

Composição, sacarificação enzimática e fermentabilidade da torta de pinhão-manso para produção de bioetanol

Composition, enzymatic saccharification and fermentability of jatropha cake for bioethanol production

Ricardo Salviano Santos¹(*)

Alice Lopes Macedo²

Lílian Pantoja³

Alexandre Soares Santos⁴

Resumo

A torta de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), coproduto do processo de obtenção do biodiesel, apresenta um percentual significativo de carboidratos poliméricos em sua composição. Uma estratégia atraente para o aproveitamento dessa biomassa seria a biotransformação de seus carboidratos para a produção de etanol. Nesse contexto, o presente estudo teve por objetivo avaliar a composição da torta de pinhão-manso, bem como promover a otimização do processo de sacarificação enzimática da fração amilácea contida na torta e avaliar, também, a fermentabilidade do hidrolizado enzimático para produção de bioetanol. O planejamento experimental utilizado seguiu um modelo Composto Central Rotacional (CCR), cujos fatores avaliados foram o tempo de hidrólise e a concentração de enzima amilolítica, resultando em rendimento hidrolítico de 90%. O processo fermentativo realizado com *Saccharomyces cerevisiae* e o hidrolizado amiláceo derivado da torta de pinhão-manso apresentou valores de eficiência fermentativa de 100%. O uso da torta de pinhão-manso para produção de bioetanol pode ser uma estratégia eficiente se associada à cadeia produtiva do biodiesel como forma de agregar valor a um coproduto abundante e como alternativa para produção de uma fonte de energia renovável.

Palavras-chave: biomassa; etanol; fermentação; hidrólise; *Jatropha curcas* L.

Abstract

Jatropha seed cake (*Jatropha curcas* L.), co-product from biodiesel process, presents a significant percentage of polymeric carbohydrates in its composition. An attractive strategy for the utilization of this co-product would be the biotransformation of their carbohydrates to ethanol. In this context, this study aimed to evaluate the composition

1 Dr.; Farmacêutico; Técnico Laboratório Departamento de Farmácia - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; Endereço: Rodovia MGT-367, km 583, nº 5000, Alto da Jacuba, CEP: 39100-000, Diamantina, Minas Gerais, Brasil; E-mail: ricardo.farm@yahoo.com.br (*)Autor para correspondência.

2 M.e.; Farmacêutica; Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; Rodovia MGT-367, km 583, nº 5000, Alto da Jacuba, CEP: 39100-000, Diamantina, Minas Gerais, Brasil; E-mail: alicelopesm@hotmail.com

3 Dra.; Bióloga; Professora no Instituto de Ciências e Tecnologia - ICT - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; Endereço: Rodovia MGT-367, km 583, nº 5000, Alto da Jacuba, CEP: 39100-000, Diamantina, Minas Gerais, Brasil; E-mail:lilianpantoja@gmail.com

4 Dr.; Farmacêutico; Professor do Departamento de Ciências Básicas UFVJM, Coordenador do Programa de Pós-graduação em Biocombustíveis - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; Endereço: Rodovia MGT-367, km 583, nº 5000, Alto da Jacuba, CEP: 39100-000, Diamantina, Minas Gerais, Brasil; E-mail: alexandreletan@gmail.com

Recebido para publicação em 13/01/2014 e aceito em 28/01/2016

of the jatropha seed cake, as well as promote the enzymatic saccharification of starchy fraction contained in the cake and evaluate the fermentability of the its enzymatic hydrolyzate to produce bioethanol. The experimental design utilized to improve the saccharification process followed a central composite rotational model (CCR), whose factors evaluated were the hydrolysis time and enzyme concentration, resulting in 90% of hydrolytic yield. The fermentation process carried out with *Saccharomyces cerevisiae* and the starch hydrolyzate from jatropha seed cake pointed 100% conversion of reducing sugars to ethanol. The use of jatropha seed cake for bioethanol production can be an effective strategy if associated to the biodiesel production chain as a way to add value to an abundant co-product and as an alternative for the production of a renewable source of energy.

Key words: biomass; ethanol; fermentation; hydrolysis; *Jatropha curcas* L.

Introdução

No âmbito dos biocombustíveis, a demanda mundial por combustíveis líquidos, a preocupação com o aquecimento global e o interesse político pelo desenvolvimento do setor energético, agrícola e social são pontos que abrem novas áreas de interesse e oportunidades para pesquisas e desenvolvimento na área acadêmica e industrial. Dentre os biocombustíveis de maior interesse econômico, o etanol vem se destacando há vários anos. Esse combustível é produzido, principalmente, a partir de matérias-primas açucaradas como o caldo extraído da cana-de-açúcar e o extrato da beterraba sacarina, bem como de biomassas amiláceas como milho, mandioca e trigo (PATNI et al., 2013). Nas últimas décadas as tendências sinalizam para o desenvolvimento de tecnologias alcooleiras que permitam o aproveitamento de resíduos agroindustriais e florestais, de modo sustentável (BALAT, 2011; LIMAYEM; RICKE, 2012; PEREIRA Jr. et al., 2008), pois, sabe-se que as culturas tradicionais, como milho e cana-de-açúcar não podem suprir demanda global de produção de bioetanol, devido ter em valor primário na alimentação humana e animal (SARKAR et al., 2012). Desse modo, torna-se evidente a importância de se investigar o potencial de biomassas como palhas, bagaços, tortas, folhas, resíduos de exploração madeireira, entre outros substratos para produção de energia renovável.

