

MARCO AURÉLIO SCHULZ

**PRODUÇÃO DE BIOETANOL A PARTIR DE REJEITOS DA BANANICULTURA:
POLPA E CASCAS DE BANANA.**

**JOINVILLE
2010**

MARCO AURÉLIO SCHULZ

**PRODUÇÃO DE BIOETANOL A PARTIR DE REJEITOS DA BANANICULTURA:
POLPA E CASCAS DE BANANA.**

Dissertação de mestrado apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Processos, na Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE.
Orientador: Prof. Dr. Ozair Souza.

JOINVILLE

2010

Catálogo na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

S388p Schulz, Marco Aurélio
Produção de bioetanol a partir de rejeitos da bananicultura: polpa e cascas de banana / Marco Aurélio Schulz ; orientador Dr. Ozair Souza – Joinville: UNIVILLE, 2010.

101 f. : il. ; 30 cm

Orientador: Ozair Souza
Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos –
Universidade da Região de Joinville)

1. Etanol. 2. Bioenergia - Brasil. 3. Bioálcool - Brasil. 4. Bananicultura –
Produção de etanol. I. Souza, Ozair. II. Título.

CDD 363.7

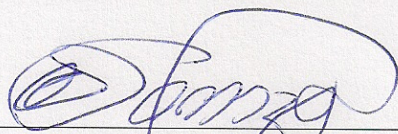
Termo de Aprovação

“Produção de bioetanol a partir de rejeitos da bananicultura: polpa e cascas de banana”

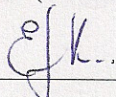
por

Marco Aurélio Schulz

Dissertação julgada para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Processos, área de concentração Engenharia de Processos e Tecnologias Limpas e aprovada em sua forma final pelo Programa de Mestrado em Engenharia de Processos.

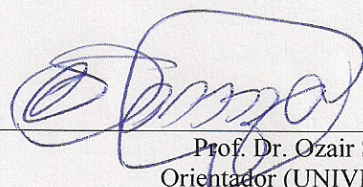


Prof. Dr. Ozair Souza
Orientador (UNIVILLE)

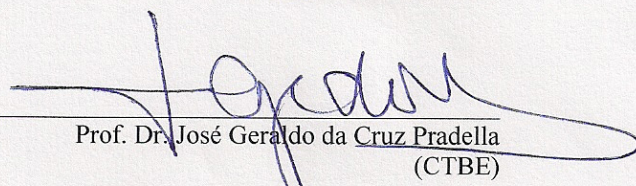


Prof. Dra. Elisabeth Wisbeck
Coordenadora do Programa de Mestrado em Engenharia de Processos (UNIVILLE)

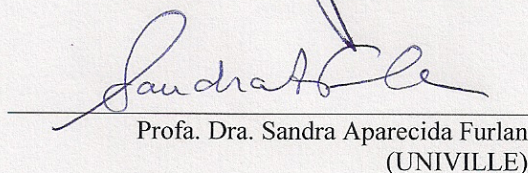
Banca Examinadora:



Prof. Dr. Ozair Souza
Orientador (UNIVILLE)



Prof. Dr. José Geraldo da Cruz Pradella
(CTBE)



Profa. Dra. Sandra Aparecida Furlan
(UNIVILLE)

Joinville, 31 de agosto de 2010.

“Em busca do etanol do futuro”

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus Pais Rodolfo e Marli, aos meus Irmãos Alan e João e a minha esposa Michele.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por me amparar e me encorajar a continuar, nos momentos em que tudo parecia estar perdido e por me conceder sabedoria para que eu pudesse contornar os acontecimentos inoportunos.

Aos **meus pais, Rodolfo e Marli Terezinha Schulz**, por serem meu porto seguro nas horas de desânimo e desespero, por ouvirem, incansavelmente, minhas reclamações e sempre acreditarem que eu seria capaz de conseguir.

A minha esposa **Michele Scholz Schulz** por me acompanhar em todos os momentos desta caminhada.

Aos **meus irmãos, familiares e amigos**, pelo incentivo e contribuição à realização deste trabalho e pela compreensão nos momentos de ausência.

Ao **orientador Prof. Dr. Ozair Souza**, por ter idealizado este projeto, por todo auxílio prestado, coleguismo e conhecimento transmitido.

A **Prof^a. Dra. Elizabeth Wisbeck**, por seu auxílio em toda a análise estatística dos resultados.

Ao **Mestrado de Engenharia de Processos**, nas pessoas dos professores.

Ao Acadêmico de Engenharia Química **Gustavo Fischer**, por seu apoio nos ensaios de laboratório.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	3
AGRADECIMENTOS	4
RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	12
LISTA DE FIGURAS.....	14
INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL.....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3. REVISÃO DA LITERATURA	19
3.1 BIOMASSA E ENERGIA	19
3.1.1 A bioenergia no Brasil	20
3.1.2 O bioálcool brasileiro.....	21
3.1.3 O etanol e a evolução dos biocombustíveis no Brasil	22
3.2 PRODUÇÃO DE ETANOL	24
3.2.1 Matérias-primas.....	24
3.2.2 Processo fermentativo.....	26
3.2.3 Fermentação a partir de outros substratos.....	28
3.3 POTENCIALIDADES DO USO DE RESÍDUOS DA BANANICULTURA NA PRODUÇÃO DE ETANOL	30
3.3.1 A cultura da banana	30
3.3.2 Resíduos da bananicultura.....	32
3.3.3 Caracterização da polpa e das cascas de banana.....	33

3.3.4 Produção de bioálcool a partir de resíduos da banana	35
3.4 BIOÁLCOOL A PARTIR DE MATERIAIS CELULÓSICOS.....	37
3.4.1 Pré-tratamento.....	40
3.4.1.1 Hidrólise ácida.....	42
3.4.1.2 Hidrólise Enzimática	44
3.4.2 Fermentação e hidrólise separadas (FHS).....	45
3.4.3 Fermentação e sacarificação simultâneas (FSS)	46
3.4.4 Conversão microbiana direta (CMD)	46
3.4.5 Rendimento e custo do bioetanol	46
4. MATERIAL E MÉTODOS	48
4.1 BIOMASSAS	48
4.2 ENSAIOS REALIZADOS.....	49
4.2.1 Tratamento inicial da biomassa.....	50
4.2.2 Hidrólise Ácida das biomassas.....	50
4.2.3 Despolimerização da biomassa: hidrólise enzimática	52
4.2.4 Ensaios de fermentação.....	54
4.2.4.1 Meios de cultivos.....	54
4.2.4.2 Inóculo de fermentação	55
4.2.4.3 Ensaios E	55
4.2.4.4 Fermentação em biorreator de bancada: Ensaios F.....	56
4.3 MÉTODOS ANALÍTICOS	57
4.3.1 Umidade	57
4.3.2 Concentrações de lignina e celulose	58
4.3.3 Concentrações de açúcares totais e etanol.....	58
4.4 MÉTODOS DE CÁLCULOS	59
4.4.1 Rendimento em açúcares totais	59
4.4.2 Rendimento em etanol	59

4.4.3 Produtividade total em etanol	60
4.4.4 Eficiência do processo fermentativo (ϵ)	60
4.5 Análises estatísticas	61
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS RESÍDUOS	62
5.2 ENSAIOS DE HIDRÓLISES	63
5.3 ENSAIOS DE FERMENTAÇÃO	70
5.3.1 Ensaios em frascos Erlenmeyer – Ensaios E	70
5.3.2 Ensaios em biorreator de bancada – Ensaios F	75
5.3.3 Rendimento em etanol, produtividade e eficiência do processo	79
CONCLUSÕES	83
SUGESTÕES PARA CONTINUIDADE DO TRABALHO	85
REFERÊNCIAS	86

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo estabelecer as condições ideais da fermentação alcoólica da polpa e das cascas de banana nanica *Musa cavendishii* visando ao aumento do rendimento e da produtividade do processo. Foram avaliados os resíduos cascas e polpas nas concentrações de 250, 375, 500 e 1210 g MU L⁻¹ e 250, 375 e 500 g MU L⁻¹, respectivamente. Os estudos foram desenvolvidos em quatro diferentes etapas: (1) caracterização dos resíduos *in natura* de polpas e cascas de banana; (2) pré tratamento térmico e ácido sobre a deslignificação dos resíduos; (3) hidrólise enzimática sobre a despolimerização dos resíduos; (4) fermentações em frascos Erlenmeyer com frequência de agitação de 120 min⁻¹, 30 °C, durante 48 h e em biorreator de bancada com frequência de agitação de 150 min⁻¹, 30 °C e pH controlado automaticamente em 4,5±0,1. Os volumes de trabalho utilizados foram no biorreator de bancada de 2 L e nos frascos Erlenmeyer de 100ml, com 20% v/v de inóculo, usando como agente de fermentação alcoólica a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Nas mesmas condições operacionais de fermentação utilizadas, o aumento da concentração inicial da polpa de banana *in natura* de 250 para 500 g L⁻¹ não conduziu a valores diferentes de rendimento e produtividade em etanol. A polpa de banana apresentou um valor médio de 61,1 g L⁻¹ de açúcar e proporcionou, em média, uma concentração final de 29,8 g L⁻¹ de bioetanol após 8 h de processo fermentativo. A polpa mostrou alto potencial para uso na produção de etanol, já nas cascas como único substrato se faz necessários estudos complementares.

Palavras-chave: bioetanol, hidrólise, fermentação, resíduos agroindustriais.

ABSTRACT

The objective of this study was to establish ideal conditions for alcoholic fermentation of *Musa cavendishii* banana pulp and peels aimed at increasing the yield and productivity of the process. Peels and pulp waste in concentrations of 250, 375, 500 and 1210 g MU L⁻¹ and 250, 375 and 500 g MU L⁻¹, respectively, were evaluated. The studies were developed in four different stages: (1) characterization of banana pulp and peel wastes *in natura*; (2) heat and acid pre-treatment on the depolymerization of wastes; (3) enzymatic hydrolysis on the depolymerization of wastes; (4) fermentation in Erlenmeyer flasks with a stirring frequency of 120 min⁻¹, 30 °C, for a period of 48 h and in bench bioreactor with a stirring frequency of 150 min⁻¹, 30 °C and pH automatically controlled at 4.5±0.1. The work volumes used were: 2 L in bench bioreactor and 100ml in Erlenmeyer flasks, with 20% v/v inoculum, using *Saccharomyces cerevisiae* yeast as the alcoholic fermentation agent. Under the same fermentation operating conditions, increase in the initial banana pulp *in natura* concentration from 250 to 500 g L⁻¹ did not lead to different yield and productivity values in ethanol. The banana pulp presented a mean value of 61.1 g L⁻¹ sugar and provided, on average, a final concentration of 29.8 g L⁻¹ bioethanol after 8 h fermentation process. The pulp showed high potential for use in ethanol production, while peels as substrate was the only one requiring further studies.

Keywords: bioethanol, hydrolysis, fermentation, agroindustrial wastes.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição da polpa e casca da banana <i>Musa cavendishii</i> madura.....	34
Tabela 2 – Processos de pré-tratamento da biomassa para posterior hidrólise enzimática	41
Tabela 3 – Rendimento da despolimerização da celulose por diferentes técnicas de hidrólises	43
Tabela 4 – Estimativas de rendimentos e custos para produção de bioetanol	47
Tabela 5 – Ensaio realizados durante a pesquisa.....	49
Tabela 6 – Ensaio de hidrólise ácida (HA) empregando como substrato polpa (P) e cascas (C) de banana nanica.....	51
Tabela 7 – Concentração de enzimas, pH e temperatura recomendados pelo fornecedor (Recom) e utilizadas (Utiliz) nos ensaios de hidrólise enzimática (despolimerização) da polpa e das cascas de banana nanica	53
Tabela 8 – Propriedades físico-químicas da banana <i>Musa cavendishii</i> madura.....	62
Tabela 9 – Concentrações de glicose (Gls), frutose (Frt), sacarose (Scr) e açúcares totais (AT) obtidos na hidrólise ácida de 250 g L ⁻¹ de polpa de banana nanica e respectivos valores de rendimento percentual em AT (R).....	64
Tabela 10 – Concentrações de glicose (Gls), frutose (Frt), sacarose (Scr) e açúcares totais (AT) obtidos na hidrólise ácida de 250 g L ⁻¹ de cascas de banana nanica e respectivos valores de rendimento percentual de AT (R).....	65
Tabela 11 – Concentrações de glicose (Glc), frutose (Frt), sacarose (Scr) e açúcares totais (AT) obtidas na despolimerização de polpa de banana através da hidrólise enzimática.	68
Tabela 12 – Concentrações de glicose (Glc), frutose (Frt), sacarose (Scr) e açúcares totais (AT) obtidas na despolimerização das cascas de banana através da hidrólise enzimática	69
Tabela 13 – Valores de pH, concentrações de açúcares totais (AT) e de etanol (P) e respectivos valores de rendimento observados na fermentação alcoólica realizada em frascos Erlenmeyer. Ensaio com microrganismo proveniente diretamente de fermento comercial.....	71

Tabela 14 – Valores de pH, concentrações de açúcares totais (AT) e de etanol (P) e respectivos valores de rendimento observados na fermentação alcoólica realizada em frascos Erlenmeyer. Ensaio com cepa Univille.....	72
Tabela 15 – Ensaio fermentação alcoólica realizada em frascos Erlenmeyer com resíduo de polpa e cascas <i>in natura</i> , valores de concentrações de açúcares totais (AT) e de etanol (P) e respectivos valores de rendimento.....	73
Tabela 16 – Análise estatística, médias e desvio dos resultados, do rendimento de etanol ($Y_{P/AT}$), produtividades totais (Q_P) e eficiência em relação ao rendimento máximo teórico (ϵ) da fermentação alcoólica realizada em frascos Erlenmeyer com resíduo de polpa e cascas <i>in natura</i>	74
Tabela 17 – Resultados do teste de extração do açúcar. Concentração de cascas de bananas, glicose, frutose e sacarose	75
Tabela 18 – Análise estatística, médias e desvio dos resultados de rendimento de etanol ($Y_{P/AT}$), produtividades totais (Q_P) e eficiência em relação ao rendimento máximo teórico (ϵ) da fermentação alcoólica realizada em biorreator de bancada com resíduo de polpa e cascas <i>in natura</i>	80
Tabela 19 – Valores de rendimento e produtividade em bioetanol, obtidos em fermentações com diferentes tipos de substratos	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

IEA – Agência Internacional de Energia
ANFAVEA - Associação Nacional dos Fabricantes de Veículos Automotores
ANEEL– Agência Nacional de Energia Elétrica
ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
AT – Açúcares totais
 AT_0 - Concentração de glicose, frutose e sacarose no início da fermentação
 AT_f - Concentração de glicose, frutose e sacarose no tempo final de fermentação
Atlas NAS - Atlas of Nutritional Data on United States and Canadian Feeds
C-HA - Casca – hidrólise ácida
CENBIO – Centro Nacional de Referência em Biomassa
CEPA - Centro de Socioeconômica e Planejamento Agrícola
CG - Cromatografia gasosa
CMD - Conversão microbiana direta
Conab - Companhia Nacional de Abastecimento
EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
E - Fermentação em francos Erlenmeyer
EG – Ensaio padrão com glicose em frasco Erlenmeyer
EPol₂₅₀ - Erlenmeyer, polpa *in natura* na concentração de 250 g MU L⁻¹
ECas₂₅₀ – Erlenmeyer, casca *in natura* na concentração de 250 g MU L⁻¹
ECas₅₀₀ – Erlenmeyer, casca *in natura* na concentração de 500 g MU L⁻¹
Ecas₁₂₁₀ - Erlenmeyer, casca alta concentração de 1210 g MU L⁻¹
F - Fermentação em biorreator
FG – Ensaio padrão com glicose em biorreator
FPol₂₅₀ – Biorreator, polpa *in natura* na concentração de 250 g MU L⁻¹
FPol₃₇₅ – Biorreator, polpa *in natura* na concentração de 375 g MU L⁻¹
FPol₅₀₀ – Biorreator, polpa *in natura* na concentração de 500 g MU L⁻¹
FAO – Organização das Nações Unidas Para a Agricultura e Alimentos
FHS - Fermentação e hidrólise separadas
FSS - Fermentação e sacarificação simultâneas
Frt - Frutose

Glc - Glicose
HA - Hidrólise ácida
HE – Hidrolise enzimática
HAHE - Hidrólise ácida + Hidrolise enzimática
HPLC - Cromatografia Líquida de alta eficiência
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IPCC – Intergovernmental Panel on Climate Change
MDL – Mecanismo de Desenvolvimento Limpo
MS – Massa seca de biomassa
MU – Massa úmida de biomassa
MME - Ministério de Minas e Energia
MCT - Ministério da Ciência e Tecnologia
ONU – Organização das Nações Unidas
P – Produto (etanol)
P–HA – Polpa – hidrólise ácida
pH – Potencial hidrogeniônico
 P_f - Concentração de etanol no tempo final de fermentação
 P_0 - Concentração de etanol no início do processo fermentativo
Proálcool - Programa Nacional do Alcool
 Q_P - Produtividade total em etanol de cada processo
R – Rendimento percentual em AT
Scr - Sacarose
tep - Tonelada de petróleo cru
 t_f - tempo final de fermentação
Única - União da Agroindústria Canavieira de São Paulo
 $Y_{P/AT}$ - Rendimento em etanol
 ε - Eficiência do processo fermentativo

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – A evolução dos bicomcombustíveis no Brasil	23
Figura 2 – Representação da estrutura da célula vegetal, (a) célula vegetal, (b) parede celular, (c) celulose e moléculas de glicose	38
Figura 3 – Fluxograma simplificado da produção de bioálcool a partir da biomassa lignocelulósica.....	39
Figura 4 – Representação do pré-tratamento por hidrólise ácida.....	42
Figura 5 – Banana nanica: (a) fruta madura, (b) polpa e cascas.....	48
Figura 6 – Frascos Erlenmeyer utilizados como reatores durante os ensaios de hidrólise ácida dos substratos	52
Figura 7 – Fermentação em agitador orbital da LOGEN	56
Figura 8 – Fermentador Biostat® B da Braun	57
Figura 9 – Ganho em ponto percentual no rendimento em AT obtido com a hidrólise ácida da polpa de banana nanica em comparação ao resíduo <i>in natura</i> (sem hidrólise).....	66
Figura 10 – Ganho em ponto percentual no rendimento em AT obtido com a hidrólise ácida das cascas de banana nanica em comparação ao resíduo <i>in natura</i> (sem hidrólise).....	67
Figura 11 – Cinética do consumo de açúcares totais (AT = glicose) e produção de etanol (P) observada na fermentação conduzida em biorreator de bancada. Ensaio Padrão.....	76
Figura 12 – Cinética do consumo de açúcares totais (AT = glicose + frutose + sacarose) e produção de etanol (P) observada na fermentação conduzida em biorreator de bancada. Ensaio FPol ₂₅₀ contendo 250 g MU L ⁻¹ de polpa como substrato.....	77
Figura 13 – Cinética do consumo de açúcares totais (AT = glicose + frutose + sacarose) e produção de etanol (P) observada na fermentação conduzida em biorreator de bancada. Ensaio FPol ₂₅₀ contendo 250 g MU L ⁻¹ de polpa como substrato.....	77
Figura 14 – Cinética do consumo de açúcares totais (AT = glicose + frutose + sacarose) e produção de etanol (P) observada na fermentação conduzida em	

biorreator de bancada. Ensaio FPol₅₀₀ contendo 500 g MU L⁻¹ de polpa como substrato.....78

Figura 15 – Cinética do consumo de açúcares totais (AT = glicose + frutose + sacarose) e produção de etanol (P) observada na fermentação conduzida em biorreator de bancada. Ensaio FCas₁₂₁₀ contendo 1210 g MU L⁻¹ de cascas de banana nanica como substrato79

INTRODUÇÃO

O fornecimento da energia sustentável é fundamental não apenas para o desenvolvimento econômico das nações, mas também para assegurar o bem estar do cidadão (ANDRIETTA, 2006).

Petróleo, gás natural e seus derivados representam 55% do consumo mundial de energia. São esses combustíveis que permitem a existência dos meios de transporte rápidos e eficientes que temos hoje, bem como boa parte das atividades industriais. Lamentavelmente, eles não vão durar mais do que algumas décadas: como combustíveis fósseis, as suas reservas são finitas, a segurança de abastecimento é problemática para os muitos países que os importam e o seu uso é a principal fonte dos gases que estão provocando mudanças climáticas e o aquecimento global (NOGUEIRA *et al.*, 2008).

A Agência Internacional de Energia (IEA) calcula que dentro de aproximadamente 20 anos cerca de 30% do total da energia consumida pela humanidade será proveniente das fontes renováveis, que hoje representam 14% da energia produzida no mundo, em que a biomassa tem 11,4%, na participação da oferta (CORTEZ *et al.*, 2008).

Segundo Lora (2002), as fontes renováveis de energia (solar, eólica, geotérmica, biomassa etc.) são caracterizadas por gerarem impactos ambientais muito menores que o uso de combustíveis fósseis e, portanto, bastante atraentes para a produção energética.

Entende-se por biomassa todo o derivado de organismos vivos que abrange uma extensa variedade de materiais que podem ser disponibilizados como combustíveis ou matérias-primas para diversos fins. Pode-se considerar um recurso natural renovável em curto prazo, tendo como principais vantagens o baixo custo, além de permitir o aproveitamento dos resíduos, sendo menos poluente que outras opções energéticas.

O Brasil destaca-se como um dos maiores produtores agrícolas do mundo e, em consequência disto, é capaz de gerar grandes quantidades de resíduos agroindustriais.

Santa Catarina, com destacada posição no setor agrícola do Brasil, possui na bananicultura uma das principais fontes de rendas agrícolas na produção de frutas do Estado, sendo ultrapassada apenas pela cultura da maçã (EPAGRI, 2006).

Como resíduos dessa cultura, além dos frutos rejeitados, podem ser somados os outros resíduos gerados na cultura como as cascas do fruto industrializado, o pseudocaule, as folhas e o engaço da bananeira.

A geração de álcool combustível a partir desses resíduos lignocelulósicos pode ser uma fonte alternativa e renovável de energia com possibilidades de agregar valor à matriz produtiva do fruto.

Em 2008, a Universidade da Região de Joinville – Univille, foi procurada por produtores de bananas do Estado com o objetivo de desenvolver estudos nesta área. Diante desta possibilidade de desenvolvimento regional foi criado na instituição naquele ano, o grupo de pesquisa Fontes Alternativas de Energia, o qual iniciou projeto de pesquisa para avaliar a potencialidade do uso desses resíduos como substrato da fermentação alcoólica. Como parte integrante deste projeto este trabalho trata especificamente do estudo dos resíduos de polpa e cascas da banana.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estabelecer as condições ideais da fermentação alcoólica da polpa e das cascas de banana nanica visando ao aumento do rendimento e da produtividade do processo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar os resíduos *in natura* polpa e cascas de banana;
2. Avaliar o efeito do pré-tratamento térmico e ácido sobre o substrato;
3. Avaliar a eficiência da hidrólise enzimática sobre a despolimerização dos resíduos;
4. Estimar os parâmetros de produção do processo de fermentação alcoólica (concentração, rendimento e produtividade em etanol) empregando o substrato tratado nas condições operacionais pré-estabelecidas;
5. Determinar a influência da concentração inicial de substrato sobre o rendimento e a produtividade do processo fermentativo;
6. Definir as condições operacionais ideais de fermentação para uma futura ampliação de escala.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 BIOMASSA E ENERGIA

A biomassa pode ser considerada do ponto de vista de energia, como todo o derivado de organismos vivos que possam ser utilizados como combustíveis ou para sua produção. Biomassa é definida também como toda a matéria orgânica natural, ou seja, qualquer material íntegro ou em decomposição oriundo de plantas, animais, fungos, líquens, algas e microorganismos. Não fazem parte, portanto, o petróleo, o carvão e o gás natural que, embora compostos orgânicos, são produtos de origem fóssil, resultantes dos processos geológicos (SILVEIRA *et al.*,2008).

De acordo com Cortez *et al.* (2008), a biomassa tem origem em resíduos sólidos urbanos – animais, vegetais, industriais e florestais – e, voltada para fins energéticos, abrange a utilização desses vários resíduos para a geração de fontes alternativas de energia. Apresenta diferentes tecnologias para o processamento e transformação de energia, mas todas as tecnologias de biomassa atualmente usadas no mundo possuem dois problemas cruciais: o custo da biomassa e a eficiência energética de sua capacidade produtiva.

Estima-se que a produção global de biomassa seja da ordem de 146 bilhões de toneladas por ano, entre produção agropecuária, lixo orgânico, regeneração de habitat, adensamento florestal e ciclagem bioquímica (DEMIRBAS, 2009).

