



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS  
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA AGRÍCOLA  
COPEAG - COORD. DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENG. AGRÍCOLA



# **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA**

## **Dissertação de Mestrado**

**ESTUDO DA PRÉ-HIDRÓLISE ÁCIDA DA  
PALMA FORRAGEIRA  
(OPUNTIA FICUS-INDICA MILL)**

**ALBERTO BRANDÃO TORRES NETO**

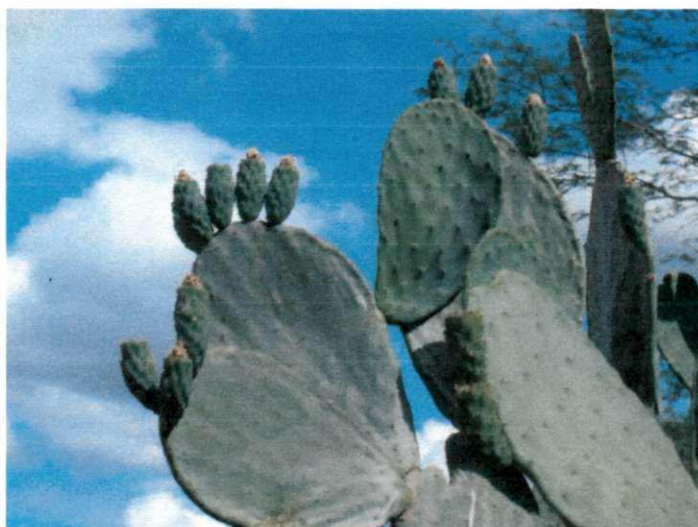
**Campina Grande  
Paraíba**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS  
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
ENGENHARIA AGRÍCOLA (COPEAG)



*Dissertação Apresentada pela Área de Concentração em  
Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas*



**Estudo da pré-hidrólise ácida da palma forrageira  
(*Opuntia ficus-indica* Mill)**

POR:

**Alberto Brandão Torres Neto**

ORIENTADORES:

Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva  
Profa. Dra. Josivanda Palmeira Gomes



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS  
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
ENGENHARIA AGRÍCOLA (COPEAG)



*Área de Processamento e Armazenamento  
de Produtos Agrícolas*

*Alberto Brandão Torres Neto*

***Estudo da pré-hidrólise ácida da palma forrageira  
(Opuntia ficus-indica Mill)***

**Dissertação apresentada ao Curso  
de Pós-Graduação em Engenharia  
Agrícola da Universidade Federal  
de Campina Grande, como parte  
dos requisitos necessários para  
obtenção do título de Mestre em  
Engenharia Agrícola**

**CAMPINA GRANDE – PB  
Setembro, 2009**



FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

T693e

2010 Torres Neto, Alberto Brandão.

Estudo da pré-hidrólise ácida da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) / Alberto Brandão Torres Neto. — Campina Grande, 2010.  
47 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais.  
Referências.

Orientadores: Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva, Profª. Drª. Josivanda Palmeira Gomes.

1. Fermentação. 2. Álcool Etílico. 3. Licor Pré-hidrolisado. 4. Caracterização Físico-Química. I. Título.

CDU – 663.14.031(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS  
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA



PARECER FINAL DO JULGAMENTO DA DISSERTAÇÃO DO MESTRANDO

ALBERTO BRANDÃO TORRES NETO

ESTUDO DA PRÉ-HIDRÓLISE ÁCIDA DA PALMA FORRAGEIRA (*Opuntia ficus-indica* MILL)

BANCA EXAMINADORA

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva – Orientador

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Josivanda Palmeira Gomes – Orientadora

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Gustavo Adolfo Saavedra Pinto – Examinador

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Líbia de Sousa Conrado Oliveira – Examinadora

PARECER

Aprovado

Aprovado

APROVADO

APROVADO

SETEMBRO - 2009

*Porque Dele e por meio Dele*

*e para Ele, são todas as coisas.*

*A Ele, pois, a glória eternamente. Amém!*

*É Ele o grande responsável*

*por mais uma vitória alcançada.*

*(Romanos 11. 36)*

*A meus avós, Alberto Brandão e Severina Medeiros,  
Minha esposa, Mônica, e meu filho André,  
Responsáveis pela força adquirida  
para enfrentar as dificuldades e chegar até aqui,*

*e a Deus,*

*Dedico.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por abençoar minha vida e a todos os meus familiares, dando-nos força para superar os obstáculos da vida.

A meus avós, Alberto Brandão e Severina Medeiros (em memória), por me terem criado, educado e ensinado os caminhos a seguir; sei das dificuldades que cada um enfrentava mas, mesmo assim, esforçaram-se e contribuíram bastante para eu ser a pessoa que sou hoje.

A meus irmãos, Janaina, Daniela e Daniel que mesmo com a distância imposta pelo destino, estiveram presentes e sempre unidos ajudando-nos uns aos outros.

A minha esposa, Mônica, pessoa maravilhosa que entrou na minha vida só para somar, vem enfrentando comigo todas as dificuldades, mas também compartilhando as nossas alegrias, principalmente depois da chegada de André, um filhinho maravilhoso a quem espero poder ensinar tudo que aprendi com a vida.

A Josivanda, pelo apoio e orientação no meu trabalho.

Aos amigos do laboratório de Engenharia Bioquímica que tanto me ajudaram nesses últimos meses de mestrado e sem ao quais não teria sido possível a conclusão dos trabalhos.

Gostaria de fazer um agradecimento especial a esta pessoa, meu orientador, Flávio Luiz Honorato da Silva. Foi durante 8 anos de minha vida um grande amigo, pessoa maravilhosa, com um grande coração, excelente pai de família e que é um exemplo de cidadão pra mim, preocupado sempre com os outros e sempre disposto a ajudar no que for possível. Terminei este mestrado graças a esta pessoa que fez por mim, e ainda faz, o que muitas vezes um pai não faz por um filho. Por essas e muitas outras razões o tenho como pai e aqui ficam meus sinceros agradecimentos.

A Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), através da COPEAG, pela oportunidade de realização do Curso de Mestrado e a CAPES, pelo apoio à pesquisa e pelo incentivo financeiro.

A todos, os meus sinceros agradecimentos.

**MUITO OBRIGADO!**



## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	iii
<b>LISTA DE TABELAS</b>	iv
<b>RESUMO</b>	v
<b>ABSTRACT</b>	vi
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	7
<b>1.1. Objetivos</b>	10
<b>1.1.1. Objetivo geral</b>	10
<b>1.1.2. Objetivos específicos</b>	10
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	11
<b>2.1. Palma forrageira</b>	11
<b>2.2. Produção de álcool etílico</b>	14
<b>2.3. Bioetanol de materiais lignocelulósicos</b>	15
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b>	18
<b>3.1. Recepção e seleção</b>	18
<b>3.2. Lavagem</b>	18
<b>3.3. Trituração</b>	18
<b>3.4. Secagem</b>	18
<b>3.5. Caracterização</b>	19
<b>3.5.1. Açúcares redutores totais (ART)</b>	19
<b>3.5.2. Sólidos solúveis</b>	19
<b>3.5.3. Cinzas</b>	19
<b>3.5.4. pH</b>	19
<b>3.5.5. Umidade</b>	20
<b>3.5.6. Concentração de pentoses e hexoses</b>	20
<b>3.5.7. Concentração de extrativos, celulose, hemicelulose e lignina</b>	20
<b>3.6. Pré-hidrólise ácida</b>	21
<b>3.7. Caracterização da palma e do licor pré-hidrolisado</b>	22
<b>3.8. Hidrólise ácida preliminar</b>	23
<b>3.9. Fermentação alcoólica preliminar</b>	23
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	24
<b>4.1. Caracterização da palma forrageira</b>	24

<b>4.2. Análise do pré-tratamento</b>	25
<b>4.2.1. Primeiro planejamento</b>	25
<b>4.2.2. Segundo planejamento</b>	29
<b>4.3. Considerações gerais do estudo dos planejamentos fatorial <math>2^3</math></b>	33
<b>4.4. Hidrólise ácida da palma forrageira</b>	34
<b>4.5. Fermentação alcoólica preliminar</b>	34
<b>5. CONCLUSÕES</b>	36
<b>6. PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS</b>	37
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	38

## LISTA DE FIGURAS

### FIGURAS

Figura 1	Influência individual das variáveis temperatura, concentração de ácido e razão entre a massa seca e a massa de ácido sobre o somatório da concentração de xilose e arabinose no licor hidrolisado	26
Figura 2	Influência individual das variáveis concentração e razão entre a massa seca e a massa de ácido sobre o percentual de aumento da concentração de xilose e arabinose no licor hidrolisado	27
Figura 3	Influência individual da temperatura sobre o percentual de aumento	27
Figura 4	Influência da temperatura e concentração de ácido sobre o percentual de aumento de pentoses, fixando-se a variável razão no nível -1 (1/8)	28
Figura 5	Influência da razão e da temperatura sobre a soma de pentoses no licor pré-hidrolisado, fixando a concentração de ácido no ponto central	31
Figura 6	Influência da razão e da concentração de ácido sobre a soma de pentoses no licor pré-hidrolisado, fixando a temperatura no ponto central	31
Figura 7	Influência da razão e da temperatura sobre o percentual de aumento de pentoses no licor pré-hidrolisado, fixando a concentração de ácido no ponto central	32
Figura 8	Influência da razão e da concentração de ácido sobre o percentual de aumento de pentoses no licor pré-hidrolisado, fixando a temperatura no ponto central	33

## LISTA DE TABELAS

### TABELAS

Tabela 1	Usos e aplicações potenciais da palma forrageira	12
Tabela 2	Composição químico-bromatológica da palma forrageira	14
Tabela 3	Matriz de planejamento fatorial 2 <sup>3</sup>	21
Tabela 4	Níveis codificados e reais das variáveis independentes para o primeiro planejamento	22
Tabela 5	Níveis codificados e reais das variáveis independentes para o segundo planejamento	22
Tabela 6	Dados físico-químicos da palma forrageira	24
Tabela 7	Concentrações de xilose e arabinose da matéria <i>in natura</i> nas diluições do planejamento	24
Tabela 8	Concentração de xilose, arabinose, soma das pentoses e percentagem de aumento	25
Tabela 9	Concentração de xilose, arabinose, soma das pentoses e percentagem de aumento	29
Tabela 10	ANOVA para a resposta soma de pentoses	30
Tabela 11	ANOVA para a resposta percentual de aumento de pentoses	30
Tabela 12	Condições do licor hidrolisado para fermentação	34
Tabela 13	Acompanhamento do processo fermentativo	34

