

Produção de bioetanol a partir de coproduto gerado no descaroçamento de azeitona

Bioethanol production from coproduct generated in olive ginning

Vanessa Medeiros Pereira¹, Leilson de Oliveira Ribeiro², Henrique Trancoso³, José Gonçalves Antunes³, Marisa Fernandes Mendes⁴, Cristiane de Souza Siqueira Pereira⁵.

Resumo

Na busca por fontes alternativas de energia menos poluentes e mais sustentáveis, o uso de resíduos agrícolas para a produção de biocombustíveis tem se mostrado uma alternativa promissora. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade da produção do bioetanol a partir da polpa de azeitona, um coproduto gerado no processo de descaroçamento das azeitonas de mesa. Avaliaram-se dois tipos de hidrólise como pré-tratamentos: hidrólise via ácido clorídrico 1% e hidrólise por explosão a vapor com ácido sulfúrico 14%. O líquido hidrolisado foi fermentado por 4 dias à temperatura ambiente, utilizando-se a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. O melhor rendimento em etanol (4,6% v/v) foi obtido com a polpa pré tratada com ácido sulfúrico.

Palavras-Chave: Hidrólise. Fermentação. *Olea europaea*. Biocombustível.

Como citar esse artigo. Pereira VM, Ribeiro LO, Trancoso H, Antunes JG, Mendes MFM, Pereira CSS. Produção de bioetanol a partir de coproduto gerado no descaroçamento de azeitona. Revista Teccen. 2013 Jan./Dez.; 06 (1/2): 11-15.

Abstract

In the search for alternative energy sources cleaner and more sustainable use of agricultural residues for the production of biofuels has shown a promising alternative. In this context, the present study aimed to assess the feasibility of bioethanol production from olive pulp, a co-product generated in the ginning process table olives. It was evaluated how two types of pre-hydrolysis treatments: via hydrolysis and 1% hydrochloric acid hydrolysis with a steam explosion 14% sulfuric acid. The liquid hydrolyzate was fermented for 4 days at room temperature, using the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The best ethanol yield (4.6% v/v) was obtained through the pulp pretreated with sulfuric acid.

Keywords: Hydrolysis. Fermentation. *Olea europaea*. Biofuel.

Introdução

Os combustíveis obtidos a partir de recursos renováveis têm despertado um grande interesse pela comunidade científica nas últimas décadas.

De acordo com Haagenzen et al. (2009), o interesse no uso da biomassa ocorre por esta ser uma das mais abundantes fontes de energia. A biomassa pode ser obtida por resíduos orgânicos, águas residuais, culturas energéticas, resíduos agrícolas e industriais. Segundo Claassen et al. (1999), a biomassa pode ser biologicamente convertida em combustíveis líquidos ou gasosos, tais como o etanol, o metanol, o metano e o hidrogênio, através de processos de fermentação. Os hidratos de carbono, sob a forma de biomassa lignocelulósica ou como açúcares simples são os principais substratos orgânicos para a produção de etanol e de hidrogênio. De acordo com Soares e Rossell (2007), os custos de produção de biomassa no Brasil

são os menores do mundo, portanto, a possibilidade de resultados viáveis é alta.

As tecnologias mais importantes para a conversão de biomassa em energia são a combustão para geração de eletricidade ou calor, a pirólise, a transesterificação de óleos vegetais, ou a hidrólise seguida de fermentação para a produção de biocombustíveis [Srirangan et al. 2012].

Entre os biocombustíveis líquidos destaca-se o etanol que pode ser produzido com base em qualquer biomassa que contenha quantidades significativas de amido ou açúcar, podendo ser de primeira geração, onde é produzido a partir da fermentação alcoólica dos açúcares vegetais da biomassa (sacarose) como a cana-de-açúcar, o milho, o trigo, o amendoim, a soja, a beterraba, a batata doce e o girassol. O etanol produzido possui elevado teor de oxigênio, possibilitando uma combustão mais limpa e o melhor desempenho dos motores, contribuindo para reduzir as emissões

1. Universidade Severino Sombra, Curso de Química Industrial, Vassouras-RJ, Brasil.

2. Universidade Federal do Rio de Janeiro, TPQB/EQ, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

3. Centro de Tecnologia SENAI Alimentos e Bebidas.

4. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, DEQ/IT. Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

5. Universidade Severino Sombra, Vassouras-RJ, Brasil.

poluidoras [Nogueira et al. 2008].