Toda a energia contida na biomassa é denominada bioenergia. A rigor, é uma energia de baixa entropia, originária dos mais elementares processos de fotossíntese e quimiossíntese, transferida e acumulada ao longo das cadeias ecológicas (RICKLEFS, 2000).

Segundo Nogueira (2008), são exemplos de fontes de bioenergia a lenha e os resíduos de serrarias, o carvão vegetal, o biogás resultante da decomposição anaeróbia de lixo orgânico e outros resíduos agropecuários, bem como os biocombustíveis líquidos, como o bioálcool e o biodiesel, e a bioeletricidade, gerada pela queima de combustíveis como o bagaço de cana-de-açúcar e a lenha. No amplo contexto da bioenergia, a produção de biocombustíveis líquidos tem sido considerada para atender particularmente às necessidades de transporte veicular. Para esse fim, além dos biocombustíveis, ainda não existem, na atualidade, outras

alternativas renováveis com maturidade tecnológica e viabilidade econômica suficientes.

Como recurso motriz para as atividades socioeconômicas, a bioenergia é gerada a partir da exploração intensiva da biomassa, daí ser um recurso renovável, já que sua matriz é reproduzível naturalmente como adensamento das florestas, ou intencionalmente como nos campos de cultivos de plantas, criação animal etc. (IEA, 2007).

A Agência Internacional de Energia distingue biocombustíveis tradicionais domésticos – ex: lenha, esterco animal e óleos vegetais - de biocombustíveis industriais, os quais se dividem como de primeira geração – ex: etanol de cana-de-açúcar e biodiesel – e de segunda geração – ex: etanol lignocelulósico (IEA, 2004).

3.1.1 A bioenergia no Brasil

De acordo com Bajay e Ferreira (2005), o carvão mineral é o combustível fóssil mais abundante no país; porém, devido às suas conseqüências ambientais tem sido preterido às novas fontes de energia, principalmente as de caráter renovável. Entre essas fontes alternativas, o uso de biomassa tem se tornado bastante interessante para o país, especialmente na direção de usos finais com maior conteúdo tecnológico como geração de eletricidade, produção de vapor e combustíveis para transporte.

O uso de óleos vegetais em motores diesel tem sido testado mundialmente desde o século 19. No Brasil, em 2002, o Ministério da Ciência e Tecnologia - MCT criou o programa Pro-biodiesel, o qual prevê o desenvolvimento tecnológico em quatro áreas: (1) Especificações técnicas, (2) Qualidade e aspectos legais, (3) Viabilidade socioambiental e competitividade técnica e (4) Viabilidade econômica.

O etanol da cana-de-açúcar representa um caso de sucesso tecnológico para o país. A indústria da cana mantém o maior sistema de energia comercial de biomassa no mundo através da produção de etanol e do uso quase total de bagaço para geração de eletricidade. Atualmente, vários estudos têm sido desenvolvidos visando ao uso dos bagaços para a produção de etanol, reduzindo-se assim a sua queima. A obtenção deste produto, denominado de etanol de 2ª geração ou, simplesmente, de bioálcool, tem sido avaliado mundialmente também a partir de outros tipos de resíduos lignocelulósicos, como por exemplo: madeira de eucalipto e

resíduos de palha de trigo (BALLESTEROS *et al.*, 2004), resíduos de fibra de milho (SCHELL *et al.*, 2007), resíduos de uva (PRAMANIK, 2005), resíduos de frutas e vegetais (SAEED, 2005), extrato de bagaço de maçã (NOGUEIRA *et al.*, 2005). No caso da banana, estudos sobre a produção de etanol tem sido realizados a partir das frutas (HAMMOND, 2006; ARREDONDO *et al.*, 2006), cascas (MONSALVE *et al.*, 2006; BROOKS, 2007), folhas e demais resíduos (BAIG, 2005).

3.1.2 O bioálcool brasileiro

No Brasil o uso do álcool combustível teve início por volta de 1900, mas somente com a crise do petróleo a partir de 1973, a produção em larga escala de álcool combustível a partir da cana-de-açúcar foi estimulada.

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento – Conab (2010), na safra de cana-de-açúcar de 2009/2010, foram produzidos aproximadamente 25800 milhões de litros de etanol. Deste total, 6949 milhões de litros foram de etanol anidro e 18812 milhões de litros de álcool hidratado. Além disso, foram produzidas 33074 mil toneladas de açúcar. Nesta safra o Brasil fechou sua produção em uma área plantada de cana-de-açúcar de 7409 mil hectares, com uma produtividade de 81,6 t/ha e uma produção de 604,5 milhões de toneladas.

De acordo com dados do Ministério de Minas e Energia (MME, 2010) em sua resenha energética brasileira de 2009, a oferta total de biomassa de 2009 foi de 77,9 milhões de tonelada equivalente de petróleo – tep¹. Este valor correspondeu a 31,9% da matriz energética brasileira. Os produtos da cana-de-açúcar (bagaço e etanol), com 44 milhões tep, responderam por 56,4% da biomassa e por 18% da matriz de oferta total de energia.

1 tep - A Agência Internacional de Energia/OECD define 1 tep como o calor liberado na combustão de uma tonelada de petróleo cru, ou seja, 41,868 GJ ou 11,630 MWh.

A lenha, com 24,6 milhões tep, respondeu por 31,6% da biomassa e por 10,1% da matriz. Outras biomassas (lixívia, resíduos de madeira e da agroindústria), com 9,3 milhões tep, representaram 12% da biomassa e 3,8% da matriz. Na composição dos produtos da cana, aparece o etanol com 13,5 milhões tep (30,7%) e o bagaço de cana-de-açúcar com 30,5 milhões tep (69,3%). Na matriz energética o bagaço representa 12,5% e o etanol 5,5%.

3.1.3 O etanol e a evolução dos biocombustíveis no Brasil

Segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis-ANP (2009), o Proálcool foi criado pelo decreto-lei 76.593 de 14 de novembro de 1975, por iniciativa governamental, para fazer frente aos sucessivos aumentos do preço do petróleo. Este programa tinha como objetivo garantir o suprimento de etanol no processo de substituição a gasolina. Outra meta do programa era apoiar o desenvolvimento tecnológico da indústria sucroalcooleira. Em sua primeira fase, até 1979, a ênfase do programa foi a produção de etanol anidro para ser misturado à gasolina. Na segunda fase, também se passou a produzir álcool hidratado, para ser usado em motores de ciclo Otto modificados para funcionar com 100% de etanol.

Nos anos 70 foram instaladas muitas destilarias de etanol no país. Algumas, denominadas “autônomas”, foram construídas para formar novas plantas, destinadas à produção apenas de etanol; e outras, denominadas “anexas”, foram incorporadas às fábricas de açúcar já existentes. Segundo Bajay e Ferreira (2005) havia, em janeiro de 2004, 308 destilarias operando no país, das quais 235 nas regiões Sudeste, centro-oeste e sul, e 73 nas regiões norte e nordeste. As principais áreas produtoras de álcool localizavam-se nos estados de São Paulo (61,4%), Rio de Janeiro, Alagoas e Pernambuco. Durante os anos de 1970 e início dos anos de 1980, o objetivo governamental foi o de um rápido crescimento do Proálcool aliado à facilidade de obtenção de subsídios para aumentar a capacidade de produção de álcool. Com isto, facilitou-se a criação de grandes indústrias de álcool no país, que ainda possuem um significativo potencial para aumentar sua eficiência energética e reduzir seus custos de produção. A liberação dos preços da cana-de-açúcar tem fomentado a materialização desse potencial. O Proálcool foi formalmente extinto no início dos anos 1990, mas o fomento governamental, em termos de política energética, à produção de álcool, tanto anidro como hidratado, continua até hoje, só

que sem a maior parte dos incentivos creditícios e fiscais existentes durante a vigência do programa (BAJAY e FERREIRA, 2005). Na Figura 1, pode-se observar a evolução dos bicombustíveis no Brasil.

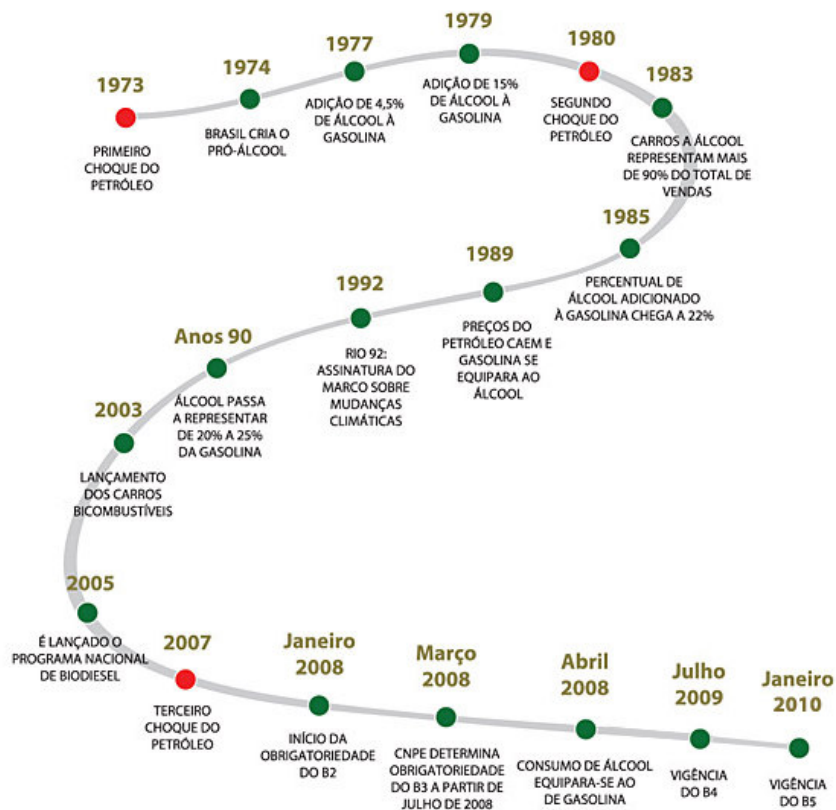


Figura 1 - A evolução dos bicombustíveis no Brasil.

Fonte: Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis- ANP

Para a União da Agroindústria Canavieira de São Paulo – Única (2010) em seu site, a produção mundial de cana-de-açúcar hoje totaliza quase 1,5 bilhão de toneladas e está localizada predominantemente na faixa tropical do planeta, nos países em desenvolvimento da América Latina, África e Sudeste Asiático. O Brasil é líder mundial na produção de cana-de-açúcar, com 90% na região Centro-Sul e 10% no Nordeste.

Segundo a Associação Nacional dos Fabricantes de Veículos Automotores – ANFAVEA (2010), a quantidade de vendas internas no atacado por tipo de combustível de veículos automotores, considerando automóveis e comerciais leves, entre nacionais e importados, no ano de 2003 foram (em unidades): 36,4 mil a álcool, 48,2 mil *flex fuel*, 1,16 milhões a gasolina e 54,5 mil a diesel, com

participação de mercado, respectivamente, iguais a 2,8%, 3,7%, 89,2 e 4,2%. Em 2009 os números se apresentaram, segundo a ANFAVEA (2010), em 70 unidades a álcool, 2,65 milhões de unidades *flex fuel*, 221,7 mil a gasolina e 3,0 milhões a diesel, com uma participação de 88,2% *flex fuel*, 7,4% a gasolina e 4,5% a diesel nos comerciais leves.

Para Amorim (2005), um importante estímulo para o mercado interno do álcool foi o lançamento pela indústria automobilística, dos veículos que rodam tanto com álcool como gasolina, ou com a mistura dos dois em qualquer proporção, os chamados *flex fuel*. O automóvel *flex fuel* foi a injeção de ânimo que os setores envolvidos necessitavam para voltar a estimular o uso do álcool-motor no Brasil.

A indústria automotiva brasileira passou a fabricar em grande escala os carros bicombustíveis – os modelos *flex* - que garantem o escoamento da produção de etanol e ampliam a liberdade de escolha dos consumidores (ANP, 2009).

3.2 PRODUÇÃO DE ETANOL

3.2.1 Matérias-primas

Segundo Leal *et al.* (2008), etanol pode ser obtido de diferentes matérias-primas que contenham açúcares ou polímeros de açúcares, como cereais, frutas, tubérculos, gramíneas como a cana-de-açúcar, sorgo sacarino etc. Essas matérias-primas podem ser divididas, quanto ao insumo básico em:

a) Açúcares - cana-de-açúcar, melaço, sorgo sacarino, frutas, beterraba. Os açúcares são convertidos diretamente em etanol via fermentação, após o processo de extração;

b) Amidos - grãos como o milho, trigo, cevada, arroz, tubérculos como mandioca, batata, batata-doce. Os amidos são convertidos em açúcares via fermentação, após sacarificação, hidrólise e esses açúcares são posteriormente fermentados;

c) Lignocelulósicos - resíduos agro-florestais, gramíneas como o capim-elefante, resíduos orgânicos do lixo urbano e florestas plantadas. A celulose e a hemicelulose precisam ser convertidas em açúcares via hidrólise para posterior fermentação.

Segundo Moreira (2005), os carboidratos, inclusive o açúcar, estão entre os componentes mais abundantes dessas matérias-primas. Eles são classificados como mono, di, tri, tetra e polissacarídeos, dependendo do número de moléculas de açúcar que os compõem. Praticamente todos os polissacarídeos naturais contêm cinco ou seis átomos de carbono, denominados pentoses e hexoses, respectivamente. Na cana-de-açúcar o açúcar mais abundante é a sacarose, um dissacarídeo formado por glicose e frutose. No milho, aproximadamente 70% do carboidrato de composição é o amido, o qual é formado por polímeros de glicose, tanto de cadeia reta como de cadeia ramificada. Nas biomassas celulósicas, uma mistura complexa de polímeros de carboidratos (celulose e hemicelulose), lignina e uma pequena quantidade de outros compostos conhecidos como extratos fazem parte da estrutura física do vegetal. Em geral, a celulose é a maior porção e representa cerca de 40% a 50% do material, em massa. A quantidade de hemicelulose representa de 20% a 40% do material. As partes remanescentes são formadas predominantemente por lignina e uma quantidade menor de extratos. De todas as matérias-primas citadas anteriormente, a cana-de-açúcar e o milho dominam a produção de etanol no mundo, com cerca de 95% do total.

O material celulósico usado na produção de etanol pode ser originário, por exemplo, de resíduos das atividades agrícolas e de indústrias de produtos florestais, ou de plantios energéticos implementados exclusivamente para essa finalidade (LEE, 1997; KÁDÁR *et.al*, 2004; CAMPO *et.al*, 2006; SCHELL *et.al*, 2007).

Os resíduos de biomassa têm um potencial maior de utilização como matéria-prima quando seus custos de produção são mais baixos. Desta forma os resíduos que custam mais de US\$ 45 por tonelada seca não são recomendados para a produção de etanol porque os plantios de culturas energéticas dedicadas, supostamente estarão disponíveis a um custo muito mais baixo. Assim, para que a substituição em larga escala de combustíveis automotivos convencionais por etanol de origem celulósica ocorra, será necessária uma grande produção a partir de plantios energéticos dedicados (MOREIRA, 2005).

Para a seleção do tipo de matéria-prima ideal visando à obtenção de etanol, alguns parâmetros produtivos relativos às matérias-primas disponíveis devem ser avaliados. Destacam-se a produtividade do processo, o balanço energético total, o custo de produção, os requisitos de qualidade de solo e clima para a produção em larga escala da matéria-prima, os resíduos gerados no processo com valor

energético, a sazonalidade, os usos alternativos dos resíduos e da matéria-prima, o nível de difusão da cultura, o nível tecnológico e os impactos ambientais.

3.2.2 Processo fermentativo

Após as lentas e constantes incorporações de novos conhecimentos ao longo do tempo, chegou-se à atual concepção de fermentação alcoólica. De acordo com Amorim (2005) as cepas mais utilizadas na conversão de açúcar em etanol constituindo-se de *Saccharomyces cerevisiae* e espécies relacionadas.

Diversos fatores físicos (temperatura e pressão osmótica), químicos (pH, oxigenação, inibidores, nutrientes minerais e orgânicos) e microbiológicos (espécie, linhagem e concentração da levedura e contaminação bacteriana) afetam o rendimento da fermentação, ou seja, a eficiência da conversão de açúcares em etanol. Geralmente as quedas na eficiência fermentativa decorrem de uma alteração na estequiometria do processo, levando à maior formação de produtos secundários (especialmente glicerol e ácidos orgânicos) e biomassa (BRAGA, 2006; SHREVE e BRINK, 1997; LIMA *et al.*, 2001; FERNANDES, 2008).

A temperatura é um fator muito importante para o desenvolvimento e a atividade das leveduras por serem mesófilos. As temperaturas ótimas para a produção industrial de etanol situam-se na faixa de 26 a 35 °C mas, não raramente, a temperatura nas destilarias alcança 38 °C. A medida que a temperatura aumenta, aumenta a velocidade da fermentação. (GAVA, 1984; SHREVE e BRINK, 1997; LIMA *et al.*, 2001).

Já os valores de pH se desenvolvem numa ampla faixa de pH, sendo adequada a entre 4 e 5.

O processo fermentativo pode ser inibido pelo seu produto, como o etanol, e também por diferentes substâncias que podem estar presentes no mosto. Segundo Hill (1992 *apud*, Müller 2007), o etanol afeta a taxa de crescimento celular, inibindo-a, em concentrações acima de 15 g L⁻¹. As células param de crescer em concentrações de 112 g L⁻¹ de etanol, e acima de 115 g L⁻¹ ocorre a inibição total das células. Segundo Fernandes (2008) a levedura *S. cerevisiae* pode permanecer viável e metabolicamente ativa até concentrações de 20% v/v de etanol. A temperatura também influencia na toxicidade do etanol à levedura, sendo que quanto mais alta a temperatura, maior o efeito tóxico do etanol.

Aumentando-se a concentração de açúcares, aumenta-se a velocidade de fermentação, a produtividade e, dentro de certos limites, acarreta-se menor crescimento do fermento e menor formação de glicerol por unidade de substrato processado.

De acordo com Hill (1992 *apud*, Müller 2007) o efeito inibidor provocado pelo substrato, açúcares, ocorre quando sua concentração supera 150 g L^{-1} . Arroyo-López *et al.* (2009) estudaram os efeitos da concentração de açúcares no crescimento da *S. cerevisiae* entre 112 g L^{-1} e 280 g L^{-1} (50% glicose + 50% frutose). O resultado obtido foi que em apenas poucas horas após a inoculação, mesmo em altas concentrações de açúcar, uma fermentação poderia ser normalmente conduzida. Entretanto, quanto maior a concentração de açúcar dentro da faixa estudada, menor foi a taxa de crescimento, atingindo um mínimo em 220 g L^{-1} de açúcares.

A fermentação industrial, devido à dimensão do processo, não é conduzida em condições de completa assepsia, portanto a contaminação bacteriana, principalmente de *Lactobacillus* e *Bacillus*, está sempre presente e, dependendo de sua intensidade, compromete o rendimento do processo fermentativo. As altas temperaturas de fermentação favorecem a contaminação bacteriana, o aumento do tempo de fermentação e o estresse da levedura (LIMA *et al.*, 2001; NOBRE *et al.*, 2007).

A infecção bacteriana na fermentação pode causar danos ao processo tais como: consumo de açúcar, formação de goma, floculação do fermento, inibição e queda da viabilidade das leveduras devido às toxinas, ácidos orgânicos excretados no meio e, por conseqüência, redução no rendimento e na produtividade da fermentação (MENEHIN, 2007).

Quando se trata de contaminação por bactérias, a contaminação pode ser facilmente controlada utilizando-se agentes antibacterianos, como antibióticos (AQUARONE *et al.*, 1983). A ação destes agentes decorre de suas propriedades bacteriostáticas, no qual a penicilina é um bom inibidor de contaminações. Com o emprego de 500 a 1000 U.I. por litro de mosto, observa-se apreciável aumento de rendimento em álcool nos mostos tratados. A aplicação é econômica, não exigindo modificações nas técnicas e nos aparelhamentos usados, as fermentações são mais puras e regulares. Pode-se usar também cloranfenicol, tetraciclina e clorotetraciclina. A escolha do antibiótico depende de seu custo no tratamento (LIMA *et al.*, 2001).

Dos antibióticos, o mais usado e o mais econômico é a penicilina, da qual a forma ácida é a mais recomendada e de ação mais eficiente (AQUARONE *et al.*, 1983). Além do etanol, dependendo das condições ambientais em que a levedura se encontra, outros produtos finais de fermentação poderão ser formados, tais como os alcoóis superiores, ácidos orgânicos, glicerol etc (GUTIERREZ, 1993).

Estima-se que 5% do açúcar metabolizado pela levedura seja desviado para gerar tais produtos secundários da fermentação, resultando num rendimento de 95% em etanol, conforme já observado por Pasteur em condições adequadas de fermentação (com mostos sintéticos) (LIMA *et al.*, 2001). Os açúcares são transformados (em %): de 2,5 a 3,0 em glicerol; de 0,2 a 0,4 em ácido láctico; de 0,02 a 0,1 em ácido succínico; de 0,2 a 0,7 em ácido acético; de 0,05 a 0,10 em butilenoglicol; e cerca de 1 a 2 utilizados no crescimento e na respiração da levedura (AQUARONE *et al.*, 1983). Entretanto, em condições industriais, nas quais fatores químicos, físicos e microbiológicos afetam a levedura, rendimentos de 90% normalmente são obtidos, o que implica em desvios de 10% do açúcar processado para a formação de outros produtos que não o etanol (LIMA *et al.*, 2001).

Segundo Sharma *et al.* (2007) o rendimento teórico para a produção de etanol é de 0,51 g g⁻¹ ou seja 51%.

3.2.3 Fermentação a partir de outros substratos.

Mojović *et al.* (2006) estudaram a produção de bioálcool a partir de hidrolisados da farinha de milho. Os pré-tratamentos utilizados para o substrato foram a liquefação, com α -amilase na temperatura de 85 °C durante 1 hora e pH 6,0, e posterior sacarificação, utilizando glucoamilase, temperatura de 55 °C e pH 5,0 durante 4 horas. As fermentações do hidrolisado foram realizadas em frascos Erlenmeyer de 500 mL empregando fermento seco contendo *Saccharomyces cerevisiae* (1; 1,35 e 2% m/m) como inóculo e conduzidas em agitador rotativo com frequência de agitação de 100 min⁻¹, pH 5,0 e temperatura de 32 °C. Os ensaios de fermentação duraram menos de 48 horas, sendo que foi obtido um rendimento de 45,59% em etanol (89,2% do teórico) e produtividade de 1,21 g L⁻¹ h⁻¹.

Sassner *et al.* (2006) empregando resíduos de madeira como substrato, após hidrólise ácida a 200 °C com H₂SO₄ 0,5% m/m durante 8 minutos e posterior fermentação (*S. cerevisiae*, pH 5, 37 °C) com sacarificação simultânea (β -

glicosidase), obtiveram rendimento de 40,38% em etanol convertido a partir dos açúcares fermentáveis disponíveis após 24 horas de fermentação. A concentração de etanol obtida no produto fermentado foi de 16 g L^{-1} e a produtividade foi de $0,67 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Observaram ainda, que esta produção de etanol poderia ser elevada em até 32% utilizando leveduras capazes de fermentar hexoses e pentoses simultaneamente.

Avaliando o potencial de produção de etanol a partir do bagaço de maçã, Nogueira *et al.* (2005) produziram um fermentado com $33,93 \text{ g L}^{-1}$ de etanol sob temperatura ambiente ($19\text{-}25 \text{ }^\circ\text{C}$) e empregando *S. cerevisiae* seca, reidratada por 20 minutos, como inóculo. Este valor representa um rendimento de 44,53%, partindo de uma concentração de $76,2 \text{ g L}^{-1}$ de açúcares fermentáveis. O suco de maçã, por ser mais rico em açúcares fermentáveis, resultou em $54,44 \text{ g L}^{-1}$ de etanol e um rendimento de 43,38% na fermentação.

Ilha *et al.* (2008) estudaram o rendimento e a eficiência da fermentação alcoólica do hidromel, substrato, utilizando mel diluído em água para uma concentração de 21 °Brix, fermentado pela ação de *S. cerevisiae* (4 g L^{-1}) proveniente de fermento comercial durante 72 horas, pH inicial de 4,5 e temperatura ambiente. O rendimento da fermentação foi de 41,53% e a eficiência de 81,27%.

