

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENERGIA DA BIOMASSA

Glauco Yves Gomes dos Santos Rocha

HIDROLISE ÁCIDA DO ALBEDO DE LARANJA LIMA

Rio Largo-AL

2016

GLAUCO YVES GOMES DOS SANTOS ROCHA

HIDROLISE ÁCIDA DO ALBEDO DE LARANJA LIMA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Energia da Biomassa do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Energia da Biomassa.

Orientador: Prof. Dr. José Teodorico Araújo  
Filho

Rio Largo- AL

2016

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho aos meus pais, pilares fundamentais de minha vida, aos meus irmãos, minha esposa e meus filhos.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, que, incomparável e inconfundível na sua infinita bondade, compreendeu nossos anseios e nos deu a necessária coragem para atingir nosso objetivo.

À Universidade Federal de Alagoas, em especial ao Centro de Ciências Agrárias, pela oportunidade de fazer parte da primeira turma da pós-graduação de Energia da Biomassa.

Ao meu orientador, Professor Doutor José Teodorico Araújo Filho, pela sua amizade, paciência, argúcia e, principalmente, pelas orientações do trabalho, ensinamentos e pela sua contribuição como professor.

Aos Professores Doutores Rosa Cavalcante Lira e Paulo Vanderlei Ferreira e, o mestrando Islan Diego Espindula de Carvalho todos do Centro de Ciências Agrárias, pela contribuição e boa vontade no auxílio metodológico e estatístico desse trabalho.

Ao Laboratório da Central Analítica LTDA e o Laboratório Industrial Bioflex 01 da GRANBIO pelo apoio na realização das análises através do Engenheiro Agrônomo Jener Batista de Oliveira, Engenheiro Químico Jamison Gonçalves da Silva e Robério Cavalcante.

A Cooperativa dos Produtores de Laranja Lima de Santana do Mundaú – COOPLAL, que acreditou na pesquisa, na busca do empreendedorismo e na solução do problema do resíduo industrial pródigo do suco de laranja lima.

Aos meus familiares, pela compreensão, paciência e pelas mais belas e sinceras palavras ditas neste momento, as quais serão insuficientes para traduzir o meu amor por vocês.

Aos meus amigos que compartilharam comigo durante o mestrado, um espaço de saudáveis discussões, amizade e aprendizagem.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação.

*"Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina."*

*Cora Carolina*

*"Um pouco de ciência nos afasta de Deus.*

*Muito, nos aproxima."*

*Louis Pasteur*

## RESUMO

Tendo o Estado de Alagoas como o terceiro maior produtor de citrus da região Nordeste do Brasil, cultivando especificamente Laranja Lima, sendo de fundamental importância o estudo do hidrolisado do albedo de Laranja Lima para o planejamento da produção de bioetanol. A caracterização do albedo da Laranja Lima da indústria de suco da Cooplat do município de Santana do Mundaú, foi realizado no Laboratório Industrial Bioflex 01 da GRANBIO. Para o processo de hidrólise da biomassa foram utilizados os ácidos: clorídrico, nítrico, fosfórico e sulfúrico com concentrações de 0,5 e 1,0% e períodos de 30, 60, 90 e 120 minutos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado no esquema fatorial de 4 x 2 x 4, com três repetições. As comparações das médias de tipos de ácidos dentro das concentrações e dentro dos períodos de avaliação foram feitas através pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A hidrólise com o ácido sulfúrico obteve os melhores resultados para todas variáveis estudados. Conclui-se que o processo de hidrólise torna os açúcares fermentescíveis da celulose e hemicelulose disponíveis para o processo fermentativo.

**Palavras chave:** fermentescíveis, biomassa, bioetanol, citrus, pré-tratamento.

## ABSTRACT

With the State of Alagoas as the third largest citrus producer in the Northeast region of Brazil, specifically cultivating Laranja Lima, being of fundamental importance the study of the hydrolyzate of Laranja Lima albedo for the planning of bioethanol production. The characterization of the Lima Orange albedo from the Cooplal juice industry of the municipality of Santana do Mundaú was carried out at the Bioflex 01 Industrial Laboratory of GRANBIO. For the hydrolysis process of the biomass were used the acids: hydrochloric, nitric, phosphoric and sulfuric with concentrations of 0.5 and 1.0% and periods of 30, 60, 90 and 120 minutes. The experimental design was completely randomized in the 4 x 2 x 4 factorial scheme, with three replications. Comparisons of the acid type averages within the concentrations and within the evaluation periods were done through the Tukey test at 5% probability. The hydrolysis with sulfuric acid obtained the best results for all variables studied. It is concluded that the hydrolysis process makes fermentable sugars of cellulose and hemicellulose available for the fermentation process.

**Keywords:** fermentable, biomass, bioethanol, citrus, pre-treatment.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Análise da variância dos efeitos de tipos de ácidos, concentrações e períodos de avaliação em albedo de Laranja Lima em relação às seguintes variáveis: açúcar redutor (AR), açúcar redutor total (ART), Brix e recuperação da matéria seca (RMS).....	19
<b>Tabela 2.</b> Efeito de tipos de ácidos dentro de cada concentração no albedo de Laranja Lima em relação ao açúcar redutor (%)......	20
<b>Tabela 3.</b> Efeito de tipos de ácidos dentro de cada período de avaliação no albedo de Laranja Lima em relação ao açúcar redutor (%)......	21
<b>Tabela 4.</b> Efeito de tipos de ácidos dentro de cada concentração no albedo de Laranja Lima em relação açúcar redutor total (%)......	21
<b>Tabela 5.</b> Efeito de tipos de ácidos dentro de cada período de avaliação no albedo de Laranja Lima em relação ao açúcar redutor total.....	22
<b>Tabela 6.</b> Efeito de tipos de ácidos dentro de cada concentração no albedo de Laranja Lima em relação Brix (%)......	23
<b>Tabela 7.</b> Efeito de tipos de ácidos dentro de cada período de avaliação no albedo de Laranja Lima em relação Brix (%)......	24
<b>Tabela 8.</b> Valores médios dos períodos de avaliação da recuperação da matéria seca em albedo da Laranja Lima.....	24
<b>Tabela 9.</b> Efeito de tipos de ácidos dentro de cada concentração no albedo de Laranja Lima em relação recuperação da matéria seca.....	25



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1. Citricultura no Brasil.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2. Alternativas para o reaproveitamento dos resíduos para o desenvolvimento sustentável.....</b>	<b>12</b>
<b>2.3. Etanol de Segunda Geração como Alternativa.....</b>	<b>13</b>
<b>2.4. Os Métodos de Tratamentos da Biomassa.....</b>	<b>15</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>17</b>
<b>3.1. Delineamento estatístico.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2. Tratamentos.....</b>	<b>18</b>
<b>3.2.1. Tratamento ácido.....</b>	<b>18</b>
<b>3.2.2. Tratamento térmico.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3. Pré-tratamento do albedo da laranja lima.....</b>	<b>18</b>
<b>3.4. Determinação de ácidos e carboidratos por cromatografia.....</b>	<b>18</b>
<b>4. Procedimentos Estatísticos.....</b>	<b>18</b>
<b>4. RESULTADOS E DICUSSÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>27</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>28</b>

## 1- INTRODUÇÃO

A biomassa do albedo de Laranja Lima aliada com a preocupação com o esgotamento dos combustíveis fósseis com o foco no desenvolvimento sustentável tem despertado a necessidade de pesquisas para síntese de biocombustíveis. Nessa perspectiva, os resíduos de biomassa agrícola e industrial vêm apresentando um papel de destaque no Brasil na geração de bioenergia associado às tecnologias de energia avançadas no país, as biorrefinarias (FERREIRA, 2012).

