impacto, compressão, abrasão e corte, podendo ser aplicado mais de um tipo ao mesmo tempo. Essa redução no tamanho dos sólidos se inicia com a retirada das camadas externas, o que ocasiona o aumento da superfície específica. A moagem, portanto, acaba por modificar as características físicas de determinado sólido (RIBEIRO; ABRANTES, 2001).

O principal objetivo da moagem é aumentar a relação entre a superfície e o volume de um sólido que será utilizado em operações subsequentes, sendo que em alguns casos é necessário garantir a uniformidade das partículas após o processo. Dessa forma, o equipamento de moagem deve ser escolhido de acordo com o material a ser moído e granulometria desejada após a moagem.

A celulose e hemicelulose favorecem a formação de ligações hidrogênio com as moléculas de água. A moagem converte essas fibras em fragmentos menores, resultando em um aumento da área superficial, o que acaba aumentando a capacidade dessas de absorver água (SILVA et al., 2017).

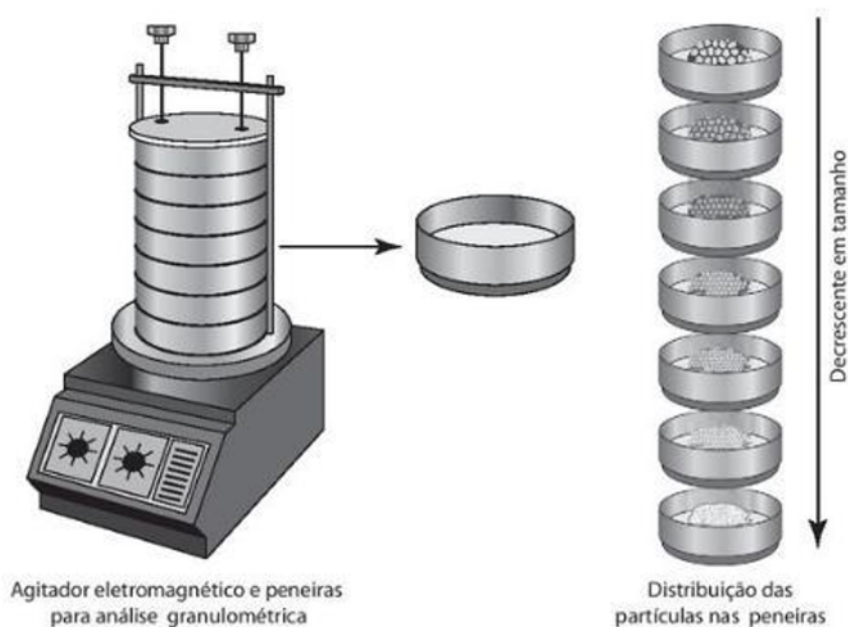
2.5.2.2 Peneiramento

Na técnica de peneiramento é utilizada uma série de peneiras cada uma com uma abertura de sua malha e é passada uma quantidade de material por elas, visando separar sólidos de

tamanhos diferentes em porções mais uniformes. Fatores como formato e massa específica das partículas são significativos, porém o tamanho da partícula é o fator predominante para esse tipo de classificação (SAMPAIO; FRANÇA; BRAGA, 2007).

As peneiras são dispostas verticalmente e com um decréscimo em sua abertura. Uma parte da massa pode ficar retida na primeira peneira e o restante passar para a próxima. Esse processo se repete até certa quantidade ficar retida em uma peneira e não conseguir passar para nenhuma malha seguinte. Sendo assim, é possível associar a fração mássica retida em uma peneira com o diâmetro da partícula associada. A Figura 2.8 ilustra o processo de peneiramento.

Figura 2.8 – Representação de um peneiramento em escala de laboratório



Fonte: Adaptada de (CREMASCO, 2014).

As aberturas das peneiras podem ser dadas em milímetros (ou micrometros) ou em *Mesh*, que está relacionado ao número de aberturas por polegada linear. A Tabela 2.1 mostra a relação entre *Mesh* e o diâmetro das peneiras. Podem ser determinados os diâmetros máximo, mínimo e médio das peneiras e a dimensão máxima característica (abertura da malha na qual 5% ou uma quantidade menor de massa ficou retida).

Tabela 2.1 – Relação entre *Mesh* e Diâmetro

<i>Mesh</i>	Diâmetro (μm)	<i>Mesh</i>	Diâmetro (μm)
3,5	5600	20	850
4	4750	24	710
5	4000	28	600
6	3350	32	500
7	2800	35	425
8	2360	42	355
9	2000	48	300
10	1700	60	250
12	1400	65	212
14	1180	80	180
16	1000	100	150

Fonte: Adaptada de (BERTEL, 2020).

2.5.2.3 Análise Granulométrica

De acordo com (CREMASCO, 2014), a granulometria ou distribuição estatística de tamanhos pode ser definida em função da frequência relativa de partículas com mesmo diâmetro, podendo ser expressa pela massa. Outra forma de representar a distribuição é através da fração cumulativa de partículas com diâmetro menor e maior que um valor de diâmetro médio de partículas em um intervalo de 0% a 100%. O diâmetro de abertura de uma peneira i pode ser representado por D_i .

As frações retidas em cada uma das peneiras podem ser medidas de acordo com a Equação 1:

$$x_i = \frac{m_i}{M} \quad (1)$$

Onde x_i é a fração de massa retida na peneira i , m_i é a massa retida na peneira i e M é a massa total de partículas.

A fração acumulada retida pode ser obtida pela soma da fração retida na peneira i e somando as frações retidas das peneiras anteriores a ela. O cálculo da fração acumulada é feito de acordo com a Equação 2:

$$X_i = \sum_1^i x_i = x_1 + x_2 + \dots + x_i \quad (2)$$

Onde X_i é a fração acumulada retida na peneira i .

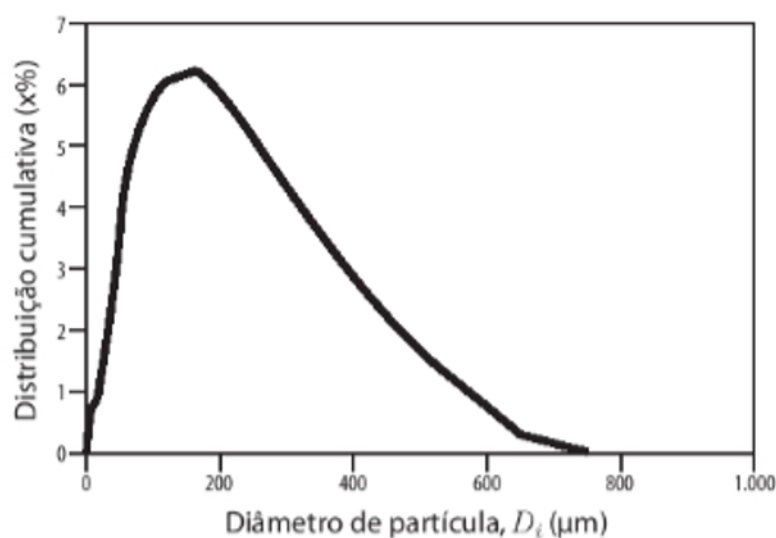
Outro parâmetro a ser analisado é a fração acumulada passante, que representa o somatório da fração passante em uma peneira i com as frações passantes das peneiras anteriores e tem seu valor representado por $(1 - X_i)$.

Os dados de fração retida e fração acumulada retida podem ser analisados através de gráficos com relação aos diâmetros de abertura das peneiras, representando assim a distribuição de frequência de distribuição cumulativa.

Independente da técnica de medida do tamanho da partícula, a distribuição estatística de tamanhos ou granulometria é expressa, usualmente em função da frequência relativa das partículas que detêm certo diâmetro. Além da distribuição de frequência, a distribuição de tamanho de partículas também pode ser representada pela fração cumulativa de partículas que possuem diâmetro menor e maior que um valor médio de partícula em um intervalo de 0% a 100% da grandeza acumulada (CREMASCO, 2014).

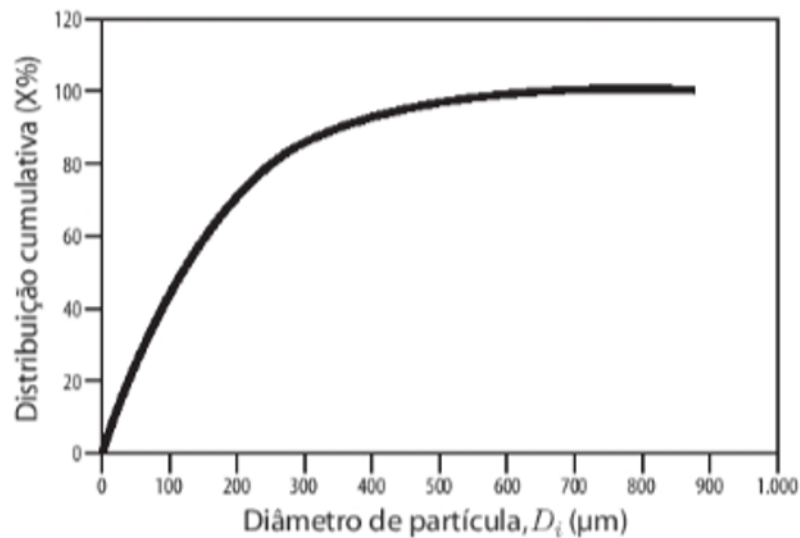
As Figuras 2.9 e 2.10 apresentam uma situação típica dessas análises citadas anteriormente.