## RESUMO

Desde a primeira crise do petróleo, em 1973, o álcool etílico vem despertando um crescente interesse do Governo Federal do Brasil e dos pesquisadores do mundo, e atualmente dos governos dos países desenvolvidos, como os Estados Unidos, Alemanha, França e países em desenvolvimento, como a Índia e a China. Este fato se deve às pressões do esgotamento das fontes não-renováveis de combustíveis fósseis, como também à geopolítica do mundo (maiores reservas de petróleo em países com problemas de conflitos e instabilidade política). Surge, também, a busca por novas fontes de obtenção do álcool, os materiais lignocelulósicos. A palma forrageira foi introduzida no Brasil para dar suporte à criação de um inseto conhecido como cochonilha, este responsável pela produção de um corante de alto valor comercial na época. Com o passar dos anos o uso da palma passou a ser bastante diversificado pois, além de servir como forragem, ela produz frutas e verduras para consumo humano, biomassa para fins energéticos (combustível e biogás) e inúmeros produtos como bebidas, queijo vegetariano, remédios e cosméticos; elas servem, ainda, para abrigar e alimentar diversas espécies selvagens que vivem em ambientes áridos. A palma forrageira vem despertando interesse de muitos pesquisadores por se tratar de uma cultura bastante difundida e apresentar, em sua composição, celulose e hemicelulose, substâncias que podem ser utilizadas para obtenção de açúcares fermentescíveis; ela é, também, uma cultura bastante resistente à seca e produzida o ano inteiro. O objetivo deste trabalho foi estudar o processo de pré-hidrólise ácida da palma para obtenção de um licor pré-hidrolisado rico em pentoses diminuindo, assim, suas concentrações na matéria-prima, sendo esta o cladódio da palma forrageira do tipo gigante. O cladódio da palma foi recepcionado no Laboratório de Engenharia Bioquímica, onde se determinou sua umidade e se obteve a matéria seca. Fez-se a caracterização desta matéria (pH, açúcares redutores totais, sólidos solúveis, cinzas, hemicelulose, celulose, lignina e concentração de pentoses e hexoses). Foram realizados dois planejamentos experimentais  $2^3$  da pré-hidrólise para verificar a influência das variáveis temperatura, concentração de ácido e razão matéria seca/ácido sobre as respostas soma de pentoses e percentual de aumento de pentoses e, em seguida, foi realizada uma hidrólise preliminar acompanhada de uma fermentação. Com os resultados do planejamento fatorial experimental  $2^3$  verificou-se que apenas o segundo planejamento foi estatisticamente significativo ao nível de 95% de confiança para a média e a variável razão. Operando-se com razão abaixo de 1/10, para quaisquer valores de temperatura e concentração de ácido, obtém-se soma e percentual de aumento de pentoses acima de 8 g/L e 8000%, respectivamente. Durante a fermentação não houve produção de álcool etílico, devido, provavelmente, à formação de inibidores no processo de hidrólise, que se demonstrou através da forte coloração no licor hidrolisado.

**Palavras-chave:** fermentação, álcool etílico, licor pré-hidrolisado, caracterização físico-química.

## ABSTRACT

Since the first petroleum crisis in 1973, ethylic alcohol has been arousing a growing interest by the Federal Government in Brazil and by researchers worldwide, and nowadays by governments of developed countries, such as the United States, Germany, and France, and by developing countries, such as India and China. This is due to the pressure caused by the depletion of non-renewable sources of fossil fuels, as well as to world geopolitics (greater reserves of petroleum in countries with problems of conflicts and political instability). The search for new sources for obtaining alcohol, such as lignocelluloses materials, is also arising. Forage cactus was introduced in Brazil to support the raising of an insect known as cochonilha, which is responsible for the production of a dye that was of high commercial value at that time. Throughout the years, the use of this cactus has become very diversified, because aside from being used as forage, it produces fruit and greens for human consumption, biomass for energy reasons (fuels and biogas) and countless other products, such as beverages, vegetarian cheese, medicines and cosmetics. Furthermore, it is useful to shelter and feed various wild species that live in arid environments. Forage cactus has been arousing interest among many researchers because it is not only a greatly diffused culture and presents cellulose and hemicelluloses in its composition, and these substances can be used for obtaining fermentable sugars, but it is also a culture which is resistant to drought and can be produced all year long. The purpose of this paper was to study the process of acid pre-hydrolysis of the cactus to obtain a pre-hydrolyzed liquor, high in pentose, thus diminishing the concentration in this raw material, which is the cladode of the giant forage cactus. The cactus cladode was received at the Biochemistry Engineering Laboratory, where its moisture content was determined and a dry matter was obtained. This matter was characterized (pH, total reducing sugars, soluble solids, ashes, hemicelluloses, cellulose, lignin, and the concentration of pentose and hexoses). Two factorial designs  $2^3$  of pre-hydrolysis were performed to verify the influence of the variables of temperature, acid concentration and dry matter/acid ratio over the responses to the sum of pentose and the percentile of pentose increase, and then a preliminary hydrolysis followed by fermentation was performed. With the results to the factorial design  $2^3$ , it was verified that only the second design was statistically significant to a 95% level of confidence for the mean and the variable ratio. Operating with the ratio below 1/10, for any value of temperature and acid concentration the sum and percentile increase in pentose is obtained above 8 g/L and 8000%, respectively. During fermentation, there wasn't production of ethylic acid, probably due to the formation of inhibitors in the hydrolysis process that was demonstrated through the strong color of the hydrolyzed liquor.

**Key words:** fermentation, ethylic alcohol, liquor pre-hydrolyzed, physicochemical characterization.

## 1. INTRODUÇÃO

A crise do petróleo nos anos 70 motivou o governo a desenvolver uma forma alternativa de substituir a gasolina; nasceu, então, o PROÁLCOOL - Programa de produção de álcool etílico em larga escala, um combustível obtido a partir da fermentação do caldo da cana-de-açúcar, melaço ou ambos.

Incentivos foram oferecidos aos investidores do setor e novas unidades que produziam exclusivamente álcool etílico foram implantadas. Nos anos 80, no Brasil, 85% dos carros eram movidos exclusivamente a álcool. A produção de álcool etílico daquela década chegou a superar a produção de açúcar pelas usinas. As unidades instaladas atingiram, naquele período, capacidade para produzir 18 bilhões de litros de etanol por safra, volume este equivalente a 100 milhões de barris de gasolina.

O processo de fermentação que até então se restringia a fabricação da aguardente ou do álcool etílico como subproduto da fabricação do açúcar, passa a ocupar lugar de destaque no cenário empresarial. Em função disso, processos envolvendo conceitos de engenharia surgiram e o entendimento dos fenômenos biológicos que envolvem a fermentação foi em grande parte entendido.

Desta forma, o álcool etílico vem despertando, desde a crise do petróleo, em 1973, um crescente interesse do Governo Federal do Brasil e dos pesquisadores do mundo e, atualmente, dos governos dos países desenvolvidos, como os Estados Unidos, Alemanha, França e países em desenvolvimento, como a Índia e a China. Isto se deve às pressões do esgotamento das fontes não-renováveis de combustíveis fósseis, como também à geopolítica do mundo (maiores reservas de petróleo em países com problemas de conflitos e instabilidade política).

Com o relatório apresentado referente ao problema do efeito da poluição no meio ambiente da terra, em fevereiro de 2007, o cenário das fontes de energia renováveis voltou a ser foco de atenção dos órgãos governamentais e pesquisadores de todo o mundo.

O Ministério de Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (2006), através da Secretaria de Desenvolvimento da Produção, acompanhado da nova perspectiva global, vem somando esforços dos pesquisadores na área de biotecnologia lançando, em julho de 2006, o projeto de Estratégia Nacional de Biotecnologia, em que uma das diretrizes deste órgão é promover ações com vistas ao estabelecimento de ambiente adequado ao desenvolvimento de produtos e processos inovadores no segmento industrial, de forma a estimular o aumento da eficiência da estrutura produtiva nacional, a capacidade de inovação das empresas brasileiras e a expansão das exportações.

Sendo o Brasil um país de dimensões favoráveis para o cultivo agrícola, uma alternativa altamente recomendável é conferir, às futuras usinas produtoras de álcool etílico combustível, caráter polivalente, ou seja, torná-las capazes de operar com diferentes gamas de matérias-primas potencialmente disponíveis na região aumentando, desta forma, a eficiência da estrutura produtiva e a capacidade de inovação e da expansão das exportações do país, segundo as diretrizes do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (2006), no plano de Estratégia Nacional de Biotecnologia.

O êxito da substituição de derivados do petróleo na forma líquida no Brasil, a partir de 1993, com o Proálcool, garantiu ao país uma fonte renovável e limpa. Com o “know-how” da capacidade técnica da produção ocorreu a viabilização da produção de álcool etílico em maior quantidade possível de matérias-primas agrícolas alternativas à cana-de-açúcar. A cultura agrícola da cana-de-açúcar apresenta caráter sazonal (6 meses de safra), aumentando o custo final do litro de álcool produzido e onerando os custos de produção em virtude de uma ociosidade no investimento da ordem de seis meses.

Um novo paradigma mundial em combustíveis e energia renováveis é a produção de etanol de materiais lignocelulósicos (BASTOS, 2007).

Para a produção do etanol utilizando-se da biomassa lignocelulósica, são necessárias quatro etapas de operação, diferentemente de matérias-primas açucaradas, como cana-de-açúcar e frutas, são elas: pretratamento, hidrólise ácida ou enzimática, fermentação alcoólica e destilação.

Dentre as etapas da produção de etanol a partir da biomassa lignocelulósica tem-se, como desafios, a redução do custo da hidrólise enzimática, ou seja, redução dos custos das enzimas e, na hidrólise ácida, a minimização da presença da formação de substâncias inibidoras da fermentação alcoólica (BASTOS, 2007; PEREIRA Jr., 2006).

A fermentação alcoólica do licor hidrolisado da matéria-prima lignocelulósica é, atualmente, uma das etapas mais críticas do processo, pois na hidrólise, há formação de inibidores da levedura, agente da produção de etanol. O teor de inibidores no licor após o tratamento ácido, depende da natureza da matéria-prima utilizada (ROSSELL, 2006).

Dentre as muitas culturas alternativas à produção de álcool etílico, a palma forrageira vem despertando interesse de muitos pesquisadores por ser uma cultura bastante difundida e apresentar celulose e hemicelulose em sua composição, substâncias que podem ser utilizadas para obtenção de açúcares fermentescíveis.