Melo *et al.* (2008) realizaram a hidrólise do amido da torta de mamona por ácido e pela combinação de α -amilase, glicamilase e pululanase, seguido da etapa de fermentação. A hidrólise química resultou em $27,3 \text{ g L}^{-1}$ de açúcares com 33,4% de eficiência de hidrólise. O hidrolisado obtido foi fermentado originando 11 g L^{-1} de etanol ($Y_{P/S} = 0,48 \text{ g g}^{-1}$). A melhor condição de hidrólise enzimática foi (por grama de torta de mamona): 200 μL de α -amilase, a $90 \text{ }^\circ\text{C}$; 200 μL de glicamilase e 100 μL de pululanase, ambas a $60 \text{ }^\circ\text{C}$, que resultou em 75 g L^{-1} de açúcares redutores totais, que corresponde a 91,4% de eficiência de hidrólise. Esses açúcares em seguida foram convertidos em $34,5 \text{ g L}^{-1}$ de etanol. O processo de hidrólise ácida foi capaz de promover a destoxificação da torta de mamona.

Neves *et al.* (2006) hidrolisaram resíduo de farelo de trigo utilizando diferentes concentrações de β -amilase, com o objetivo de otimizar a produção de açúcares fermentáveis; a enzima alfa-amilase apresentou melhor desempenho. O processo simultâneo de sacarificação e fermentação foi conduzido logo após a hidrólise do amido, em um fermentador com volume de 2 L; o meio contendo amido hidrolisado foi inoculado com amiloglucosidase (enzima utilizada para sacarificação) e levedura

de panificação desidratada (para fermentação), simultaneamente. Amostras do meio de fermentação foram retiradas regularmente para análise dos teores de glicose, maltose, açúcares redutores e etanol. O teor de ATP também foi analisado. O açúcar glicose foi completamente consumido no início da fermentação, tanto no caso da amostra LG1, quanto LG2, sendo que a produção de etanol no caso de LG1 (38,6 g L⁻¹) foi superior aquela obtida com LG2 (24,9 g L⁻¹).

3.3 POTENCIALIDADES DO USO DE RESÍDUOS DA BANANICULTURA NA PRODUÇÃO DE ETANOL

3.3.1 A cultura da banana

De acordo com o relatório do Centro de Socioeconômica e Planejamento Agrícola - CEPA (2010), a banana constitui o quarto produto alimentar mais produzido no planeta, precedido pelo arroz, trigo e milho, e em muitos países é a principal fonte de arrecadação e de geração de emprego e renda para uma parte expressiva da população. Nas últimas três décadas, essa cultura tem apresentado um aumento significativo (122%) no volume produzido. De uma produção de 36,7 milhões de toneladas na safra 1979/80 passou para 81,3 milhões de toneladas na safra 2006/07. Sua produção é superada apenas pela melancia, com 93,2 milhões de toneladas; a uva vem na terceira posição, com 66,3 milhões de toneladas, seguida pela maçã, com 64,2 milhões de toneladas e laranja, com 63,9 milhões de toneladas. Na safra mundial 2006/07, o seu cultivo foi de 4,4 milhões de hectares, com rendimento médio de 18,5 t/ha. A área colhida cresceu 0,77%, a produção aumentou 1,54% e o ganho de produtividade 0,76%, em comparação com os dados da safra anterior 2005/06. O uso de tecnologia garante uma melhoria no ganho da produtividade média na maioria dos bananais explorados nos maiores países produtores.

A Índia é o principal produtor dessa fruta, responsável por 26,8% do volume produzido, seguida pela China, com 9,0%; Brasil, com 8,7%; Filipinas, com 8,6%; Equador, com 7,5% e Indonésia, com 6,2%. Ressalta-se que o Brasil possui a maior área plantada, com 11,6% do total mundial, enquanto Mali obtém a maior produtividade – nos últimos cinco anos foram 116,7 t/ha, cerca de 6,8 vezes mais que a média mundial (CEPA, 20010).

A banana é a segunda fruta mais explorada no Brasil, sendo precedida apenas pela laranja CEPA (2010). Além do expressivo volume produzido e da área ocupada, a banana também é de suma importância no cenário nacional por estar presente na mesa da maioria dos consumidores. O mercado nacional é o 12º maior consumidor mundial desta fruta. O seu consumo per capita aumenta a cada ano, embora haja crescimento significativo, também, do consumo de outras espécies frutíferas. Esta atitude do consumidor brasileiro de comer mais frutas está sendo atribuída ao conceito atual de alimentação mais saudável, que inclui no cardápio maior quantidade e diversidade de frutas.

O IBGE, por meio do Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (2009), registra um total de 6,97 milhões de toneladas produzidas (queda de 1,80%), uma área a ser colhida de 506,14 mil hectares (diminuição de 1,78%) e produtividade média de 13,8 t/ha, a qual praticamente se mantém em relação à safra passada. O Estado da Bahia se destaca no cenário nacional como o maior produtor de banana, sendo responsável por 20,3% do total produzido, seguido pelo Estado de São Paulo, com 17,5%; Santa Catarina, com 8,3%; Pará, com 8,0%; Minas Gerais, com 7,7%; Ceará, com 6,1% e Pernambuco, com 5,9%. Esses estados, juntos, perfazem 73,8% do volume total produzido.

Dentre os estados produtores o maior rendimento médio entre as lavouras pertence ao Paraná, com 25 t/ha. Posição essa liderada até a safra passada pelo Estado do Rio Grande do Norte. Entretanto, considerando-se a média obtida durante as safras de 2003/04 a 2008/09, os bananicultores potiguares obtiveram os mais expressivos rendimentos, com 26,8 mil quilos por hectare, superando em 94,3% a média nacional, que foi de 13,8 t/ha. A terceira posição foi de Santa Catarina, com 18,6 t/ha.

Em Santa Catarina, são cerca de seis mil produtores que se dedicam a essa atividade. No Estado, a exploração da cultura da banana se caracteriza pela utilização do tipo caturra (também conhecida como banana d'água), cultivares Nanica e Nanicão na região Norte Catarinense. Na região Sul Catarinense, as cultivares mais exploradas são a Enxerto e a Branca de Santa Catarina, componentes do tipo Prata e também conhecidas como Branca em alguns estados brasileiros. Os dados do IBGE estimaram para a safra 2007/08 uma área plantada de 31,1 mil hectares, com área estimada de colheita de 31 mil hectares para uma quantidade produzida de 575 798 t e rendimento médio de 18,6 t/ha (CEPA, 2010).

Com relação ao desempenho da safra por microrregião geográfica, merece destaque a de Joinville, que continua obtendo os melhores resultados, sendo responsável por 50,3% da quantidade total produzida (289 557 t), seguida pelas microrregiões de Blumenau e Itajaí, que produziram, respectivamente, 17,2% e 16,9% do total estadual, e Araranguá, com 8,9%. A soma dessas microrregiões perfaz 93,3% de participação na produção catarinense (CEPA, 2010).

3.3.2 Resíduos da bananicultura

A bananeira *Musa* spp. é uma planta monocotiledônea e herbácea, ou seja, a parte aérea é cortada após a colheita. Apresenta caule subterrâneo (rizoma), de onde saem as raízes primárias, em grupos de três ou quatro, totalizando 200 a 500 raízes, com espessura predominante menor que 0,5 mm, podendo atingir até 8mm, sendo brancas e tenras quando novas e saudáveis, tornando-se amareladas e endurecidas com o tempo. O sistema radicular é fasciculado, podendo atingir horizontalmente até 5m; no entanto, é mais comum de 1 a 2m, dependendo da variedade e das condições do solo; é também superficial, com aproximadamente 30% localizadas na profundidade de 0-10 cm e 82% concentrando-se na camada de 0-50cm. O pseudocaule é formado por bainhas foliares, terminando com uma copa de folhas compridas e largas, com nervura central desenvolvida. Uma planta pode emitir de 30 a 70 folhas, com o aparecimento de uma nova folha a cada 7 a 11 dias. A inflorescência sai do centro da copa, apresentando brácteas ovaladas, de coloração geralmente roxo-avermelhada, em cujas axilas nascem as flores. De cada conjunto de flores formam-se as pencas (7 a 15), apresentando número variável de frutos (40 a 220), dependendo da variedade (ALMEIDA, 2010; BORGES e SOUZA, 2006).

De acordo com Soffner (2001), a cultura da banana gera grande quantidade de resíduos após a colheita da fruta, sendo considerados os mais importantes em termos de grande volume gerado e do potencial fibroso do pseudocaule, folha e engaço. Os pseudocaulos e as folhas normalmente são utilizados no solo como cobertura morta, para manter a sua umidade e evitar erosão, controlar plantas daninhas e retornar nutrientes à planta. Essa forma de aproveitamento contribui para minimizar custos com adubação dessa cultura. O engaço não tem sido aproveitado, sendo descartado no processo de separação das pencas na casa de embalagem -

packing house - e disposto sobre o solo, geralmente em área urbana, ou descartado no lixo doméstico. Esta forma de disposição contribui para a geração de sérios problemas ambientais e fitossanitários, e implica em custos com transportes.

Os resíduos da bananeira frutífera cultivada (pseudocaule, engaço e folha) têm sido utilizados, há muito tempo, em artesanatos com a palha e a fibra, para a produção de cordas, tapetes, chapéus, cestos, tecidos e papéis especiais e artesanais em vários países como: Brasil, Costa Rica, Equador, Filipinas. No Brasil foram realizadas pesquisas visando verificar os potenciais de aplicação desses resíduos em materiais de construção, indústria automotiva, artigos têxteis e produção de polpa celulósica e papéis artesanais. Um bananal conduzido de maneira convencional pode fornecer 200 t/ha/ano de restos de cultura, compreendendo pseudocaulos, engaços e folhas. O peso médio do engaço é de 2,26 kg, representando 8% do cacho. Com isso, a quantidade de engaço disponível apenas no estado de São Paulo é de cerca de 4 t/ha/ano, totalizando aproximadamente 236,8 mil t/ano de engaço *in natura*, e 16,6 mil t/ano de matéria seca (SOFFNER, 2001).

Além desses resíduos, uma parcela dos frutos colhidos é descartada antes de sua comercialização.

Segundo dados do CEPA (2010) da produção da região norte do Estado, cerca de 20% são registrados como perdas que ocorrem desde a colheita até a mesa do consumidor.

Desta forma, pode-se estimar com base na safra 2007/2008 (CEPA, 2010) para microrregião de Joinville um total de 60 000 t de frutos disponíveis para a fermentação. Considerando que a fruta é composta por 63,5% de polpa e 36,5% de casca (valores médios determinados a partir da pesagem da fruta madura em laboratório) haveria a disponibilidade de 38 100 t de polpa e de 21 900 t de cascas por ano.

3.3.3 Caracterização da polpa e das cascas de banana

A banana e os resíduos agroindustriais gerados no seu cultivo e industrialização têm sido caracterizados por diversos pesquisadores (Cordeiro *et al.*, 2004; Hammond *et al.*, 1996; Tewari *et al.*, 1986; Monsalve *et al.*, 2006; Sharma *et al.*, 2007; Arredondo *et al.*, 2010, Mohapatra, 2010) .

Mohapatra (2010), em seu estudo, foi o que apresentou uma caracterização mais detalhada da composição da polpa e das cascas da banana *Musa cavendishii*, popularmente conhecida na região sul do Brasil como banana nanica. A Tabela 1 apresenta esses valores.

Tabela 1 - Composição da polpa e casca da banana *Musa cavendishii* madura.

Composição em base úmida	Polpa	Casca
Umidade %	73,8	83,5
Vitamina A, µgRAE/100g	8,2	
β Caroteno, µg/100g	55,68	
Vitamina C, mg/100g	4,5	
Sólidos Solúveis, Brix*	20,5	
Proteínas, %	2,2	1,8
Gorduras*, %	0,1	1,7*
Glicose, %	5	2,4
Frutose, %	6,5	6,2
Sacarose, %	12	2,6
Maltose, %	0	0
Amido, %	10	1,2
Celulose, %	9,1	8,4
Açúcares Totais, %	40	29
Potássio, (K), mg/100g	318,95	78,1
Fósforo, (P), mg/100g	21,7	
Cálcio, (Ca), mg/100g	4,9	19,2
Magnésio, (Mg), mg/100g	30,8	
Sódio, (Na), mg/100g	17,35	24,3
Ferro, (Fe), mg/100g	0,83	0,61
Manganês, (Mn), mg/100g	0,2	76,2
Zinco, (Zn), mg/100g	0,23	
Cobre, (Cu), mg/100g	0,26	
Boro, (B), mg/100g	0,14	
Bromo, (Br), mg/100g		0,04
Rubídio, (Rb), mg/100g		0,21
Estrôncio, (Sr), mg/100g		0,03
Zircônio, (Zr), mg/100g		0,02
Nióbio, (Nb),mg/100g		0,02

*Em base seca

Fonte: Mohapatra et al. (2010).

Segundo Simão (1971, *apud* Lima et al., 2000), a polpa da banana nanica madura apresenta, em média, 19% de açúcares e 1% de amido. O fruto é

basicamente composto de água (70%), carboidrato rico em fósforo (27%), proteína (1,2%), e teores de cálcio, ferro, cobre, zinco, iodo, manganês, cobalto, vitamina A, tiamina, riboflavina, niacina e vitamina C.

A percentagem em açúcares citada por Lima (2000) corresponde a 50% do valor apresentado na Tabela 1. De acordo com Mohapatra (2010), durante o processo de maturação o amido é convertido em açúcar através da ação de enzimas hidrolíticas presentes na fruta. Conseqüentemente, quanto mais madura a fruta maior o teor de açúcar e menor presença de amido. Em nenhum dos trabalhos que trata sobre o assunto foi citado o estado de maturação da fruta.

3.3.4 Produção de bioálcool a partir de resíduos da banana

Hammond *et al.* (1996) avaliaram o potencial de produção de bioálcool a partir de bananas verdes e maduras. As bananas foram cortadas, amassadas e adicionadas de 0,4 kg de água por kg de matéria-prima. Após aquecimento a 93 °C, adicionou-se a enzima glucoamilase (1 g kg⁻¹ de matéria-prima) com tempo de reação de 60 min a uma temperatura de 60 °C. As fermentações foram conduzidas com leveduras *Saccharomyces cerevisiae* com 1 g L⁻¹ de mistura, a 35 °C e 72h, tempo máximo de fermentação comercial para produção de etanol. Os resultados da produção de etanol foram: frutas - 0,091 L kg⁻¹, polpa - 0,082 L kg⁻¹ e casca 0,006 L kg⁻¹ de frutos inteiros. Os efeitos do estado de maturação dos frutos na produção de etanol foram: bananas verdes – 0,090 L kg⁻¹, bananas maduras – 0,082 L kg⁻¹ e bananas muito maduras 0,069 L kg⁻¹ de frutos inteiros. Para os autores a produção de etanol de banana parece muito promissora se tratando de resíduos e sendo uma matéria-prima de custo muito baixo.

Monsalve *et al.* (2006) apresentaram em seus estudos de hidrólise ácida adicionando 50 ml de ácido sulfúrico a 5% para cada 100 g de casca de banana, a 125 °C e 15 psi durante 15 min na casca de banana. A concentração de açúcares redutores no meio de cultivo foi ajustada para 20 g L⁻¹ e foi complementado com fosfato (KH₂PO₄), nitrogênio ((NH₄)₂SO₄), extrato de levedura e MgSO₄.7H₂O. A fermentação por microorganismos *Saccharomyces cerevisiae* foi conduzida em frascos Erlenmeyer de 250 ml, com volume efetivo de trabalho de 50 ml, em anaerobiose a 30 °C, pH 4 e agitação de 200 rpm, em um agitador orbital Gufa, por 72 horas. Os autores observaram que o conteúdo de amido, celulose e hemicelulose

representam mais de 80% da casca justificando seu estudo como fonte de carbono. A hidrólise ácida produziu a partir da casca de banana, 20 g L⁻¹ de açúcares redutores. Na fermentação realizada com *Saccharomyces cerevisiae* obteve-se uma concentração de etanol de 7,92 g L⁻¹.

Brooks (2008) avaliou 5 diferentes linhagens de leveduras para produção de etanol a partir da casca de banana. Destas *Saccharomyces cerevisiae* R-8 apresentou os melhores atributos para a produção de etanol por ser altamente floculante, tolerante a 12% (v / v) de etanol, com fermentação ativa entre 37 – 42 °C e fermentação da glicose a 40% (v / v). *S. cerevisiae* T-7 e a *S.cerevisiae* R-2 mostraram atividade fermentativa rápida em maltose, liberando 150 e 120 µl de CO₂ em 6 h, respectivamente. *Debaryomyces hansenii* B-2 e *Saccharomyces kluyveri* K-6 proporcionaram a fermentação de 40% (v / v) de glicose a 30 °C, produzindo 3,6 e 5,8% de etanol, respectivamente. As cinco cepas de leveduras são, portanto, potenciais candidatas para a produção de etanol a partir de cascas de banana ou de outras fontes de amido. *S. cerevisiae* R-8 apresentou um considerável potencial para a produção industrial de etanol. Na análise centesimal da casca de banana madura, o estudo de Brooks (2008) registrou proteína bruta e teores de gordura de 7,8 e 11,6%, respectivamente, em cascas de banana. Proteína é o nutriente essencial para o crescimento do fermento, enquanto a gordura é vital para a estrutura e funções biológicas das células e pode ser utilizada como fonte alternativa de energia pelas células. Segundo o autor, parece, portanto, que o desempenho impressionante de leveduras na casca de banana é devido, em parte, aos altos teores de gordura e proteína. Embora a produção de etanol seja baixa, no máximo, sendo 7,2% produzida por *S. cerevisiae* R-8, as linhagens poderiam ser geneticamente manipuladas em ambiente adequado para a maior produção de etanol.

Em sua pesquisa Sharma *et al.* (2007) avaliaram alguns parâmetros de fermentação como concentração de inóculo, temperatura, período de incubação e tempo de agitação sobre a produção de etanol com cascas de banana e resíduos de tangerina “kinnow” por fermentação e sacarificação simultâneas (FSS) usando celulase e co-culturas de *Sccharomyces cerevisiae* G. Os resíduos de tangerina e as cascas de bananas foram previamente tratados com vapor, para posterior utilização como substrato para produção de etanol na proporção final 4:6 (resíduos de tangerina kinnow: cascas de banana). A fermentação foi conduzida em frasco Erlenmeyer de 500 ml com volume de trabalho de 100 ml, a uma temperatura de 30

°C, fração de inóculo de 6% (v/v), período de incubação de 48h, com agitação nas primeiras 24h, onde encontrou melhor produção de etanol usando a combinação dos dois resíduos. Após sacarificação enzimática da biomassa previamente tratada por vapor (*steam exploded*) resultou em 63 g L⁻¹ de açúcares redutores, que foram fermentados ambos, hexose e pentose, com cepas de leveduras *S. cerevisiae* em condições otimizadas, resultando em uma produção de etanol, rendimento e eficiência da fermentação de 26,84 g L⁻¹, 0,426 g g⁻¹ e 83,52 %, respectivamente.

3.4 BIOÁLCOOL A PARTIR DE MATERIAIS CELULÓSICOS

A biomassa vegetal tem como principais componentes a celulose, a hemicelulose e a lignina. Em resíduos agrícolas, resíduos de madeiras e plantações os valores percentuais desses componentes (em base de massa seca) variam de 30 a 50% para a celulose, 20 a 30% para a hemicelulose e 20 a 25% para a lignina. Entre 1% e 8% da massa seca do resíduo corresponde à cinza (MONSALVE, 2005).

Couri (2009), a celulose é uma molécula que consiste em 3500 a 10000 unidades de glicose, unidas por ligações 1,4-glicosídica, que a torna a matéria-prima com maior potencial para a indústria de fermentação, na produção de biocombustível.

A Figura 2 apresenta uma estrutura vegetal típica, destacando a glicose como o único monômero constituinte da celulose.

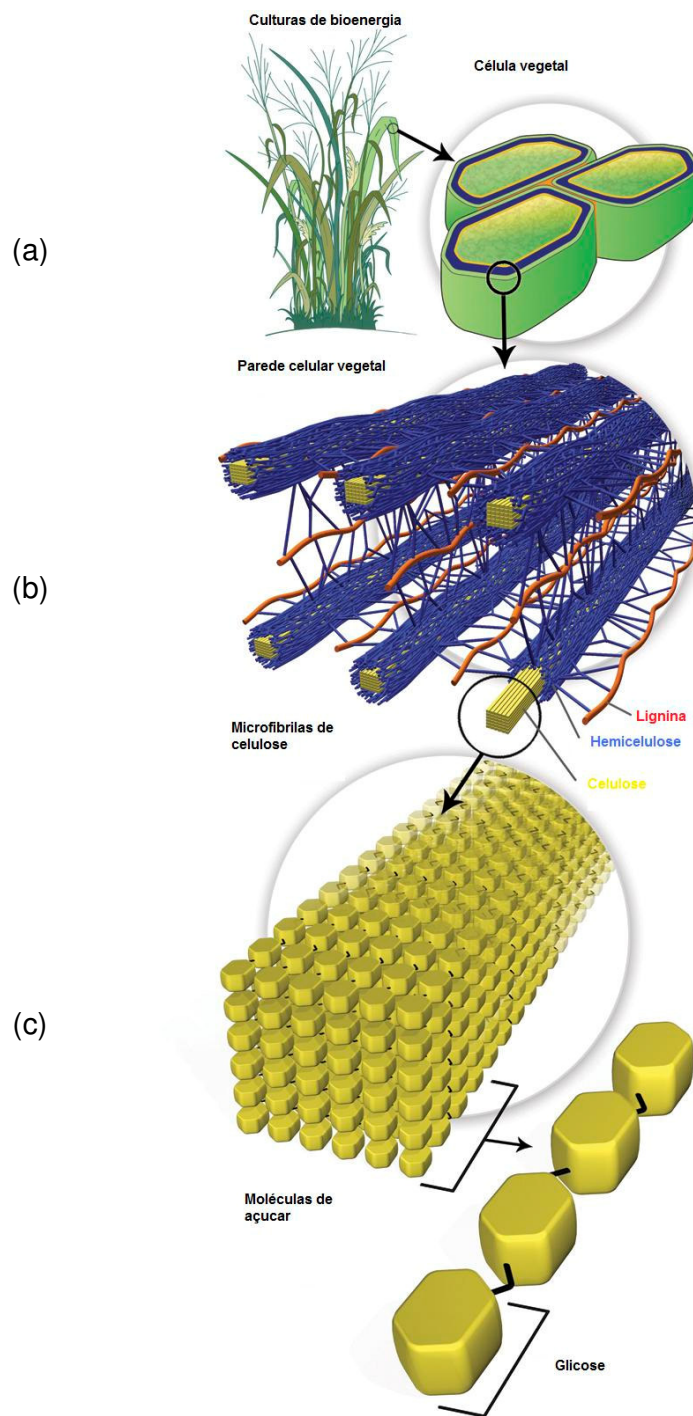


Figura 2 - Representação da estrutura da célula vegetal, (a) célula vegetal, (b) parede celular, (c) celulose e moléculas de glicose.

Fonte: http://genomics.energy.gov/gallery/brc2009/view_np/view-08.html

De uma forma geral as tecnologias para a obtenção de bioálcool com base em materiais lignocelulósicos envolvem a hidrólise dos polissacarídeos da biomassa em açúcares fermentáveis e sua posterior fermentação para a produção do bioálcool. Este processo de conversão de biomassa lignocelulósica em etanol (bioálcool) requer cinco etapas distintas: (1) pré-tratamento da biomassa para liberação da celulose e da hemicelulose do complexo lignina-celulose-hemicelulose; (2) despolimerização dos carboidratos hemicelulose e celulose, produzindo os seus respectivos açúcares livres pentoses e hexose; (3) fermentação dos açúcares livres para produzir etanol; (4) recuperação do etanol e; (5) tratamento dos resíduos finais (ALZATE e TORO, 2006; NOGUEIRA *et al.*, 2008). Com base nestas etapas um fluxograma simplificado do processo é apresentado a seguir (Figura 3).