Figura 2.9 – Distribuição de frequência



Fonte: Adaptada de (CREMASCO, 2014).

Figura 2.10 – Distribuição cumulativa



Fonte: Adaptada de (CREMASCO, 2014).

2.6 Umidade

Umidade é a massa de vapor transportada por uma unidade de massa de gás sem vapor. Nas operações de umidificação e desumidificação tem-se a transferência de massa entre uma fase líquida pura e um gás insaturado insolúvel no líquido (MCCABE; SMITH; HARRIOTT, 2004).

Os grãos são constituídos de substâncias sólidas e de certa quantidade de água retida sob várias formas. Dessa forma, umidade é a quantidade relativa de água presente no grão. Há dois modos de expressar a umidade contida num produto: base úmida e base seca. Caso o produto esteja com excesso de umidade, deve-se secá-lo até um teor de umidade ideal para cada processo (SILVA, 2001).

Segundo (SOUZA et al., 2012), a umidade (\mathcal{H}) em base úmida é a razão entre a massa da água (m_A) presente na amostra e a massa total (m_T) dessa amostra.

$$\mathcal{H} = \frac{m_A}{m_T} \quad (3)$$

A massa da água pode ser calculada através da diferença entre a massa total (m_T) e massa da matéria seca (m_S).

$$m_A = m_T - m_S \quad (4)$$

Logo, a equação para cálculo da umidade em base úmida pode ser resumida à Equação 5.

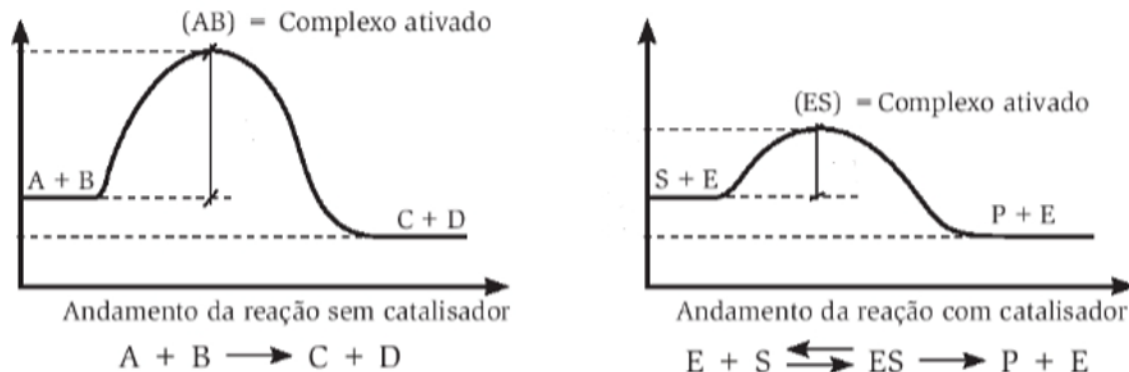
$$\mathcal{H} = \frac{m_T - m_S}{m_T} \quad (5)$$

2.7 Enzima

As enzimas são proteínas capazes de catalisar as reações que podem ser encontradas em todos os seres vivos terrestres. Na ausência das enzimas, as reações biológicas não ocorrem com velocidades significativas. Reações enzimáticas são entre 10^3 e 10^{20} vezes mais rápidas do que as demais (MORAN et al., 2013).

As enzimas são catalisadores, ou seja, são substâncias que aceleram a velocidade das reações químicas sem serem consumidos nesse processo. Isso é possível, porque eles atuam durante a formação do substrato em produto e logo em seguida regeneram-se. A ação catalítica consiste na diminuição da energia de ativação, que é a quantidade de energia necessária para que com a colisão das partículas haja formação do complexo ativado (GALANTE; ARAÚJO, 2018). Na Figura 2.11 é possível observar a energia de ativação em reações com e sem catalisadores.

Figura 2.11 – Energia de ativação da reação na ausência e presença de catalisador



Fonte: Adaptada de (GALANTE; ARAÚJO, 2018).

As enzimas são específicas de acordo com cada reagente, ou substrato. Algumas atuam sobre apenas um composto, outras podem atuar em grupos de substratos relacionados. A utilização de enzimas faz com que não haja formação de subprodutos indesejados, ou seja, além de economizar energia das células, evita a produção de subprodutos metabólicos potencialmente tóxicos. Outra característica importante, é que algumas enzimas ainda podem combinar ou acoplar duas reações que aconteceriam separadas, o que permite utilizar a energia ganha em uma reação em outra (MORAN et al., 2013).

Cada enzima possui em sua estrutura uma região chamada de sítio ativo que é onde é feita a ligação com o substrato. É através dessa região que a enzima reconhece o seu substrato.

Portanto, é necessário que este tenha forma espacial adequada para alojar-se no centro ativo e grupos químicos capazes de estabelecer ligações precisas (NEVES, 2003).

Alguns fatores ligados a enzima podem influenciar a hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos. Entre eles pode-se citar a inibição retroativa devido ao acúmulo de produtos no meio reacional, desnaturação térmica das enzimas em reações muito longas, agitação mecânica e à adsorção irreversível sobre a lignina (PITARELO, 2007).

Para a hidrólise enzimática, muito se tem estudado sobre a viabilização no uso de celulases na produção de etanol. Um exemplo é o complexo enzimático *Cellic CTec2*, que é uma enzima comercial produzida pela *Novozymes Latin America*, e é utilizada na produção de etanol celulósico. É um biocatalisador concentrado, que contém um complexo de enzimas formulado para melhorar o desempenho do biocatalisador e reduzir a dosagem requerida para a conversão da celulose em açúcares fermentescíveis (LUCARINI et al., 2017).

2.8 Hidrólise

A hidrólise enzimática é um processo catalisado por enzimas chamadas celulases, cujo objetivo é a degradação da celulose. Há um interesse primário em açúcares de celulose, porém, atualmente com a utilização total da biomassa e de outros açúcares, como as pentoses, que são derivadas da hemicelulose enfrenta-se um dos principais obstáculos para a produção de bioetanol, que é a fermentação das pentoses. Esta etapa, até então, não está plenamente dominada em escala industrial (RIANO et al., 2010; ROSA; GARCIA, 2009).

O rendimento da hidrólise enzimática de celulose é aumentado pela remoção de hemicelulose. Ligninas também devem ser removidas porque celulase adsorve sobre elas e impede o aumento das fibras de celulose (OGEDA; PETRI, 2010). A hidrólise de celulose pode obter rendimentos próximos de 100% com a utilização de enzimas, enquanto na hidrólise ácida isso não é possível. Porém o preço dessas enzimas ainda é muito elevado quando comparado ao preço dos ácidos (MONTES, 2017).

A hidrólise propriamente dita, pela ação de determinados catalisadores, permite a produção de moléculas de açúcar, através da quebra das cadeias de polissacarídeos. Posteriormente seguem-se as etapas de fermentação e destilação (ROSA; GARCIA, 2009).

A hidrólise enzimática de celulose envolve três etapas, iniciando pela adsorção das celulases na superfície da celulose, em seguida ocorre a quebra da celulose e posteriormente a

dessorção da celulase do resíduo de celulose no sobrenadante. Contato físico direto entre as enzimas e as moléculas do substrato é um pré-requisito para ocorrer a hidrólise (OGEDA, 2011).

Cada vez mais nota-se a otimização de condições que afetam o processo de hidrólise. Alguns dos fatores que podem alterar esse rendimento, é o tipo de pré-tratamento utilizado, relação enzima-substrato, temperatura e pH do meio, tempo de duração da hidrólise, concentração do substrato, teor de umidade e área da superfície disponível. Estudos apontam que a relação enzima-substrato é um dos fatores que mais influenciam a hidrólise, podendo atingir o dobro da conversão de glicose quando níveis mais altos de celulases são utilizados (CANILHA et al., 2012; VÁSQUEZ, 2007; MENEZES, 2012).