Nesse panorama, cabe destacar os coprodutos oriundos do processamento de oleaginosas pelas indústrias de biodiesel, das quais virtualmente, milhões de toneladas são produzidas anualmente. Frente a esse cenário, surge um grande desafio: promover agregação de valor aos coprodutos do processamento de oleaginosas, tornando a indústria do biodiesel mais competitiva. Uma estratégia possível e atraente seria aproveitar o teor amiláceo existente nessas biomassas residuais (tortas e farelos) para produção de bioetanol através de processos hidrolíticos e fermentativos. Outro fato refere-se à produção de etanol a partir de resíduos provenientes de oleaginosas, o que pode ser capaz de atender a demanda de álcool nas próprias usinas de biodiesel, podendo ainda ser incorporada à cadeia produtiva como forma de agregar valor a um coproduto abundante (VISSER et al., 2011).

Dentre as várias oleaginosas passíveis de utilização pelas indústrias de produção de biodiesel, pode-se destacar o pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). Essa oleaginosa, pertencente à família das Euforbiáceas, possui teor de óleo variando de 40 a 50% (SINGH et al., 2008). Além disso, o pinhão-manso tem como vantagem ser um vegetal com ciclo produtivo que se estende

por mais de 40 anos, mesmo em solos pouco férteis e sob clima desfavorável (MAKKAR et al., 1998a,b). Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivos caracterizar fisicamente sementes de pinhão-mansão, avaliar a composição química da torta dessa oleaginosa obtida por extração química, promover a otimização do processo de sacarificação enzimática do amido contido na torta e avaliar seu potencial de fermentabilidade para produção de bioetanol.

Material e Métodos

Os frutos de pinhão-mansão, material de estudo deste trabalho, foi doado pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), da unidade Fazenda Experimental de Acauã, localizada na BR-367 - km 410, Leme do Prado – Minas Gerais, Brasil. A caracterização física foi realizada em um universo de 50 frutos, com o uso de paquímetro digital e balança analítica, cujos parâmetros analisados foram: peso, comprimento, largura e espessura dos frutos, sementes e albúmen. Foi ainda determinado o peso de pericarpo das sementes de pinhão-mansão. A semente foi também caracterizada quanto ao teor de lipídios, de acordo com a Association of Official Analytical Chemistry –AOAC (1992).

A torta, derivada do processamento das sementes de pinhão-mansão, foi obtida por trituração seguida de extração do óleo com solvente orgânico (éter etílico P.A). O material obtido foi secado por um período de 48 horas em estufa com circulação de ar forçada à temperatura de 60 °C para eliminação da umidade e de solvente residual. Para as análises químicas e hidrólise enzimática, a torta obtida foi cominuída em moinho de facas e, posteriormente, peneirada sobre malhas de 0,5 e 0,2 mm.

A caracterização química da torta foi realizada por meio da determinação dos teores de umidade, cinzas, proteínas totais e lipídios totais (AOAC, 1992), fibra solúvel em detergente neutro (FDN), fibra solúvel em detergente ácido (FDA), celulose, hemicelulose e lignina (VAN SOEST, 1967), açúcares solúveis totais (DUBOIS et al., 1956) e amido (McCREADY et al., 1950).

O modelo estatístico utilizado para otimização da sacarificação amilácea da torta de pinhão-mansão foi um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) do tipo 2², ou seja, dois fatores avaliados em dois níveis (Tabela 1). O teste estatístico para geração e análise do planejamento experimental foi realizado por meio do *software* STATISTICA® Versão 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK). Os fatores analisados foram a quantidade de enzima amiloglicosidase, em U g⁻¹ de torta e o tempo de hidrólise em horas, perfazendo um total de 12 ensaios (Tabela 1). A enzima amilolítica empregada foi da marca Spirizyme® e a unidade de concentração empregada (U) foi definida como a quantidade de enzima capaz de liberar 1umol de produto por minuto de reação por microlitro de extrato enzimático. Cada experimento foi realizado em tubo de ensaio contendo 1g de torta de pinhão-mansão, os quais foram submetidos a um processo de liquefação. Para tanto, as amostras de 1g foram suspensas em tampão acetato pH 5,8 (10 mmoles), na razão sólido/líquido (S/L) de 20% com 30U de enzima alfa-amilase (Liquozyme®) e submetidas à temperatura de 100 °C por 15 minuto, em autoclave. Posteriormente, ajustou-se o pH para 4,3 e a razão S/L foi alterada para 15%. Em seguida, adicionou-se a enzima amiloglicosidase (Spirizyme®) nas concentrações estipuladas pelo planejamento e, sequencialmente, submetida à temperatura de 60 °C, em banho-maria sob agitação, em diferentes intervalos de tempo conforme descrito na tabela 2. Os parâmetros de resposta trabalhados foram as quantidades liberadas como produto de hidrólise de açúcares redutores e glicose por 100g de torta (SOUTHGATE, 1991; LLOYD; WHELAN, 1969). A qualidade do ajuste da equação do modelo foi expressa pelo coeficiente