No Brasil o etanol de primeira geração é uma fonte de energia produzida através de açúcares providos da cana de açúcar, é considerado como boa alternativa para substituir o petróleo sendo um combustível limpo e renovável (BAI et al., 2008; ALMEIDA & SILVA, 2006).

Embora no Brasil a produção de etanol provenha da fermentação da sacarose como substrato, há o interesse em várias outras fontes de carbono como o amido, principal fonte de carbono na produção de etanol nos EUA. As novas fontes de carboidratos, em nosso país, são motivos de diferentes pesquisas e, investimento do setor agroindustrial produtor de etanol. Atualmente, grande parte desse interesse está voltada para o etanol de segunda geração, obtido a partir da quebra da celulose através do pré-tratamento hidrolítico, transformada em monossacarídeos para o processo fermentativo transformar açúcares em álcool (EMBRAPA, 2011).

O processo hidrolítico pode ser realizado por rotas químicas e biológicas, sendo que atualmente tem-se dado preferência para as rotas enzimáticas, pois o custo de hidrólise e as restrições provenientes da formação de subprodutos capazes de inibir as etapas de fermentação que seguem a hidrólise reduzem o interesse na rota química (KANG et al., 2004). Para o processo fermentativo os monossacarídeos, glicose e frutose são açúcares redutores por possuírem grupo carbonílico e cetônico livres, capazes de se oxidarem na presença de agentes oxidantes em soluções alcalinas. Os dissacarídeos que não possuem essa característica sem sofrerem hidrólise da ligação glicosídica são denominados de açúcares não redutores. A análise desses açúcares é uma atividade rotineira nos laboratórios das indústrias alimentícias, nas quais se pode observar certa carência, no que se refere a técnicas padronizadas para análises.

Para obtenção do teor de açúcares redutores e açúcares redutores totais em alimentos, existem vários métodos químicos não seletivos que fornecem resultados, com elevado grau de confiabilidade, quando utilizados corretamente após eliminação de interferentes (BORGES et

al., 1987). Outros métodos mais seletivos vêm sendo estudados e aplicados em menor escala como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), que identifica uma maior variedade de carboidratos na amostra, por ser mais sensível, além de possuir um tempo de análise pequeno (CANOA & ALMEIDA-MURADIAN, 1998).

O objetivo dessa pesquisa foi avaliar o potencial energético da biomassa através da hidrólise ácida do albedo de laranja lima submetido a diferentes tratamentos ácidos, concentrações e períodos para determinação dos açúcares e a recuperação da massa seca.

## **2- REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Citricultura no Brasil**

A citricultura do Brasil, a partir de 1962, passou a preencher lacunas deixadas pelo mercado americano. Onde o estado de São Paulo com cerca de 87% de sua produção, provida de pequenos produtores, que vendem sua produção as grandes empresas que lideram a comercialização no setor, teve o maior destaque na exportação de suco concentrado para o mercado americano.

O setor de cítrico do Brasil, ao lado dos Estados Unidos, é responsável por 90% da produção de suco de laranja comercializada mundialmente. Sendo o estado de São Paulo responsável por 81,8% da produção nacional (IBGE, 2013), estando vinculado diretamente ao mercado mundial, gerando um montante de 1,5 bilhão a 2,5 bilhões de dólares anualmente (Neves, 2010).

Segundo o IBGE (2013), a área plantada foi de 717 hectares no Brasil, com uma produção de 16 bilhões de toneladas de laranjas. A região Sudeste com 570 hectares plantados e a região Nordeste com 147 hectares plantados, embora a cultura esteja presente em todas as regiões brasileiras. O Sudeste é responsável por cerca de 81,8% da produção nacional, destacam-se os Estados de Minas Gerais com 816.875 toneladas colhidas e São Paulo com aproximadamente 11 milhões de toneladas produzidas (IBGE, 2013). Na região nordestina, destacam-se os Estados da Bahia com área plantada de aproximadamente 63,13 mil hectares e produção de 996 mil toneladas, Sergipe com cerca de 52 mil hectares de área plantada e produção de 628 mil toneladas, o Estado de Alagoas é o terceiro maior produtor de citros desta região, com 4 mil hectares de área plantada e 47 mil toneladas anuais, proporcionando uma renda anual de R\$168 milhões (SEBRAE/AL, 2011; SEPLANDE, 2011; IBGE, 2014).

A citricultura no Estado de Alagoas tem como destaque principal a produção de [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], sendo o Estado o principal produtor desta variedade no Nordeste e provavelmente no Brasil (ALMEIDA et al., 2011). Com parque citrícola situado na Vale do Mundaú: em junho de 2002 foi constituída a Cooperativa dos Produtores de Laranja Lima – COOPLAL que atualmente possui 150 cooperados e mais de 2000 associados produzindo laranja lima para a produção de suco de laranja lima congelado, através da cooperativa que possui uma unidade industrial de suco esmagadora de laranja, com uma capacidade de esmagamento para 500 litros diários, onde gera 100kg de resíduo (albedo de laranja lima). Esta quantidade de suco é congelada e, a comercialização do mesmo é feita para prefeitura que os utiliza no Programa Nacional de Aquisição da Merenda Escolar - PNAE, como também há venda para Programas de Aquisição de Alimento - PAA do governo do Estado.

## **2.2. Alternativas para o reaproveitamento dos resíduos para o desenvolvimento sustentável**

A utilização de resíduos, visando à utilização, recuperação, transformação e reciclagem são procedimentos de minimização e prevenção da poluição por não atuar na fonte dos resíduos, no processo, da produção de matérias-primas ao produto. A valorização de resíduos envolve técnicas de processamento que conduzem à sua minimização de descarte no meio ambiente. Conforme Giroto (2001) embora seja medida corretiva, ela constitui-se em auxiliar importante às tecnologias limpas.

Os resíduos além de criar potenciais problemas ambientais, representam perdas de matérias-primas e energia, pois podem conter substâncias de alto valor, e com a técnica adequada, este material pode ser convertido em produtos comerciais ou matérias-primas para processos secundários (PELIZER, PONTIERI & MORAESI, 2007).

As conversões dos resíduos agrícolas e industriais estão recebendo crescente atenção, segundo Pinto et al. (2005), uma vez que essas matérias residuais representam um preciso material para possíveis reutilização para a síntese de novos produtos.

Nas indústrias de processamento de frutas são produzidos dois tipos de resíduos: sólido e líquido. Em algumas frutas, a porção desprezada pode ser elevada, como na manga (30-50 %), banana (20 %), abacaxi (40-50 %) e laranja (30-50 %). Apresentado-se como um grave problema no destino final dos resíduos seja ele líquido ou sólido, que podem conduzir a outras consequências se não adequadamente gerenciados (ITDG, 2006).