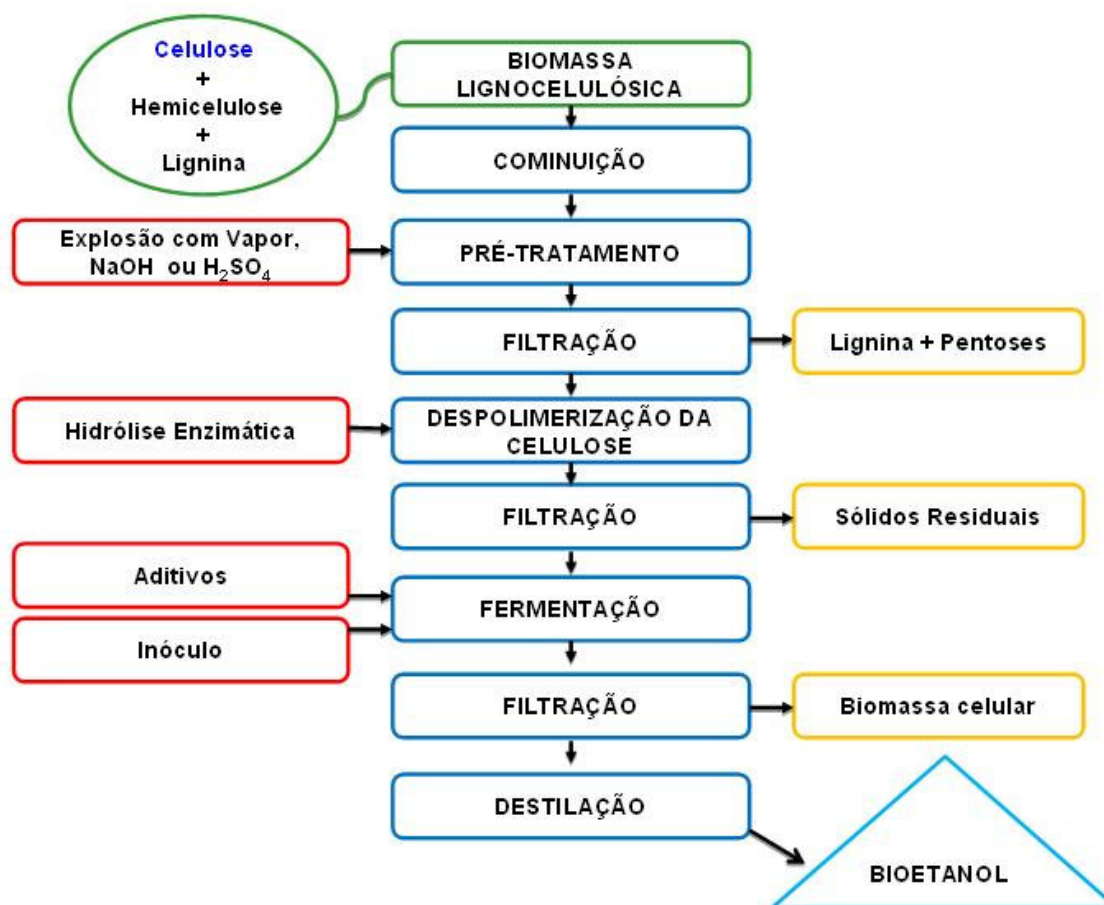


Figura 3 - Fluxograma simplificado da produção de bioálcool a partir da biomassa lignocelulósica.

Os processos de conversão de celulose em etanol são diferenciados principalmente quantos aos métodos de hidrólise e fermentação, estágios esses que

estão menos amadurecidos tecnologicamente se comparados ao processo de produção de álcool de cana-de-açúcar sendo mais específicos à produção de etanol.

3.4.1 Pré-tratamento

Para Moreira (2005), todos os materiais celulósicos naturais precisam ser submetidos a um pré-tratamento pelo qual a biomassa celulósica se torna suscetível à ação das enzimas hidrolíticas. Geralmente, o rendimento da hidrólise, sem a fase de pré-tratamento, é 20% do rendimento teórico, enquanto o rendimento após o pré-tratamento freqüentemente é superior a 90% do rendimento teórico. Presume-se que a limitada eficácia dos processos enzimáticos atuais em celulose seja devida à dificuldade de realizar o pré-tratamento e criar o caminho para o acesso da enzima.

O objetivo principal do pré-tratamento é remover a lignina e a hemicelulose, reduzir a cristalinidade da celulose e aumentar a porosidade do material. Este processo deve melhorar também a formação de açúcares ou habilidade de formação futura de açúcares por hidrólise, evitar degradação ou perda de carboidratos, evitar a formação de co-produtos que sejam inibitórios para a hidrólise subsequente e a fermentação, aliado a viabilidade econômica (SAHA *et al.*, 2005).

Processos de tratamento térmico associados a hidrólise ácida são realizados em temperaturas maiores que 100 °C (YU & ZHANG, 2003; SÖDERSTRÖM *et al.*, 2003; IRANMAHBOOB *et al.*, 2003; CAMPO *et al.*, 2006; SASSNER *et al.*, 2007) e são considerados de altas temperaturas. Outros autores usam temperaturas menores que 100 °C (MAJOVIC´ *et al.*, 2006; SAHA *et al.*, 2005; DAWSON e BOOPATHY, 2007). Os custos da hidrólise ácida são normalmente maiores do que o da explosão com vapor, além de que após processo de hidrólise ácida uma neutralização de pH deve ser realizada antes do processo de hidrólise enzimática e ou fermentação e estes custos de neutralização também devem ser considerados.

Os processos de pré-tratamento podem ser divididos em físicos, químicos e combinados. Existem diversos tipos de processos com diferentes rendimentos e efeitos distintos sobre a biomassa e conseqüente impacto nas etapas subsequentes. A Tabela 2 apresenta alguns desses processos.

Tabela 2 – Processos de pré-tratamento da biomassa para posterior hidrólise enzimática.

Processo	Descrição	Tempo de Reação	Rendimento em xilose (base seca)	Custo*
Físicos				
Explosão com vapor	A biomassa triturada é tratada com vapor (saturado, 160°- 260° C) seguido de uma rápida descompressão	1-10 min	45%-65%	(-)
Termoidrólise	Utiliza água quente a alta pressão (pressões acima do ponto de saturação) para hidrolisar a hemicelulose	30 min	88%-98%	(-)
Químicos				
Hidrólise ácida	Por meio do uso de ácidos sulfúrico, clorídrico, ou nítrico, concentrados ou diluídos	2-10 min	75%-90%	(+)
Hidrólise alcalina	Pelo uso de bases, como hidróxidos de sódio ou cálcio	2 min	60%-75%	(++)
Organosolv	Uma mistura de um solvente orgânico (metanol, bioálcool e acetona, por exemplo) com um catalisador ácido (H ₂ SO ₄ , HCl) é usada para quebrar as ligações internas da lignina e da hemicelulose	40-60 min	70%-80%	
Biológicos	Utilização de fungos para solubilizar a lignina. Geralmente, é utilizado em combinação com outros processos			
Combinados				
Explosão de vapor catalisada	Adição de H ₂ SO ₄ (ou SO ₄) ou CO ₂ na explosão de vapor pode aumentar a eficiência da hidrólise enzimática, diminuir a produção de compostos inibidores e promover uma remoção mais completa da hemicelulose	1-4 min	88%	(-)
AFEX (ammonia fiber explosion)	Exposição à amônia líquida a alta temperatura e pressão por um certo período de tempo, seguida de uma rápida descompressão		50%-90%	
Explosão de CO ₂	Similar à explosão de vapor		75%	

* O sinal + indica efeito vantajoso (menor custo).

Fonte: Hamelinck *et al.* (2005) *apud* Nogueira *et al.* (2008).

Na natureza, o material celulósico é hidrolisado pela ação de enzimas produzidas por bactérias, actinomicetos e fungos, sendo, porém, este processo de desarranjo estrutural, muito lento.

3.4.1.1 Hidrólise ácida

Para obter os açúcares da celulose, principalmente a glicose, e da hemicelulose, principalmente a xilose, é preciso um pré-tratamento do material lignocelulósico para remoção da lignina (SÖDERSTRÖM *et al.*, 2003; IRANMAHBOOB *et al.*, 2003). A hidrólise ácida é utilizada no pré-tratamento da biomassa tanto diretamente para a quebra da celulose em glicose como para proporcionar um tratamento inicial, para uma posterior hidrólise enzimática da hemicelulose em hexoses (tendo, como principal monômero a glicose, seguida de manose e galactose) e pentoses entre estes xilose e alguma arabinose).

As hexoses são facilmente fermentadas por *Sacharomyces cerevisiae* (MAJOVIC´ *et al.*, 2006; SASSNER *et al.*, 2007; DAWSON e BOOPATHY, 2007). A Figura 4, apresenta esta quebra através da hidrólise ácida separando celulose, lignina e hemicelulose.

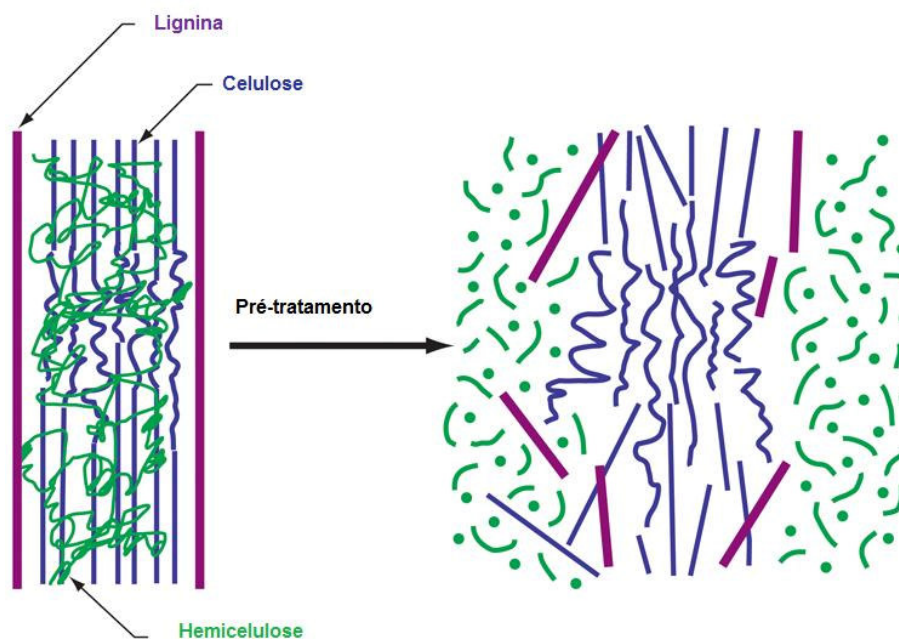


Figura 4 - Representação do pré-tratamento por hidrólise ácida.

Fonte: <http://genomics.energy.gov/gallery/brc2009/view.np/view-08.html>

A hidrólise com H_2SO_4 em diferentes concentrações é um pré-tratamento químico, que pode alcançar altas taxas de reação e melhorar significativamente a hidrólise da celulose. O processo com ácido diluído utiliza altas temperaturas e pressões, com tempos de reação de segundos a alguns minutos, o que facilita o uso de processos contínuos. Já os processos com ácido concentrado são conduzidos em condições mais brandas de temperatura e pressão, mas com tempos de reação tipicamente mais longos (NOGUEIRA, 2008 *apud* GRAF e KOEHLER, 2000). A Tabela 3 apresenta as diferentes porcentagens de despolimerização para diferentes tipos de hidrólise.

Tabela 3 - Rendimento da despolimerização da celulose por diferentes técnicas de hidrólise.

Processo	Insumo	Temperatura	Tempo	Despolimerização
Ácido diluído	< 1% H_2SO_4	215° C	3 min	50%-70%
Ácido concentrado	30%-70% H_2SO_4	40° C	2-6 h	90%
Enzimático	Celulase	50° C	1,5 dia	75%-95%

Fonte: Com base em Nogueira *et al.* (2008).

Para a formação de açúcares a concentração de ácido parece ser o fator mais importante, enquanto para a degradação dos açúcares, a temperatura mostra o maior impacto (SAHA *et al.*, 2005; CAMPO *et al.*, 2005)

Apesar da complexidade das reações, o fator limitante no processo de hidrólise não é a cinética da reação, mas sim o acesso até o local de reação na molécula de celulose pelas moléculas de catalisador e de água. A associação de celulose com a hemicelulose e a lignina é um dos principais fatores que controlam esse acesso. Outro fator é a presença de pontes de hidrogênio entre grupos hidroxílicos de diferentes unidades de glicose na estrutura macromolecular da celulose. A hemicelulose é mais suscetível ao ataque químico e pode ser despolimerizada mais facilmente que a celulose. A lignina restringe o acesso à celulose e precisa ser removida anteriormente. O meio no qual a hidrólise é realizada ataca os açúcares formados, que são degradados, e isso reduz o rendimento da reação a uma conversão global de bagaço em açúcares redutores

totais (ART) de 59% e concentração desses açúcares no licor hidrolisado de aproximadamente 80 g L⁻¹ (FINGUERUT *et al.*, 2008 *apud* ROSSEL *et al.*, 2005).

A principal dificuldade associada ao processo de hidrólise é que subprodutos da degradação de açúcares e lignina são tóxicos para os microrganismos da fermentação posterior, inibindo seu metabolismo. Por exemplo, em altas temperaturas e pressões, glicose e xilose podem ser degradadas em furfural e hidroximetifurfural, respectivamente. Esses compostos, por sua vez, podem ser degradados formando ácido fórmico. Ácido levulínico é formado pela degradação de hidroximetifurfural e compostos fenólicos são formados pela quebra parcial da lignina (FINGUERUT *et al.*, 2008 *apud* MUSSATO E ROBERTO, 2004).

O tipo de compostos tóxicos e a sua concentração no caldo hidrolisado dependem da matéria-prima e das condições operacionais empregadas na hidrólise. Dessa forma, é interessante que o processo de hidrólise seja otimizado para minimizar a formação de inibidores e que se usem processos de purificação do caldo hidrolisado antes da fermentação. Em geral, a fermentação de hidrolisados não tratados é caracterizada por cinética lenta, e rendimento e produtividade limitados. Vários tipos de processos de purificação do hidrolisado já foram propostos, como por exemplo, o tratamento do hidrolisado com carvão ativado (FINGUERUT *et al.*, 2008 *apud* MUSSATO E ROBERTO, 2004).

3.4.1.2 Hidrólise Enzimática

A hidrólise da celulose em seus monômeros constituintes é feita por um complexo de enzimas chamadas celulasas, que agem em sinergismo. Para a hidrólise enzimática, pelo menos três grupos de enzimas são necessários. As endoglicanases, que atacam regiões de baixa cristalinidade na fibra celulósica, as exoglicanases, que degradam ainda mais a molécula separando as unidades de celobiose e as β -glicosidades, que hidrolisam a celobiose para produzir glicose. Como resultado da ação das enzimas na celulose, são obtidos glicose e celobiose. No entanto, conforme as concentrações desses monômeros no meio aumentam, as atividades das celulasas são inibidas. A celobiose é um inibidor mais forte do que a glicose, sendo interessante que ela seja rapidamente transformada em glicose pelas glicosidades. Como muitos complexos enzimáticos comerciais apresentam baixas concentrações de β -glicosidade, muitas vezes é indicado que se adicione β -

glicosidade de outras fontes aos complexos enzimáticos para diminuir a concentração de celobiose no meio reacional e conseqüentemente a inibição (FINGUERUT *et al.*, 2008 *apud* SZCZODRAC e FIEDUREK, 1996; SUN e CHENG, 2002).

A hidrólise enzimática é uma reação heterogênea catalisada pelas celulases, sendo caracterizada por um substrato insolúvel, a celulose e um catalisador solúvel, as enzimas. Assim, as características estruturais da celulose e o modo de ação das enzimas influenciam a taxa de reação. A suscetibilidade da celulose ao ataque é determinada pela acessibilidade dos sítios de ligação para a celulose, o que determina a subsequente adsorção da enzima no substrato sólido (FINGUERUT *et al.*, 2008 *apud* KELLER *et al.*, 2003).

Os processos de catálise enzimática oferecem várias vantagens em comparação à catálise ácida entre as quais se destacam: alto rendimento sob condições amenas e com quantidades relativamente baixas de reagente, faz uso de catalisadores biodegradáveis e, portanto, os processos são ambientalmente saudáveis, os custos do etanol produzido por meio de processos de catálise ácida e enzimática podem ser comparáveis atualmente, mas o processo de catálise enzimática tem grandes possibilidades de avanços tecnológicos que poderiam reduzir o custo do etanol a níveis competitivos com o dos combustíveis fósseis. (ROSILLO- CALLE *et al.*, 2005)

3.4.2 Fermentação e hidrólise separadas (FHS)

O processo de fermentação e hidrólise separadas (FHS) usa estágios diferentes para a produção das enzimas, hidrólise da celulose e fermentação da glicose. A principal vantagem dessa configuração é que todos os três processos podem ser tratados separadamente, minimizando, assim as interações entre eles. Entretanto, as enzimas celulósicas são inibidas pelo acúmulo de açúcar e ainda são necessários grandes esforços para superar esse problema, que impede a obtenção de concentrações razoáveis de etanol mesmo com altas cargas de enzima (ROSILLO- CALLE *et al.*, 2005)

3.4.3 Fermentação e sacarificação simultâneas (FSS)

A seqüência dos estágios do processo de fermentação e sacarificação simultâneas (FSS) é virtualmente a mesma do processo FHS, exceto pelo fato de fermentação e hidrólise serem combinadas em um mesmo recipiente. A presença de fermento, juntamente com as enzimas, minimiza o acúmulo de açúcar no recipiente. O açúcar produzido durante a decomposição da celulose retarda a ação das enzimas celulósicas e, uma vez que o acúmulo de açúcar é reduzido, com menores cargas de enzimas são obtidas taxas de produção de etanol mais altas no processo FSS do que no processo FHS. Outras vantagens são a redução pela metade do número de recipientes usados para a fermentação e a menor vulnerabilidade da mistura – devido à presença do etanol – à invasão de microorganismos desconhecidos. (ROSILLO- CALLE *et al.*, 2005)

3.4.4 Conversão microbiana direta (CMD)

O processo de conversão microbiana direta (CMD) combina a produção das enzimas, a hidrólise da celulose e a fermentação do açúcar em um único recipiente. Na configuração mais testada, são empregadas duas bactérias para produzir enzimas celulolíticas e fermentar o açúcar formado pela decomposição da celulose e da hemicelulose. Infelizmente, as bactérias também produzem outros produtos além do etanol e o rendimento é menor do que o rendimento dos processos FHS e FSS. (ROSILLO- CALLE *et al.*, 2005)

3.4.5 Rendimento e custo do bioetanol

Em seu estudo, Seabra (2008) apresentou os principais resultados de estudos recentes sobre processos em desenvolvimento para produção de bioetanol (Tabela 4). Os rendimentos se referem à produção de bioetanol por tonelada de biomassa seca. O custo dessa biomassa, também apresentado pelo autor, informa o valor adotado para o cálculo do custo do bioálcool, sendo definido de forma exógena ao processo produtivo.

Tabela 4 - Estimativas de rendimentos e custos para produção de bioetanol.

Processo	Rendimento (litro/t)	Custo da biomassa	Custo do etanol	Disponibilidade	Referência
SSF Pré- tratamento com ácido diluído	~300	3 €/GJ	0,98 €/litro	Curto prazo	
SSCF* Pré- tratamento com explosão de vapor	~340	2,5 €/GJ	0,58 €/litro	Médio prazo	Hamelinck et al. (2005)
CBP** com termoidrólise	~400	2 €/GJ	0,39 €/litro	Longo prazo	
SSCF Pré- tratamento com ácido diluído	374	33 US\$/t	0,28 US\$/ litro (mínimo preço)	Curto prazo	Aden et al. (2002)
SSCF Pré- tratamento com ácido diluído	283	44 US\$/t	0,38 US\$/ litro	Curto prazo	Wooley et al. (1999)
SSCF Pré- tratamento com ácido diluído	413	28 US\$/t	0,20 US\$/ litro	Longo prazo	

* Simultaneous Saccharification and Co-Fermentation Process

** Consolidated Bioprocessing – fermentação de biomassas lignocelulósicas empregando simultaneamente diferentes espécies de microrganismos

Fonte : Seabra (2008).

Segundo Budny e Sotero (2007), o custo de produção do etanol de 1º geração no Brasil, a partir do caldo de cana-de-açúcar, é da ordem de US\$ 0,22. Comparando estes custos com os custos de produção apresentados na Tabela 4 pode-se observar que o bioetanol de 2º geração, produzido a partir de resíduos lignocelulósicos, não será competitivo com o de 1º geração a curto prazo, independentemente do tipo de pré-tratamento aplicado à biomassa.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 BIOMASSAS

Foram utilizados como biomassa, rejeitos (polpa e cascas) da banana madura *Musa cavendishii*, popularmente conhecida na região nordeste de Santa Catarina como banana nanica (Figura 5). As frutas foram fornecidas pela Indústria Tipikus Alimentos, situada no município de Garuva, SC.



Figura 5 - Banana nanica: (a) fruta madura, (b) polpa e cascas

4.2 ENSAIOS REALIZADOS

Foram realizados um total de 63 ensaios, dos quais, 36 foram de pré-tratamento (hidrólise ácida), 18 relativos à despolimerização (hidrólise enzimática) e 9 de fermentação. A Tabela 5 apresenta o detalhamento dos ensaios.

Tabela 5 - Ensaios realizados durante a pesquisa.

Etapa do processo	Número Total de Ensaios	Número de Ensaios	Resíduos/Substrato
Pré tratamento: Hidrólise ácida (HA)	36	18 18	cascas – 250 g MU L ⁻¹ polpas - 250 g MU L ⁻¹
Despolimerização: Hidrólise ácida + Hidrólise enzimática (HAHE)	18	9 9	cascas - 250 g MU L ⁻¹ polpas - 250 g MU L ⁻¹
Hidrólise enzimática (HE)			
Fermentação em frascos Erlenmeyer (E)	4	1 1 1 1	padrão - glicose 20 g L ⁻¹ polpas- <i>in natura</i> 250 g MU L ⁻¹ cascas- <i>in natura</i> 250 g MU L ⁻¹ cascas- <i>in natura</i> 375 g MU L ⁻¹
Fermentação em Biorreator (F)	5	1 1 1 1 1	padrão - glicose 20 g L ⁻¹ polpas- <i>in natura</i> 250 g MU L ⁻¹ polpas- <i>in natura</i> 375 g MU L ⁻¹ polpas- <i>in natura</i> 500 g MU L ⁻¹ cascas- <i>in natura</i> 1210 g MU L ⁻¹

MU – Massa úmida.

Para todos os ensaios de hidrólise ácida, de despolimerização, bem como de fermentação em pequena escala, foram utilizados frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de volume de trabalho. A concentração mínima de resíduo (250 g MU L⁻¹) empregada na maioria desses experimentos foi definida em função da consistência viscosa da mistura, caracterizada por uma boa fluidez, não formando

massa pastosa capaz de prejudicar o processo de fermentação a ser realizado posteriormente (condição observada na polpa por inspeção visual). Em termos de massa seca (MS), a concentração de substrato equivalente a 250 g MU L⁻¹ para a polpa de banana foi de 74,5 g MS L⁻¹ e para as cascas foi de 28,4 g MS L⁻¹, de acordo com testes realizados utilizando método gravimétrico (90 °C, 48 h).

Os ensaios em fermentador de bancada foram realizados para o estudo cinético do processo.

4.2.1 Tratamento inicial da biomassa

Cada uma das biomassas foi avaliada de forma isolada com todos os testes realizados, no mínimo, em duplicata. Para tanto, cada um dos materiais residuais (polpa e cascas) foi cortado manualmente com auxílio de uma faca em pedaços menores que 3 cm e submetido à cominuição em liquidificador doméstico Britânia de 2 L. A água empregada foi a da rede pública e o tempo de cominuição no liquidificador variou de 1 a 3 minutos, até a obtenção de partículas sólidas de tamanho inferior a 3 mm (inspeção visual).

4.2.2 Hidrólise Ácida das biomassas

Foram realizados 18 ensaios de hidrólise ácida (HA) para cada um dos substratos avaliados, em diferentes condições operacionais, conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 - Ensaios de hidrólise ácida (HA) empregando como substrato polpa (P) e cascas (C) de banana nanica.

Ensaios (P e C)	Condições Experimentais		
	H ₂ SO ₄ (% m m ⁻¹)	Temperatura (°C)	Tempo de reação (min)
P-HA _{0,0,0} e C-HA _{0,0,0} *	0%	ambiente	0
P-HA _{0,90,15} e C-HA _{0,90,15}	0%	90	15
P-HA _{0,90,30} e C-HA _{0,90,30}			30
P-HA _{1,90,15} e C-HA _{1,90,15}	1%	90	15
P-HA _{1,90,30} e C-HA _{1,90,30}			30
P-HA _{2,90,15} e C-HA _{2,90,15}	2%	90	15
P-HA _{2,90,30} e C-HA _{2,90,30}			30
P-HA _{0,100,15} e C-HA _{0,100,15}	0%	100	15
P-HA _{0,100,30} e C-HA _{0,100,30}			30
P-HA _{1,100,15} e C-HA _{1,100,15}	1%	100	15
P-HA _{1,100,30} e C-HA _{1,100,30}			30
P-HA _{2,100,15} e C-HA _{2,100,15}	2%	100	15
P-HA _{2,100,30} e C-HA _{2,100,30}			30
P-HA _{0,120,15} e C-HA _{0,120,15}	0%	120	15
P-HA _{0,120,30} e C-HA _{0,120,30}			30
P-HA _{1,120,15} e C-HA _{1,120,15}	1%	120	15
P-HA _{1,120,30} e C-HA _{1,120,30}			30
P-HA _{2,120,15} e C-HA _{2,120,15}	2%	120	15
P-HA _{2,120,30} e C-HA _{2,120,30}			30

* os números subscritos nas identificações dos ensaios representam, em seqüência: a concentração de ácido empregada (%), a temperatura do processo (°C) e o tempo de reação (min.).