de determinação (R^2) e sua significância estatística condicionada pelo teste-F. A significância de cada parâmetro foi exposta pelo diagrama de Pareto, com suas correlações e curvaturas, e os perfis das variáveis de cada processo foram dispostos em gráficos de superfície de resposta.

Tabela 1 - Planejamento experimental (DCCR) do tipo 2² utilizado no processo de otimização da sacarificação amilácea da torta de pinhão-mansão

Amostras	Amiloglicosidase (U g ⁻¹ de torta)	Tempo (horas)
1	10,3 (-1)	6,00 (-1)
2	10,3 (-1)	36,00 (+1)
3	43,0 (+1)	6,00 (-1)
4	43,0 (+1)	36,00 (+1)
5	3,55 (- α)	24,00 (0)
6	49,8 (+ α)	24,00 (0)
7	26,7 (0)	2,79 (- α)
8	26,7 (0)	45,00 (+ α)
9	26,7 (0)	24,00 (0)
10	26,7 (0)	24,00 (0)
11	26,7 (0)	24,00 (0)
12	26,7 (0)	24,00 (0)

Fonte: Santos, R. S. et al. (2013).

Nota: (-1) – Nível baixo; (+1) – Nível alto; (0) – Ponto central; (- α , + α) – Pontos axiais

Com base nas condições ótimas de hidrólise da torta de pinhão-mansão, definidas pelo processo de otimização, foi realizada a sacarificação de 25 g de torta em Erlenmeyers (três replicatas) para obtenção do mosto para fermentação. O hidrolisado foi submetido à fermentação com inóculo de 2% da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (fermento biológico desidratado marca Fleishmann). O processo fermentativo foi realizado em sistemas fechados compostos por Erlenmeyers, acoplados a aparelhos construídos em vidro (fermentômetros), que permitem a saída do CO₂ sem permitir a entrada de ar. O desprendimento de CO₂ foi acompanhado por meio de sucessivas pesagens do sistema fermentativo, em intervalos de tempo regulares. Os valores de CO₂ obtidos ao longo do tempo foram utilizados para estimar os perfis de produção do etanol segundo a estequiometria metabólica do processo fermentativo (KOSARIC; VARDAR-SUKAN, 2001). Ao final do processo, alíquotas foram coletadas e analisadas quanto ao teor de etanol (PILONE, 1985), açúcares redutores (SOUTHGATE, 1991) e glicose, por Kit enzimático que a quantifica especificamente por ação das enzimas glicose oxidase (GOD) e peroxidase (POD) (LLOYD; WHELAN, 1969). As variáveis de resposta do bioprocessos, fator de rendimento em produção de etanol (Y_p/s) e eficiência fermentativa (E_f) tomaram por base o consumo de substrato e a formação do produto. O valor de concentração de etanol obtido no final do processo, expresso em g 100g⁻¹ de torta, foi utilizado para projetar a produção de litros de etanol por tonelada de torta. Para tanto, levou-se em consideração a densidade do referido álcool (0,789 g mL⁻¹), e o cálculo foi realizado conforme equação 1. Os fatores de multiplicação 10 e 1000 são devidos à conversão da unidade de concentração, expressa em 100g⁻¹ para quilograma e tonelada, respectivamente.

$$\text{Etanol (L ton}^{-1}\text{ de torta)} = \text{Etanol (g 100g}^{-1}\text{)} \times \text{densidade do etanol} \times 10 \times 1000$$

Resultados e Discussões

Os valores médios e as variações determinadas quanto aos parâmetros físicos do pinhão-mansoso encontram-se na tabela 2.

Tabela 2 - Valores médios e as variações determinadas quanto aos parâmetros físicos do pinhão-mansoso

Parâmetros físicos	Média	Variação
Peso do fruto (g)	2,46	1,51 – 3,31
Comprimento do fruto (mm)	26,09	22,00 – 29,29
Largura do fruto (mm)	20,95	17,09 – 22,67
Peso da casca (g)	0,81	0,62 – 1,11
Peso da semente (g)	0,66	0,35 – 0,86
Número de sementes por fruto	2,6	2 – 3
Comprimento da semente (mm)	19,02	16,00 – 21,15
Largura da semente (mm)	10,13	7,60 – 11,84
Espessura da semente (mm)	8,81	7,73 – 9,95
Peso do pericarpo (g)	0,29	0,23 – 0,45
Peso do albúmen (g)	0,36	0,11 – 0,74
Comprimento do albúmen (mm)	15,93	13,74 – 17,37
Largura do albúmen (mm)	8,69	5,11 – 9,90
Espessura do albúmen (mm)	7,30	6,06 – 8,57

Fonte: Santos, R. S. et al. (2013).