A agroindústria de suco de laranja produz diariamente como subproduto o bagaço de laranja, que compreende 42% do total da fruta (casca, sementes e porção tegumentar), com valor nutricional para produção animal semelhante aos grãos na quantidade de proteína, fibras e carboidratos (ÍTAVO et al., 1998), tendo boa digestibilidade atribuída especialmente ao seu alto teor de carboidratos solúveis e pectina (PERES, 1997). Para a fabricação de suco de laranja concentrado, são necessários 100 kg de laranja para produzi 55 kg de suco simples e os 45 kg restantes são os resíduos do processo constituídos de laranjas descartadas, casca, semente, borra de extração de óleo essencial, polpa lavada, que podem ser denominados, genericamente de "bagaço".

O albedo de laranja produzido em diferentes regiões e safras pode variar consideravelmente quanto à composição química, à palatabilidade e ao valor nutritivo (BRANCO et al., 1994). As formas diferentes nos processos de desidratação, fontes e variedades das frutas e o tipo de operação pelo qual o resíduo da fruta é obtido podem resultar em variações no conteúdo de nutrientes do subproduto final (AMMERMAN & HENRY, 1991), além da extração ou não dos óleos essenciais. A prática de desidratar o bagaço de laranja é comum nas grandes empresas esmagadoras, tendo como produto comercial o albedo de laranja desidratado e peletizado, erroneamente denominado "polpa de citrus". Devido ao alto custo de energia, muitas vezes esta tecnologia se torna antieconômica. A ensilagem é outro método de conservação utilizada, porém, devido às perdas inerentes ao processo, faz-se necessário rever esta tecnologia de conservação, quando focada na base econômica do processo.

Conforme o CONAMA (2007), "Resíduos nos estados sólido e semi-sólido, que resultam de atividades da comunidade de origem: industrial, doméstica, hospitalar, comercial, agrícola, de serviços e de varrição, ficando incluídos nesta definição os lodos provenientes de sistemas de tratamento de água, aqueles gerados em equipamentos e instalações de controle de poluição, bem como determinados líquidos cujas particularidades tornem inviável seu lançamento na rede pública de esgotos ou corpos d'água, ou exijam para isso soluções técnicas e economicamente inviáveis, em face à melhor tecnologia disponível".

Deste modo, o termo sólido não se refere necessariamente ao estado em que se encontra o material, visto que substâncias líquidas podem ser incluídas nesse grupo. De acordo com a ANVISA (2006) o gerenciamento de resíduos sólidos deveria compreender as etapas de segregação, acondicionamento, coleta, armazenamento, transporte, tratamento e disposição final.

### **2.3. Etanol de Segunda Geração como Alternativa**

O etanol obtido do mosto fermentado do esmagamento da cana-de-açúcar é, até o momento, o único combustível com capacidade de atender à crescente demanda mundial por energia renovável de baixo custo e de baixo poder poluente. Considerando que as emissões gasosas com a queima do etanol são da ordem de 60% menores se comparadas às emissões da queima da gasolina, sendo ainda que o do CO<sub>2</sub> emitido é reabsorvido pela própria cana segundo Felipe (2010).

No Brasil o etanol produzido provem da cana-de-açúcar, já nos Estados Unidos do milho e na França da beterraba, entretanto, conforme Zheng, et al. (2009) há um grande esforço da comunidade científica para o desenvolvimento de novos processos economicamente viáveis para o aproveitamento da componente lignocelulósica da biomassa, caso dos resíduos agrícolas, resíduos industriais e resíduos florestais.

O mais abundante recurso biológico renovável da terra é a biomassa lignocelulósica (ZHANG & LYND, 2004), conforme Reddy & Yang (2005) os Estados Unidos têm potencial para produzir mais de 1,3 bilhões de toneladas de biomassa por ano, segundo Zhang (2008) um bilhão de toneladas de biomassa produz entre 80-130 bilhões de galões de etanol celulósico. Todavia, para obter biorrefinarias eficientes que sejam economicamente viáveis e sustentáveis é necessário utilizar tecnologias eficientemente para utilização de todas as frações das matérias-primas, especialmente, a celulose, hemicelulose e lignina (GALBE, 2010).

Entre os diferentes tipos de biomassas lignocelulósicas a palha apresenta grande potencial para geração de calor, eletricidade e produção de etanol celulósico. O aproveitamento da palha deverá ocupar um lugar de destaque como matéria-prima para a produção de bioetanol. De acordo com Das, et al. (2004) uma tonelada de palha equivale a algo entre 1,2 a 2,8 equivalentes barris de petróleo, logo a não utilização dessa biomassa significa desperdício energético, prejuízo financeiro.

A tecnologia de conversão de biomassa lignocelulósica em açúcares fermentáveis para a produção de bioetanol vem sendo considerada como uma alternativa promissora para atender à demanda mundial por combustíveis. Conforme Zhao (2008), apesar de já existirem tecnologias disponíveis para o processamento da celulose, a maioria esbarra em dificuldades técnicas ou econômicas. A palha de cana que é fortemente recalcitrante, devido à forte ligação existente entre a celulose, hemicelulose e lignina. Nesse processo é necessário submeter o material a várias etapas de processamento: pré-tratamento, hidrólise, fermentação e destilação.

Logo conforme Silva (2010) os processos de pré-tratamento de materiais lignocelulósicos podem ser térmicos, químicos, físicos, biológicos ou uma combinação de todos esses, o que dependerá do grau de separação requerido e do fim proposto.

Para se fabricar etanol a partir de fontes lignocelulosicas como o bagaço da cana e bagaço de citros devem ser prensados dentro de um reator e submetidos à solução ácida que quebra a estrutura da fibra. No processo, a hemicelulose será decomposta em açúcares que ficam em um resíduo líquido. Este passará por uma etapa de fermentação, em que microrganismos usarão os açúcares para produzir o bioetanol.

Todavia, a lignina presente no resíduo sólido do pré-tratamento do bagaço será retirada, e o material, rico em celulose, receberá enzimas que quebrarão o composto em açúcares, que também seguirá para fermentação. A etapa final será a destilação, ou seja, a recuperação e purificação do etanol, conforme Bezerra (2007) tudo será aproveitado.

Porém se tem muito interesse nas rotas biológicas, há a necessidade dos processos físicos e químicos destinados à preparação da matéria prima para hidrólise enzimática. A preparação da matéria prima antes da fermentação é feita de várias formas que envolvem etapas como: 1) prévio tratamento destinado a separar a celulose, hemicelulose e lignina ou hidrolisar parcialmente a mistura destes componentes; 2) uma possível separação da celulose insolúvel da mistura líquida lignina e hemicelulose; 3) uso de um conjunto de enzimas capazes de hidrolisar a celulose e hidrolisar os produtos da hidrólise da celulose; 4) fermentação da celulose tratada e hidrolisada (KAPDAN & KARGI 2006).