De acordo com Macedo et al. (2008), esses biocombustíveis podem ser substituídos pelos biocombustíveis de segunda geração que são produzidos pela hidrólise seguida da fermentação de materiais lignocelulósicos e praticamente todos os resíduos de biomassa, produzidos nas atividades agrícolas e industriais, e mesmo o lixo urbano, apresentam elevados teores de materiais lignocelulósicos.

O bioetanol representa uma opção favorável, pois pode ser produzido a partir de materiais lignocelulósicos, como os resíduos agrícolas [Sun e Cheng 2002] devido à sua grande disponibilidade, baixo custo, necessidade de eliminação e a falta de aplicações econômicas. Outras vantagens do uso de bioetanol como combustível incluem uma redução significativa de emissões de CO₂, diminuição da dependência do refino de combustíveis fósseis, elevada produtividade em termos de energia de biomassa e o fato de que tecnicamente não há restrição ao uso de uma mistura de até 10% (E10) de bioetanol à gasolina utilizada nos veículos atuais [Leite 2009].

As tecnologias para a obtenção de bioetanol de segunda geração, produzido a partir de materiais lignocelulósicos, envolvem a hidrólise dos polissacarídeos da biomassa em açúcares fermentáveis e sua posterior fermentação. Para executar essa tarefa, o processo de hidrólise utiliza tecnologias complexas e multifásicas, podendo haver muitas vezes a necessidade de pré-tratamentos com base no uso de rotas ácidas e/ou enzimáticas para a separação dos açúcares, com efetiva remoção da lignina e abertura da matriz. [Pereira Jr. et al. 2008].

Os materiais lignocelulósicos são formados por estruturas duras e fibrosas, compostas por celulose e hemicelulose (cerca de 70% da massa seca), entremeadas por outra macromolécula formada por álcoois aromáticos, a lignina, aos quais se encontra unida por ligações covalentes e de hidrogênio [Neureiter et al. 2002]. A utilização efetiva dos materiais lignocelulósicos em processos biotecnológicos apresenta dois obstáculos principais: a estrutura cristalina da celulose, altamente resistente à hidrólise e a associação lignina-celulose, que forma uma barreira física que impede o acesso enzimático ou microbiológico ao substrato [Brasil 2010]. Desta forma, é imprescindível que ocorra uma etapa de pré-tratamento para desorganizar o complexo lignocelulósico, onde a função primária do pré-tratamento é abrir esta matriz multicomponente, de modo a torná-la mais acessível [Brasil 2010].

O uso de resíduos para a produção de biocombustíveis pode ser considerada uma alternativa importante de destinação, sendo este aproveitado ao máximo como intermediário, tornando-se uma solução rentável e sustentável para os problemas de descarte. O resíduo do processamento da azeitona é um composto semi sólido, rico em material lignocelulósico,

dependendo da variedade da espécie e da fase de maturidade da azeitona utilizada [Bianchi 2003].

De acordo com Ghanbari et al. (2012), a composição média da azeitona inclui água (50%), proteína (1,6%), gordura (22%), hidratos de carbono (19,1%), celulose (5,8%), substâncias inorgânicas (1,5%) e compostos fenólicos (1-3%).

De acordo com a literatura, o destino final da polpa de azeitona tem sido direcionado para compostagem [Madejon, Galli & Tomati 1998]. Porém, o potencial da polpa de azeitona para a produção de biocombustíveis tem sido considerado, devido a mesma ser um substrato ideal para microrganismos mesófilos e termófilos para a produção de metano [Kalfas et al. 2006]. De acordo com Gavala et al. (2005), a polpa também apresenta potencial para produção de biohidrogênio, sendo o metano produzido no mesmo processo subsequente.

No conceito de reutilização da polpa de azeitona residual, além da produção de biocombustíveis, os resíduos gerados do processo de descaroçamento das azeitonas podem ser utilizados como carvão vegetal, ração animal, sabonete esfoliante e óleo de oliva [Chimatti 2012].