2.9 Fermentação

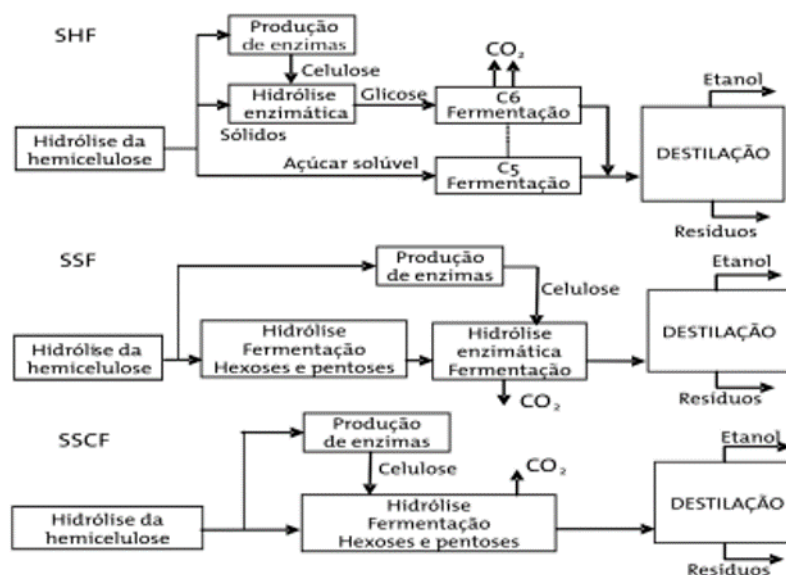
A fermentação consiste no uso de células para a produção de moléculas de interesse econômico. O meio de cultivo deve ser adequado, sob condições controladas de pH, temperatura, agitação e na presença de nutrientes adequados, principalmente fontes de carbono e nitrogênio. Além disso, é indispensável a definição do microrganismo adequado a ser utilizado (FILHO; VITOLO, 2017).

A fermentação alcoólica é um processo biológico, que utiliza, na maioria dos casos, a levedura *Sacharomyces cerevisiae*. Essa levedura apresenta os melhores desempenhos em relação à conversão da glicose em etanol, produtividade e tolerância alcoólica. A quantidade de etanol produzido na etapa de fermentação é dependente da quantidade de açúcar produzido na etapa de hidrólise enzimática. Quanto maiores concentrações de substrato, mais açúcares e mais etanol produzido. É também necessário colocar a quantidade adequada de substrato para que não ocorra inibição do produto final (MONTES, 2017).

São descritos três principais modelos de sacarificação e fermentação para a produção de bioetanol, tendo como ponto inicial a biomassa. São eles: SHF (*separate hydrolysis and fermentation*): consiste na realização da hidrólise com posterior inativação das enzimas e fermentação; SSF (*simultaneous saccharification and fermentation*): a adição de enzimas e de leveduras é simultânea, logo os processos de quebra da celulose e fermentação ocorrem simultaneamente; SSCF (*simultaneous saccharification and cofermentation*): primeiramente ocorre a pré-hidrólise, em que adiciona-se apenas enzima ao substrato a um tempo e temperatura ideais, em seguida a temperatura é abaixada adicionando-se mais enzimas e leveduras, iniciando

o processo de fermentação e sacarificação juntos (ROSA; GARCIA, 2009; MENEZES, 2012). Na Figura 2.12, é possível observar esses três processos.

Figura 2.12 – Diferentes processos de hidrólise enzimática e fermentação



Fonte: Adaptada de (ROSA; GARCIA, 2009).

A fermentação pode ser conduzida por processos contínuos, descontínuos ou contínuo-alimentados. A operação descontínua ocorre inicialmente quando o mosto é adicionado a dorna e então é inoculada com microrganismos e incubada. No decorrer do processo o volume permanece constante, já que nada é adicionado ou retirado, exceto gases. Os processos contínuos baseiam-se na alimentação e retirada do mosto com uma vazão constante, de modo que o volume seja mantido constante. O processo fermentativo em contínuo-alimentado ou Melle-Boinot, é caracterizado pela recuperação da levedura através da centrifugação do vinho. O último processo é o mais utilizado no país (MEDEIROS, 2019).

2.10 Curva Padrão da Glicose

Os carboidratos, juntamente com as proteínas e lipídeos, são os constituintes principais dos organismos vivos. Açúcares redutores são carboidratos que são capazes de se oxidar na presença de agentes oxidantes em solução alcalina. A glicose e a frutose são monossacarídeos de seis carbonos que se diferenciam pela forma cíclica. Os monossacarídeos são compostos que não podem ser hidrolisados a compostos mais simples (MALDONADE; CARVALHO; FERREIRA, 2013).

Na maioria dos processos de fermentação alcoólica é necessário que seja feita a quantificação de açúcares redutores, como é o caso da glicose. Através desse procedimento é possível estimar o percentual teórico de etanol a ser obtido, além de acompanhar a velocidade de consumo dessas fontes e o quanto de açúcar deixou de ser fermentado, reduzindo assim a eficiência do processo. Um método que é utilizado nesse processo, é aquele que utiliza o ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) como agente oxidante (LOPES, 2018). A reação entre o açúcar redutor e o DNS gera um produto vermelho-acastanhado.

No entanto, a quantificação de açúcares redutores através de DNS requer métodos que sejam mais viáveis, tanto economicamente quanto ao tempo gasto, já que normalmente a leitura das amostras é feita individualmente no espectrofotômetro (SANTOS et al., 2017).

A técnica de espectrofotometria é uma das técnicas analíticas amplamente difundidas e que tem como uma de suas aplicações, a determinação da concentração de espécies químicas absorvedoras em solução. Ao incidir sobre a amostra, parte da intensidade do feixe de luz pode ser absorvida pela amostra devido a excitação de elétrons de ligação em moléculas e íons orgânicos. Um espectro pode trazer informações de absorção ou transmissão em função do comprimento de onda (CANASSA; LAMONATO; RIBEIRO, 2018).

Segundo a Lei de Lambert-Beer, a absorbância é proporcional à concentração de determinada substância. A curva padrão expressa a relação entre a absorbância e a concentração. Com base na análise gráfica pode-se determinar a equação da reta, e a partir disso é possível calcular um fator de conversão de valores de absorbância em concentração (CANASSA; LAMONATO; RIBEIRO, 2018).

Verifica-se uma relação linear entre absorbância e concentração, e uma relação logarítmica entre transmitância e concentração. Muitas vezes essa relação só é linear até certa concentração, portanto, neste caso, utiliza-se a zona em que há linearidade, diluindo a solução de modo que a absorbância resultante esteja contida no intervalo da curva padrão (RABELO, 2007).

3 METODOLOGIA

3.1 Materiais

Nos experimentos foi utilizada casca de café, que foi doada pelo Laboratório de Com-
pósitos do Departamento de Engenharia (DEG), da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Além disso, na hidrólise utilizou-se o complexo enzimático *Cellic CTec2*. A atividade enzimática do complexo utilizado é de 241 FPU/ml e foi doado pela *Novozymes Latin America* (Araucária, PR).

3.2 Pré-tratamento químico

Para este estudo, as cascas de café foram moídas em um moinho de facas, e os grãos moídos foram selecionados através do sistema de peneiras com agitação automática com malha de 2 mm de diâmetro de abertura. Posteriormente, essa biomassa foi seca em estufa à temperatura de 60 °C, durante 24 h.

Em seguida, foi realizado o pré-tratamento químico na biomassa. Esse processo foi realizado em duas etapas. A primeira etapa foi a adição da solução aquosa de ácido sulfúrico a 1% (v/v). E na segunda etapa, as cascas de café sofreram a adição de diferentes concentrações da solução de hidróxido de sódio. A primeira, contendo 0,5% e a segunda, 1% (m/v).

3.3 Pré-tratamento físico

As cascas de café utilizadas no pré-tratamento físico sofreram o processo de secagem e, posteriormente, foram moídas no moinho de facas do Departamento de Engenharia da UFLA.

Para selecionar o tamanho das partículas a serem utilizadas foi necessário uma etapa adicional de peneiramento e posteriormente uma análise granulométrica.

3.3.1 Análise Granulométrica

Para a análise granulométrica foi utilizado um agitador de peneiras eletromagnético (BERTEL, modelo VP-01) ilustrado na Figura 3.1. Foram utilizados cinco tamanhos diferentes de peneiras, com *Mesh* de 12, 16, 20, 32 e 42.

Figura 3.1 – Agitador de peneiras eletromagnético



Fonte: Autora (2020).

Com o auxílio de uma balança pesou-se duas amostras da casca, com aproximadamente 100,2 gramas cada para realização da análise granulométrica em duplicata. O equipamento permaneceu ligado durante 15 minutos, vibrando a uma frequência de 10 hertz. Após esse tempo, colheu as amostras retidas em cada peneira e as pesou.

Através disso foi possível constatar em quais diâmetros obteve-se uma maior quantidade de massa retida. Selecionando assim três diâmetros diferentes para realização do experimento, os *Meshs* de 12, 20 e 32.

3.4 Hidrólise enzimática da casca de café

Com as cascas de café selecionadas, realizou-se os experimentos de hidrólise enzimática avaliando a casca de café submetida ao pré-tratamento físico e o químico. Todo o processo experimental foi realizado igualmente para ambos os pré-tratamentos.