#### **2.4. Os Métodos de Tratamentos da Biomassa**

Na produção de combustível de segunda geração, o processo mais desafiador é o pré-tratamento da biomassa. Os métodos para o pré-tratamento referem-se à solubilização e a separação de um ou mais componentes dessa biomassa. Devido à natureza cristalina da celulose, a barreira física formada por ligninas ao redor das fibras celulósicas e a presença de complexas interações entre hemicelulose e celulose presentes nas paredes celulares dos vegetais, o pré-tratamento desse material representa uma etapa imprescindível na rota de produção, pois objetiva separar a matriz de lignina, reduzir a cristalinidade da celulose, aumentar a fração amorfa da mesma e solubilizar a hemicelulose, separando o hidrolisado da celulose para que o mesmo fique mais acessível às hidrólises biológicas e químicas (SARKAR et al., 2012).

A eficácia do pré-tratamento visa diminuir o grau de polimerização das moléculas de celulose, de forma que se tornem acessíveis ao processo de hidrólise, evitar formação de

subprodutos inibidores dos processos de hidrólise e fermentação e, principalmente, ser economicamente viável. Segundo Zhang et al. (2004), o pré-tratamento é uma das mais urgentes prioridades para que a rota de processamento de etanol de segunda geração produza um combustível competitivo com o mercado. Conforme Barreto (2009) nos dias atuais existe diversos métodos de pré-tratamento, que podem ser físicos, químicos ou físico-químicos.

Os pré-tratamentos físicos podem ser classificados em: redução mecânica e microondas. Onde o pré-tratamento de redução mecânica é baseado na redução do tamanho da partícula através de moagem, aumentando o desempenho da enzima pelo aumento da área superficial e, em alguns casos, pela redução do grau de polimerização e cristalinidade da celulose (OGEDA et. al., 2010). Os requisitos de energia para trituração mecânica de materiais agrícolas dependem do tamanho das partículas e do gasto característico da biomassa. A redução no tamanho das partículas leva ao aumento da superfície disponível e uma redução no grau de polimerização (SANTOS et al., 2011; HENDRIKS et al., 2009). O método de pré-tratamento com microondas utiliza a alta eficiência do aquecimento, segundo Sarkar et al. (2012) esse efeito interno no bagaço da cana, promove vibrações das ligações polares na biomassa e do ambiente aquoso ao redor, afrouxando a paredes da estrutura da lignina e liberando os carboidratos.

Os métodos voltados aos pré-tratamentos químicos diferem-se pelos compostos orgânicos ou inorgânicos utilizados, assim como nos mecanismos responsáveis pelas modificações estruturais e químicas da parede celular. Segundo Brodeur et al. (2011) os mesmos podem utilizar ácidos, bases ou solventes orgânicos.

O método do pré-tratamento ácido tem por objetivo romper a estrutura lignocelulósica por meio da solubilização da hemicelulose no meio ácido, o que promoverá um aumento da digestibilidade da celulose nas etapas posteriores (RABELO, 2010). De modo geral os ácidos utilizados são: sulfúrico, clorídrico e fosfórico. Já o alcalino envolve o uso de bases, tais como hidróxidos de sódio, potássio, cálcio e hidróxido de amônio. O uso de um álcali provoca a degradação do éster e das cadeias glicosídicas, resultando na alteração estrutural da lignina, inchaço da celulose, descristalização parcial de celulose e da hemicelulose (BRODEUR et al., 2011). Enquanto que o pré-tratamento com solventes orgânicos é utilizado para promover a deslignificação do material lignocelulósico, através da solubilização da lignina e de parte da hemicelulose. Conforme Sarkar et al. (2012) os solventes mais utilizados são etanol, metanol, propanol e acetona.



### 3 - MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi conduzido no Laboratório Industrial Bioflex 01 da GRANBIO, no município de São Miguel dos Campos-AL.

Para tanto foram coletados amostras do albedo da Laranja Lima, da safra de janeiro de 2015, na indústria de suco da Cooperativa dos Produtores de Laranja Lima (COOPLAL), no município de Santana do Mundaú, localizado na Zona da Mata do Estado de Alagoas, sendo 9° 10' 12.8''S e 36° 13' 17.2''W as coordenadas geográficas do centro da cidade com uma altitude de 221, 47 metros.

As amostras do albedo de Laranja Lima foram secas em estufa a 105°C ±1° por 16 horas, para retirada da umidade e posteriormente foram resfriadas em dessecador, sendo moído para atingir a granulométrica em pó, peneira (0,075mm).

A recuperação da massa seca (RMS) foi calculada a partir da diferença de massa entre o início e o final do pré-tratamento. Pesou-se a massa inicial antes de ser pré-tratada, após o pré-tratamento o material é filtrado em filtro de papel previamente pesado e é levado para uma estufa a uma temperatura de aproximadamente 40°C até secagem completa do material e do filtro. Em seguida, pesou-se o filtro de papel com o material, onde é feito o cálculo do rendimento pela equação, onde a massa final é dada pela equação abaixo.

$$RMS = [M_{inicial} - M_{final}] / M_{inicial}$$

Onde,

$$M_{final} = \text{Massa do material no papel filtro} - \text{Massa do papel filtro}$$

Como pré tratamento foram utilizados quatro ácidos: clorídrico, nítrico, fosfórico e sulfúrico, em duas concentrações 0,5% e 1,0%. Submetidos a quatro períodos de avaliação 30, 60, 90 e 120 minutos.

#### 3.1. Delineamento estatístico

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado no esquema fatorial de 4 x 2 x 4, sendo 4 tipos de ácidos, 2 concentrações e 4 períodos de avaliação, com três repetições.

### **3.2. Tratamentos**

#### **3.2.1. Tratamento ácido**

Com os ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ), ácido clorídrico (HCl) e ácido nítrico ( $HNO_3$ ) com concentração de 0,5% e 1,0%.

#### **3.2.2. Tratamento térmico**

Após o pré-tratamento, foram realizados os tratamentos térmicos com os tempos de 30, 60, 90 e 120 minutos.

### **3.3. Pré-Tratamento do albedo da laranja lima**

Cerca de 1 g da amostra foi colocado em frasco do tipo *erlenmayer*, levando-se em seguida para um reator do tipo autoclave vertical a 120°C, e uma proporção de sólido-líquido de 1:20, com tempos de reações de 30, 60, 90 e 120 minutos. Posteriormente, cada amostra foi filtrada, e foram realizadas análises de AR, ART e Brix, na fração líquida, enquanto que a fração sólida foi secada para analisar a recuperação da massa seca obtido em cada situação estudada.

### **3.4. Determinação de ácidos e carboidratos por cromatografia**

Foi realizado no Laboratório Industrial Bioflex 01, obedecendo a metodologia desenvolvida por ASTM (2007), ASTM (2015) e Sluiter et al.(2006).

## **4. Procedimentos estatísticos**

As análises de variância do experimento no delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial de 4x2x4, foram realizadas seguindo as recomendações de Ferreira (2000). As comparações das médias de tipos de ácidos dentro das concentrações e dentro dos períodos de avaliação foram feitas através pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

#### 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme apresentado na Tabela 1, houve diferença significativa no nível de 5% de probabilidade para todas as fontes de variações estudadas em relação às variáveis AR, ART, Brix e RMS.

Os coeficientes de variação apresentaram valores baixos, indicando ótima precisão experimental de acordo com Ferreira (2000).