Na literatura, poucos são os trabalhos que relatam o uso da polpa como biomassa para produção de bioetanol, excetuando-se o de Haagensen et al. (2009). A maioria dos trabalhos relata o uso da poda da oliveira para produção, como o trabalho de Díaz-Villanueva et al. (2012). Dentro desse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade técnica e o potencial do uso da polpa de azeitona residual como matéria prima para produção do bioetanol.

Materiais e Métodos

Matéria prima

A polpa residual utilizada no experimento (Figura 1) foi gentilmente cedida pela Indústria Antares Brasil/ Três Rios - RJ. De acordo com os estudos realizados por Chimatti (2012) na indústria em questão, o processamento de 19000 kg de azeitonas gera 4750 kg do coproduto.



(a)



(b)

Figura 1. Coprodutos do processo de descaroçamento da azeitona (a) resíduo e (b) polpa após prensagem

Pré – tratamento por hidrólise ácida

O objetivo da hidrólise como pré-tratamento é desorganizar o complexo lignocelulósico, facilitando o acesso das enzimas à fibra de celulose, aumentando a área superficial da biomassa. Dois pré-tratamentos foram estudados e os procedimentos são descritos a seguir.

Hidrólise com ácido clorídrico

Cerca de 120 g de polpa *in natura* foi diluída em 800 mL de água destilada. Esta solução foi tratada via ácido clorídrico 1%, aquecido a 95 °C por 60 minutos.

Hidrólise por explosão a vapor

Para o processo de hidrólise via ácido sulfúrico, a polpa foi seca em estufa a 60 °C, por um período de 6 horas. O teor de umidade obtido foi de 10%. Cerca de 430 g de polpa foram hidrolisadas com ácido sulfúrico 14% em autoclave a 121 °C.

A Figura 2 apresenta a polpa durante os pré-tratamentos.

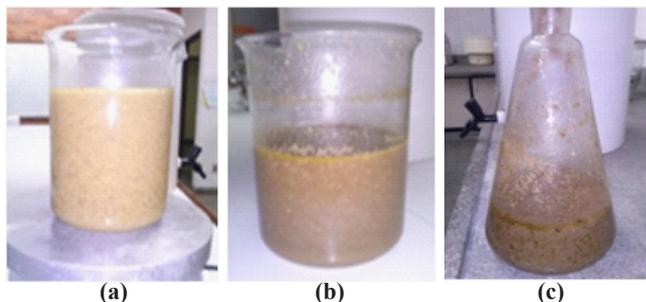


Figura 2. (a) Polpa de azeitona *in natura* antes do aquecimento, (b) polpa hidrolisada com ácido clorídrico e (c) polpa hidrolisada com ácido sulfúrico 14%

Fermentação

A fermentação foi realizada no Centro de Tecnologia de Alimentos e Bebidas SENAI/Vassouras – RJ.

Utilizou-se um delineamento composto central rotacional (DCCR) para avaliar duas variáveis independentes (concentração de leveduras e adição de zinco), cujas condições foram variadas nas faixas especificadas na Tabela 1. A concentração resultante de etanol foi selecionada como variável de resposta.

Tabela 1. Intervalo utilizado para construir o DCCR para o processo de fermentação da polpa de azeitona

| Variáveis | -1,41 | -1 | 0 | +1 | +1,41 |
|-----------------------------------|---------|----------|---------|---------|---------|
| Concentração de levedura (cel/mL) | 1,0E+07 | 1,73E+07 | 3,5E+07 | 5,3E+07 | 6,0E+07 |
| Adição de zinco (mg/L) | 0,10 | 0,13 | 0,20 | 0,27 | 0,30 |

A fermentação foi realizada nas mesmas condições do DCCR para a polpa pré-tratada via ácido clorídrico e por explosão a vapor com ácido sulfúrico, sendo 11 experimentos para cada pré tratamento, variando-se a concentração de leveduras e a adição de zinco, com o objetivo de verificar o maior rendimento de álcool. As triplicatas no ponto central serviram para estimar o erro experimental.