A introdução da palma forrageira no Brasil (*Opuntia ficus-indica* Mill) se deu por volta do século XIX, servindo de suporte para a criação de um inseto conhecido como Cochonilha (*Dactylopius coccus*) originário do México, que produz um corante utilizado em inúmeros produtos, como sobremesas, bebidas, roupas, chás, etc. (ARAÚJO et al., 2005a,b).

Atualmente, esta cultura vegetal se presta às mais diversas utilidades, por ser amplamente difundida, de fácil plantio, altamente resistente à seca. A palma forrageira pode ser utilizada na alimentação humana, alimentação animal, adesivos e colas, fibras para artesanato, papel, corantes, mucilagem para a indústria alimentícia e ornamental (ALMEIDA NETO et al., 2005).

Com isto, o esforço na busca de alternativas para a produção de álcool se apresenta bastante atrativa para o setor. Endossado pela preocupação mundial, que desponta acentuadamente no sentido da busca de alternativas para tecnologias e combustíveis que sejam renováveis e possuam menor impacto ambiental, a busca por um aproveitamento melhor da cultura da palma forrageira, tem incentivado pesquisadores do Nordeste brasileiro no estudo de maximizar a ampliação do aproveitamento dessa cultura.

Com tal filosofia, busca-se utilizar a palma forrageira em escala industrial para atender às necessidades de desenvolvimento socioeconômico e tecnológico da região. E dentre estas possíveis inovações surge, como proposta, a produção de álcool etílico, por fermentação alcoólica utilizando-a, que pode vir a complementar a produção deste combustível em períodos de entressafra, aumentando o tempo de operação das unidades fabris (usinas).

## **1.1. Objetivos**

### **1.1.1. Objetivo geral**

Estudar o processo de pré-hidrólise ácida utilizando-se da matéria-prima lignocelulósica cladódio da palma forrageira e realizar uma hidrólise ácida preliminar para produção de licor hidrolisado visando à fermentação alcoólica para produção de álcool etílico.

### **1.1.2. Objetivos específicos**

- Realizar a caracterização físico-química da matéria-prima palma forrageira (pH, cinzas, umidade, celulose, hemicelulose, lignina, sólidos solúveis, açúcares redutores totais (ART));

- Estudar a pré-hidrólise ácida verificando a influência das variáveis temperatura, concentração de ácido e razão massa seca de palma/ácido sobre o processo (concentração total e percentual de aumento de pentoses – xilose e arabinose), utilizando-se da metodologia de planejamento fatorial;

- Realizar a caracterização físico-química do pré-hidrolisado;

- Estudar a hidrólise ácida nas condições otimizadas da pré-hidrólise;

- Estudo preliminar da fermentação alcoólica do licor hidrolisado.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Palma forrageira

A palma forrageira pertence à Divisão: Embryophyta, Sub-divisão: Angiospermea, Classe: Dicotyledoneae, Sub-classe: Archiclamideae, Ordem: Opuntiales e família das cactáceas; nesta família existem 178 gêneros com cerca de 2.000 espécies conhecidas. Todavia, nos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* estão presentes as espécies de palma mais utilizadas como forrageiras (SILVA & SANTOS, 2007).

A palma foi introduzida no Brasil em meados do século XIX para servir como suporte à criação de um inseto chamado cochonilha, do qual se extrai um corante de alto valor comercial (DATAMÉTRICA, 2004).

No semiárido nordestino a palma se consolidou como forrageira estratégica para diversos sistemas de produção pecuário. No entanto, é uma planta de enorme potencial produtivo e de múltiplas utilidades. Ela é a planta mais explorada e distribuída nas zonas áridas e semiáridas do mundo. Sua real dimensão produtiva ainda não foi plenamente conhecida no Nordeste, onde a maior área se concentra no agreste e no sertão dos estados de Alagoas e Pernambuco (LEITE, 2006).

O uso da palma forrageira é bastante diversificado. Além de servirem como forragem, elas produzem frutas e verduras para consumo humano, biomassa para fins energéticos (combustível e biogás), cochonilha para a produção do corante de carmim e inúmeros produtos como bebidas, queijo vegetariano, remédios e cosméticos. Elas servem ainda para abrigar e alimentar várias espécies selvagens que vivem em ambientes áridos (SEBRAE, 2001).

A cultura vegetal da palma se presta às mais diversas utilidades, por ser amplamente difundida, de fácil plantio, altamente resistente à seca. A palma forrageira pode ser utilizada na alimentação humana, alimentação animal, adesivos e colas, fibras para artesanato, papel, corantes, mucilagem para a indústria alimentícia e ornamental (ALMEIDA NETO et al., 2005).

A Tabela 1 mostra a utilização e aplicação potencial da palma forrageira.

**Tabela 1:** Usos e aplicações potenciais da palma forrageira

<b>Usos/Aplicações</b>	<b>Partes da Planta</b>
Alimento humano	Frutos - frescos ou processados (passa, sucos, polpa, vinho, licor, compota, melão, geléia, purês, adoçantes líquidos, etc.). Cladódios – jovens frescos (verduras), processados em salmoura ou em vinagre, pré-cozidos congelados, geléias, doces. Sementes – óleo comestível.
Alimento animal	Cladódios, frutos e sementes – forragem em pastejo ou cocho.
Agrícola	Planta – proteção e conservação dos solos (cercas-vivas, quebra-ventos, matéria orgânica).
Medicinal	Raízes – diurese. Cladódios – diarreia, diabetes, colesterol, anti-inflamatório. Fibras e mucilagem – obesidade. Flores – diurese e disenteria.
Energia	Cladódios – etanol, biogás e lenha. Frutos – etanol e biogás.
Cosmética	Cladódios – xampu, sabonetes, creme umectante, adstringentes, loções.
Outros	Planta – ornamental. Cladódios – adesivos, colas, pectinas, fibras, papel, antitranspirante, corante, mucilagem, frutos e corantes.

Fonte: SEBRAE (2001)

Segundo Albuquerque (2004) a palma é uma forrageira diferente de todas as outras, a começar pela grande quantidade de água que concentra nos seus tecidos, ou seja, cerca de 90%; apenas 10% da sua composição são constituídas por matéria seca; trata-se de excelente fonte de energia, rica em carboidratos não fibrosos, 61,79%, e nutrientes digestíveis totais, 62%.

Os valores para os teores de matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido são baixos, no entanto, apresentam teores razoáveis de carboidratos totais, carboidratos não-fibrosos, carboidratos não-estruturais e matéria mineral (ARAÚJO, 2004).

Outra utilidade da palma forrageira é como absorvedor de CO<sub>2</sub> da atmosfera. De acordo com Parry (1990) o aumento na plantação de palma forrageira pode ser uma estratégia para dificultar o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> na atmosfera, onde várias iniciativas de reflorestamento resultarão em depósitos de carbono reduzido e maior uso de combustíveis vegetais pode ajudar a substituir os combustíveis fósseis, que são os responsáveis pelas principais alterações da composição do ar atmosférico. Com o uso da palma forrageira para fins energéticos, os combustíveis dela derivados liberariam uma quantidade de CO<sub>2</sub> igual à absorvida da atmosfera durante seu crescimento.

No Nordeste do Brasil se encontram três tipos distintos de palma: gigante, redonda e miúda.

A palma gigante, chamada também graúda, azeda ou santa, pertence à espécie *Opuntia ficus-indica*. São plantas de porte bem desenvolvido e caule menos ramificado, o que lhes transmitem um aspecto mais ereto e crescimento vertical pouco frondoso; o cladódio pesa cerca de 1 kg, apresentando até 50 cm de comprimento, forma oval-elíptica ou subovalada, coloração verde-fosco; as flores são hermafroditas, de tamanho médio, coloração amarelo-brilhante e cuja corola fica aberta na antese; o fruto é uma baga ovóide, grande, de cor amarela, passando a roxa, quando madura. Esta palma é considerada a mais produtiva e mais resistente às regiões secas, no entanto, é menos palatável e de menor valor nutricional (SILVA & SANTOS, 2007).

Palma redonda (*Opuntia* sp.) é originada da palma gigante; são plantas de porte médio e caule muito ramificado lateralmente prejudicando, assim, o crescimento vertical; seu cladódio pesa cerca de 1,8 kg, possuindo quase 40 cm de comprimento, de forma arredondada e ovóide. Apresenta grandes rendimentos de um material mais tenro e palatável que a palma gigante (SILVA & SANTOS, 2007).

A palma doce ou miúda é da espécie *Nopalea cochenilifera*. São plantas de porte pequeno e caule bastante ramificado, cujo cladódio pesa cerca de 350 g, possuem quase 25 cm de comprimento, forma acentuadamente obovada (ápice mais largo que a base) e coloração verde intenso brilhante; as flores são vermelhas e a corola permanece meio fechada durante o ciclo; o fruto é uma baga de coloração roxa. Comparando-a com as duas anteriores, esta é a mais nutritiva e apreciada pelo gado (palatável), porém apresenta menor resistência à seca (SILVA & SANTOS, 2007).

Tem-se, na Tabela 2, a composição químico-bromatológica dos diferentes tipos de palma.

**Tabela 2:** Composição químico-bromatológica da palma forrageira

Gênero	MS%	PB	FDN	FDA	CHT	CNF	CNE	MM	Autores
<i>Opuntia</i> (R)	10,40	4,20	---	---	---	---	---	---	Santana et al. (1972)
<i>Opuntia</i> (G)	9,40	5,61	---	---	---	---	---	---	Santos (1989)
<i>Opuntia</i> (R)	10,93	4,21	---	---	---	---	---	---	Santos (1989)
<i>Nopalea</i> (M)	16,56	2,55	---	---	---	---	---	---	Santos (1989)
<i>Opuntia</i> (G)	12,63	4,45	26,17	20,05	87,96	61,79	---	6,59	Andrade (2001)
<i>Opuntia</i> (G)	8,72	5,14	35,09	23,88	86,02	50,93	---	7,98	Magalhães (2002)
<i>Opuntia</i> (G)	7,62	4,53	27,69	17,93	83,32	55,63	---	10,21	Araújo (2002)
<i>Nopalea</i> (M)	13,08	3,34	16,60	13,66	87,77	71,17	---	7,00	Araújo (2002)
<i>Opuntia</i> (G)	10,70	5,09	25,37	21,79	78,60	53,23	---	14,24	Melo (2002)
<i>Opuntia</i> (G)	14,40	6,40	28,10	17,60	77,10	---	50,00	14,60	Batista et al. (2003)
<i>Nopalea</i> (M)	12,00	6,20	26,90	16,50	73,10	---	47,40	18,60	Batista et al. (2003)

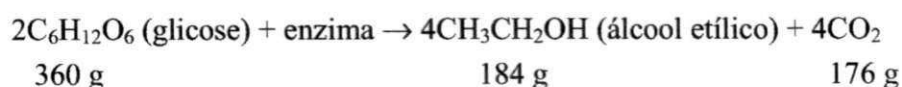
MS - Matéria Seca; PB - Proteína Bruta; FDN - Fibra em Detergente Neutro; FDA - Fibra em Detergente Ácido; CHT - Carboidratos Totais; CNF - Carboidratos não-fibrosos; CNE - Carboidratos não-estruturais; MM - Matéria mineral; R - Palma redonda; G - Palma gigante; M - Palma miúda.