**Tabela 1.** Análise da variância dos efeitos de tipos de ácidos, concentrações e períodos de avaliação em albedo de Laranja Lima em relação às seguintes variáveis: açúcar redutor (AR), açúcar redutor total (ART), Brix e recuperação da matéria seca (RMS)

Fonte de Variação	GL	QM			
		AR(%)	ART(%)	<sup>0</sup> BRIX	RMS(%)
Tipos de Ácidos (TA)	3	149113,28*	360706,22*	2,46*	323,91*
Concentrações (C)	1	110440,26*	178,453*	3,72*	17,69 <sup>ns</sup>
Períodos de Avaliação (PA)	3	55144,96*	402549,61*	0,47*	72,26 <sup>ns</sup>
TA X C	3	70553,45*	13540,85*	0,19*	120,34*
TA X PA	9	51296,16*	123036,30*	0,16*	41,23 <sup>ns</sup>
C X PA	3	110073,43*	130285,04*	0,08*	39,41 <sup>ns</sup>
TA X C X PA	9	131083,52*	221125,50*	0,15*	44,60 <sup>ns</sup>
Resíduo	64	0,44	104,28	0,0001	37,63
CV (%)		0,02	1,66	0,43	8,09

\*: Significativo aos níveis de 5% de probabilidade pelo teste F,

ns: Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Para o tratamento ácido e concentração destes, os dados são mostrados na Tabela 2, para as duas concentrações trabalhadas, o ácido sulfúrico apresentou o maior valor de extração do açúcar redutor, diferindo estatisticamente dos demais ácidos, enquanto que o ácido fosfórico apresentou o menor valor de extração do para esta variável.

**Tabela 2.** Efeito de tipos de ácidos dentro de cada concentração no albedo de Laranja Lima em relação ao açúcar redutor (%)

Tipos de Ácidos	Concentrações <sup>1/</sup>	
	0,5(%)	1,0(%)
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	0,73d	1,45d
HCL	41,44c	37,02c
HNO <sub>3</sub>	45,87b	56,74b
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	46,12a	66,08a

$\Delta (5\%) = 0,71$

1/: Na coluna, as médias com letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O efeito do tipo de ácido dentro de cada período de avaliação do albedo de Laranja Lima em relação à variação açúcar redutor é observado na Tabela 3, o ácido fosfórico ( $P \leq 0,05$ ) apresentou o menor valor de extração do açúcar redutor em todos os períodos de avaliação. Por outro lado, o ácido sulfúrico apresentou o maior valor de extração nos períodos de avaliação de 30, 60 e 120 minutos, enquanto que o ácido clorídrico teve o maior valor de extração de açúcar redutor apenas no período de 90 minutos.

Aguilar et al (2010) na pesquisa com albedo de mandarin pré-tratamento com explosão a vapor no período de 24 horas em hidrolise ácida, para a produção de bioetanol, obteve o teor de açúcar redutor de 28,48%, ao ser comparados com a hidrólise ácida com o período de 120 minutos, conforme a Tabela 3, temos valor superiores para os ácidos sulfurico, clorídrico e nítrico, demonstrando o poder de extração para o açúcar redutor no albedo de Laranja Lima.

Como obtido por Aguilar et al. (2010) no albedo de mandarin tratado sem explosão a vapor, o conteúdo fermentável açúcares redutor após 24 horas de hidrólise foi 38,71%, onde com o albedo da Laranja Lima, conforme Tabela 3, no período de 120 minutos na hidrolise ácida com os ácidos sulfúrico e nítrico obteve valores bem superiores, mostrando o poder de extração para o açúcar redutor e a importância do albedo de laranja na produção de bioetanol.

Em relação a porcentagens de carboidratos solúveis na matéria seca de bagaço de laranja, Faria et al. (1971) obteve valores entre 37,1% a 43,2%, ao ser comparado com com o com a hidrolise ácida no tempo de 30 minutos, os ácidos sulfúrico, nítrico e clorídrico apresentaram um maior poder de extração dos açúcares conforme Tabela 3. Em Faria et al. (1972), utilizando o bagaço de laranja fresco como aditivo na ensilagem do capim-elefante,

obteve 39,3%, de carboidratos solúveis, ao ser comparado com o açúcar redutor da Tabela 3 no período de 120min obteve valores sendo superior na extração do açúcar na hidrólise ácida dos ácidos clorídrico e nítrico, logo o albedo de Laranja Lima é também um excelente fonte de matéria para formulação de silo.

**Tabela 3.** Efeito de tipos de ácidos dentro de cada período de avaliação no albedo de laranja lima em relação ao açúcar redutor (%)

Tipos de Ácidos	Períodos de Avaliação <sup>1/</sup>			
	30	60	90	120
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	0,52d	1,25d	1,114d	1,47d
HNO <sub>3</sub>	51,57c	54,47c	37,24c	61,94b
HCL	54,29b	28,04b	43,80a	30,79c
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	60,64a	54,79a	43,26b	65,70a

$\Delta$  (5%) = 0,01

1/: Na coluna, as médias com letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na Tabela 4, são mostrados os efeitos de tipo de ácidos dentro de cada período de avaliação no albedo de Laranja Lima para a variável do açúcar redutor total, tanto na concentração de 5% quanto na concentração de 1%, o ácido sulfúrico apresentou o maior valor de extração do açúcar redutor, diferindo estatisticamente dos demais ácidos, enquanto que o ácido fosfórico apresentou o menor valor de extração do açúcar redutor.

**Tabela 4.** Efeito de tipos de ácidos dentro de cada concentração no albedo de laranja lima em relação açúcar redutor total

Tipos de Ácidos	Concentrações <sup>1/</sup>	
	0,5(%)	1,0(%)
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	9,70d	6,70d
HCL	70,03c	79,16c
HNO <sub>3</sub>	75,93b	86,74b
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	82,23a	91,05a

$\Delta$  (5%) = 110,00

1/: Na coluna, as médias com letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os efeitos dos tipos de ácidos em cada período de avaliação, no albedo de Laranja lima, para as variáveis do açúcar redutor total são mostrados na Tabela 5 o ácido fosfórico diferiu estatisticamente dos demais ácidos nos quatros períodos, apresentando o menor valor para extração do açúcar redutor total no albedo de laranja lima, já o ácido nítrico apresentou o melhor valor para extração do açúcar redutor no período de 60 e 120 minutos. O ácido sulfúrico apresentou o melhor valor de extração no período de 30 minutos, já o ácido clorídrico no período de 90 minutos.

No período de 120 minutos todos os ácidos apresentaram uma extração maior, isso pode está relacionando a algum contaminante na hidrólise, promovendo nesse período esse maior poder de extração.

Oberoi et al. (2010) em pesquisa com produção de etanol a partir de Kinnow tangerina (*Citrus reticulata*) resíduos do processo de sacarificação e fermentação, teve um aumento da concentração de açúcares partindo de 31,58% para 41,78% de acúcares redutores totais em extrato etanólico em Kinnow pré-tratados, quando comparado ao açúcar redutor total do albedo de Laranja Lima, (TABELA 5), o a excessão do ácido fosforico todos foram superiores nos valores de extração.