Os dados obtidos permitiram observar que os frutos estudados são compostos, em média, por 69,7 % de semente e 30,3% de casca (Tabela 2). Esses dados concordam com os valores de 29% de cascas e 71% de sementes, encontrados por Zanzi et al. (2008), estudando as características físicas dessa cultura. Quanto às características químicas, a semente do fruto estudado apresentou 53,89% de lipídios, resultado superior ao encontrado por Singh et al. (2008), o qual relatou que o teor de óleo no pinhão-mansoso pode variar de 40 a 50 %. Considerando um teor de 40% de óleo na semente de pinhão-mansoso, atrelado a uma produtividade média de 2,5 toneladas de sementes por hectare de plantio (ZANZI et al., 2008), é possível inferir que 1 hectare de cultura anual de pinhão-mansoso pode produzir até 1000Kg de óleo e, conseqüentemente, gerar 1,5 toneladas de torta.

Os resultados da caracterização química da torta de pinhão-mansoso estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3 - Composição química da torta de pinhão-mansoso (*J. curcas* L.)

Parâmetros Químicos	Pinhão-Mansoso (%)
Umidade	2,18 ± 0,17
Lipídeos	1,15 ± 0,08
Cinzas	6,24 ± 0,13
Proteína Bruta	32,92 ± 0,78
AST	5,29 ± 0,15
Amido	4,97 ± 0,33
FDA	51,9 ± 2,10
FDN	62,67 ± 3,13
Celulose	33,29 ± 1,13
Hemicelulose	7,56 ± 0,92
Lignina	15,98 ± 0,52

Fonte: Santos, R. S. et al. (2013).

Nota: AST – Açúcares solúveis totais; FDA – Fibra solúvel em detergente ácido; FDN – Fibra solúvel em detergente neutro

A torta obtida apresentou baixo teor de umidade e lipídios residuais, o que evidencia a eficiência do processo de preparo da mesma. Com base nos valores de composição química encontrados para FDN ($62,67 \pm 3,13\%$), FDA ($51,9 \pm 2,10\%$), celulose ($33,29 \pm 1,13\%$) e proteína bruta ($32,92 \pm 0,78\%$), é possível conjecturar que a torta de pinhão-manso, subproduto das indústrias de biodiesel e óleos vegetais, tem potencial como matéria-prima para agroindústrias de produção de ração animal, fertilizantes orgânicos e etanol de segunda geração (MAKKAR et al., 2008; DEVAPPA; SWAMYLINGAPPA et al., 2008; KING et al., 2009; MAKKAR; BECKER, 2009). Entretanto, devido à presença de toxinas e fatores antinutricionais ésteres de forbol, fitalatos, lectinas, inibidores de tripsina, saponinas, glicosídeos cianogênicos (MARTÍNEZ-HERRERA et al., 2006), na torta pinhão-manso, o uso dessa biomassa como ração animal é limitado, sendo necessária a utilização de tratamentos destoxicantes (KING et al., 2009). O teor de amido, apesar de menor em relação à celulose, pode ser utilizado como insumo para produção de etanol de primeira geração (LIANG et al., 2010; KUMAR et al., 2013).

Os resultados das variáveis de respostas em percentual de açúcares redutores e glicose, liberados na sacarificação do amido presente na torta de pinhão-manso, estão representados na tabela 4.

Tabela 4 - Teores de açúcares redutores (%) e glicose (%) do processo de sacarificação do amido presente na torta de pinhão-manso, em função do tempo e concentração de enzima amiloglicosidase

Amostras	Amiloglicosidase (U g ⁻¹ de torta)	Tempo (horas)	AR %	Glicose %
1	10,3	6,00	1,79	0,58
2	10,3	36,00	2,84	0,96
3	43,0	6,00	2,96	0,98
4	43,0	36,00	3,79	1,26
5	3,55	24,00	1,47	0,49
6	49,8	24,00	3,77	1,26
7	26,7	2,79	1,02	0,52
8	26,7	45,00	3,80	1,32
9	26,7	24,00	3,02	1,08
10	26,7	24,00	3,00	1,05
11	26,7	24,00	2,97	0,99
12	26,7	24,00	3,01	1,01

Fonte: Santos, R. S. et al. (2013).

Nota: AR: açúcares redutores; C: pontos centrais.