Fonte: SILVA & SANTOS (2007)

## 2.2. Produção de álcool etílico

A fermentação alcoólica é um processo em que ocorre a transformação de substratos açucarados em álcool etílico e dióxido de carbono pelos fungos, denominados levedura. Esta é a principal maneira de produção de álcool etílico no Brasil (LIMA et al., 2001).

A reação química global que ocorre no processo de fermentação alcoólica está apresentada na Equação 1 (OSTROWSKI et al., 2006).



Rendimento teórico: 1 g de glicose produz 0,511 g de álcool etílico.

As principais matérias-primas utilizadas para produção de álcool etílico são: cana-de-açúcar, beterraba açucareira, alcachofra de Jerusalém, sorgo sacarino, frutas (maçã, banana, caquis, abacaxi, laranjas, uvas, etc.) e materiais amiláceos (MACEDO, 1993).

Durante o processo fermentativo seu estudo cinético pode ser realizado, consistindo de uma análise de evolução dos valores de concentração de um ou mais componentes do sistema de cultivo, em função do tempo de fermentação, sendo esses componentes a concentração dos microrganismos (X), os produtos (P) do metabolismo e os substratos (S) que compõem o meio de cultura (SCHMIDELL et al., 2001).

Em determinado tempo de fermentação é possível relacionar os valores de X, S e P entre si, através de fatores de conversão, mostrados nas Equações 1, 2 e 3 (SCHMIDELL et al., 2001).

$$Y_{X/S} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \quad (1)$$

$$Y_{X/P} = \frac{X - X_0}{P - P_0} \quad (2)$$

$$Y_{P/S} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad (3)$$

Donde:

$Y_{X/S}$  – rendimento de biomassa com relação ao substrato

$Y_{X/P}$  – rendimento de biomassa com relação ao produto

$Y_{P/S}$  – rendimento do produto com relação ao substrato

$P_0$  – concentração do produto inicial

$P$  – concentração do produto final

$X_0$  – concentração do microrganismo inicial

$X$  – concentração do microrganismo final

$S_0$  – concentração do substrato inicial

$S$  – concentração do substrato final

### 2.3. Bioetanol de materiais lignocelulósicos

Toda matéria orgânica não fóssil e de origem vegetal ou animal que pode ser explorada para fins energéticos, é denominada biomassa. A biomassa é, assim, um enorme reservatório de energia incluindo-se resíduos florestais, resíduos agroindustriais e provenientes da indústria transformadora da madeira, resíduos urbanos, resíduos de origem

animal, entre outros, que podem ser convertidos em diferentes formas de energia (calor, eletricidade, combustíveis rodoviários) (ADENE & AREAC, 2005).

A biomassa lignocelulósica é composta, basicamente, de celulose, hemicelulose, lignina e pequenas quantidades de extrativos e sais minerais. A celulose, principal componente da parede celular da fibra vegetal, é um polímero linear de D-glicose cujas unidades estão unidas por ligações  $\beta$  com uma estrutura cristalina altamente ordenada e de alta massa molecular. A lignina é composta de um conjunto de polímeros amorfos reticulares de alta massa molecular, geralmente associado à celulose e à hemicelulose, com estrutura química fortemente aromática. As hemiceluloses são macromoléculas ramificadas compostas de polissacarídeos de baixa massa molecular, associadas à parede celular das plantas com a celulose e a lignina. São heteroglicanos constituídos por, relativamente, poucos resíduos de açúcar, sendo os mais comuns a D-xilose, D-manose, D-galactose, D-glicose e L-arabinose, que conferem características aos diferentes tipos de hemicelulose, como arabinogalactana, galactoglicomanana, glicomanana e arabinóxilana (CARVALHO et al., 2005).

Os materiais lignocelulósicos podem ser convertidos, através de processos químicos e bioquímicos, em combustíveis líquidos, entre eles o bioetanol. A produção deste combustível é realizada através da fermentação de açúcares, geralmente a partir de três tipos de matérias-primas, açúcar de cana ou de beterraba, cereais (mediante fermentação dos açúcares do amido) e biomassa lenhosa (mediante a fermentação dos açúcares contidos na celulose e na hemicelulose) (ADENE & AREAC, 2005).

A produção de álcool etílico com base na biomassa lignocelulósica utiliza processos químicos (empregando-se ácidos) ou da biotecnologia moderna (empregando-se enzimas) para a quebra de moléculas de celulose e produção de açúcares, para então produzir o álcool etílico por meio de processos fermentativos alcoólicos da biotecnologia convencional (BASTOS, 2007).

A hidrólise ácida é o processo mais comum utilizado para quebrar as moléculas de celulose e hemicelulose em açúcares pois, apesar de a hidrólise enzimática proporcionar um rendimento de 100%, ela não permite o desenvolvimento de um processo economicamente viável. O processo ácido oferece as vantagens de atuação específica sem degradação prévia e tempos reduzidos de reação, sendo realizada com ácidos concentrados ou diluídos e seus principais problemas são relacionados à corrosão e recuperação do ácido (DUARTE, 1989).

Durante a hidrólise ácida vários compostos que podem funcionar como inibidores da fermentação são originados, devido às altas temperaturas e condições ácidas. Esses



inibidores dependem da matéria-prima utilizada e se agrupam em três categorias: derivados do furano, ácidos alifáticos de baixa massa molecular e derivados fenólicos (ROSSELL, 2006).

O processo de hidrólise de materiais lignocelulósicos para a produção do álcool etílico como combustível, surge como alternativa para substituição dos combustíveis derivados de substâncias fósseis e redução da emissão de CO<sub>2</sub> na atmosfera. Existem, basicamente, dois tipos de álcool etílico carburante, o anidro e o hidratado; ambos são combustíveis usados em veículos de passeio e comerciais leves que diferem quanto ao uso. O álcool anidro, ou álcool etílico anidro carburante (AEAC), é praticamente puro, com teor alcoólico entre 99,3 e 99,8% a 20 °C. Este álcool é utilizado como aditivo que aumenta o teor de oxigenados na gasolina. No Brasil, a mistura é atualmente de 25%; já o álcool hidratado ou álcool etílico hidratado carburante (AEHC), contém teor alcoólico entre 92,6 e 93,8% a 20 °C, sendo o restante água, razão por que seu, “hidratado”, sendo utilizado diretamente nos automóveis conhecidos como “carros 100% a álcool” ou “dedicados” (SCANDIFFIO, 2005).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

A pré-hidrólise ácida da palma forrageira foi realizada no Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal de Campina Grande e seguiu as seguintes etapas: recepção e seleção, lavagem, trituração, secagem, caracterização da matéria seca e pré-hidrólise, sendo o licor pré-hidrolisado posteriormente caracterizado.

Com o material sólido proveniente do processo da pré-hidrólise foram realizadas, para avaliação preliminar, uma hidrólise ácida e uma fermentação alcoólica com o licor hidrolisado.

#### **3.1. Recepção e seleção**

Consistiram em receber a palma (gigante) proveniente do sítio José da Banha, no Distrito de Caluête, Município de Boa Vista, cariri paraibano, no local de processamento (LEB) e fazer sua seleção para evitar a utilização de matérias-primas defeituosas, estragadas e, principalmente, matérias que já se encontrem em estado de fermentação.

#### **3.2. Lavagem**

Realizou-se a lavagem dos cladódios da palma com água clorada para eliminar as sujeiras mais grosseiras e os microrganismos a eles aderidos, deixando-os na solução durante 15 minutos. Após a lavagem com água clorada a palma foi submetida a lavagem em água corrente para eliminar a sujeira fina e os resíduos de cloro.

#### **3.3. Trituração**

Os cladódios da palma foram triturados utilizando-se um liquidificador para obtenção da polpa.

#### **3.4. Secagem**

Após a trituração a palma foi colocada em bandejas de plástico e levada à estufa com circulação de ar, por 72 h, na temperatura de 55 °C para obtenção da matéria seca, pesando-se a mesma até massa constante, que foi triturada novamente e armazenada em recipientes de plástico hermeticamente fechados.

### 3.5. Caracterização

Coletou-se uma pequena quantidade da palma seca para se fazer sua caracterização, que consistiu em analisar as concentrações de açúcares redutores totais (ART), sólidos solúveis, cinzas, pH, concentração de pentoses e hexoses para as diluições utilizadas no planejamento, celulose, hemicelulose, lignina e umidade, esta determinada antes do processo de secagem dos cladódios.

#### 3.5.1. Açúcares redutores totais (ART)

Esses açúcares foram determinados seguindo-se o método do DNS (ácido 3,5-dinitro salicílico), MILLER (1959), que se baseia na redução do ácido 3,5 a ácido 3-amino-5-nitrosalicílico, concomitantemente com a oxidação do grupo aldeído do açúcar a grupo carboxílico. Após aquecimento a solução se torna avermelhada, sendo lida no espectrofotômetro a 540 nm, conforme procedimento da Embrapa CNPAT.

#### 3.5.2. Sólidos solúveis

Adicionaram-se 9 mL de água destilada a 1 g da matéria seca, agitou-se até perfeita homogeneização e foi deixada em suspensão por 30 minutos. Após este período a suspensão foi filtrada com algodão e feita sua leitura em refratômetro, em que o resultado foi multiplicado por dez devido à diluição, para determinar o teor de sólidos solúveis da matéria seca.

#### 3.5.3. Cinzas

Cadinhos de porcelana vazios foram colocados na mufla a 550 °C, durante 15 minutos. Depois em dessecador, até atingir a temperatura ambiente e pesados vazios e, em seguida, com 1,0 g da amostra. Logo após a pesagem, foram levados à mufla durante cinco horas, também a 550 °C, até se obter cinza clara. Por fim, foram postos no dessecador até a temperatura ambiente e novamente pesados (BRASIL, 2005).