As condições de temperatura descritas na Tabela 6 foram obtidas a partir do acondicionamento dos frascos Erlenmeyer em dois diferentes tipos de aquecedores: uso do banho termostatzado “Banho Maria” da Quimis para as temperaturas de 90 e 100 °C e emprego do autoclave elétrico Quimis – M25160, para 120 °C.

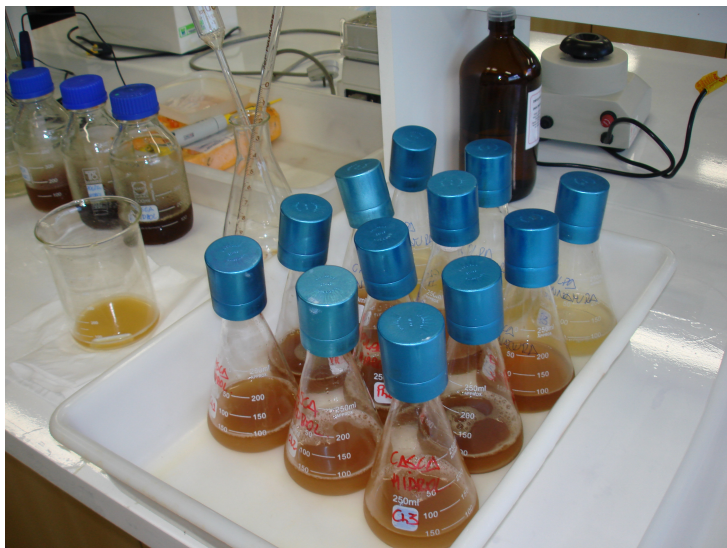


Figura 6 - Frascos Erlenmeyer utilizados como reatores durante os ensaios de hidrólise ácida dos substratos.

4.2.3 Despolimerização da biomassa: hidrólise enzimática

Foram empregadas as enzimas comerciais cellulase complex (NS50013), β -glucosidase (NS50010), xynalase (NS50030), β -glucanase - xylanase (NS22002) e enzyme complex (NS50012) contendo as enzimas arabinase, β -glucanase, cellulase, hemicellulase, pectinase e xylanase; todas gentilmente fornecidas pela Novozymes Latin America Ltda. Todas as enzimas foram utilizadas de uma só vez empregando as doses máximas recomendadas pelo fornecedor (Anexo A).

Como reatores foram empregados frascos Erlenmeyer de 250 ml contendo 90 mL de solução de substrato (com 25 g MU de resíduo, suficiente para a concentração desejada de 250 g MU L⁻¹ no volume de trabalho de 100 mL) e 10 mL de solução enzimática.

As soluções enzimáticas foram preparadas em solução tampão acetato de sódio/ácido acético 0,1 M. Em função das diferentes concentrações de massa seca de cada um dos substratos no meio reativo (74,5 g MS L⁻¹ para a polpa e 28,4 g MS L⁻¹ para as cascas), para cada substrato avaliado foi utilizada concentração diferente da solução enzimática.

As dosagens enzimáticas utilizadas, assim como o pH e a temperatura de reação foram definidas de modo que os seus valores estivessem dentro das faixas recomendadas pelo fornecedor das enzimas. A Tabela 7 apresenta esses valores.

Tabela 7 – Concentração de enzimas, pH e temperatura recomendados pelo fornecedor (Recom) e utilizadas (Utiliz) nos ensaios de hidrólise enzimática (despolimerização) da polpa e das cascas de banana nanica.

Enzima	Dose (% m m ⁻¹) ^a		pH		T (°C)	
	Recom	Utiliz	Recom	Utiliz ^b	Recom	Utiliz ^c
cellulase complex	2-6	6	4,5-6,5	5,5	45-50	45
β-glicosidase	0,2-0,6	0,6	2,5-6,5	5,5	45-70	45
enzyme complex	0,05-0,4	0,4	4,5-6,0	5,5	25-55	45
xynalase	0,1-0,5	0,5	4,5-6,0	5,5	35-55	45
β-glucanase xylanase	0,4-2	2	5,0-6,5	5,5	40-60	45

^a porcentagem expressa em base seca de substrato

^{b, c} valor definido de modo a atender todas as recomendações do fornecedor para cada uma das enzimas empregadas.

Foram realizados dois tipos de hidrólise enzimática para cada um dos dois substratos:

1) Ensaios HAHE – substrato previamente hidrolisado com H₂SO₄ nas condições operacionais selecionadas nos Ensaios HA empregando diferentes tempos para a reação enzimática, totalizando 4 ensaios por substrato e mais 1 ensaio por substrato como branco da hidrólise enzimática (substrato com HA e sem HE).

(2) Ensaios HE – substrato sem pré-tratamento, com hidrólise enzimática realizada nos mesmos tempos de reação dos ensaios HAHE, totalizando 4 ensaios por substrato.

Os tempos de reação avaliados foram de: 0,5h, 1h, 2h e 24h. Como branco, tanto para avaliar o efeito somente da HE como também do efeito combinado HAHE, foi utilizado uma solução de cada um dos substratos *in natura*, preparada conforme descrito em 4.2.1 e acrescido de 10 mL de H₂O pura no lugar da solução enzimática.

Para o caso dos substratos previamente hidrolisados por ácido, antes da adição da solução de enzimas o pH foi elevado para o valor desejado de reação (pH 5,5) pela adição de BaCO₃ anidro.

No final de cada tempo de reação foram retiradas amostras para as determinações das concentrações de açúcares fermentáveis (sacarose, glicose e frutose) em cromatografia líquida conforme descrito no item 4.3.3. Para cada tempo de reação foi utilizado um reator (Erlenmeyer).

4.2.4 Ensaios de fermentação

Foram realizados 4 ensaios de fermentação em frascos Erlenmeyer (Ensaios E) e 5 ensaios de fermentação em biorreator de bancada (Ensaios F).

4.2.4.1 Meios de cultivos

Para a obtenção do inóculo e realização dos ensaios de fermentação utilizados como padrão (ensaios contendo como única fonte de carbono, a glicose anidra), foi utilizado o meio de cultivo aqui denominado de GY, preparado a partir dos meios propostos por Monsalve (2006), Pamarola-Adrados *et al.* (2005) e por Saito (2006). As concentrações de nutrientes empregadas no meio GY foram de (em g.L⁻¹): glicose, 20; extrato de levedura, 3; (NH₄)₂SO₄, 0,5; K₂HPO₄, 0,5; MgSO₄.7H₂O, 0,1 e CaCl₂, 0,1.

O meio de cultivo base empregado nos ensaios de fermentação utilizando a polpa ou a casca de banana como substrato foi o mesmo, exceto a glicose que foi substituída pelo resíduo avaliado.

O pH inicial em todos os ensaios de fermentação foi de 4,5. As correções dos valores iniciais de pH para os substratos submetidos à hidrólise ácida prévia foram realizadas com adição de BaCO₃ anidro. Antes da esterilização do substrato todos os mostos contendo polpa ou cascas de banana foram filtrados a vácuo em funil de Buchner.

Todos os meios de cultivo foram previamente esterilizados em autoclave elétrica, a 120 °C durante 15 minutos. No caso do meio GY, a glicose foi esterilizada separadamente de forma a evitar a reação de Maillard.

Com o objetivo de reduzir-se o risco de contaminações bacterianas durante os experimentos, todos os meios de cultivos, após esterilização, foram adicionados, assepticamente, de solução aquosa do antibiótico tetramicina em quantidade suficiente para obter-se a concentração de 0,3 mg mL⁻¹ no caldo de fermentação.

Foi utilizado o antibiótico comercial Tetramicin® 500 mg em cápsulas, produzido pela empresa EMS. O antibiótico foi preparado em cabine de fluxo laminar, diluindo-se o conteúdo das cápsulas em água previamente esterilizada, para se obter uma concentração de 15 mg mL⁻¹. Após diluição, a solução antibiótica

foi filtrada em filtro Minisart N com 0,2 μm de poro e então armazenada em frasco Duran esterilizado de 50 mL. Para cada 100 mL de caldo de fermentação foi adicionados 2 mL desta solução.

4.2.4.2 Inóculo de fermentação

Para a fermentação alcoólica foi empregada a levedura *Saccharomyces cerevisiae* isolada de fermento comercial seco e conservada em geladeira (4 °C) em placas de Petri contendo o meio de cultivo GY adicionado de 20 g L⁻¹ de Agar-agar.

Semanalmente, o microrganismo foi reativado por meio de cultivo em meio líquido contendo o meio GY. Para tanto, foi realizada a raspagem superficial das colônias conservadas em geladeira (uso de 5 mL de água destilada esterilizada por placa de Petri) seguido da inoculação de 2 mL de suspensão/100 mL de meio. Como incubadora utilizou-se o agitador rotativo Logen Scientific com frequência de agitação de 150 min⁻¹ e temperatura de 30 °C. Após 48 horas de incubação, a cultura foi utilizada para nova semeadura de placas de Petri contendo o mesmo meio de cultivo de reativação adicionado de 2% (m/m) de Agar-agar. As placas foram incubadas a 30 °C durante 24 horas e posteriormente rearmazenadas em refrigerador até novo ciclo.

Para a obtenção do inóculo de fermentação, foi empregada como pré-inóculo a biomassa celular obtida após o cultivo de reativação do microrganismo. O inóculo foi produzido em frasco Erlenmeyer de 500 mL contendo 190 mL do meio de cultivo GY e 10 mL de pré-inóculo. A mistura foi incubada em agitador orbital com frequência de agitação de 120 min⁻¹, 30 °C, durante 18 horas (tempo de incubação estabelecido previamente, conforme apresentado no Apêndice A).

4.2.4.3 Ensaios E

Foram realizados 4 ensaios de fermentação em frascos Erlenmeyer, sendo: 1 ensaio padrão com glicose 20 g L⁻¹ (ensaio EG); 1 ensaio com a polpa *in natura* na concentração de 250 g MU L⁻¹ (ensaio EPol₂₅₀); 2 ensaios com as cascas contendo 250 g MU L⁻¹ (ECas₂₅₀), 375 g MU L⁻¹ (ECas₃₇₅). Todos os ensaios foram realizados, no mínimo, em duplicata.

Os ensaios E foram conduzidos em agitador orbital, Shaker Incubating da LOGEN, (Figura 7), com freqüência de agitação de 120 min^{-1} , $30 \text{ }^\circ\text{C}$, durante 48 h. Como biorreator foram empregados frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 80 mL de mosto e 20 mL de inóculo (20% v/v).



Figura 7 - Fermentação em agitador orbital da LOGEN.

Durante os experimentos foram retiradas duas amostras de cada um dos frascos, nos tempos de fermentação 0, 6, 12 e 24h, para as determinações de pH e concentrações de açúcares totais (AT) e etanol. Cada amostra foi representada por um frasco Erlenmeyer. Para cada ensaio foi utilizado, no mínimo, dez frascos Erlenmeyer.

4.2.4.4 Fermentação em biorreator de bancada: Ensaio F

Foram realizados 5 ensaios de fermentação em biorreator de bancada Biostat® B da empresa Braun (Figura 8), todos em duplicata: 1 ensaio padrão com glicose 20 g L^{-1} (Ensaio FG); 3 com a polpa de banana *in natura*, nas concentrações de substrato de 250, 375 e 500 g MU L^{-1} (FPol₂₅₀, FPol₃₇₅ e FPol₅₀₀); 1 com as cascas de banana *in natura*, na concentração de 1210 g MU L^{-1} (FCas₁₂₁₀).

A dorna empregada foi de 5 L contendo 2 L de volume de trabalho e 20% v/v de inóculo. As fermentações foram conduzidas a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e pH $4,5 \pm 0,1$, controlado

automaticamente pela adição de HCl 1 M e KOH 1 M. Para a agitação foi empregado frequência de 150 min^{-1} e sistema de agitação composto de duas turbinas espaçadas de 20 mm, contendo cada uma seis pás planas (“*flat-blade*”) de diâmetro 65 mm, comprimento 18 mm e largura de 12 mm. A distância da última turbina ao fundo da dorna foi de 45 mm.



Figura 8 – Fermentador Biostat[®] B da Braun.

Exclusivamente no caso das fermentações com polpa de banana, visando evitar-se a formação de espumas durante o processo fermentativo, a parede da dorna foi umedecida com polipropileno glicol P 2000 da empresa Fluka antes da esterilização.

4.3 MÉTODOS ANALÍTICOS

4.3.1 Umidade

A determinação da umidade percentual foi baseada na metodologia utilizada por Crippa (2002). Em cadinho limpo, previamente seco até peso constante, pesou-se três gramas da amostra *in natura* (MU) em balança analítica e secou-se a $105 \text{ }^\circ\text{C}$ em estufa a $105 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 horas. Em seguida resfriou-se em dessecador e pesou-se a amostra seca (MS). Com os valores encontrados utilizou-se a Equação 1 para o cálculo da umidade. As análises foram feitas em triplicatas.

$$Umidade \% = \frac{MU - MS}{MU} 100 \quad (1)$$

4.3.2 Concentrações de lignina e celulose

Para a caracterização dos substratos polpa e cascas de banana, as análises de lignina e celulose foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo –USP em Pirassununga- SP. O teor de lignina foi determinado pelo método de Klason em permanganato de potássio e a celulose, indiretamente, a partir dos valores do teor de fibra em detergente ácido (FDA) e teor de fibra em detergente neutro livre de cinzas (FDN), conforme descrito por Silva e Queiroz (2002) e Van Soest (1967).

4.3.3 Concentrações de açúcares totais e etanol

De cada ensaio de fermentação foram retiradas amostras periódicas para as determinações das concentrações de açúcares totais (AT) e etanol (P). Os valores de AT compreenderam a soma dos carboidratos glicose (Glc), frutose (Frt) e sacarose (Scr).

Para as determinações dos carboidratos foi empregada a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) utilizando cromatógrafo Merck Hitachi D- 7000 IF equipado com detector de índice de refração Merck RI-71 e coluna Knauer-Eurokat Pb, série SE212. Como eluente foi empregado água ultrapura (água Milli-Q) com fluxo de 0,5 ml. min⁻¹.

Para etanol, foi empregada a cromatografia gasosa (CG) utilizando cromatógrafo da Agilent, modelo 6890, acoplado com amostrador automático (Agilent, modelo 7683) e coluna da Hewlett-Packard HP-1 de comprimento 50 m e diâmetro externo de 0,32 mm, com fase estacionária 100% dimetil poli-siloxano e espessura de filme 1,05 µm.

Em ambos os casos, antes da injeção da amostra no equipamento, 2 mL da amostra foram centrifugadas a 10000 min⁻¹ durante 5 min, empregando centrífuga Eppendorf 5415 C da BLB (Braunschweiger Laborbedarf), com rotor de 150 mm de diâmetro. Após centrifugação, o sobrenadante foi retirado para análise. Em função

das curvas de calibrações dos métodos empregados antes da injeção no HPLC ou no CG, algumas das amostras foram diluídas com água Milli-Q.

No caso das análises em HPLC, após a centrifugação e, quando necessário, após a diluição, as amostras foram filtradas em filtro Millex da Millipore (unidade filtrante HV em polietileno com membrana DU Rapore) de porosidade de 0,45 μm e armazenadas em “vials”.

4.4 MÉTODOS DE CÁLCULOS

4.4.1 Rendimento em açúcares totais

Os valores de rendimento em açúcares totais obtidos nos ensaios de hidrólise ácida e hidrólise enzimática foram calculados de acordo com a Equação 2.

$$R = \frac{AT}{MU} 100 \quad (2)$$

R – rendimento percentual em AT , (%)

AT – concentração de açúcares totais (sacarose+glicose+frutose) no caldo após tratamento (g L^{-1})

MU – massa úmida de biomassa empregada (g L^{-1})

4.4.2 Rendimento em etanol

Os valores de rendimento das fermentações, representados pelo fator de conversão de açúcares totais em etanol ($Y_{P/AT}$) foram calculados de acordo com a Equação 3.

$$Y_{P/AT} = \frac{(P_f - P_o)}{(AT_o - AT_f)} \quad (3)$$

onde,

P_f - concentração de etanol no tempo final de fermentação (g L^{-1})

P_o - concentração de etanol no início do processo fermentativo (g L^{-1})

AT_0 – concentração de Glc, Frt e Scr no início da fermentação (g L^{-1})

AT_f – concentração dos açúcares Glc, Frt e Scr no tempo final de fermentação (g L^{-1})

Definiu-se como tempo final de fermentação- t_f o tempo correspondente à máxima concentração de etanol no caldo fermentado (h)

4.4.3 Produtividade total em etanol

Os valores de produtividade total em etanol de cada processo (Q_p), expressos em massa do produto formado por unidade de tempo e por unidade de volume ($\text{g h}^{-1} \text{L}^{-1}$), foram obtidos por meio da Equação 4, conforme definição dada por GADEN (1959).

$$Q_p = \frac{P_f - P_o}{t_f} \quad (4)$$

onde,

P_f - concentração de etanol no tempo final de fermentação (g L^{-1})

P_o - concentração de etanol no início do processo fermentativo (g L^{-1})

t_f - tempo final de fermentação, correspondente à máxima concentração de etanol no caldo fermentado (h)

4.4.4 Eficiência do processo fermentativo (ϵ)

Os valores de rendimento em produto foram comparados ao rendimento teórico máximo obtido nas fermentações alcoólicas, igual a 51,11% (SHARMA *et al.*,2007), para se obter a eficiência do processo, conforme Equação 5.

$$\varepsilon = \frac{Y_{P/AT}}{0,5111} \cdot 100 \quad (5)$$

4.5 Análises estatísticas

Os resultados analíticos das duplicatas de todos os ensaios foram analisados pelo método ANOVA com teste de Tukey para $P < 0,05$ empregando o programa computacional Origin 7.5.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS RESÍDUOS

As propriedades físico-químicas da polpa e das cascas da banana *Musa cavendishii* são apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8 – Propriedades físico-químicas da banana *Musa cavendishii* madura.

Propriedades físico-químicas	% em base úmida (% MU)	
	polpa	casca
umidade	70,1±0,1	88,6±0,2
lignina	2,2±0,1	2,05±0,4
celulose	0,98±0,08	2,18±0,03
sacarose (Scr)	4,1±0,4	0,1±0,1
glicose (Glc)	7,8±1,4	1,1±0,3
frutose (Frt)	7,3±1,9	1,1±0,3

Os valores de umidade apresentados na Tabela 8, tanto para a polpa quanto para as cascas, foram próximos daqueles encontrados no Atlas NAS (do inglês, Atlas of Nutritional Data on United States and Canadian Feeds), citados por Hammond *et al.* (1996): 75,7% e 83,8%, respectivamente. As demais propriedades diferiram muito de valores encontrados na literatura.

Sharma *et al.* (2007) caracterizaram as cascas de bananas residuais provenientes de uma indústria de alimentos da Índia e determinaram o teor de celulose de 28,67 % em base de massa seca (MS) e a concentração de açúcares redutores totais de 36,83 g kg⁻¹ MS. Se considerarmos o teor de umidade de 83,8 % referenciado no Atlas NAS, esses valores seriam da ordem de 4,65 % e 0,6 % em base de massa úmida (MU).

Cordeiro *et al.* (2004) avaliaram o teor de celulose e de lignina na polpa da banana *Musa acuminata* Colla e determinaram os valores médios de 34,5 e 12 % MS, respectivamente. Para a umidade de 75,7 % esses valores corresponderiam a 8,4 % MU para celulose e 2,9 % MU para lignina.

Arredondo *et al.* (2009) apresentaram valor de açúcar para a polpa de apenas 4,3±0,6 % MS, ou seja, 1,1 % MU considerando o teor de umidade de 74,6 %, dado pelos autores. Acredita-se neste caso que, em função do alto teor de amido

encontrado pelos autores na amostra analisada (53,2 %), os mesmos tenham feito a caracterização da polpa verde e não da polpa madura, como foi feito neste trabalho. Além disto, os autores não especificaram o tipo de açúcar a que se referiu e nem o método analítico empregado para isto.

De acordo com Mohapatra (2010), quanto mais madura a fruta maior o teor de açúcar na polpa e menor a presença de amido. Hammond *et al.* (1996) afirmam que na banana verde quase a totalidade do carboidrato não-estrutural da fruta está na forma de amido mas, durante o seu amadurecimento, rapidamente são convertidos em açúcar.

Segundo Simão (1971, *apud* Lima *et al.*, 2000), a polpa da banana nanica madura apresenta, em média, 19 % de açúcares e 1 % de amido. Esse teor de açúcar é semelhante ao apresentado na Tabela 8, considerando a somatória dos valores médios dos teores de sacarose, glicose e frutose (AT = 19,2 % MU).

5.2 ENSAIOS DE HIDRÓLISES

As Tabelas 9 e 10 apresentam os respectivos resultados obtidos nos ensaios de hidrólise ácida empregando como substrato a polpa e as cascas de banana, ambos na concentração de 250 g MU L⁻¹. Os valores de AT corresponderam à soma dos açúcares totais representados pelas concentrações de glicose, frutose e sacarose. Os valores de rendimento percentual (R) foram calculados a partir da divisão de AT pela concentração do resíduo, multiplicado por 100. Tomando como exemplo o ensaio P-HA_{0,90,15} o valor percentual de R é a relação entre 41,19 g L⁻¹ e 250 g MU L⁻¹ multiplicado por 100, ou seja, 16,48 g g⁻¹ MU.

Tabela 9 – Concentrações de glicose (Glc), frutose (Frt), sacarose (Scr) e açúcares totais (AT) obtidos na hidrólise ácida de 250 g L⁻¹ de polpa de banana nanica e respectivos valores de rendimento percentual em AT (R).

Ensaio	Produtos da hidrólise (g L ⁻¹) **				R (%)
	Glc	Frt	Scr	AT	
<i>in natura</i>	17,25/22,16	14,49/26,80	11,38/10,62	43,12/59,58	17,25/23,83
P-HA _{0,90,15} *	14,65	17,85	8,69	41,19	16,48
P-HA _{0,90,30}	13,24	13,75	18,46	47,45	18,98
P-HA _{0,100,15}	16,73	20,02	17,06	53,81	21,52
P-HA _{0,100,30}	15,06	17,86	15,11	48,03	19,21
P-HA _{0,120,15}	21,68/27,39	13,75/23,89	20,35/14,80	55,78/66,08	22,31/26,43
P-HA _{0,120,30}	19,20/28,51	22,25/25,76	12,76/11,63	54,21/65,90	21,68/26,36
P-HA _{1,90,15}	22,95	27,79	0,21	50,95	20,38
P-HA _{1,90,30}	27,94	33,87	0	61,81	24,72
P-HA _{1,100,15}	21,88	26,17	0,17	48,22	19,29
P-HA _{1,100,30}	26,61	31,51	0	58,12	23,25
P-HA _{1,120,15}	31,00/38,38	27,90/37,32	0/0	58,90/75,70	23,56/30,28
P-HA _{1,120,30}	37,94/46,04	32,26/34,00	0/0	70,20/80,04	28,08/32,02
P-HA _{2,90,15}	19,75	24,11	0	43,86	17,54
P-HA _{2,90,30}	30,56	37,34	0	67,90	27,16
P-HA _{2,100,15}	19,95	23,61	0,52	44,08	17,63
P-HA _{2,100,30}	24,13	27,49	0	51,62	20,65
P-HA _{2,120,15}	39,65/39,10	28,55/46,14	0/0	68,20/85,24	27,28/34,10
P-HA _{2,120,30}	37,06/36,90	25,22/23,44	0/0	62,28/60,34	24,91/24,14

* O símbolo P-HA corresponde ao uso da polpa (P) submetido à hidrólise ácida (HA). Os números seqüenciais em subscrito na identificação de cada um dos ensaios significam: concentração de ácido sulfúrico (0, 1 ou 2% m/m), temperatura (90, 100 ou 120 °C) e tempo de reação (15 ou 30 min).

** Resultados separados por barras representam a repetição do ensaio, realizada com novo lote de resíduo.

Tabela 10 – Concentrações de glicose (Glc), frutose (Frt), sacarose (Scr) e açúcares totais (AT) obtidos na hidrólise ácida de 250 g L⁻¹ de cascas de banana nanica e respectivos valores de rendimento percentual de AT (R).