Pesou-se um grama de cada amostra e mediu-se a umidade com o auxílio de uma balança determinadora de umidade (Bel, modelo i-Thermo 163L). Através da umidade em base úmida (\mathcal{H}) e da quantidade de massa necessária da biomassa seca (m_S), que para este experimento

foi 5 gramas, foi possível o cálculo da massa total de biomassa (m_T), que é a biomassa úmida, utilizando a Equação 5.

$$\mathcal{H} = \frac{m_T - m_S}{m_T}$$

Isolando m_T na equação anterior e substituindo o valor de m_S , obtém-se a Equação 6.

$$m_T = \frac{m_S}{1 - \mathcal{H}} = \frac{5}{1 - \mathcal{H}} \quad (6)$$

Realizado o cálculo da massa de biomassa úmida necessária para cada amostra, e considerando que a umidade foi medida em 1 grama de cada amostra, foi possível calcular a massa em base úmida, em gramas, e conseqüentemente o volume de água presente em cada amostra, em mililitros. Como a substância em análise é a água, e sua densidade (d) é aproximadamente 1 g/ml, pode-se considerar que a massa encontrada é igual ao seu volume, devido à Equação 7.

$$d = 1 = \frac{m_A}{V_{H_2O}} \quad (7)$$

Utilizando a Equação 4, é possível a determinação da massa de água na amostra.

$$m_A = V_{H_2O} = m_T - m_S = m_T - 5$$

Com o objetivo de obter um volume reacional de 50 ml, foi necessário o cálculo do volume de água destilada a ser colocada na solução tampão, levando em consideração o volume de água em cada amostra e o volume de 0,1 ml de solução de enzima necessário.

Sendo assim, na Equação 8 é possível observar o cálculo realizado para obtenção do volume de água destilada necessário.

$$V_{\text{água destilada}} = 50 - 0,1 - V_{H_2O} \quad (8)$$

Foi realizado uma solução tampão a partir do citrato de sódio e do ácido cítrico anidro. Pesou-se 3,884 e 3,885 gramas de citrato de sódio, e 2,264 e 2,267 gramas de ácido cítrico anidro, para a duplicata. As referidas massas foram obtidas utilizando-se a ferramenta disponibilizada no *website* da AAT Bioquest (AAT BIOQUEST, 2020).

Em um balão volumétrico foi adicionado os reagentes e uma certa quantidade de água destilada, que foi medida com o auxílio de uma proveta e que variou de acordo com a umidade de cada amostra, como mostrado anteriormente.

Em seguida, a solução, a casca de café e 0,1 mililitros da solução do complexo enzimático *Cellic CTec2*, foram adicionadas em um frasco de Erlenmeyer, e colocadas na incubadora *shaker* (Lucadema, modelo Luca-223) a 50°C por 48 horas, como mostra a Figura 3.2. Todas as amostras foram feitas em duplicata.

Figura 3.2 – Incubadora *shaker* com as amostras

Fonte: Autora (2020).

Com o auxílio de uma pipeta, foram coletadas amostras com 2, 4, 6, 8, 24 e 48 horas. Assim que coletadas, as amostras foram levadas à centrífuga (Fanem, modelo Excelsa i-2206) durante 5 minutos com rotação de 3000 rpm, para que houvesse separação total da parte líquida da sólida. Logo em seguida a parte líquida (sobrenadante) foi congelada e a sólida descartada.

3.5 Análise da absorbância

A determinação de açúcares redutores através do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) realizada nesse trabalho, segue o método desenvolvido pela Embrapa (VASCONCELOS; PINTO; ARAGÃO, 2013).

As amostras assim que descongeladas foram colocadas em um agitador *Vortex* (Satra, modelo Éven Vk-28) para homogeneizar toda a solução. Posteriormente, em um tubo de ensaio foram adicionados 100 microlitros de amostra e 900 microlitros de água destilada. Todo o volume foi medido em uma pipeta automática. Em seguida foram adicionados 1000 microlitros de ácido 3,5-dinitrosalicílico (3,5-DNS) nas amostras e imediatamente foram levadas para o banho (Warmnest, modelo HH-S18) a 95°C, onde ficaram por aproximadamente 5 minutos.

Após esse tempo foram colocadas em um béquer com gelo para o resfriamento. Na sequência, foi necessário diluir as amostras em 10X, portanto, foram adicionados 10 mililitros de água destilada em todas as amostras.

Concomitantemente foi feita uma amostra de referência, na qual adicionou-se 1000 microlitros de água e 1000 microlitros de 3,5-DNS.

Após isso, as amostras foram levadas ao espectrofotômetro visível (BEL, modelo V-M5) e analisadas em um comprimento de onda de 540nm, onde os resultados da absorvância foram obtidos. Para a calibração do equipamento, utilizou-se a amostra de referência.

3.6 Determinação da concentração de glicose

Os dados da absorvância e da concentração de glicose apresentados na Tabela 3.1, foram encontrados pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Engenharia Bioquímica do DEG da UFLA.

Tabela 3.1 – Concentrações da glicose e das respectivas absorvâncias

Absorvância	[Glicose] (g/l)
0	0
0,198	0,2
0,281	0,4
0,387	0,6
0,461	0,8
0,594	1
1,16	2

A curva padrão da glicose, que expressa a relação da concentração de glicose *versus* absorvância, foi construída também pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Engenharia Bioquímica. Em posse dos valores da absorvância, e através linearização da curva, foi possível obter a quantidade de glicose que cada amostra gerou.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após o peneiramento do material, foi possível construir a Tabela 4.1, onde é possível observar a massa retida em cada peneira. Em seguida, pode-se obter a distribuição de frequência (x_i) e a distribuição acumulativa (X_i) mostrados na Tabela 4.2.

Tabela 4.1 – Massa da casca de café retida após análise granulométrica

<i>Mesh</i>	Massa peneira (g)	Amostra 1		Amostra 2	
		Peneira + Massa retida (g)	Massa retida (g)	Peneira + Massa retida (g)	Massa retida (g)
12	407,79	425,78	17,99	424,75	16,96
16	381,96	394,85	12,89	394,99	13,03
20	409,66	431,46	21,8	431,64	21,98
32	355,54	382,89	27,35	382,98	27,44
42	357,2	365,53	8,33	365,93	8,73
fundo	324,66	336,51	11,25	336,73	12,07

Tabela 4.2 – Dados obtidos na análise granulométrica

<i>Mesh</i>	Diâmetro (μm)	Amostra 1		Amostra 2		Média	
		x_i	(1 - X_i)	x_i	(1 - X_i)	x_i	(1 - X_i)
12	1400	0,1795	0,8205	0,1692	0,8308	0,17435	0,82565
16	1000	0,1286	0,6918	0,13	0,7007	0,1293	0,69625
20	850	0,2175	0,4743	0,2193	0,4814	0,2184	0,47785
32	500	0,2729	0,2014	0,2738	0,2076	0,27335	0,2045
42	355	0,0831	0,1183	0,0871	0,1204	0,0851	0,11935
fundo	-	0,1183	-	0,1204	-	0,11935	-

Como a análise granulométrica foi realizada em duplicata, era esperado que os dados obtidos no experimento fossem próximos, o que aconteceu. Por conta disso foi realizado uma média entre os valores de ambas as amostras para a construção dos gráficos de distribuição de frequência e distribuição cumulativa do material peneirado foram feitos somente para a amostra 1 e estão demonstrados nas Figuras 4.1 e 4.2, respectivamente.

Figura 4.1 – Distribuição de frequência do material peneirado

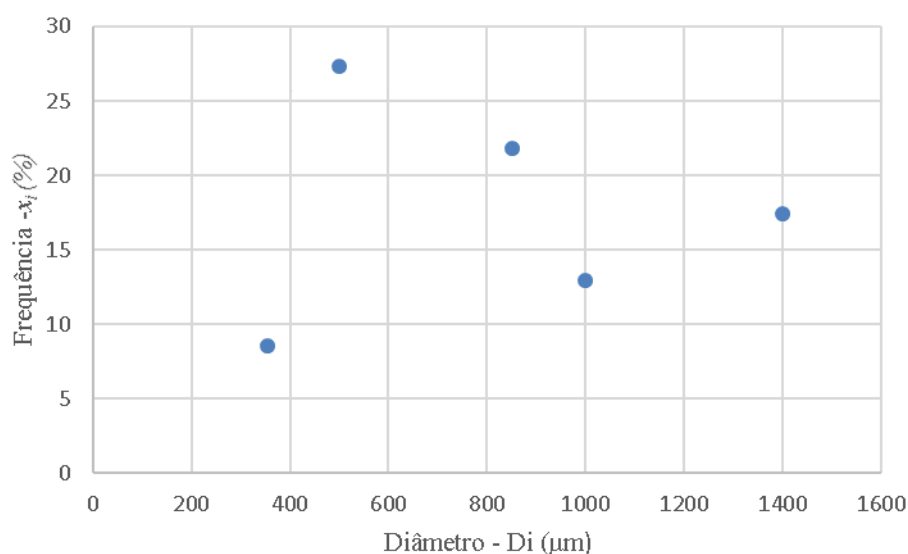
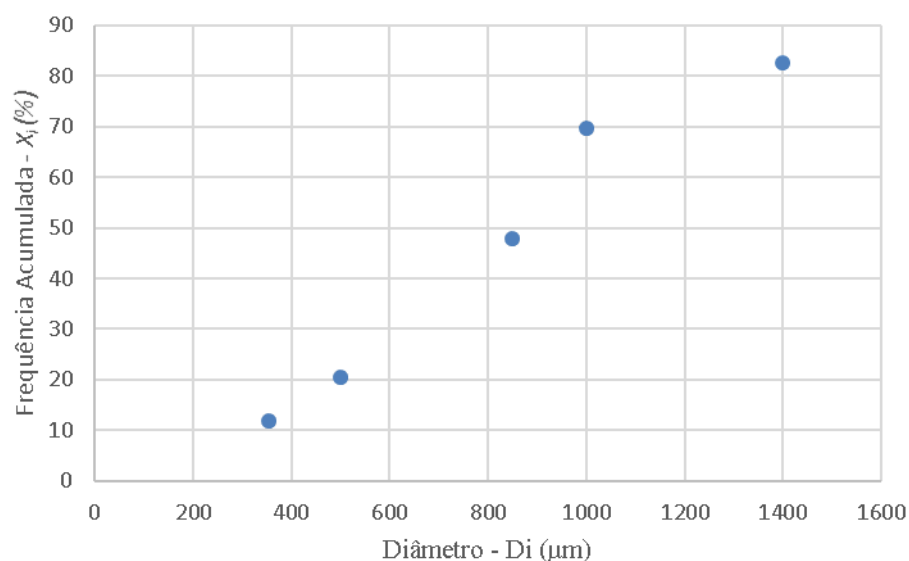