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{\text{massa final da amostra}}{\text{massa inicial da amostra}} \times 100 \quad (4)$$

#### 3.5.4. pH

Preparou-se uma suspensão com 10 mL de água destilada e 0,5 g da amostra sólida. Após homogeneização a suspensão foi deixada em repouso por um período de 30 min,

depois, o pH foi mensurado em potenciômetro digital, previamente calibrado com as soluções padrões (BRASIL, 2005).

### 3.5.5. Umidade

Para a análise de umidade (base úmida), 4 gramas da amostra foram pesados em cadinho de porcelana previamente seco e tarado, os quais foram colocados em estufa a 105 °C, por 24 h (BRASIL, 2005).

$$\text{Umidade(\%)} = \frac{(\text{massa inicial} - \text{massa final da amostra})}{\text{massa inicial da amostra}} \times 100 \quad (5)$$

### 3.5.6. Concentração de pentoses e hexoses

A concentração das pentoses e hexoses da palma para as diluições utilizadas nos planejamentos foi realizada através de cromatografia líquida, utilizando-se do HPLC. Estas análises foram realizadas pela EMBRAPA/CE.

Os dados do cromatógrafo e as condições das operações foram as seguintes:

- Cromatógrafo Líquido equipado com duas bombas modelo ProStar 210 (Varian);
- Injetor manual modelo 7725 (Rheodyne) com loop de 20µL;
- Detector de índice de refração modelo ProStar 355 (Varian);
- Coluna analítica de aço inox Metacarb 87P (300mm x 7,8 mm; Varian) e precoluna de aço inox Metacarb 87P (Varian);
- Temperatura da coluna de 60°C;
- Fase móvel: água miliQ com vazão de 0,6 ml/min;
- Tempo de análise: 25 minutos

### 3.5.7. Concentração de extrativos, celulose, hemicelulose e lignina

Realizou-se a determinação da concentração de extrativos de acordo com a norma TAPPI T-204 om-88 (TAPPI, 1996).

As concentrações de holocelulose e celulose foram determinadas segundo a NCSU (1989), e a de hemicelulose o foi pela diferença entre holocelulose e celulose.

A determinação da concentração de lignina foi determinada conforme a norma TAPPI T-222 om-88 (TAPPI, 1996).

### 3.6. Pré-hidrólise ácida

Utilizaram-se, com adaptação para a matéria-prima palma forrageira, as metodologias empregadas na hidrólise ácida do bagaço de cana-de-açúcar (ROSSELL, 2006; BASTOS, 2007) e de hidrólise ácida da casca da aveia (TAMANINI et al., 2004).

A metodologia de planejamento fatorial  $2^3$  foi empregada com três experimentos no ponto central, para verificar a influência das variáveis de entrada (temperatura da pré-hidrólise, concentração de ácido sulfúrico e relação massa seca da raquete da palma forrageira/ácido) sobre a eficiência (soma e percentual de aumento das concentrações de pentoses).

Calcularam-se a soma das pentoses somando-se a concentração de xilose e arabinose no licor pré-hidrolisado e o percentual de aumento de pentoses, somando-se a concentração de pentoses no licor hidrolisado, subtraindo-se da soma da concentração de pentoses na solução diluída da matéria seca na proporção do experimento e dividindo-se pela soma da concentração de pentoses na solução diluída da matéria seca na proporção do experimento.

Realizaram-se, para a pré-hidrólise deste trabalho, dois planejamentos fatoriais, variando entre eles apenas a concentração de ácido, sendo o segundo realizado com concentrações inferiores às do primeiro.

Na Tabela 3 se tem a matriz de planejamento fatorial completo e nas Tabelas 4 e 5 os níveis das variáveis de entrada codificados e reais.

**Tabela 3:** Matriz de planejamento fatorial  $2^3$

<b>Experimento</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Concentração de ácido</b>	<b>Relação massa seca de palma/ácido</b>
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0

**Tabela 4:** Níveis codificados e reais das variáveis independentes para o primeiro planejamento

Variáveis	-1	0	+1
Temperatura (°C)	90	105	120
Concentração de ácido (%)	2	5	8
Relação massa seca do cladódio de palma/ácido (m/m)	1:8	1:10	1:12

**Tabela 5:** Níveis codificados e reais das variáveis independentes para o segundo planejamento

Variáveis	-1	0	+1
Temperatura (°C)	90	105	120
Concentração de ácido (%)	1	3	5
Relação massa seca do cladódio de palma/ácido (m/m)	1:8	1:10	1:12

Utilizaram-se os valores das temperaturas apresentados na Tabela 4, visando-se adaptar a pré-hidrólise do farelo de cevada, folhas de milho e da madeira de *Eucalyptus globulus*, estudada por Cruz et al. (2000), à pré-hidrólise da palma forrageira. Segundo Sun e Cheng (2002) citados por Tamanini e Haully (2004) temperaturas brandas, abaixo de 160°C, favorecem a hidrólise de xilanas em xilose.

Com relação ao ácido, as concentrações foram utilizadas visando-se também adaptar as concentrações estudadas por Cruz et al. (2000) e, para a razão massa seca/ácido, esses valores foram utilizados com base em experimentos preliminares.

Para os valores das variáveis apresentados na Tabela 5, foram utilizados os mesmos da Tabela 4 para a temperatura e a razão massa seca/ácido, com modificações nas concentrações de ácido, pois se constatou um forte escurecimento do licor pré-hidrolisado com concentrações acima de 5%.

### 3.7. Caracterização da palma e do licor pré-hidrolisado

Determinou-se a concentração dos açúcares (arabinose, xilose, glicose e frutose) através de cromatografia líquida, utilizando-se do HPLC, tanto para a palma *in natura* quanto para o licor pré-hidrolisado visando à determinação da variável resposta do planejamento fatorial.

### **3.8. Hidrólise ácida preliminar**

A hidrólise ácida da palma forrageira foi realizada em reator de aço inox, a uma temperatura de 190 °C, retirando-se o material sólido resultante da pré-hidrólise, lavando-o com água destilada e, no material remanescente, adicionou-se o ácido na concentração e razão determinadas para os melhores resultados obtidos na pré-hidrólise.

### **3.9. Fermentação alcoólica preliminar**

A fermentação alcoólica preliminar foi realizada no licor hidrolisado, após centrifugação, em um Becker de 1 L, utilizando-se a *Sacharomices cerevisiae* comercial. Antes de se adicionar o microrganismo ao licor, ele foi corrigido adicionando-se hidróxido de sódio para correção do pH, sulfato de amônio e fosfato de potássio visando à suplementação dos nutrientes.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo estão apresentados os resultados da caracterização da palma forrageira e dos planejamentos fatoriais realizados para os dois casos e as discussões inerentes a cada um.

### 4.1. Caracterização da palma forrageira

Na Tabela 6 se encontram os dados físico-químicos da palma forrageira referentes à umidade, pH, concentração de açúcares redutores totais, cinzas, sólidos solúveis totais, celulose, hemicelulose e lignina.

**Tabela 6:** Dados físico-químicos da palma forrageira

<b>Componentes</b>	<b>Resultados</b>
Umidade (%)	91,49
pH	4,12
ART (g/L)	5,20
Cinzas (%)	9,16
Sólidos solúveis (°Brix)	3,27
Celulose (%)	20,39
Hemicelulose (%)	5,93
Lignina (%)	4,77

Os valores apresentados na Tabela 6 foram determinados em base seca.

Encontram-se na Tabela 7 os valores das concentrações de xilose e arabinose da matéria-prima *in natura* para as diluições utilizadas no planejamento.

**Tabela 7:** Concentrações de xilose e arabinose da matéria *in natura* nas diluições do planejamento

<b>Componentes</b>	<b>Concentração (mg/L)</b>
Xilose (diluição 1:8)	4,69
Xilose (diluição 1:10)	101,24
Xilose (diluição 1:12)	224,50
Arabinose (diluição 1:8)	80,89
Arabinose (diluição 1:10)	725,07
Arabinose (diluição 1:12)	828,30

Analisando-se os valores de celulose, hemicelulose, lignina e umidade apresentados na Tabela 6, constata-se que os mesmos são similares aos encontrados por outros pesquisadores, como Araújo (2004), que trabalhou com a palma forrageira e obteve concentração de 7,2% de hemicelulose; Cavalcanti et al. (2006) o valor de 4,27% de



lignina e Tosto et al. (2007) obtiveram uma concentração de 3,3% de hemicelulose, 21,15% de celulose, 4,62% de lignina e 92,17% de umidade.

Tamanine & Haully (2004) estudando resíduos agroindustriais para a produção biotecnológica de xilitol, encontraram as concentrações de celulose, hemicelulose e lignina, em base seca, de 23, 32,7 e 24,4 para farelo de cevada e 31,7, 34,7 e 20,3 para sabugo de milho, respectivamente. Comparando-se esses valores com os do presente trabalho, verifica-se que a palma forrageira apresenta percentual com base na matéria seca de (20,39%) de celulose, um pouco inferior ao dos materiais estudados pelos referidos autores (farelo de cevada e sabugo de milho); entretanto, a hemicelulose e a lignina na palma forrageira apresentam concentrações bem menores que os resíduos estudados pelos citados trabalhos.

## 4.2. Análise do pré-tratamento

### 4.2.1. Primeiro planejamento

Os resultados das análises do pré-tratamento estão representados na Tabela 8.