Ensaio	Produtos da hidrólise (g L ⁻¹) **				R (%)
	Glc	Frt	Scr	AT	
<i>in natura</i>	1,79/4,07	2,37/3,67	0,47/0,94	4,62/8,68	1,85/3,47
C-HA _{0,90,15} *	3,57	2,95	0,86	7,39	2,96
C-HA _{0,90,30}	2,93	3,20	0	6,13	2,45
C-HA _{0,100,15}	3,90	2,99	0	6,88	2,75
C-HA _{0,100,30}	2,73	3,30	0,62	6,65	2,66
C-HA _{0,120,15}	4,17/4,36	3,52/5,70	0,01/0,58	7,69/10,64	3,08/4,26
C-HA _{0,120,30}	3,81/4,68	3,20/5,26	0,69/0,32	7,70/10,26	3,08/4,10
C-HA _{1,90,15}	2,86	2,41	0	5,27	2,11
C-HA _{1,90,30}	2,56	2,86	0	5,41	2,16
C-HA _{1,100,15}	3,10	3,94	0	7,04	2,82
C-HA _{1,100,30}	3,04	2,99	0	6,02	2,41
C-HA _{1,120,15}	4,81/5,90	3,14/5,12	0/0	7,95/11,02	3,18/4,41
C-HA _{1,120,30}	4,71/5,64	2,51/5,38	0/0	7,21/12,02	2,88/4,81
C-HA _{2,90,15}	2,56	2,69	0	5,25	2,10
C-HA _{2,90,30}	2,77	2,71	0	5,47	2,19
C-HA _{2,100,15}	3,71	3,42	0	7,14	2,86
C-HA _{2,100,30}	3,33	4,14	0	7,47	2,99
C-HA _{2,120,15}	5,19/7,40	2,94/6,08	0/0	8,13/13,48	3,25/5,39
C-HA _{2,120,30}	4,82/7,22	3,07/4,52	0/0	7,89/11,74	3,16/4,70

* O símbolo C-HA corresponde ao uso das cascas de banana (C) submetidas à hidrólise ácida (HA). Os números seqüenciais em subscrito na identificação de cada um dos ensaios significam: concentração de ácido sulfúrico (0, 1 ou 2% m/m), temperatura (90, 100 ou 120 °C) e tempo de reação (15 ou 30 min).

** Resultados separados por barras representam a repetição do ensaio, realizada com novo lote de resíduo.

Conforme pode ser observado nas Tabelas 9 e 10, o uso apenas do aquecimento a 120 °C durante 15 ou 30 min, sem a adição de ácido, proporcionou rendimento em AT da ordem de 21 a 26 % para a polpa e de 3 a 4 % para as cascas. Com o emprego de ácido sulfúrico, os valores máximos de rendimento (34,10 % para a polpa e 5,39 % para as cascas) foram alcançados com o uso de H₂SO₄ 2%, 120 °C, 15 min. Com a adição do ácido foi possível aumentar aproximadamente 8 pontos percentuais da concentração de AT no caldo de polpa e em torno de apenas 1 ponto para o caso das cascas, valores estes muito baixos,

não justificando, conseqüentemente, o uso desse tipo de tratamento para o aumento do rendimento de AT. Soma-se a isto o fato de que, com o uso da hidrólise ácida seria necessária a neutralização prévia do H_2SO_4 no caldo antes de toda a mistura ser conduzida à fermentação.

Mesmo tipo de comportamento ocorreu ao se comparar o ganho percentual do uso apenas da operação do aquecimento (cozimento) em comparação ao resíduo *in natura*. Uma visão global de todos esses ganhos percentuais pode ser obtida a partir das Figuras 9 e 10 apresentadas a seguir em relação ao substrato *in natura* para os ensaios apresentados nas Tabelas 9 e 10.

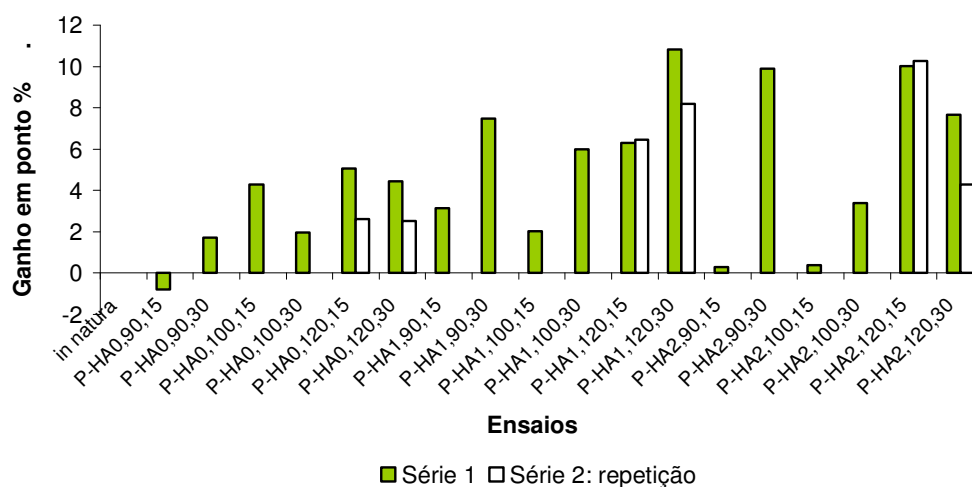


Figura 09 – Ganho em ponto percentual no rendimento em AT obtido com a hidrólise ácida da polpa de banana nanica em comparação ao resíduo *in natura* (sem hidrólise).

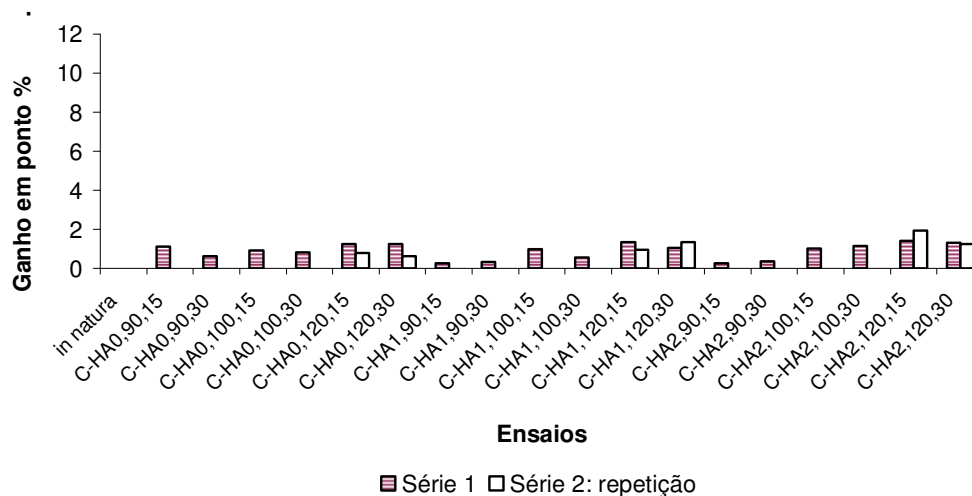


Figura 10 – Ganho em ponto percentual no rendimento em AT obtido com a hidrólise ácida das cascas de banana nanica em comparação ao resíduo *in natura* (sem hidrólise).

De acordo com as Figuras 9 e 10 pode-se verificar que os ganhos percentuais em relação aos resíduos *in natura* foram menores que 12 pontos percentuais para a polpa e interiores a 2 pontos percentuais para as cascas. Estes baixos ganhos em AT concordam com os baixos teores de amido e de celulose esperados no fruto maduro (Tabelas 1 e 8).

No entanto, convém lembrar que o uso da hidrólise ácida teve como objetivo inicial, na concepção e planejamento deste trabalho, preparar as biomassas lignocelulósicas para a sua posterior hidrólise enzimática, ou seja, utilizar o tratamento com ácido como pré-tratamento para despolimerização enzimática. Sendo assim, foi selecionada a condição de hidrólise ácida H_2SO_4 2%, 120 °C, 15 min para ambas as biomassas a serem submetidas à hidrólise enzimática. As Tabelas 11 e 12 apresentam os resultados obtidos.

Os ensaios identificados por HAHE foram relativos à hidrólise enzimática precedida de hidrólise ácida e os ensaios HE, uso da hidrólise enzimática sem hidrólise ácida prévia.

Tabela 11 – Concentrações de glicose (Glc), frutose (Frt), sacarose (Scr) e açúcares totais (AT) obtidas na despolimerização da polpa de banana por meio da hidrólise enzimática.

Ensaio*	Produtos da hidrólise (g L ⁻¹)				R (%)
	Glc	Frt	Scr	AT	
<i>in natura</i>	15,66/19,56	15,10/14,26	10,80/9,70	41,56/43,52	16,62/17,41
P-HAHE ₀	25,24/27,33	21,54/20,72	0	46,78/48,05	18,71/19,22
P-HAHE _{0,5}	36,58/29,94	20,29/19,50	0	56,87/49,44	22,75/19,78
P-HAHE ₁	24,80/26,68	22,82/20,81	0,36/0	47,98/47,49	19,19/19,00
P-HAHE ₂	26,53/26,84	21,57/23,82	0	48,1/50,66	19,24/20,26
P-HAHE ₂₄	38,03/34,63	27,40/22,45	0,88/0	66,31/57,08	26,52/18,83
<i>in natura</i>	25,10/17,33	19,01/20,47	8,87/10,47	52,98/48,27	21,19/19,31
P-HE _{0,5}	28,72/20,16	25,42/24,77	0	54,14/44,93	21,66/17,97
P-HE ₁	30,23/20,59	26,51/25,13	0,93/0	57,67/45,72	23,07/18,29
P-HE ₂	27,88/21,79	23,47/26,57	0,91/0	52,26/48,36	20,90/19,39
P-HE ₂₄	32,62/24,51	21,19/25,79	0,75/0	54,56/50,30	21,82/20,12

* O símbolo P-HAHE corresponde ao uso da polpa de banana (P) submetida à hidrólise ácida (HA), seguida de hidrólise enzimática (HE). O símbolo P-HE corresponde ao uso da polpa de banana (P) submetida apenas à hidrólise enzimática. Os números seqüenciais em subscrito na identificação de cada um dos ensaios correspondem ao tempo de hidrólise enzimática, expresso em h.

** Resultados separados por barras representam a repetição do ensaio, realizada com novo lote de resíduo.

Tabela 12 – Concentrações de glicose (Glc), frutose (Frt), sacarose (Scr) e açúcares totais (AT) obtidas na despolimerização das cascas de banana através da hidrólise enzimática.

Ensaio*	Produtos da hidrólise (g L ⁻¹)				R (%)
	Glc	Frt	Scr	AT	
<i>in natura</i>	2,59/2,07	1,54/2,90	0/0	4,13/4,97	1,65/1,99
C-HAHE ₀	4,70/3,59	1,25/2,83	0/0	5,95/6,42	2,38/2,57
C-HAHE _{0,5}	4,35/3,21	1,57/3,30	0,03/0,08	5,95/6,59	2,38/2,57
C-HAHE ₁	6,28/3,44	1,49/3,62	0,24/0,10	8,01/7,16	3,20/2,86
C-HAHE ₂	7,02/3,07	1,67/2,99	0,48/1,13	9,17/7,19	3,67/2,88
C-HAHE ₂₄	4,33/4,40	1,35/1,37	0,81/0	6,49/5,77	2,60/2,31
<i>in natura</i>	2,77/3,29	2,41/3,79	0/0	5,18/7,08	2,07/2,83
C-HE _{0,5}	3,08/3,88	3,21/3,62	0,13/0	6,42/7,5	2,57/3,00
C-HE ₁	2,62/2,60	2,61/2,38	0,10/0	5,33/4,98	2,13/1,99
C-HE ₂	2,92/4,42	1,95/3,94	0,07/0	4,94/8,36	1,98/3,34
C-HE ₂₄	2,52/4,12	2,42/3,47	0,05/0	4,99/7,59	2,00/3,04

* O símbolo C-HAHE corresponde ao uso das cascas de banana (C) submetidas à hidrólise ácida (HA), seguido de hidrólise enzimática (HE). O símbolo C-HE corresponde ao uso de cascas submetidas apenas à hidrólise enzimática. Os números seqüenciais em subscrito na identificação de cada um dos ensaios correspondem ao tempo de hidrólise enzimática, expresso em h.

** Resultados separados por barras representam a repetição do ensaio, realizada com novo lote de resíduo.

O uso da hidrólise enzimática com pré-tratamento dos resíduos resultou em rendimentos em AT muito próximos daqueles obtidos com o uso apenas da hidrólise ácida, sem hidrólise enzimática (Tabelas 9 e 10). Os valores de rendimento em AT foram, na verdade, inferiores aos obtidos anteriormente; porém, convém ressaltar que antes da hidrólise enzimática as misturas foram submetidas à neutralização ácida com carbonato de bário o que pode ter conduzido a uma significativa alteração da composição da mistura.

O uso da hidrólise enzimática sem pré-tratamento conduziu a ganho percentual muito baixo em AT em comparação aos resíduos *in natura*. Em comparação aos resíduos *in natura* (Tabelas 11 e 12), o ganho percentual em AT devido à HE foi inferior a 2 pontos percentuais para ambos os substratos.

Portanto, com base nestes resultados, ambos os processos de hidrólise enzimática (HAHE e HE) não são recomendados para a despolimerização da polpa ou das cascas da banana madura.

Em relação aos testes até aqui realizados, inclusive os de hidrólise ácida, recomenda-se o uso de ambos os resíduos *in natura* para o processo fermentativo subsequente. Caso se deseje realizar a fermentação alcoólica apenas do caldo filtrado, o cozimento prévio dos resíduos para a solubilização dos açúcares livres é recomendado.

5.3 ENSAIOS DE FERMENTAÇÃO

5.3.1 Ensaios em frascos Erlenmeyer – Ensaios E

A Tabela 13 apresenta os resultados obtidos nas fermentações alcoólicas preliminares realizadas em frascos Erlenmeyer de 250 mL empregando como substratos a glicose (EG₁) e a polpa de banana *in natura* (EPol₁). Nestes primeiros ensaios de fermentação o microrganismo empregado na obtenção do inóculo foi o proveniente direto do fermento comercial seco da marca Fleischmann® (5 g L⁻¹), sem cultivo de manutenção.

Tabela 13 – Valores de pH, concentrações de açúcares totais (AT) e de etanol (P) e respectivos valores de rendimento observados na fermentação alcoólica realizada em frascos Erlenmeyer. Ensaio com microrganismo proveniente diretamente de fermento comercial.

Ensaio	Parâmetro	Tempo de fermentação (h)				Y _{P/AT} (g/g)
		0	2	4	6	
EG ₁	pH	5,01	4,96	4,80	4,74	0,20
Glicose (ensaio padrão)	AT (g L ⁻¹)	21,64	12,86	0,27	0	
	P (g L ⁻¹)	1,53	2,35	4,38	5,96	
EG ₁ (duplicata)	pH	5,03	4,90	4,81	4,68	0,20
Glicose (ensaio padrão)	AT (g L ⁻¹)	20,93	13,27	1,09	0	
	P (g L ⁻¹)	1,43	2,39	3,96	5,57	
EPol ₁	pH	4,74	4,65	4,41	4,12	0,19
Polpa <i>in natura</i>	AT (g L ⁻¹)	32,77	21,57	2,27	0	
	P (g L ⁻¹)	0,84	1,79	3,06	7,08	
EPol ₁ (duplicata)	pH	4,70	4,64	4,43	4,10	0,18
Polpa <i>in natura</i>	AT (g L ⁻¹)	34,09	29,42	2,19	0	
	P (g L ⁻¹)	0,79	1,66	3,28	6,92	

Devido ao baixo rendimento em etanol (provável causa: tipo de cepa empregada) o Ensaio EG₁ foi reavaliado com outro isolado de *Saccharomyces cerevisiae*, proveniente do Laboratório de Microbiologia da Univille (origem desconhecida). A Tabela 14 apresenta os resultados obtidos com esta nova cepa empregando a glicose como único substrato de fermentação (Ensaio EG₂).

Tabela 14 – Valores de pH, concentrações de açúcares totais (AT) e de etanol (P) e respectivos valores de rendimento observados na fermentação alcoólica realizada em frascos Erlenmeyer. Ensaios com cepa Univille.

Ensaio	Parâmetro	Tempo de fermentação (h)				Y _{P/AT} (g/g)
		0	2	4	6	
EG ₂	pH	4,86	4,60	4,45	4,38	
Glicose (ensaio padrão)	AT (g L ⁻¹)	14,77	12,24	0,48	0	0,44
	P (g L ⁻¹)	1,89	2,77	7,98	8,47	
EG ₂ (duplicata)	pH	4,87	4,75	4,39	4,47	
Glicose (ensaio padrão)	AT (g L ⁻¹)	15,42	10,75	2,08	0	0,42
	P (g L ⁻¹)	1,25	3,45	7,89	8,06	
EG ₂ (triplicata)	pH	4,90	4,85	4,59	4,57	
Glicose (ensaio padrão)	AT (g L ⁻¹)	15,25	9,02	0,82	0	0,46
	P (g L ⁻¹)	1,47	2,92	7,25	8,49	
Média ± desvio padrão					0,43±0,028	

A partir destes ensaios, em todas as fermentações realizadas foi empregada a cepa do Laboratório de Microbiologia da Univille.

A Tabela 15 mostra os valores de rendimento alcançados na fermentação da polpa e também das cascas com a nova cepa.

Tabela 15 – Ensaio fermentação alcoólica realizada em frascos Erlenmeyer com resíduo de polpa e cascas *in natura*, valores de concentrações de açúcares totais (AT) e de etanol (P) e respectivos valores de rendimento.

Ensaio	Parâmetro	Tempo de fermentação (h)				Y _{P/AT} (g/g)
		0	2	4	6	
EPol ₂₅₀	pH	4,74	4,65	4,41	4,12	0,38
	AT (g L ⁻¹)	40,71	27,33	10,24	0	
	P (g L ⁻¹)	1,68	3,58	6,12	17,25	
EPol ₂₅₀ (duplicata)	pH	4,70	4,64	4,43	4,10	0,38
	AT (g L ⁻¹)	41,61	34,81	17,93	0	
	P (g L ⁻¹)	1,58	3,33	6,56	17,52	
ECas ₂₅₀	pH	6,04	5,90	5,84	5,68	0,38
	AT (g L ⁻¹)	7,15	4,35	3,05	0	
	P (g L ⁻¹)	1,02	1,55	1,91	3,77	
ECas ₂₅₀ (duplicata)	pH	6,02	5,91	5,85	5,67	0,32
	AT (g L ⁻¹)	8,13	4,70	3,18	0	
	P (g L ⁻¹)	0,89	1,04	1,74	3,47	
ECas ₃₇₅	pH	-	-	-	-	0,40
	AT (g L ⁻¹)	16,5	-	-	0	
	P (g L ⁻¹)	1,99	-	-	8,65	
ECas ₃₇₅ (duplicata)	pH	-	-	-	-	0,41
	AT (g L ⁻¹)	17,52	-	-	0	
	P (g L ⁻¹)	1,52	-	-	8,67	

A partir dos dados das Tabelas 14 e 15 calcularam-se os valores de rendimento em etanol, produtividade e eficiência para todos os ensaios realizados. A Tabela 16 apresenta as médias e desvios destes valores.

Tabela 16 – Análise estatística, médias e desvios-padrões dos resultados, do rendimento de etanol ($Y_{P/AT}$), produtividade total (Q_P) e eficiência em relação ao rendimento máximo teórico (ϵ) da fermentação alcoólica realizada em frascos Erlenmeyer com resíduo de polpa e cascas *in natura*.

Ensaio / Parâmetro	EG ₂ ^{(a) *}	EPol ₂₅₀ ^{(b) *}	ECas ₂₅₀ ^{(c) *}	ECas ₃₇₅ ^{(d) *}
$Y_{P/AT}$ (g g ⁻¹)	0,44±0,02 d	0,38±0,03 c	0,35±0,04 b,d	0,405±0,007 a,c
Q_P (g L ⁻¹ h ⁻¹)	1,13±0,04 d	2,62±0,04	0,44±0,01	1,15±0,06 a
ϵ (%)	86,09±3,91 d	74,35±0 c	68,48±8,30 b,d	79,24±1,38 a,c

* Letras iguais a letras de cada ensaio, demonstram médias sem diferença significativa pelo de Tukey, com nível de significância de 5% (ANOVA).

De acordo com a análise estatística utilizada, não houve diferença significativa entre os valores de rendimento em etanol para os quatro ensaios realizados. No entanto, devido à baixa concentração de AT observada nas fermentações dos resíduos (Tabela 15), principalmente em relação às cascas (ECas), com conseqüente formação de reduzida concentração de produto, torna-se necessário a busca de novos métodos de preparação do mosto capazes de aumentar essas variáveis.

O simples aumento da concentração de cascas de 250 (ensaio ECas₂₅₀) para 375 g MU L⁻¹ (ensaio ECas₃₇₅) foi realizado com esse objetivo. Com isto, obteve-se praticamente o dobro de P no caldo fermentado (Tabela 15), quando na verdade se esperava um aumento de 50 %, proporcional ao aumento do substrato. A diferença entre os lotes do resíduo utilizados em cada um dos ensaios pode ter proporcionado este fato. Não foi possível utilizar maior valor de concentração de cascas devido à formação de uma mistura de difícil homogeneização para a fermentação em frascos Erlenmeyer.

Visando evitar-se a formação dessa massa espessa foi realizado um teste de extração do açúcar do resíduo através do seu cozimento prévio (120 °C por 15 min) seguido de filtração simples em tecido de algodão. A Tabela 17 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 17 – Resultados do teste de extração do açúcar. Concentração de cascas de bananas, glicose, frutose e sacarose.

Condição Experimental (resíduo/H ₂ O)	Concentração (g MU L ⁻¹)	Glc (g L ⁻¹)	Frut (g L ⁻¹)	Scr (g L ⁻¹)	AT (g L ⁻¹)
400gMU/50mL	2761,96	9,40	10,17	11,00	30,57
400gMU/100mL	1725,15	8,31	8,97	9,82	27,10
400gMU/150mL	1445,32	7,48	7,82	12,24	27,54
400gMU/200mL	1210,28	7,10	7,46	10,82	25,37

Conforme pode ser observado na Tabela 17, a concentração de AT no caldo filtrado não apresentou uma proporção constante com a concentração do resíduo empregado na extração. Com o uso de menor volume de água foi possível observar a ausência de água livre na mistura antes e após o cozimento, deixando evidente que o volume de água utilizado não foi suficiente para saturar o resíduo. A presença de água livre foi observada somente com o uso de 200 mL de água para 400 g MU de resíduo.

A concentração de AT (25,37 g L⁻¹) alcançada com o uso de 1210 g MU L⁻¹, foi da ordem de 4 a 5 vezes maior do que aquela obtida com 250 g MU L⁻¹ (5,8 ± 1,7 g L⁻¹, conforme dados das Tabelas 10 e 12: Ensaio *in natura*).

A fermentação do caldo filtrado após cozimento das cascas foi realizado apenas em biorreator de bancada.

5.3.2 Ensaio em biorreator de bancada – Ensaio F

Após a fermentação em frascos Erlenmeyer foram realizadas ampliações de escala para ensaios em biorreator de bancada, visando maior controle operacional e estudo cinético do processo. Inicialmente foi realizado a fermentação padrão com glicose e em seguida os ensaios com polpa nas concentrações de 250 (FPol₂₅₀), 375 (FPol₃₇₅) e 500 g MU L⁻¹ (FPol₅₀₀). Com as cascas de banana foi realizada a fermentação somente na concentração de 1210 g MU L⁻¹ (FCasI₁₂₁₀). A Figura 11 apresenta a cinética de consumo de glicose e de crescimento celular para o ensaio padrão. As Tabelas contendo os resultados experimentais utilizados na construção dessas figuras são apresentados no Apêndice C.

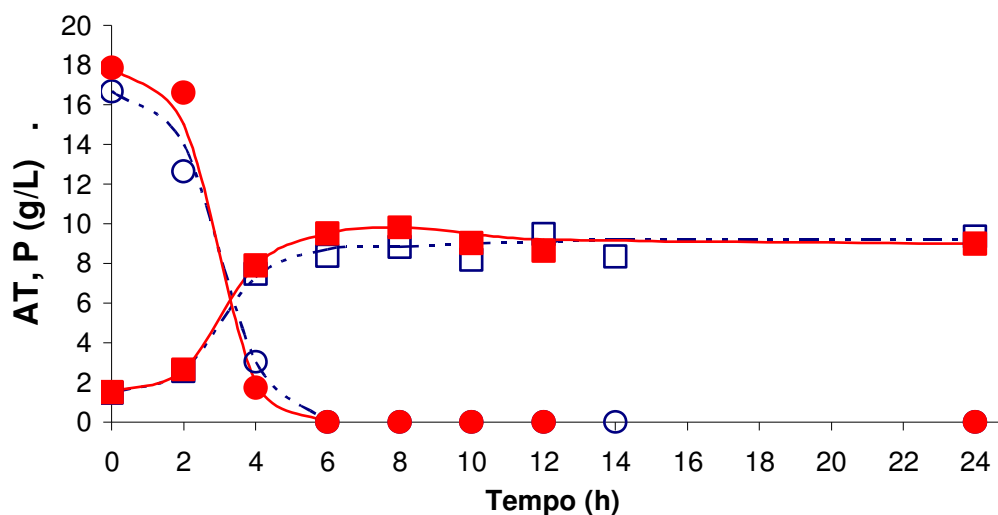


Figura 11 – Cinética do consumo de açúcares totais (AT = glicose) e produção de etanol (P) observada na fermentação conduzida em biorreator de bancada. Ensaio Padrão.