Utilizando a análise de variância (ANOVA; Tabela 5), determinada com base nos valores dos fatores de resposta presentes na tabela 4, pode-se observar os efeitos significativos ($p \leq 0,05$) das variáveis tempo (horas) e concentração de amiloglicosidase (U g⁻¹ de torta), os quais também foram expressos nos gráficos de Pareto representados na figura 1. Observou-se que as variáveis em estudo (tempo e a concentração de amiloglicosidase) apresentaram efeitos significativos e de intensidades semelhantes no processo, sendo ambos do tipo linear positivo (Figura 1). Efeitos como esses demonstram que as variações lineares nos fatores tempo e concentração de enzima

contribuem positivamente para a eficiência do processo hidrolítico. Além disso, interações significativas entre essas variáveis não foram verificadas (Figura 1). Ao considerar que o ajuste feito pelo programa estatístico, representado pelos valores dos coeficientes de determinação ($R^2 = 0,8619$ para açúcares redutores e $0,9160$ para glicose), foi significativo, o que, combinado com os valores de F, pode-se inferir que o modelo se ajusta adequadamente aos pontos experimentais, representando a confiabilidade dos resultados.

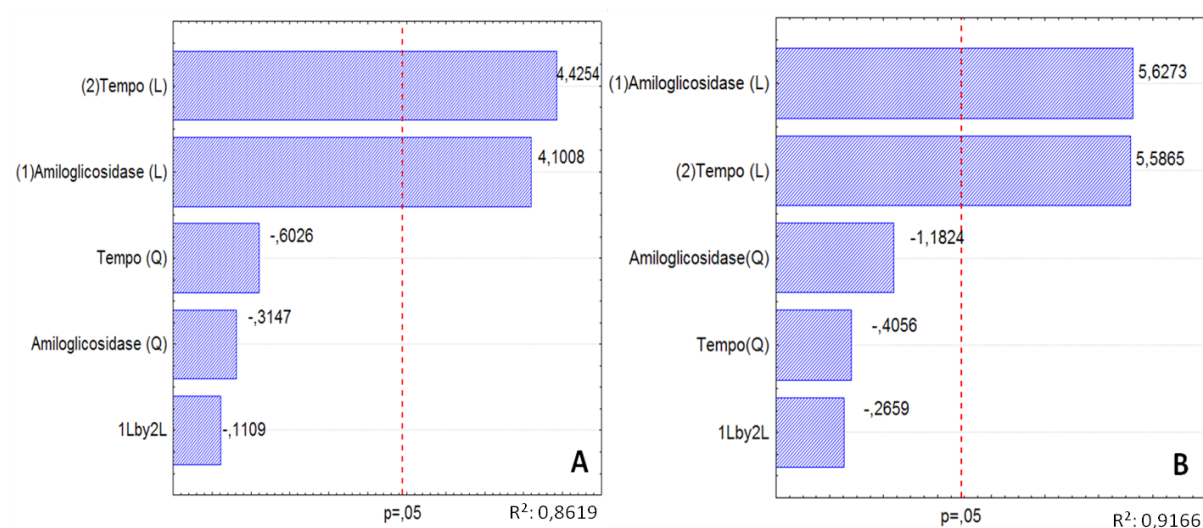
Tabela 5 - Valores da análise de variância (ANOVA) para os modelos polinomiais de segunda ordem, e coeficientes de açúcares redutores e glicose liberados como produto da sacarificação amilácea da torta de pinhão-manso

Varição de fatores	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p	Coefficientes	p-valor
Açúcares redutores						
Coefficiente linear	-	-	-	-	2,80	0,000019
Amiloglicosidase (L)	1	3,564006	16,81694	0,006351	0,67	0,006351
Amiloglicosidase(Q)	1	0,020984	0,09901	0,763671	-0,06	0,763671
Tempo (horas) (L)	1	4,150470	19,58420	0,004445	0,73	0,004445
Tempo (horas) (Q)	1	0,076967	0,36317	0,568810	-0,11	0,568810
Erro puro	6	0,211930				
Glicose						
Coefficiente linear	-	-	-	-	0,97	0,000002
Amiloglicosidase (L)	1	0,397893	31,66694	0,001347	0,22	0,001347
Amiloglicosidase(Q)	1	0,017567	1,39810	0,281771	-0,05	0,281771
Tempo (horas) (L)	1	0,392145	31,20947	0,001398	0,22	0,001398
Tempo (horas) (Q)	1	0,002067	0,16450	0,699110	-0,02	0,699110
Erro puro	6	0,012565				

Fonte: Santos, R. S. et al. (2013).

Nota: L – efeito linear; Q – efeito quadrático

Figura 1 - Gráficos de Pareto com os efeitos padronizados tempo (horas) e concentração de amiloglicosidase ($U\ g^{-1}$ de torta) no processo de sacarificação enzimática do amido presente na torta de pinhão-manso para os parâmetros de resposta açúcares redutores (A) e glicose (B)



Fonte: Santos, R. S. et al. (2013).

SANTOS, R. S. et al.