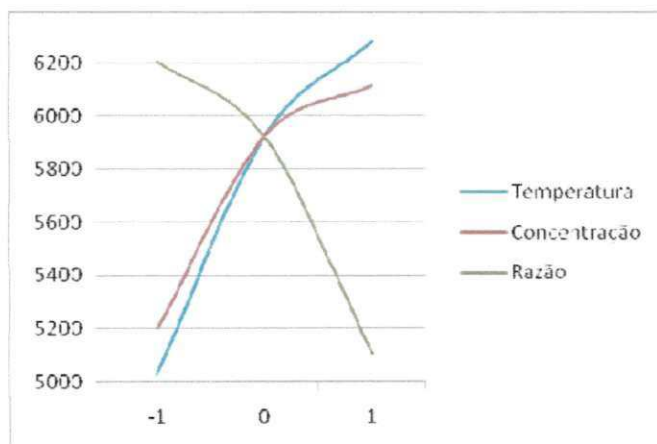
**Tabela 8:** Concentração de xilose, arabinose, soma das pentoses e percentagem de aumento

Experimento	Xilose (mg/L)	Arabinose (mg/L)	Soma (mg/L)	Percentual de aumento
1	107,32	5970,25	6077,57	7001,50
2	549,21	4863,12	5412,34	6224,20
3	1303,53	4175,23	5478,77	6301,82
4	2342,49	5505,68	7848,17	9070,41
5	46,73	3775,56	3822,28	263,06
6	1271,02	4209,12	5480,14	420,53
7	1129,48	3605,48	4734,96	349,75
8	1689,13	4695,05	6384,18	506,40
9	737,71	4566,54	5304,26	541,92
10	692,06	6945,54	7637,06	824,24
11	773,06	4049,74	4822,80	483,65

A partir dos resultados da Tabela 8, verificou-se, por meio de análises estatísticas, ao nível de 95% de confiança, que o modelo linear não é estatisticamente significativo.

Utilizou-se da média dos níveis em estudo (-1, 0, +1) para as três variáveis estudadas (temperatura, concentração de ácido e razão), desconsiderando-se suas interações, ou seja, calculando-se a influência individual de cada variável, buscando observar tendências da resposta soma das pentoses (xilose e arabinose).

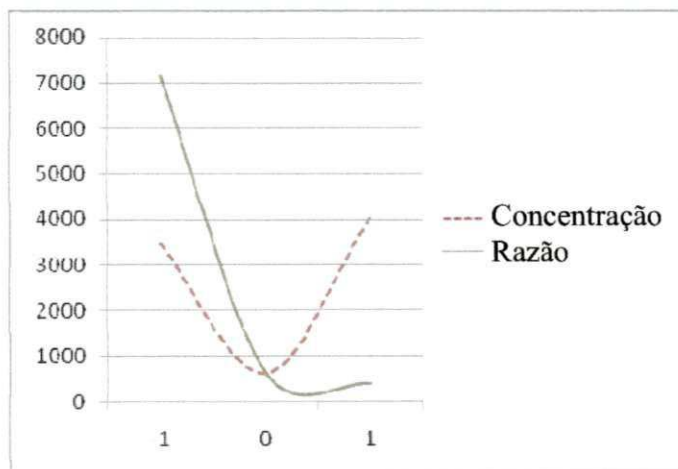
A Figura 1 apresenta os perfis das médias da influência das variáveis controladas estudadas sobre a resposta soma das pentoses.



**Figura 1:** Influência individual das variáveis temperatura, concentração de ácido e razão entre a massa seca e a massa de ácido sobre o somatório da concentração de xilose e arabinose no licor hidrolisado.

Analisando a Figura 1, observa-se que o aumento da temperatura e da concentração de ácido propicia um aumento no somatório das concentrações de xilose e arabinose no pré-tratamento. Observa-se ainda que, ao contrário da influência da temperatura e da concentração, o aumento na razão entre a massa seca e a massa de ácido acarreta em diminuição no somatório das concentrações de xilose e arabinose no pré-tratamento.

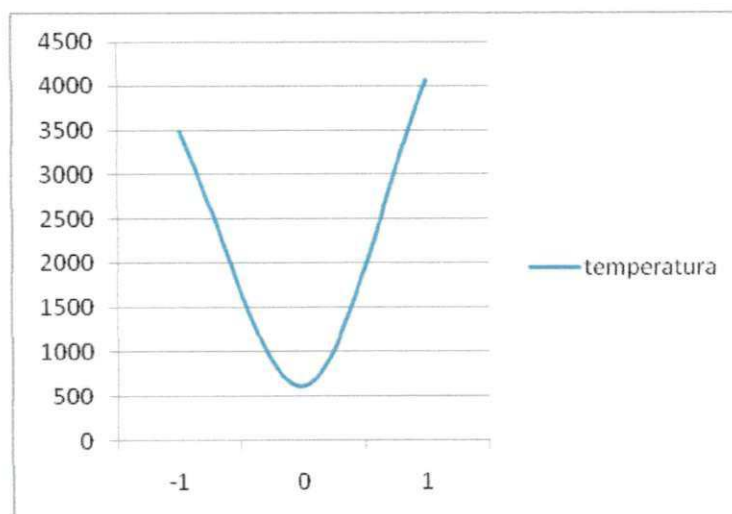
Apresentam-se, na Figura 2, as curvas de percentual de aumento de xilose + arabinose sobre o valor do início da pré-hidrólise (colocada uma amostra idêntica da palma forrageira com o volume diluído de água para ser referência, ou seja, se havia lixiviação das pentoses para o líquido, sem se haver colocado o ácido).



**Figura 2:** Influência individual das variáveis concentração e razão entre a massa seca e a massa de ácido sobre o percentual de aumento da concentração de xilose e arabinose no licor hidrolisado.

Em relação à concentração de ácido, observou-se, na Figura 2, que o percentual de aumento de pentoses passa por um mínimo no ponto central (5% de ácido sulfúrico na solução) e volta a aumentar. Com relação à variável razão, verifica-se uma grande redução do percentual de aumento das pentoses com o aumento desta variável.

Construiu-se um gráfico que representa a curva da influência da temperatura sobre o aumento percentual. A Figura 3 representa esta curva.



**Figura 3:** Influência individual da temperatura sobre o percentual de aumento.

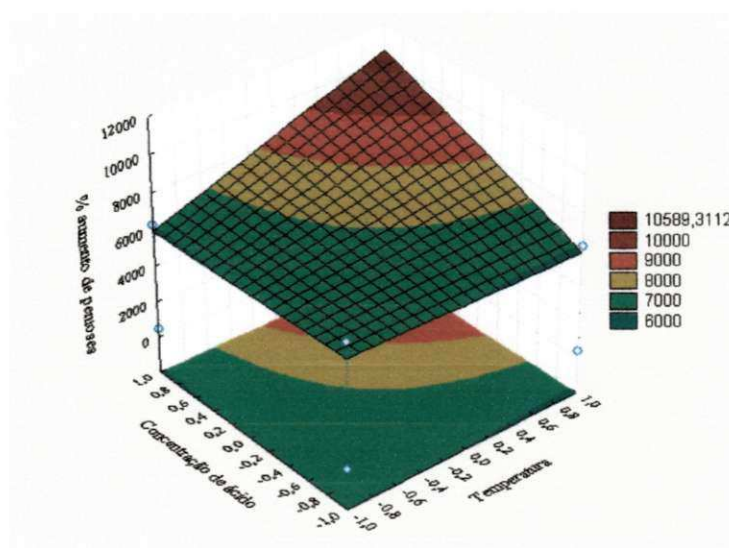
Observou-se que a curva que representa a influência da temperatura sobre o aumento percentual possui um ponto de mínimo no ponto central (105 °C), perfil semelhante ao observado na variável concentração de ácido.

Como as variáveis temperatura e concentração de ácido apresentaram um mínimo no ponto central, buscou-se estudar a matriz de planejamento realizada para a resposta percentual de aumento de pentoses utilizando-se da metodologia de checar a curvatura (tendência de um modelo não linear). Assim, utilizando-se do programa de regressão não linear dos dados experimentais da resposta percentual de aumento de pentoses, Programa Statistica 5.0, encontrou-se o modelo com curvatura apresentado abaixo.

$$\text{Percentual de aumento de pentoses} = \mathbf{4598,20} - \mathbf{4085,40} \text{ curvatura} + 1093,21 \text{ Temperatura} + 1122,09 \text{ Concentração ácido} - \mathbf{2526,35} \text{ Razão} + 1249,46 \text{ (temperatura} \times \text{concentração)} \text{ com o coeficiente de variação explicada de 94\%} \quad (6)$$

O modelo é estatisticamente significativo ao nível de 95% de confiança, pois a relação  $F_{\text{calculado}}$  por  $F_{\text{tabelado}}$  está acima de 1 (RODRIGUES & IEMMA, 2005). Os coeficientes do modelo em negrito são os estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança. Observou-se que apenas a média, o coeficiente de curvatura e a razão, são estatisticamente significativos.

A superfície de resposta (Figura 4) foi construída para observar tendências, haja vista que se deve procurar alargar os níveis das variáveis em estudo (pontos axiais) para buscar um modelo quadrático que possa prever melhor o estudo (RODRIGUES & IEMMA, 2005).



**Figura 4:** Influência da temperatura e concentração de ácido sobre a resposta percentual de aumento de pentoses, fixando-se a variável razão no nível -1 (1/8).

Buscando verificar tendências observou-se, na Figura 4, que com o melhor valor de razão fixado no nível -1 (1/8 de diluição) deve-se operar a pré-hidrólise para obter maior

percentual de aumento de pentoses, acima de 10500%, com a temperatura em 120 °C e concentração de ácido de 8%.

Buscando um modelo que prediga bem a influência das variáveis de entrada temperatura, concentração de ácido e razão sobre a pré-hidrólise ácida, realizou-se outro planejamento fatorial  $2^3$ , reduzindo os níveis de concentração de ácido, pois se notou coloração escura acelerada no licor pré-hidrolisado dos experimentos anteriores em função, provavelmente, da quebra dos açúcares da hemicelulose em inibidores.

#### 4.2.2. Segundo planejamento

Os resultados das análises do pré-tratamento estão representados na Tabela 9.

**Tabela 9:** Concentração de xilose, arabinose, soma das pentoses e percentual de aumento

Experimento	Xilose (mg/L)	Arabinose (mg/L)	Soma (mg/L)	Percentual de aumento
1	0,00	5098,51	5098,51	5857,49
2	1653,79	8189,45	9843,24	11401,61
3	1980,18	8330,30	10310,48	11947,57
4	1364,54	6371,53	7736,06	8939,42
5	0,00	5380,85	5380,85	411,10
6	278,13	4428,84	4706,98	347,09
7	207,95	4621,11	4829,06	358,69
8	746,22	3329,90	4076,13	287,17
9	380,59	5855,70	6236,29	654,72
10	335,53	5535,97	5871,50	610,57
11	421,56	6791,09	7212,64	772,87

A Equação 7 apresenta o modelo da regressão dos dados experimentais do planejamento experimental fatorial  $2^3$ , para a resposta soma de pentoses.

$$\text{Soma de pentoses} = \mathbf{5,78831} - \mathbf{2,23303} R - 0,92477 T \times CA - 0,4496 T \times R - 0,53592 CA \times R \quad (7)$$

Os coeficientes em negrito são estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança.