Conforme pode ser observado na Figura 11, o tempo de fermentação (h) necessário para o consumo total da glicose no ensaio padrão em biorreator foi de apenas 6 h. Em trabalho recente, Palmarola-Adrados *et al.* (2005) necessitaram de 20 h de fermentação para o consumo de 30 g L^{-1} de glicose. Além da concentração inicial de glicose no meio de fermentação, a diferença no tempo de fermentação foi incrementada pelo tipo de inóculo empregado em cada um dos trabalhos. Enquanto esses autores utilizaram *S. cerevisiae* proveniente de fermento comercial para uma concentração inicial de células no meio de fermentação (X_0) de 10 g MS L^{-1} , neste trabalho foi empregado 20% v/v de inóculo previamente cultivado durante 18 h no mesmo tipo de meio do mosto de fermentação (Apêndice A). Apesar de o inóculo cultivado conduzir ao menor valor de X_0 no caldo de fermentação ($X_0 = 1,6 \text{ g MS L}^{-1}$) os microrganismos empregados, além de estarem adaptados ao meio de cultivo, o que conduziu à uma provável redução da fase lag de crescimento (fase de adaptação), se encontravam em condições fisiológicas de máxima concentração celular, conforme pode ser verificado no Apêndice A.

Nas figuras 12, 13 e 14 pode-se observar o perfil cinético das fermentações realizadas com a polpa de banana nas concentrações de 250, 375 e 500 g MU L^{-1} , respectivamente.

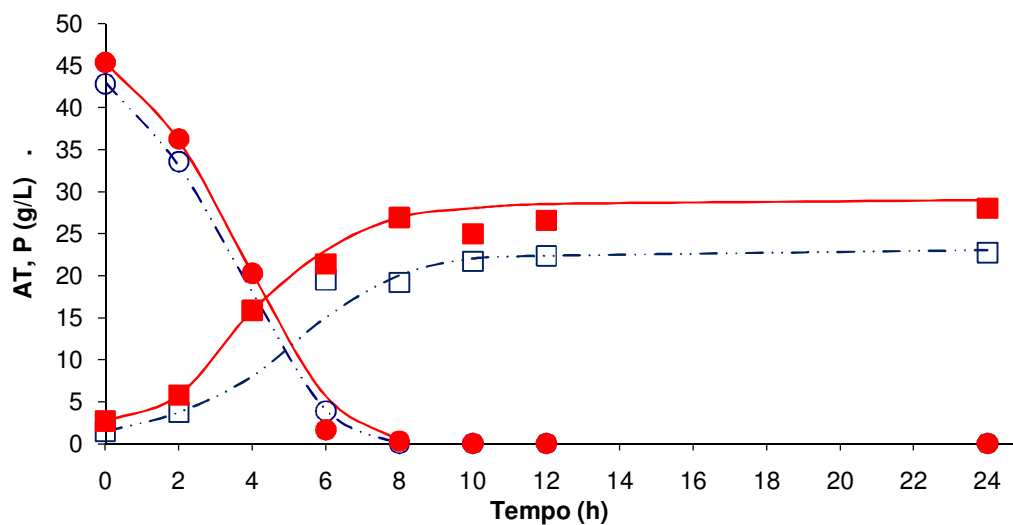


Figura 12 – Cinética do consumo de açúcares totais (AT = glicose + frutose + sacarose) e produção de etanol (P) observada na fermentação conduzida em biorreator de bancada. Ensaio FPol₂₅₀ contendo 250 g MU L⁻¹ de polpa como substrato.

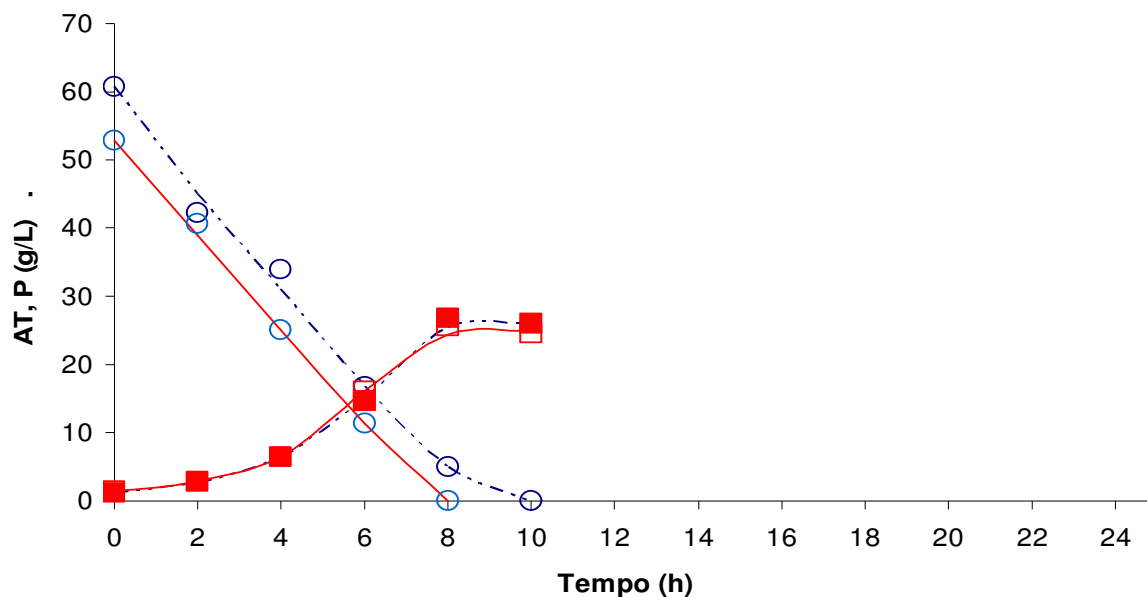


Figura 13 – Cinética do consumo de açúcares totais (AT = glicose + frutose + sacarose) e produção de etanol (P) observada na fermentação conduzida em biorreator de bancada. Ensaio FPol₃₇₅ contendo 375 g MU L⁻¹ de polpa como substrato

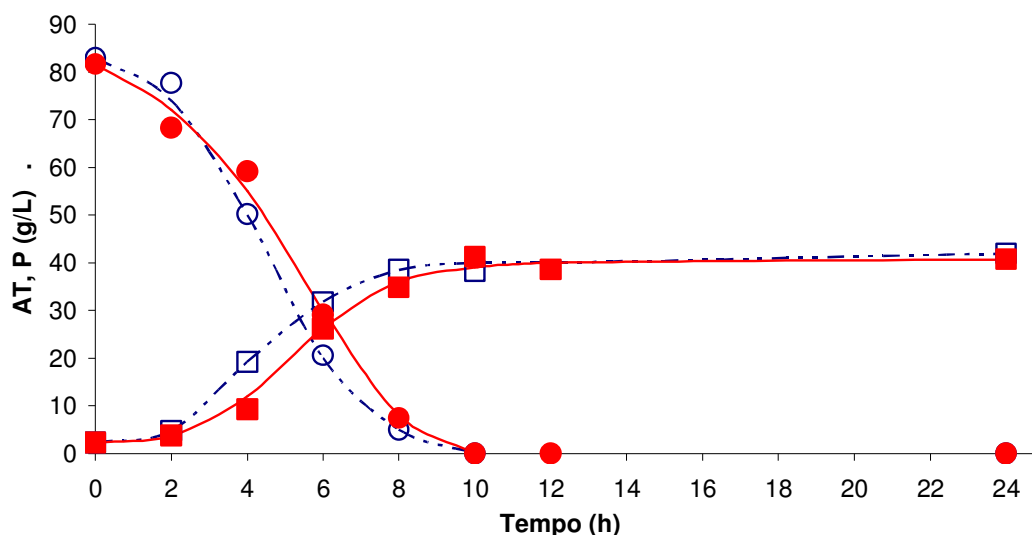


Figura 14 – Cinética do consumo de açúcares totais (AT = glicose + frutose + sacarose) e produção de etanol (P) observada na fermentação conduzida em biorreator de bancada. Ensaio FPol₅₀₀ contendo 500 g MU L⁻¹ de polpa como substrato.

No ensaio FPol₂₅₀ (Figura 12) o tempo necessário para consumo total do substrato foi de 8 horas, com produção média de etanol de 23,5±5,2 g L⁻¹ a partir de uma concentração inicial média de AT de 44,1±1,8 g L⁻¹.

No ensaio contendo 375 g L⁻¹ de polpa (Figura 13) a concentração final média do produto no caldo fermentado foi de 25,3±1,1 g L⁻¹ consumindo totalmente o AT disponibilizado (56,8±5,6 g L⁻¹) até 9 h de fermentação.

Para 500 g L⁻¹ deste substrato (Figura 14) a concentração inicial média de açúcares totais foi de 82,3±0,9 g L⁻¹ com uma produção de etanol de 40,0 g L⁻¹, com tempo final de fermentação de 10 h.

De uma maneira global, pode-se observar que o aumento da concentração de polpa conduziu ao aumento da velocidade de consumo de AT. Ao dobrarmos o seu valor de 250 para 500 g L⁻¹ essa variável cinética passou de 5,5 para 8,2 g L⁻¹ h⁻¹. No entanto, esse tipo de comportamento não refletiu na produtividade e nem no rendimento dos processos, conforme discutido mais adiante.

A Figura 15 apresenta a cinética de fermentação das cascas de banana na concentração de 1210 g MU L⁻¹).

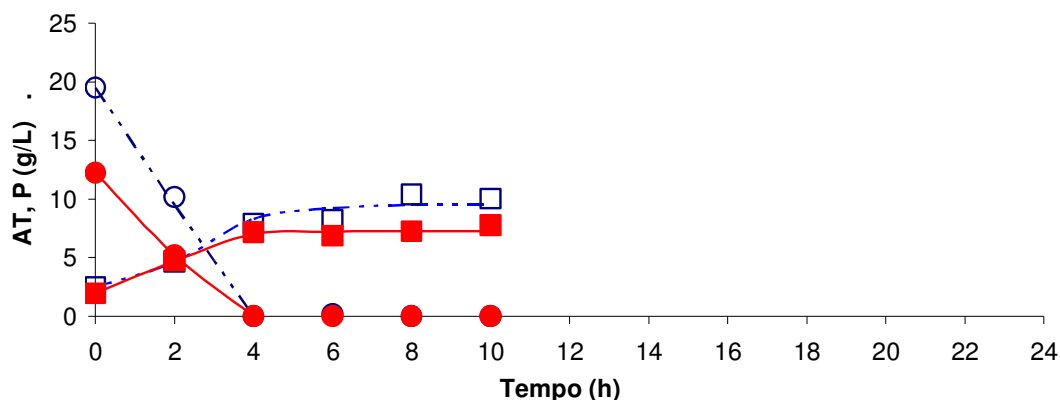


Figura 15 – Cinética do consumo de açúcares totais (AT = glicose + frutose + sacarose) e produção de etanol (P) observada na fermentação conduzida em biorreator de bancada. Ensaio FCas₁₂₁₀ contendo 1210 g MU L⁻¹ de cascas de banana nanica como substrato.

Com o uso de cascas em alta concentração (1210 g L⁻¹) foram alcançados nas fermentações de biorreator, concentrações iniciais de açúcares de 19,51 e 12,24 g L⁻¹ e uma produção de etanol na ordem de 7,88 e 7,15 g L⁻¹, respectivamente. A diferença de 59% entre os valores iniciais de AT nas repetições foi devida, principalmente, a dois fatores: dificuldades operacionais no processo de extração do açúcar (filtração) e diferença entre os lotes de resíduos utilizados (diferença no estado de maturação da fruta). Convém salientar que todas as fermentações em biorreator, incluindo as suas duplicatas, foram realizadas em diferentes datas e utilizando diferentes lotes de resíduos.

5.3.3 Rendimento em etanol, produtividade e eficiência do processo.

A partir das Figuras 11 a 15, calcularam-se os valores de rendimento em etanol, produtividade e eficiência de cada um dos processos avaliados. A Tabela 18 apresenta esses valores.

Tabela 18 – Análise estatística, médias e desvio dos resultados de rendimento de etanol ($Y_{P/AT}$), produtividades totais (Q_P) e eficiência em relação ao rendimento máximo teórico (ϵ) da fermentação alcoólica realizada em biorreator de bancada com resíduo de polpa e cascas *in natura*.

Ensaio / Parâmetro	FG ^(a) *	FPOl ₂₅₀ ^(b) *	FPOl ₃₇₅ ^(c) *	FPOl ₅₀₀ ^(d) *	Fcas ₁₂₁₀ ^(e) *
$Y_{P/AT}$ (g g ⁻¹)	0,425±0,02 b,c,d,e	0,54±0,07 a,c,d,e	0,43±0,03 a,b,d,e,	0,47±0,03 a,b,c,e	0,34±0,11 a,b,c,d
Q_P (g L ⁻¹ h ⁻¹)	1,24±0,13 b,e	2,62±0,58 a,c,d,e	2,75±0,37 b,d	3,75±0,21 b,c	1,32±0,03 a,b
ϵ (%)	83,15±4,15 b,c,d,e	105,65±13,84 a,c,d,e	85,11±6,91 a,b,d,e	92,94±6,92 a,b,c,e	67,50±20,75 a,b,c,d

* Letras iguais à letras de cada ensaio, demonstram médias sem diferença significativamente pelo método de Tukey, com nível de significância de 5% (ANOVA).

De acordo com a análise estatística dos parâmetros apresentados na Tabela 18, pode-se verificar que não houve diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os rendimentos em etanol ($Y_{P/AT}$) e a eficiência do processo (ϵ) obtidos em cada um dos ensaios realizados. Especificamente em relação à polpa de banana, constata-se que não houve influência da concentração inicial do resíduo sobre $Y_{P/AT}$. Mesmo tipo de comportamento ocorreu com o parâmetro produtividade total (Q_P). Portanto, nas condições experimentais empregadas, os valores de $Y_{P/AT}$ e Q_P não foram afetados pela quantidade de resíduo utilizada. A escolha da concentração ideal deste resíduo dependerá de alguns fatores, tais como: fluidez da mistura e análise do seu efeito sobre o consumo de energia para a sua homogeneização (no caso de sistema agitado), custo da matéria-prima, rendimento do processo de extração do produto do caldo fermentado (filtração e destilação), quantidade de matéria residual gerada ao longo de todo o processo de obtenção do produto final.

Mesmo tipo de análise pode ser feita para o uso das cascas de banana na concentração de 1210 g MU L⁻¹. Entretanto, para melhor análise faz-se necessário a realização da fermentação em biorreator com valores abaixo e acima de 1210 g MU L⁻¹. Cabe lembrar que, para concentrações maiores do que esta há o problema da dificuldade de extração do açúcar, conforme citado anteriormente. Este problema precisa ser primeiramente resolvido antes de novos experimentos a altas concentrações.

Empregando os resíduos polpa e cascas de banana *Musa sp.* no estado de maturação normal para consumo humano, Hammond *et al.* (1996) obtiveram

rendimento médio em etanol de 0,116 e 0,019 L kg⁻¹ MU, respectivamente. Os autores não apresentaram a concentração inicial de resíduo no caldo de fermentação e nem a de açúcares. Considerando densidade do etanol de 789 g L⁻¹ a 20 °C (Perry *et al.*, 1980) esses valores corresponderam a 91,5 e 15,0 g kg⁻¹ MU. Em relação ao ensaio com 0,250 kg L⁻¹ de polpa (FPol₂₅₀), apresentado na Tabela 18 (0,54 g g⁻¹ AT, correspondente a 95,3 g kg⁻¹ MU para a concentração média inicial de AT no caldo de 44,1 g L⁻¹) o valor obtido por Hammond e colaboradores foi semelhante. Entretanto, para o caso das cascas, o rendimento em etanol obtido pelos pesquisadores foi da ordem de 133 % maior do que o observado neste trabalho (Tabela 18, FCas₁₂₁₀, Y_{P/AT} = 0,34 g g⁻¹ AT ou Y_{P/MU} 4,5 g kg⁻¹ MU).

Sharma *et al.* (2007) empregaram uma mistura de cascas de banana *Musa sp.* e cascas de tangerina, ambas secas e moídas para granulometria máxima de 40 mesh e obtiveram rendimento máximo de 0,426 g g⁻¹ AT; valor esse, próximo ao deste trabalho.

Manikandan *et al.* (2008) utilizando somente as cascas de banana secas e moídas, hidrolisaram previamente o resíduo com ácido sulfúrico e alcançaram concentração máxima de bioetanol no caldo fermentado igual a 9,8 g L⁻¹ para uma concentração de 100 g L⁻¹ de resíduo, ou seja, 0,098 g g⁻¹ MS. Considerando teor de umidade de 7,8 g H₂O g⁻¹ MS, o rendimento em base úmida de resíduo foi de Y_{P/MU} = 11,1 g kg⁻¹ MU, ou seja 2,5 vezes maior do alcançado com as cascas de banana *in natura* empregadas neste trabalho. No trabalho de Manikandan e colaboradores, não foi especificado o estado de maturação das cascas (frutas); no entanto, acredita-se que em função do uso da hidrólise ácida, trata-se de cascas verdes pois estas são ricas em amido, conforme Monsalve *et al.* (2006).

Analisando os resultados de rendimento e produtividade em bioetanol da fermentação da polpa e das cascas de banana madura em comparação a outros resíduos, pode-se verificar que ambos são promissores, principalmente para a polpa de banana cujos valores se aproximam daqueles obtidos com o caldo da cana-de-açúcar. A Tabela 19 apresenta essas comparações.

Tabela 19 – Valores de rendimento e produtividade em bioetanol, obtidos em fermentações com diferentes tipos de substratos.

Fonte de carbono	$Y_{P/AT}$ (g g ⁻¹)	Q_P (g L ⁻¹ h ⁻¹)	Referência
cana-de-açúcar	0,43	3,4	Ribeiro e Horii, 1999
bagaço de maçã	0,44	0,51	Nogueira <i>et al.</i> , 2005
farelo de trigo	0,38	1,92	Palmarola-Adrados <i>et al.</i> , 2005
cavacos de madeira	0,4	0,67	Sassner <i>et al.</i> , 2006
farelo de mandioca	0,39	-	Ferreira <i>et al.</i> , 2006
mel	0,41	0,75	Ilha <i>et al.</i> , 2008
polpa de banana	0,48	3,04	Este trabalho, valor médio da Tabela 18
cascas de banana	0,34	1,32	Este trabalho, ECas ₁₂₁₀ , Tabela 18

Conforme pode ser observado na Tabela 19, o uso de polpa de banana como substrato de fermentação conduziu à produtividade superior à aquela dos demais substratos empregados, inclusive em relação à cana-de-açúcar. Ribeiro e Horii (1999) empregaram a cana-de-açúcar para uma concentração de 130 g L⁻¹ de sacarose e obtiveram, aproximadamente, 55 g L⁻¹ de bioetanol (7% v/v) após 16 h de fermentação, enquanto que neste trabalho, para o caso da polpa de banana, foi empregado o valor médio de 61,1 g L⁻¹ de açúcar e obtido, em média, a concentração final de 29,8 g L⁻¹ de bioetanol após 8 h de processo. Esta diferença na concentração de bioetanol no caldo fermentado precisa ser avaliada com cuidado pois poderá implicar em diferenças significativas nos custos de purificação do produto. Os estudos do processo de destilação do bioetanol estão em fase inicial de desenvolvimento.

CONCLUSÕES

- ✓ O uso da hidrólise ácida como pré-tratamento dos rejeitos da bananicultura conduziu à obtenção de caldo contendo açúcares totais de 60 a 80 g AT L⁻¹ para a polpa e de 8 a 12 g AT L⁻¹ para as cascas. No entanto, devido aos baixos valores de ganhos percentuais em AT (8 a 12% e 1 a 2%, respectivamente), em relação aos substratos da banana madura *in natura*, não se recomenda o uso da hidrólise da polpa ou das cascas para a fermentação alcoólica.
- ✓ Nas condições operacionais de fermentação utilizadas neste trabalho, o aumento da concentração inicial da polpa de banana *in natura* de 250 para 500 g L⁻¹ não conduziu a um incremento no rendimento e produtividade em etanol.
- ✓ O uso de 500 g L⁻¹ de polpa de banana *in natura* gerou dificuldades operacionais no preparo do mosto de fermentação, principalmente em relação à homogeneização da mistura devido à formação de espumas. Para esta concentração é necessário o uso de anti-espumante durante a fermentação.
- ✓ Como a quantidade de bioetanol produzida a partir da polpa de banana teve a mesma proporção para todos os ensaios realizados com diferentes concentrações de açúcares totais, a indicação da concentração ideal de substrato fica dependente de uma análise econômica detalhada de todo o processo, incluindo-se aqui o processo de extração e purificação do etanol.
- ✓ O emprego da polpa de banana como substrato de fermentação é uma alternativa bastante atraente do ponto de vista do aproveitamento e valorização de rejeitos da cultura. A polpa de banana mostrou ter alto potencial para uso na produção de etanol podendo ser comparada à produção de etanol a partir da cana-de-açúcar, com rendimento e produtividade máximas obtidas neste trabalho da ordem de 0,54±0,07 g g⁻¹ e 3,75±0,21 g L⁻¹h⁻¹, respectivamente.

- ✓ Para o emprego das cascas de banana como único substrato de fermentação faz-se necessários novos estudos para o aumento da concentração de açúcares totais no caldo. O uso de cascas previamente secas e moídas pode ser uma alternativa.

- ✓ Por ser uma fruta sazonal e ter conseqüentes oscilações de disponibilidade no campo e preço no mercado, o uso da banana como único substrato de fermentação poderia provocar a redução da produção de etanol ou mesmo a interrupção de uma unidade industrial. Recomenda-se a busca de substratos alternativos à polpa de banana para esses períodos.

SUGESTÕES PARA CONTINUIDADE DO TRABALHO

- a) Avaliar o uso da banana verde na produção de bioetanol de modo a aproveitar o rejeito do fruto após o seu corte e seleção.
- b) Testar o emprego das cascas de banana em pó como único substrato de fermentação visando ao aumento da concentração inicial de açúcares no caldo
- c) Determinar para a levedura utilizada neste trabalho, a sua tolerância ao etanol e a sua capacidade de fermentar altas concentrações de açúcares. Buscar no mercado uma levedura com estas características de modo a comparar essas potencialidades.
- d) Avaliar o rendimento e a produtividade do processo com o uso dos resíduos *in natura*, sem o acréscimo de nutrientes no caldo de fermentação.
- e) Determinar os parâmetros produtivos para o uso integral da fruta, sem a separação de polpa e cascas.
- f) Realizar ensaios de extração do etanol (destilação) do caldo fermentado e determinar a quantidade total de resíduo gerado ao longo de todo o processo produtivo, do preparo do mosto à purificação do produto.
- g) Fazer análise econômica do processo.
- h) Avaliar o comportamento do processo produtivo em escala piloto.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, C. O. **Livro da Banana - Sócio economia**. Disponível em:
<<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia40/AG01/Abertura.html>.>
Acesso em: junho. 2010.

ALZATE, C.; TORO, A.C; SÁNCHEZ O.J. **Energy consumption analysis of integrated flowsheets for production of fuel ethanol from lignocellulosic biomass**, Energy, n°31, p. 2447-2459, 2006.

AMORIM, H. V. **Fermentação Alcoólica: Ciência & Tecnologia**. Piracicaba, Fermentec, 2005.

ANFAVEA- Associação Nacional dos Fabricantes de Veículos Automotores. **Vendas Atacado Mercado Interno por Tipo e Combustível** Disponível em:
<<http://www.anfavea.com.br/tabelas.html>.> Acesso em: Julho. 2010.

ANDRIETTA, M. G. S.; STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, S.R. Bioálcool- Brasil, 30 anos na vanguarda, **Multiciência- construindo a história dos produtos naturais**, 2006; Disponível em
<http://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_02_7.pdf.> Acesso em: junho. 2010.

ANEEL - Agência Nacional de Energia Elétrica. **Atlas de energia elétrica do Brasil**. 3. ed. Brasília: Aneel, 2008.

ANP- Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Bicomcombustíveis. Disponível em:
<www.anp.gov.br>. Acesso em: maio. 2010.