Martín et al. (2002) investigaram a explosão a vapor do bagaço de cana a 105°C por 30 min sem qualquer impregnação (auto-hidrólise) e com adição de dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) ou ácido sulfúrico como catalisadores. Os materiais pré-tratados a vapor foram submetidos à hidrólise enzimática e os maiores valores obtidos para açúcar redutor total foi de 52,9%, foram obtidos a partir da hidrólise do bagaço inicialmente impregnado com SO<sub>2</sub>. Ao ser comparado com o mesmo período e o mesmo tipo de ácido conforme a Tabela 5, o bagaço de Laranja Lima teve uma extração do açúcar redutor total com valor bem superior ao bagaço de cana.

**Tabela 5.** Efeito de tipos de ácidos dentro de cada período de avaliação no albedo de Laranja Lima em relação ao açúcar redutor total

Tipos de Ácidos	Períodos de avaliação <sup>1/</sup>			
	30	60	90	120
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	0,60d	2,18d	1,59d	10,97d
HNO <sub>3</sub>	87,32c	93,37a	57,56b	99,69a

HCL	92,69b	43,88c	68,97a	92,68c
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	97,75a	86,12b	55,59c	94,51b
$\Delta (5\%) =$				
155,56				

1/: Na coluna, as médias com letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os efeitos das concentrações dos ácidos em relação ao Brix são mostrados na Tabela 6 o tratamento com ácido sulfúrico apresentou maior extração do Brix no albedo de Laranja Lima diferindo estatisticamente dos demais ácidos, tendo o ácido nítrico apresentado o menor valor para extração desta variável nas duas concentrações.

No flavedo de laranja provida da indústria de sucos de Marília no Estado de São Paulo, de acordo com Caldeirão et al (2012), a uma concentração de 6% e um período de 15 minutos o Brix obtido foi de 3,39, já no albedo de Laranja Lima a uma concentração de 1% , conforme Tabela 6, temos o ácido sulfúrico com o valor próximo a este valor, logo com uma concentração inferior o albedo de Laranja Lima obteve um valor bem próximo, demonstrando a sua quantidade de açúcares em sua composição.

**Tabela 6.** Efeito de tipos de ácidos dentro de cada concentração no albedo de Laranja Lima em relação Brix (%)

Tipos de Ácidos	Concentrações <sup>1/</sup>	
	0,5(%)	1,0(%)
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2,55a	3,02a
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	2,22b	2,52b
HCL	1,97c	2,17c
HNO <sub>3</sub>	1,85d	2,45d

$\Delta (5\%) = 0,01$

1/: Na coluna, as médias com letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Conforme demonstra nos valores da variável da Tabela 7 o ácido sulfúrico apresentou um valor superior na extração do Brix no albedo de Laranja Lima nos quatro diferentes

períodos diferindo estatisticamente, enquanto o ácido clorídrico com menor valor de extração do Brix no período de 60, 90 e 120 minutos.

Ao compararmos o teor de sólidos solúveis encontrado no suco da Laranja Bahia por Andrade (2008) foi de 10,26, ao ser comparado com os valores das hidrolises ácidas do albedo de Laranja Lima (Tabela 7) observa-se os valores bem inferiores para todos os ácidos desde o menor o ácido nítrico no tempo de 30 minutos ao maior o ácido sulfúrico no tempo de 90 minutos..

**Tabela 7.** Efeito de tipos de ácidos dentro de cada período de avaliação no albedo de laranja lima em relação Brix (%)

Tipos de Ácidos	Períodos de avaliação <sup>1/</sup>			
	30	60	90	120
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2,55a	2,90a	2,85a	2,85a
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	2,00b	2,40b	2,40b	2,70b
HCL	2,15c	2,10d	2,10d	2,20d
HNO <sub>3</sub>	1,85d	2,35c	2,20c	1,95c

$\Delta (5\%) = 1,01$

1/: Na coluna, as médias com letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De acordo com a Tabela 8, os períodos de avaliação não interferiram no rendimento da matéria seca do albedo da Laranja Lima, alcançando um valor médio de 75,86%, deste modo o período é uma variável para essa variável de menor importância.

Como obtido por Aguilar & Gómez (2013) na pesquisa com produção de bioetanol por fermentação de limão (*Citrus limon L.*) resíduos de casca pré-tratados com explosão a vapor, resultado após 24 h de hidrólise enzimática utilizando as concentrações de cocktail enzimáticas. Neste caso, o rendimentos da matéria seca foram entre 27,03% e 36,68%. Ao ser comparado com albedo de Laranja Lima (TABELA 8), observa-se resultados bem superiores para a recuperação da matéria seca de 77,49, no período de 90 minutos.

**Tabela 8.** Valores médios dos períodos de avaliação da recuperação da matéria seca em albedo da Laranja Lima

Períodos de Avaliação	Médias de Recuperação
30	76,26
60	73,40



90	77,49
120	76,30

Em relação ao efeito de tipos de ácidos dentro de cada concentração no albedo de laranja lima em relação recuperação da matéria seca Tabela 9, o ácido fosfórico e ácido clorídrico apresentaram valores semelhantes na concentração de 0,5%, mas o ácido clorídrico não diferiu dos demais ácidos. Na concentração de 1,0% o ácido fosfórico e ácido nítrico apresentaram valores semelhantes, mas o ácido nítrico não diferiu dos demais ácidos.

No ponto central do planejamento realizado para a auto-hidrólise do bagaço de cana, pode-se observar uma média na recuperação de 72,7%. Com um tempo de 6 minutos, uma temperatura de 203°C, conforme Pitarello (2007) no trabalho com via pré-tratamento a vapor e hidrólise enzimática, ao ser comparado com o albedo de Laranja Lima (Tabela 9) na concentração de 0,5%, observa-se que a recuperação foi de 79,60% na hidrólise ácida com o ácido sulfúrico, logo um superioridade na extração da recuperação da matéria seca.

**Tabela 9.** Efeito de tipos de ácidos dentro de cada concentração no albedo de Laranja Lima em relação recuperação da matéria seca

Tipos de Ácidos	Concentrações <sup>1/</sup>	
	0,5(%)	1,0(%)
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	68,84b	72,15b
HNO <sub>3</sub>	79,60a	75,79ab
HCL	73,68ab	79,51a
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	79,60a	77,7ba

$\Delta (5\%) = 6,60$

1/: Na coluna, as médias com letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os efeitos benéficos do uso de catalisador ácido durante a explosão a vapor de materiais lignocelulósicos tem sido bem documentada na literatura. Logo, os usos de HNO<sub>3</sub> (SADDLER et al., 1982), SO<sub>2</sub> (RAMOS et al., 1992a) e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> diluído (GALVÃO et al., 2001; EMMEL et al., 2003) têm sido relatados para aumentar a recuperação total das frações pré-tratadas, assim como a susceptibilidade dos resíduos insolúveis à hidrólise enzimática e/ou bioconversão.