A Tabela 10 apresenta a ANOVA do modelo codificado da resposta soma de pentoses.

**Tabela 10:** ANOVA para a resposta soma de pentoses

Fonte de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	Teste F
Regressão	50648211	4	12662052,75	8
Resíduo	7935710	5	1587142	
Total	58583921	9		

$$R^2=86,5\%$$

$$R=0,93$$

$$F_{\text{tabelado}} 0,95;4;5=5,19$$

Através dos dados da Tabela 10, verifica-se que o modelo é estatisticamente significativo, ao nível de 95% de confiança, pois a razão de  $F_{\text{calculado}}$  por  $F_{\text{tabelado}} = 1,5$  está acima de 1,0 (RODRIGUES & IEMMA, 2005).

A Equação 8 apresenta o modelo codificado da resposta percentual de aumento de pentoses.

$$\text{Percentual de aumento} = \mathbf{4012,37} - \mathbf{4632,53} R - 1080,23 T \times CA \quad (8) \\ - 319,20T \times R - 452,78 CA \times R$$

Os coeficientes em negrito são estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança.

A Tabela 11 mostra a ANOVA para a resposta percentual de aumento de pentoses. Verificou-se que o modelo é estatisticamente significativo ao nível de 95% de confiança, pois a razão de  $F_{\text{calculado}}$  por  $F_{\text{tabelado}} = 1,1$ , sendo maior que 1,0 (RODRIGUES & IEMMA, 2005).

**Tabela 11:** ANOVA para a resposta percentual de aumento de pentoses

Fonte de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	Teste F
Regressão	183472543	4	45868135,75	5,5
Resíduo	41755718	5	8351143,6	
Total	225228261	9		

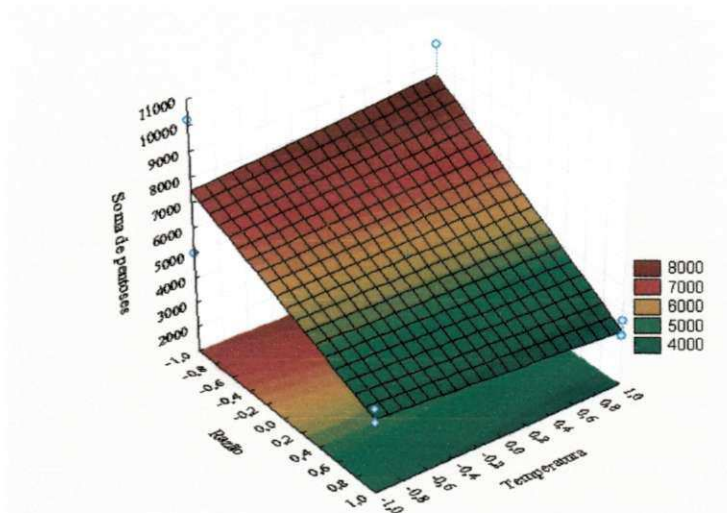
$$R^2=81,5\%$$

$$R=0,90$$

$$F_{\text{tabelado}} 0,95;4;5=5,19$$

Sendo os modelos das respostas em estudo estatisticamente significativos, pode-se construir as superfícies de resposta. É bom frizar que os modelos não são preditivos, pois apresentam faltas de ajuste, mas podem ser analisadas as superfícies para se buscar tendências da influência das variáveis de entrada sobre as respostas.

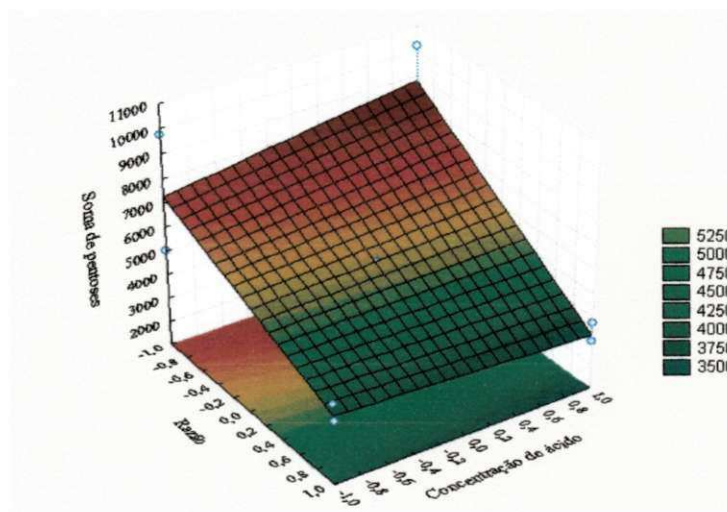
A Figura 5 apresenta a superfície de resposta da influência da razão e da temperatura sobre a soma de pentoses no licor pré-hidrolisado, fixando a concentração de ácido no ponto central (3%).



**Figura 5:** Influência da razão e da temperatura sobre a soma de pentoses no licor pré-hidrolisado, fixando-se a concentração de ácido no ponto central.

Observando-se a Figura 5 verifica-se que, operando-se com a razão abaixo do ponto central para qualquer valor de temperatura, a soma de pentoses (xilose + arabinose) fica acima de 8 g/L.

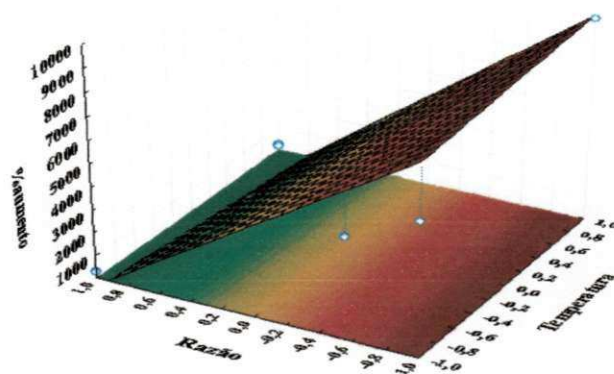
A Figura 6 apresenta a superfície de resposta da influência da razão e da concentração de ácido sobre a soma de pentoses no licor pré-hidrolisado, fixando a temperatura no ponto central (105°C).



**Figura 6:** Influência da razão e da concentração de ácido sobre a soma de pentoses no licor pré-hidrolisado, fixando a temperatura no ponto central.

Observando-se a Figura 6 e se operando com a razão abaixo do ponto central para qualquer valor de concentração de ácido, conclui-se que o aumento de pentoses fica acima de 8 g/L.

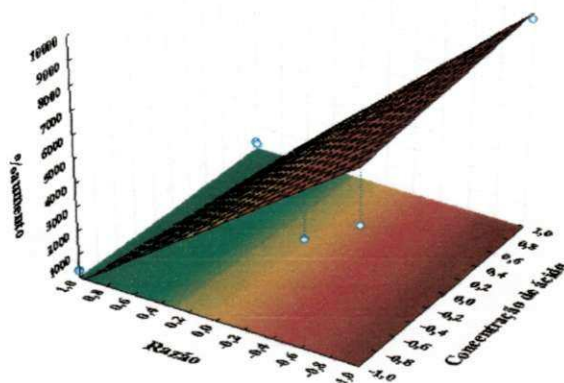
Para a resposta percentual de aumento de pentoses observa-se o mesmo comportamento verificado na resposta soma de pentoses. Pode-se observar, na Figura 7, que com a diminuição da razão se aumenta o percentual de aumento de pentoses para qualquer valor de temperatura. Com a razão abaixo do nível do ponto central (1/10), obtém-se valor da percentagem de aumento acima de 8000%.



**Figura 7:** Influência da razão e da temperatura sobre o percentual de aumento de pentoses no licor pré-hidrolisado, fixando a concentração de ácido no ponto central.

A Figura 8 apresenta a superfície de resposta da influência da razão e da concentração de ácido sobre o percentual de aumento de pentoses no licor pré-hidrolisado, fixando a temperatura no ponto central (105°C). O mesmo comportamento observado para a resposta soma de pentoses é verificado para esta resposta, operando-se com a razão abaixo do ponto central, para qualquer valor de concentração de ácido, o percentual de aumento de pentoses fica acima de 8000%.





**Figura 8:** Influência da razão e da concentração de ácido sobre o percentual de aumento de pentoses no licor pré-hidrolisado, fixando a temperatura no ponto central.

#### 4.3. Considerações gerais do estudo dos planejamentos fatorial $2^3$

Buscando-se verificar os efeitos das variáveis temperatura, concentração de ácido e razão sobre a pré-hidrólise da palma forrageira, realizaram-se dois planejamentos experimentais, o primeiro com níveis de concentração de ácido maiores, reduzindo os níveis desta concentração no estudo do segundo experimento.

Observou-se, nos dois planejamentos, que a concentração de xilose é inferior à de arabinose, o que não ocorre com outros tipos de matéria-prima utilizados para estudos de hidrólise. Tamanini & Haully (2004) estudando a hidrólise da fração hemicelulósica de alguns resíduos agroindustriais, encontraram os seguintes valores de concentração de xilose e arabinose: 19,21 g/L de xilose e 0,41 g/L de arabinose em *Eucalyptus grandis* e 18,33 g/L de xilose e 3,40 g/L de arabinose em palha de arroz enquanto as concentrações deste trabalho foram de no máximo 2,34 g/L de xilose e 10,31 g/L de arabinose.

Com os dados obtidos, principalmente no segundo experimento, que apresentou modelos estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança, para o estudo da hidrólise ácida do material sólido, operou-se a pré-hidrólise para obtenção do sólido separado do licor, nas condições: 90°C de temperatura, concentração de ácido de 5% e razão entre a massa seca e a massa de ácido de 1/8. A escolha de temperatura no nível -1 (90°C) e concentração de 5% (ponto central) foram definidas em função de não terem sido observadas influência significativa, assim, operou-se com temperatura mais branda e um nível intermediário de ácido. A influência da razão foi bastante significativa, ou seja, com a diminuição da diluição aumentou-se a quantidade de pentoses (xilose + arabinose) no licor pré-hidrolisado.

#### 4.4. Hidrólise ácida da palma forrageira

O estudo da hidrólise ácida foi realizado com o material sólido do pré-hidrolisado nas seguintes condições: temperatura de 190 °C, concentração de ácido de 5% e razão entre a massa seca e massa de ácido de 1/8, durante uma hora.

Pela cor escura do licor hidrolisado percebeu-se que houve formação acentuada de inibidores.