APTA- Agencia Paulista de tecnologia dos Agronegócios, Governo do Estado de São Paulo, **Workshop hidrólise de material lignocelulósico- relatório final.**

Disponível em:

[<http://www.apta.sp.gov.br/cana/anexos/Relatorio_Workshop_Hidrolise.pdf.>](http://www.apta.sp.gov.br/cana/anexos/Relatorio_Workshop_Hidrolise.pdf)

Acesso em: novembro. 2009.

AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. **Biotecnologia: alimentos e bebidas produzidos por fermentação.** São Paulo: Edgard Blücher, 1983.

ARREDONDO, H.I.V.; COLORADO, R. A.; OLIVEIRA, S. **Ethanol Production from Banana Fruit and its Lignocellulosic Residues: Exergy and Renewability Analysis.** Int. J. of Thermodynamics v. 12, n.º. 3, p. 155-162, 2009.

ARROYO-LÓPEZ, F. N.; ORLIC, S.; QUEROL, A.; BARRIO, E. **Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth parameters of *Saccharomyces cerevisiae*, *S. kudriavzevii* and their hybrid.** International Journal of Food Microbiology, v. 131, p. 120-127, 2009.

BAIG, M. M. V. **Cellulolytic enzymes of trichoderma lignorum produced on banana agro-waste: optimization of culture medium and conditions.** Journal of Scientific and Industrial Research v. 64, p.57-60,2005.

BAJAY, S. E FERREIRA, A. **A Energia da Biomassa no Brasil.** In ROSILLO-CALE, BAJAY E ROTHMAN (org) “Uso da Biomassa para Produção de Energia na Indústria Brasileira”. Campinas, São Paulo. Editora da UNICAMP, 2005.

BALLESTEROS, M.; OLIVA, J.M.; NEGRO, M.J. P. MANZANARES, P.; BALLESTEROS, I. **Ethanol from lignocellulosic materials by a simultaneous saccharification and fermentation process (SFS) with *Kluyveromyces marxianus* CECT 10875.** Process Biochemistry, v. 39, p. 1843-1848, 2004.

BASTOS; V. D. **Etanol, alcoolquímica e biorrefinarias**, Banco Nacional de Desenvolvimento e Economia Social- BNDES, Rio de Janeiro, 2007. Disponível em: <<http://www.bndes.gov.br/conhecimento/bnset/set2501.pdf>.> Acesso em: janeiro. 2010.

BORGES, A. L.; SOUZA, L. da S. (Ed.). **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004.

BRAGA, V. S. **A influência da temperatura na condução de dois processos fermentativos para produção de cachaça**. 2006. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

BROOKS, A. A. **Ethanol production potential of local yeast strains isolated from ripe banana peels**. African Journal of Biotechnology v. 7, p. 3749-3752, 2008.

BUDNY, D.; SOTERO, P. **The global dynamics of biofuels**. Brazil Institut Special Report, v. 3, 2007.

CAMPO, I. D.; ALEGRÍA, I.; ZAZPE, M.; ECHEVERRIA, M.; ECHEVERRIA, I. **Diluted acid hydrolysis pretreatment of agri-food wastes for bioethanol production**, Industrial Crops and Products, v. 24, p. 214–221, 2006.

CEPA – Centro de Socieconomia e Planejamento Agrícola, Epagri, governo do estado de Santa Catarina. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina – 2008-2009**. Disponível em: <www.cepa.epagri.sc.gov.br/Publicacoes/sintese_2009/banana_2010.pdf.> Acesso em: junho. 2010.

CONAB – Companhia Nacional do Abastecimento, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abatecimento. **1º Levantamento de cana-de-açúcar 2010**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/344b55c90f6d37e3beca41418e5df0e5..pdf>.> Acesso em: 2010.

CORTEZ, L.A.B; LORA, E.E.S.; AYARZA, J.A.C. **Biomassa no Brasil e no mundo**. In: CORTEZ, L.A.B; LORA, E.E.S.; GOMEZ, E.O. (org). "Biomassa para energia". Campinas, São Paulo. Editora da UNICAMP, 2008.

COURI; S. **Processo enzimático na produção de etanol, a partir de celulose**, Revista Opiniões sobre o setor de florestas plantadas, julho-agosto 2008. Disponível em: <http://revistaopinioes.com.br/cp/materia.php?id=236> Acesso em: 2008.

DAWSON, L.; BOOPATHY, R. Use of post-harvest sugarcane residue for ethanol production. **Bioreseource Technology**, 98:1695-1699, 2007.

DERMIRBAS, A. **Biofuels- Green Energy and Technology**, London: Springer-Verlag, 2009.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Agência de informação Embrapa: Banana**. Brasília. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia40/AG01/Abertura.html>.> Acesso em: julho. 2009.

FEDERIZZI, M. **Potencialidade do uso de resíduos lignocelulósicos da bananicultura como substrato de fermentação do processo de metanização**. 2008. 111 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) - Universidade da Região de Joinville, Joinville.

FERNANDES, A. P. F. V. **Leveduras isoladas de produtos frutícolas: capacidade fermentativa e estudos sobre a H⁺-ATPase da membrana plasmática**. 2008. 201 f. Dissertação (Doutorado em Biologia) - Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.

FERREIRA, G. B.; MELO, V. V. ; LOPES, F. L. G.; SOUZA, R. R. ; SANTANA, J. C. C.; TAMBOUGI, E. B. **Produção de álcool a partir da hidrólise do amido de mandioca por amilases do malte de milho**. SODEBRAS, 2006.

FINGUERUT, J.; MEIRELLES, A.J.A.; GUIRARDELLO, R.; COSTA, A.C. **Fermentação, hidrólise e destilação**. In: CORTEZ, L.A.B; LORA, E.E.S.; GOMEZ, E.O. (org). "Biomassa para energia". Campinas, São Paulo. Editora da UNICAMP, 2008.

GAVA, A. J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. 7. ed. São Paulo: Editora Nobel, 1984.

GUTIERREZ, L. E. **Produção de alcoóis superiores por linhagens de *saccharomyces* durante a fermentação alcoólica**. Sci. Agric., vol. 50, p. 464- 472, 1993.

HALL, D. O.; HOUSE, J. I.; SCRASE, I. **Visão geral de energia e biomassa**. In ROSILLO-CALE, BAJAY E ROTHMAN. "Uso da Biomassa para Produção de Energia na Indústria Brasileira". Campinas, São Paulo. Editora da UNICAMP, 2005.

HAMMOND, J. B., EGG, R., DIGGINS, D., COBLE, C.G., **Alcohol from bananas**. Bioresource Technology, v.56, p.125-130, 1996.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: agosto 2009.

IEA - INTERNATIONAL ENERGY AGENCY, **World Energy Outlook 2007**; 2007; disponível em: < http://www.iea.org/textbase/nppdf/free/2007/weo_2007.pdf> Acesso em: abril. 2010.

IEA - INTERNATIONAL ENERGY AGENCY, **Biofuels for Transport- An International Perspective** ; 2004; disponível em: <<http://www.iea.org/textbase/nppdf/free/2004/biofuels2004.pdf>> Acesso em: abril. 2010.

ILHA, E. C.; BERTOLDI, F. C.; REIS, V. D. A. ; SANT'ANNA, E. **Rendimento e eficiência da fermentação alcoólica na produção de hidromel**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2008.

IRANMAHBOOBA, J.; NADIMA, F.; MONEMIB. S. **Optimizing acid-hydrolysis: a critical step for production of ethanol from mixed wood chips**, Biomass and Bioenergy, n.22, p. 401 – 404, 2002.

KÁDÁR, Z.S. ; SZENGYEL, Z.S.; RÉCZE K. **Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of industrial wastes for the production of ethanol**, Industrial Crops and Products, n.20, p. 103–110, 2004.

LEE, J. **Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol**. Review article. Journal of Biotechnology, 56:1-24, 1997.

LIMA, U. de A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, Willibado. **Biotechnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001.

LORA, E.E.S. et al. Gaseificação. In: CORTEZ, L.A.B; LORA, E.E.S.; GOMEZ, E.O. (org). **“Biomassa para energia”**. Campinas, São Paulo. Editora da UNICAMP, 2008.

MANIKANDAN, K.; SARAVANAN, V.; VIRUTHAGIRI,T. **Kinetics studies on ethanol production from banana peel waste using mutant strain of *Saccharomyces cerevisiae***. Indian Journal of Biotechnology, Vol. 7, PP 83-88, 2008.

MME- MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, **Resenha Energética Brasileira- Exercício 2009**; 2010; disponível em:

<http://www.mme.gov.br/mme/galerias/arquivos/publicacoes/BEN/3 - Resenha Energetica/Resenha Energetica 2009 - Preliminar.pdf>

Acesso em: julho. 2010.

MENEGHIN, M. C. **Caracterização e comportamento fermentativo de linhagens de *Dekkera* contaminantes da fermentação alcoólica**. 2007. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

MELO, W. C.; SILVA, D. B. S.; PEREIRA, N. **Produção de etanol a partir de torta de mamona (*Ricinus communis* L.) e avaliação da letalidade**, Química Nova, Vol. 31, N° 5, p.1104-1106, 2008.

MOHAPATRA, D.; MISHRA, S.; SUTAR, N. **Banana and its by-product utilization: an overview**. Journal of Scientific & Industrial Research, Volume 69, pages 323-329, 2010.

MOJOVIĆ, L.; NIKOLIĆ, S.; RAKIN, M.; VUKASINOVIĆ, M. **Production of bioethanol from corn meal hydrolyzates**. Fuel, n. 85, p. 1750–1755, 2006.

MONSALVE, J. F.; PEREZ, V. I. M. ; COLORADO, A. A. R. **Producción de etanol a partir de La cáscara de banano y almidón de yuca**. Dyna, ano 73, n° 150, p. 21-27, 2006.

MOREIRA, J.R. Obtenção de etanol a partir de material celulósico. In ROSILLO-CALE, BAJAY E ROTHMAN (org) **“Uso da Biomassa para Produção de Energia na Indústria Brasileira”**. ISBN 85-268-0685-8. Campinas, São Paulo. Editora da UNICAMP, 2005.

MÜLLER, G. H.; **Análise de bifurcação e otimização da produção de etanol a partir de *Zymomonas Mobilis***. 2007. Monografia (Graduação em Engenharia Química) – UFRGS, Porto Alegre.

NOBRE, T. P.; HORII, J.; ALCARDE, A. R. **Viabilidade celular de *Saccharomyces cerevisiae* cultivada em associação com bactérias contaminantes de fermentação alcoólica**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27, p. 20-25, 2007.

NOGUEIRA, L. A. H. **Bioálcool de cana-de-açúcar : energia para o desenvolvimento sustentável**, Banco Nacional de Desenvolvimento e Economia Social- BNDES e Centro de Gestão e Estudos Estratégicos- CGEE, Rio de Janeiro, 2008. Disponível em:

< <http://www.bioálcooldecana.org/pt/download/bioálcool.pdf>.> Acesso em: abril. 2010.

NOGUEIRA, A.; SANTOS, L. D.; PAGANINI, C.; WOSIACKI, G. **Avaliação da fermentação alcoólica do extrato de bagaço de maçã**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 26, n. 2, p. 187-194, abr./jun. 2005.

PALMAROLA-ADRADOS, B.; CHOTĚBORSKÁ, P.; GALBE, M.; ZACCHI, G. **Ethanol production from non-starch carbohydrates of wheat bran**. Bioresource Technology, n. 96, p.843–850, 2005.

PRAMANIK, K. **Kinetic Study on Ethanol Fermentation of Grape Waste using Saccharomyces cerevisiae Yeast Isolated from Toddy**. IE Technical Journals: Chemical Engineering, V. 85, p. 53-58, 2005.

PERRY, R.H.; CHILTON, C.H. **Manual de Engenharia Química**. Editora Guanabara Dois S.A. Rio de Janeiro, 1980.

RIBEIRO, C. A. F.; HORII, J. **Potencialidades de linhagens de levedura Saccharomyces cerevisiae para a fermentação do caldo de cana**. Scientia Agrícola, Piracicaba, v. 56, n. 2, 1999.

RICKLEFS, R. E. **The economy of nature: a textbook in basic Ecology**. 5TH ed. New York: WH Freeman, 2000.

ROSILLO-CALLE, F.; CORTEZ, L. A. B. **A review of the brazilian ethanol programme**. Biomass and Bioenergy, v. 14, p.p 115-124, 1997.

SAITO, I. M.; CABELLO, C. **Produção de etanol a partir de hidrolisado obtido por tratamento hidrotérmico de farelo de mandioca**. Revista Energia na Agricultura, v. 21, n.3, p. 34-44, Botucatu, 2006.

SAEED, A. A. W. S. **Microbiological conversion of waste fruits and vegetables into ethanol**. 2005. 398 f. Thesis (Doctorate in Zoology) – University of the Punjab, Lahore.

SAHA, C. B. I.; ITEN, L. B.; COTTA, M. A.; WU, Y. V. **Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol**, Process Biochemistry, n°40, p. 3693–3700, 2005.

SASSNER, P.; MARTENSSON, C.-G.; GALBE, M.; ZACCHI, G. **Steam pretreatment of H₂SO₄ –impregnated Salix for the production of bioethanol**. Bioresource Technology, 99: 137-145, 2007.

SASSNER, P.; GALBE, M.; ZACCHI, G. **Bioethanol production based on simultaneous saccharification and fermentation of steam-pretreated Salix at high dry-matter content**. Enzyme and Microbial Technology, 39: 756-762, 2006.

SCHELL, D. J.; DOWE, N.; IBSEN, K.N.; RILEY, C.J.; RUTH, M. F.; LUMPKIN, R. E. **Contaminant occurrence, identification and control in a pilot-scale corn fiber to ethanol conversion process**. Bioresource Technology, v. 98, p. 2942–2948, 2007.

SEABRA, J. E. A. **Análise de opções tecnológicas para uso integral da biomassa no setor de cana-de-açúcar e suas implicações**. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia Mecânica Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2008.

SEWALT, V.J.H.; GLASSER, W.G.; BEAUCHEMIM, K.A. **Lignin impact on fiber degradation: reversal of inhibition on enzymatic hydrolysis by chemical modification of lignin and by additives**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45:1823-1828, 1997.

SHARMA, N.; KALRA, K. L.; OBEROI, H. S.; BANSAL, S. **Optimization of fermentation parameters for production of ethanol from kinnow waste and banana peels by simultaneous saccharification and fermentation**. Indian Journal of Microbiology, Volume 47, Number 4, Pages 310-316, 2007.

SHREVE, R. N.; BRINK Jr, J. A. **Indústrias de processos químicos**. 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1997.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3a. ed., UFV: Viçosa, 235p., 2002.

SOARES, E.V.; VROMAN, A. **Effect of different starvation conditions on the flocculation of *Saccharomyces cerevisiae***. Journal of Applied Microbiology, v. 95, p. 325-330, 2003.

SÖDERSTRÖM, J.; PILCHER, L.; GALBE, M.; ZACCHI, G. **Two-step steam pretreatment of softwood by dilute H₂SO₄ impregnation for ethanol production**. Biomass and Bioenergy, 24:475-486, 2003.

SOFFENER, M. L. A. P. **Produção de polpa celulósica a partir de engaço de bananeira**. 2001. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior Luiz de Queiroz- ESALQ -USP, Piracicaba.

SOUZA, O. **Produção de bioalcool a partir de resíduos lignocelulósicos gerados na bananicultura**. Projeto de Pesquisa, UNIVILLE - FAPESC, 2007.

ÚNICA- União da Agroindústria Canavieira de São Paulo. **Ranking de Produção das Unidades do Estado de São Paulo, Safra 2008/2009**. Disponível em: <http://www.unica.com.br/dadosCotacao/estatistica/>. Acesso em: abril. 2010.

US Department of Energy Office of Science. Disponível em: <http://genomics.energy.gov/gallery/brc2009/gallery-01.html>. Acesso em: julho. 2010.

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

YU, Z.; ZHANG, H. **Pretreatments of cellulose pyrolysate for ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia sp.* YZ-1 and *Zymomonas mobilis***, Biomass and Bioenergy, n°24, p. 257 – 262, 2003.

ANEXO A – Atividade enzimática e densidade (ρ) das enzimas fornecidas pela Novozymes® e faixas de pH, temperatura (T) e dose recomendadas pela empresa.

Enzima	Atividade ¹	ρ ² (g mL ⁻¹)	pH	T (°C)	Dose ³ (%m ms ⁻¹)
NS50013	700 EGU g ⁻¹	1,2	4,5-6,5	45-50	2-6
Celulase- complexo	(~ 70 FPU g ⁻¹)				
NS50010	250 CBU g ⁻¹	1,2	2,5-6,5	45-70	0,2-0,6
β -glucosidase					
NS50012	100 FBG g ⁻¹	1,2	4,5-6,0	25-55	0,05-0,4
Complexo enzimático	(~ 13700 PGU g ⁻¹)				
NS50030	500 FXU g ⁻¹	1,1	4,5-6,0	35-55	0,1-0,5
Xilanase					
NS22002	45 FBG g ⁻¹	1,2	5,0-6,5	40-60	0,4-2
Hemicelulase	(~ 470 FXU g ⁻¹)				

⁽¹⁾ CBU = Unidades de Celobiase, EGU = Unidades de Endo-Glucanase, FBG = Unidades de β -Glucanase, FPU = Unidades em Papel Filtro, FXU = Unidades de Xilanase Fúngica, PGU = Unidades de Poligalacturonase.

⁽²⁾ Valores aproximados de densidade.

⁽³⁾ Dosagem requerida é fortemente dependente do tipo de substrato, dos pré-tratamentos e das condições operacionais empregadas.

CBU – uma unidade de celobiase é a quantidade de enzima necessária para produzir 2 μ mol de glicose por minuto nas condições padrões empregando celobiose como substrato.

EGU – unidade padrão empregada pela Novozymes para determinar a atividade da enzima Endo-glucanase.

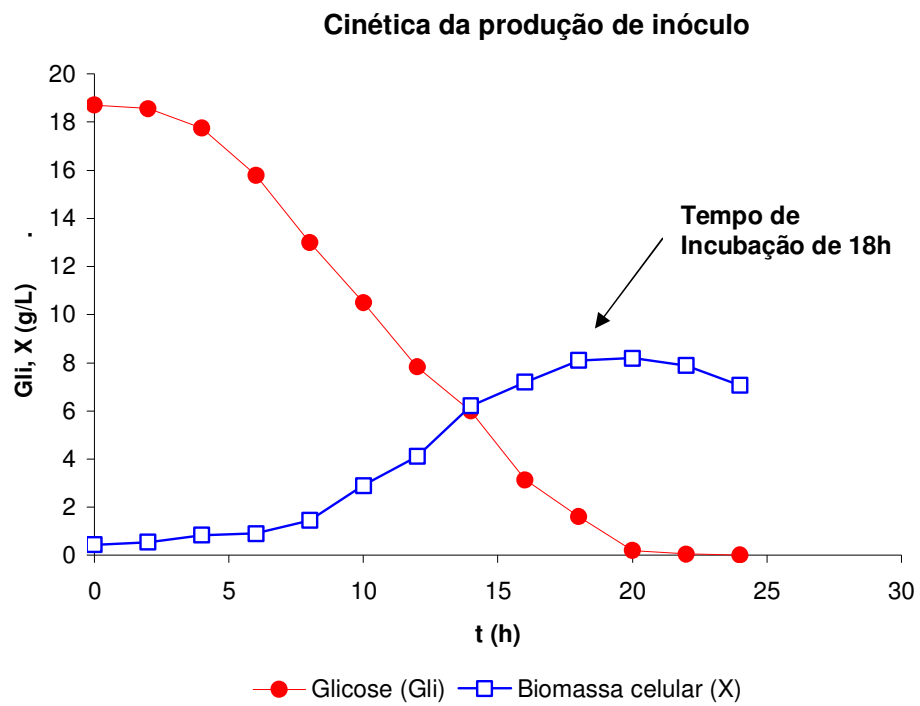
FBG – uma unidade de FBG é a quantidade de enzimas que produz 1 μ mol de glicose por minuto, sob condições padrões estabelecidas. A atividade é determinada de forma relativa à uma enzima padrão.

FPU – 0,185 FPU é a quantidade de atividade enzimática que, quando empregada de acordo com o ensaio padrão para FPU, produzirá 2,0 mg de glicose (referência de acordo com o fornecedor da enzima: <http://www.nrel.gov/biomass/pdfs/4689.pdf>).

FXU – atividade de endoxilanase em FXU (do inglês: Farvet Xylan Unit) é determinada de acordo com método padrão empregada pela Novozymes para FXU.

PGU – atividade de poligalacturonase medida de acordo com método padrão da Novozymes.

APÊNDICE A



APÊNDICE B

Resultado das fermentações: tempo de consumo total dos açúcares, rendimento de etanol ($Y_{P/AT}$), produtividades totais (Q_P) e eficiência em relação ao rendimento máximo teórico (ϵ).

Ensaio	t (h)	$Y_{P/AT}$ (g g ⁻¹)	Q_P (g L ⁻¹ h ⁻¹)	ϵ (%)
EG ₂	6	0,44	1,09	86,09
EG ₂ (duplicata)	6	0,42	1,13	82,18
EG ₂ (triplicata)	6	0,46	1,17	90,00
		0,44±0,02	1,13±0,04	86,09±3,91
EPol ₂₅₀	6	0,38	2,59	74,35
EPol ₂₅₀ (duplicata)	6	0,38	2,65	74,35
		0,38±0	2,62±0,04	74,35±0
ECas ₂₅₀	6	0,38	0,45	74,35
ECas ₂₅₀ (duplicata)	6	0,32	0,43	62,61
		0,35±0,04	0,44±0,01	68,48±8,30
ECas ₃₇₅	6	0,4	1,11	78,26
ECas ₃₇₅ (duplicata)	6	0,41	1,19	80,22
		0,40±0	1,15±0,05	79,24±1,38
FG	6	0,41	1,15	80,22
FG(duplicata)	6	0,44	1,33	86,09
		0,42±0,02	1,24±0,12	83,15±4,15
FPol ₂₅₀	8	0,49	2,21	95,87
FPol ₂₅₀ (duplicata)	8	0,59	3,03	115,44
		0,54±0,07	2,62±0,57	105,65±13,83
FPol ₃₇₅	10	0,41	2,49	80,22
FPol ₃₇₅ (duplicata)	8	0,46	3,02	90,00
		0,43±0,03	2,75±0,37	85,11±6,91
FPol ₅₀₀	10	0,45	3,6	88,05
FPol ₅₀₀ (duplicata)	10	0,5	3,9	97,83
		0,47±0,03	3,75±0,21	92,94±6,91
FCas ₁₂₁₀	4	0,27	1,35	52,83
FCas ₁₂₁₀ (duplicata)	4	0,42	1,3	82,18
		0,34±0,10	1,32±0,03	67,50±20,75

APÊNDICE C

Valores de concentrações de açúcares totais (AT) e de etanol (P) observados na fermentação alcoólica realizada em bioreator de bancada.

Ensaio	Parâmetro	Tempo de fermentação (h)								
		0	2	4	6	8	10	12	14	24
FG	AT (g L ⁻¹)	16,65	12,64	3,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	P (g L ⁻¹)	1,48	2,55	7,46	8,38	8,82	8,19	9,47	8,36	9,34
	AT (g L ⁻¹)*	17,86	16,62	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00
	P (g L ⁻¹)*	1,52	2,66	7,90	9,51	9,82	9,02	8,62		8,99
FPol ₂₅₀	AT (g L ⁻¹)	43	33,00	18,00	4,00	0,00				
	P (g L ⁻¹)	1,43	3,71	8,00	15,00	20,00	22,00	22,32		23,00
	AT (g L ⁻¹)*	45,35	36,00	20,26	5,61	0,30	0,00	0,00		0,00
	P (g L ⁻¹)*	2,64	5,78	15,81	23,00	26,90	28,00	28,50		28,97
FPol ₃₇₀	AT (g L ⁻¹)	60,74	45,00	31,00	16,76	4,98	0,00			
	P (g L ⁻¹)	1,16	2,79	6,51	15,00	25,50	26,08			
	AT (g L ⁻¹)*	52,82	39,00	25,06	11,30	0,00				
	P (g L ⁻¹)*	1,42	2,88	6,48	16,05	24,50	25,00			
FPol ₅₀₀	AT (g L ⁻¹)	82,93	77,72	50,23	20,58	4,98	0,00			0,00
	P (g L ⁻¹)	2,29	4,72	19,18	31,75	38,46	38,22			41,95
	AT (g L ⁻¹)*	81,66	68,32	59,16	29,06	7,46	0,02	0,00		0,00
	P (g L ⁻¹)*	2,26	3,71	9,19	26,18	34,80	41,24	38,61		40,73

*Duplicatas