Para todas as amostras pré-tratadas, o líquido hidrolisado foi filtrado e o pH ajustado para 4. O microrganismo utilizado nas fermentações foi uma linhagem de levedura industrial *Sacchromyces cerevisiae*, cedida pelo Centro de Tecnologia de Alimentos e Bebidas SENAI/Vassouras. O processo

de fermentação ocorreu à 25 °C, por um período de 96 horas.

Determinação do teor de álcool e açúcar

Após a fermentação, uma amostra de cada experimento (30 mL) foi utilizada para quantificação de açúcar e álcool em aparelho Beer Analyser, modelo SP-1, fabricado pela empresa Anton Paar.

Resultados e Discussão

A Tabela 2. apresenta a porcentagem de etanol

obtida após o processo de fermentação.

Tabela 2. Rendimento em etanol após fermentação da polpa de azeitona

| Ensaios | Levedura (cel/mL) | Adição de zinco (mg/L) | ^a Rendimento etanol (% v/v) | ^b Rendimento etanol (% v/v) |
|---------|-------------------|------------------------|--|--|
| 1 | 1,7E+07 | 0,13 | 0,48 | 4,10 |
| 2 | 5,3E+07 | 0,13 | 0,54 | 4,40 |
| 3 | 1,7E+07 | 0,27 | 0,47 | 3,90 |
| 4 | 5,3E+07 | 0,27 | 0,51 | 4,10 |
| 5 | 1,0E+07 | 0,20 | 0,67 | 4,10 |
| 6 | 6,0E+07 | 0,20 | 0,75 | 4,20 |
| 7 | 3,5E+07 | 0,10 | 0,51 | 4,60 |
| 8 | 3,5E+07 | 0,30 | 0,66 | 3,90 |
| 9 | 3,5E+07 | 0,20 | 0,49 | 4,20 |
| 10 | 3,5E+07 | 0,20 | 0,50 | 4,20 |
| 11 | 3,5E+07 | 0,20 | 0,49 | 4,00 |

^apolpa pré tratada com ácido clorídrico, ^bpolpa pré tratada com ácido sulfúrico 14%

De acordo com os resultados, observa-se um aumento do rendimento para a polpa pré tratada com ácido sulfúrico por explosão a vapor em comparação com a polpa pré tratada com ácido clorídrico. Gavala et al. (2005) relatam que a etapa de pré tratamento da polpa de azeitona se faz necessária já que o teor de carboidratos insolúveis da polpa de azeitona é de difícil disponibilidade e que a liberação de açúcar pode ser mais eficiente com uma etapa de hidrólise.

O consumo de açúcar para a fermentação da polpa de azeitona hidrolisada via ácido sulfúrico é apresentado na Figura 3.

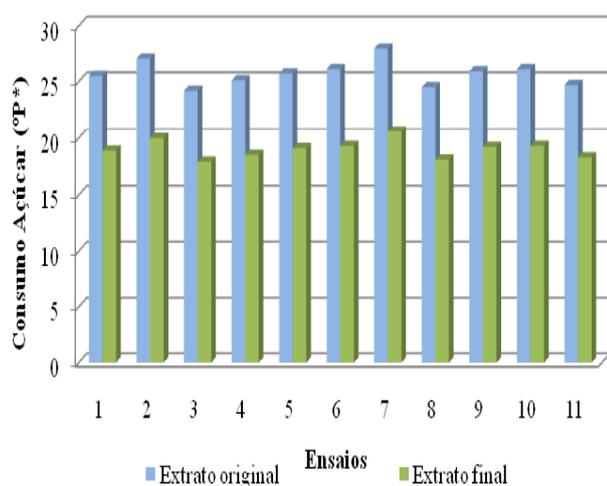


Figura 3. Concentração de açúcar antes e após fermentação

*Grau Plato é uma unidade de concentração definida como a porcentagem em massa de sacarose presente em uma solução.

De acordo com Dornelles e Rodrigues (2006), quanto maior a quantidade de açúcar inicial, maior é a quantidade de etanol produzido, e este comportamento foi observado nos tratamentos com ácido sulfúrico, visto que a hidrólise foi mais eficiente, aumentando a

quantidade inicial de açúcar devido à abertura da matriz lignocelulósica, sendo significativa no teor de etanol produzido.