Figura 4.2 – Distribuição cumulativa do material peneirado



Analisando o Figura 4.1, é possível constatar a presença de um pico no diâmetro de 500 μm , onde aproximadamente 27,3% da massa da casca de café ficou retida na peneira. Pode-se notar também que nos diâmetros de 850 e 1400 μm houve uma grande quantidade de massa retida, ficando com 21,75% e 17,95%, respectivamente. A partir disso foi possível selecionar os tamanhos das particular que seriam utilizadas no experimento, ou seja, as partículas que ficaram retidas nas peneiras com *Mesh* de 12, 20 e 32.

É possível observar que os gráficos de distribuição de frequência e cumulativa, Figuras 4.1 e 4.2, respectivamente, não ficaram tão próximas do ideal, apresentadas anteriormente

nas Figuras 2.9 e 2.10. Isso poderia ter sido corrigido com uma moagem mais eficaz durante um tempo maior, já que 17,95% do material ficou retido na primeira peneira. Outro ponto observado foi a utilização de somente 5 peneiras, já que a utilização de um número maior de peneiras com valores intermediários possibilita uma maior sensibilidade da distribuição dos diâmetros.

Assim que as amostras foram selecionadas, tanto para o pré-tratamento físico como para o químico, seguiu-se para a medição da umidade com 1g de cada amostra, cujo valores estão na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Resultados da umidade em base úmida nas cascas de café para ambos pré-tratamentos

	Pré-tratamento Físico			Pré-tratamento Químico	
	<i>Mesh 12</i>	<i>Mesh 20</i>	<i>Mesh 32</i>	0,5 % NaOH	1% NaOH
Umidade - \mathcal{H}	0,1172	0,1117	0,1027	0,1111	0,0820

As Figuras 4.3 e 4.4 demonstram a relação do pré-tratamento *versus* a umidade.

Figura 4.3 – Diâmetro do material *versus* umidade no pré-tratamento físico

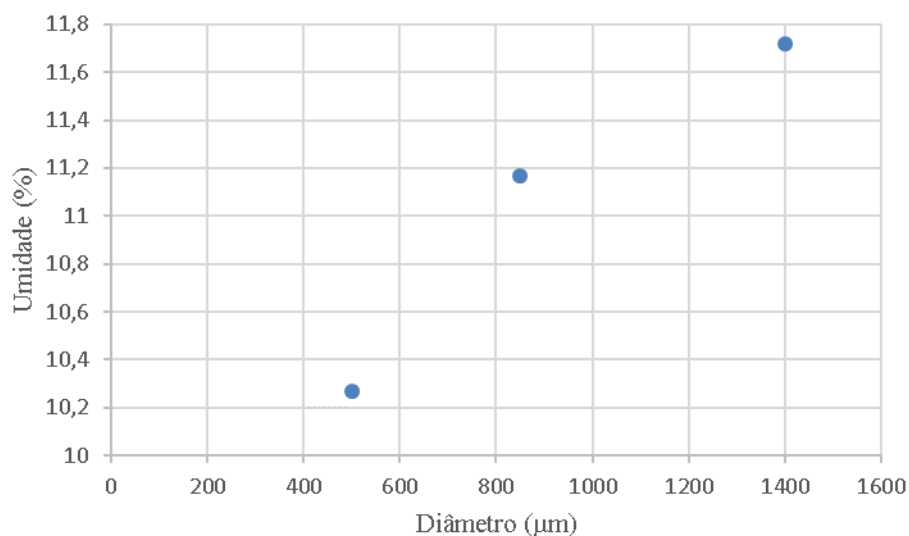
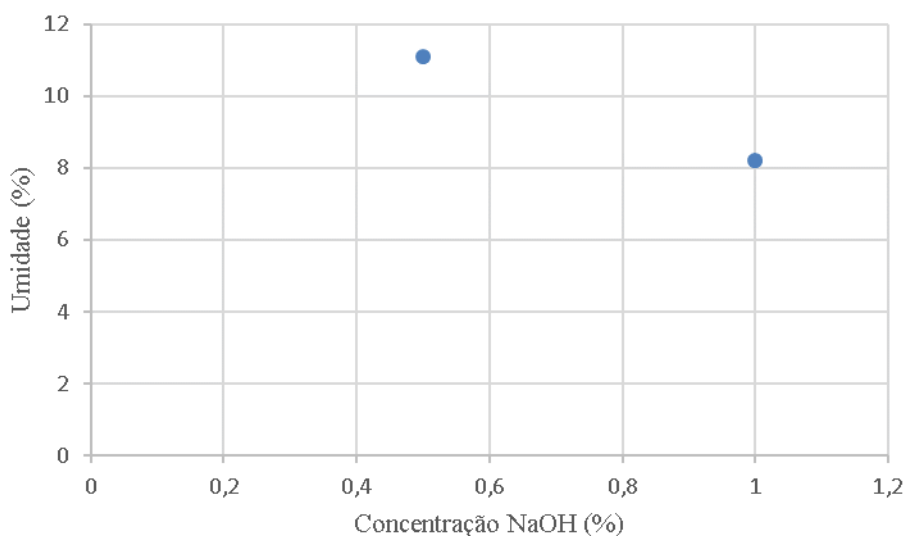


Figura 4.4 – Concentração de NaOH *versus* umidade no pré-tratamento químico

Analisando a Tabela 4.3 juntamente das Figuras 4.3 e 4.4, é possível constatar que, para o pré-tratamento físico, as amostras apresentaram um teor de água que variou de 10,27% a 11,72%, não sendo uma diferença muito significativa. Apesar do que foi encontrado na literatura em (SILVA et al., 2017), o presente experimento mostrou que a quantidade de água presente nas partículas não foi significativamente afetada pelo processo de moagem.

Já para o pré-tratamento químico, a umidade diminuiu com o aumento da concentração de NaOH. Com a adição de NaOH o principal efeito esperado era a remoção de lignina.

Através dos graus de umidade, foi possível calcular a massa da biomassa úmida que foi necessária, assim como o volume de água em cada amostra, e o volume total de água destilada na solução tampão, através das Equações 6, 4 e 8, respectivamente, em ambos os pré-tratamentos. Na Tabela 4.4 é possível observar esses valores.

Tabela 4.4 – Valores da massa biomassa úmida, do volume de água na amostra e do volume de água destilada calculados

	Pré-tratamento Físico			Pré-tratamento Químico	
	<i>Mesh</i> 12	<i>Mesh</i> 20	<i>Mesh</i> 32	0,5 % NaOH	1% NaOH
Massa biomassa úmida (g)	5,66	5,63	5,57	5,62	5,44
Volume H ₂ O na amostra (ml)	0,66	0,63	0,57	0,62	0,44
Volume água destilada (ml)	49,24	49,27	49,32	49,28	49,46

Para que a leitura no espectrofotômetro pudesse ser realizada, foi necessário que as amostras fossem diluídas 10 vezes. Por conta disso os valores encontrados através da leitura no equipamento precisaram ser multiplicados por 10. Esses resultados da absorbância, para o pré-tratamento físico e para o químico estão nas Tabelas 4.5 e 4.6, respectivamente.