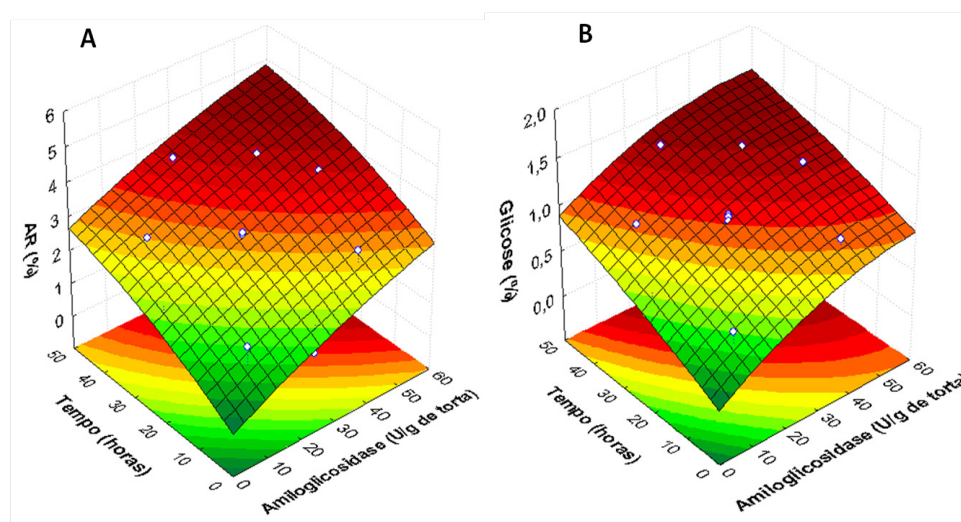
Com base nos valores dos coeficientes expostos na tabela 4, para a quantidade liberada de açúcares redutores e glicose como produtos de hidrólise, foi possível expressar os perfis do modelo de otimização em gráficos de superfície de resposta representados na figura 2. A análise dos dados por regressão múltipla levou a respostas previstas conforme as equações 1 e 2, onde X1 representa a concentração de amiloglicosidase e X2 o tempo de hidrólise.

$$\text{Açúcares redutores} = 2,80 + 0,67X1 + 0,73X2$$

$$\text{Açúcares redutores} = 2,80 + 0,67X1 + 0,73X2 \quad (1)$$

$$\text{Glicose} = 0,97 + 0,22(X1 + X2) \quad \text{Glicose} = 0,97 + 0,22(X1 + X2) \quad (2)$$

Figura 2 - Gráficos de superfície de resposta dos efeitos combinados entre os fatores tempo e concentração de amiloglicosidase sobre o percentual de açúcares redutores (A) e Glicose (B), liberados no processo de sacarificação enzimática do amido da torta de pinhão-manso



Fonte: Santos, R. S. et al. (2013).

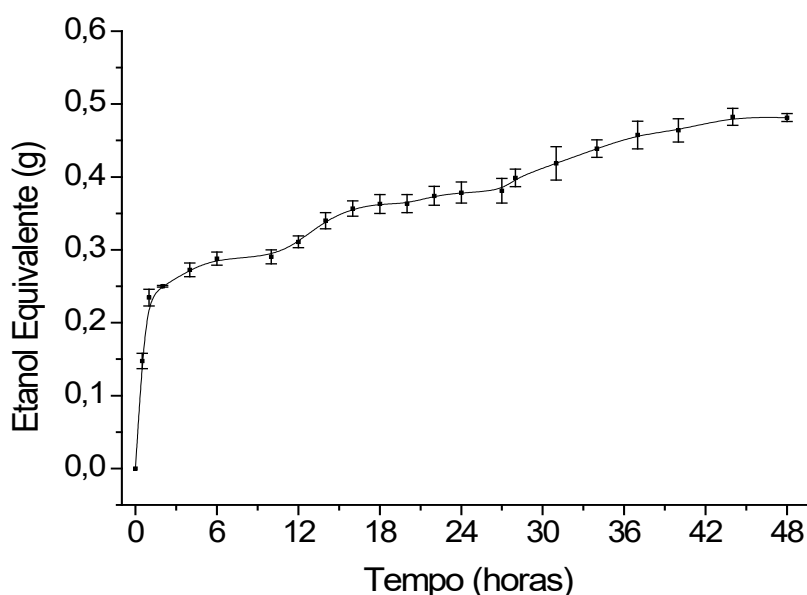
Nota: AR – Açúcares redutores

A partir da análise dos modelos estatísticos, foram definidas como condições ótimas de sacarificação da fração amilácea da torta de pinhão-manso o tempo de hidrólise de 48 horas e concentração de amiloglicosidase de 30 U g⁻¹ de torta de pinhão-manso. O hidrolisado obtido nessas condições apresentou 4,07 % de açúcares redutores, o que, considerando o percentual de amido na torta (4,60%), representa um apreciável rendimento hidrolítico de 90%. Ao observar os rendimentos obtidos para sacarificação do amido por hidrólise ácida, em diferentes tipos de tortas, tais como em mamona com 74,5% de rendimento (MACEDO et al., 2009) e pequi com 45,7% (MACEDO et al., 2011), pode-se inferir uma melhor eficiência do processo de hidrólise enzimática no presente experimento.

O perfil do processo fermentativo foi expresso graficamente em função da quantidade de etanol produzido equivalente ao CO₂ desprendido (Figura 3). Os dados gerados relativos a teores de açúcares redutores no início e no final do bioprocessamento, a quantidade de etanol produzido e o rendimento do processo estão apresentados na tabela 5.