O rendimento de etanol no fermentado produzido com a polpa pré tratada com ácido clorídrico variou de 0,47 a 0,66 % (v/v) e para polpa pré tratada com ácido sulfúrico o rendimento de etanol variou de 3,9 a 4,6 % (v/v). As Tabela 3 e 4 apresentam a análise de variância (ANOVA) para ambos os processos.

Tabela 3. Análise de Variância para rendimento em etanol obtido com a polpa pré tratada com ácido clorídrico

| Fator | Soma Quadrática | GL | Média Quadrática | F-calculado | p-valor |
|-------------------------------|-----------------|----|------------------|-------------|---------|
| (1) Leveduras cel/mL (L) | 0,0056 | 1 | 0,0056 | 0,5475 | 0,4926 |
| Leveduras cel/mL (Q) | 0,0285 | 1 | 0,0285 | 2,7509 | 0,1581 |
| (2) Adição de zinco mg/mL (L) | 0,0036 | 1 | 0,0036 | 0,3556 | 0,5769 |
| Adição de zinco mg/mL (Q) | 0,0004 | 1 | 0,0004 | 0,0388 | 0,8514 |
| 1L para 2L | 0,0001 | 1 | 0,0001 | 0,0096 | 0,9256 |
| Erro | 0,0518 | 5 | 0,0103 | | |
| Total SS | 0,0907 | 10 | | | |

Tabela 4. Análise de Variância para rendimento em etanol obtido com a polpa pré tratada com ácido sulfúrico

| Fator | Soma Quadrática | GL | Média Quadrática | F-calculado | p-valor |
|-------------------------------|-----------------|----|------------------|-------------|---------|
| (1) Leveduras cel/mL(L) | 0,0515 | 1 | 0,0515 | 3,057 | 0,1407 |
| Leveduras cel/mL(Q) | 0,0006 | 1 | 0,0006 | 0,038 | 0,8525 |
| (2) Adição de zinco mg/mL (L) | 0,2772 | 1 | 0,2772 | 16,455 | 0,0097 |
| Adição de zinco mg/mL (Q) | 0,0087 | 1 | 0,0087 | 0,520 | 0,5028 |
| 1L para 2L | 0,0025 | 1 | 0,0025 | 0,148 | 0,7159 |
| Erro | 0,0842 | 5 | 0,0168 | | |
| Total SS | 0,4272 | 10 | | | |

Através da análise estatística, tendo como resposta a concentração final de etanol, observa-se que, para a fermentação do hidrolisado via ácido clorídrico não houve influência significativa das variáveis independentes sobre o percentual de álcool obtido, porém para a hidrólise com ácido sulfúrico além do aumento do rendimento, também foi observado a influência da adição de zinco sobre o rendimento da fermentação, tendo este parâmetro uma contribuição significativa para a obtenção de álcool.

O valor de R^2 obtido pela tabela ANOVA para a fermentação do hidrolisado com ácido sulfúrico foi de 0,80. Este parâmetro demonstra o grau de aplicação do modelo proposto, onde se pode observar que para a hidrólise com ácido sulfúrico 80% dos dados obtidos foram explicados pelo modelo, isto corrobora para a utilização do ácido sulfúrico na hidrólise da polpa de azeitona.

A escolha do microrganismo *Saccharomyces cerevisiae* para a fermentação alcoólica também foi um fator determinante para a eficiência do processo, devido à sua capacidade de assimilar facilmente a glicose da cana ou a celulose de biomassas residuais [Sánchez e Carbona 2008].

Conclusão

Os resultados apresentados no trabalho permitiram concluir que a hidrólise como pré tratamento da polpa de azeitona residual foi capaz de gerar um percentual significativo de álcool e a mesma apresenta um potencial para produção do bioetanol. A tecnologia se mostrou uma solução viável para a reutilização deste coproduto.

Agradecimentos

Universidade Severino Sombra, Antares Brasil Indústria e Comércio, Centro de Tecnologia SENAI Alimentos e Bebidas.