O uso de soluções diluídas de ácido fosfórico como catalisador, comparativamente aos procedimentos que utilizam o ácido sulfúrico, apresentam menor efeito destrutivo sobre as pentoses, com menor acúmulo de furfural no meio de reação (GÁMES et

al., 2005). Os substratos produzidos a partir dos pré-tratamentos que utilizam ácido sulfúrico também necessitam de alguma forma neutralização após o pré-tratamento. Isto adiciona novos passos ao processo, este ácido promove a corrosão interna dos equipamentos, exigindo a construção de reatores mais resistentes e, portanto, mais caros. Já o ácido fosfórico, adicionado ao pré-tratamento na forma de soluções diluídas, além de não necessitar destes cuidados, pode constituir fonte adicional de nutrientes para processos fermentativos, particularmente na forma de fosfato de amônio (FONTANA et al., 2001; DESCHAMPS et al., 1996).

## **5- CONCLUSÕES**

A biomassa do albedo de Laranja Lima pode ser utilizada como fonte de energética alternativa para produção de bioetanol, utilizando a hidrólise ácida com o ácido sulfúrico obteve os melhores resultados para variáveis e tratamentos aplicados, sendo assim esse ácido pode ser considerado o mais eficiente.

## REFERÊNCIAS

AGUILAR, B., GÓMEZ, F.P.L.; **A. Production of bioethanol by fermentation of lemon (*Citrus limon* L.) peel wastes pretreated with steam explosion.** *Industrial Crops and Products.*, v. 41, p. 188–197 (2013).

AGUILAR, M.B., VIDAL, L.G., CASTAÑEDA, F.D.P.G., GÓMEZ, A.L.; **Mandarin peel wastes pretreatment with steam explosion for bioethanol production.** *Bioresource Technology.*, v. 101, p. 3506–3513 (2010).

ALMEIDA, E. L. F., SILVA C. M.S. **Formação de um mercado internacional de etanol e suas inter-relações com os mercados de petróleo e açúcar.** XI Congresso Brasileiro de Energia, Rio de Janeiro, 2006.

ALMEIDA, C. O; PASSOS, O. S; CUNHA SOBRINHO, A. P & SOARES FILHO, W. S. **Citricultura Brasileira: Em busca de novos rumos, desafios e oportunidades na região Nordeste. Cruz das Almas: EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, 160p. 2011.**

AMMERMAN, C.B., HENRY, P.R. 1991. Citrus and vegetable products for ruminants animals. Feeding and nutrition. Florida: University of Florida. p.103-190.

ANDRADE, E.F., CARVALHO, I.C., GUEDES, A., FURLAN, M.R.; **EPB0326 Variância do °brix, acidez, pH e vitamina C na laranja perá, na laranja lima e na laranja Bahia.** XIII Encontro de Iniciação Científica, IX Mostra de Pós-graduação, Biodiversidade Tecnologia Desenvolvimento, 2008.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasil. Ministério da Saúde. **Manual de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.** Brasília: Ministério da Saúde, 182 p. 2006.

ASTM - American Society for Testing and Materials, **Annual Book of A.S.T.M. Standards,** ASTM E 1758-01 - Determination of Carbohydrates in Biomass by High Performance Liquid Chromatography na Universidade da Virgínia, 2007.

ASTM E1758-01(2015), **Standard Test Method for Determination of Carbohydrates in Biomass by High Performance Liquid Chromatography,** ASTM International, West Conshohocken, PA, 2015.

BAI FW, ANDERSON WA, MOO-YOUNG M, **Ethanol fermentation Technologies from sugar and starch feedstocks**, *Biotechnol Adv*; 26;2008,p.89-105.

BARRETO, G. C. **Levantamento das Tecnologias para Produção de Etanol de Segunda Geração: O Potencial do Brasil**. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Salvador, Salvador, 2009.

BEZERRA, Fabíola. **Bagaço da cana também produz álcool: Brasil já tem unidade experimental para fabricação de etanol a partir da lignocelulose**. *Ciência Hoje On-line*. 2007. Disponível em: <http://cienciahoje.uol.com.br/especiais/meio-ambiente-em-foco/bagaco-da-cana-tambem-produz-alcool>.

BORGES, M.T.M.R.; PARAZZI, C.; PIEDADE, S.M.D.S. Avaliação de Métodos Químicos de Determinação de Açúcares Redutores em Xaropes. **Anais do 4º. Congresso Nacional da STAB. VIII Convenção da ACTALAC**, Olinda, Pe, Brasil, 8-13 novembro de 1987.

BRODEUR,G. et al. **Chemical and Physicochemical Pretreatment of Lignocellulosic Biomass: A Review**. *Enzyme Research*, Tallahassee, p.1-17, 2011.

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

CANO, C.B.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Análise de padrões de carboidratos normalmente encontrados no mel por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)- Parte I. **XVI Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos, "Alimento, População e Desenvolvimento"**, Rio de Janeiro, Brasil, 15-17 de julho de 1998.

CONAMA. Ministério do Meio Ambiente. **Conferência das Nações Unidas sobre meio-ambiente e desenvolvimento, 2007**. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/estruturas/agenda21/\\_arquivos/cap21.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/agenda21/_arquivos/cap21.pdf)>.

DAS, H.; Singh, S. K. **Useful byproducts from cellulosic wastes of agriculture and food industry--a critical appraisal**. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2004, 44, 77.

DESCHAMPS, F. C.; RAMOS, L. P.; FONTANA, J. D. Pretreatment of sugarcane bagasse for enhanced ruminal digestion. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.57/58, 1996, p. 171-182.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Mandioca e Fruticultura. Disponível em <[http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/Laranja\\_Mundo\\_2011.pdf](http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/Laranja_Mundo_2011.pdf)>.

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Mandioca e Fruticultura. Disponível em <[http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/Laranja\\_Mundo\\_2012.pdf](http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/Laranja_Mundo_2012.pdf)>.

FARIA, V.P., TOSI, H., SILVEIRA, A.C. Avaliação da polpa de laranja fresca e ensilada como alimento para bovinos. *O Solo*, 63(2): 49-55, 1971.

FARIA, V.P., TOSI, H., GODOY, C.R.M. Polpa de laranja fresca e seca como aditivos para a ensilagem do capim elefante napier. *O Solo*, 64(1):41-47, 1972.

FELIPE, M. G. A. **Em Bioetanol de Cana-de-Açúcar: P&D para Produtividade Sustentabilidade**; Cortez, L. A. B., ed.; Edgard Blücher Ltda: São Paulo, 2010, cap. 3 parte 4.

FERREIRA, P. V. Estatística experimental aplicada à Agronomia. 3ª ed. Maceió: EDUFAL, 2000. 422p.

FERREIRA, J. M. Gestão do agronegócio cooperativo. **Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão do UNIPAM**, Patos de Minas: UNIPAM, v. 6, p. 163-172, 2009.

FERREIRA, L. C. C. CARACTERIZAÇÃO DO POTENCIAL ENERGÉTICO ENTRE A PRODUÇÃO DE ETANOL CELULÓSICO E A COGERAÇÃO APARTIR DO BAGAÇO DE CANA. Projeto de Graduação (Graduação em Engenharia Mecânica). Faculdade de Tecnologia – Departamento de Engenharia Mecânica. Universidade de Brasília, 2012.

FONTANA, J. D.; RAMOS, L. P.; KRIEGER, N. Physical Methods Applied to Biotechnology. In: *Methods of Biotechnology*, Doelle, H. (Honorary Theme Editor) and Mitchell, D. (co-editor), EOLSS (UNESCO) - Encyclopedia of Life Support Systems, CD-ROM Special Edition, Oxford, UK, 2001.