Na figura 3, pode-se observar a habilidade da levedura em utilizar os carboidratos presentes no meio de fermentação pelo desprendimento de CO₂ e das concentrações de etanol. A produção de etanol ocorreu rapidamente nas seis primeiras horas. Esse fato está atrelado à condição de aproximadamente um terço de os açúcares redutores presentes nas amostras serem constituído por glicose, um açúcar facilmente fermentável.

Figura 3 - Curvas do progresso de produção de etanol obtidas com base no desprendimento de gás carbônico (CO₂) durante o processo fermentativo de meios provenientes do hidrolisado amiláceo e hidrolisado amiláceo/celulósico da torta de pinhão-manso



Fonte: Santos, R. S. et al. (2013).

Tabela 5 - Concentrações de açúcares redutores no início e no final do processo fermentativo provenientes do hidrolisado amiláceo e hidrolisado amiláceo/celulósico da torta de pinhão-manso, quantidade de etanol produzido e rendimento de cada processo

Processo fermentativo	Tempo (horas)	AR _i (g 100g ⁻¹)	AR _f (g 100g ⁻¹)	Etanol (g 100g ⁻¹)	Y _{p/s} (g g ⁻¹)	Ef (%)
Hidrolisado amiláceo	48	3,96	0,09	2,01	0,51	100,00
	48	4,18	0,08	2,12	0,51	100,00
	48	4,02	0,08	2,05	0,51	100,00

Fonte: Santos, R. S. et al. (2013).

Nota: AR_i: concentração inicial de açúcares redutores; AR_f: concentração final de açúcares redutores; Y_{p/s}: rendimento do produto em relação ao substrato; Ef: eficiência fermentativa

O processo fermentativo utilizando o hidrolisado amiláceo apresentou rendimentos satisfatórios com valores de Y_{p/s} = 0,51 e eficiência fermentativa de 100%. De acordo com Kosáric e Vardar-Sukan (2001), essa eficiência não é observada em processos provenientes de sacarificação ácida, devido à formação de compostos inibidores do processo fermentativo como furfural e

hidroximetilfurfural. Relacionando a massa de etanol proveniente do hidrolisado da sacarificação das frações amilácea e celulósica com a massa da torta de pinhão-mansão utilizada no processo, foi possível obter uma produção média de 2,06 g de etanol por 100g de torta hidrolisada (Tabela 5). Considerando que esse valor de concentração corresponde a 20,6 Kg de etanol por tonelada de torta, atrelado ao seu valor de densidade ($0,789 \text{ kg L}^{-1}$), pode-se projetar uma produção de 26,1 L desse álcool por tonelada de torta de pinhão-mansão hidrolisada.

Conclusões

A variedade de pinhão-mansão avaliada neste trabalho apresentou baixo teor de amido na torta obtida. O processo de sacarificação apresentou rendimento hidrolítico de 90%. Já o processo fermentativo do hidrolisado amiláceo proporcionou rendimentos satisfatórios com valores de eficiência fermentativa de 100% de conversão de açúcares redutores a etanol. O uso da torta de pinhão-mansão para produção de bioetanol, por processo de sacarificação enzimática, pode ser incorporado à cadeia produtiva do biodiesel, fornecendo um insumo do processo de transesterificação, como forma de agregar valor a um coproduto abundante.

Apoio

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. Washington: AOAC, 1992.

BALAT, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. **Energy Conversion and Management**, v. 52, p. 858–875, 2011. doi:10.1016/j.enconman.2010.08.013

DEVAPPA, R. K.; SWAMYLINGAPPA, B. Biochemical and nutritional evaluation of *Jatropha* protein isolate prepared by steam injection heating for reduction of toxic and antinutritional factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n.5, p. 911–919, 2008. DOI:10.1002/jsfa.3170

DRUMOND, M. A.; SANTOS, C. A. F.; OLIVEIRA, V. R.; MARTINS, J. C.; ANJOS, J. B.; EVANGELISTA, M. R. V. Desempenho agrônomo de genótipos de pinhão-mansão no Semiárido pernambucano. **Ciência Rural**, v. 40, n. 1, p. 44-47, 2010.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, K. K.; HEBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 356, 1956.

KING, A. J.; HE, W.; CUEVAS, J. A.; FREUDENBERGER, M.; RAMIARAMANANA, D.; GRAHAM, I. A. Potential of *Jatropha curcas* as a source of renewable oil and animal feed. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 2897–2905, 2009. DOI: 10.1093/jxb/erp025

KOSARIC, N.; VARDAR-SUKAN, F. Potential source of energy and chemical products. In: ROEHR, M. (Ed.). **The biotechnology of ethanol: classical and future applications**. Weinheim: Wiley – VCH Verlag GmbH, 2001. p. 89-220.