Referências

- Bianchi G, (2003). Lipids and phenols in table olives. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105, 229-242.
- Brasil (2010). Ministério da Ciência e Tecnologia. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. Química verde no Brasil 2010-2030. Brasília, MCT/CGEE. 433 p.
- Chimatti WR, (2012). Fabricação de subprodutos gerados a partir do resíduo do processo de descaroçamento e seleção de azeitonas brutas. Dissertação Pag 16. Universidade Severino Sombra, Vassouras, RJ.
- Claassen PAM, van Lier JB, Contreras AML, van Niel EWJ, Sijtsma L, Stams AJM, Vries SS, Weusthuis RA, (1999). Utilisation of biomass for the supply of energy carriers. *Applied Microbiology and Biotechnology*; 52(6), 741-55.
- Díaz-Villanueva MJ, Cara-Corpas C, Ruiz-Ramos E, Romero-Pulido I, Castro-Galiano E, (2012). Olive tree pruning as an agricultural residue for ethanol production. Fermentation of hydrolysates from dilute acid pretreatment. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 10(3), 643-648.
- Dornelles, A. S.; Rodrigues, S. (2006). Fermentação Alcoólica de Caldo de Cana utilizando grãos de Kefir. *Ciência Agrônoma*, v. 37, n. 3, p. 386-390.
- Gavala HN, Skiadas IV, Ahring BK, Lyberatos G, (2005). Potential for biohydrogen and methane production from olive pulp. *Water Science and Technology*, 52(1-2), 209-15.
- Ghanbari, R.; Anwar, F.; Alkharfy, M. K.; Gilani, A. & Saari, N, (2012). Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (Olea europaea L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 3291-3340.
- Haagensen F, Skiadas IV, Gavala HN, Ahring BK, (2009). Pre-treatment and ethanol fermentation potential of olive pulp at different dry matter concentrations. *Biomass and Bioenergy*; 33, 643-51.
- Kalfas H, Skiadas IV, Gavala HN, Stamatielatu K, Lyberatos G, (2006). Application of ADM1 for the simulation of anaerobic digestion of olive pulp under mesophilic and thermophilic conditions. *Water Science and Technology*, 54(4), 149-56.
- Leite, R.C.C, (2009), Bioetanol combustível: uma oportunidade para o Brasil (in Portuguese), CGEE, Brasília, DF, Brazil, Coordinated by Rogério C.C. Leite, Brasília, DF, 536p.
- Macedo, I.C.; Seabra, J.E.A.; Silva, J.E.A.R, S. (2008). Greenhouse gases emissions in the production and use of ethanol from sugarcane in Brazil: The 2005/2006 averages and a prediction for 2020". *Biomass and Bioenergy*, v. 32, p. 582-595.
- Madejon E, Galli E, Tomati U, (1998). Bioremediation of olive mill pomaces for agricultural purposes. *Fresenius Environmental Bulletin*. 7(12A), 873-9.
- Neureiter, M.; Danner, H.; Thomasser, C.; Saidi, B.; Braun, R. (2002). Dilute-acid hydrolysis of sugarcane bagasse at varying conditions. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 98, p. 49-58.
- Nogueira L. A. H., Seabra, J. E. A., Best, G., Leal, M. R. L. V., & Poppe, M. K. (2008). Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável. Rio de Janeiro, BNDES/CGEE.
- Pereira Jr., N.; Couto, M.A.P.G.; Santa Anna, L.M.M. (2008). Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and the context of biorefinery. In *Series on Biotechnology*, Ed. Amiga Digital UFRJ, Rio de Janeiro, v.2, 45 p.
- Sánchez, O. J. & Carbona, C.A. (2008). Trends in biotechnological production of fuel ethanol different feedstocks. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 5270 - 5295.
- Soares, P.A. e Rossell, C.E.V. (2007.) Conversão de celulose pela tecnologia Organosolv. *NAIPPE - USP*, Vol. 3 - Nova Série, São Paulo.
- Srirangan K, Akawi L, Moo-Young M, Chou CP, (2012). Towards sustainable production of clean energy carriers from biomass resources. *Appl Energy*; 100, 172-86.
- Sun, Y. and Cheng, J (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresour Technol*. 83, 1-11.