Tabela 4.5 – Valores das absorvâncias para o pré-tratamento físico

	Mesh 12			Mesh 20			Mesh 32		
	Amostra 1	Amostra 2	Média	Amostra 1	Amostra 2	Média	Amostra 1	Amostra 2	Média
2 horas	4,37	4,78	4,58	3,77	4,10	3,94	3,79	3,45	3,62
4 horas	5,01	5,27	5,14	4,29	4,61	4,45	4,43	4,24	4,34
6 horas	5,19	5,44	5,32	4,66	4,95	4,81	4,60	4,49	4,55
8 horas	5,88	5,91	5,90	5,30	5,27	5,29	4,96	5,67	5,32
24 horas	7,06	7,17	7,12	6,23	6,58	6,41	5,31	5,82	5,57
48 horas	6,98	6,94	6,96	4,05	4,22	4,14	4,31	6,34	5,33

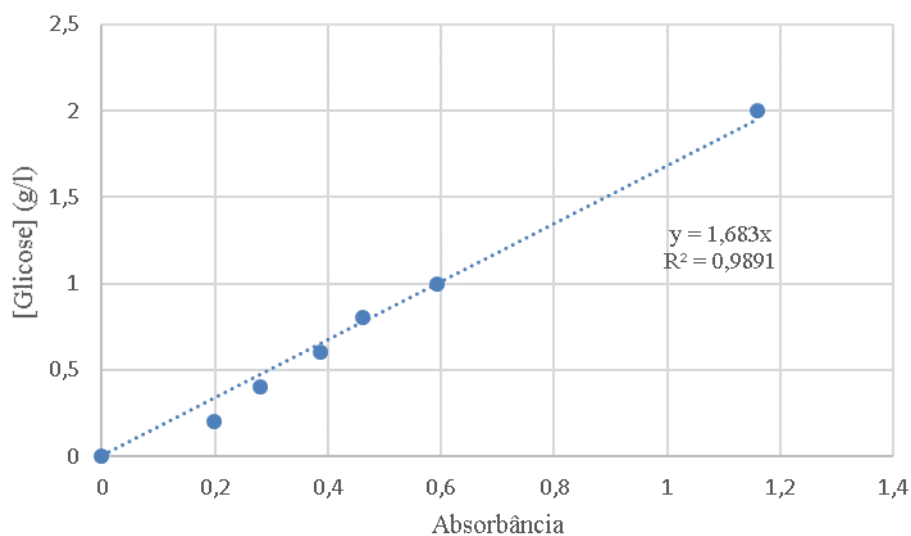
Tabela 4.6 – Valores das absorvâncias para o pré-tratamento químico

	0,5% NaOH			1% NaOH		
	Amostra 1	Amostra 2	Média	Amostra 1	Amostra 2	Média
2 horas	1,92	2,17	2,05	3,65	3,96	3,81
4 horas	2,79	2,47	2,63	4,69	5,21	4,95
6 horas	3,18	2,84	3,01	5,85	6,21	6,03
8 horas	3,53	3,28	3,41	7,00	7,75	7,38
24 horas	4,65	4,23	4,44	11,02	10,11	10,57
48 horas	4,78	4,57	4,68	11,27	12,05	11,66

Através dos dados da absorvância, é possível obter a quantidade de glicose que cada amostra gerou. Para isso, foi necessário a construção da curva padrão da glicose.

Utilizando os dados obtidos na Tabela 3.1, foi possível a construção da curva padrão da glicose e sua linearização, demonstrados na Figura 4.5.

Figura 4.5 – Curva padrão da glicose



Na Figura 4.5 é possível observar através do coeficiente de determinação (R^2) que os dados utilizados para a linearização são satisfatórios, já que este valor foi próximo de 1.

Ainda na Figura 4.5, é possível observar a equação que relaciona a concentração de glicose e a absorbância. Quando a concentração de glicose foi nula a absorbância também foi nula. Logo, pode-se concluir que a relação entre ambas é linear, ou seja desconsidera-se o coeficiente linear. O que já era esperado de acordo com a literatura. Sendo assim foi possível obter a equação da reta, $y = 1,683x$, em que y representa a concentração de glicose (g/l) e x representa a absorbância.

Com a equação da reta e as absorbâncias em mãos, é possível a determinação das concentrações de glicose obtidas experimentalmente.

Dessa forma as Tabelas 4.7 e 4.8 representam a média dos valores das concentrações da glicose, juntamente do seu desvio padrão, para os pré-tratamentos físico e químico, respectivamente.

Tabela 4.7 – Valores das concentrações de glicose em g/l para o pré-tratamento físico

	<i>Mesh 12</i>	<i>Mesh 20</i>	<i>Mesh 32</i>
2 horas	7,70 ± 0,35	6,62 ± 0,28	6,09 ± 0,29
4 horas	8,65 ± 0,22	7,49 ± 0,27	7,30 ± 0,16
6 horas	8,95 ± 0,21	8,09 ± 0,24	7,65 ± 0,09
8 horas	9,92 ± 0,03	8,89 ± 0,03	8,95 ± 0,60
24 horas	11,97 ± 0,09	10,78 ± 0,29	9,37 ± 0,43
48 horas	11,71 ± 0,03	6,96 ± 0,14	8,96 ± 1,71

Tabela 4.8 – Valores das concentrações de glicose em g/l para o pré-tratamento químico

	0,5% NaOH	1% NaOH
2 horas	3,44 ± 0,21	6,40 ± 0,26
4 horas	4,43 ± 0,27	8,33 ± 0,44
6 horas	5,07 ± 0,29	10,15 ± 0,30
8 horas	5,73 ± 0,21	12,41 ± 0,63
24 horas	7,47 ± 0,35	17,78 ± 0,77
48 horas	7,87 ± 0,18	19,62 ± 0,66

Em posse dos valores das concentrações de glicose, foi possível a construção do gráfico concentração de glicose *versus* tempo. As Figuras 4.6 e 4.7 representam essa relação para o pré-tratamento físico e para o químico, respectivamente. Esses gráficos foram construídos com os valores médios das amostras.

Figura 4.6 – Relação tempo (h) *versus* concentração de glicose (g/l) no pré-tratamento físico

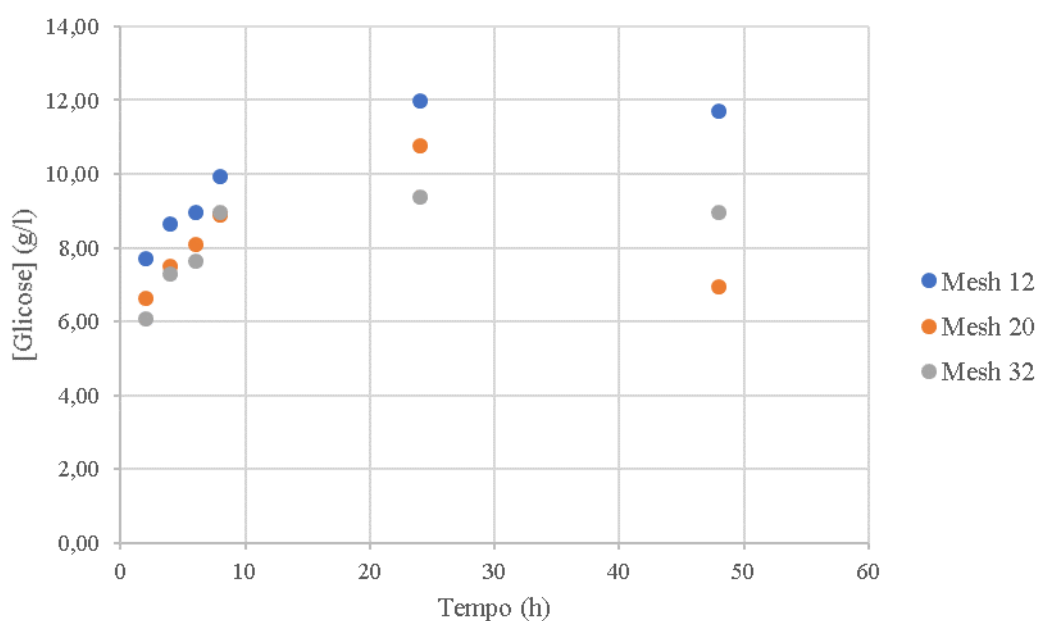
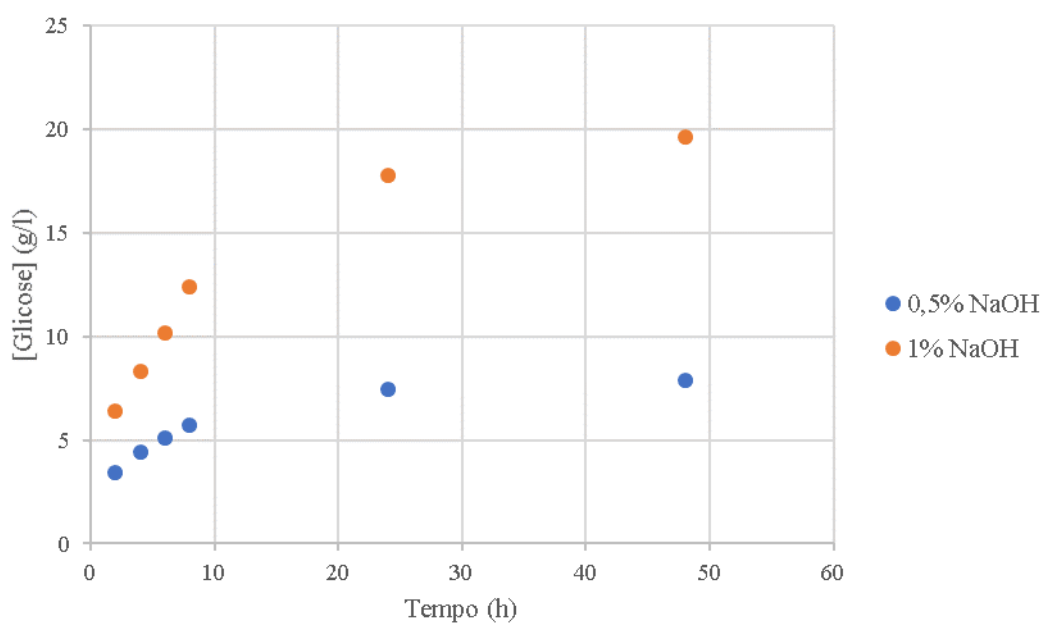


Figura 4.7 – Relação tempo (h) *versus* concentração de glicose (g/l) no pré-tratamento químico



Observa-se que o comportamento da curva concentração de glicose *versus* tempo foi o mesmo para os três casos estudados no pré-tratamento físico. Nota-se também, que o mesmo ocorreu para os dois casos do pré-tratamento químico.