GALBE, M.; Zacchi, G. **Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production.**; Adv Biochem Engine/Biotechnol. 2007,108, 41.

GÁMES, S.;GONZÁLEZ-CABRIALES, J. J.; RAMÍREZ, J. A.;GARROTE,G. Study of the hydrolysis of sugar cane bagasse using phosphoric acid. Journal of Food Engineering, v.74, 2005, p.78-88.

GIROTO, J. M.; **Soro de leite nos laticínios do Paraná: Potencial, Oportunidade e Restrições.** Curitiba, 2001. 99 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química, área de concentração: Tecnologia de alimentos) Universidade Federal do Paraná.

GUIMARÃES, Luis Fernando Lopes; COLLINS, Carol H. Cromatografia líquida de alta eficiência. In: **Introdução a métodos cromatográficos.** 7ª ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 1997. p.183-238.

HENDRIKS, A.T.W.M., ZEEMAN, G. **Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass.** Bioresource Technology, Ev Wageningen, p.10-18, 2009.

IBGE- Instituto Brasileiro de geografia e Estatística.Indicadores IBGE, Estatística da Produção Agrícola (2011). Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr\\_2011.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr_2011.pdf)>

IBGE- Instituto Brasileiro de geografia e Estatística.Indicadores IBGE, Estatística da Produção Agrícola (2011). Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr\\_2013.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr_2013.pdf)>

IBGE- Instituto Brasileiro de geografia e Estatística.Indicadores IBGE, Estatística da Produção Agrícola (2011). Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr\\_2014.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/estProdAgr_2014.pdf)>

ÍTAVO, L.C.V., SANTOS, G.T., JOBIM, C.C. et al. Consumo e digestibilidade aparente da silagem de bagaço de laranja. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998. Anais...Botucatu, SP. p.388-390. 1998.

ITDG- Intermediate Technology Development Group. **Fruits Wastes Utilization.** Disponível em:

<[http://www.itdg.org/docs/technical\\_information\\_service/fruit\\_waste\\_utilisation.psearch=%22wastes%20fruits%22](http://www.itdg.org/docs/technical_information_service/fruit_waste_utilisation.psearch=%22wastes%20fruits%22)>. fp>

KANG, S.W, PARK, Y.S, LEE, J.S., HONGS S.I., KIM, S.W. Production of cellulases and hemicellulases by *Aspergillus niger* KK2 from lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, v.91.2004.p.153-156.

MARTÍN, C.; MATS, G.; WAHLBOM, C. F.; HAHN-HAGERDAL, B.; JÖNSSON, L. J. Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose-utilising *Saccharomyces cerevisia*. *Enzyme and Microbial Technology*. v. 31, 2002, p. 274-282.

OBEROI, H.S., VADLANI, P.V., NANJUNDASWAMY, A., BANSAL,S., KAUR, S.S.S., BABBAR, N.; Enhanced ethanol production from Kinnow mandarin (*Citrus reticulata*) waste via a statistically optimized simultaneous saccharification and fermentation process. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 1593-1601, 2011.

OGEDA, T. L., PETRI, D. F. S. **Hidrólise Enzimática de Biomassa**. *Química Nova*, São Paulo, v. 33, n. 7, p.1549-1558, 2010.

PELIZER, L.H.; PONTIERI, M.H.; MORAES, I. O. **Utilização de Resíduos Agro Industriais em Processos Biotecnológicos com Perspectiva de Redução do Impacto Ambiental**. *Journal of Technology Management & Innovation*, v. 2, p. 118-127, março-2007. Disponível em: <[http://www.jotmi.org/index.php/GT/article/viewFile/art\\_41/72](http://www.jotmi.org/index.php/GT/article/viewFile/art_41/72)>.

PERES, J.R. Avaliação da polpa de citrus seca e peletizada como aditivo na ensilagem do capim elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum). Piracicaba, SP, ESALQ-USP, 1997. 71p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Universidade de São Paulo, 1997.

PINTO, G. A. S.; BRITO E. S.; ANDRADE A. M. R; FRAGA S. L. P.; TEIXEIRA R.B. **Fermentação em estado sólido:uma alternativa para o aproveitamento e valorização de resíduos agroindustriais tropicais**. *Embrapa Agroindústria Tropical*. Comunicado Técnico. Fortaleza, ago. 2005.

RABELO, S. C. **Avaliação e Otimização de pré-tratamento e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a Produção de Etanol de Segunda Geração** – Campinas,SP, 2010.



RAMOS, L. P.; BREUIL, C.; SADDLER, J. N. Comparison of steam pretreatment of eucalyptus, aspen and spruce wood chips and their enzymatic hydrolysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.34/35, 1992b, p.37-48.

REDDY, N.; YANG, Y.; : Fruit Juice Processing Technology Trends *Biotechnol.* 2005, 23, 22.

SADDLER, J. N.; BROWNELL, H. H.; CLERMONT, L.P.; LEVITIN, N. Enzymatic hydrolysis of cellulose and various pretreated wood fractions. *Biotechnology and Bioenergy*, v. 24, 1982, p. 1389-1402.

SANTOS, A. L. F., KAWASE, FAUSTA K. Y., COELHO, G. V. **Enzymatic Saccharification of lignocellulosic materials after treatment with supercritical carbon dioxide.** *The Journal of Supercritical Fluids*, Rio de Janeiro, p.277-282, 2011.

SARKAR, N. et al. **Bioethanol production from agricultural wastes: An overview.** *Renewable Energy*, Índia, p.19-27, 2012.

SEBRAE/AL - Serviço Brasileiro de Apoio às Micros e Pequenas Empresas. 2011. Disponível em < <http://www.sebrae.com.br/uf/alagoas> >

SEPLANDE - Secretaria de Estado do Planejamento e do Desenvolvimento Econômico. 2011. Disponível em <<http://www.seplande.al.gov.br/>>.

SILVA, Osmar Gonçalves. **Produção de etanol com a utilização do bagaço de cana-de-açúcar** /Osmar Gonçalves Silva. -- Araçatuba, SP: Fatec, 2010.

SLUITER, A., HAMES, B., RUIZ, R., SCARLATA,C. SLUITER, J., AND TEMPLETON, D. NREL/TP-510-46.623 - **Sugars, Byproducts and Degradation Products Liquid Fraction Process Samples.** Laboratory Analytical Procedure, 2006.

ZHANG, Y. P., LYND, L.R. **Toward an Aggregated Understanding of Enzymatic Hydrolysis of Cellulose: Noncomplexed Cellulase Systems.** *Biotechnology and Bioengineering*, Hanover, v. 88, n. 7, p.797-824, 2004.

ZHANG, Y. H. P. **Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocellulose biorefineries.** J. Ind. Microbiol Biotechnol. 2008, 35, 367.

ZHAO, X.B.; Wang, L.; Liu, D. H. **Energy Efficiency Analysis: Biomass-to-Wheel Efficiency Related with Biofuels Productinos, Fuel Distribution, and Powertrain Systems J..** Chem. Technol. Biotechnol. 2008, 83, 950.