#### 4.5. Fermentação alcoólica preliminar

O licor hidrolisado foi utilizado para a realização preliminar da fermentação alcoólica. Durante o processo da fermentação alcoólica a temperatura foi mantida entre 28 e 32 °C e deixou-se a fermentação ocorrer durante 176 h.

A Tabela 12 apresenta o acompanhamento do processo fermentativo.

**Tabela 12:** Condições do licor hidrolisado para fermentação

Condições iniciais da fermentação	Valores
Sólidos solúveis	11
pH	0,06
Fosfato de potássio (g)	0,54
Sulfato de amônio (g)	0,18
Levedura (g/L)	10
pH após correção	4,15
Sólidos solúveis após correção	15

Na Tabela 13 se encontram os valores de °Brix e concentração de etanol para o tempo de 126 horas de fermentação.

**Tabela 13:** Acompanhamento do processo fermentativo

Tempo (h)	°Brix	Etanol (°GL)
0	15	0
12	15	0
18	14,5	0
48	14,0	0
72	14,0	0
126	13,8	0

De acordo com a Tabela 13, praticamente não ocorreu metabolização dos açúcares pela levedura, verificando-se um pequeno abaixamento do °Brix, porém não se detectando produção de etanol. Visualmente, observou-se formação de pequenas bolhas no processo

fermentativo depois de 48 horas de fermentação mas a quantidade de etanol foi tão baixa que não foi detectada.

A elevada concentração de inibidores (observada pela coloração escura do licor hidrolisado) deve ter sido a causa da não ocorrência da fermentação alcoólica.

Este resultado mostra que, antes do processo fermentativo, a etapa de tratamento do licor hidrolisado é de fundamental importância.

## 5. CONCLUSÕES

Os valores das concentrações de celulose, hemicelulose e lignina, estiveram coerentes com os encontrados por outros pesquisadores que trabalharam com a palma forrageira.

Na fração hemicelulósica da palma forrageira há uma concentração maior de arabinose em relação à xilose, o que não ocorre com outros materiais lignocelulósicos.

Os resultados para o primeiro planejamento mostraram que nas condições temperatura igual a 120 °C, a concentração de ácido de 8% e razão entre a massa seca e a massa de ácido de 1/8 obtiveram-se os melhores resultados, ou seja, maiores valores da soma de pentoses e de percentual de aumento de pentoses.

Para o melhor valor de razão fixado no nível -1 (1/8 de diluição) deve-se operar a pré-hidrólise para obter maior percentual de aumento de pentoses, acima de 11500%, com a temperatura em 90 °C e concentração de ácido de 5%.

Os modelos encontrados para a soma das pentoses e percentual de aumento das mesmas foram estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança.

Operando-se a altas concentrações de ácido (5 e 8%) que foram as concentrações através das quais se obtiveram os melhores resultados para os dois experimentos, houve formação acentuada de inibidores no meio, verificada pela coloração escura no licor, fato que não ocorreu quando se utilizaram de concentrações mais brandas.

## **6. PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS**

- Estudar a pré-hidrólise em baixas concentrações de ácido (abaixo de 2%);
- Hidrólise do material sólido separado da pré-hidrólise, em condições mais brandas (concentração de ácido abaixo de 4%);
- Caracterizar o material hidrolisado para verificar a percentagem de aumento de glicose no licor e a concentração de inibidores formados durante o tratamento;
- Estudo de adsorção de inibidores do licor hidrolisado por adsorventes (carvão ativo, zeólitas, bentonitas, entre outros), antes do processo fermentativo.
- Estudar a utilização do licor pré-hidrolisado para produção de xilitol.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADENE (Agência para a Energia) & AREAC (Agência Regional de Energia e Ambiente do Centro). **Energias renováveis em meio urbano**. Boletim Técnico, março de 2005.

ALBURQUERQUE, S. G. Pesquisador Embrapa Semi-Árido. EMBRAPA (A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa, vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), 05 de agosto de 2004 site: [http://www.embrapa.br/noticias/banco\\_de\\_noticias/2004/agosto/bn.2004-11-2738405709/mostra\\_noticia](http://www.embrapa.br/noticias/banco_de_noticias/2004/agosto/bn.2004-11-2738405709/mostra_noticia). Acessado em 14 de novembro de 2006.

ALMEIDA NETO, J. X.; MEDEIROS, F. P. M; MELO, A. J. M.; SILVA, J. C., DANTAS, J. P. Avaliação do efeito mutagênico da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) através do Teste de Micronúcleos em medula óssea de ratos (*Rattus norvegicus*, linhagem Wistar) In Vivo. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. v.5, n. 2, 2º Semestre 2005.

ARAÚJO, L. F. **Enriquecimento protéico do mandacaru sem espinhos e palma forrageira por fermentação semi-sólida**. 2004. 178 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) - Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande.

ARAÚJO, L. F.; OLIVEIRA, L. S. C.; PERAZZO NETO, A.; ALSINA, O. L. S.; SILVA, F. L. H.. Equilíbrio higroscópico da palma forrageira: relação com a umidade ótima para fermentação sólida. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n.3, p.379-384, 2005a.

ARAÚJO, L. F.; MEDEIROS, A. N.; PERAZZO NETO, A.; OLIVEIRA, L. S. C.; SILVA, F. L. H. Protein enrichment of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill) using *Saccharomyces cerevisiae* in solid-state fermentation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, p.161-168, 2005b.

BASTOS, V. D. **Etanol, alcoolquímica e biorrefinarias**. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 25, p.5-38, março, 2007.

BRASIL. **Métodos Físico-Químicos para Análises de Alimentos/Ministério da Saúde**, Instituto Adolfo Lutz, 2005.

CARVALHO, G. B. M.; GINORIS, Y. P.; CANDIDO, E. J.; CANILHA, L.; CARVALHO, W.; SILVA, J. B. A. Estudo do hidrolisado de eucalipto em diferentes concentrações utilizando evaporação a vácuo para fins fermentativos. **Revista Analytica**, v.1, n.14, p.54-57, 2005.

CAVALCANTI, C. V. A.; FERREIRA, M. A.; CARVALHO, M. C.; VERAS, A. S. C.; LIMA, L. E.; SILVA, F. M. Palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) e uréia em substituição ao feno de capim tifton (*Cynodon spp*) em dietas de vacas da raça holandesa em lactação. 1. Digestibilidade. **Acta Sci. Anim. Sci.**, Maringá, v. 28, n. 2, p. 145-152, April/June, 2006.

CRUZ, J. M.; DOMÍNGUEZ, J. M.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. C. Preparation of fermentation media from agricultural wastes and their bioconversion to xylitol. **Food biotechnology**, New York, v.14, p.79-97, 2000.

DATAMÉTRICA. **Projeto Palma Relatório Técnico**. Relatório, maio de 2004.

DUARTE, H. C. **Hidrólise do bagaço de cana com ácido clorídrico concentrado**. 1989. 112 p. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

LEITE, M. L. M. V. **Palma forrageira (*Opuntia ficus indica* e *Nopalea cochenilifera*)**. Universidade Federal da Paraíba – UFPB / Centro de Ciências Agrárias – CCA. Grupo de Pesquisa Lavoura Xerófila – GPLX. Areia – PB / Julho, 2006.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotechnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. 1ª ed. v. 3. São Paulo. Edgard Blucher Ltda, 2001. 593 p.

MACEDO, L. C. H. **Álcool etílico: Da cachaça ao cereal**. 1ª ed. São Paulo. Ícone, 1993. 157 p.

MILLER, G., Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**. v.31, p. 426-428, 1959.

MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR. Fórum de Competitividade de Biotecnologia. Estratégia Nacional de Biotecnologia. Política de desenvolvimento da bioindústria. Brasília, julho, 2006.

NCSU (NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY. **Laboratorial instructions**. Raleigh: Wood and Paper Department, 33p., 1989.

OSTROWSKI, A. P.; VARGAS, F.; PIZZINATTO, L. E.; ARAUJO, J. H. B. Obtenção de álcool etílico a partir de amido de mandioca. In: Mostra de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar (MICTI), I, 2006, Camboriú, SC. **Anais do I MICTI**, Camboriú: Colégio Agrícola de Camboriú/UFSC, 2006. p. 1-21.

PARRY, M. **Climatic change and world agriculture**. Earthscan Publications, London, 1990.

PEREIRA Jr., N. **Biotecnologia de materiais lignocelulósicos para a produção química**. EQ/UFRJ, Prêmio Abiquim de Tecnologia, 2006.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. Casa do Pão Editora, 325p., 2005.

ROSSELL, C. E. V. Conversion of lignocellulose biomass (bagasse and straw) from the sugar-alcohol industry into bioethanol. **Industrial Perspectives for Bioethanol**. Ed. Telma Franco, 2006. Cap. 8, p.123-142.

SCANDIFFIO, M. I. G. **Análise prospectiva do álcool combustível no Brasil – cenários 2004-2024**. 2005. 182 p. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.



SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia industrial: Engenharia bioquímica**. 1ª ed. v. 2. São Paulo. Edgard Blucher Ltda, 2001. 541 p.

SEBRAE/PB, **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**, Estudo da FAO em produção e proteção vegetal, 2001.

SILVA, C. C. F.; SANTOS, L. C. Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill) como alternativa na alimentação de ruminantes (Forage palm (*Opuntia ficus-indica* Mill) as alternative in ruminant feeding). **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. VIII, n. 5, maio 2007. ISSN 1695-7504.

TAMANINI, C.; OLIVEIRA, A. S.; FELIPE, M. G. A.; CANETTIERI, E. V.; CÂNDIDO, E. J.; HAULY, M. C. O. Avaliação da casca de aveia para produção biotecnológica de Xilitol. **Acta Scientiarum. Technology**, Maringá, v.26, n.2, p.117-125, 2004.

TAMANINI, C.; HAULY, M. C. O. Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 4, p. 315-330, out./dez. 2004.

TAPPI (TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY). **TAPPI test methods T-204 om-88: solvent extractives of Wood and pulp**. Atlanta: Tappi Technology Park, v.1, 1996.

TAPPI (TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY). **TAPPI test methods T-222 om-88: acid insoluble lignin**. Atlanta: Tappi Technology Park, v.1, 1996.

TOSTO, M. S. L.; ARAÚJO, G. G. L.; OLIVEIRA, R. L.; BAGALDO, A. R.; DANTAS, F. R.; MENEZES, D. R.; CHAGAS, E. C. O. Composição química e estimativa de energia da palma forrageira e do resíduo desidratado de vitivinícolas. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, v.8, n.3, p. 239-249, jul/set, 2007. ISSN 1519-9940.