Analisando os resultados obtidos com o pré-tratamento físico, através da Figura 4.6, é possível observar que a concentração de glicose teve um aumento mais significativo nas primei-

ras 2 horas, considerando que no início do experimento a concentração de glicose nas amostras era nula. Comparando os dados obtidos com 2 horas e com 8 horas de experimento, observa-se um aumento de 28,83%, 34,29% e 46,96% na concentração de glicose, para as amostras de *Mesh* 12, 20 e 32, respectivamente. Fazendo a mesma comparação dos dados com 8 horas e 24 horas de experimento, nota-se um aumento de 20,66%, 21,25% e 4,69%, para as amostras de *Mesh* 12, 20 e 32, respectivamente. Logo, conclui-se que nas primeiras 8 horas há um aumento significativo na concentração de glicose. Já com 24 horas de experimento ainda se nota um aumento, porém menor do que o anterior.

Com 24 horas, ainda no pré-tratamento físico, constatou-se que a concentração de glicose atingiu seu máximo. No fim do experimento, com as 48 horas atingidas, pode-se observar que a concentração de glicose diminuiu. O mesmo ocorreu para as 3 amostras utilizadas nesse pré-tratamento. Um fator que pode estar relacionado com a diminuição da concentração de glicose, é uma possível contaminação no meio reacional.

Um dos fatores que afetam diretamente a hidrólise é o tempo de reação, ou seja, para uma maior conversão de glicose, neste caso, o processo deveria ter sido finalizado 24 horas após o início. Portanto, para este experimento, o tempo de 48 horas poderia ser descartado.

Ainda na Figura 4.6, é possível comparar o aumento da concentração de glicose entre as 3 amostras. Observa-se que a amostra com maior diâmetro, *Mesh* 12, foi a que produziu glicose em maior quantidade desde o início do experimento, atingindo seu máximo de 11,97 g/l com 24 horas após o início. Em seguida nota-se a amostra com diâmetro médio, *Mesh* 20 e por último a amostra com menor diâmetro, *Mesh* 32.

Avaliando os resultados no pré-tratamento químico, Figura 4.7, observa-se que nas primeiras 8 horas o aumento da concentração de glicose foi quase linear. O máximo da concentração foi atingida com 48 horas, e não com 24 como o anterior. O mesmo ocorreu para ambas as amostras.

Ao contrário do que houve no pré-tratamento físico, no pré-tratamento químico não houve declínio da quantidade de glicose. Foi possível constatar que a partir de 24 horas, a concentração de glicose tende a ficar mais estável.

Na Figura 4.7, é possível comparar, as 2 amostras deste pré-tratamento. Nota-se que a amostra com 1% de NaOH produziu glicose em maior quantidade do que a amostra com 0,5% de NaOH. A maior quantidade de glicose produzida por essas amostras foi de 19,62 e 7,87 g/l, respectivamente, com 48 horas após início do experimento. Neste caso houve uma

diferença significativa na produção de glicose. A partir disso pode-se comprovar a teoria de que com a adição de alcalinos é possível remover a lignina e hemicelulose, sem degradar a cadeia celulósica, podendo assim obter maiores concentrações de glicose.

Comparando ambos os experimentos, constata-se que entre as amostras do *Mesh* 12 e com 1% de NaOH, até as 4 horas iniciais, a primeira amostra foi a que produziu glicose em maior quantidade. Porém a partir desse tempo até o final do experimento, a segunda amostra apresentou um melhor resultado, com uma maior concentração de glicose. Comparando-se as concentrações finais com as concentrações da primeira aferição, nota-se que as amostras com *Mesh* 12 e 1% de NaOH, tiveram um aumento de 52,07% e 206,56%, respectivamente. Ou seja, o pré-tratamento químico adicionando 1% de NaOH na casaca de café foi o mais eficaz.

A alta concentração de glicose encontrada na amostra com 1% de NaOH, pode ser explicada devido ao inchaço e aumento da superfície interna da celulose, e conseqüentemente o rompimento da lignina, que este tipo de pré-tratamento provoca. Com o rompimento dessa barreira física, pôde-se concluir que na etapa de hidrólise houve uma maior degradação da celulose, e conseqüentemente maior conversão de glicose.

O resultado encontrado neste trabalho condiz com a literatura. Enquanto os pré-tratamentos químicos aumentam a digestibilidade da biomassa e tornam a celulose mais acessível às enzimas os pré-tratamentos físicos são relativamente ineficientes no aumento da digestibilidade da biomassa. Portanto, a utilização do pré-tratamento químico é melhor, quando comparado ao pré-tratamento físico.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A escolha do pré-tratamento a ser utilizado na biomassa lignocelulósica está diretamente relacionada com uma maior conversão do bioetanol. A casca de café foi a biomassa escolhida para a realização deste trabalho. O grande volume de resíduos gerados e a composição estrutural, foram alguns dos motivos que levaram a essa escolha.

Dois pré-tratamentos foram escolhidos para estudo, o físico e o químico. No pré-tratamento físico, a amostra de *Mesh* 12, obteve a maior concentração de glicose, com 11,97 g/l, após 24 horas do início do experimento. Já para o pré-tratamento químico, a amostra com 1% NaOH, apresentou sua conversão máxima, de 19,62 g/l com 48 horas de experimento. Portanto, o segundo pré-tratamento foi o que obteve maior conversão de glicose.

Avaliando os resultados obtidos neste trabalho, foi possível constatar que, realizando-se pré-tratamentos adequados na casca de café, é possível produzir altas concentrações de glicose através da hidrólise enzimática da biomassa, para posterior produção de bioetanol. Porém, para verificar a possibilidade da produção em larga escala, faz-se necessário estudos adicionais, principalmente quanto a viabilidade econômica.

Dessa forma, diante da necessidade mundial em encontrar fontes de energia que sejam renováveis e que consigam suprir a grande demanda energética, substituindo assim, as fontes já existentes, a casca de café pode se tornar uma das alternativas com grande potencial.

REFERÊNCIAS

- AAT BIOQUEST. **Citrate Buffer (pH 3.0 to 6.2) Preparation and Recipe**. [S.l.], 2020. Disponível em: <<https://www.aatbio.com/resources/buffer-preparations-and-recipes/citrate-buffer-ph-3-to-6-2>>. Acesso em: 2 mar. 2020.
- ABRIL, D.; ABRIL, A. **Ethanol from Lignocellulosic Biomass**. Santiago: Ciencia e investigación agraria, 2009.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA. **Atlas de Energia Elétrica do Brasil**. 3. ed. Brasília, 2008. Disponível em: <http://www2.aneel.gov.br/arquivos/pdf/atlas_par2_cap4.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2020.
- ALVES, R. E. **Caracterização de Fibras Lignocelulósicas Pré-Tratadas por Meio de Técnicas Espectroscópicas e Microscópicas Ópticas de Alta Resolução**. São Carlos: Universidade de São Paulo, 2011.
- BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL (BRASIL). **Bioetanol de Cana-de-Açúcar: Energia para o desenvolvimento sustentável**. 1. ed. Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: <<https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/handle/1408/2002>>. Acesso em: 27 mai. 2020.
- BERTEL INDÚSTRIA METALÚRGICA LTDA. **Tabela de Abertura ABNT/ ASTM/TYLER**. [S.l.], 2020. Disponível em: <<http://www.bertel.com.br/peneira.html>>. Acesso em: 2 mar. 2020.
- BRASIL. **Lei Nº 9.478, de 6 de Agosto de 1997**. Brasília, 1997. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9478.htm>. Acesso em: 28 mai. 2020.
- CANASSA, T. A.; LAMONATO, A. L.; RIBEIRO, A. V. **Utilização da Lei de Lambert-Beer para Determinação da Concentração de Soluções**. Campo Grande: Journal of Experimental Techniques and Instrumentation, v.1, n.2, 2018.
- CANILHA, L. et al. **Bioconversion of Sugarcane Biomass into Ethanol: An overview about composition, pretreatment methods, detoxification of hydrolysates, enzymatic saccharification, and ethanol fermentation**. London: Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2012.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Café, v. 6: Safra 2020, n. 1- primeiro levantamento**. Brasília, 2020. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>>. Acesso em: 27 mai. 2020.
- CONSELHO DOS EXPORTADORES DE CAFÉ NO BRASIL. **Relatório Mensal Abril 2020**. São Paulo, 2020. Disponível em: <http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/informe_estatistico/CECAFE_Relatorio_Mensal_ABRIL_2020.pdf>. Acesso em: 22 mai. 2020.
- CONSELHO DOS EXPORTADORES DE CAFÉ NO BRASIL. **Sobre o Café: Produção**. São Paulo, 2020. Disponível em: <<https://www.cecafe.com.br/sobre-o-cafe/producao/>>. Acesso em: 27 mai. 2020.
- COSTA, E. C. da. **Secagem Industrial**. 1. ed. São Paulo: Editora Blucher, 2007.
- CREMASCO, M. A. **Operações Unitárias em Sistemas Particulados e Fluidomecânicos**. 2. ed. São Paulo: Editora Blucher, 2014.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sumário do Café:** Em quase 2 milhões de ha brasil produz 60 milhões de sacas. Brasília, 2020. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/51524631/sumario-do-cafe-em-quase-2-milhoes-de-ha-brasil-produz-60-milhoes--de-sacas#:~:text=crescido%20apenas%204%25.-,Se%20for%20estabelecido%20um%20ranking%20da%20%C3%A1rea%20ocupada%20em%20produ%C3%A7%C3%A3o,aproximadamente%2055%25%20da%20%C3%A1rea%20em>>. Acesso em: 07 jun. 2020.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. **Matriz Energética e Elétrica.** Brasília, 2016. Disponível em: <<https://www.epe.gov.br/pt/abcdenergia/matriz-energetica-e-eletrica>>. Acesso em: 22 mai. 2020.