KUMAR, G.; SEN, B.; LIN, C. Y. Pretreatment and hydrolysis methods for recovery of fermentable sugars from de-oiled *Jatropha* waste. **Bioresource Technology**, v. 145, p. 275-279, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.080>

LIANG, Y.; SIDDARAMU, T.; YESUF, J.; SARKANY, N. Fermentable sugar release from *Jatropha* seed cakes following lime pretreatment and enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 6417–6424, 2010. doi:10.1016/j.biortech.2010.03.038

LIMAYEM, A.; RICKE, S. C. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 38, p. 449-467, 2012. doi:10.1016/j.pecs.2012.03.002

LLOYD, J. B.; WHELAN, W. J. An improved method for enzymic determination of glucose in the presence of maltose. **Analytical Biochemistry**, v. 30, p. 467-470, 1969.

MACEDO, A. L.; SANTOS, R. S.; PANTOJA, L.; PINTO, N. A. V. D.; SANTOS, A. S. Avaliação do aproveitamento do resíduo sólido da extração de óleo de mamona (*Ricinus communis* L.) para produção de bioetanol. **Revista de Estudos Universitários**, v. 35, p. 75-85, 2009.

MACEDO, A. L.; SANTOS, R. S.; PANTOJA, L.; SANTOS, A. S. Pequi Cake Composition, Hydrolysis and Fermentation to Bioethanol. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n. 01, p. 9-15, 2011.

MAKKAR, H. P. S.; ADERIBIGBE, A. O.; BECKER, K. Comparative evaluation of nontoxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. **Food Chemistry**, v. 62, p. 207–215. 1998a.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. *Jatropha curcas*, a promising crop for the generation of biodiesel and value-added coproducts. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, n.8, p. 773–787, 2009. DOI 10.1002/ejlt.200800244

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K.; SCHMOOK, B. Edible provenances of *Jatropha curcas* from Quintana Roo state of Mexico and effect of roasting on antinutrient and toxic factors in seeds. **Plant Foods for Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum)**, v. 52, p. 31–36, 1998b.

MAKKAR, H. P. S.; FRANCIS, G.; BECKER, K. Protein concentrate from *Jatropha curcas* screw-pressed seed cake and toxic and antinutritional factors in protein concentrate. **Journal**

of the Science of Food and Agriculture, v. 88, p. 1542–1548, 2008. DOI: 10.1002/jsfa.3248

MARTÍNEZ-HERRERA, J.; SIDDHURAJU, P.; FRANCIS, G.; DÁVILA-ÓRTIZ, G.; BECKER, K.. Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different treatments on their levels, in four provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. **Food Chemistry**, v. 96, p. 80–89, 2006. DOI:10.1016/j.foodchem.2005.01.059

McCREADY, R. M.; GUGGOLZ, J. M.; SILVEIRA, V.; OWENS, H. S. Determination of starch and amylose in vegetables. Application to pear. **Analytical Chemistry**, v. 22, p. 1156, 1950.

PATNI, N.; PILLAI, S. G.; DWIVEDI, A. H. Wheat as a Promising Substitute of Corn for Bioethanol Production. **Procedia Engineering**, v. 51, p. 355–362, 2013. DOI: 10.1016/j.proeng.2013.01.049

PEREIRA JR., N.; COUTO, M. A. P. G.; SANTA ANNA, L. M. M. Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production within the context of biorefinery. **Series on biotechnology**, PEREIRA Jr., N. (Ed.). v. 2, p. 47. 2008.

PILONE, G. J. Determination of ethanol in wine by titrimetric and spectrophotometric dichromate methods: collaborative study. **Journal - Association of Official Analytical Chemists**, v. 68, n.2, p. 188-190, 1985.

SARKAR, N.; GHOSH, S. K.; BANNERJEE, S.; AIKAT, K. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. **Renewable Energy**, v. 37, p. 19-27, 2012. DOI:10.1016/j.renene.2011.06.045

SINGH, R. N.; VYAS, D. K.; SRIVASTAVA, N. S. L.; NARRA, M. SPRERI experience on holistic approach to utilize all parts of *Jatropha curcas* fruit for energy. **Renewable Energy**, v. 33, n.8, p. 1868–1873, 2008. DOI:10.1016/j.renene.2007.10.007

SOUTHGATE, D. A. T. **Determination of food carbohydrates**. London: Applied Science Publishers LTD, 1991. 177p.

STATSOFT, Inc. 2004. STATISTICA® (data analysis software system). Version 7. Tulsa, OK: Statsoft Inc., 2004.

VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feed analysis and its applications to forage. **Journal of Animal Science**, v. 26, n.1, p. 119-128, 1967.

VISSER, E. M.; OLIVEIRA FILHO, D.; MARTINS, M. A.; STEWARD, B. L. Bioethanol production potential from Brazilian biodiesel co-products. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, p. 489-494, 2011. DOI:10.1016/j.biombioe.2010.09.009

ZANZI, R.; PÉREZ, J. A. S.; SOLER, P. B. Production of biodiesel from *Jatropha curcas* in the region of Guantanamo in Cuba. In: 3rd **International Congress University- Industry Cooperation**, Ubatuba, Brazil. 2008.