FARINA, E.; RODRIGUES, L.; SOUSA, E. de. **A política de Petróleo e a Indústria de Etanol no Brasil.** São Paulo: Revista Interesse Nacional, Ano 6, nº 22, 2013.

FERREIRA, A. D. **Produção Eficiente de Etanol 2G a Partir de Hidrolisado Hemicelulósico de Bagaço de Cana-de-Açúcar:** Otimizando condições de cultivo operacionais. Lorena: Universidade de São Paulo, 2016.

FILHO, J. A. R.; VITOLLO, M. **Guia para Aulas Práticas de Biotecnologia de Enzimas e Fermentação.** 1. ed. São Paulo: Editora Blucher, 2017.

FOUST, A. S. et al. **Princípios das Operações Unitárias.** 2. ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 1982.

GALANTE, F.; ARAÚJO, M. V. F. de. **Princípios da Bioquímica.** 1. ed. São Paulo: Editora Rideel, 2018.

KOHLHEPP, G. **Análise da Situação da Produção de Etanol e Biodiesel no Brasil.** São Paulo: Revista Estudos Avançados, v 24, nº 68, 2010.

LOPES, E. P. B. **Desenvolvimento de Protocolo de Tratamento de Resíduos de DNS.** Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2018.

LUCARINI, A. C. et al. **Estudo da Hidrólise Enzimática na Palha da Cana-de-Açúcar para Produção de Etanol de Segunda Geração.** São Paulo: The Journal of Engineering and Exact Sciences - JCEC - V 03, nº 02, 2017.

MALDONADE, I. R.; CARVALHO, P. G. B.; FERREIRA, N. A. **Protocolo Para Determinação de Açúcares Totais em Hortaliças Pelo Método de DNS.** Brasília: Embrapa Hortaliças, 2013.

MARTINS, A. L. **História do Café.** 2. ed. São Paulo: Editora Contexto, 2012.

MCCABE, W. L.; SMITH, J. C.; HARRIOTT, P. **Unit Operations in Chemical Engineering.** 7. ed. New York: McGraw-Hill, 2004.

MEDEIROS, S. S. **Fermentação Alcoólica Empregando Altas Concentrações de Açúcares.** Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2019.

MENEZES, E. G. T. **Produção de Etanol Utilizando Resíduos do Processamento Úmido do Café.** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Exportação de Café Deve Bater Novo Recorde em 2020, Projeta Setor**. Brasília, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/pt-br/noticias/financas-impostos-e-gestao-publica/2020/01/exportacao-de-cafe-deve-bater-novo-recorde-em-2020-projeta-setor>>. Acesso em: 27 mai. 2020.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **Programa RenovaBio**. Brasília, 2019. Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/web/guest/secretarias/petroleo-gas-natural-e-biocombustiveis/acoes-e-programas/programas/renovabio>>. Acesso em: 28 mai. 2020.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **Resenha Energética Brasileira**. Brasília, 2019. Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/documents/36208/948169/Resenha+Ener%C3%A9tica+Brasileira+-+edi%C3%A7%C3%A3o+2019+v3.pdf/92ed2633-e412-d064-6ae1-eefac950168b>>. Acesso em: 12 mar. 2020.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **Plano Decenal de Expansão de Energia 2029**. Brasília, 2020. Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/documents/36208/461966/01+-+Plano+Decenal+de+Expans%C3%A3o+de+Energia+-+PDE+2029/f7e40439-22c9-da5d-bd4d-1ce68f567ef2>>. Acesso em: 22 jun. 2020.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Protocolo de Quioto**. Brasília, 2020. Disponível em: <<https://www.mma.gov.br/clima/convencao-das-nacoes-unidas/protocolo-de-quioto.html>>. Acesso em: 13 ago. 2020.

MONTES, A. C. R. **Avaliação do Processo de Obtenção de Etano de 2ª Geração Utilizando Bagaço de Cana**. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2017.

MORAN, L. A. et al. **Bioquímica**. 5. ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil Ltda., 2013.

NASCIMENTO, V. M. **Pré-Tratamento Alcalino (NaOH) do Bagaço de Cana-de-Açúcar Para a Produção de Etanol e Obtenção de Xilooligômeros**. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2011.

NEVES, L. C. M. das. **Obtenção da Enzima Glicose 6-Fosfato Desidrogenase Utilizando Saccharomyces Cerevisiae W303-181**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2003.

OGEDA, T. L. **Hidrólise Enzimática de Celuloses Pré-Tratadas**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2011.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. **Hidrólise Enzimática de Biomassa**. São Paulo: Química Nova, v 33, nº 7, 2010.

PITARELO, A. P. **Avaliação da Susceptibilidade do Bagaço e da Palha de Cana-de-Açúcar à Bioconversão via Pré-Tratamento a Vapor e Hidrólise Enzimática**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2007.

RABELO, S. C. **Avaliação de Desempenho do Pré-Tratamento com Peróxido de Hidrogênio Alcalino para a Hidrólise Enzimática de Bagaço de Cana-de-Açúcar**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2007.

RIAÑO, A. M. S. et al. **Producción de Bioetanol a Partir de Subproductos Agroindustriales Lignocelulósicos**. Ibagué: Revista Tumbaga, 2010.

- RIBEIRO, M. J. P.; ABRANTES, J. C. C. **Moagem em Moinho de Bolas**: Estudo de algumas variáveis e otimização energética do processo. São Paulo: Cerâmica Industrial, v 6, 2001.
- ROSA, S. E. S. da; GARCIA, J. L. F. **O etanol de Segunda Geração**: Limites e oportunidades. Rio de Janeiro: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social, 2009.
- SAMPAIO, J. A.; FRANÇA, S. C. A.; BRAGA, P. F. A. **Tratamento de Minérios**: Práticas laboratoriais. 1. ed. Rio de Janeiro: Centro de Tecnologia Mineral Ministério da Ciência e Tecnologia, 2007.
- SANTOS, A. A. dos et al. **Dosagem de Açúcares Redutores com o Reativo DNS em Microplaca**. Campinas: Brazilian Journal of Food Technology, v 20, 2017.
- SANTOS, F. A. et al. **Potencial da Palha de Cana-de-Açúcar para Produção de Etanol**. São Paulo: Química Nova, v 35, nº 5, 2012.
- SANTOS, L. C. dos. **Tratamento Oxidativo de Cascas de Café com Ozônio com Vistas à Produção de Biogás e Etanol 2G**. Ouro Preto: Universidade Federal de Ouro Preto, 2017.
- SILVA, D. A. da et al. **A influência da Umidade em Propriedades Mecânicas de Briquetes Produzidos com Resíduos de Madeira (Eucalyptus sp. e Pinus sp.)**. Niterói: Revista Virtual de Química, v 9, nº 3, 2017.
- SILVA, J. de Souza e. **Secagem e Armazenagem do Café**: Tecnologias e custos. 1. ed. Viçosa: Jard Editora, 2001.
- SILVA, L. D. **Estudo da Hidrólise Enzimática em Alta Consistência de Materiais Ligno-lulósicos**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2012.
- SILVA, N. C. S. **Avaliação do Pré-tratamento Hidrotérmico da Casca de Café na Hidrólise Enzimática e Produção de Biogás**. Ouro Preto: Universidade Federal de Ouro Preto, 2019.
- SOUZA, O. et al. **Energia Alternativa de Biomassa**: Bioetanol a partir da casca e da polpa de banana. Campina Grande: Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental, v 16, 2012.
- VASCONCELOS, N. M. de; PINTO, G. A. S.; ARAGÃO, F. A. de S. **Determinação de Açúcares Redutores pelo Ácido 3,5-Dinitrosalicílico**: Histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013.
- VÁSQUEZ, M. P. **Desenvolvimento de Processo de Hidrólise Enzimática e Fermentação de Simultâneas para a Produção de Etanol a Partir de Bagaço de Cana-de-Açúcar**. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007.